

## **Angebliche Stickstoffgärung durch Fäulnisbakterien.**

Zu der Arbeit von A. Schittenhelm und F. Schröter:  
«Über die Spaltung der Hefenucleinsäure durch Bakterien».

Eine kurze kritische Bemerkung.

Von

**Carl Oppenheimer**, Assistenten des Instituts.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule (Prof. Zuntz) zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Dezember 1903.)

Auf S. 70 des XL. Bandes dieser Zeitschrift veröffentlichten Schittenhelm und Schröter die Resultate einiger gasanalytischer Versuche über Fäulnisbakteriengärung, die sie zu dem Resultate führen, daß diese Bakterien bei Anwesenheit von Nucleinsäure ganz ungeheure Mengen freien Stickstoffs entwickeln.

Wenn diese Tatsache sich bestätigte, so wäre sie von außerordentlicher Bedeutung für die Stoffwechselphysiologie, so daß ich sie mit großem Interesse entgegennahm. Da mich allerdings eigene Versuche, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, zu der Ansicht geführt hatten, daß die Darmbakterien keine erheblichen, in Betracht kommenden Mengen freien Stickstoffs produzieren, wenn keine Nitrite oder Nitrate vorhanden sind, mußte ich der Arbeit skeptisch gegenüber treten; da ich jedoch unter anderen Bedingungen (im Vacuum) gearbeitet habe, so hätte ich entgegenstehende Tatsachen hinnehmen müssen, wenn sie begründet wären. Ich mußte also die Zahlen der Autoren genau nachrechnen. Bei dieser Prüfung der Zahlenangaben von Schittenhelm und Schröter lassen sich nun mehrere grundlegende Fehler nachweisen, die ihre Resultate völlig illusorisch machen.

Diese sind so ausschlaggebend, daß man andere, an sich nicht unwichtige Bedenken nunmehr ganz unterdrücken kann. Es erscheint nämlich einerseits die Versuchsanordnung in bezug auf Gasdichtigkeit nicht einwandfrei, sodaß eventuell atmosphärische Luft eingesaugt werden konnte; andererseits hätte man bei einer prinzipiell so neuen und wichtigen Behauptung eine Abnahme des Stickstoffs auch durch N-Bestimmung vor und nach der Gärung in der Flüssigkeit kontrollieren müssen.

Wenden wir uns also ohne weitere Kritik zu der I. Analyse. Schittenhelm und Schröter lassen die Gärung bei Anwesenheit von Luft vor sich gehen und untersuchen nachher das Gärungsgas + der Luft, resp. dem daraus durch partiellen Sauerstoffverbrauch durch die Bakterien entstandenen Gemenge. Von diesem Gemisch werden in 100 ccm nacheinander  $\text{CO}_2$  und O bestimmt. Es ergibt sich 20,6%  $\text{CO}_2$  und 8,4% O. Der Rest von 71 ccm dient zur weiteren Analyse. Es werden davon 10,8 ccm verwendet. Zu diesen werden 38,8 ccm reiner Sauerstoff hinzugesaugt und explodiert, wobei eine Kontraktion von 13,2 ccm eintritt. Weitere 0,7 ccm werden dann noch durch Kalilauge absorbiert, sodaß 35,7 ccm Restgas bleiben. Es ist also Wasserstoff und Methan vorhanden gewesen.

Führt man nun die Berechnung des Gases richtig aus, so erhält man folgende Werte:

Aus der Kontraktion von 13,2 ergibt sich nach Abzug der Kontraktion für  $\text{CH}_4$ :  $\text{H} = 7,9$  ccm.

Aus der gefundenen  $\text{CO}_2$ -Menge von 0,7 ergibt sich  $\text{CH}_4 = 0,7$  ccm.

Nach den Gleichungen  $2\text{H}_2 + \text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 = \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$  ist an Sauerstoff verbraucht worden  $3,95 + 1,4 = 5,4$  ccm.

Zugesetzt waren 38,8 ccm, das Restgas enthält demnach noch 33,4 ccm O. Das gesamte Restgas betrug noch 35,7, folglich bliebe ein als N anzusehender Rest von 2,3 ccm.

Die eigentlich notwendige Schlußkontrolle des noch tatsächlich vorhandenen Sauerstoffes durch Explosion mit zugesetztem reinen Wasserstoff ist von Schittenhelm und Schröter aus Gründen, die wir unten bald ersehen werden,

nicht ausgeführt worden, sodaß wir gezwungen sind, diesen Rest unter Vorbehalt tatsächlich als Stickstoff anzusehen.

Die so erhaltenen Zahlen geben die prozentische Zusammensetzung des von  $\text{CO}_2$  und  $\text{O}_2$  befreiten Restgases, indem man die Kubikzentimeter durch 10,8 dividiert.

$$\begin{array}{r} \text{Dann ergibt sich:} \qquad \qquad \qquad \text{H} = 72,9\% \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{CH}_4 = 6,48\% \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \hline \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad 79,4\% \\ \text{sodaß für den Stickstoff noch} \qquad \qquad \qquad 20,6\% \end{array}$$

übrig bleiben. Nach der Annahme von ca. 2,3 ccm Reststickstoff wären auch ca. 21% Stickstoff des  $\text{CO}_2$ - und  $\text{O}_2$ -freien Gases (10,8 ccm) verlangt, sodaß diese Zahlen innerhalb der Fehlergrenze übereinstimmen.

Dies wäre also die prozentische Zusammensetzung des  $\text{CO}_2$ - und  $\text{O}_2$ -freien Restgases. Um diese Zahlen auf das ursprüngliche Gas umzurechnen, muß man berücksichtigen, daß dieser Rest 71% betrug; man muß also die erhaltenen Zahlen mit 0,71 multiplizieren. Dann ergibt sich als komplette Analyse des Gärungsgases + Luft:

$$\begin{array}{r} \text{H}_2 = 51,74\% \\ \text{CH}_4 = 4,60\% \\ \text{CO}_2 = 20,6\% \\ \text{O}_2 = 8,4\% \\ \text{N}_2 = 14,66\% \text{ (Differenz)} \\ \hline 100,00\% \end{array}$$

Aus den eigenen Zahlen ergibt sich also, daß von einer Neubildung von Stickstoff gar keine Rede sein kann, da der N-Gehalt sogar viel kleiner erscheint, als er nach dem Sauerstoffgehalt sein müßte. Bei 8,4% O müßte er selbst dann noch ca. 33,5% betragen, wenn man gar keine O-Zehrung durch die Bakterien annimmt. Es liegen hier also zweifellos noch Ungenauigkeiten in der Analyse vor, die sich nicht aufklären lassen.

Dagegen rechnen nun Schittenhelm und Schröter für H und N ganz andere Werte heraus, nämlich  $\text{H} = 7,9\%$ , woraus sie dann unter Anrechnung von 20,6%  $\text{CO}_2$  und

8,4% O einen N-Gehalt von 58,5% angeben. Der Methanwert  $\text{CH}_4 = 4,6\%$  stimmt mit meiner Berechnung überein. Zu ihrem H-Wert von 7,9% sind sie augenscheinlich in der Art gelangt, daß sie die gefundenen Kubikzentimeter einfach als Prozente einsetzten. Ein weiterer Grundirrtum geht aus den Zahlen dieser ersten Analyse klar hervor. Schittenhelm und Schröter haben nämlich den nach der Explosion übrig gebliebenen Gasrest von 35,7 ccm ohne weiteres als Stickstoff bezeichnet,<sup>1)</sup> während er in Wirklichkeit, wie wir oben zeigten, fast ganz aus dem unverbrannten Rest des zugesetzten Sauerstoffes bestand, und nur ca. 2 ccm davon Stickstoff sein können. Und nun sehen wir auch, warum Schittenhelm und Schröter die notwendige Schlußkontrolle jeder derartigen Analyse, die Bestimmung des wirklich vorhandenen Restsauerstoffes nicht ausgeführt haben, weil sie nämlich an diesen Überschub an Sauerstoff gar nicht dachten.

Müssen wir demnach zu dem Schluß kommen, daß diese erste Analyse von Schittenhelm und Schröter gänzlich falsch berechnet ist, so stoßen wir in den folgenden Bestimmungen auf einen neuen methodischen Fehler.

Diesmal war anscheinend das Gas zu arm an Wasserstoff,<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Es hätte doch bloß einer Vergleichung des Anfangsvolumens (10,8 ccm) mit dem Restgas (35,7) bedurft, um den Irrtum zu konstatieren.

<sup>2)</sup> Ein Überschlag der vorher vorhandenen Luft im Verhältnis zum Gärungsgas ergibt in der Tat, daß bei einer analogen Sauerstoffzufuhr (vierfach), wie im ersten Versuch, das Gas selbst dann zu arm an Knallgas gewesen wäre, wenn das Gärungsgas aus reinem H bestanden hätte. Die Zahlen sind folgende:

In Versuch II sollen 265,9 ccm mehr N vorhanden gewesen sein, als den 575 ccm Gesamtgas an Luftstickstoff entsprechen. Nimmt man diesen ganzen sogenannten «Stickstoff» als Wasserstoff an, so enthielt also das Gesamtgas 46,2% Wasserstoff nach Sauerstoffzusatz also  $46,2 + 23,1 = 69,3\%$  Knallgas. Nach vierfacher Verdünnung mit O (nach Analogie des ersten Versuches) wäre dann der Knallgasgehalt 13,8% gewesen, d. h. unter der nach Bunsen (Gasometr. Methoden, II. Aufl., S. 72) ca. 20–22% betragenden Explosionsschwelle. In Versuch III: 216,7 ccm überschüssiger «Stickstoff» in 848,7 ccm Gesamtgas als H angenommen, Knallgasgehalt ( $216,7 + 108,3 = 325,0$ ) auf  $5 \times 849 =$  weniger als 10%, also ebenfalls nicht explosibel.

oder es wurde zu viel Sauerstoff zugesetzt (dessen Menge übrigens gar nicht angegeben ist), sodaß eine spontane Explosion nicht erfolgte. Dies genügte den Autoren, um eine Anwesenheit von  $H$  und  $CH_4$  einfach auszuschließen, anstatt durch Zusatz von Knallgas oder gemessenem Wasserstoff eine Explosion auf jeden Fall herbeizuführen, da nur durch das Ausbleiben einer Kontraktion bei erfolgter Explosion die Anwesenheit brennbarer Gase ausgeschlossen werden kann. Den so übersehenen Wasserstoff und  $CH_4$  nahmen die Autoren wiederum für Stickstoff (den zugesetzten Sauerstoff, über den kein Wort gesagt wird, vielleicht auch?), und erhalten so Werte von 89,7, 90,7, 73,9% N in dem ursprünglichen Gemenge.

Sie rechnen auf diese Weise ungeheure Stickstoffmengen heraus, die von den Bakterien produziert sein sollen.

Aus meinen Ausführungen geht wohl zur Genüge hervor, daß durch die Untersuchungen von Schittenhelm und Schröter diese Frage nicht gelöst ist, da ihre Resultate infolge grober methodischer Fehler völlig wertlos sind.