

Weitere Untersuchungen über die Frage nach dem Freiwerden von gasförmigem Stickstoff bei Fäulnisprocessen.

Von

Alex. Ehrenberg.

(Mittheilung aus dem physiologisch-chemischen Institute zu Tübingen.)
(Der Redaction zugegangen am 22. April 1887.)

Vor einiger Zeit ¹⁾ theilte ich die Resultate einer Reihe von Experimentaluntersuchungen mit, aus denen hervorging, dass aus organischen stickstoffhaltigen Materien bei der Verwesung und Fäulnis weder bei Anwesenheit reichlicher Mengen von Sauerstoff, noch bei völligem Fehlen dieses Gases von den Mikroorganismen Stickstoff in gasförmiger Gestalt abgeschieden werde. Die complicirt zusammengesetzten organischen Körper hohen Moleculargewichtes werden bekanntlich bei der Fäulnis durch die Mikroorganismen in Körper einfacherer Zusammensetzung zerlegt, welche entweder, wie gewisse Amidosäuren — besonders der aromatischen Reihe —, zu weiterer Zersetzung durch die Organismen nicht mehr geeignet sind, oder aber, wie die meisten anderen Stoffe, einer vollständigen Umwandlung in anorganische Verbindungen, nämlich Kohlensäure und Ammoniak, und dieses letztere wieder durch Oxydationsprocesse einer Verwandlung in salpetrige Säure und Salpetersäure unterliegen. Dass der Stickstoff der organischen Substanzen in der That zunächst in Ammoniak übergeführt und dass erst dieses durch gewisse Organismen bei ungehindertem Zutritte des atmosphärischen Sauerstoffs in Oxydationsstufen des Stickstoffs verwandelt werde, ist bereits

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 145.

von verschiedenen Seiten — besonders auch von E. Wollny¹⁾ — hervorgehoben worden, während die unmittelbare Bildung von Oxydationsstufen des Stickstoffs bei Zersetzung eiweissartiger Substanzen als höchst unwahrscheinlich zu bezeichnen ist. Die Thatsache, dass die Umwandlung des Ammoniaks in salpetrige Säure und Salpetersäure in Folge der Thätigkeit von Mikroorganismen geschieht, nicht aber durch directe Oxydation desselben — vermittelt durch den Sauerstoff der atmosphärischen Luft oder durch Ozon —, ist experimentell wohl mit Sicherheit erwiesen. So konnten Schlösing und Müntz²⁾ zum Beispiel Erdproben, welche beim Aufgiessen ammoniakhaltiger Flüssigkeiten Nitrate und Nitrite in grosser Menge producirten, diese Fähigkeit durch Einblasen von Chloroformdämpfen oder durch Erhitzen der Bodenproben — also durch Anwendung von Mitteln, welche den Lebensprocess der Organismen aufheben — vollständig rauben, und die Richtigkeit dieser Beobachtung wurde weiter auch von Warrington³⁾ und später von Fodor⁴⁾ erhärtet, während schon früher Pasteur und A. Müller⁵⁾ die Mitwirkung von Organismen bei diesen Processen wenigstens plausibel gemacht hatten. — Die Frage, ob bei der Umwandlung von Ammoniaksalzen in Nitrite und Nitrate nur ein ganz bestimmter Organismus betheilig sei, oder ob eine grössere Anzahl verschiedener derartiger Wesen je nach dem Vorhandensein oder Fehlen von Sauerstoff entweder Nitrificationsprocesse oder Denitrificationserscheinungen hervorzubringen im Stande sei, muss, da sich in dieser Beziehung die Ansichten verschiedener Forscher gegenüber stehen, zur Zeit noch als eine offene bezeichnet werden. Schlösing und Müntz⁶⁾ hatten in einer nitrificirbaren Erde bereits einen Mikroorganismus in

1) Journ. f. Landw., Bd. XXXIV, S. 215.

2) Compt. rend., T. 80, p. 1250; T. 84, p. 301; T. 85, p. 1018
T. 86, p. 892.

3) Journ. of chem. soc., 1878, 1. Heft.

4) Hyg. Unters. über Luft, Boden, Wasser, II, 1882.

5) Versuchsstat., Bd. 16, S. 273.

6) Compt. rend., T. 89, p. 891.

grösserer Verbreitung beobachtet und auch später durch Reinculturen isolirt, der in der That die Fähigkeit, Nitrification zu bewirken, in auffallendem Maasse besass. Denn wenn man ihn zu sterilisirten ammonhaltigen Nährlösungen brachte, so wurde wirklich das Ammoniak von ihm in Salpetersäure verwandelt; Schlösing und Müntz haben ihn denn auch bereits als «Salpeterferment» bezeichnet. Derselbe zeigt grosse Aehnlichkeit mit dem von Pasteur und von Koch und Cohn in Wässern aufgefundenen «*corpuscules brillants*» und scheint ungemein verbreitet¹⁾ zu sein. Vermuthlich ist es derselbe, welchen neuerdings T. Leone²⁾ in grosser Menge im Quellwasser nachgewiesen und auch als Träger von Nitrificationsprocessen erkannt hat.

T. Leone sagt, es seien dies die gewöhnlichen Organismen des Quellwassers; bemerkt aber weiter, dass dieselben im Stande seien, auch den umgekehrten Process — nämlich Bildung von Ammoniak aus den Nitraten — hervorzurufen. Leone besäte mit seinen Organismen destillirtes Wasser, dem er einen Zusatz von Nährgelatine ertheilt hatte, und fand, dass die stickstoffhaltige Substanz allmählich zunächst in Ammoniak und Kohlensäure zerspalten ward; nach etwa 15 Tagen jedoch zeigte sich neben gleichzeitiger Bildung erst von salpetriger Säure und später von Salpetersäure eine Abnahme des Ammoniaks und nach 35 Tagen war das letztere vollständig in Salpetersäure umgewandelt. Wurde jedoch der Lösung nunmehr wieder neue Nährgelatine zugefügt, so bildeten sich zuerst wieder Nitrite und sodann Ammoniak und es wurden selbst weitere Quantitäten direct zugesetzten Nitrates in Ammoniak umgewandelt; als aber die Zersetzung der organischen Substanz beendet war, fing wieder der umgekehrte Process, derjenige der Nitrification, zu verlaufen an. Nach Leone's Angaben scheint also ein und derselbe Organismus je nach den gegebenen Bedingungen zwei ganz verschiedene, einander gegenläufige Processe hervorrufen zu

1) Compt. rend., T. 101, p. 65.

2) Gazzetta chim. ital., T. X, p. 505.

können, und scheint es ferner, als ob die Stoffwechselproducte auch anderer Mikroorganismen je nach den gebotenen Lebensbedingungen verschiedene sein könnten.

Nach Gayon und Dupetit¹⁾ sollen hingegen bestimmte Mikroorganismen nur die Reduction von Nitraten zu Ammoniak und wieder ein anderes Mikrobion Nitrate nur zu Nitriten zu reduciren im Stande sein. — Obgleich die Verbreitung nitrificirender Organismen im Boden eine ausserordentlich grosse ist, so bleibt doch ihr Vorkommen auf eine gewisse Tiefe beschränkt. Hierüber hat R. Warrington²⁾ experimentelle Studien gemacht, indem er geringe Mengen Erde aus verschiedenen Tiefen entnahm, in Glasgefässe brachte, welche mit sterilisirten verdünnten Harnlösungen beschickt waren, und nach einiger Zeit 1 cbem. dieser Lösung auf Anwesenheit von salpetriger Säure und Salpetersäure mittelst Diphenylaminlösung und conc. Schwefelsäure prüfte, eines Reagens also, welches bekanntlich so empfindlich ist, dass noch ein Theil Nitrat in 20 Millionen Theilen Wasser damit nachgewiesen werden kann. Als Resultat seiner Untersuchungen ergab sich, dass im Allgemeinen Bodenproben (0,1 gr. Subst.), welche einer Tiefe von ca. 2 Fuss entstammten, noch Nitrification bewirken konnten. Indessen blieb die Salpeterbildung bei Proben aus Thonboden schon bei Entnahme aus einer Tiefe von 9—18 Zoll aus, während Proben aus Sandboden und überhaupt aus Boden lockeren Gefüges noch bei Entnahme aus grösseren Tiefen wirksam waren. Jedenfalls ersieht man deutlich, dass die bezüglichlichen Organismen sich nur in den von der Luft durchdrungenen Schichten des Bodens aufhalten. Im Einklange hiermit stehen die Beobachtungen R. Koch's³⁾, welcher angiebt, dass die Zahl der Mikroorganismen in den von ihm untersuchten Bodenarten mit der Tiefe der letzteren schnell abnimmt und dass in einer Tiefe von circa einem Meter überhaupt keine Bacterien mehr anzutreffen

1) Compt. rend., T. XCV, p. 644 u. 1365.

2) Journ. of chem. society, 1884, p. 637; 1887, p. 118.

3) Mittheil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, I. Berlin 1881, S. 34.

sind; und ferner stimmen hiermit die Mittheilungen Schlösing's¹⁾, wonach die Salpeterbildung von der Menge des zugeführten Sauerstoffs — also von der Durchdringbarkeit des Bodens für atmosphärische Luft — abhängig sein und wonach die Quantität der gebildeten Nitrate mit dem Sauerstoffgehalte des dem Versuchsobjecte zugeführten Luftgemisches zunehmen soll. Die Salpeterbildung in der Erde wird ferner durch den Wassergehalt derselben beeinflusst. Ein Boden, welcher das Nitrificationsvermögen in ausgesprochenem Maasse besitzt, kann desselben durch Austrocknen vollständig beraubt werden, und andererseits wird bei überreichlicher Gegenwart von Wasser nicht nur keine Salpetersäure gebildet, sondern es werden sogar vorhandene Nitrate in Ammoniak umgewandelt²⁾, so dass also nur ein mittlerer Feuchtigkeitsgehalt des Bodens der Entwicklung des Salpeterfermentes günstig zu sein scheint (Wollny³⁾).

Wesentlichen Einfluss auf die Nitrificirbarkeit von Flüssigkeiten hat nach Soyka⁴⁾ die Concentration derselben. So hatte zum Beispiel bei unverdünntem Harn selbst nach 4 Monaten eine Salpeterbildung nicht stattgefunden, während eine solche in 10procentiger Verdünnung nach 7, in 1procentiger Verdünnung bereits nach 4 Tagen constatirt werden konnte. Warington⁵⁾ beobachtete ferner, dass zum Zustandekommen von Nitrificationsprocessen schwach alkalische Reaction des Gemisches besonders vortheilhaft sei, dass dieselben in sauren Flüssigkeiten überhaupt nicht auftreten und dass Chlorammoniumlösungen bei Gegenwart von Calciumcarbonat bei viel stärkerer Concentration noch nitrificirt werden, als Lösungen von Ammoniumcarbonat. Nach neueren Untersuchungen von Warington⁶⁾ und älteren von P. Pichard⁷⁾

1) Compt. rend., T. LXXVII, p. 203 etc.

2) Fodor, Hygienische Untersuchungen über Luft etc. etc.

3) Journ. f. Landwirthschaft, Bd. XXXIV, S. 249.

4) Zeitschrift f. Biologie, Bd. XIV, S. 449.

5) Journ. of chem. society, XLV, p. 637.

6) Journ. of chem. society, 1887, p. 118.

7) Compt. rend., T. XCVIII, p. 1289.

kommt gewissen Sulfaten und ganz besonders dem Gyps ein begünstigender Einfluss auf die Salpeterbildung zu. Nach Soyka¹⁾ muss auch dem Lichte ein gewisser Einfluss auf den in Rede stehenden Process zugesprochen werden. Helles Licht wirkt hemmend, Dunkelheit dagegen fördernd.

Von dem Umfange der durch die Mikroorganismen des Bodens bedingten Umwandlung des Ammoniaks in Nitrate geben die Resultate von Untersuchungen über die Zusammensetzung der zum Berieseln benutzten Kloakenwässer und der von den Riesefeldern ablaufenden Drainwässer eine lebhaftere Vorstellung. Nach Angaben von A. Levy²⁾ enthalten die Kloakenwässer der Pariser Riesfelder im Mittel pro Liter etwa 24,4 mgr. Ammoniakstickstoff und 0,9 mgr. Nitratstickstoff, die Drainwässer dagegen 0,9 mgr. Ammoniakstickstoff und 19—24 mgr. Nitratstickstoff.

Aus den eben mitgetheilten Versuchsergebnissen ergeben sich die für die Einleitung von Nitrificationsprocessen günstigsten Bedingungen nunmehr von selbst. Dieselben sind: Geringer Gehalt an organischen Stoffen, mittlerer Feuchtigkeitsgehalt der Gemische, Gegenwart von Calciumcarbonat und Calciumsulfat, Anwendung einer verdünnten Chlorammoniumlösung, Abschluss des Lichtes und Zufuhr reichlicher Mengen von Sauerstoff.

Ich habe nun unter Berücksichtigung dieser Forderungen Versuche angestellt, um zu entscheiden, ob sich bei Umwandlung von Ammonsalzen in Nitrate unter Mitwirkung der Mikroorganismen Stickstoff in elementarer Gestalt abspalte. In meinen früheren Mittheilungen über die fragliche Entwicklung freien Stickstoffs bei Fäulnissprocessen, und zwar bei Anwesenheit reichlicher Mengen von Sauerstoff, hatte ich auf eine nebenhergehende Bildung von Nitraten keine besondere Rücksicht genommen, muss daher jetzt die bei jener Gelegen-

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Annuaire de l'observatoire de Montsouris pour l'année 1884. Paris, p. 408.

heit gemachten Beobachtungen nach dieser Richtung hin ergänzen.

Der Inhalt der unter I bis VIII in der früheren Abhandlung beschriebenen ¹⁾ Fäulnisskolben wurde nach dem Abbrechen der Versuche auf stattgefundene Bildung von Oxydationsproducten des Stickstoffs geprüft und zwar in der Weise, dass derselbe mit destillirtem Wasser mehrmals extrahirt, die gewonnene Flüssigkeit, welche den grössten Theil der löslichen Stoffe enthalten musste, auf ein bestimmtes Volum gebracht und abgemessene Theile des letzteren auf Nitrate und Nitrite untersucht wurden. Bei dieser Untersuchung gaben die Proben V (Harn und Blut) und VI (Kuhharn allein) weder mit Diphenylamin, noch mit Jodzinkstärkelösung nach dem Ansäuern irgendwelche Reaction; von salpetriger und von Salpetersäure waren also nicht einmal Spuren nachweisbar; dagegen enthielten jene Mischungen stets beträchtliche Mengen von Ammoniak. Allein mit den aus den anderen Kolben erhaltenen Extracten wurden theilweise sofort, theilweise nach einiger Zeit die charakteristischen Reactionen der salpetrigen wie der Salpetersäure erhalten. Auch konnte hier die Quantität der anwesenden salpetrigen Säure (im gebundenen Zustande; freie salpetrige Säure konnte nirgends beobachtet werden) annähernd durch Titriren mit Kaliumpermanganatlösung (nach Feldhausen und Kubel) festgestellt werden.

Die Reaction der Extracte war schwach alkalisch und die titrimetrische Bestimmung der salpetrigen Säure ergab folgende Zahlen:

- I. 10 cem. Lösung verbrauchten im Durchschnitt 9,0 cem. $\frac{1}{100}$ Permanganatlösung.
- II. 10 cem. Lösung verbrauchten im Durchschnitt 51,0 cem. $\frac{1}{100}$ Permanganatlösung.
- III. 10 cem. Lösung verbrauchten im Durchschnitt 14,8 cem. $\frac{1}{100}$ Permanganatlösung.
- IV. 10 cem. Lösung verbrauchten im Durchschnitt 16,0 cem. $\frac{1}{100}$ Permanganatlösung.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 159—169.

Da die Extracte vor der jedesmaligen Untersuchung, auf das Volumen von 500 ccm. gebracht waren, so ergeben sich für die Gesammtmengen der in den Gemischen enthaltenen Nitrite bei den einzelnen Versuchskolben folgende Werthe:

I. (Blutpulver und Harn)	= 0,0855 gr. salpetrige Säure.
II. (Blutpulver, Harn und Gyps)	= 0,4845 „ „ „
III. (Blutpulver, Boden und Wasser)	= 0,1406 „ „ „
IV. (Blutpulver, Harn und Calciumcarbonat)	= 0,1520 „ „ „

(In die Kolben VII und VIII gelangte beim Abbrechen des Versuches etwas Quecksilber, weshalb deren Inhalt keiner titrimetrischen Untersuchung unterworfen ward; die Anwesenheit von salpetriger Säure konnte aber auch hier mit Leichtigkeit bewiesen werden.) Als Resultat dieser Versuche zeigt sich nun die Thatsache, dass trotz der Anwesenheit bedeutender Mengen von organischen Substanzen dennoch Nitrification stattgefunden und dass auch hier die Gegenwart von Gyps (Versuch II) diesen Process in ganz hervorragender Weise begünstigt hatte. Da nun in den vorliegenden Fällen das Auftreten von freiem Stickstoff nicht constatirt werden konnte, so liesse sich wohl schon daraus der Schluss ziehen, dass unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen, namentlich bei Gegenwart von Sauerstoff, solcher überhaupt niemals auftritt. Eine nähere Betrachtung unserer Versuchsbedingungen zeigt übrigens, dass sie der Nitrification besonders günstig sein mussten. Es sammelt sich nämlich in den Kolben die Flüssigkeit am Boden an; die darüber befindliche Masse ist von äusserst lockerer, poröser und nur wenig feuchter Beschaffenheit und in diesem Zustande relativer Trockenheit besitzt das Blutpulver ziemlich grosse Widerstandsfähigkeit gegen zersetzende Einflüsse; die Zersetzung findet daher jedenfalls zunächst in den wasserreichen, dem Sauerstoff weniger zugänglichen Bodenpartien statt, und zwar unter Bildung von Ammoniaksalzen und sonstigen Fäulnissproducten. Diese werden sodann erst in dem porösen Materiale, in welches sie durch Diffusionsprocesse in die Höhe steigen, durch den dort reichlich vorhandenen Sauerstoff in Nitrite und Nitrate übergeführt. Die Versuchsbedingungen entsprechen somit

vortrefflich den in der freien Natur sehr häufig gegebenen Verhältnissen.

Die unter Berücksichtigung der für Nitrificationsprocesse besonders günstigen Bedingungen angestellten Experimente, zu denen der früher (Bd. XI, Tafel III, Fig. 3) beschriebene Apparat angewendet wurde, seien nachstehend hier mitgetheilt.

Versuch XI.

Der Versuchskolben wurde zu $\frac{2}{3}$ mit erbsengrossen Stücken Bimsteins gefüllt, sodann dieser mit einer Lösung von Chlorammonium in destillirtem Wasser, welche 2 gr. Salz pro Liter enthielt, soweit angefeuchtet, dass auf dem Boden des Kolbens sich noch etwas Flüssigkeit sammelte, und zur Einleitung des Nitrificationsprocesses eine geringe Menge in Nitrification befindlichen Erdbodens, mit wenig Wasser angerührt, zugesetzt. Der Kolben wurde sodann zugeschmolzen, abwechselnd ausgepumpt und mit Kohlensäure gefüllt, bis die atmosphärische Luft verdrängt war, abermals ausgepumpt und mit reinem Sauerstoff aus dem mit demselben verschmolzenen Gasometer gefüllt; als das aus dem Gasleitungsrohre austretende Sauerstoffgas durch die Analyse als rein befunden war, wurde das zur Luftpumpe führende Hahnrohr abgeschmolzen und nun der Apparat sich selbst überlassen. Der Kolben stand indessen in einem Wasserbade, dessen Temperatur constant auf 35° erhalten wurde — dieselbe, bei welcher nach Schlösing und Müntz die Nitrificationsprocesse am ausgiebigsten von Statten gehen —, und war durch eine undurchsichtige Hülle gegen das Tageslicht geschützt. Der Zutritt des Sauerstoffgases erfolgte je nach Verbrauch automatisch. Der Versuch wurde 4 Wochen im Gange erhalten und in dieser Zeit zu verschiedenen Malen eine Gasprobe aufgefangen und der Untersuchung unterworfen. Da eine Gasentwicklung nicht zu bemerken war, so wurde die Entnahme von Gasproben durch Nachdrücken von Sauerstoff bewerkstelligt. Um so aber auch wirklich das im Kolben enthaltene Gasmisch, und dasselbe nicht zu sehr durch den directen Sauerstoffstrom verdünnt zu erhalten, wurde in der Weise verfahren, dass durch Entfernen der Heizquelle des

Wasserbades die Temperatur erniedrigt und dadurch zunächst Sauerstoff aus dem Gasometer in den Kolben herübergesaugt, und alsdann durch abermalige Erwärmung des Wasserbades — und die dadurch bedingte Ausdehnung des Kolbeninhaltes — Gas aus dem Ableitungsrohre ausgetrieben und über Quecksilber aufgefangen ward.

Die bei den Analysen gewonnenen Daten waren folgende:

1. Sauerstoffgas, unmittelbar vor dem Abschmelzen des Hahnrohres aufgefangen.

	v,	Druck in mm.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	93,5	0,3594	7,2°	32,74
+ Wasserstoff	303,3	0,5718	7,2°	168,97
Nach der Explosion	168,6	0,4345	6,0°	71,68
Angewandtes Gas	=	32,74,		
Sauerstoff gefunden	=	32,43.		

2. Gas, welches nach 14 Tagen aufgefangen wurde.

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	99,5	0,3655	7,1°	35,44
+ Wasserstoff	322,0	0,5906	7,3°	185,22
Nach der Verpuffung	182,8	0,4454	7,6°	79,20
Angewandtes Gas	=	35,44,		
Sauerstoff gefunden	=	35,34.		

Stickstoff hatte sich also nicht entwickelt.

3. Gas, welches nach 25 Tagen aufgefangen war.

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	75,6	0,3352	6,1°	24,80
+ Wasserstoff	243,1	0,5031	7,1°	119,20
Nach der Verpuffung	122,5	0,3786	7,8°	45,09
+ Sauerstoff	219,4	0,4785	8,0°	102,00
Nach der Verpuffung	99,5	0,3560	8,0°	34,41
Angewandtes Gas	=	24,80,		
Sauerstoff gefunden	=	24,70.		

Es hatte sich also bei diesem Versuche während einer Dauer von 25 Tagen kein Stickstoff entwickelt.

Der Kolbeninhalt wurde nach Abbrechen des Versuches mit destillirtem Wasser ausgelaugt und die filtrirte Flüssigkeit mit Diphenylaminsulfat auf Salpetersäure und mit Jodkaliumstärkekleister auf salpetrige Säure geprüft; mit beiden Reagentien trat Blaufärbung ein.

Versuch XII.

Unter Anwendung desselben Apparates, wie in vorigem Versuche, wurde der Kolben mit einer getrockneten Mischung von (salpeterfreiem) Erdboden 500 gr., Gyps 100 gr., Calciumcarbonat 50 gr. angefüllt, diese Masse mit einer 0,2procentigen Chlorammoniumlösung in einer Weise befeuchtet, dass der Boden zwar feucht, aber nicht nass erschien, und sodann eine geringe Menge mit Wasser angeschlämmten nitrificirenden Bodens zugesetzt. Die Füllung des Apparates mit reinem Sauerstoff und die Entnahme der Gasproben erfolgte in der früher beschriebenen Weise und da bei diesem Versuche sich das Auftreten von Kohlensäure constatiren liess, so wurde auf deren Bestimmung Rücksicht genommen.

1. Sauerstoffgas, welches nach dem Durchleiten durch den Apparat beim Abschmelzen des Glashahnes aufgefangen wurde.

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	116,6	0,23731	3,8°	27,29
+ Wasserstoff	348,2	0,4595	4,3°	157,52
Nach der Verpuffung	225,7	0,3420	4,5°	75,94

Angewandtes Gas = 27,29,

Sauerstoff gefunden = 27,19.

2. Gas, welches nach 14 Tagen aufgefangen wurde.

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	99,5	0,7185	3,8°	70,51
Nach Absorption der Kohlen- säure	78,4	0,7130	3,8°	55,13

Nach Ueberführung in's Eudiometer:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	116,6	0,2348	4,8°	26,91
+ Wasserstoff	318,2	0,4295	5,0°	134,21
Nach der Verpuffung . . .	183,7	0,2980	5,1°	53,74

Angewandtes Gas = 26,91.

Sauerstoff gefunden = 26,82.

Resultat: 21,80% Kohlensäure,
 77,94% Sauerstoff,
 99,74.

3. Gas, welches nach 28 Tagen aufgefangen wurde.

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	126,0	0,7116	4,7°	88,15
Nach Absorption der Kohlen- säure	103,0	0,7075	4,8°	71,62

Uebergeführt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen . . .	122,5	0,2374	5,1°	28,35
+ Wasserstoff	342,4	0,4496	5,1°	151,12
Nach der Verpuffung . . .	209,2	0,3218	5,0°	66,11

Angewandtes Gas = 28,35,

Sauerstoff gefunden = 28,33.

Resultat: 18,75% Kohlensäure,
 81,19% Sauerstoff,
 99,94.

Es hatte sich demnach auch bei diesem Versuche Stickstoff nicht entwickelt. Der Kolbeninhalt wurde mit destillirtem Wasser ausgezogen und dieser Auszug auf Salpetersäure und salpetrige Säure untersucht: Diphenylaminsulfat und conc. Schwefelsäure gab starke Blaufärbung und auch mit Eisenvitriol konnte die Anwesenheit von Salpetersäure dargethan werden, mit Jodkaliumstärkekleister trat erst nach einiger Zeit Blaufärbung ein, nach 2tägigem Stehen des Auszuges wurde mit diesem Reagens jedoch sofort Blaufärbung erhalten, was auf eine nachträglich eingetretene Reduction von Nitraten zu Nitriten schliessen lässt.

Aus allen diesen Versuchen, sowohl den früher beschriebenen, als den soeben mitgetheilten, geht unzweifelhaft hervor, dass bei Anwesenheit reichlicher Mengen von Sauerstoff, sowohl bei directer Zersetzung der organischen Substanzen, als bei der Ueberführung von Ammonsalzen in Nitrate unter Mithülfe von Mikroorganismen freier Stickstoff nicht entwickelt wird. Diese Thatsache wird auch bestätigt durch die Versuche von Br. Tacke, welcher über diesen Gegenstand auf der 59. Naturforscher-Versammlung zu Berlin in der landwirthschaftlichen Section berichtete¹⁾ und fand, dass bei der Fäulniss organischer Substanzen sowohl bei Abwesenheit, als bei Anwesenheit von Sauerstoff Stickstoff in bemerkenswerther Menge nicht auftritt; allerdings war bei Tacke's Versuchen die Bildung von salpetriger Säure nicht zu constatiren gewesen. Dietzell fand in seinen — organische Substanzen in grösserer Menge enthaltenden — Fäulnissgemischen selbst freie salpetrige Säure und hat das Auftreten derselben (auch experimentell) durch stattfindende Zersetzung von Calciumnitrit durch Kohlensäure zu erklären²⁾ gesucht.

Unter den Mittheilungen Tacke's ist besonders die eine bemerkenswerth, dass nach Zusatz von Nitraten zu in Fäulniss befindlichen Gemischen eine lebhafte Stickgasentwicklung auftritt; ich habe bereits in der früheren Abhandlung über die Inangriffnahme ähnlicher Versuche berichtet und lasse nun meine Resultate, welche die Beobachtung Tacke's in der That bestätigen, im Nachstehenden folgen.

Da Gayon und Dupetit³⁾ für die Entwicklung von denitrificirenden Organismen in Flüssigkeiten die Anwendung eines aus Fleischbrühe, phosphorsaurem Natrium und organischer Substanz (in Gestalt von Zucker, Glycerin etc.) bestehenden Nährgemisches als besonders vortheilhaft gefunden hatten, so habe ich einen derartigen Versuch unter Anwendung

1) Chem. Ztg., Jahrg. X, S. 1258.

2) Zeitschrift des landw. Vereins in Bayern, 1882, Märzheft, S. 3.

3) Compt. rend., T. XCV, p. 614.

eines ähnlichen Gemisches angestellt, habe aber das erste Mal freies Stickgas unter den Fäulnisproducten nicht auffinden können. Ich musste vermuthen, dass es dabei zu einer ausgiebigen Zersetzung gar nicht gekommen war, und da ich es unterlassen hatte, die vor und nach dem Versuche anwesenden Nitrate quantitativ zu bestimmen, so habe ich den Versuch wiederholt.

Versuch XIII.

In den Versuchskolben, welcher in der durch Figur 4 (Tafel III., Bd. XI) wiedergegebenen Weise construirt war, wurde Nährflüssigkeit eingebracht und dieselbe mit Fäulnisbakterien inficirt. Die Zusammensetzung der Flüssigkeit war folgende:

10 gr. Pepton,	5 gr. Salpeter,
5 gr. Kochsalz,	10 gr. Rohrzucker,
3 gr. Natriumphosphat,	

gelöst in destillirtem Wasser und auf 1200 ccm. verdünnt, entsprechend einem Gehalte von 0,4169 % salpetersauren Kalis.

Die Bestimmung der Salpetersäure nach Schulze hatte folgendes Resultat:

20 ccm. Flüssigkeit gaben 20,1 ccm. NO bei 18° C. und 745 mm. Bar.-St., entsprechend 0,4155 % KNO₃.

Der Kolben wurde nunmehr luftleer gepumpt und mit Kohlensäure gefüllt. Sobald die Kohlensäure sich als rein erwies, wurde das Hahnrohr abgeschmolzen und der Kolben sich selbst überlassen.

Eine vor dem Abschmelzen des Hahnrohres aufgefangene Gasprobe (68 ccm.) hinterliess bei der Absorption mit Kalilauge keinen messbaren Gasrest.

Da im weiteren Verlaufe keinerlei Gasentwicklung stattfand, so wurde nach 8 Tagen durch gelindes Erwärmen des Kolbens im Wasserbade eine zur Untersuchung genügende Quantität Gas ausgetrieben, dessen Analyse, nach Hempel's technischen Methoden ausgeführt, folgendes Resultat ergab:

66,5 ccm. des Gases hinterliessen 0,1 ccm.

Nach 14 Tagen wurde eine zweite Gasprobe in gleicher Weise entnommen und untersucht:

58,0 ccm. hinterliessen 0,2₁ ccm.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, dass eine Entwicklung irgend beträchtlicher Mengen eines anderen als aus Kohlensäure bestehenden Gases nicht stattgefunden hatte.

Neben diesem mit Kohlensäure gefüllten Kolben war zur selben Zeit ein mit derselben Flüssigkeit beschickter, nur mit einem übergestülpten Becherglas verschlossener (also für die atmosphärische Luft zugänglicher) Kolben als Controlversuch aufgestellt worden; der Inhalt beider Kolben wurde nun — nach 14 Tagen — auf die Quantität der noch vorhandenen Nitrate untersucht.

1. 20 ccm. Flüssigkeit gaben 19,4 ccm. NO bei 18° C. und 745 mm. Bar.-St.; entsprechend 0,4010% KNO₃.
2. 20 ccm. Flüssigkeit gaben 17,4 ccm. NO bei 735 mm. Bar.-St. und 5° C.; entsprechend 0,3760% KNO₃.

Die Zusammenstellung der Ergebnisse der Analysen beider Kolbeninhalte im Vergleich mit der Menge der ursprünglich in der Flüssigkeit enthaltenen Nitrate:

KNO ₃ -Gehalt der ursprüngl. Lösung:	KNO ₃ -Gehalt im Versuchskolben:	KNO ₃ -Gehalt im Controlkolben:
0,4169%	0,4010%	0,3760%

lässt ersehen, dass eine energische Reduction in keinem der Fälle stattgefunden hatte, und dies lässt mich vermuthen, dass dies auch in dem früheren Versuche, bei dem eine Entwicklung von Stickstoff nicht nachgewiesen werden konnte, der Fall gewesen sein mochte. Salpetrige Säure liess sich in diesem Gemische nicht nachweisen.

Versuch XIV.

500 gr. gelbe Rüben wurden zerrieben und in der halbflüssigen Masse 5 gr. Salpeter aufgelöst, das Gemisch wurde sodann in den wie bei vorigem Versuche vorgerichteten Kolben eingebracht und durch eine in starker Fäulniss befindliche

Harn-Blut-Mischung inficirt; hierauf wurde der Kolben abwechselnd luftleer gepumpt und mit reiner Kohlensäure gefüllt, bis das austretende Gas sich als reine Kohlensäure auswies (67,0 cbcm. hinterliessen bei der Absorption mit Kalilauge keinen messbaren Rückstand). Die mit den aufgefangenen Gasproben angestellten Analysen lieferten folgende Resultate:

nach 8 Tagen:

66,6 cbcm. hinterliessen 0,2 cbcm. unabsorbirtes Gas.

nach 14 Tagen:

58,6 cbcm. hinterliessen 4,9 cbcm. unabsorbirtes Gas,

welch' letzteres sich bei weiterer Untersuchung als Stickstoff auswies; das Auftreten von Stickoxyd, welches Br. Tacke, oder von Stickoxydul, welches Andere zu beobachten Gelegenheit hatten, konnte bei diesem Versuche nicht nachgewiesen werden.

Das Gas enthielt:

91,64 % Kohlensäure,

und

8,36 % Stickstoff.

In diesem Falle hatte demnach eine Zersetzung der Nitrate unter Entwicklung nicht übersehbarer Mengen von Stickstoff stattgefunden; wie aus den Analysen (von denen nur zwei angeführt wurden) hervorging, hat sich aber die Zersetzung erst nach Verlauf von circa 8 Tagen auf die Nitrate übertragen. Jedenfalls wäre die Menge des entwickelten Stickstoffs mit der Zeit noch grösser geworden, wenn der Versuch nicht zu früh hätte abgebrochen werden müssen, da etwas Quecksilber in den Kolben gelangt war. Bei Untersuchung des im Kolben befindlichen Rübensaftes konnte die Anwesenheit nicht unbeträchtlicher Mengen von salpetriger Säure (im gebundenen Zustande) nachgewiesen werden, insofern bei der Jodkaliumstärkereaction sofort eine intensive Blaufärbung auftrat.

Versuch XV.

Um zu entscheiden, ob die Bacterien, welche bei Mangel an Sauerstoff Nitrate unter Stickstoffentwicklung zu zersetzen

vermögen, dieselben bei Anwesenheit genügender Mengen dieses Gases nicht angreifen, wurde ein diesbezüglicher Versuch in dem durch Figur 3 der früheren Abhandlung wiedergegebenen Apparate, welcher gestattete, nachträglich Sauerstoff aus dem Gasometer zuzulassen, angestellt, und zwar wurde diesmal das Nitrat einer Fäulnismischung zugesetzt, von welcher früher (durch Versuch IV) festgestellt war, dass in ihr während normal verlaufender Zersetzung bei Gegenwart von Sauerstoff kein Stickstoff abgeschieden werde. Die Versuchsmischung bestand aus:

250 gr. pulverisirtem getrockneten Blut,

235 gr. Kuhharn,

180 gr. kohlen-saurem Kalk,

unter Zusatz von

5 gr. Salpeter (gelöst im Harn).

Der Apparat erhielt die früher beschriebene Anordnung: nur wurde an Stelle des sonst verwendeten Hahnrohres (in Figur 1 Tafel III durch c k i bezeichnet) ein mit Quecksilberschlüssen versehener Zweiweghahn nach Greiner und Friedrichs, welcher gegen das Eindringen von atmosphärischer Luft die grösste Sicherheit bietet, angesetzt und die Länge des mit dem Kolben verschmolzenen Rohrstückes so gewählt, dass der während des Versuches durch Abschmelzen entfernte Zweiweghahn später leicht wieder angesetzt werden konnte. Der Versuchskolben wurde nun, während der nach dem Gasometer führende unter Quecksilber befindliche Hahn geschlossen war, durch das Zweiweghahnrohr abwechselnd ausgepumpt und mit Kohlensäure gefüllt, bis das austretende Gas sich als reine Kohlensäure zu erkennen gab, worauf das Hahnrohr abgeschmolzen wurde und der Kolben, welcher im Wasserbade constant eine Temperatur von 35° C. behielt, sich selbst überlassen blieb. Es trat sehr bald Gasentwicklung ein und die über Quecksilber aufgefangenen Gasproben wurden nach Hempel's Methode auf ihren Gehalt an Kohlensäure untersucht. Von den ausgeführten Analysen brauchen nur einige hier Platz zu finden.

Die Reinheit der zur Füllung des Kolbens benutzten Kohlensäure ergibt sich aus der Analyse des beim Durchleiten aufgefangenen Gases:

66,8 ccm. hinterliessen nach Absorption mit Kalilauge keinen messbaren Rückstand.

Gas, welches nach 2 Tagen aufgefangen worden war, gab bei der Analyse folgende Werthe:

66,8 ccm. Gas hinterliessen 10,0 ccm.,

welche sich bei weiterer Untersuchung als aus Stickstoff bestehend erwiesen.

Das Gas bestand aus:

14,97% Stickstoff,

85,03% Kohlensäure,

100,00.

Gas, welches nach 4 Tagen aufgefangen war, gab folgendes Resultat:

52,8 ccm. Gas hinterliessen 9,4 ccm.

Das Gas bestand aus:

17,80% Sauerstoff,

82,20% Kohlensäure,

100,00.

Um das Auftreten von Stickstoff mit Sicherheit zu constatiren, wurde das Hahnrohr wieder angeschmolzen, der Kolben wieder mit reiner Kohlensäure gefüllt, und die aufgefangenen Gasproben zur Untersuchung verwendet.

Analyse des Gases, welches beim Abschmelzen des Hahnrohres aufgefangen wurde:

68,2 ccm. hinterliessen keinen messbaren Gasrest; das Gas besteht aus reiner CO_2 .

Analyse des Gases, welches nach 10 Stunden aufgefangen wurde:

67,0 ccm. hinterliessen 0,8 ccm. Gas.

Analyse des Gases, welches nach 2 Tagen aufgefangen wurde:

66,6 ccm. hinterliessen 8,8 ccm. Gas.

Die weiterhin aufgefangenen Gasproben wurden nunmehr der exacten gasometrischen Analyse unterworfen.

Analyse des nach 3 Tagen aufgefangenen Gases:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	148,8	0,7317	14,4°	103,4
Nach Absorption der Kohlensäure	48,6	0,6387	14,5°	29,48

Das Gas enthält:

71,49% Kohlensäure,

28,51% Stickstoff,

100,00.

Analyse des nach 8 Tagen aufgefangenen Gases:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	148,8	0,7206	17,0°	100,9
Nach Absorption der Kohlensäure	55,7	0,6706	17,0°	35,17

Das Gas enthält:

65,14% Kohlensäure,

34,86% von KOH nicht absorbiertes Gas.

Untersuchung dieses Gasrestes:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	126,6	0,2557	2,0°	32,14
+ Sauerstoff	236,2	0,3622	1,9°	84,96
+ Luft	316,5	0,4497	5,4°	139,60
Verpuffung erfolgt erst nach Zusatz von Knallgas.				
Nach der Verpuffung	317,6	0,4493	6,4°	139,50
Nach Absorption mit Natronlauge	313,3	0,4563	6,6°	139,60

Der Rückstand bestand demnach nur aus Stickstoff.

Resultat:

65,14% Kohlensäure,

34,86% Stickstoff,

100,00.

Analyse des nach 14 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v,
Gas feucht gemessen	144,0	0,7281	17,0°	98,71
Nach Absorption der Kohlen- säure	46,6	0,6931	17,0°	30,41

Uebergeführt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	96,0	0,2353	5,8°	22,17
+ Sauerstoff	224,9	0,3598	6,4°	79,07
+ Luft	307,2	0,4389	6,2°	131,8
Es erfolgt nur nach Zusatz von Knallgas Verpuffung.				
Nach der Verpuffung	307,0	0,4387	6,2°	131,7

NaOH bewirkt keine Absorption.

Resultat: 69,19% Kohlensäure,
 30,81% Stickstoff.

Aus den angeführten Analysen ergibt sich nun mit Sicherheit, dass bei Gegenwart von Nitraten in Fäulnissgemischen in der That Stickstoff in gasförmiger Gestalt ausgeschieden wird.

Zur Entscheidung der bereits angeregten Frage, ob und in welcher Weise durch Zutritt von Sauerstoff eine Beeinflussung des Processes stattfindet, wurde der Zweiweghahn wieder angesetzt, der Versuchskolben abwechselnd leer gepumpt und mit Sauerstoff gefüllt, bis das austretende Gas sich als reiner Sauerstoff erwies, der Hahn wieder abgeschmolzen, der Gasometer mit reinem Sauerstoff gefüllt und die Communication zwischen diesem und dem Versuchskolben hergestellt. Es fand nunmehr lebhafter Verbrauch von Sauerstoff und Bildung reichlicher Mengen von Kohlensäure statt, so dass der Zufluss des Sauerstoffs aus dem Gasometer nicht automatisch je nach Verbrauch stattfinden durfte, sondern derselbe direct von Zeit zu Zeit durch den Kolben geleitet werden musste, denn das Gas reicherte sich in kurzer Zeit dermassen mit Kohlensäure an, dass sehr bald Mangel an Sauerstoff eingetreten sein würde. Es wurde deshalb täglich

circa 1 Liter Sauerstoff in den Kolben eingeführt. Die Analysen der entnommenen Gasproben hatten folgende Resultate:

Analyse des beim Abschmelzen des Glashahnes aufgefangenen Sauerstoffgases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	104,0	0,2419	6,2°	24,60
+ electrolyt. Wasserstoff . .	332,5	0,4632	6,2°	150,60
Nach der Verpuffung . . .	223,9	0,3481	5,8°	76,50

Angewandtes Gas = 24,60.

Sauerstoff gefunden = 24,70.

Das Sauerstoffgas war demnach rein.

Analyse des Sauerstoffs im Gasometer:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	128,1	0,2669	5,2°	33,56
+ Wasserstoff	389,1	0,5180	5,4°	197,6
Nach der Verpuffung . . .	255,4	0,3907	5,4°	97,85

Angewandtes Gas = 33,56.

Sauerstoff gefunden = 33,30.

Analyse des nach 8 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	146,0	0,7265	16,0°	100,20
Nach Absorption der CO ₂ .	93,0	0,6928	15,0°	61,08

Uebergeführt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen . . .	114,3	0,2505	1,2°	28,51
+ Wasserstoff	329,4	0,4536	0,2°	149,3
Nach der Verpuffung . . .	192,5	0,3336	0,9°	64,01

Angewandtes Gas = 28,51,

Sauerstoff gefunden = 28,43.

Resultat:

39,04% Kohlensäure,

60,79% Sauerstoff,

99,83.

Es war somit nach einer Dauer des Versuchs von 8 Tagen bei Gegenwart reichlicher Mengen Sauerstoffs eine Entwicklung von gasförmigem Stickstoffe nicht eingetreten; während bei Abwesenheit von Sauerstoff aus dem gleichen Gemische das Gasgemenge bereits nach 3 Tagen 28,51% Stickstoff aufwies.

Um nun dem Einwande zu begegnen, das Nichtauftreten von Stickstoff bei dieser Anordnung sei nicht der Gegenwart des Sauerstoffs zuzuschreiben, sondern beruhe vielleicht nur darauf, dass das zugesetzte Nitrat bereits vollständig zersetzt war, als die Zufuhr des Sauerstoffs eingeleitet wurde — eine Annahme, der unter Umständen das Resultat der vorher mitgetheilten Analysen insofern eine Stütze bieten könnte, als bei dem nach 8 Tagen aufgefangenen Gase 34,86%, bei dem nach 14 Tagen aufgefangenen nur 30,81% Stickstoff gefunden worden war — wurde jetzt der Zufluss von Sauerstoff unterbrochen, indem die Communication zwischen Gasometer und Versuchskolben durch den unter Quecksilber befindlichen Hahn des Gasometers abgestellt wurde. Es fand trotzdem lebhafte Gasentwicklung statt und als nach 3 Tagen eine Gasprobe der Analyse unterworfen wurde, konnte wieder das Vorhandensein von Stickstoff nachgewiesen werden; Kalilauge absorbirte eine grosse Menge des entwickelten Gases und der Rückstand verpuffte mit Sauerstoff gemengt nicht; — Sumpfgas war demnach nicht zugegen.

Analyse des am 3. Tage aufgefangenen Gases:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	173.2	0.7257	12,5°	120.2
Nach Absorption der Kohlen- säure	16.9	0.6612	12,5°	10.69
Uebergelührt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen	55.3	0.1871	3,0°	10.24
+ Wasserstoff	209.9	0.3387	3,2°	70.27
Verpufft nur nach Zusatz von Knallgas.				
Nach der Verpuffung	196.5	0.3253	3,4°	63.13

Resultat:	Kohlensäure	91,11 ⁰ / ₀ ,
	Sauerstoff	2,07 ⁰ / ₀ ,
	Stickstoff	6,82 ⁰ / ₀ ,
		100,00.

Die Resultate dieses Versuches zeigen deutlich, dass zunächst der freie Sauerstoff zur Oxydation der organischen Substanzen unter Bildung grosser Mengen von Kohlensäure verbraucht und dass bei eintretendem Sauerstoffmangel wieder das Nitrat angegriffen wird, unter Entwicklung von freiem Stickstoff. Wird hierauf wieder Sauerstoff in den Versuchskolben eingeführt, so nimmt der Stickstoff im Verhältniss zu der stattgefundenen Verdünnung ab und eine Vermehrung desselben lässt sich jetzt nicht mehr nachweisen.

So ergab z. B. die Analyse des durch Sauerstoff verdünnten Gases nach 3 Tagen:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	158,1	0,7191	14,0 ^o	108,15
Nach Absorption der CO ₂ . . .	45,4	0,6655	12,0 ^o	28,94

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	106,6	0,2393	4,0 ^o	25,14
+ Wasserstoff	263,4	0,3917	4,0 ^o	101,69
Nach der Verpuffung	145,0	0,2770	3,8 ^o	39,61

Resultat:	73,24 ⁰ / ₀ Kohlensäure,
	22,02 ⁰ / ₀ Sauerstoff,
	4,74 ⁰ / ₀ Stickstoff,
	100,00.

Wird der Sauerstoffzufluss wieder abgestellt, so erhält man nach einiger Zeit wieder ein stickstoffreicheres Gemenge, der Sauerstoff verschwindet vollständig, das Auftreten von Sumpfgas oder Wasserstoff, welche man bei diesen Fäulnisprocessen hätte erwarten dürfen, war aber nach 8 Tagen noch nicht zu constatiren.

Gas, welches bei Sauerstoffabschluss nach 8 Tagen aufgefangen worden war, gab bei der Analyse folgende Daten:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	139,2	0,7259	7,20	98,45
Nach Absorption der Kohlensäure	6,3	0,6419	5,20	3,97
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen . . .	30,6	0,2943	5,30	8,83
+ Sauerstoff	123,6	0,3871	5,70	46,87
+ Luft	189,5	0,4527	6,10	83,91
Nach der Verpuffung auf Zufügung von Knallgas . .	189,5	0,4527	6,10	83,91

Resultat: 96,00% Kohlensäure,
 4,00% Stickstoff,
 100,00.

Da Versuch XIII, welcher einen Einblick in die in Flüssigkeiten bei Denitrificationsprocessen zu Tage tretenden Erscheinungen gewähren sollte, zu einer Umwandlung der Nitrate in Ammonsalze überhaupt nicht geführt hatte, so wurde dieser Versuch unter Abänderung der Bedingungen wiederholt, und zwar bestand diese Aenderung im Zusatze von etwas Kloakenschlamm zur Flüssigkeit. Nach den Untersuchungen von Hoppe-Seyler¹⁾ entwickelt sich aus derartigen Flüssigkeiten Sumpfgas und Kohlensäure, aber kein Stickstoff; es war nun von Wichtigkeit, zu ermitteln, in welcher Weise der Zusatz von Nitraten zu derartigen Gemischen den Zersetzungsprocess beeinflussen werde.

Versuch XVI.

In dem Versuchskolben, welcher in der aus Figur 4 ersichtlichen Weise eingerichtet war, befand sich eine Mischung von Wasser, Kloakenschlamm und 5 gr. Salpeter auf 1000 ebem. Flüssigkeit, welche noch mit etwas in Fäulniß befindlicher

1) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 124.

Harn-Blut-Mischung versetzt war. Dieser Kolben befand sich in einem constant auf 35° erhaltenen Wasserbade und wurde abwechselnd ausgepumpt und mit Kohlensäure gefüllt, bis die Analyse die Reinheit der aus der Gasableitungsröhre austretenden Kohlensäure anzeigte; hierauf wurde der Glashahn abgeschmolzen und der Kolben sich selbst überlassen. Zunächst wurde nun etwas Kohlensäure von der Flüssigkeit absorbiert, was sich durch das Steigen des Quecksilbers in Gasableitungsrohre bemerklich machte; nach 8 Tagen trat jedoch eine regelmässige Gasentwicklung ein und nun wurden von Zeit zu Zeit Gasproben entnommen und analysirt.

Die beim Abschmelzen des Hahnes aufgefangene Kohlensäure erwies sich als rein, 67,5 cbcm. Gas hinterliessen bei der Absorption mit Kalilauge keinen messbaren Rückstand.

Die Analyse des Gases, welches nach 8tägigem Stehen aufgefangen worden war, hatte folgendes Ergebniss:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	115.8	0.7327	17.40	79.77
Nach Absorption der CO ₂ . .	71.3	0.7026	18.00	47.00

Uebergeführt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	108.1	0.2471	6.80	26.06
+ Sauerstoff	213.0	0.3491	6.90	72.53
Nach der Verpuffung (nach vorherigem Zusatze von Knallgas)	213.1	0.3490	6.90	72.54

Es hatte keine Contraction stattgefunden, Sumpfgas war demnach nicht vorhanden, das nach der Absorption der Kohlensäure verbleibende Gas bestand aus Stickstoff.

Resultat: 41.08% Kohlensäure.
 58.92% Stickstoff.

100.00.

Nach Ablauf weiterer 10 Tage wurde wiederum eine Gasprobe untersucht und zwar mit folgendem Ergebniss:

	v.	Druck.	Temp.	v.
Gas feucht gemessen	144,3	0,7221	17,0°	98,10
Nach Absorption der CO ₂ . .	122,9	0,7185	16,0°	83,42

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	110,1	0,2126	3,6°	26,36
+ Sauerstoff	209,9	0,3399	3,9°	70,34
+ Luft	295,9	0,4217	4,0°	122,98
Nach der Verpuffung (nach Zusatz von Knallgas) . . .	295,8	0,4216	4,0°	122,91

Resultat: 14,96% Kohlensäure,
 85,04% Stickstoff,
 100,00.

Wie die analytischen Resultate zeigen, hat bei dieser Anordnung des Versuches eine ganz enorme Stickstoffentwicklung stattgefunden, Sumpfgas hatte sich dabei nicht entwickelt. Der Kolben blieb sich selbst überlassen und nur von Zeit zu Zeit — von 8 zu 8 Tagen — wurden Gasproben analysirt, um zu ermitteln, ob und wann eine Bildung von Sumpfgas eintreten würde. Das erste Auftreten von Sumpfgas konnte nach 29 Tagen constatirt werden.

Analyse:

	v.	Druck.	Temp.	v.
Gas feucht gemessen	139,0	0,7234	6,3°	98,28
Nach Absorption der CO ₂ . .	104,8	0,7185	7,0°	73,42

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	90,0	0,2191	6,7°	19,25
+ Luft	306,3	0,4294	6,7°	128,37
+ Sauerstoff	401,1	0,5199	6,8°	203,46
Nach Zusatz von Knallgas und Verpuffung	392,5	0,5128	4,5°	198,01
Nach Absorption der CO ₂ . .	385,4	0,5207	5,3°	196,86
+ Wasserstoff	544,0	0,6767	5,7°	360,90
Nach der Verpuffung	275,6	0,3305	6,1°	89,10

Resultat:	74.71% Stickstoff.
	23.84% Kohlensäure.
	1.45% Sumpfgas,
	<hr/> 100.00.

Im weiteren Verlaufe der Zersetzung nahm die Menge des vorhandenen Stickstoffes mehr und mehr ab, bis dieselbe nach weiteren 30 Tagen gänzlich verschwunden war und das Gasgemisch nur noch aus Kohlensäure und Sumpfgas bestand.

Analyse:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	120.0	0,6959	6,0°	81,81
Nach Absorption der CO ₂	59,9	0,6385	6,2°	37,10

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	133.0	0,2635	7,3°	34,13
+ Sauerstoff	432,5	0,5541	7,2°	233,49
Nach der Verputtung	353,9	0,4782	7,2°	164,88
Nach Absorption der CO ₂	298,6	0,4505	6,3°	130,78

Durch Natronlauge absorbirte Kohlensäure entsprechend CH₄ = 34.10.

Angewandtes Gas = 34.13.

Resultat:	54.23% Kohlensäure.
	45.70% Sumpfgas,
	<hr/> 99.93.

Durch diesen Versuch ist erwiesen, dass durch Zusatz von Salpeter zu Flüssigkeiten, welche bei Abschluss von Sauerstoff Sumpfgas produciren, die Entwicklung dieses Gases so lange unterdrückt wird, als noch unzersetzte Nitrate anwesend sind, und dass die Zersetzung der Nitrate unter Entbindung bedeutender Mengen von Stickstoff vor sich geht. —

Ich habe früher durch Versuche nachgewiesen, dass bei der Fäulniß von organischen Stoffen (Dünger etc.) in nur wenig feuchtem Zustande ebenfalls nur Kohlensäure und Sumpfgas entstehen, und habe nunmehr durch die im Folgenden beschriebenen zwei Versuche zu ermitteln gesucht, ob die Anwesenheit der Nitrate hier in gleicher Weise den Zersetzungs-

process beeinflusse, wie dies bei Flüssigkeiten geschehen war. Zu diesen Versuchen wurden in gleicher Weise wie bei Versuch XVI eingerichtete Kolben mit trockenem Pferdedünger (Versuch XVII) und mit Kuhdünger (Versuch XVIII) gefüllt und mit einer Lösung von 5 gr. Salpeter in 100 ccm. Harn befeuchtet; die Kolben wurden in der früher beschriebenen Weise ausgepumpt, mit Kohlensäure gefüllt und die entwickelten Gase von Zeit zu Zeit der Analyse unterworfen. Die Resultate dieser Versuche sind nachstehend mitgetheilt.

Versuch XVII.

Kolbeninhalt: 300 gr. Pferdedünger,
100 gr. Harn,
5 gr. Salpeter.

68,0 ccm. der beim Ansetzen des Kolbens durchgeleiteten Kohlensäure hinterliessen (nach der Absorption der CO₂) keinen messbaren Gasrest.

Analyse des nach 10 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	145,0	0,7333	15,0°	100,8
Nach Absorption der Kohlen- säure	82,4	0,6931	14,6°	54,22

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	110,1	0,2497	6,7°	26,83
+ Sauerstoff	219,2	0,3556	6,9°	76,02
+ Luft	299,0	0,4327	7,0°	126,10
Nach der Verpuffung	299,0	0,4326	7,0°	126,10
Nach Zulassung von Natron- lauge	294,5	0,4384	7,0°	125,90

Das nach der Absorption der Kohlensäure verbliebene Gas bestand nur aus Stickstoff; Sumpfgas war nicht anwesend.

Resultat: 46,21% Kohlensäure,
 53,79% Stickstoff.
 100,00.

Die Analyse des nach 20 Tagen aufgefangenen Gases ergab folgende Daten:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	143,6	0,7221	17,0°	97,62
Nach Absorption der Kohlen- säure	46,4	0,6811	17,0°	29,75

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	101,9	0,2324	3,9°	23,35
+ Luft	185,8	0,3141	3,9°	57,59
+ Sauerstoff	301,9	0,4253	3,9°	126,6
Nach der Verpuffung (auf Zu- satz von Knallgas)	311,4	0,4116	3,8°	126,4

Resultat: 69,53% Kohlensäure,
 30,47% Stickstoff,
 100,00.

Analyse des nach 30 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	106,8	0,7299	5,2°	76,51
Nach Absorption der Kohlen- säure	29,31	0,7098	6,4°	20,33

Uebergelührt in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen	80,1	0,3457	6,4°	27,06
+ Sauerstoff	253,5	0,5220	6,6°	129,20
+ Luft	321,2	0,5936	6,5°	186,23
Nach der Verpuffung (auf Zu- satz von Knallgas)	316,7	0,5862	6,6°	181,37
Nach Zulassung von Natron- lauge	308,4	0,5926	4,4°	179,87

Resultat: 73,46% Kohlensäure,
 25,07% Stickstoff,
 1,47% Sumpfgas,
 100,00.

Analyse des nach circa 60 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	106,6	0,7298	6,4°	76,02
Nach Absorption der CO ₂ . .	63,3	0,6893	6,4°	42,63
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen	149,3	0,2770	6,5°	40,40
+ Luft	217,4	0,3455	6,4°	73,39
+ Sauerstoff	380,0	0,4023	5,4°	149,91
Nach der Verpuffung	263,6	0,3909	6,2°	100,76
Nach Absorption der CO ₂ . .	186,3	0,3333	6,6°	60,63
+ Wasserstoff	389,4	0,5281	6,6°	200,79
Nach der Verpuffung	247,7	0,3911	6,7°	94,55

Resultat: 43,93% Kohlensäure,
55,69% Sumpfgas,

99,62.

Versuch XVIII.

Kolbeninhalt: 500 gr. Kuhdünger,
100 gr. Harn,
5 gr. Salpeter.

Die nach dem Durchleiten durch den Versuchskolben aufgefangene Kohlensäure hinterliess bei der Absorption mit Kalilauge keinen messbaren Gasrest, die atmosphärische Luft war somit aus dem Kolben vollständig verdrängt.

Analyse des nach 10 Tagen aufgefangenen Gases:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	145,0	0,7310	16,9°	100,10
Nach Absorption der Kohlen- säure	39,3	0,6781	17,0°	25,09
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen	90,9	0,2306	5,8°	20,57
+ Sauerstoff	167,1	0,3024	6,3°	49,52
+ Luft	267,8	0,4023	5,3°	105,70
Nach der Verpuffung (nach Zusatz von Knallgas) . .	267,9	0,4023	5,6°	105,62

Resultat: 74,94% Kohlensäure,
25,06% Stickstoff,
100,00.

Gas, welches nach 20 Tagen aufgefangen wurde, gab bei der Analyse folgende Werthe:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	134,0	0,7156	18,0°	89,96
Nach Absorption der Kohlen- säure	66,9	0,6711	18,0°	42,12
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen	98,8	0,2318	4,2°	22,55
+ Sauerstoff	209,9	0,3399	4,1°	70,29
+ Luft	269,9	0,3978	4,2°	105,74
Nach der Verpuffung (auf Zu- satz von Knallgas)	269,8	0,3979	4,1°	105,76

Resultat: 53,18% Kohlensäure,
46,82% Stickstoff,
100,00.

Analyse des nach 25 Tagen aufgefangenen Gases:

	v.	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen	148,0	0,7377	7,2°	106,38
Nach Absorption der Kohlen- säure	80,9	0,7110	6,6°	56,16
Uebergeführt in's Eudiometer:				
Gas feucht gemessen	106,4	0,2377	6,1°	24,74
+ Luft	176,3	0,3059	6,2°	52,73
+ Sauerstoff	224,1	0,3539	6,2°	77,55
Nach der Verpuffung (auf Zu- satz von Knallgas)	220,1	0,3491	6,4°	75,04
Nach Absorption der CO ₂	207,5	0,3628	5,3°	73,84

Resultat: 47,21% Kohlensäure,
50,23% Stickstoff,
2,56% Sumpfgas,
100,00.

Gas, welches nach circa 60 Tagen aufgefangen war, gab bei der Analyse folgende Resultate:

	v,	Druck.	Temp.	v
Gas feucht gemessen . . .	120,9	0,7318	6,4°	86,45
Nach Absorption der Kohlen- säure	68,3	0,7023	6,5°	46,85

Uebergeliefert in's Eudiometer:

Gas feucht gemessen . . .	93,3	0,3566	6,4°	32,51
+ Luft	167,6	0,4309	6,2°	70,62
+ Sauerstoff	328,3	0,5984	6,2°	192,09
Nach der Verpuffung . . .	245,0	0,5108	6,4°	122,28
Nach Absorption der Kohlen- säure	191,2	0,4789	5,4°	89,79
+ Wasserstoff	389,4	0,6870	5,6°	262,15
Nach der Verpuffung . . .	182,9	0,4649	6,1°	83,47

Durch Natronlauge absorbirte CO₂ = Sumpfgas = 32,49,
Angewandtes Gas = 32,51.

Resultat: 45,81% Kohlensäure,
 54,16% Sumpfgas.
 99,97.

Aus den Resultaten der Analysen von Versuch XVII und XVIII kann man ersehen, dass auch bei wenig feuchten Gemischen (der getrocknete Dünger saugte die eingeführte Flüssigkeit vollständig auf), welche bei Abwesenheit von Sauerstoff bei der Fäulniss nur Sumpfgas lieferten, durch Beifügung von salpetersauren Salzen die Entwicklung von Sumpfgas bis zu erfolgter Zersetzung der Nitrate vollständig unterdrückt wird und dass bei diesem Zersetzungsprocess bedeutende Mengen von Stickstoff frei werden.

Man kann sich hier die Frage vorlegen, wird dieser Stickstoff direct in Folge eines durch die Mikroorganismen verursachten Reductionsprocesses aus den Nitraten abgespalten, oder ist sein Auftreten nur die Folge einer zwischen den

Stoffwechselproducten der Organismen secundär stattfindenden Reaction, dergestalt, dass z. B. aus den Nitraten durch Reduction entstandene salpetrige Säure mit dem weiterhin gebildeten Ammoniak zu salpetrigsaurem Ammon verbunden, durch Zersetzung dieses zum Auftreten von Stickstoff Veranlassung geben würde. Ich meinerseits glaube annehmen zu müssen, dass diesem letzteren Prozesse nur eine untergeordnete Bedeutung für die (oft so beträchtliche) Entwicklung von Stickstoff zukommt und dass den Oxydationsstufen des Stickstoffs der Sauerstoff in ähnlicher Weise durch die Organismen entzogen wird, wie dies z. B. beim Ueberleiten von derartigen Oxydationsstufen über glühendes Kupfer der Fall ist. Im gegentheiligen Falle müsste bei der Zersetzung der organischen Substanzen bei Zutritt von Sauerstoff resp. der weiterhin statthabenden Umwandlung von Ammonsalzen in Nitrite ebenfalls das Auftreten von Stickstoff zu constatiren sein; fernerhin könnte das Zuführen von Sauerstoff nicht — wie dies bei Versuch XV deutlich zu bemerken war — plötzlich die Stickstoffentwicklung unterdrücken, da ja die betreffenden Salze auch nach dessen Zuführung noch vorhanden sein mussten.

Da bei der Umwandlung der Nitrate in Nitrite und Ammoniak auch Ammoniumnitrat zugegen ist, so würde man analog der Zersetzung des Nitrits unter Bildung von Stickstoff auch eine Zerlegung des Nitrats unter Entwicklung von Stickoxydul erwarten dürfen; ich habe aber dies Gas in keinem der erwähnten Versuche nachweisen können, und in Zusammenhang damit dürfte wohl die Thatsache zu bringen sein, dass die Zersetzung der Nitrate und Nitrite des Ammoniums eine höhere Temperatur beansprucht, als bei diesen Processen in der Natur zu herrschen scheint. Bei einem directen Versuche konnte ich weder bei einer 1procentigen, noch bei einer 10procentigen Lösung von Ammoniumnitrit unterhalb einer Temperatur von 50° C. eine Gasentwicklung wahrnehmen, während allerdings Amidosäuren mit salpetriger Säure bereits bei gewöhnlicher Temperatur unter Entbindung von Stickstoff reagiren.

Kurz zusammengefasst erhält man aus den früheren und den im Vorstehenden mitgetheilten Untersuchungen folgende Resultate:

Während der Fäulniss organischer stickstoffhaltiger Stoffe bei Abwesenheit von Sauerstoff und bei der Zersetzung derselben unter Anwesenheit reichlicher Mengen dieses Gases ist eine Entwicklung von freiem Stickstoff nicht zu beobachten; im ersteren Falle sind Sumpfgas und Kohlensäure, im letzteren Kohlensäure allein die gasförmigen Producte. Auch bei der weiterhin in Gegenwart von Sauerstoff stattfindenden Ueberführung der Ammonsalze in Nitrate lässt sich das Auftreten freien Stickstoffs nicht constatiren; befinden sich jedoch in bei Sauerstoffmangel faulenden organischen Gemischen Nitrate, so wird der Stickstoff dieser letzteren zum Theil in gasförmiger Gestalt in Freiheit gesetzt und eine Entwicklung von Sumpfgas tritt erst nach erfolgter Zersetzung derselben ein.

Tübingen, im März 1887.