

# Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen.

Von

Hartwig Franzen.

## I. Mitteilung.

### Quantitative Bestimmungen zur Salpetervergärung.

Von

Hartwig Franzen und E. Löhmann.

Mit einer Abbildung.

(Mitteilung aus dem chemischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. September 1909.)

Es ist seit langer Zeit bekannt, daß viele Bakterien Nitrat zu Nitrit und weiter zu Ammoniak zu reduzieren vermögen und daß es Bakterien gibt, welche Nitrat unter Abspaltung von elementarem Stickstoff zerstören können.

Die meisten Forscher, welche sich mit diesen Reaktionen beschäftigten, haben nur die qualitative Seite ins Auge gefaßt; sie haben sich damit begnügt, nachzuweisen, daß Nitrit aus Nitrat gebildet wird oder daß nach einer gewissen Zeit kein Nitrat oder Nitrit mehr in der Kulturflüssigkeit vorhanden war. Nur in wenigen Arbeiten findet man vereinzelt Angaben über die Mengen des zerstörten Salpeters.

Wir haben uns nun die Aufgabe gestellt, einmal nachzusehen, wieviel Nitrit aus Nitrat in der Zeiteinheit gebildet wird und wieviel von dem oxydierten Stickstoff (Salpetersäure + salpetrige Säure) in der Zeiteinheit in nichtoxydierten übergeführt wird.

Um die gewünschten Daten zu finden, mußte in der Kulturflüssigkeit Salpetersäure und salpetrige Säure nebeneinander bestimmt werden. Eine Bestimmung von Salpetersäure allein und von Salpetersäure und salpetriger Säure nebeneinander ist schon im Schulfalle, d. h. in rein wässriger Lösung, eine recht unangenehme Aufgabe, da sämtliche bisher bekannten

Methoden zur Bestimmung der Salpetersäure entweder mit recht bedeutenden Fehlerquellen verknüpft oder recht umständlich in ihrer Ausführung sind; die Schwierigkeiten häufen sich natürlich noch, wenn es sich wie in unserem Falle nicht um rein wässrige Lösungen handelt, sondern um Lösungen, welche mit recht großen Mengen organischer Substanz verunreinigt sind; in diesem Falle wird auch die Bestimmung der salpetrigen Säure, welche sich in rein wässriger Lösung leicht durchführen läßt, zu einer recht unangenehmen Aufgabe.

Wenn Nitrat und Nitrit nebeneinander bestimmt werden sollen, wird man wohl immer in der Weise verfahren, daß man zunächst die Gesamtmenge des oxydierten Stickstoffs (Salpetersäure + salpetrige Säure) bestimmt, dann gesondert die Menge der salpetrigen Säure durch Titration mit Permanganat ermittelt und nun aus diesen Daten die Menge der Salpetersäure berechnet. Für die Bestimmung der Gesamtmenge des oxydierten Stickstoffs (Salpetersäure + salpetrige Säure) stehen eine ganze Reihe von Methoden zur Verfügung. Man kann die zu untersuchende Substanz nach Lunge im Nitrometer mit konzentrierter Schwefelsäure und Quecksilber behandeln und dadurch beide Oxydationsstufen des Stickstoffs in Stickoxyd überführen oder man kann nach Schlösing-Grandeau die Reduktion zu Stickoxyd mit Eisenchlorür und Salzsäure vornehmen; aus der Menge des gefundenen Stickoxyds kann dann die Summe beider Körper berechnet werden. Ferner kann man nach der Methode von Ulsch die Menge des durch Reduktion aus diesen beiden Substanzen gebildeten Ammoniaks bestimmen oder den zur Reduktion nicht verwendeten Wasserstoff messen und so die Summe dieser beiden Säuren ermitteln.

In unserem speziellen Falle handelte es sich nun darum, die in einer Bakterienflüssigkeit enthaltene Menge Salpetersäure und salpetrige Säure zu bestimmen. Sollte die Lunge-sche nitrometrische Methode zu diesem Zwecke Anwendung finden, so mußte die Kulturflüssigkeit zunächst eingedampft und der Abdampfrückstand, welcher sirupöser Natur ist, quantitativ in das Nitrometerrohr übergeführt werden; dies letztere wäre natürlich mit recht erheblichen Schwierigkeiten verknüpft ge-

wesen, da ja bekanntlich bei der Lungeschen Methode die Schwefelsäure möglichst konzentriert sein muß und daher die Anwendung von Wasser zum Überspülen ausgeschlossen war. Außerdem war bei Anwendung dieser Methode zu befürchten, daß durch Berührung der konzentrierten Schwefelsäure mit den vorhandenen organischen Stoffen eine sekundäre Gasentwicklung eintreten würde; hierdurch wäre natürlich die Genauigkeit der Methode beeinflußt worden. Die Schlösingsche Methode, bei welcher ein Eindampfen der zu untersuchenden Flüssigkeit nicht notwendig gewesen wäre, war ausgeschlossen wegen der Ungenauigkeit der Resultate, welche diese Methode an und für sich gibt. Die Methode von Ulsch, bei welcher die beiden Säuren zu Ammoniak reduziert werden und letzteres dann bestimmt wird, war nicht anwendbar, weil in einer Bakterienkulturflüssigkeit schon immer von vornherein Ammoniak vorhanden ist. Die Wasserstoffdefizitmethode blieb aus dem Grunde unsicher, weil in der Kulturflüssigkeit, außer Salpetersäure und salpetriger Säure, noch andere reduzierbare Substanzen vorhanden sein konnten. Die Anwendung der drei gasvolumetrischen Methoden verbot sich außerdem noch aus folgendem Grunde. In den Bakterienkulturflüssigkeiten sind meistens erhebliche Mengen Alkalicarbonat vorhanden, und da nun bei den drei gasvolumetrischen Methoden in saurer Lösung gearbeitet wird, so würde sich dem zu messenden Gase (Stickoxyd oder Wasserstoff) auch Kohlendioxyd beimischen und die Resultate würden viel zu hoch ausfallen. Das Kohlendioxyd kann vor Beginn der Analyse nicht weggekocht werden, weil hierbei ebenfalls salpetrige Säure entweichen würde; ein nachheriges Absorbieren des Kohlendioxyds würde die Analyse wieder recht kompliziert machen. Was nun die titrimetrische Bestimmung der salpetrigen Säure mit Permanganat anbelangt, so konnte diese Methode nicht zur Anwendung kommen, weil die zu untersuchende Flüssigkeit eine große Menge organischer Substanzen, welche ebenfalls durch Permanganatlösung oxydiert werden, enthält.

Wie aus diesen Betrachtungen hervorgeht, sind sämtliche bisher bekannten Methoden für die vorliegende Aufgabe nicht

brauchbar. Aber eine neuerdings von Busch<sup>1)</sup> angegebene vorzügliche Methode zur Bestimmung der Salpetersäure, die sogenannte Nitronmethode, erlaubt es, auch in Bakterienkulturflüssigkeiten, d. h. in Flüssigkeiten, welche stark durch organische Substanzen verunreinigt sind, eine Bestimmung von Nitrat und Nitrit nebeneinander durchzuführen.

Sind in einer Substanz Salpetersäure und salpetrige Säure nebeneinander vorhanden, so kann man nach Busch zur Bestimmung dieser beiden Körper in folgender Weise verfahren. In einem Teil der Substanz wird die salpetrige Säure durch Oxydation mit Wasserstoffsperoxyd in Salpetersäure verwandelt und nun durch Fällung mit Nitron die Gesamtmenge des oxydierten Stickstoffs (Salpetersäure + salpetrige Säure) als Nitronnitrat bestimmt. Dann wird in einem zweiten Teil der Substanz die salpetrige Säure durch Hydrazinsulfat zerstört und nun die Salpetersäure allein durch Fällung mit Nitron ermittelt.

Wir haben nun zunächst die Nitronmethode von Busch daraufhin geprüft, ob sie auch in Bouillonlösung ebenso genaue Resultate liefert wie in wässriger Lösung. Eine genaue Beschreibung der Versuchsergebnisse findet sich im Journal für praktische Chemie (Bd. II, S. 79 [1909], 330). Es seien hier nur in Kürze die wichtigsten Punkte hervorgehoben. Bei den ersten Versuchen wurde immer viel zu wenig Salpetersäure gefunden, und es zeigte sich schließlich, daß ein Teil des Nitronnitrats in kolloidaler Form durch die Bouillon in Lösung gehalten wurde; diesem Übelstande konnte aber durch Zusatz eines Elektrolyten, in diesem Falle Schwefelsäure, abgeholfen werden. Es genügt ein Zusatz von 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure auf 100 ccm Flüssigkeit, um das Gelöstbleiben des Nitronnitrats zu hindern. Im übrigen wurde genau so verfahren, wie es Busch angibt; nur sei noch bemerkt, daß bei diesen schwefelsauren Lösungen zur quantitativen Ausfällung der Salpetersäure ein recht großer Überschuß von Nitron, ca.  $\frac{1}{3}$  mehr, als der Theorie entspricht, angewendet werden muß.

Bei der Bestimmung des oxydierten Stickstoffs (Salpetersäure + salpetrige Säure) wurden folgende Resultate erhalten.

<sup>1)</sup> Berichte Bd. XXXVIII, S. 861; Bd. XXXIX, S. 1401.

Angewandte Menge $\text{HNO}_3 + \text{HNO}_2$ angegeben als $\text{HNO}_3$ g	Berech- nete Menge Nitron- nitrat g	Gefun- dene Menge Nitron- nitrat g	Differenz g	Gefun- dene Menge $\text{HNO}_3$ g	Differenz g	Gefun- dene Menge $\text{HNO}_3$ %	Diffe- renz %
0,6453	3,8393	3,8485	+ 0,0092	0,6463	+ 0,0010	100,16	+ 0,16
0,6201	3,6893	3,6999	+ 0,0106	0,6214	+ 0,0013	100,20	+ 0,20

Bei der ersten Analyse wurden verwendet 0,5612 g  $\text{HNO}_3$  + 0,0628 g  $\text{HNO}_2$ , bei der zweiten 0,5360 g  $\text{HNO}_3$  + 0,0628 g  $\text{HNO}_2$ .

Bei der Bestimmung der Salpetersäure allein wurden folgende Resultate erhalten.

An- gewandte Menge $\text{HNO}_3$ g	Berech- nete Menge Nitron- nitrat g	Gefun- dene Menge Nitron- nitrat g	Differenz g	Gefun- dene Menge $\text{HNO}_3$ g	Differenz g	Gefun- dene Menge $\text{HNO}_3$ %	Differenz %
0,3784	2,2513	2,2562	+ 0,0049	0,3789	+ 0,0005	100,14	+ 0,14
0,3774	2,2450	2,2414	- 0,0036	0,3764	- 0,0010	99,74	- 0,26
0,3938	2,3430	5,3453	+ 0,0023	0,3939	+ 0,0001	100,92	+ 0,02

Die erste Analyse erhielt einen Zusatz von 0,0628 g  $\text{HNO}_2$ , die zweite und dritte einen Zusatz von 0,1255 g  $\text{HNO}_2$ .

Wie aus diesen Bestimmungen hervorgeht, gibt die Methode von Busch in Bouillonlösung ebenso genaue Resultate wie in wässriger Lösung, wenn auf 100 ccm Flüssigkeit 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzugesetzt wird.

Nachdem so die Nitronmethode durch eine kleine Abänderung für unsere Zwecke brauchbar gemacht worden war, konnte dazu übergegangen werden, Salpetersäure- und Salpetrigsäurebestimmungen in Bakterienkulturflüssigkeiten vorzunehmen.

Als Versuchsobjekte dienten folgende acht Bakterienarten: Bac. Plymouthensis, Bac. prodigiosus, Bac. Kiliense, Bac.

pyocyaneus, *Proteus vulgaris*, *Bac. coli commune*, *Bac. typhi murium* und *Bac. fluorescens liquefaciens*. Von *Bac. fluorescens liquefaciens* kamen zwei verschiedene Stämme zur Anwendung; einer aus dem pathologischen Institut der Universität Heidelberg, welcher mit I bezeichnet wurde, und einer, welcher von Dr. Fr. Marschall aus Neckarwasser isoliert worden war; letzterer wurde mit II bezeichnet.

Als Kulturkolben fanden Erlenmeyerkolben von 200 ccm Inhalt, welche durch den in der Bakteriologie üblichen Wattenpfropfen verschlossen waren, Verwendung. Die Versuchstemperatur war 27°. Als Thermostaten dienten große Ostwaldsche Wasserthermostaten, die fortwährend durch einen Heißluftmotor gerührt wurden; die Temperatur schwankte höchstens um 0,1°. Als Nährflüssigkeit wurde die in der Bakteriologie übliche Nährbouillon verwendet. Dargestellt wurde sie im allgemeinen nach der in dem Buche von Karl Günther «Einführung in das Studium der Bakteriologie», 6. Auflage, Leipzig 1906, S. 203, gegebenen Vorschrift.

Da die Einstellung der Reaktion der Nährbouillon mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator eine ziemlich unsichere ist, wurde die Reaktion mit Hilfe von Phenolphthalein eingestellt; hierbei wurde in folgender Weise verfahren. 2 Liter Fleischwasser wurden nach Zusatz von 1% Pepton Witte und  $\frac{1}{2}$ % Kochsalz mehrere Stunden im Dampftopf erhitzt und dann von den ausgeschiedenen Eiweißkörpern abfiltriert. Die so gewonnene Nährbouillon wurde in einen 2 l-Meßkolben gegeben und eventuell mit destilliertem Wasser genau zu zwei Litern aufgefüllt. Dann wurden mit einer Pipette 50 ccm Bouillon herausgenommen und diese in einer Porzellanschale so lange aus einer Bürette mit ca. 2%iger kohlenstoffreier Natronlauge versetzt, bis eben Rotfärbung eingetreten war. Das 39fache der so bestimmten Menge Natronlauge wurde dann zu der noch in dem Meßkolben befindlichen Bouillon hinzugefügt und wiederum 1 Stunde im Dampftopf erhitzt. Von dem ziemlich beträchtlichen Niederschlag, welcher sich durch das Erhitzen abgeschieden hatte, wurde abfiltriert und die Reaktion der Bouillon geprüft. Etwas von der Bouillon wurde in eine

Porzellanschale gegeben und mit 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt; es trat dann immer schwache Rotfärbung ein.

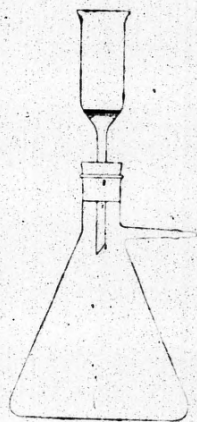
In der so gewonnenen Nährbouillon wurde dann die Salpetersäure in Form von Kaliumnitrat aufgelöst; das Kaliumnitrat war vorher durch eine Analyse auf seine Reinheit geprüft worden. Die Konzentration wurde so gewählt, daß auf 100 ccm Nährbouillon  $\frac{1}{100}$  Molekül Salpetersäure kam.

Zur Füllung der Kulturkolben mit der Salpeterbouillon wurde in folgender Weise verfahren: 20,238 g Kaliumnitrat wurden in der Nährbouillon zu 1 l gelöst. Dann wurde in die vorher sterilisierten Kulturkolben genau 50 ccm dieser Kaliumnitratlösung aus einer Bürette einfließen gelassen und aus einer anderen Bürette genau 45 ccm gewöhnliche Nährbouillon hinzugegeben. Jetzt enthielten die einzelnen Kolben 95 ccm Bouillon und in dieser gelöst  $\frac{1}{100}$ -Mol. Salpetersäure als Kaliumnitrat. Die Kolben mit der Nitratbouillon wurden dann an 3 aufeinander folgenden Tagen je 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert.

Die Impfung der Versuchskolben mit den betreffenden Bakterien wurde nach folgender Methode vorgenommen: Von der Originalkultur wurde zunächst eine Öse voll abgenommen und mit dieser eine Agarstrichkultur angelegt; diese wurde dann 1—2 Tage zur Entwicklung stehen gelassen. Nun wurde von dieser frischen Agarstrichkultur eine Platinöse voll Bakterienmasse abgenommen, in 10 ccm Bouillon, welche sich in einem Reagenzglas befanden, eingetragen und durch Schütteln für eine gute Verteilung der Bakterien gesorgt; das Röhrchen wurde dann 24 Stunden bei  $27^{\circ}$  stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurden 5 ccm der Kultur mit einer sterilen Pipette herausgenommen und in einen Erlenmeyer-Kolben, welcher mit 100 ccm Nährbouillon beschickt war, eingetragen. Dieser Erlenmeyer-Kolben wurde nun wieder 24 Stunden bei  $27^{\circ}$  stehen gelassen. Dann wurde mit einer sterilen Pipette nach vorherigem Umschütteln je 5 ccm der Kulturflüssigkeit herausgenommen und in die mit 95 ccm Nitratbouillon beschickten Erlenmeyer-Kolben gegeben. Die Kulturkolben enthielten jetzt 100 ccm Bouillon,  $\frac{1}{100}$ -Mol Salpetersäure als

Kaliumnitrat und waren außerdem mit dem betreffenden Bakterium geimpft. Die so beschickten Kolben wurden dann in den Thermostaten gestellt. Nach 24, 2mal 24 usw. Stunden wurden dann je 4 Kolben herausgenommen und durch Erhitzen im Dampftopf sterilisiert.

Die Bakterienkulturflüssigkeiten konnten nicht direkt zur Bestimmung des Nitrats und Nitrits verwendet werden, denn die in der Flüssigkeit vorhandenen Bakterienleiber und die Ausscheidungen von Calciumoxalat usw. wären von dem Nitronitrat mit niedergedrückt worden und hätten eine Vermehrung des Gewichtes des letzteren bedingt. Die Bakterienleiber und sonstigen festen Substanzen mußten deshalb vorher abfiltriert werden. Zum Filtrieren der Kulturflüssigkeiten diente uns folgender kleiner Apparat. Der eigentliche Filtrierapparat besteht aus einem Glastrichter von der in der Figur gezeichneten Form; am unteren Ende des Trichters sind drei Dornen aus Glas angeschmolzen; auf diesen ruht eine Porzellanfiltrierplatte, welche eng an den Trichter anschließt; letztere wird mit einer Schicht Asbest bedeckt; der ganze Trichter wird mit Hilfe eines Gummistopfens in eine Saugflasche eingesetzt. Die sterilisierte und wieder erkalte Kulturflüssigkeit wird in den Trichter gegossen und mit Hilfe der Saugpumpe durchfiltriert. Laufen die ersten Anteile trübe durch, so ist es notwendig, diese wieder auf das Filter zurückzugießen. Es ist ganz zweckmäßig, bei nur schwer klar filtrierenden Flüssigkeiten, in der Kulturflüssigkeit etwas Asbest zu suspendieren und das Ganze dann auf das Filter zu gießen. Es gelingt auf diese Weise leicht, ein annähernd klares Filtrat zu erhalten. Zur Bestimmung der Salpetersäure + salpetrige Säure wird das Filtrat quantitativ in ein Becherglas übergespült, auf 200 ccm verdünnt und nun nach der Vorschrift von Busch das Nitrit zu Nitrat oxydiert, 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt und der gesamte oxydierte Stickstoff als Nitronitrat





gefällt. Zur Bestimmung des Nitrats allein wird das Filtrat auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingedampft, zur Zerstörung des Nitrats auf fein gepulvertes Hydrazinsulfat getropft, auf 200 ccm verdünnt, 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt und mit Nitronacetat gefällt. Die Nitronnitratniederschläge werden auf Goochziegeln abfiltriert, bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Es wurden jeweils zwei Bestimmungen des gesamten oxydierten Stickstoffs (Salpetersäure + salpetrige Säure) und 2 Bestimmungen der Salpetersäure allein gemacht. Die Differenz zwischen der Menge des gesamten oxydierten Stickstoffs (ausgedrückt als Salpetersäure) und der Menge des noch vorhandenen Nitrats ergibt die Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure. Die Differenz zwischen der ursprünglich vorhandenen Salpetersäure und der Menge des noch vorhandenen oxydierten Stickstoffs (ausgedrückt als Salpetersäure) ergibt die Menge des verschwundenen oxydierten Stickstoffs (ausgedrückt als Salpetersäure). Was aus dem verschwundenen oxydierten Stickstoff geworden ist, ob er in Ammoniak verwandelt wurde oder ob er in elementaren Stickstoff übergeführt worden ist, kann vorläufig nicht entschieden werden; die Analysenzahlen geben nur an, daß von dem ursprünglich vorhandenen oxydierten Stickstoff ein Teil in nicht oxydierten Stickstoff übergeführt worden ist.

Die erhaltenen Resultate haben wir in Form von Tabellen zusammengestellt. Die Tabellen, welche die Überschrift «Zerstörung» tragen, enthalten die Resultate, welche nach Zerstörung des Nitrats durch Hydrazinsulfat erhalten wurden: sie geben also die Menge der noch vorhandenen Salpetersäure resp. die Menge der vergorenen Salpetersäure an. Unter vergorener Salpetersäure ist die gebildete salpetrige Säure + dem überhaupt verschwundenen oxydierten Stickstoff (ausgedrückt als Salpetersäure) zu verstehen. Die Tabellen, welche die Überschrift «Oxydation» tragen enthalten die Resultate, welche nach Oxydation des Nitrats durch Wasserstoffsperoxyd erhalten wurden; sie geben also die Menge des noch vorhandenen oxydierten Stickstoffes (ausgedrückt als Salpetersäure),

resp. die Menge des verschwundenen oxydierten Stickstoffs an. Da von fast allen Bestimmungen Doppelwerte vorliegen, und diese relativ gut übereinstimmen, ist für Vergleichszwecke das Mittel aus den Tabellen gezogen worden.

## I.

Bac. Plymouthensis gedieh in der Salpeterbouillon ausgezeichnet; schon nach 24 Stunden war eine starke Trübung eingetreten; nach 2 Tagen hatte sich ein schwach rosenrot gefärbter Niederschlag von Bakterienmasse gebildet; dieser Niederschlag nahm während der folgenden Tage noch zu. Die Kulturflüssigkeit war schwer zu filtrieren und ergab erst nach mehrmaligem Zurückgießen ein klares Filtrat.

Tabelle Nr. 1.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.  
Bakterium: Bac. Plymouthensis. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,4462	0,4108	65,16	0,2197	34,84
2	1,7599	0,2955	46,88	0,3350	53,12
3	1,2926	0,2171	34,43	0,4134	65,57
4	1,2135	0,2038	32,32	0,4267	67,68
5	0,8698	0,1461	23,17	0,4844	76,83

Tabelle Nr. 2.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.  
Bakterium: Bac. Plymouthensis. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,4806	0,4166	66,07	0,2139	33,93
2	1,7054	0,2864	45,43	0,3441	54,57
3	1,3776	0,2314	36,69	0,3991	63,31
4	1,1390	0,1913	30,34	0,4392	69,66
5	0,8358	0,1404	22,26	0,4901	77,74

## Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub>	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub>	Vergorene HNO <sub>3</sub>	Vergorene HNO <sub>3</sub>
	g	%	g	%
1	0,4137	65,62	0,2168	34,39
2	0,2910	46,16	0,3396	53,85
3	0,2243	35,56	0,4063	64,44
4	0,1976	31,33	0,4330	68,67
5	0,1433	22,72	0,4873	77,29

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
	g	%
1. Tages	0,2168	34,39
2. „	0,1228	19,46
3. „	0,0667	10,59
4. „	0,0267	4,23
5. „	0,0543	8,62

Die Vergärung der Salpetersäure durch *Bac. Plymouthensis* setzt sehr rasch ein; innerhalb des ersten Tages wird von allen Tagen am meisten Salpetersäure vergoren; auch innerhalb der beiden nächsten Tage ist die Gärungsintensität noch recht groß, sie fällt aber gegen den ersten Tag doch schon recht bedeutend ab. An den beiden letzten Tagen ist sie immerhin noch recht beträchtlich, so daß man wohl schließen kann, daß sie erst mit Überführung des gesamten Nitrats in Nitrit und weiterhin in nichtoxydierten Stickstoff ihr Ende erreicht haben wird.

Tabelle Nr. 3.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. Plymouthensis. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,4239	0,5750	91,20	0,0555	8,80
2	—	—	—	—	—
3	3,4527	0,5799	91,97	0,0506	8,03
4	3,4230	0,5749	91,18	0,0556	8,82
5	3,4572	0,5806	92,09	0,0499	7,91

Tabelle Nr. 4.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. Plymouthensis. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—
3	3,4400	0,5777	91,63	0,0528	8,37
4	3,4658	,05820	92,31	0,0485	7,69
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,5750	91,20	0,0555	8,80
2	—	—	—	—
3	0,5788	91,80	0,0517	8,20
4	0,5785	91,75	0,0521	8,26
5	0,5806	92,09	0,0499	7,91

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nicht-oxydierten hat schon mit dem ersten Tage ihre größte Intensität erreicht, um dann überhaupt nicht weiter fortzuschreiten.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0,1613	25,59
2	—	—
3	0,3546	56,24
4	0,3809	60,41
5	0,4374	69,38

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,1204
2	—
3	0,2646
4	0,2842
5	0,3264

## II.

Bac. prodigiosus gedieh ebenso wie Bac. Plymouthensis sehr gut in der Salpeterbouillon; die ganze Flüssigkeit war während der 5 zur Beobachtung gelangten Tage gleichmäßig getrübt; die Farbstoffbildung war nur sehr gering.

Tabelle Nr. 5.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,0811	0,3495	55,43	0,2810	44,57
2	1,7902	0,3006	47,68	0,3299	53,32
3	1,6492	0,2770	43,93	0,3535	56,07
4	1,6662	0,2798	44,38	0,3507	55,62
5	1,6304	0,2738	43,43	0,3567	56,57

Tabelle Nr. 6.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

 Bakterium: *Bac. prodigiosus*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,0921	0,3514	55,72	0,2791	44,28
2	1,5526	0,2608	41,36	0,3697	58,64
3	—	—	—	—	—
4	1,6562	0,2781	44,11	0,3524	55,89
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,3505	55,58	0,2801	44,43
2	0,2807	44,52	0,3498	55,98
3	0,2770	43,93	0,3535	56,07
4	0,2790	44,25	0,3516	55,76
5	0,2738	43,43	0,3567	55,89

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
	g	%
1. Tages	0,2801	44,43
2. »	0,0697	11,55
3. »	0,0037	0,09
4. »	+ 0,0019	+ 0,31
5. »	0,0051	0,13

 Die Vergärung der Salpetersäure durch *Bac. prodigiosus* setzt ebenso wie die durch *Bac. Plymouthensis* außerordentlich

rasch ein; schon am ersten Tage werden 0,2801 g = 44,43 % der vorhandenen Salpetersäure vergoren; die Vergärung durch *Bac. prodigiosus* ist noch bedeutend intensiver als die durch *Bac. Plymouthensis*, denn durch letzteren werden an dem ersten Tage nur 0,2168 g = 34,39 % vergoren. Am zweiten Tage ist die Vergärung auch noch recht erheblich; es werden immerhin noch 0,0697 g = 11,55 % vergoren, während *Bac. Plymouthensis* an diesem Tage bedeutend mehr, nämlich 0,1228 g = 19,46 % vergärt. Mit dem Ende des zweiten Tages hat die Gärtätigkeit von *Bac. prodigiosus* ihr Ende erreicht, an den folgenden Tagen wird keine Salpetersäure mehr vergoren, während *Bac. Plymouthensis* vom 3. bis zum 5. Tage noch immerhin eine recht beträchtliche Gärtätigkeit zeigt, welche mit dem 5. Tage noch nicht ihr Ende erreicht hat. Von *Bac. prodigiosus* sind am 5. Tage 0,3567 g = 55,89 % Salpetersäure vergoren, durch *Bac. Plymouthensis* 0,4873 g = 77,29 %. *Bac. Plymouthensis* besitzt also gegenüber dem *Bac. prodigiosus* ein bedeutend größeres Vergärungsvermögen für Salpetersäure; die Gärungsgeschwindigkeit setzt bei *Bac. prodigiosus* viel rascher ein als bei *Bac. Plymouthensis*, fällt aber auch viel rascher wieder ab.

Tabelle Nr. 7.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6756	0,6173	97,90	0,0132	2,10
2	3,6654	0,6156	97,63	0,0149	2,37
3	3,6991	0,6212	98,52	0,0083	1,48
4	3,6436	0,6119	97,05	0,0186	2,95
5	3,6588	0,6145	97,46	0,0160	2,54

Tabelle Nr. 8.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6798	0,6180	98,02	0,0125	1,98
2	3,6883	0,6194	98,24	0,0111	1,76
3	3,6878	0,6193	98,23	0,0112	1,77
4	3,6929	0,6202	98,36	0,0103	1,64
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,6177	97,96	0,0129	2,04
2	0,6175	97,94	0,0130	2,07
3	0,6203	98,38	0,0098	1,63
4	0,6161	97,71	0,0144	2,30
5	0,6145	97,46	0,0160	2,54

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten Stickstoff hat, ebenso wie bei *Bac. Plymouthensis*, schon mit dem ersten Tage ihre größte Intensität erreicht. Wie sich *Bac. Plymouthensis* dadurch vor *Bac. prodigiosus* auszeichnet, daß im ganzen durch ihn mehr Salpetersäure vergoren wird, so wird auch durch ihn mehr oxydierter Stickstoff zum Verschwinden gebracht; *Bac. Plymouthensis* läßt im Maximum 0,0555 g = 8,80 %, *Bac. prodigiosus* nur 0,0160 g = 2,54 % der vorhandenen Salpetersäure verschwinden.



Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0,2672	42,39
2	0,3368	53,91
3	0,3437	54,44
4	0,3372	53,46
5	0,3407	53,35

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,1994
2	0,2513
3	0,2566
4	0,2516
5	0,2542

Über die Menge der gebildeten salpetrigen Säure läßt sich dasselbe aussagen, was schon bei der Besprechung der vergorenen Menge Salpetersäure ausgesagt worden ist.

### III.

Bac. Kiliense gedieh, ebenso wie die beiden vorher untersuchten Bakterienarten, sehr gut in der Salpeterbouillon; die Trübung war am ersten Tage nur schwach, am 2. Tage aber schon recht stark; ein leichter Bodensatz von Bakterienmasse trat erst am 5. Tage auf. Farbstoffbildung war nicht zu beobachten.

Tabelle Nr. 9.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. Kiliense. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,2884	0,3836	60,84	0,2469	39,16
2	1,3882	0,2331	36,98	0,3974	63,02
3	1,3548	0,2275	36,09	0,4030	63,91
4	1,2532	0,2105	33,38	0,4200	66,62
5	1,2991	0,2182	34,60	0,4123	65,40

Tabelle Nr. 10.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. Kiliense. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,7013	0,4537	71,95	0,1768	28,05
2	1,3994	0,2350	37,27	0,3955	62,73
3	1,3714	0,2324	36,53	0,3981	63,47
4	1,3056	0,2193	34,77	0,4112	65,23
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,4187	66,40	0,2119	33,61
2	0,2341	37,13	0,3964	62,88
3	0,2299	36,31	0,4006	63,69
4	0,2149	34,08	0,4156	65,93
5	0,2182	34,60	0,4123	65,40

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
	g	%
1. Tages	0,2119	33,61
2. »	0,1845	29,27
3. »	0,0042	0,81
4. »	0,0150	2,24
5. »	+ 0,0030	+ 0,53

Die Vergärung der Salpetersäure durch Bac. Kiliense setzt ebenso schnell ein wie bei den vorher untersuchten: die größte

Gärungsintensität liegt schon innerhalb des ersten Tages: an diesem Tage werden 0,2119 g = 33,61 % Salpetersäure vergoren; die Gärungsintensität von *Bac. Kiliense* ist am ersten Tage bedeutend kleiner als die von *Bac. prodigosus*: letzterer vergärt innerhalb des ersten Tages 0,2801 g = 44,43 % Salpetersäure; sie ist dagegen nur etwas geringer als die von *Bac. Plymouthensis*, welcher in dieser Zeit 0,2168 = 34,39 % Salpetersäure vergärt. Am zweiten Tage ist die Gärungsintensität nur wenig kleiner als am ersten Tage, es werden 0,1845 g = 29,27 % Salpetersäure vergoren; bei den beiden vorher untersuchten fällt die Gärungsintensität am zweiten Tage bedeutend schneller ab: *Bac. Plymouthensis* vergärt an diesem Tage 0,1228 g = 19,46 % und *Bac. prodigosus* 0,0697 g = 11,55 % Salpetersäure. Ebenso wie bei *Bac. prodigosus* ist die Gärung auch bei *Bac. Kiliense* am dritten Tage so ziemlich beendet, während sie bei *Bac. Plymouthensis* noch weiterschreitet. Von *Bac. Kiliense* sind am fünften Tage 0,4123 g = 65,40 %, von *Bac. prodigosus* 0,3567 g = 55,89 % und von *Bac. Plymouthensis* 0,4873 g = 77,29 % Salpetersäure vergoren. *Bac. Kiliense* nimmt also in bezug auf die Menge der vergorenen Salpetersäure eine Mittelstellung zwischen den beiden andern Bakterienarten ein.

Tabelle Nr. 11.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. Kiliense*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6176	0,6075	96,36	0,0230	3,64
2	3,5636	0,5985	94,92	0,0320	5,08
3	3,5219	0,5915	93,81	0,0390	6,19
4	3,6075	0,6059	96,09	0,0246	3,91
5	—	—	—	—	—

Tabelle Nr. 12.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. Kiliense. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,5891	0,6028	95,60	0,0277	4,40
2	3,4837	0,5851	92,79	0,0454	7,21
3	3,5976	0,6042	95,83	0,0263	4,17
4	3,6238	0,6086	96,53	0,0219	3,47
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,6052	95,98	0,0254	4,02
2	0,5918	93,86	0,0387	6,15
3	0,5979	94,82	0,0327	5,18
4	0,6073	96,31	0,0233	3,67
5	—	—	—	—

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten Stickstoff hat bei Bac. Kiliense erst mit dem zweiten Tage ihre größte Intensität erreicht, während bei Bac. prodigiosus und Bac. Plymouthensis die größte Intensität schon am ersten Tage erreicht ist. Auch hier nimmt Bac. Kiliense wieder eine Mittelstellung zwischen den beiden andern Bakterienarten ein. Bac. Plymouthensis läßt im Maximum 0,0555 g = 8,80 %, Bac. Kiliense 0,0387 g = 6,15 % und Bac. prodigiosus 0,0160 g = 2,54 % der vorhandenen Salpetersäure zum Verschwinden bringen. Es ergibt sich beim Vergleich der

drei bisher untersuchten, roten Farbstoff bildenden Bakterienarten, daß, je mehr salpetrige Säure gebildet wird, auch desto mehr oxydierter Stickstoff zum Verschwinden gebracht wird.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0,1865	29,59
2	0,3577	56,73
3	0,3679	58,51
4	0,3926	62,24
5	—	—

Menge der gebildeten salpetrigen Säure

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,1392
2	0,2669
3	0,2745
4	0,2930
5	—

#### IV.

Bac. pyocyaneus gedieh in der Salpeterbouillon ausgezeichnet. Während bei den drei bisher untersuchten Bakterienarten die Bakterien frei in der Kulturflüssigkeit unherschwammen und diese gleichmäßig trübten oder sich höchstens in etwas größeren Mengen am Boden absetzten, bildete die Kulturflüssigkeit des Bac. pyocyaneus einen ziemlich festen Schleimklumpen von grüner Fluorescenz. Es war unmöglich, die Kulturflüssigkeit, so wie sie vorlag, zu filtrieren; dieses gelang erst, nachdem tropfenweise soviel verdünnte Schwefelsäure zugesetzt war, bis die grün fluorescierende Farbe in eine braune umschlug: es setzten sich dann braune Flocken ab, welche sich sehr gut filtrieren ließen und ein klares Filtrat ergaben. Wurde zu der mit Schwefelsäure angesäuerten braunen Flüssigkeit wieder tropfenweise Kalilauge hinzugefügt, so trat mit plötzlichem Umschlag die grün fluorescierende Farbe wieder auf.

Tabelle Nr. 13.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. pyocyaneus*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	3,4775	0,5840	92,63	0,0465	7,37
2	3,1509	0,5292	83,93	0,1013	16,07
3	2,9143	0,4894	77,63	0,1411	22,37
4	2,6506	0,4452	70,60	0,1853	29,40
5	2,4842	0,4172	66,17	0,2133	33,83

Tabelle Nr. 14.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. pyocyaneus*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	3,5160	0,5905	93,65	0,0400	6,35
2	3,1942	0,5364	85,08	0,0941	14,92
3	2,8941	0,4860	77,09	0,1445	22,91
4	2,6073	0,4379	69,45	0,1926	30,55
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,5873	93,14	0,0433	6,86
2	0,5328	84,51	0,0977	15,50
3	0,4877	77,36	0,1428	22,64
4	0,4416	70,03	0,1890	29,98
5	0,4172	66,17	0,2133	33,83

## Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	sind vergoren $\text{HNO}_3$	
	g	%
1. Tages	0,0433	6,86
2.	0,0544	8,64
3.	0,0451	7,14
4.	0,0462	7,34
5.	0,0243	3,85

Die Vergärung der Salpetersäure durch *Bac. pyocyaneus* setzt bedeutend langsamer ein, als durch die drei vorher untersuchten roten Farbstoff bildenden Bakterienarten: am ersten Tage werden nur 0,0433 g = 6,86 % Salpetersäure vergoren; *Bac. Kiliense*, welcher von allen dreien am wenigsten Salpetersäure zerstört, vergärt am ersten Tage 0,2119 g = 33,61 %. Die größte Gärungsintensität wird von *Bac. pyocyaneus* erst am zweiten Tage erreicht, sie erhebt sich aber nur wenig über die des ersten Tages: am zweiten Tage werden 0,0544 g = 8,64 % Salpetersäure vergoren. Auch hier liegt wieder ein Unterschied gegenüber den drei roten Farbstoff bildenden Bakterienarten, denn diese erreichen die größte Gärungsintensität schon am ersten Tage und zeigen am zweiten Tage schon einen bedeutenden Abfall. Am dritten und vierten Tag ist die Gärungsintensität fast konstant, sie zeigt gegen den zweiten Tag nur einen sehr geringen Abfall. Am fünften Tage ist der Abfall der Gärungsintensität ein bedeutend größerer, jedoch ist auch an diesem Tage die Gärung noch nicht beendet: es werden immerhin noch recht bedeutende Mengen Salpetersäure vergoren. Bei *Bac. Kiliense* und bei *Bac. prodigiosus* ist an diesem Tage die Gärung längst beendet, während *Bac. Plymouthensis* an diesem Tage noch Gärtätigkeit zeigt, sich darin also in seinem Verhalten dem *Bac. pyocyaneus* nähert. Am fünften Tage sind durch *Bac. pyocyaneus* 0,2133 g = 33,83 % Salpetersäure vergoren, ein gegenüber den drei roten Farbstoff bildenden Arten recht kleiner Betrag, denn der am wenigsten vergärende *Bac. prodigiosus* hat in derselben Zeit 0,3567 g = 55,89 % Salpetersäure vergoren.

Tabelle Nr. 15.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. pyocyaneus*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,5768	0,6007	95,27	0,0298	4,73
2	3,1638	0,5313	84,27	0,0992	15,73
3	2,9240	0,4911	77,88	0,1394	22,12
4	2,6774	0,4496	71,31	0,1809	28,69
5	2,5542	0,4289	68,03	0,2016	32,97

Tabelle Nr. 16.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. pyocyaneus*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,5469	0,5957	94,48	0,0348	5,52
2	3,2077	0,5387	85,44	0,0918	14,54
3	2,9097	0,4887	77,50	0,1418	22,50
4	2,6721	0,4496	71,31	0,1809	28,69
5	2,5212	0,4234	67,16	0,2071	32,84

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,5982	94,88	0,0323	5,13
2	0,5350	84,81	0,0955	15,14
3	0,4899	77,68	0,1406	22,31
4	0,4496	71,31	0,1809	28,69
5	0,4262	67,60	0,2049	32,41



## Menge des während der einzelnen Tage vergorenen oxydierten N.

Innerhalb des	sind vergoren oxydierter N	
	g	%
1. Tages	0,0323	5,13
2. "	0,0632	10,01
3. "	0,0451	7,17
4. "	0,0403	6,38
5. "	0,0240	3,72

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nicht oxydierten hat mit dem zweiten Tage ihre größte Intensität erreicht: es werden an diesem Tage 0,0632 g = 10,01 % des oxydierten Stickstoffs zerstört; aber auch schon am ersten Tage werden erhebliche Mengen zerstört. Am 3., 4. und 5. Tage fällt die Menge des zerstörten Stickstoffes ab: die Zerstörung hat aber am 5. Tage, an welchem immerhin noch 0,0240 g = 3,72 % zerstört werden, noch nicht ihr Ende erreicht. Dadurch, daß die Zerstörung des oxydierten Stickstoffs von Tag zu Tag weiter fortschreitet und erhebliche Größen erreicht, unterscheidet sich *Bac. pyocyaneus* in beträchtlicher Weise von den 3 vorher untersuchten roten Farbstoffe bildenden Bakterienarten. Bei diesen hat die Zerstörung des oxydierten Stickstoffs entweder schon mit dem ersten Tage (*Bac. Plymouthensis* und *Bac. prodigiosus*) oder mit dem zweiten Tage (*Bac. Kiliense*) erreicht, um dann nicht weiter fortzuschreiten. Auch erreichen die Mengen des zerstörten oxydierten Stickstoffs lange nicht den Betrag, den die Zerstörung bei *Bac. pyocyaneus* erreicht; *Bac. Plymouthensis* zerstört im Maximum 0,0555 g = 8,80 %, *Bac. Kiliense* 0,0387 g = 6,15 % und *Bac. prodigiosus* 0,0160 g = 2,54 % oxydierten Stickstoff, während bei *Bac. pyocyaneus* der Betrag von 0,2049 g = 32,41 % erreicht wird. *Bac. pyocyaneus* unterscheidet sich also hierin ganz scharf von den 3 anderen bisher untersuchten Arten, wie denn ja auch bekannt ist, daß dieses Bakterium Salpeter lebhaft unter Freiwerden von elementarem Stickstoff zersetzt, obgleich wir bei unseren Kulturen eine Gasentwicklung nicht beobachten konnten.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.

(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>2</sub> g
1	0,0110	1,73
2	0,0022	0,36
3	0,0022	0,33
4	0,0081	1,29
5	0,0084	1,42

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,0082
2	0,0016
3	0,0016
4	0,0060
5	0,0063

Die Menge der durch *Bac. pyocyaneus* gebildeten salpetrigen Säure ist sehr gering; sie wird wahrscheinlich sofort nach ihrer Bildung in nicht oxydierten Stickstoff übergeführt, während sie bei den 5 anderen bisher untersuchten Bakterienarten bestehen bleibt oder nur in ganz geringem Maße zerstört wird.

## V.

*Proteus vulgaris* gedeiht ebenfalls in der Salpeterbouillon sehr gut. Schon am ersten Tage hat sich die Bouillon erheblich getrübt; die Trübung nimmt an den folgenden Tagen noch zu; am zweiten Tag bildet sich am Boden ein Niederschlag von Bakterienmasse, welcher an den folgenden Tagen immer größer wird. Die Kulturen riechen unangenehm.

Tabelle Nr. 17.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Proteus vulgaris*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>4</sub> %
1	2,4278	0,4077	64,67	0,2228	35,33
2	1,9064	0,3202	50,78	0,3103	49,22
3	1,7963	0,3017	47,85	0,3288	52,15
4	1,7276	0,2901	46,02	0,3404	53,98
5	1,6370	0,2749	43,60	0,3556	56,40

Tabelle Nr. 18.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Proteus vulgaris*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,4195	0,4064	64,45	0,2241	35,55
2	1,9178	0,3204	50,82	0,3101	49,18
3	1,8118	0,3036	48,15	0,3269	51,85
4	1,7000	0,2855	45,28	0,3450	54,72
5	1,6506	0,2772	43,97	0,3533	56,03

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>4</sub> %
1	0,4071	64,56	0,2235	35,44
2	0,3203	50,80	0,3102	49,20
3	0,3027	48,00	0,3279	52,00
4	0,2878	45,65	0,3427	54,35
5	0,2761	43,79	0,3545	56,22

## Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
	g	%
1. Tages	0,2235	35,44
2. "	0,0867	13,76
3. "	0,0177	2,80
4. "	0,0148	2,35
5. "	0,0118	1,87

Die Vergärung der Salpetersäure durch *Proteus vulgaris* setzt eben so schnell ein wie bei den 3 roten Farbstoff bildenden Bakterienarten; am ersten Tage werden 0,2235 g = 35,44 % Salpetersäure vergoren. Auch am zweiten Tage ist die Gärungsintensität noch recht beträchtlich, es werden an diesem Tage 0,0867 g = 13,76 % Salpetersäure vergoren. An den folgenden Tagen fällt aber die Gärungsintensität sehr rasch ab, aber die Gärung ist am 5. Tage noch nicht beendet, es werden immerhin noch 0,0118 g = 1,87 % Salpetersäure vergoren. Am 5. Tage sind im ganzen 0,3545 g = 56,22 % Salpetersäure vergoren. In seinem ganzen Verhalten ähnelt also *Proteus vulgaris* den 3 roten Farbstoff bildenden Bakterienarten.

## Tabelle Nr. 19.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Proteus vulgaris*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitronitrat g	Noch vorhandener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vorhandener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6410	0,6115	96,98	0,0190	3,02
2	3,5855	0,6022	95,50	0,0283	4,50
3	3,5817	0,6015	95,40	0,0290	4,60
4	3,5964	0,6040	95,80	0,0265	4,20
5	3,6103	0,6063	96,17	0,0242	3,83

Tabelle Nr. 20.

0.6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Proteus vulgaris*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6129	0,6068	96,23	0,0237	3,77
2	3,5962	0,6039	95,79	0,0266	4,21
3	3,5662	0,5989	94,99	0,0316	5,01
4	3,6010	0,6047	95,92	0,0258	4,08
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,6092	96,61	0,0214	3,40
2	0,6031	95,65	0,0275	4,36
3	0,6002	95,20	0,0303	4,81
4	0,6043	95,86	0,0262	4,14
5	0,6003	96,17	0,0242	3,83

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten hat schon mit dem ersten Tage ihre größte Intensität erreicht: an den beiden folgenden Tagen steigt sie nur noch sehr langsam an. Am 4. und 5. Tage zeigt sich ein geringer Abfall, aber dieser dürfte wohl auf Analysenfehler oder sonstige äußere Ursachen zurückzuführen sein. Auch in der Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten ähnelt *Proteus vulgaris* den 3 roten Farbstoff bildenden Bakterienarten, während bei *Bac. pyocyaneus* viel größere Beträge erreicht werden.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0.2021	32.04
2	0.2827	44.84
3	0.2976	47.19
4	0.3265	50.21
5	0.3303	52.39

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0.1508
2	0.2110
3	0.2221
4	0.2436
5	0.2465

## VI.

Bac. coli commune gedeiht in der Salpeterbouillon ausgezeichnet; schon am ersten Tage hat sich ein dicker Niederschlag von Bakterienmasse gebildet, welche in den folgenden Tagen immer mehr zunimmt.

Tabelle Nr. 21.

0.6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. coli commune. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2.4228	0.4069	64.53	0.2236	35.47
2	1.2878	0.2163	34.30	0.4142	65.70
3	0.9540	0.1602	25.41	0.4703	74.59
4	1.2240	0.2056	32.60	0.4249	67.40
5	1.2210	0.2051	32.52	0.4249	67.48

Tabelle Nr. 22.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. coli commune*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,3906	0,4015	63,67	0,2290	36,33
2	1,2798	0,2149	34,09	0,4166	65,91
3	1,0770	0,1809	28,69	0,4496	71,31
4	1,2330	0,2071	32,84	0,4234	67,16
5	1,2477	0,2095	33,23	0,4210	66,77

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,4042	64,10	0,2263	35,90
2	0,2156	34,20	0,4154	65,81
3	0,1706	27,05	0,4600	72,95
4	0,2064	32,72	0,4242	67,28
5	0,2073	32,88	0,4232	67,13

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
1. Tages	g	%
2. >	0,1891	29,91
3. >	0,0446	7,14
4. >	+ 0,0358	+ 5,67
5. >	+ 0,0010	+ 0,15

Die Vergärung der Salpetersäure durch *Bac. coli commune* setzt ebenso schnell ein wie bei den 3 roten Farbstoff

bildenden Bakterienarten und wie bei *Proteus vulgaris*: am ersten Tage werden 0,2263 g = 35,90% Salpetersäure vergoren. Auch am zweiten Tage ist die Gärungsintensität noch sehr groß, es werden an diesem Tage 0,1891 g = 29,91% Salpetersäure vergoren. Am dritten Tage fällt die Gärungsintensität ganz bedeutend ab, es werden nur noch 0,0446 g = 7,14% Salpetersäure vergoren. Sehr merkwürdig ist das Verhalten am vierten Tage, denn wie aus den Analysenzahlen hervorgeht, wird keine Salpetersäure vergoren, sondern neu gebildet. Dieses eigentümliche Verhalten kann nicht auf einem Analysenfehler beruhen, denn die beiden Parallelbestimmungen desselben Tages zeigen beide einen Anstieg der Salpetersäuremenge; es ist wohl sehr unwahrscheinlich, daß bei zwei Analysen annähernd derselbe analytische Fehler vorkommt; dieses Verhalten von *Bac. coli commune* muß andere Ursachen, über welche wir noch nichts aussagen können, haben. Am 5. Tage sind 0,4232 g = 67,13% Salpetersäure vergoren; das ist eine Zahl von annähernd derselben Größenordnung, wie sie auch die 3 roten Farbstoff bildenden Bakterienarten und *Proteus vulgaris* zeigen.

Tabelle Nr. 23.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. coli commune*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,6368	0,6108	96,87	0,0197	3,13
2	3,5306	0,5929	94,04	0,0376	5,96
3	3,5674	0,5991	95,02	0,0304	4,98
4	3,6026	0,6050	95,96	0,0255	4,04
5	3,6051	0,6055	96,03	0,0250	3,97



Tabelle Nr. 24.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: Bac. coli commune. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,5929	0,6034	95,70	0,0271	4,30
2	3,4680	0,5824	92,37	0,0481	7,63
3	3,5534	0,5973	94,74	0,0332	5,26
4	3,6180	0,6076	96,37	0,0229	3,63
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,6071	96,29	0,0234	3,72
2	0,5877	93,21	0,0429	6,80
3	0,5982	94,88	0,0318	5,12
4	0,6063	96,17	0,0242	3,84
5	0,6055	96,03	0,0250	3,97

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten hat ebenso wie bei Bac. coli commune schon mit dem ersten Tage ihre größte Intensität erreicht; am folgenden Tage zeigt sich nur ein sehr geringer Abfall; die Zahlen der folgenden Tage zeigen wieder eine geringe Bildung von oxydiertem Stickstoff; dieser Anstieg dürfte wohl auf Ungenauigkeiten in den Analysen oder sonstige äußere Ursachen zurückzuführen sein.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen).

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>2</sub> %
1	0,2029	32,18
2	0,3725	59,01
3	0,4282	67,83
4	0,4000	63,44
5	0,3982	63,16

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,1514
2	0,2780
3	0,3195
4	0,2985
5	0,2971

### VII.

Auch *Bac. typhi murium* wuchs sehr gut in der Salpeterbouillon; schon nach einem Tag war eine starke Trübung vorhanden und nach zwei Tagen ein starker Bodensatz von Bakterienmasse.

Mit *Bac. typhi murium* wurden zwei Versuchsreihen angesetzt mit einem Zeitunterschied von 14 Wochen.

a)

Tabelle Nr. 25.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. typhi murium*. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,6160	0,1011	16,41	0,5294	83,59
2	0	0	0	0,6305	100,00
3	0	0	0	0,6305	100,00
4	0	0	0	0,6305	100,00
5	0	0	0	0,6305	100,00

Tabelle Nr. 26.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°  
Bakterium: Bac. typhi murium. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,0434	0,0073	1,16	0,6232	98,84
2	0	0	0	0,6305	100,00
3	0	0	0	0,6305	100,00
4	0	0	0	0,6305	100,00
5	0	0	0	0,6305	100,00

Es hat keinen Wert, hier eine mittlere Tabelle aufzustellen, da schon nach 2 Tagen keine Salpetersäure mehr vorhanden war. Die Vergärung der Salpetersäure durch Bac. typhi murium setzt außerordentlich rapide, viel rascher als bei den anderen bisher untersuchten Bakterienarten; schon nach einem Tag sind in dem einen Falle 0,5294 g = 83,59%, in dem anderen Falle 0,6232 g = 98,84% Salpetersäure vergoren. Daß die beiden Analysen so schlecht übereinstimmn, ist weiter nicht verwunderlich, da bei einer Flüssigkeitsmenge von 200 ccm und so wenig Salpetersäure die Bestimmungen natürlich sehr ungenau werden wegen der Löslichkeit des Nitronnitrats.

Tabelle Nr. 27.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°  
Bakterium: Bac. typhi murium. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	5,5308	0,5930	94,05	0,0375	5,95
2	3,4819	0,5848	92,75	0,0457	7,25
3	3,4550	0,5803	92,03	0,0502	7,97
4	3,4112	0,5729	90,86	0,0576	9,14
5	3,2635	0,5481	86,93	0,0814	13,07

Tabelle Nr. 28.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°  
 Bakterium: *Bac. typhi murium*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,4900	0,5861	92,96	0,0444	7,04
2	3,4490	0,5792	91,87	0,0513	8,13
3	3,4845	0,5852	92,81	0,0453	7,19
4	3,3791	0,5675	90,01	0,0630	9,99
5	3,2728	0,5496	87,17	0,0809	12,83

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,5896	93,51	0,0410	6,50
2	0,5820	92,31	0,0485	7,69
3	0,5828	92,42	0,0478	7,58
4	0,5702	90,44	0,0603	9,57
5	0,5489	87,05	0,0812	12,95

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten hat ebenso wie bei den anderen Bakterienarten schon mit dem ersten Tage ihre größte Intensität erreicht, an den beiden folgenden Tagen wird nur noch wenig oxydierter Stickstoff zerstört, dann steigt die Intensität an den beiden letzten Tagen wieder bedeutend an. Worauf dieses anomale Verhalten beruht, kann vorläufig noch nicht entschieden werden.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Werten.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0,5353	84,72
2	0,5820	92,31
3	0,5827	92,42
4	0,5702	90,43
5	0,5493	87,05

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>2</sub> g
1	0,3995
2	0,4343
3	0,4348
4	0,4255
5	0,4099

b)

Tabelle Nr. 29.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27 °.  
Bakterium: Bac. typhi murium. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,3948	0,4022	63,69	0,2283	36,31
2	1,0764	0,1808	26,67	0,4497	73,33
3	0,0703	0,0118	1,87	0,6187	98,13
4	0	0	0	0,6305	100,00
5	0	0	0	0,6305	100,00

Tabelle Nr. 30.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27 °.  
Bakterien: Bac. typhi murium. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	2,3538	0,3953	62,70	0,2352	37,30
2	1,0512	0,1766	28,00	0,4539	72,00
3	0,0636	0,0106	1,69	0,6199	58,31
4	0	0	0	0,6305	100,00
5	0	0	0	0,6305	100,00

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	0,3988	63,20	0,2318	36,81
2	0,2787	27,34	0,4518	72,67
3	0,0112	1,78	0,6193	98,22
4	0	0	0,6305	100,00
5	0	0	0,6305	100,00

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Salpetersäure.

Innerhalb des	sind vergoren HNO <sub>3</sub>	
1. Tages	g	%
1. Tages	0,2318	26,81
2. »	0,2200	35,86
3. »	0,1675	25,55
4. »	—	—
5. »	—	—

Bei der zweiten Versuchsreihe setzte die Vergärung der Salpetersäure durch *Bac. typhi murium* lange nicht so rapide ein wie bei der ersten Versuchsreihe. Während bei der ersten Versuchsreihe am ersten Tage im Mittel 0,5763 g = 91,22% Salpetersäure vergoren werden, werden bei der zweiten Versuchsreihe innerhalb des ersten Tages nur 0,2318 g = 36,81%

vergoren: dieser Betrag hat annähernd dieselbe Größenordnung, wie sie auch bei den 3 roten Farbstoff bildenden Bakterienarten, bei *Proteus vulgaris* und *Bac. coli commune* gefunden wurde. Am zweiten Tage ist die Gärungsintensität fast ebenso groß wie am ersten Tage, es werden 0,2200 g = 35,86% Salpetersäure vergoren; am dritten Tage fällt die Gärungsintensität etwas ab, es werden aber immerhin noch 0,1675 g = 25,55% Salpetersäure vergoren. Von allen bisher untersuchten Bakterienarten vergärt *Bac. typhi murium* am meisten Salpetersäure: schon nach 3 Tagen sind annähernd 100% Salpetersäure vergoren, ein Betrag, der von den anderen auch nicht annähernd erreicht wird. — Wie kommt es nun, daß die beiden Versuchsreihen eine so wenig gute Übereinstimmung der Zahlen zeigen? Wie schon früher gesagt, wurden die beiden Versuchsreihen mit einem Zeitunterschied von 14 Wochen angesetzt; es ist nun sehr wohl möglich, daß innerhalb dieser Zeit der physiologische Zustand der Bakterien sich so verändert, daß hierdurch die Verschiedenheit der Zahlen bedingt wird: es ist aber auch sehr wohl möglich, daß ein verschiedener Nährwert der Bouillon, trotzdem sie nach ein und demselben Rezept hergestellt wurde, die Verschiedenheiten bedingt; auf diese Punkte soll in einer späteren Arbeit näher eingegangen werden.

Tabelle Nr. 31.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. typhi murium*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,1948	0,5366	85,10	0,0939	14,90
2	3,5502	0,5962	94,56	0,0343	5,44
3	3,5652	0,5987	94,96	0,0318	5,04
4	3,5951	0,6038	95,76	0,0267	4,24
5	3,5628	0,5983	94,90	0,0322	5,10

Tabelle Nr. 32.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. typhi murium*. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,1890	0,5356	84,94	0,0949	15,06
2	—	—	—	—	—
3	3,4821	0,5848	92,75	0,0457	7,25
4	3,5859	0,6022	95,51	0,0283	4,49
5	—	—	—	—	—

Mittlere Tabelle.

Zeit in Tagen	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als $\text{HNO}_3$ ) %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	0,5361	85,02	0,0944	14,98
2	0,5962	94,56	0,0343	5,44
3	0,5918	93,86	0,0388	6,15
4	0,6030	95,44	0,0275	4,37
5	0,5983	94,90	0,0322	5,10

Die Überführung des oxydierten Stickstoffs in nichtoxydierten hat ähnlich wie bei den anderen Bakterien mit dem ersten Tage seine größte Intensität erreicht; an diesem Tage werden 0,0944 g = 14,98% zerstört. Es zeigt sich nun das merkwürdige Verhalten, daß am zweiten Tage viel weniger oxydierter Stickstoff zerstört ist als am ersten und ebenso an den folgenden Tagen, worauf dieses merkwürdige Verhalten beruht, kann vorläufig noch nicht entschieden werden; Analysenfehler werden wohl kaum vorliegen, denn die beiden Parallelbestimmungen zeigen annähernd (innerhalb der Fehlergrenzen) dieselben Analysenzahlen.



Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.  
(Berechnet aus den mittleren Tabellen.)

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g	HNO <sub>3</sub> %
1	0,1374	21,83
2	0,4175	67,23
3	0,5805	92,07
4	0,6030	95,63
5	0,5983	94,90

Menge der gebildeten salpetrigen Säure.

Zeit in Tagen	HNO <sub>3</sub> g
1	0,1025
2	0,3116
3	0,4332
4	0,4500
5	0,4465

### VIII.

Die beiden Stämme von *Bac. fluorescens liquefaciens* gingen nur langsam an; erst am zweiten Tage war eine geringe Trübung zu bemerken; am vierten und fünften Tage hatte sich ein leichter Niederschlag von Bakterienmasse gebildet.

Tabelle Nr. 33.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* I. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,7632	0,6303	99,97	0,0002	— 0,03
2	3,7737	0,6338	100,50	0,0033	+ 0,50
3	3,7819	0,6351	100,70	0,0046	+ 0,70
4	3,7642	0,6323	100,30	0,0018	+ 0,30
5	3,6809	0,6182	98,04	0,0113	— 1,96

Tabelle Nr. 34.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* I.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handene HNO <sub>3</sub> %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3,7561	0,6308	100,10	+ 0,0003	+ 0,10
2	3,7805	0,6349	100,70	+ 0,0044	+ 0,70
3	3,7770	0,6343	100,60	+ 0,0038	+ 0,60
4	3,7739	0,6338	100,50	+ 0,0033	+ 0,50
5	3,7445	0,6289	99,74	- 0,0016	- 0,26

Tabelle Nr. 35.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* I. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	3,7410	0,6283	99,65	- 0,0022	- 0,45
2	3,7400	0,6281	99,85	- 0,0024	- 0,15
3	3,7746	0,6339	100,50	+ 0,0034	+ 0,50
4	3,7321	0,6268	99,41	- 0,0037	- 0,59
5	3,6142	0,6070	96,27	- 0,0235	- 0,73

Tabelle Nr. 36.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.

Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* I.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	3,7330	0,6269	99,43	- 0,0036	- 0,57
2	3,7342	0,6271	99,46	- 0,0034	- 0,54
3	3,7655	0,6324	100,30	+ 0,0019	+ 0,30
4	3,7306	0,6265	99,37	- 0,0040	- 0,63
5	—	—	—	—	—

Tabelle Nr. 37.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.  
Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* II. — Zerstörung.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener HNO <sub>3</sub> g	Noch vor- handener HNO <sub>3</sub> %	Vergorener oxydierter N g	Vergorener oxydierter N %
1	3.7640	0,6321	100,30	+ 0,0016	+ 0,30
2	3,7860	0,6358	100,80	+ 0,0053	+ 0,80
3	3,7720	0,6335	100,50	+ 0,0030	+ 0,50
4	3,7716	0,6334	100,40	+ 0,0029	+ 0,40
5	3,7710	0,6333	100,40	+ 0,0028	+ 0,40

Tabelle Nr. 38.

0,6305 g Salpetersäure als Kaliumnitrat bei 27°.  
Bakterium: *Bac. fluorescens liquefaciens* II. — Oxydation.

Zeit in Tagen	Nitron- nitrat g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) g	Noch vor- handener oxydierter N (als HNO <sub>3</sub> ) %	Vergorene HNO <sub>3</sub> g	Vergorene HNO <sub>3</sub> %
1	3,7706	0,6332	100,40	+ 0,0027	+ 0,40
2	3,7288	0,6262	99,32	- 0,0043	- 0,68
3	3,7533	0,6303	99,97	- 0,0002	- 0,03
4	3,7632	0,6320	100,20	+ 0,0015	+ 0,20
5	3,7390	0,6279	99,59	- 0,0026	- 0,41

Wie aus den Tabellen hervorgeht, wird von den beiden Stämmen von *Bac. fluorescens liquefaciens* weder Nitrit gebildet noch oxydierter Stickstoff zerstört; hierdurch unterscheidet sich dieses Bakterium in ganz charakteristischer Weise von den anderen bisher untersuchten Bakterienarten.

Zum besseren Vergleich sollen die Mengen der vergorenen Salpetersäure, die Mengen des zerstörten oxydierten Stickstoffs und die Mengen der in salpetrige Säure übergeführten Salpeter-

säure in Prozenten noch einmal nebeneinander hingeschrieben werden.

1. *Bac. Plymouthensis*, 2. *Bac. prodigiosus*, 3. *Bac. Kiliense*, 4. *Bac. pyocyaneus*, 5. *Proteus vulgaris*, 6. *Bac. coli commune*, 7. *Bac. typhi murium*, 8. *Bac. fluorescens liquefaciens*.

Menge der vergorenen Salpetersäure.

1.	2.	3.	4.
34,39	44,43	33,61	6,86
53,85	55,98	62,88	15,50
64,44	56,07	63,69	22,64
68,67	55,76	65,93	29,98
77,29	55,89	65,40	33,83
5.	6.	7.	8.
35,44	35,90	36,81	0
49,20	65,81	72,67	0
52,00	72,95	98,22	0
54,35	67,28	100,00	0
56,22	67,13	100,00	0

Merkwürdig ist vor allen Dingen bei der Vergärung der Salpetersäure, daß sie im allgemeinen so außerordentlich rasch einsetzt; durchschnittlich wird am ersten Tage, trotzdem dann die Bakterienentwicklung noch lange nicht ihren Höhepunkt hat, am meisten Salpetersäure vergoren; eine Ausnahme macht nur *Bac. pyocyaneus*, welcher am ersten Tage relativ wenig Salpetersäure vergärt. Der größte Teil der untersuchten Bakterienarten vergärt am ersten Tage annähernd dieselbe Menge Salpetersäure, nämlich *Bac. Plymouthensis* (1) 34,39%, *Bac. Kiliense* (3) 33,61%, *Proteus vulgaris* (5) 35,44%, *Bac. coli commune* (6) 35,90% und *Bac. typhi murium* (7) 36,81%. Bedeutend mehr vergärt *Bac. prodigiosus* (2) 44,43 und bedeutend weniger *Bac. pyocyaneus* (4) 6,86%. Auch hierin unterscheidet sich *Bac. pyocyaneus* in ganz charakteristischer Weise von den anderen Bakterien. Nach der Menge der am fünften Tage vergorenen Salpetersäure ordnen sich die Bakterienarten in folgender Weise: *Bac. typhi murium* (7) 100%, *Bac. Plymouthensis* (1) 77,29%, *Bac. coli commune* (6) 67,13%, *Bac. Kiliense* (3) 65,40%, *Proteus vulgaris* (5) 56,22, *Bac. prodigiosus* (2) 55,89%, *Bac. pyocyaneus* (4) 33,83%, und *Bac. fluorescens*

liquefaciens (8) 0%. Aus diesem Vergleich ergibt sich, daß *Bac. pyocyaneus* und *Bac. fluorescens liquefaciens* sich in ganz charakteristischer Weise von den anderen untersuchten Bakterienarten unterscheiden; *Bac. pyocyaneus* dadurch, daß am ersten Tage bedeutend weniger Salpetersäure vergoren wird, und daß die Vergärung auch am fünften Tage lange nicht den Betrag erreicht, der von den anderen erreicht wird, und *Bac. fluorescens liquefaciens* dadurch, daß überhaupt keine Salpetersäure vergoren wird.

Menge des zerstörten oxydierten Stickstoffs.

1.	2.	3.	4.
8,80	2,04	4,02	5,13
—	2,07	6,15	15,14
8,20	1,63	5,18	22,31
8,26	2,30	3,69	28,69
7,91	2,54	—	32,41
5.	6.	7.	8.
3,40	3,72	6,50	0
4,36	6,80	7,69	0
4,81	5,12	7,58	0
4,14	3,84	9,57	0
3,83	3,97	12,95	0

Die Menge des zerstörten oxydierten Stickstoffs hält sich bei den meisten Bakterienarten in recht bescheidenen Grenzen; eine Ausnahme macht auch hier wieder *Bac. pyocyaneus* (4), welcher nach fünf Tagen recht erhebliche Mengen von oxydiertem Stickstoff zerstört hat, 32,41%. Bei den meisten anderen Bakterien ist schon nach ein oder höchstens nach zwei Tagen die größte Menge des zerstörten Stickstoffs erreicht, dann macht die Zersetzung keine weiteren Fortschritte mehr. Eine Ausnahme macht nur, abgesehen von *Bac. pyocyaneus* (4), *Bac. typhi murium* (7), bei welchem die Menge des zerstörten Stickstoffs langsam bis zum fünften Tage ansteigt.

Menge der in salpetrige Säure übergeführten Salpetersäure.

1.	2.	3.	4.
25,59	42,39	29,59	1,73
—	53,91	56,73	0,36
56,24	54,44	58,51	0,33
60,41	53,46	62,24	1,29
69,38	53,35	—	1,42

5.	6.	7.	8.
32,04	32,18	21,83	0
44,84	59,01	67,23	0
47,19	67,83	92,07	0
50,21	63,44	95,63	0
52,39	63,16	94,90	0

Bei den meisten der untersuchten Bakterien findet eine recht beträchtliche Bildung von salpetriger Säure statt; fast die ganze Menge der vergorenen Salpetersäure findet sich als salpetrige Säure wieder. Eine Ausnahme macht nur *Bac. pyocyaneus* (4), bei welchem nur eine sehr geringe Ansammlung von salpetriger Säure stattfindet; es ist wohl wahrscheinlich, daß die zuerst gebildete salpetrige Säure sofort in nichtoxydierten Stickstoff übergeführt wird.

Nach den quantitativen Analysen können wir die untersuchten Bakterien in 3 Gruppen einteilen:

1. Solche, die die Salpetersäure in salpetrige Säure überführen, aber die gebildete salpetrige Säure nur in geringem Maße in nichtoxydierten Stickstoff überführen; hierher gehören *Bac. Plymouthensis*, *Bac. prodigiosus*, *Bac. Kiliense*, *Proteus vulgaris*, *Bac. coli commune* und *Bac. typhi murium*.

2. Solche, die die Salpetersäure in salpetrige Säure überführen, die gebildete Salpetersäure aber sofort weiter in nichtoxydierten Stickstoff verwandeln; hierher gehört *Bac. pyocyaneus*.

3. Solche, die die Salpetersäure überhaupt unverändert lassen; hierher gehört *Bac. fluorescens liquefaciens*.

Diese Schlüsse stimmen auch mit den bisherigen Erfahrungen überein; man weiß, daß sehr viele Bakterien Nitrat zu Nitrit zu reduzieren vermögen, daß einige Bakterien den Salpeter unter Entwicklung von elementarem Stickstoff zu zersetzen vermögen, und daß andere den Salpeter überhaupt nicht angreifen. Es ist bekannt, daß *Bac. pyocyaneus* den Salpeter unter Entwicklung von elementarem Stickstoff zerstört; dies macht sich auch in der quantitativen Verfolgung der Salpetersäurevergärung bemerkbar, denn es wurde ein großer Prozentsatz an zerstörtem oxydiertem Stickstoff gefunden, während nur wenig salpetrige Säure gebildet worden war; bei unseren Ver-

suchen war übrigens, wie schon weiter oben bemerkt, eine Entwicklung von Gasblasen nicht zu beobachten, was darauf schließen läßt, daß in diesem Falle die Zerstörung des oxydierten Stickstoffs nicht unter Entbindung von elementarem Stickstoff vor sich ging. Der *Bacillus fluorecens liquefaciens* gilt im allgemeinen als ein kräftiger Salpeterzerstörer, welcher Salpetersäure unter Entbindung von elementarem Stickstoff zersetzt; wir konnten bei einem Stamm, welcher nur durch die Liebenswürdigkeit der Direktion des pathologischen Institutes der Universität Heidelberg zur Verfügung gestellt worden war, überhaupt nicht die geringste Zerstörung von Salpetersäure nachweisen; aus diesem Grunde untersuchten wir noch einen weiteren Stamm, welcher von Dr. Fr. Marshall aus Neckarwasser isoliert worden war; auch bei diesem Stamm konnten wir die Fähigkeit, Salpetersäure zu zersetzen, nicht beobachten. Worauf dieser Widerspruch mit den bisherigen Erfahrungen beruht, kann vorläufig nicht entschieden werden; es ist wohl möglich, daß sich unter dem Namen *Bac. fluorescens liquefaciens* eine ganze Reihe von Bakterienarten mit ähnlichen morphologischen und wohl zum Teil auch physiologischen Eigenschaften verbirgt.

Die von uns untersuchten Bakterienarten sind auch schon von Albert Maassen<sup>1)</sup> auf ihre Fähigkeit hin, Nitrit aus Nitrat zu bilden, untersucht worden. Maassen züchtete die Bakterien bei 30° auf einer 5%igen Peptonlösung, welche einen Zusatz von 0,5% Salpeter erhalten hatte, 4 Wochen lang und untersuchte dann die Kulturflüssigkeit auf Nitrit. Zum Nachweis von Nitrit benutzte er die von Gries angegebene Reaktion mit *m*-Phenylendiamin oder die äußerst empfindliche Reaktion mit  $\alpha$ -Naphthylamin und Sulfanilsäure. Beide Reagenzien geben mit Nitrit eine Rotfärbung. Je nach der Intensität der Färbung bezeichnet Maassen dann die Nitritbildung mit: starke — ziemlich starke — mittelmäßige — schwache — ganz geringe — keine Nitritbildung.

Derartige Bezeichnungen haben nur eine geringe quantitative Bedeutung. Außerdem ist es nicht möglich, mit Hilfe

<sup>1)</sup> Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. XVIII, 1902, S. 21.

derartiger scharfer Farbenreaktionen feinere quantitative Unterschiede nachzuweisen; dies ist nur möglich, wenn sehr geringe Nitritmengen vorhanden sind; es dürfte nicht möglich sein, mit Hilfe dieser Farbenreaktionen zwischen einem Gehalt von 0,5 und 0,9% Nitrit zu unterscheiden; die Farben werden in beiden Fällen mit annähernd derselben Intensität auftreten. Eine exakte Bestimmung der Menge des gebildeten Nitrits kann nur mit Hilfe einer quantitativen Analyse durchgeführt werden.

Die von Maassen in bezug auf die Nitritbildung durch die auch von uns untersuchten Bakterien seien in folgendem kurz zusammengestellt. Er fand bei

Bac. fluorescens liquefaciens	starke Nitritbildung.
„ prodigiosus	„ „
Proteus vulgaris	„ „
Bac. pyocyaneus	„ „
„ Plymouthensis	„ „
„ typhi murium	„ „
„ coli commune	„ „
„ Kiliense	ziemlich starke Nitritbildung.

Die Resultate stimmen mit zwei Ausnahmen mit den unseren im allgemeinen überein. Maassen fand bei Bac. fluorescens liquefaciens eine starke Nitritbildung, während wir keine Nitritbildung nachweisen konnten; ebenso fand Maassen bei Bac. pyocyaneus eine starke Nitritbildung, während nach unseren Untersuchungen nur sehr geringe Mengen Nitrit gebildet werden.

Auch in bezug auf Bac. Kiliense stimmen unsere Beobachtungen mit denen von Maassen nicht ganz überein; während Maassen bei Bac. Kiliense eine schwächere Nitritbildung fand als bei den anderen Bakterien, haben wir gefunden, daß Bac. Kiliense in derselben Zeit mehr Nitrit bildet als Bac. Plymouthensis, Bac. prodigiosus und Proteus vulgaris. Allerdings ist bei Betrachtung dieser Verschiedenheiten zu bedenken, daß Maassen bei einer anderen Temperatur und mit einer anderen Nährlösung arbeitete und seine Bestimmung erst nach Verlauf von 4 Wochen vornahm, während unsere spätere Bestimmung nach 5 Tagen vorgenommen wurde.



Zum Schluß möchten wir noch einen Blick auf den Chemismus der Denitrifikation werfen. Unter Denitrifikation ist hierbei nicht nur die Denitrifikation im engeren Sinne, bei welcher Salpeter unter Entbindung von elementarem Stickstoff zerstört wird, zu verstehen, sondern auch diejenigen Reduktionserscheinungen, bei denen die Salpetersäure in salpetrige Säure und weiterhin in Ammoniak übergeführt wird.

Als Reaktionsprodukte der Denitrifikation sind folgende Körper beobachtet worden: salpetrige Säure  $\text{HNO}_2$ , Stickoxyd  $\text{NO}$ , Stickoxydul  $\text{N}_2\text{O}$ , elementarer Stickstoff  $\text{N}_2$  und Ammoniak  $\text{NH}_3$ . Wie können wir uns nun diese Körper aus der Salpetersäure entstanden denken? Wenn wir uns die Reduktionsprodukte der Salpetersäure durch nascierenden Wasserstoff in rein schematischer Weise aufschreiben, so erhalten wir folgende Reihe:

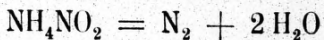


Die Salpetersäure wird zunächst in salpetrige Säure verwandelt, diese wird weiter zu dem Dioxyammoniak reduziert, dieser wird dann in Hydroxylamin übergeführt und als Schlußreaktionsprodukt erhalten wir das Ammoniak. Von diesen vier möglichen Reduktionsprodukten der Salpetersäure sind alle bis auf das Dioxyammoniak unter den Reduktionsprodukten der Salpetersäure aufgefunden worden. Das Dioxyammoniak  $\text{NH}(\text{OH})_2$  resp. sein Anhydrid, das Nitroxyl  $\text{NOH}$ , ist von Angeli auf andere Weise in Form von Derivaten dargestellt worden. Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß dieser Körper bei der Reduktion der Salpetersäure ebenfalls als Zwischenprodukt entsteht, aber infolge seiner großen Reaktionsfähigkeit sofort weiter reduziert wird. In der eben ausgeführten Weise haben wir uns die rein chemische Reduktion der Salpetersäure durch nascierenden Wasserstoff zu denken. Wir können wohl annehmen, daß bei der bakteriellen Reduktion der Salpetersäure diese Körper ebenfalls als Zwischenprodukte entstehen. Während salpetrige Säure und Ammoniak unter den bakteriellen Reduktionsprodukten der Salpetersäure nachgewiesen worden sind, ist dies von dem Dioxyammoniak und dem Hydroxylamin nicht der Fall. Es ist aber sehr wohl möglich und wahrscheinlich.

daß diese beiden Körper entstehen, aber so schnell weiter verändert werden, daß sich ihre Anwesenheit in der Kulturflüssigkeit dem Nachweise entzieht. Von dem Hydroxylamin müssen wir sogar annehmen, daß es nur in kleinen Mengen entsteht, denn dieser Körper übt eine recht kräftige Giftwirkung auf Mikroorganismen aus und seine Anhäufung würde bald zum Aufhören der Lebenserscheinungen führen.

Mit der Annahme des obigen rein chemischen Reduktionsschemas auch für die bakteriellen Prozesse, welcher keine Bedenken entgegenstehen, ist die Entstehung der salpetrigen Säure und des Ammoniaks erklärt. Eine starke Stütze erhält das Reduktionsschema auch noch dadurch, daß sich mit seiner Hilfe noch das Auftreten der anderen, bei der bakteriellen Reduktion der Salpetersäure auftretenden Körper erklären läßt.

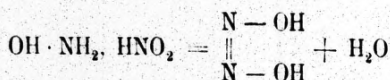
Was nun die Bildung des elementaren Stickstoffs bei der Denitrifikation anbelangt, so läßt sich darüber folgendes sagen: Bei der bakteriellen Reduktion der Salpetersäure wird diese nicht zuerst vollständig in salpetrige Säure übergeführt und diese dann vollständig in Dioxyammoniak verwandelt usw., sondern, nachdem etwas salpetrige Säure gebildet worden ist, wird die Reduktion weitergehen und aus der gebildeten salpetrigen Säure Dioxyammoniak entstehen usw. Es werden also in einer derartigen Kulturflüssigkeit sämtliche Reduktionsprodukte nebeneinander vorhanden sein. Nun wissen wir, daß salpetrigsaures Ammoniak sehr leicht nach der Gleichung



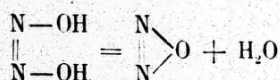
in freien Stickstoff und Wasser zerfallen kann. Wir können uns nun denken, daß gewisse Bakterien die Eigenschaft besitzen, das salpetrigsaure Ammoniak, welches ja in jeder Kulturflüssigkeit, in welcher die Reduktion bis zum Ammoniak fortschreitet, vorhanden sein muß, katalytisch in Stickstoff und Wasser zu zersetzen. Anderen Bakterien geht diese Fähigkeit ab und durch sie wird die Reduktion der salpetrigen Säure einfach bis zum Ammoniak weiter geführt.

Ähnlich wie bei der Bildung des elementaren Stickstoffs können wir uns die Verhältnisse bei der Entstehung des Stickoxyduls vorstellen. Wir wissen, daß das salpetrigsaure Hydro-

xylamin sehr leicht unter Wasserabspaltung in untersalpetrige Säure übergeht



und daß die untersalpetrige Säure leicht in Wasser und Stickoxydul zerfällt.

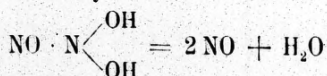


Auch hier können wir wieder annehmen, daß ein Teil der Bakterien mit der Fähigkeit ausgerüstet ist, salpetrigsaures Hydroxylamin in Wasser und Stickoxydul zu zersetzen, während anderen diese Fähigkeit abgeht und die Reduktion einfach weiter geführt wird.

Was nun die Entstehung des Stickoxyds anbelangt, so könnte dieses wohl durch katalytische Zersetzung aus dem Dioxyammoniak und salpetriger Säure entstehen nach der Gleichung



Wissen wir doch durch die Forschungen von Angeli, daß die Nitrohydroxylaminsäure, welcher wahrscheinlich die tautomere Form eines Nitrosamins des Dioxyammoniaks zukommt, leicht in Stickoxyd und Wasser zerfällt.



Auch hier müssen wir wieder einzelnen Bakterien die Fähigkeit der katalytischen Zersetzung zuschreiben, während anderen diese Fähigkeit abgeht.

Je nach den verschiedenen katalytischen Fähigkeiten der Bakterien wird also als Produkt der Denitrifikation freier Stickstoff, Stickoxydul oder Stickoxyd auftreten. Mit der Annahme des obigen Reduktionsschemas ist eine plausible Erklärung für die Bildungsweise der bei der bakteriellen Reduktion der Nitrate auftretenden Produkte gegeben. Wenn auch diese Erklärung vielleicht nicht vollkommen den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, so dürfte sie ihnen doch recht nahe kommen.

Für die Anfertigung der Zeichnung sagen wir auch an dieser Stelle Herrn Hans Franzen unseren besten Dank.