

Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen.

Von

Hartwig Franzen.

II. Mitteilung.

Über die Vergärung der Ameisensäure durch *Bacillus prodigiosus*.

Von

Hartwig Franzen und G. Greve.

Mit einer Abbildung und zwei Kurven im Text.

(Mitteilung aus dem chemischen Institut der Universität Heidelberg.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. Januar 1909.)

Daß Ameisensäure von Bakterien vergoren werden kann, ist schon seit längerer Zeit bekannt. Es liegen hierüber Untersuchungen vor von Hoppe-Seyler,¹⁾ Pakes und Jollymann,²⁾ A. Maaßen,³⁾ O. Loew⁴⁾ und Omelianski.^{5) 6) 7)}

Bei diesen bisher vorliegenden Versuchen über die Vergärung der Ameisensäure sind fast ausschließlich die qualitativen und niemals die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt worden, es ist immer nur nachgewiesen worden, daß Ameisen-

¹⁾ Die Methangärung der Essigsäure. Diese Zeitschrift, Bd. IX (1887), S. 561.

²⁾ The bacterial decomposition of formic acid., Proc. chem. soc. Bd. XVII, S. 29.

³⁾ Die organischen Säuren als Nährstoffe und ihre Zersetzbarkeit durch Bakterien, Arb. a. d. kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. XII (1896), S. 340.

⁴⁾ Über einen *Bacillus*, welcher Ameisensäure und Formaldehyd assimilieren kann, Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, XII, S. 462.

⁵⁾ Über die Zersetzung der Ameisensäure durch Mikroben, Zentralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde II, XI (1904), S. 177, 256, 317.

⁶⁾ Ameisensaures Natron enthaltende Bouillon als Nährboden zur differentiellen Diagnostik der Mikroben, Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde II, XIV, S. 673.

⁷⁾ Beiträge zur Differentialdiagnostik einiger pathogener Bakterienarten, Zentralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde XXXIV (1903), 1.

säure vergoren wird, aber niemals exakt wieviel. Nur in der Arbeit von Maaßen¹⁾ machen sich Versuche bemerkbar, ungefähr zu bestimmen, wieviel Ameisensäure durch ein bestimmtes Bakterium vergoren wird. Aber auch hier geht die Bestimmung nur so weit, als ausgesagt werden kann, es wird sehr viel, ziemlich viel, viel, deutlich und keine Ameisensäure vergoren. Daß keine exakteren Ausdrücke für den Ameisensäureverbrauch gefunden wurden, liegt an der von Maaßen angewandten Methodik, welche in folgendem, teilweise mit Maaßens eigenen Worten, kurz beschrieben sei.

Als Nährboden wurde eine Lösung von folgenden Substanzen in 1 l Wasser verwendet.

- 10 g Pepton
- 1,5 g Monokaliumphosphat
- 1,0 g Chlornatrium
- 0,3 g Magnesiumsulfat.

Zu dieser Stammnährlösung kam dann außerdem noch die Ameisensäure in Form ihres Kalium- oder Natriumsalzes. Die Menge der zugesetzten Säure betrug immer $\frac{1}{10}$ Molekül auf 1 l Nährlösung. Besät wurde die Nährlösung mit 24 bis 48 Stunden alten Agarkulturen des betreffenden Bakteriums. Als Züchtungstemperatur wurde 30° gewählt, die verschiedenen Kulturen 4 Wochen lang bei dieser Temperatur stehen gelassen und dann in folgender Weise auf ihren Säureverbrauch untersucht.

«Während die unbesäten Nährlösungen auf blaues glattes Lackmuspapier gebracht, meist sauer reagierten und die Farbe der getupften Stelle sich beim Eintrocknen nicht auffallend veränderte, war nach Ablauf des Bakterienwachstums das Verhalten ein anderes.»

«Die Kulturflüssigkeiten, in denen ein Verbrauch der Säure stattgefunden hatte, erzeugten auf dem blau-violetten Papiere mehr oder weniger starke, aber stets deutliche Bläuungen, welche auch nach dem Eintrocknen Stand hielten.»

«Der Grund für diese Erscheinung ist das aus dem angewandten Salz durch Oxydation entstandene kohlen-saure fixe Alkali. Das beim Bakterienwachstum gebildete kohlen-saure Ammon bewirkt zwar auch ein stärkeres

¹⁾ Die organischen Säuren als Nährstoffe und ihre Zersetzbarkeit durch Bakterien, Arb. a. d. kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. XII (1896), S. 340.

Blauwerden des Lackmuspapiers, aber diese Bläuung verschwindet nach dem Trocknen wieder.»

«In der Tüpfelprobe auf glattem blauen Lackmuspapier mit nachfolgendem Eintrocknen war somit ein sehr bequemes Mittel für die Feststellung der Säurezersetzung gegeben.»

«Es genügte hierzu, einige Tropfen der alkalisch reagierenden Kulturflüssigkeit unter vergleichender Hinzuziehung der unbesäten Nährlösung vor und nach dem Eintrocknen auf blauem Lackmuspapier zu beobachten. Die nach dem Eintrocknen der Kulturflüssigkeit auf dem Reagenzpapier bleibende Bläuung zeigte die Anwesenheit von kohlen-saurem fixem Alkali und somit den Verbrauch eines Teiles der Säure an.»

Diese Probe zum Nachweis des Säureverbrauches kann unserer Ansicht nach unter Umständen aber auch versagen. Nehmen wir einmal an, wir hätten zwei Bakterien, welche tatsächlich gleichviel Säure verbrauchen, und nehmen wir an, das eine Bakterium produziere während seines Wachstums erhebliche Mengen Oxalsäure oder eine andere Säure, während das andere Bakterium keine Säure bildet. Nun wird in der einen Kultur die Oxalsäure das primär gebildete Alkalicarbonat zersetzen und Alkalioxalat bilden, während in der zweiten Kultur das gebildete Alkalicarbonat bestehen bleibt. Da nun Alkalioxalat neutral gegen Lackmuspapier reagiert, so werden Unterschiede in der Intensität der Reaktion gegen jenes Reagenz vorhanden sein und es wird ein verschiedener Ameisensäureverbrauch vorgetäuscht, während tatsächlich gleichviel Ameisensäure zerstört worden ist. Ja, unserer Ansicht nach kann die Täuschung soweit gehen, daß in einzelnen Kulturen auf diese Weise überhaupt kein Ameisensäureverbrauch nachgewiesen wird, während tatsächlich ein Verbrauch stattgefunden hat, denn die Neutralisation des Alkalicarbonats kann unter Umständen so weit gehen, daß mit Lackmuspapier eine neutrale Reaktion erhalten wird.

Trotz der Unsicherheiten, welche diese Methode von Maaßen bietet, sollen die auf diese Weise erhaltenen Resultate hier aufgeführt werden, da man doch immerhin einen gewissen Überblick darüber erhält, wie sich die verschiedenen Bakterien gegenüber Ameisensäure verhalten.

Zuerst sollen die Bakterien aufgeführt werden, welche einen Ameisensäureverbrauch zeigen, und zwar mit dem Zu-

satz viel, wenig usw., dann die, bei denen kein deutlicher Ameisensäureverbrauch nachgewiesen worden ist, und zum Schluß die, welche keine Ameisensäure vergären.

Ameisensäure verbrauchen:

Bac. acidi lactici	stark
» capsulatus Pfeifferi	»
» cyanogenus	»
» diphtheriae columbarum	»
» enteritidis Gaertneri	»
» erythrosporus	»
» aus rohem Fleisch	»
» fluorescens	»
» » putidus	»
» der Frettchenseuche	»
» Kaninchenseptikämie	»
» mesentericus ruber	»
» » vulgatus	deutlich
» pneumoniae Friedländer	ziemlich stark
» prodigosus	stark
» pyocyaneus	»
» ruber balticus	ziemlich stark
» » plymouth	» »
» der swine plague	schwach
» subtilis	»
» typhi abdominalis	deutlich
» » murium	»
» coli commune Escherich	ziemlich stark
» » Nr. 1—4	» »
» lactis aerogenes	deutlich
Proteus mirabilis	stark
» vulgaris	»

Kein deutlicher Ameisensäureverbrauch:

Bac. anthracis
» aurantiacus.

Kein Ameisensäureverbrauch:

Bac. diphtheriae hominum
» ramosus
» lactis erythrogenes
Vibrio Blankenese
» cholerae asiaticae
» Dunbar
» Finkler-Prior

Vibrio Hamburg

- Massauah
- Metschnikovi
- Miller
- Tyroenum.

Aus dieser Aufstellung geht hervor, daß die meisten der untersuchten Bakterienarten Ameisensäure vergären. Unserer Ansicht nach werden auch die Bakterienarten, welche nach dieser Aufstellung keine Ameisensäure vergären, dieses doch tun, denn es ist sehr wahrscheinlich, daß sämtliche Bakterienarten das Vermögen besitzen, Ameisensäure zu vergären. Warum dies der Fall sein muß, kann hier nicht erörtert werden, es würde zu weit führen. Daß Maaßen nicht bei allen Bakterienarten eine Vergärung der Ameisensäure fand, liegt wohl an seiner Untersuchungsmethode; die Gründe wurden bereits weiter oben erörtert.

Es dürfte wohl überhaupt schwer sein, mit Hilfe von qualitativen Methoden den Verbrauch oder Nichtverbrauch von Ameisensäure sicher nachzuweisen, aber immer wird dies gelingen, wenn man die Menge der nach einer gewissen Zeit noch vorhandenen Ameisensäure quantitativ bestimmt: auch wenn man nur rein qualitative Zwecke im Auge hat, sollte man dies tun, denn die sicherste qualitative Analyse ist immer die quantitative Analyse.

Hartwig Franzen und Georg Braun¹⁾ haben zum ersten Male die quantitativen Verhältnisse bei der Vergärung der Ameisensäure durch *Proteus vulgaris* in systematischer Weise untersucht. Die in dieser Arbeit erhaltenen Zahlen sind aber noch mit einer gewissen Unsicherheit behaftet, da die Methode zur Bestimmung der Ameisensäure noch nicht so gut ausgebildet war und außerdem die Definition der Temperatur unsicher war.

Bevor wir nun auf die eigentliche Arbeit eingehen, möchten wir noch einige Worte darüber sagen, welche Vorteile ein quantitatives Verfolgen eines Gärungsvorganges, speziell der Vergärung der Ameisensäure, bietet.

¹⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. VIII (1908), S. 92.

Vor allen Dingen ist hervorzuheben, daß nur die Bestimmung der Menge der vergorenen Ameisensäure die Möglichkeit bietet, einen exakten Einblick in den Verlauf der Gärung zu bekommen. Bestimmen wir die Menge der vorhandenen Ameisensäure von Tag zu Tag, so erhalten wir die Reaktionsgeschwindigkeit des Vorganges der Zerlegung der Ameisensäure und diese Reaktionsgeschwindigkeit ist ein exaktes Maß für den Verlauf der Gärung.

Haben wir die Reaktionsgeschwindigkeit für eine bestimmte Konzentration der Ameisensäure festgestellt und bestimmen wir nun die Reaktionsgeschwindigkeit für eine andere Konzentration der Ameisensäure, so wird im allgemeinen die Reaktionsgeschwindigkeit eine andere geworden sein. Der Unterschied zwischen den in beiden Versuchszeiten erhaltenen Reaktionsgeschwindigkeiten ist ein exaktes Maß des Einflusses, welchen die Konzentration der Ameisensäure auf den Verlauf der Gärung ausübt. Variieren wir die Konzentrationen nun noch weiter, so werden wir schließlich zwei Konzentrationen finden, welche sich vor den anderen auszeichnen, nämlich eine, bei welcher die Reaktionsgeschwindigkeit am größten ist, und eine, bei welcher überhaupt keine Reaktionsgeschwindigkeit mehr vorhanden ist: wir haben also die Konzentrationen bestimmt, bei welcher am meisten und bei welcher überhaupt keine Ameisensäure vergoren wird. Um die von der Konzentration abhängigen Reaktionsgeschwindigkeiten festzustellen, müssen natürlich die anderen Faktoren, von denen sie abhängig ist, unverändert bleiben.

Haben wir die Reaktionsgeschwindigkeit bei einer Temperatur festgestellt, so werden wir bei einer anderen Temperatur eine andere Reaktionsgeschwindigkeit finden. In der Differenz der bei beiden Temperaturen gefundenen Reaktionsgeschwindigkeit liegt nun ebenfalls wieder ein exaktes Maß des Einflusses, welchen die Temperatur auf die Vergärung der Ameisensäure ausübt. Variieren wir die Temperaturen nun noch weiter, so werden wir schließlich 3 Temperaturen finden, die sich vor den andern auszeichnen, nämlich 2 Temperaturen, bei denen überhaupt keine Ameisensäure mehr vergoren wird,

und eine, bei welcher am meisten vergoren wird. Voraussetzung ist natürlich auch hier wieder, daß die übrigen Faktoren, von denen die Reaktionsgeschwindigkeit außerdem noch abhängt, unverändert bleiben. Die obere und die untere Temperatur und die Optimaltemperatur kann auch auf andere Weise festgestellt werden und dies geschieht wohl meistens so, daß die Üppigkeit des Wachstums bei den verschiedenen Temperaturen festgestellt wird; aber man wird zugeben müssen, daß auf diese Weise absolut keine Sicherheit erlangt werden kann, denn der eine Beobachter wird als üppiges Wachstum ansehen, was einem anderen Beobachter nur als gutes Wachstum erscheint, und so werden Differenzen von mehreren Graden bei der Festlegung dieser Kardinalpunkte herauskommen. Benutzen wir dagegen die quantitative chemische Analyse zur Feststellung dieser Punkte, so können wir uns überhaupt nicht täuschen, denn die Wage arbeitet objektiv, während das Auge subjektiv arbeitet.

Außer von der Konzentration der Ameisensäure und der Temperatur ist die Vergärung der Ameisensäure noch von anderen Faktoren abhängig, z. B. von der Zusammensetzung des Nährbodens. Nehmen wir an, wir hätten einen künstlichen Nährboden, welcher aus den üblichen anorganischen Kationen und Anionen K, Na, Ca, Mg, Fe, SO_4 , PO_4 , Cl einer organischen Kohlenstoffquelle, z. B. Glukose, und einer organischen Stickstoffquelle, z. B. Asparagin, in bestimmter Konzentration besteht und fügen wir außerdem noch eine bestimmte Menge Ameisensäure hinzu, so werden wir bei einer bestimmten Temperatur eine bestimmte Reaktionsgeschwindigkeit der Vergärung der Ameisensäure erhalten. Variieren wir nun eine der Komponenten der Nährlösung (außer der Ameisensäure), so werden wir wohl im allgemeinen eine andere Reaktionsgeschwindigkeit erhalten und wir haben wieder in der Differenz dieser beiden Reaktionsgeschwindigkeiten ein exaktes Maß des Einflusses, welchen die Veränderung der einen Komponente auf die Vergärung der Ameisensäure ausübt. Es ist aber auch möglich, daß durch die Variation einer Komponente keine Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit bewirkt wird, und wir haben dann gefunden,

daß die bestimmte Änderung in der Zusammensetzung der Nährlösung keinen Einfluß auf die Vergärung der Ameisensäure ausübt. Wir können auch zwei der Komponenten ändern und wir werden so die Abhängigkeit der beiden Komponenten von einander finden. Wenn eben von einer Veränderung der Komponenten die Rede war, so war immer eine Konzentrationsänderung gemeint. Anstatt nun aber lediglich die Konzentration der Komponenten zu ändern, können wir aber auch eine Komponente durch eine neue ersetzen. So können wir z. B. Kalium gegen Cäsium oder Rubidium austauschen und zahlenmäßig finden, welchen Einfluß dieser Austausch auf die Vergärung der Ameisensäure ausübt. Noch wichtiger dürfte es wohl sein, den Ersatz der Stickstoffquelle durch eine andere, z. B. den Ersatz des Asparagins durch ein Ammoniumsalz, durch Glykoll oder eine andere Aminosäure in bezug auf seinen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu studieren oder den Einfluß, welchen der Ersatz der Kohlenstoffquelle durch eine andere, z. B. Glukose durch Fruktose oder Galaktose ausübt. Mit der Variation der Stickstoff- und Kohlenstoffquelle werden wir einen Einblick erhalten, wie sich diese verschiedenen Körper als Kohlenstoff- resp. Stickstoffquelle für das betreffende Bakterium eignen; wir können die mehr oder minder günstigen Eigenschaften der betreffenden Körper als Kohlenstoff- resp. Stickstoffquelle zahlenmäßig ausdrücken, anstatt wie bisher darauf angewiesen zu sein, diese Beziehungen mehr oder minder sicher aus den Wachstumserscheinungen der Bakterien abzuleiten. Wir können natürlich auch mehrere Komponenten gleichzeitig variieren und wir werden so die Abhängigkeit der einzelnen Komponenten voneinander erfahren: auch der Einfluß der Temperatur müßte wieder studiert werden, je nach der Veränderung des Nährbodens. Je mehr wir von diesen Beziehungen feststellen, einen desto genaueren Einblick werden wir in die Vergärung der Ameisensäure erhalten.

Die quantitative Analyse bietet noch die Möglichkeit zum exakten Studium mancher anderer Einflüsse auf das Gedeihen der Bakterien. So können wir z. B. den Einfluß der Gifte auf den Verlauf der Gärung untersuchen. Setzen wir z. B. einmal Zn-Ion.

das andere Mal Cd-Ion zu der Kulturflüssigkeit, so wird sich wohl im allgemeinen eine verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit ergeben und in dieser verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit haben wir wieder ein exaktes Maß für die Giftwirkung. Auch der Einfluß des Sauerstoffs auf das Gedeihen der Bakterien läßt sich auf diese Weise exakt bestimmen.

Noch ein anderes sehr wichtiges Gebiet der Biochemie der Bakterien wird durch die quantitative Analyse der exakten Beobachtung zugänglich gemacht, nämlich die Variabilität der Bakterien in bezug auf ihre chemischen Eigenschaften. A priori sollte man erwarten, daß ein und dasselbe Bakterium unter gleichen Umständen auch gleiche chemische Wirkungen ausübt. Das ist aber lange nicht immer der Fall; wir erinnern nur an das Verschwinden und Wiedererscheinen der Farbstoffproduktion, an das Verschwinden und Wiedererscheinen der Pathogenität usw. Wenn wir nun verschiedene Stämme ein und derselben Bakterienart unter identischen Umständen Ameisensäure vergären lassen, so können ganz verschiedene Reaktionsgeschwindigkeiten herauskommen, wie auch aus dieser Arbeit hervorgeht. In dem Unterschiede der Reaktionsgeschwindigkeiten liegt dann ein exaktes Maß für die Verschiedenheit der chemischen Wirksamkeit, für die Verschiedenheit des physiologischen Zustandes, der beiden Bakterienstämme. Weiter können wir die Veränderungen des physiologischen Zustandes, welche durch äußere Einflüsse bei einem Bakterium hervorgerufen werden, exakt studieren. Nehmen wir einen Bakterienstamm von bestimmter Reaktionsgeschwindigkeit der Ameisensäurevergärung und setzen ihn dem Einfluß verschiedener Faktoren längere Zeit aus, wir züchten ihn z. B. längere Zeit bei verschiedenen Temperaturen oder in verschiedenen Nährmedien und untersuchten ihn dann nach einer bestimmten Zeit wieder auf sein Vermögen Ameisensäure zu vergären, so wird die Reaktionsgeschwindigkeit sich entweder geändert haben, oder sie wird dieselbe geblieben sein. In dem einen Falle hat sich der physiologische Zustand geändert, in dem anderen Falle nicht. Hat sich der physiologische Zustand geändert, so haben wir in dem Unterschied der Reaktionsgeschwindigkeit ein exaktes

Maß für die Veränderung, welche durch den Einfluß der gewählten Faktoren auf das betreffende Bakterium hervorgerufen worden ist.

Wenn auch die Bakterien unter dem Einfluß von bestimmten Faktoren sehr leicht eine Veränderung ihres physiologischen Zustandes erleiden, so ist es doch wahrscheinlich, daß sie an den Stellen, an welchen sie in der Natur vorkommen, einen identischen physiologischen Zustand besitzen. Isolieren wir nun ein Bakterium und lassen es dann auf eine Ameisensäurelösung einwirken, so wird sich eine bestimmte Reaktionsgeschwindigkeit ergeben; isolieren wir nun das Bakterium ein anderes Mal und bringen es wiederum in die Ameisensäurelösung, so wird sich dieselbe Reaktionsgeschwindigkeit ergeben. Wir dürfen dann sagen: geben zwei Bakterien unter gleichen Umständen eine gleiche Reaktionsgeschwindigkeit, so sind sie identisch. Wenn dies wirklich der Fall ist, und die Möglichkeit liegt immerhin vor, so wäre in der Diagnose der einzelnen Bakterienarten eine außerordentliche Erleichterung geschaffen. Bevor sich aber hierüber etwas Näheres aussagen läßt, muß weiteres Versuchsmaterial abgewartet werden.

Bisher waren die Untersuchungsmöglichkeiten immer nur auf eine Bakterienart bezogen worden, aber sie lassen sich natürlich auf alle Bakterienarten ausdehnen. Die Vergleichsmöglichkeiten, die sich dann ergeben, möge sich jeder selbst ausmalen; sie im einzelnen hier aufzuführen, würde viel zu weit gehen.

Weshalb gerade das Studium der Ameisensäurevergärung sich unserer Ansicht nach besonders gut für derartige vergleichende Untersuchungen eignet, möge kurz erwähnt werden. Erstens läßt sich die Ameisensäure gut quantitativ bestimmen, was man von anderen Körpern, welche einer Bakteriengärung unterliegen, nicht sagen kann, und zweitens ist es wahrscheinlich, daß die Ameisensäure die Vorstufe der Kohlensäure bei der Atmung ist, ihre Zersetzung steht also in nahem Zusammenhange mit den Lebenserscheinungen überhaupt und es liegt die Möglichkeit vor, daß man die mit ihr gesammelten Erfahrungen auch auf die Zerlegung anderer Körper durch Bakterien über-

tragen kann. Die so verschiedenartigen bei der Gärung einzelner Bakterienarten und bei der Vergärung verschiedener Substanzen sich bildenden Körper sind doch wahrscheinlich nichts anderes als Zwischenstufen zwischen dem zersetzten Körper und der Kohlensäure und damit auch der Ameisensäure. Bevor aber genaueres hierüber ausgesagt werden kann, muß mehr Versuchsmaterial abgewartet werden.

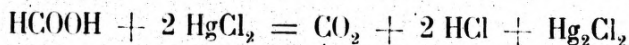
Zum Schlusse sei nun nochmals betont, daß die im Vorhergehenden besprochenen Untersuchungen auch bisher ausgeführt werden konnten, wenn auch in sehr unsicherer Weise, da man sich auf die Beobachtung der Wachstumserscheinungen der Bakterien beschränken mußte. Daß diese Beobachtungsweise recht unsichere Resultate ergeben muß, ist selbstverständlich, denn das Auge eines Beobachters arbeitet von dem des anderen in quantitativer Hinsicht recht verschieden und das Auge ein und desselben Beobachters wird nach einer gewissen Zeit auch in quantitativer Hinsicht anders arbeiten als vorher, da ja Vergleichsobjekte fehlen. Kleine Differenzen können auf diese Weise überhaupt nicht festgestellt werden. Die nach der alten Methode erhaltenen Resultate können nur durch Wörter wie gut, sehr gut, schlecht usw. ausgedrückt werden oder durch Beziehung auf ein anderes Bakterium mit besser, schlechter als, ebenso gut wie; derartige Angaben sind aber recht unsicher und für exakte Vergleiche nicht geeignet. Nehmen wir dagegen die Wage als Beobachtungsinstrument, so erhalten wir ganz eindeutige Angaben, welche sich in Zahlen ausdrücken lassen; da die Wage in den Händen des einen Beobachters ebenso genau arbeitet, wie in denen eines anderen, so müssen die an demselben Objekt unter denselben Bedingungen vorgenommenen Beobachtungen auch übereinstimmende, sich in Zahlen ausdrücken lassende Resultate ergeben. Nur mit Hilfe der quantitativen chemischen Analyse kann die Biochemie der Bakterien auf eine exakte Grundlage gestellt werden.

In der vorliegenden Arbeit konnten natürlich nicht alle die eben erwähnten Versuchsmöglichkeiten durchgeführt werden; es kam hauptsächlich darauf an, einmal Erfahrungen in bezug auf die Versuchstechnik zu sammeln, da ja analoge Arbeiten

noch nicht vorliegen, und weiterhin den Einfluß der Temperatur auf die Vergärung der Ameisensäure zu studieren.

Bevor wir auf die eigentliche Arbeit eingehen, sei noch kurz die zur Anwendung gelangte Methode der Ameisensäurebestimmung mitgeteilt, deren ausführliche Beschreibung sich im Journal für praktische Chemie (II), 80 (1909) 368, findet.

Benutzt wurde die Methode von Scala in einer von uns verbesserten Form: die Methode beruht darauf, daß eine Lösung von Mercurichlorid durch Ameisensäure zu unlöslichem Mercurichlorid, dessen Gewicht bestimmt werden kann, reduziert wird.



0,2–1 g Ameisensäure, als lösliches Salz vorliegend, werden in ca. 1 l Wasser gelöst; zu dieser Lösung wird das 15 fache der angewandten Menge Ameisensäure an Sublinat, gelöst in 100–200 ccm heißem Wasser, gegeben und umgerührt. Die Mischung wird jetzt so lange in ein 95–100° heißes Wasserbad gestellt, bis der ausfallende Kalomelniederschlag sich zu Boden gesetzt hat, was nach $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ Stunden geschehen ist. Dann wird zu der heißen Flüssigkeit unter Umrühren so lange Natronlauge hinzugefügt, bis der an der Einfallstelle entstehende braungelbe Niederschlag von Quecksilberoxyd nicht mehr verschwindet: die ganze Flüssigkeit hat dann einen bräunlichen Farbenton angenommen. Das Becherglas wird jetzt wieder so lange in das Wasserbad zurückgesetzt, bis der Niederschlag sich wieder vollkommen gesenkt hat, was nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde geschehen ist, das Neutralisieren nochmals wiederholt und das Becherglas in das Wasserbad zurückgestellt. Nachdem sich der Niederschlag wieder vollkommen zu Boden gesetzt hat, werden 20 ccm konzentrierte Salzsäure hinzugefügt, gut umgerührt und nochmals 1 Stunde lang in das Wasserbad gestellt. Der Niederschlag wird nunmehr auf einem Gooch-Tiegel abgesaugt, gut mit heißem Wasser ausgewaschen, 6–8 Stunden lang im Dampftrockenschrank bei 95–100° getrocknet, dann über Nacht im Vakuumexsikkator über Kali und Schwefelsäure gestellt und gewogen.

Einige der so erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

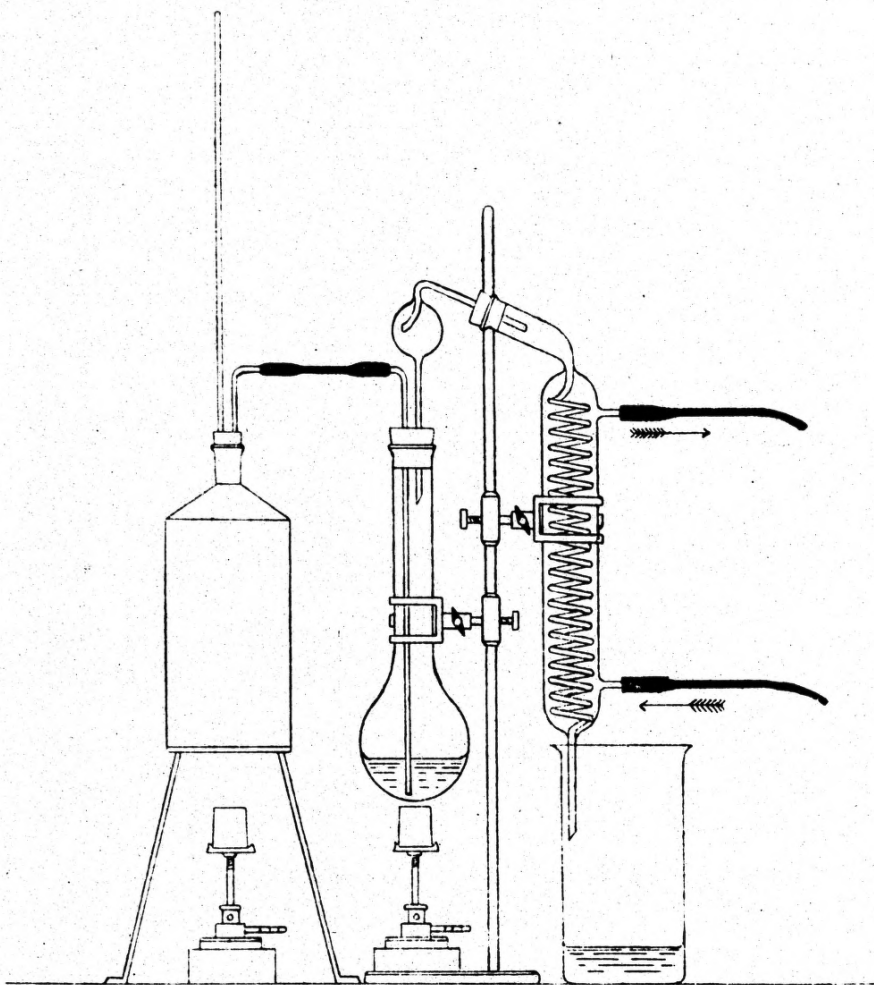
Tabelle A.

Ange- wandte Menge HCOOH	Berech- nete Menge Kalomel	Ge- fundene Menge Kalomel	Differenz Kalomel	Ge- fundene Menge HCOOH	Differenz HCOOH	Ge- fundene Menge HCOOH	Diffe- renz HCOOH
mg	g	g	g	g	g	o/o	o/o
0,2301	2,3545	2,3456	- 0,0089	0,2292	- 0,0009	99,62	- 0,38
0,2301	2,3545	2,3498	- 0,0047	0,2296	- 0,0005	99,80	- 0,20
0,2301	2,3545	2,3470	- 0,0075	0,2294	- 0,0007	99,68	- 0,32
0,2301	2,3545	2,3502	- 0,0043	0,2297	- 0,0004	99,82	- 0,18
0,2301	2,3545	2,3554	+ 0,0009	0,2302	+ 0,0001	100,04	+ 0,04
0,2301	2,3545	2,3528	- 0,0017	0,2299	- 0,0002	99,92	- 0,08
0,2301	2,3545	2,3542	- 0,0003	0,2301	+ 0,0000	99,99	- 0,01
0,4602	4,7091	4,7082	- 0,0009	0,4601	- 0,0001	99,98	- 0,02
0,4602	4,7091	4,7066	- 0,0025	0,4600	- 0,0002	99,95	- 0,05
0,9204	9,4193	9,4230	+ 0,0037	0,9209	+ 0,0005	100,05	+ 0,05
0,9204	9,4193	9,4216	+ 0,0023	0,9207	+ 0,0003	100,04	+ 0,04
0,9204	9,4193	9,4272	+ 0,0079	0,9213	+ 0,0009	100,09	+ 0,09
0,9204	9,4193	9,4184	+ 0,0009	0,9204	+ 0,0000	100,00	+ 0,00

Um aus dem Gewicht des Kalomels die Ameisensäure zu berechnen, muß das erstere mit 0,097726 multipliziert werden.

Nachdem die Bedingungen für eine exakte Bestimmung der Ameisensäure gefunden waren, galt es zu sehen, ob die Ameisensäure sich auch quantitativ aus einer Flüssigkeit abdestillieren ließ.

Nach vielfachem Herumsuchen wurde folgender Apparat als zweckmäßig zur Ausführung der Destillation gefunden. Als Destillationskolben diente ein Kjeldahl-Kolben von 800 ccm Inhalt mit ziemlich langem Hals. Er war oben mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen eine Bohrung das Dampfzuleitungsrohr bis nahe auf den Boden des Kolbens führte, während in der anderen Bohrung der bei Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl übliche Destillationsauf-



satz steckte; das freie Ende des Destillationsaufsatzes war mit einem langen Schlangenkühler verbunden. Zum Auffangen des Destillates diente ein Becherglas von 21 Inhalt, in welchem nachher auch die Füllung vorgenommen wurde. Eine Analyse mit Hilfe dieses Apparates wurde in folgender Weise durchgeführt: Die in ca. 200 ccm Wasser gelöste Menge des betreffenden Formiates wurde in den Destillationskolben gegeben, 10 ccm 50%ige Phosphorsäure hinzugefügt und Wasserdampf hindurchgeleitet. Der Wasserdampfstrom muß so reguliert werden, daß aus dem Destillationsaufsatz keine Flüssigkeit mit

in den Kühler übergerissen wird und aus dem unteren Ende des Kühlers keine Dämpfe entweichen. Das letztere kann aber leicht vermieden werden, wenn man den Kühler möglichst lang wählt und für einen kräftigen Wasserstrom sorgt. Ferner ist darauf zu achten, daß sich die Flüssigkeit in dem Destillationskolben nicht durch Kondenswasser vermehrt; am günstigsten gestaltet sich die Destillation, wenn man während des Versuches die Flüssigkeit durch eine untergestellte Gasflamme auf ca. $\frac{1}{4}$ ihres Volumens eindampfen läßt. Um zu sehen, ob die vorhandene Ameisensäure überdestilliert ist, fängt man 10 ccm des Destillates auf, fügt 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung hinzu und titriert mit $\frac{1}{10}$ n-Barytwasser; die Ameisensäure ist vollständig übergetrieben, wenn 10 ccm des Destillates nicht mehr als $\frac{1}{2}$ Tropfen $\frac{1}{10}$ -Barytwasser erfordern, um bleibende Rötung zu erzeugen. Nach Beendigung der Destillation wird der Inhalt des Becherglases nach Zusatz von einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung mit Normalnatronlauge neutralisiert und dann die Bestimmung der Ameisensäure in der oben beschriebenen Weise vorgenommen.

Für die vorliegenden Versuche wurde als Nährlösung die in der Bakteriologie übliche Nährbouillon verwendet. Dargestellt wurde sie nach der in dem Buche von Karl Günther «Einführung in das Studium der Bakteriologie» 6. Auflage, Leipzig 1906, S. 203, gegebenen Vorschrift. 1 kg fettfreies, sehr fein gehacktes Rinderfleisch wurde mit 2 l destilliertem Wasser übergossen, gut durchgeschüttelt und 24 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde koliert, das extrahierte Fleisch gut ausgepreßt und das so gewonnene Fleischwasser mit destilliertem Wasser zu 2 l aufgefüllt. Die 2 l Fleischwasser werden dann mit 20 g Pepton Witte und 10 g Kochsalz versetzt, letztere beiden Substanzen durch Schütteln in Lösung gebracht und nun die Lösung so lange mit verdünnter Natronlauge versetzt, bis sie gegen Lackmus ganz schwach alkalisch reagierte. Dann wurde 1—2 Stunden im Dampftopf erhitzt und vom ausgeschiedenen Eiweiß abfiltriert. Die so erhaltene Nährbouillon wurde mit Lackmuspapier auf ihre Reaktion geprüft und, falls sie nicht mehr schwach alkalisch reagierte.

durch erneuten Zusatz von verdünnter Natronlauge auf schwach alkalische Reaktion gebracht.

Tabelle B.

Ange- wandte Menge HCOOH g	Berech- nete Menge Kalomel g	Ge- fundene Menge Kalomel g	Differenz Kalomel g	Ge- fundene Menge HCOOH g	Differenz HCOOH g	Ge- fundene Menge HCOOH %	Diffe- renz HCOOH %
0.2301	2.3545	2.3632	+ 0,0087	0,2310	+ 0,0009	100,37	+ 0,37
0.2301	2.4545	2.3466	- 0,0079	0,2293	- 0,0008	99,66	- 0,34
0.2301	2.3545	2.3492	- 0,0053	0,2296	- 0,0005	99,77	- 0,23
0.2391	2.3545	2.3574	+ 0,0029	0,2304	+ 0,0003	100,12	+ 0,12
0.2301	2.3545	2.3578	+ 0,0033	0,2304	+ 0,0003	100,14	+ 0,14
0.2301	2.3545	2.3596	- 0,0019	0,2299	- 0,0002	99,92	- 0,08
0.4602	4.7091	4.7148	+ 0,0057	0,4608	+ 0,0006	100,12	+ 0,12
0.4602	4.7091	4.7030	- 0,0061	0,4596	- 0,0006	99,87	- 0,13
0.4602	4.7091	4.6903	- 0,0188	0,4584	- 0,0018	99,60	- 0,40
0.4602	4.7091	4.7068	- 0,0023	0,4600	- 0,0002	99,95	- 0,05
0.4602	4.7091	4.6974	- 0,0117	0,4591	- 0,0011	99,75	- 0,25
0.4602	4.7091	4.6885	- 0,0106	0,4582	- 0,0020	99,56	- 0,44
0.4602	4.7091	4.7086	- 0,0005	0,4602	+ 0,0000	99,99	- 0,01
0.4602	4.7091	4.7065	- 0,0026	0,4600	- 0,0002	99,95	- 0,05
0.4602	4.7091	4.7073	- 0,0018	0,4600	- 0,0002	99,96	- 0,04
0.9204	9.4193	9.4140	- 0,0053	0,9200	- 0,0004	99,95	- 0,05
0.9204	9.4193	9.4202	+ 0,0062	0,9206	+ 0,0002	100,00	+ 0,01
0.9204	9.4193	9.4206	+ 0,0013	0,9206	+ 0,0002	100,03	+ 0,03
0.9204	9.4193	9.4170	- 0,0023	0,9203	- 0,0001	99,99	- 0,01
0.9204	9.4193	9.4207	+ 0,0014	0,9207	+ 0,0003	100,03	+ 0,03

Da die Einstellung der Reaktion der Nährbouillon mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator eine ziemlich unsichere ist, wurde später dazu übergegangen, die Reaktion mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator einzustellen; hierbei wurde in folgender Weise verfahren. Die auf die weiter oben beschriebene Weise erhaltenen 2 l 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 genau zu 2 l aufgefüllt. Dann wurde mit einer Pipette 50 ccm Bouillon herausgenommen und diese in einer Porzellanschale so lange aus einer Bürette mit ca. 2% kohlenstofffreier 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 dann wiederum eine Stunde im Dampftopf erhitzt. Von dem ziemlich beträchtlichen Niederschlag, der 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 einem Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt: es trat dann immer schwache Rotfärbung ein. Die so neutralisierte Nährbouillon wurde dann für die Versuche benutzt. Ob die Nährbouillon nach der einen oder anderen Methode neutralisiert wurde, ist immer bei den betreffenden Versuchsreihen bemerkt.

Die verschiedenen Neutralisationsverfahren haben, wie man bei genauerer Durchsicht der erhaltenen Zahlen findet, auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Vergärung der Ameisensäure keinen Einfluß, und das war auch a priori zu erwarten. Denn wenn auch anfangs kleine Unterschiede in der OH-Ionenkonzentration vorhanden sind, so wird sich das doch bald ausgleichen, da bei der Zersetzung des Natriumformiates nach der Gleichung $\text{HCOONa} + \text{H}_2\text{O} = \text{NaHCO}_3 + \text{H}_2$ soviel Bicarbonat gebildet wird, daß in beiden Bouillonsorten sehr bald eine vollkommen gleiche Reaktion vorhanden ist.

Das Aussehen der auf die gleiche Weise zu verschiedenen Zeiten erhaltenen Bouillon war mitunter ein recht verschiedenes. Es wurde einmal eine Bouillon erhalten, welche nur ganz schwach gelb gefärbt war, und einmal eine, welche eine ebenso dunkle Farbe hatte wie Bierwürze. Zwischen diesen beiden extremen Farbennüancen lag die Farbe der gewöhnlich erhaltenen Bouillon.

Als Versuchsgefäße dienten Erlenmeyer-Kolben von

200 ccm Inhalt, die mit einem Wattepfropfen verschlossen und bei 150° sterilisiert waren.

Die Ameisensäure wurde zu der Bouillon in Form ihres Calcium- oder Natriumsalzes gegeben. Beide Salze waren vorher durch eine Analyse auf ihre Reinheit geprüft worden. Die Konzentration wurde so gewählt, daß auf 100 ccm Nährbouillon $\frac{1}{100}$ -Mol. Ameisensäure in Form ihres Calcium- oder Natriumsalzes kam.

Zur Füllung der Kolben mit der Ameisensäurebouillon wurde in folgender Weise verfahren: 13,612 g Natriumformiat wurde in der Nährbouillon zu 1 l gelöst. Dann wurden in die vorher sterilisierten Erlenmeyer-Kolben genau 50 ccm dieser Natriumformiatlösung 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. Ameisensäure als Natriumformiat. Die Kolben mit der Ameisensäurebouillon wurden dann an 3 aufeinander folgenden Tagen je 20 Minuten im Dampftopf sterilisiert.

Als Versuchsobjekte dienten 3 roten Farbstoff bildende Bakterien:

Bac. prodigiosus

Bac. Plymouthensis

Bac. Kiliense.

(Gelegentlich kam auch noch ein viertes roten Farbstoff produzierendes Bakterium, Bac. miniaceus, zur Untersuchung aber nur in 4 Versuchsreihen; auf diese Versuchsreihen soll nicht näher eingegangen werden). Je ein Stamm dieser Bakterienarten wurde von Král in Prag bezogen; je ein anderer Stamm dieser 3 Bakterienarten wurde uns in liebenswürdiger Weise von der Direktion des kaiserlichen Gesundheitsamtes, welcher auch an dieser Stelle bestens gedankt sei, zur Verfügung gestellt. Je nachdem bei den verschiedenen Versuchsreihen das von der einen oder anderen Bezugsquelle herstammende Bakterium zur Verwendung kam, wurde es durch Hinzufügung des Namens Král oder durch die Buchstaben K. G. A. (Kaiserliches Gesundheits-Amt) kenntlich gemacht. Die

3 Bakterienarten bildeten auf Agar kräftig roten Farbstoff: die Kulturen wurden alle 3—4 Wochen umgeimpft.

Die Impfung der Versuchskolben mit den betreffenden Bakterien wurde nach 2 verschiedenen Methoden vorgenommen.

Methode 1. Von der Originalkultur wurde je eine Platinöse voll abgenommen und auf verschiedenen Agarröhrchen Strichkulturen angelegt. Diese Strichkulturen wurden 1—2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen: nach dieser Zeit war eine kräftige Entwicklung eingetreten. Je eine Platinöse voll dieser frischen Agarstrichkulturen wurden nun in je 10 ccm gewöhnliche Nährbouillon, welche sich in Reagenzgläsern befand, übertragen und durch kräftiges Umschütteln möglichst verteilt. Die so beschickten Bouillonröhrchen wurden dann zur Entwicklung genau 24 Stunden lang bei der Temperatur, bei welcher der Versuch ausgeführt werden sollte, stehen gelassen. Nach dieser Zeit wurde aus dem einzelnen Röhrchen nach vorherigem kräftigen Umschütteln mit sterilen Pipetten 5 ccm der Kulturflüssigkeit herausgenommen und in die einzelnen mit Ameisensäurebouillon beschickten Kulturkolben gegeben. Die Kulturkolben enthielten jetzt 100 ccm Bouillon, ¹ 100-Mol. Natriumformiat und waren außerdem mit dem betreffenden Bakterium geimpft.

Daß nach dieser Methode eine gleichmäßige Beimpfung der einzelnen Kolben erfolgen kann, geht aus der guten Übereinstimmung vieler Versuchsreihen, welche nach dieser Methode geimpft worden sind, hervor. Da aber innerhalb dieser gut übereinstimmenden Versuchsreihen doch einige Unstimmigkeiten vorhanden waren und da außerdem Versuchsreihen erhalten wurden, welche nicht gut übereinstimmten, wurden diese Differenzen, da der Einfluß des Luftwechsels und die verschiedene Zusammensetzung der einzelnen Nährbouillonsorten noch nicht sicher erkannt war, dieser Impfmethode zugeschrieben; denn es war immerhin möglich, daß bei Anwendung dieser Methode eine verschiedene Menge Bakterien in die einzelnen Kulturkolben hineingelangte und daß dadurch die Differenzen veranlaßt wurden. Um diesen eventuellen Fehler zu umgehen, wurde später eine andere Methode zur Impfung der Kolben angewendet.

Methode 2. 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 10ccm 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 der Versuchstemperatur 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 wiederum 24 Stunden bei der Versuchstemperatur stehen gelassen. Dann wurde mit einer sterilen Pipette nach vorherigem Umschütteln je 5 ccm der Kulturflüssigkeit herausgenommen und in die mit Ameisensäurebouillon beschickten Erlenmeyer-Kolben gegeben.

Bei den auf diese Weise geimpften Versuchsreihen war jedenfalls die Sicherheit gegeben, daß innerhalb ein und derselben Versuchsreihe in jeden Kolben gleichviel Bakterien gelangt waren. Auch nach dieser Methode wurde in verschiedenen Versuchsreihen, welche zu verschiedenen Zeiten ausgeführt wurden, gut übereinstimmende Resultate erhalten. Ob die erste oder zweite Methode zur Impfung der Kolben angewendet wurde, ist jedesmal bei der betreffenden Versuchsreihe angeführt.

Die auf die eine oder andere Weise geimpften Kolben werden dann in die Thermostaten gestellt. Zur Anwendung gelangten Ostwaldsche Thermostaten; die Temperatur schwankte höchstens um $+ 0,1^{\circ}$. Nach 24, 2×24 usw. Stunden wurden dann einzelne Kolben herausgenommen und durch Erhitzen im Dampftopf sterilisiert. Der Inhalt der Kulturkolben wurde dann quantitativ in die Destillationskolben übergespült und dann auf die weiter oben beschriebene Weise die Ameisensäure bestimmt.

Wenn man sich überlegt, von welchen Umständen die Menge der Ameisensäure, welche durch ein bestimmtes Bakterium vergoren wird, abhängig ist, so wird man folgendes finden:

Die Menge der in der Zeiteinheit vergorenen Ameisensäure ist abhängig:

1. von dem physiologischen Zustand des betreffenden Bakteriums,
2. von der Menge des betreffenden Bakteriums;
3. von der Temperatur,
4. von der Konzentration der Ameisensäure,
5. von der Zusammensetzung der Nährlösung,
6. von dem Luftwechsel.

Wenn alle diese Faktoren bei verschiedenen Versuchen gleich sind, so muß durch ein und dasselbe Bakterium jedesmal dieselbe Menge Ameisensäure vergoren werden.

Sehen wir uns einmal an, ob und wie die verschiedenen Faktoren nach unserem bisherigen Wissen und den in dieser Arbeit gemachten Erfahrungen, völlig gleich gehalten werden können.

1. Der physiologische Zustand des betreffenden Bakteriums.

Im allgemeinen sollte man voraussetzen, daß ein und dieselbe Bakterienart sich auch bei verschiedener Herkunft in identischem physiologischen Zustande befindet. Nach dem, was wir bisher über die Variabilität der Bakterien wissen (siehe auch weiter oben), kann bei ein und derselben Bakterienart verschiedener Herkunft ein identischer physiologischer Zustand herrschen, aber notwendig ist das nicht. Nehmen wir einmal an, wir hätten zwei Stämme ein und derselben Bakterienart, die ursprünglich identisch waren und aus zwei verschiedenen Laboratorien stammen: sind diese beiden Bakterienstämme nun in diesen beiden Laboratorien durch lange Zeit fortgezüchtet worden, so werden die Züchtungsbedingungen in dem einen Laboratorium nicht vollständig identisch sein mit denen des anderen Laboratoriums, wenn auch dieselbe Fortzüchtungsmethode angewendet wird. So wird z. B. die mittlere Temperatur in dem einen Laboratorium etwas anders sein als in dem andern und ebenso wird die Zusammensetzung

des Nährbodens in den beiden Laboratorien etwas differieren. Durch diese verschiedenen Bedingungen wird bei fortgesetzter Weiterzüchtung allmählich eine Verschiedenheit der beiden Stämme herangebildet werden und diese Verschiedenheit wird sich in der Menge der vergorenen Ameisensäure, in der Reaktionsgeschwindigkeit, äußern. Daß derartige Differenzen wirklich vorhanden sind, ergibt sich aus dem Vergleich der Zahlen, welche mit den 3 von Kräl bezogenen und welche mit den drei aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt bezogenen erhalten wurden. Vergleichen wir einmal die mit *Bac. prodigiosus* verschiedener Herkunft erhaltenen Zahlen. Bei 17° wird durch Stamm Kräl am ersten Tage Ameisensäure vergoren, während durch Stamm K.G.A. Ameisensäure gebildet wird. Nach 5 Tagen sind bei dieser Temperatur durch Stamm Kräl 0,1691 g = 36,75 % Ameisensäure vergoren, während durch Stamm K.G.A. in derselben Zeit nur 0,0322 g = 6,99 % vergoren sind. Bei 27° sind durch Stamm Kräl nach 5 Tagen 0,1531 g = 33,26 %, durch Stamm K.G.A. 0,0803 g = 17,46 % Ameisensäure vergoren. Ähnliche Unterschiede sind, wie man bei Durchsicht der Tabellen finden wird, bei den anderen Bakterienarten vorhanden. Will man vergleichende Versuche über den Einfluß verschiedener Faktoren auf die Vergärung der Ameisensäure durch ein bestimmtes Bakterium machen, so muß man ein und denselben Bakterienstamm verwenden. Daß ein und derselbe Bakterienstamm nicht sehr rasch seinen physiologischen Zustand ändert, ist durch die vorliegenden Versuche wahrscheinlich gemacht worden; daß die vorkommenden Differenzen nicht auf eine Änderung des physiologischen Zustandes zurückzuführen sind, wird später noch erörtert werden.

2. Die Menge des betreffenden Bakteriums.

Es wird aller Voraussicht nach nicht gleichgültig sein, ob in die Versuchskolben einmal 10 und das andere Mal 1000 Bakterien eingesät werden. In dem Kolben, welcher mit 1000 Bakterien geimpft worden ist, wird nach einer bestimmten Zeit mehr Ameisensäure vergoren sein, als in dem, welcher nur mit 10 Bakterien geimpft worden ist. Für Vergleichsversuche

ist es ziemlich gleichgültig, wieviel Bakterien eingesät werden, wenn nur jedesmal dieselbe Menge verwendet wird. Daß jedesmal dieselbe Menge Bakterien eingesät wird, glaube ich durch die beiden zur Anwendung gekommenen Impfmethode erreicht zu haben. Die Methode 2 ist einfacher und bietet jedenfalls noch größere Gewähr dafür als die erste Methode, daß bei ein und derselben Versuchsreihe in jedem Kolben dieselbe Bakterienmenge zur Anwendung kommt. Aber beide Methoden bieten auch dafür Gewähr, daß bei Versuchsreihen, welche zu verschiedenen Zeiten angesetzt werden, dieselbe Bakterienmenge zur Anwendung kommt, denn sonst wäre die teilweise sehr gute Übereinstimmung einzelner Versuchsreihen unverständlich.

Wenn also nach einer der beiden Impfmethode verfahren wird, so ist mit ziemlicher Sicherheit die Gleichheit der Menge der Bakterien gewährleistet. Vorzuziehen ist Methode 2, da sie einfacher ist und weniger Material erfordert als Methode 1.

3. Die Temperatur.

Die Gleichheit der Temperatur ist durch die Anwendung der Ostwaldschen Thermostaten gewährleistet.

4. Die Konzentration der Ameisensäure

läßt sich natürlich außerordentlich leicht durch Abwägen einer bestimmten Menge Formiat und durch Auflösung in einer bestimmten Menge Kulturflüssigkeit einhalten.

5. Die Zusammensetzung der Nährlösung.

Je nachdem einem Bakterium eine Nährlösung von optimaler oder nicht optimaler Zusammensetzung geboten wird, wird auch die Entwicklung des Bakteriums eine verschiedene sein, und je nach seiner Entwicklung wird es mehr oder weniger Ameisensäure vergären. Voraussetzung für Vergleichsversuche ist also, wenn nicht gerade der Einfluß des Nährmediums studiert werden soll, daß den Bakterien immer eine Nährlösung von gleicher Zusammensetzung geboten wird. Bei Beginn der Arbeit dachte ich, daß in einer gleichmäßig nach Vorschrift hergestellten Nährbouillon ein Nährboden von gleicher Zusammensetzung vorläge. Im Laufe der Versuche hat sich aber herausgestellt, daß ein

großer Teil der Differenzen, welche die einzelnen Versuchsreihen zeigen, auf eine Verschiedenheit der Nährbouillon zurückzuführen ist. Bei der Besprechung der Darstellungsweise der Nährbouillon ist auch schon hervorgehoben worden, daß mitunter Bouillonsorten von ganz verschiedener Zusammensetzung nach der gleichen Darstellungsweise erhalten werden können, möge in einem Zahlenbeispiel näher dargelegt werden. Bei der Vergärung der Ameisensäure durch *Bac. Plymouthensis* bei 27° wurden folgende zwei Zahlenreihen erhalten:

3,94	4,56
14,40	18,95
—	26,39
20,27	28,55
23,92	31,57

Hier sind jedenfalls ganz gewaltige Unterschiede vorhanden, die sich nur auf eine Verschiedenheit der Bouillonsorten zurückführen lassen: es könnten noch viele weitere Beispiele hierfür herangezogen werden: näheres findet man bei den einzelnen Versuchsreihen besprochen. — Dadurch, daß unter Umständen Bouillonsorten von verschiedener Zusammensetzung erhalten werden, wird natürlich nicht ausgeschlossen, daß man vielfach Bouillonsorten von gleicher Zusammensetzung, welche den Bakterien identische Ernährungsbedingungen bieten, erhält. Wäre jede Bouillon von den anderen verschieden, dann wäre die teilweise sehr schöne Übereinstimmung der Resultate unverständlich. Eine absolute Identität des Nährmediums wird nur durch eine Nährlösung gewährleistet, welche aus reinen chemischen Individuen von bekannter Zusammensetzung aufgebaut wird. Dadurch, daß die Verschiedenheit der Bouillonsorten verschiedener Darstellung erst im Laufe der Untersuchung erkannt wurde, konnte der Faktor der gleichen Zusammensetzung der Nährlösung nicht innegehalten werden.

6. Der Luftwechsel.

Je nachdem zu der Kultur einmal mehr oder einmal weniger Luft zutreten kann, werden die Lebensbedingungen der Bakterien wegen ihrer verschiedenen Ansprüche an die Sauerstoffspannung

geändert. Bei vergleichenden Versuchen ist es deshalb notwendig, dafür zu sorgen, daß den Bakterien immer dieselbe Sauerstoffmenge zur Verfügung steht, gleichgültig für vergleichende Versuche ist es dagegen, daß den Bakterien immer die optimale Sauerstoffspannung geboten wird. Bei den vorliegenden Versuchen wurden die Kolben durch den üblichen Wattepfropfen verschlossen. Wir kamen nun im Laufe der Untersuchung zu der Überzeugung, daß der Wattepfropfen durchaus nicht immer einen gleichmäßigen Luftwechsel gewährleistet. Ein Teil der Unstimmigkeiten der einzelnen Versuchsreihen läßt sich auf ungleichmäßige Luftzufuhr zurückführen. Näheres darüber findet sich bei den einzelnen Versuchsreihen. Der Wattepfropfen ist einmal etwas kürzer, einmal etwas länger, einmal ist er etwas fester gestopft, ein anderes Mal etwas lockerer, mitunter ist er durch die Wasserdämpfe durchfeuchtet, mitunter nicht. Alle diese Verschiedenheiten bedingen natürlich eine ungleichmäßige Porosität und dadurch eine Ungleichmäßigkeit im Luftwechsel. Natürlich brauchen diese Verschiedenheiten in der Porosität des Wattepfropfens nicht immer vorhanden zu sein, in den meisten Fällen wird der Wattepfropfen wohl so beschaffen sein, daß eine gleichmäßige Luftzufuhr gewährleistet wird. Im übrigen ist es wahrscheinlich nicht notwendig, daß immer ein gleichmäßiger Luftwechsel vorhanden ist; die Verhältnisse werden wahrscheinlich folgendermaßen liegen. Jedes Bakterium bedarf zum optimalen Gedeihen einer bestimmten Sauerstoffspannung; ist die Sauerstoffspannung nun größer als die optimale, so kann das Bakterium mit dem Überschuß nichts anfangen und wird dadurch weiter nicht in seinem Gedeihen beeinflusst. Diese Verhältnisse werden wohl meistens bei einem normalen Wattepfropfen vorliegen, es kann mehr Luft durchtreten, als zum optimalen Gedeihen des betreffenden Bakteriums notwendig ist. Ist aber der Wattepfropfen einmal besonders fest, oder sehr stark durchfeuchtet, so ist die Luftzufuhr unterbunden, das Bakterium hat nicht seine optimale Sauerstoffspannung, seine Entwicklung bleibt zurück und die Menge der vergorenen Ameisensäure verschiebt sich. Umgekehrt liegen wahrscheinlich die Verhältnisse bei den fakultativen Anaerobiern.

Wird bei der Kultur dieser die Sauerstoffspannung größer als die optimale, so werden sie geschädigt. Nimmt man nun an, daß die Sauerstoffspannung unter den gewählten Bedingungen im allgemeinen größer ist als die optimale, so wird, wenn irgendwie der Wattlepfropfen weniger luftdurchlässig wird, die Sauerstoffspannung sinken und sich der optimalen nähern; hierdurch wird die Entwicklung der Bakterien begünstigt und wiederum die Menge der vergorenen Ameisensäure verschoben.

Dadurch, daß diese Verhältnisse erst im Laufe der Untersuchungen erkannt werden, konnte eine gleichmäßige Luftzufuhr nicht inne gehalten werden. Um eine gleichmäßige Luftzufuhr zu erreichen, müßte ein andersartiger keimdichter Verschuß auslindig gemacht werden.

Von den weiter oben aufgeführten sechs Faktoren, von denen die Reaktionsgeschwindigkeit der Vergärung der Ameisensäure abhängig ist, konnten die ersten beiden mit ziemlicher Sicherheit, 3 und 4 mit absoluter Sicherheit und 5 und 6 nicht inne gehalten werden. Die Inkongruenzen der verschiedenen Versuchsreihen lassen sich mit ziemlicher Sicherheit auf die beiden letzten Punkte zurückführen.

Um zu sehen, ob die erhaltenen Zahlen richtig sind, das heißt ob nicht irgendwelche Störungen vorhanden waren, die die Menge der vergorenen Ameisensäure in größerem Maße beeinflussten, kann man zwei selbstverständliche Forderungen, denen die Zahlenreihen folgen müssen, aufstellen.

So lange die Bakterien überhaupt imstande sind, Ameisensäure zu zerlegen, muß nach längerer Zeit mehr Ameisensäure vergoren sein als nach kürzerer, d. h. in 2 Tagen muß mehr Ameisensäure verschwunden sein als in 1 Tag, in 3 Tagen mehr als in 2 Tagen usw. Ist dieses nicht der Fall, ist z. B. in 2 Tagen mehr Ameisensäure verschwunden als in 3 Tagen, so muß irgend eine Störung vorliegen, welche dieses Verhalten bedingt.

Sehen wir uns die Versuchsreihen daraufhin an, ob Abweichungen von der oben aufgestellten Forderung vorkommen, so werden wir finden, daß dies tatsächlich der Fall ist. Abweichungen von den obigen Forderungen zeigen die Versuchs-

reihen 5, 6, 8, 15 und 70. Die Teile der Versuchsreihen, welche dies anormale Verhalten zeigen, sollen hier einmal zusammengestellt werden.

Tabelle Nr.	5	6	8	15	70
	32,07	35,28	7,78	15,90	33,92
	35,45	46,48	20,18	28,80	38,32
	34,78	43,53	19,52	25,06	—
	34,80	—	29,97	31,30	70,68
	—	—	24,83	—	65,49
	—	—	—	—	73,04

Wie lassen sich nun derartige anormale Verhältnisse erklären? Für die Versuchsreihen 6, 8, 15 ist diese Erklärung mit Sicherheit zu erbringen. Bei diesen Versuchsreihen wurde nämlich keine gleichmäßige Bouillon benutzt: zur Anwendung kamen zwei Bouillonsorten von verschiedener Darstellung, welche sich auch schon durch ihre Farbe von einander unterschieden: die eine Bouillonsorte war anormal hellgelb gefärbt. Da nun die beiden Bouillonsorten vor dem Einfüllen in die Kulturgefäße nicht gleichmäßig gemischt wurden, so gelangte in den einen Kolben mehr von der einen, in den anderen Kolben mehr von der anderen Bouillonsorte; in den verschiedenen Bouillonsorten gediehen nun die Bakterien verschieden und so wurde die Unregelmäßigkeit in den 3 Versuchsreihen veranlaßt. Bei den Versuchsreihen 5 und 70 läßt sich Anormalität der Resultate nicht in dieser Weise erklären, da eine gleichmäßige Bouillon benutzt wurde: möglicherweise ist die Anormalität auf einen sehr ungleichmäßigen Luftwechsel zurückzuführen. Abgesehen von den eben erwähnten Ausnahmen entsprechen die anderen Versuchsreihen der weiter oben formulierten Forderung, daß nach längerer Zeit mehr Ameisensäure vergoren sein muß als nach kürzerer.

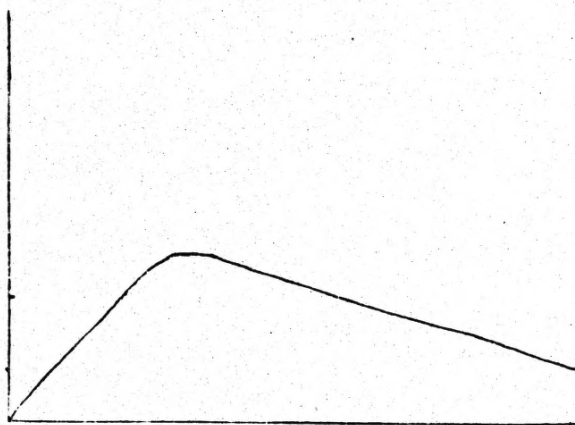
Die zweite Forderung, welcher die erhaltenen Zahlenreihen folgen müssen, lautet:

Faßt man die Menge der innerhalb der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure ins Auge, so muß diese Menge nach einer bestimmten Reihe von Tagen zu einem Maximum ansteigen, um dann allmählich wieder abzufallen.

Um diese Forderung an einem Zahlenbeispiel klar zu machen, nehmen wir einmal die Menge der innerhalb der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure in beliebigen Zahlen an.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	3
2. „	14
3. „	8
4. „	4
5. „	3

Diese Tabelle sagt also aus, daß innerhalb des ersten Tages weniger Ameisensäure vergoren ist, als innerhalb des zweiten Tages, innerhalb des dritten Tages weniger als innerhalb des zweiten, innerhalb des vierten weniger als innerhalb des dritten, und innerhalb des fünften weniger als innerhalb des vierten Tages. Die Menge der innerhalb der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure strebt also einem Maximum zu, um nachher wieder abzufallen. Trägt man auf die eine Axe eines Koordinatensystems die Menge der innerhalb der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure und auf die andere Axe die Zeit in Tagen auf, so erhält man eine Kurve von folgendem Aussehen.



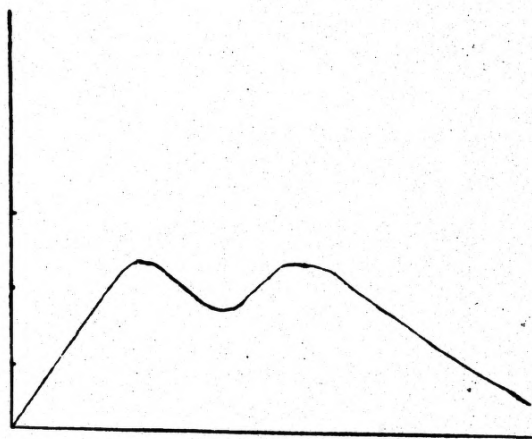
Kurve I.

Eine derartige Kurve würde also einer normalen Zahlenreihe entsprechen, d. h. einer Zahlenreihe, wie sie erhalten wird, wenn die Gärung in den einzelnen Kolben ohne Störung verläuft.

Nicht zu erwarten ist, daß in einer Zahlenreihe 2 Maxima vorhanden sind. Einer solchen Zahlenreihe würde folgendes willkürlich gewähltes Zahlenbeispiel entsprechen.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	3
2. „	14
3. „	6
4. „	9
5. „	5

Diese Tabelle sagt also aus, daß innerhalb des ersten Tages weniger Ameisensäure vergoren ist als innerhalb des zweiten, innerhalb des zweiten mehr als innerhalb des dritten, innerhalb des vierten mehr als innerhalb des dritten, und innerhalb des fünften weniger als innerhalb des vierten Tages. Es sind also in dieser Zahlenreihe 2 Maxima vorhanden. Für diese Zahlenreihe würde man eine Kurve von folgendem Aussehen erhalten.



Kurve II.

Eine derartige Kurve würde also einer anormalen Zahlenreihe entsprechen, d. h. einer Zahlenreihe, wie sie erhalten wird, wenn die Gärung in den einzelnen Kolben nicht ohne Störung verläuft.

Sehen wir uns die einzelnen Tabellen einmal darauf hin an, welcher der beiden Kurven sie entsprechen. (Es ist hier nur auf die mit Natriumformiat erhaltenen Tabellen Rücksicht genommen.)

Kurve I.

Prodigosus: Tabelle 7, 9, 10, 11, 12, 13, 16.

Plymouthensis: Tabelle 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 48, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64.

Kiliense: Tabelle 69, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 82, 83, 90, 91.

Kurve II.

Prodigosus: Tabelle 5, 6, 8, 14, 15, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32.

Plymouthensis: Tabelle 40, 41, 46, 47, 53, 54.

Kiliense: Tabelle 70, 80, 81, 88, 89, 92, 93.

Auf den ersten Blick scheinen unter beide Kurven gleichviel (unter Kurve I 38, unter Kurve II 30) der erhaltenen Zahlenreihen zu fallen: es müßten also in fast der Hälfte der Fälle Störungen vorhanden sein.

Nun sind aber vielfach die Mengen der innerhalb der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure aus den korrigierten mittleren Tabellen abgeleitet worden. Durch die angebrachten Korrekturen, wenn sie auch noch so klein sind, können doch immerhin derartige Verschiebungen bewirkt werden, daß aus Kurve I Kurve II wird. Leitet man die Menge der vergorenen Ameisensäure nicht aus der mittleren Tabelle, sondern aus den einzelnen Tabellen ab, so fallen manche der Zahlenreihen, die unter Kurve II stehen, unter Kurve I, wie 21, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, sodaß die unter Kurve I fallenden Beispiele auf 46 steigen und die unter Kurve II fallenden auf 22 fallen. Das Verhältnis hat sich also schon bedeutend zugunsten von Kurve I verschoben.

Es fallen nach diesen Feststellungen unter

Kurve I

Prodigosus: Tabelle 7, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 21, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31.

Plymouthensis: Tabelle 37, 38, 39, 42, 43, 44, 45, 48, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64.

Kiliense: Tabelle 69, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 82, 83, 90, 91.

Kurve II.

Prodigiosus: Tabelle 5, 6, 8, 14, 15, 22, 23, 27, 32.

Plymouthensis: Tabelle 40, 41, 46, 47, 53, 54.

Kiliense: Tabelle 70, 80, 81, 88, 89, 92, 93.

Durch welche Umstände läßt sich nun die Unregelmäßigkeit der unter Kurve II fallenden Zahlenreihen erklären? Es wurde weiter oben der Satz aufgestellt: „Solange die Bakterien überhaupt imstande sind, Ameisensäure zu vergären, muß nach längerer Zeit mehr Ameisensäure vergoren sein als nach kürzerer.“ Es wurde nun gefunden, daß 5 Versuchsreihen 5, 6, 8, 15, 70 dieser Forderung nicht entsprechen, und diese 5 Versuchsreihen fallen natürlich unter Kurve II. Von dreien dieser Versuchsreihen konnte nachgewiesen werden, daß die Unregelmäßigkeit auf eine Anwendung von verschiedenartiger Bouillon beruhe, während für die Unregelmäßigkeit der beiden anderen andere äußere Umstände verantwortlich gemacht werden mußten. Die Erklärung, weshalb diese 5 Versuchsreihen unter Kurve II fallen, wäre also gegeben; es bliebe nun noch übrig, die Erklärung für die andern 17 Versuchsreihen zu geben. Hierzu ist es notwendig, sich ein Bild über die Größe der Abweichung von der normalen Kurve I zu machen.

Über die Größe der Abweichung von der normalen Kurve I erhält man ein ungefähres Bild, wenn man die Differenz zwischen dem abweichenden und dem vorhergehenden Wert bildet. Zum Vergleich sind hier aus den ganzen Reihen nur die Teile herausgenommen, welche die Abweichung zeigen und die vorhergehenden Werte. Es sind sowohl die relativen als auch die absoluten Werte angeführt worden, da man bei der Betrachtung der letzteren ein besseres Bild über die Größe der Differenz erhält; der abweichende Wert ist immer umrahmt.

Bac. prodigiosus.

Tab. 14		Tab. 22	
14.31	659	3,04	141
5.12	235	0.60	27
5.83	268	1.19	55
Diff. 0.71 %	0,0033 g	Diff. 0.59 %	0.0028 g

Tab. 23		Tab. 27		Tab. 32	
1,66	76	3,00	135	7,86	361
0,71	33	1,02	49	0,18	9
1,50	69	1,29	60	2,20	101
Diff. 0,79%	0,0036 g	Diff. 0,27%	0,0011 g	Diff. 2,02%	0,0092 g

Bac. Plymouthensis.

Tab. 40		Tab. 41	
10,17	468	10,17	468
3,91	181	4,63	213
6,06	278	5,32	244
Diff. 2,15%	0,0097 g	Diff. 0,69%	0,0031 g

Tab. 46		Tab. 47	
—	—	7,44	343
3,65	168	2,16	99
4,62	212	3,02	139
Diff. 0,97%	0,0044 g	Diff. 0,86%	0,0040 g

Tab. 53		Tab. 54	
3,49	161	4,39	202
2,25	104	1,78	82
4,10	188	3,95	182
4,32	199	4,08	188
Diff. 1,85%	0,0084 g	Diff. 2,17%	0,0100 g
„ 0,22%	0,0011 „	„ 0,13%	0,0006 „

Bac. Kiliense.

Tab. 80		Tab. 81	
12,54	577	6,80	312
7,45	343	5,60	258
10,84	499	6,65	306
Diff. 3,39%	0,0156 g	Diff. 1,05%	0,0048 g

Tab. 88		Tab. 89	
2,52	116	4,19	193
1,19	55	1,24	57
4,10	188	4,12	167
1,89	87	Diff. 2,88%	0,0110 g
3,79	175		
Diff. 2,91%	0,0133 g		
„ 1,90%	0,0088 „		

Tab. 92		Tab. 93	
6,98	321	6,48	298
4,25	196	5,04	232
5,07	233	4,57	210
4,92	227	5,50	253
5,33	245	Diff. 0,93%	0,0043 g
Diff. 0,82%	0,0037 g		
» 0,41%	0,0018 »		

Wenn man die Differenzen betrachtet, so wird man finden, daß sie teilweise recht klein sind, d. h. unter einem Wert von 0,0050 g bleiben. Unter diesem Wert bleiben die Differenzen bei den Tabellen 14, 22, 23, 27, 41, 46, 47, 92, 93, 81, die noch übrigen 7 Tabellen zeigen Differenzen, die oberhalb dieses Wertes liegen.

Diese kleinen eben erwähnten Differenzen sind so klein, daß sie gar nicht durch Unregelmäßigkeiten in der Vergärung veranlaßt zu sein brauchen, sie können auf Analysenfehler zurückgeführt werden, wie aus folgender Betrachtung hervorgeht. Es ist nicht notwendig, daß ein einziger Wert der betreffenden Tabelle die Unregelmäßigkeit bedingt, es können unter Umständen 3 Werte hierfür in Betracht kommen, von denen jeder einzelne allein die Unregelmäßigkeit bedingen kann, aber auch 2 oder 3 zusammen. Am besten wird dies an einem Zahlenbeispiel klar zu machen sein; als Zahlenbeispiel soll die Tabelle 22 gewählt werden. Die linke Seite der Tabelle ist immer die überhaupt vergorene Menge Ameisensäure, die rechte die während der einzelnen Tage vergorene Menge Ameisensäure:

1,86	
4,90	3,04
5,50	0,60
6,69	1,19

Nehmen wir nun an, daß der Wert 5,50% der die Unregelmäßigkeit veranlassende sei, und vergrößern wir diesen Wert um 0,30%, d. h. wir nehmen an, es sei ein Analysenfehler von 0,30% gemacht worden (eine derartige Annahme ist zulässig, denn wie man bei der Durchsicht des Zahlenmaterials finden wird, kommen auch in sonst gut übereinstim-

menden Versuchsreihen derartige Abweichungen vor), so erhalten wir, wenn wir aus der neuen Tabelle auch die während der einzelnen Tage vergorene Menge Ameisensäure berechnen, folgende Tabelle:

1,86	
4,90	3,04
5,80	0,90
6,69	0,89

Diese Tabelle zeigt nun, daß die Unregelmäßigkeit durch die angebrachte Korrektur verschwunden ist.

Nehmen wir an, daß der Wert 4,90% der falsche sei, und verkleinern wir ihn um 0,50%, so erhalten wir folgende Tabelle:

1,86	
4,40	2,54
5,50	1,10
6,69	1,09

Auch hier ist die Unregelmäßigkeit verschwunden.

Auch der Wert 6,69% kann möglicherweise der falsche sein; verkleinern wir diesen Wert um 0,50%, so erhalten wir folgende Tabelle:

1,86	
4,90	3,04
5,50	0,60
6,09	0,59

Auch hier ist die Unregelmäßigkeit verschwunden.

Es braucht nun nicht, wie auch schon weiter oben bemerkt wurde, ein einziger Wert der falsche zu sein, sondern es können auch zwei falsche sein. Verkleinern wir den Wert 4,90% um 0,20% und vergrößern wir den Wert 5,50% um 0,20%, so erhalten wir folgende Tabelle, in welcher ebenfalls die Unregelmäßigkeit verschwunden ist:

1,86	
4,70	2,84
5,70	1,00
6,69	0,99

Man sieht also, daß die Verschiebung der gefundenen Werte um kleine Größen, die innerhalb der Versuchsfehler liegen, die Unregelmäßigkeiten in den Tabellen zum Verschwinden bringen. Ähnliche Betrachtungen wie für Tabelle 22 lassen sich auch für die anderen Tabellen, deren Abweichungen unterhalb 0,0050 g bleiben, anstellen.

Aus dieser Betrachtung geht wohl mit ziemlicher Sicherheit hervor, daß die weiter oben aufgezählten Tabellen nicht unter Kurve II, sondern unter Kurve I fallen.

Bei den anderen Tabellen, welche Abweichungen größer als 0,0050 g zeigen, kann die Unregelmäßigkeit nicht mit Sicherheit auf Analysenfehler zurückgeführt werden, es müßten dann schon so grobe Fehler, welche weit außerhalb der Versuchsfehler liegen, sein. Es ist auch nicht möglich, die Differenzen auf eine Verschiedenheit der Bouillon zurückzuführen, denn es wurde in den besprochenen Fällen gleichmäßige Bouillon benutzt; es bleibt dann eigentlich nichts weiter übrig, als die Unregelmäßigkeiten auf einen ungleichmäßigen Luftwechsel zurückzuführen.

Die beiden weiter oben aufgestellten Sätze geben ein Mittel an die Hand, um eine Versuchsreihe darauf hin zu untersuchen, ob die Gärung regelmäßig verlaufen ist; kommen Abweichungen von diesen beiden Sätzen vor, so liegen Unstimmigkeiten in dem Verlaufe der Gärung vor.

Auf den Vergleich der einzelnen bei verschiedenen Temperaturen und mit den verschiedenen Bakterienarten erhaltenen Zahlen soll hier nicht näher eingegangen werden, da das, so weit es möglich ist, besser hinter den einzelnen Abschnitten geschieht. Nur auf den Vergleich der Zahlen, wenn Natriumformiat und wenn Calciumformiat angewendet werden, mag etwas näher eingegangen werden. A priori sollte man erwarten, daß bei Anwendung gleicher Mengen Ameisensäure, ob sie nun als Natrium- oder als Calciumsalz vorliegt, auch immer gleiche Mengen vergoren werden. Das ist aber nicht der Fall, wie man beim Vergleich der Tabellen sehen kann; wird die Ameisensäure in Form ihres Natriumsalzes angewendet, so wird bei gleicher Temperatur und gleicher Konzentration viel mehr Ameisensäure vergoren, als

wenn das Calciumsalz angewendet wird. Dieses Verhalten berührt zunächst eigentümlich, wird aber verständlich, wenn man die makroskopischen Erscheinungen ins Auge faßt. Wird die Ameisensäure als Natriumsalz verwendet, so entsteht in den ersten Tagen meistens kein Bodensatz und auch später ist der Bodensatz nicht sehr bedeutend; anders dagegen, wenn das Calciumsalz verwendet wird, dann ist meistens schon nach 1 Tag ein dicker weißer Niederschlag von Calciumcarbonat entstanden, der sich an den folgenden Tagen noch vermehrt. Daraus kann man schließen, daß die verschiedene Gärungsfähigkeit des Natrium- und des Calciumsalzes nicht auf einer chemischen, sondern auf einer mechanischen Ursache beruht. Wird die Ameisensäure in Form ihres Calciumsalzes angewendet, so umhüllt das ausgeschiedene Calciumcarbonat die Bakterien, reißt sie mit zu Boden und verhindert so ihre weitere Einwirkung auf das noch vorhandene Calciumformiat. Wird dagegen die Ameisensäure in Form ihres Natriumsalzes verwendet, dann findet die Ausscheidung eines unlöslichen Carbonats nicht statt, die Bakterien bleiben in der Nährlösung frei schweben und vermögen weiter ihre Wirkung auf das Natriumformiat auszuüben. Der Nachweis, daß Natriumformiat in viel weitgehendem Maße vergoren wird als Calciumformiat, dürfte, wenn dieser Befund auch auf die Salze anderer Säuren ausgedehnt werden darf, für die Untersuchung anderer durch Bakterien hervorgerufener biochemischer Prozesse einige Bedeutung haben; viele der bis jetzt an Säuren untersuchten Gärungsvorgänge sind mit den Calciumsalzen der betreffenden Säuren durchgeführt worden und es dürfte wohl wahrscheinlich sein, daß mit Natriumsalzen oder Kaliumsalzen ganz andere Resultate erhalten werden. Jedenfalls ist es angebracht, die erhaltenen Resultate nicht auf die Säure selbst, sondern auf das angewandte Salz zu beziehen.

Aus den erhaltenen Resultaten lassen sich auch noch andere Lehren in bezug auf die Untersuchung durch Bakterien hervorgerufener biochemischer Prozesse ziehen. Wie gefunden wurde, ist Bouillon und Bouillon etwas ganz Verschiedenes, die Vergärung der Ameisensäure geht unter Umständen in der

einen Bouillonsorte viel weiter als in einer anderen. Es ist deshalb unzweckmäßig, für biochemische Untersuchungen Bouillon als Nährmedium zu verwenden. Bei der Vergärung der Ameisensäure sind nur quantitative Unterschiede festgestellt worden, aber es ist sehr wohl möglich, daß bei Anwendung verschiedener Bouillonsorten auch qualitative Unterschiede vorkommen können. Es ist deshalb geboten, bei biochemischen Untersuchungen nur solche Nährlösungen zu verwenden, welche aus chemischen Individuen von bekannter Zusammensetzung in bestimmter Konzentration bereitet worden sind.

Weiter kann man noch die Lehre aus den in der vorliegenden Arbeit gesammelten Erfahrungen ziehen, daß es nicht einerlei ist, was für ein Stamm der zu untersuchenden Bakterienart gewählt wird; es ist nicht einerlei, ob ich einen Stamm aus diesem oder aus jenem Laboratorium wähle. Daraus, daß nicht identische Bakterienstämme benutzt wurden, erklärt sich auch die Verschiedenheit der Resultate, welche von verschiedenen Forschern bei der Untersuchung derselben biochemischen Prozesse erhalten wurden. Wenn also vergleichende Untersuchungen angestellt werden sollen, müssen identische Stämme verwendet werden. Auch auf den Luftwechsel wäre bei derartigen Untersuchungen größere Rücksicht zu nehmen.

Aus dem ganzen vorliegenden Zahlenmaterial geht mit voller Klarheit hervor, daß es sehr wohl möglich ist, unter Einhaltung bestimmter Bedingungen quantitative Untersuchungen biochemischer Prozesse anzustellen, welche zu verschiedenen Zeiten dieselben Resultate ergeben. Eingehende Vergleiche können aber so lange noch nicht gezogen werden, bis es möglich ist, die noch nicht zuverlässig eingehaltenen Faktoren, wie gleichmäßige Nährlösung und gleichmäßiger Luftwechsel, genauer zu präzisieren. Aber so viel ist auch jetzt schon sicher, daß nur die quantitative Analyse einen genaueren Einblick in die Gärungsvorgänge und damit in die Lebenserscheinungen der Bakterien geben wird.

Zum Schluß seien noch einmal die in der vorliegenden Arbeit gesammelten Erfahrungen kurz zusammengestellt.

1. Die vier untersuchten Bakterienarten vergären in der

gleichen Zeit bei derselben Temperatur verschiedene Mengen Ameisensäure.

2. Jede einzelne der untersuchten Bakterienarten vergärt bei verschiedener Temperatur verschiedene Mengen Ameisensäure.

3. Die Menge der vergorenen Ameisensäure ist abhängig

a) von dem physiologischen Zustand des betreffenden Bakteriums,

b) von der Menge des Bakteriums,

c) von der Temperatur,

d) von der Konzentration der Ameisensäure,

e) von der Zusammensetzung der Nährlösung,

f) von dem Luftwechsel.

4. Die in der Bakteriologie übliche Nährbouillon ist kein gleichmäßig zusammengestellter Nährboden.

5. Verschiedene Stämme ein und derselben Bakterienart können sich in bezug auf ihr Vermögen, Ameisensäure zu vergären, in verschiedenem physiologischen Zustand befinden.

6. Der in der Bakteriologie übliche Wattepfropfen gewährt nicht immer einen gleichmäßigen Luftwechsel.

I. *Bacillus prodigiosus*.

A. Stamm Kräl.

α) Calciumformiat.

1. 27°.

Tabelle Nr. 1.

0,4602 g Ameisensäure als Calciumformiat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5980	0,4493	97,64	0,0109	2,36
2	4,5508	0,4447	96,64	0,0155	3,36
3	4,5386	0,4435	96,37	0,0167	3,63
4	4,5220	0,4419	96,03	0,0183	3,97
5	4,5282	0,4425	96,16	0,0177	3,84

Tabelle Nr. 2.

0,4602 g Ameisensäure als Calciumformiat bei 27°.
Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5938	0,4489	97,55	0,0113	2,45
2	4,5449	0,4442	96,51	0,0160	3,49
3	4,5418	0,4439	96,45	0,0163	3,55
4	4,5195	0,4417	95,97	0,0185	4,03

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Was die makroskopischen Erscheinungen anbelangt, so war eine Farbstoffbildung nicht zu bemerken; schon nach 1 Tag war ein kräftiger, farbloser Niederschlag von Calciumcarbonat zu bemerken, der sich am folgenden Tage noch vermehrte.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 1	2
1. Tag	2,36	2,45
2. „	3,36	3,49
3. „	3,63	3,55
4. „	3,97	4,03
5. „	3,84	—

Mittlere Tabelle.

1. Tag	2,41
2. „	3,43
3. „	3,59
4. „	4,00
5. „	3,84

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 1	2
1. Tag	— 0,05	+ 0,04
2. „	— 0,07	+ 0,06
3. „	+ 0,04	— 0,04
4. „	— 0,03	+ 0,03
5. „	+ 0,00	—

Die Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten sind sehr klein, sie schwanken zwischen $+ 0,06\%$ und $- 0,07\%$.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	2,41
2. „	1,02
3. „	0,16
4. „	0,41
5. „	+ 0,16

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 1	2
1. Tag	109	113
2. „	155	160
3. „	167	163
4. „	183	185
5. „	177	—

Mittlere Tabelle.

1. Tag	111
2. „	158
3. „	165
4. „	184
5. „	177

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 1	2
1. Tag	- 2	+ 2
2. „	- 3	+ 2
3. „	+ 2	- 2
4. „	- 1	+ 1
5. „	+ 0	—

Die Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten sind sehr klein, sie schwanken zwischen $+ 0,0002$ und $- 0,0003$ g.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	111
2. „	47
3. „	7
4. „	19
5. „	+ 7

Aus dem Zahlenmaterial geht folgendes hervor: Im Maximum werden 0,0184 g = 4,00% der vorhandenen Ameisensäure vergoren. Die Gärung ist nach 4 Tagen beendet, am 5. Tage wird kaum noch Ameisensäure vergoren. Das Maximum der Gärung liegt zwischen dem 0. und 1. Tage, innerhalb des 1. Tages werden 0,0111 g = 2,41% vergoren, innerhalb des 2. Tages nur noch 0,0047 g = 1,02%, aus den folgenden Tagen ist die Vergärung nur noch außerordentlich gering.

2. 37°.

Tabelle Nr. 3.

0,4602 g Ameisensäure als Calciumformiat bei 37°.
Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5646	0,4461	96,93	0,0141	3,07
2	4,5158	0,4413	95,89	0,0189	4,11
3	4,5204	0,4418	95,99	0,0184	4,01
4	4,5196	0,4417	95,98	0,0185	4,02
5	4,5242	0,4421	96,07	0,0181	3,93

Tabelle Nr. 4.

0,4602 g Ameisensäure als Calciumformiat bei 37°.
Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5686	0,4464	97,01	0,0138	2,99
2	4,5236	0,4421	96,06	0,0181	3,94
3	4,5179	0,4415	95,94	0,0187	4,06
4	4,5228	0,4420	96,04	0,0182	3,96
5	4,5210	0,4418	96,00	0,0184	4,00

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 3	4
1. Tag	3,07	2,99
2. »	4,11	3,94
3. »	4,01	4,06
4. »	4,02	3,96
5. »	3,93	4,00

Mittlere Tabelle.

1. Tag	3,03
2. »	4,03
3. »	4,04
4. »	3,99
5. »	3,97

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 3	4
1. Tag	+ 0,04	- 0,04
2. »	+ 0,08	- 0,09
3. »	- 0,03	+ 0,02
4. »	+ 0,03	- 0,03
5. »	- 0,04	+ 0,03

Die Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten sind sehr klein, sie schwanken zwischen + 0,08% und - 0,09%.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	3,03
2. »	1,00
3. »	0,01
4. »	+ 0,05
5. »	+ 0,02

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 3	4
1. Tag	141	138
2. »	189	181
3. »	184	187
4. »	185	182
5. »	181	184

Mittlere Tabelle.

1. Tag	140
2. »	185
3. »	186
4. »	184
5. »	183

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 3	4
1. Tag	+ 1	- 2
2. »	+ 4	- 4
3. »	- 2	+ 1
4. »	+ 1	- 2
5. »	- 2	+ 1

Die Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten sind außerordentlich klein; sie schwanken zwischen + 0,0004 und - 0,0004 g.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren	HCOOH
1. Tages		140
2. »		45
3. »		1
4. »		+ 2
5. »		+ 1

Aus dem Zahlenmaterial geht folgendes hervor: Es werden im Maximum 4,11% der vorhandenen Ameisensäure vergoren. Die Gärung ist schon nach 2 Tagen beendet, an den folgenden Tagen bleibt die Menge der noch vorhandenen Ameisensäure unverändert. Das Maximum der Gärung liegt zwischen dem 0. und 1. Tage, innerhalb des 1. Tages werden 0,0140 g = 3,03% der vorhandenen Ameisensäure vergoren, innerhalb des 2. Tages nur noch 0,0045 g = 1,00%, dann hört die Gärung auf. Was die makroskopischen Erscheinungen anbelangt, so war keine Farbstoffbildung zu bemerken; schon nach dem ersten Tage war ziemlich viel farbloser Bodensatz von Calciumcarbonat zu bemerken, der sich am folgenden Tage noch vermehrte.

Vergleich der bei den verschiedenen Temperaturen erhaltenen Zahlen.

Bei beiden Temperaturen liegt die größte Gärungsintensität innerhalb des 1. Tages; bei 27° wird innerhalb dieses Tages

0,0111 g = 2,41% vergoren, bei 37° 0,0140 = 3,03%. Bei 37° ist die Gärung in 2 Tagen beendet, bei 27° erst nach 4 Tagen. Im Maximum werden vergoren bei 27° 0,0184 g = 4,00% Ameisensäure, bei 37° 0,0185 g = 4,03%. Die Gärung setzt bei 37° rascher ein, ist aber auch schneller beendet. Bei 37° wird nach 5 Tagen etwas mehr Ameisensäure vergoren als bei 27°; die Unterschiede sind aber so geringfügig, daß man wohl sagen kann, daß nach dieser Zeit gleichviel Ameisensäure vergoren wird.

β) Natriumformiat.

1. 17°.

Tabelle Nr. 5.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: Bac. Prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5704	0,4467	97,06	0,0135	2,94
2	4,1252	0,4031	87,60	0,0571	12,40
3	3,5854	0,3504	76,14	0,1098	23,86
4	3,3854	0,3308	71,92	0,1294	28,08
5	3,2192	0,3146	68,36	0,1456	31,64
6	3,1988	0,3126	67,93	0,1476	32,07
7	3,0396	0,2970	64,55	0,1632	35,45
8	3,0714	0,3003	65,22	0,1599	34,78
9	3,0702	0,3000	65,20	0,1602	34,80

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei dieser Versuchsreihe mit Lackmuspapier als Indikator. Die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Sehr schwache Trübung, keine Haut, kein Bodensatz, kein Farbstoff, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Trübung etwas stärker als am Tage vorher, sonst keine Veränderung.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, am Rande des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, schwach rosenroter Ring, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Sehr starke Trübung, keine Haut, der schwach rosenrote Ring hat sich nicht vergrößert, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Sehr starke Trübung, dünnes farbloses Häutchen, rosenroter Ring verschwunden, kein Farbstoff, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 7 Tagen: Sehr starke Trübung, dünnes farbloses Häutchen, kein Farbstoff, etwas Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 8 Tagen: Gegen den vorhergehenden Tag kaum Veränderung, nur daß vielleicht etwas mehr Bodensatz vorhanden war, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Eine Bildung von Gasbläschen war niemals zu beobachten.

Tabelle Nr. 6.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,4918	0,4390	95,39	0,0212	4,61
2	4,2056	0,4110	89,31	0,0492	10,69
3	3,3578	0,3281	71,30	0,1321	28,70
4	3,0478	0,2978	64,72	0,1624	35,28
5	2,5202	0,2463	53,52	0,2139	46,48
6	2,6590	0,2599	56,47	0,2003	43,53

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei dieser Versuchsreihe mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator. Die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Schwache Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Trübung etwas stärker als am Tage vorher, keine Haut, am Rande des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, ganz

schmäler, schwach rosenroter Ring, sonst kein Farbstoff, kein Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, schwache Haut, der schmale rosenrote Ring hat sich nicht verbreitert, sonst kein Farbstoff, etwas Bodensatz, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Sehr starke Trübung, farblose nicht zusammenhängende Haut, die in einzelnen Schollen umherschwimmen, kein Farbstoff, kein Bodensatz, Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Sehr starke Trübung, gelbliche nicht zusammenhängende Haut, kein Farbstoff, der rosenrote Streifen ist schmaler geworden, kein Bodensatz, Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Gegen den vorhergehenden Tag kaum verändert, etwas Bodensatz, Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Die für diese Versuchsreihe verwendete Bouillon war nicht gleichmäßig in den einzelnen Kolben; sie stammte von zwei verschiedenen Darstellungen her; die eine Sorte war anormal hell gefärbt. — Eine Bildung von Gasbläschen war nicht zu beobachten.

Tabelle Nr. 7.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Kolben Nr.	Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vor-	Noch vor-	Vergoren	Vergoren
			handene HCOOH g	handene HCOOH %	HCOOH g	HCOOH %
1	1	4,5100	0,4408	95,77	0,0194	4,23
2	2	4,0692	0,3977	86,41	0,0625	13,59
3	3	3,3872	0,3310	71,93	0,1292	28,07
4	4	2,9612	0,2894	62,88	0,1708	37,12
5	5	2,7378	0,2676	58,14	0,1926	41,86
6	6	2,5124	0,2455	53,35	0,2147	46,65
7	7	2,3824	0,2328	50,59	0,2274	49,41
8	8	2,2832	0,2231	48,49	0,2371	51,51
9	9	2,1882	0,2138	46,47	0,2464	53,53
10	11	2,1003	0,2053	44,60	0,2549	55,40
11	12	2,0624	0,2016	43,80	0,2586	56,20

Die Neutralisation der Nährbouillon erfolgte mit Phenolphthalein als Indikator; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Ziemlich starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, am Rande des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, schwach rosenroter Ring, sonst kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Sehr starke Trübung, nur auf Kolben 9 und 10 schwache nicht zusammenhängende Haut, der rosenrote Ring hat sich nicht verbreitert, kein Farbstoff, sehr wenig Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Sehr starke Trübung, auf allen Kolben mit Ausnahme von Nr. 10 gelbliche nicht zusammenhängende Haut, der rosenrote Streifen ist fast vollständig verschwunden, kein Farbstoff, etwas mehr Bodensatz als am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Sehr starke Trübung, auf Kolben 9 ziemlich viel gelbliche nicht zusammenhängende Haut, auf den anderen Kolben keine Haut, der am Anfang vorhandene rosenrote Streifen ist vollständig verschwunden, kein Farbstoff, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Sehr starke Trübung, auf einigen Kolben wenig farblose Haut, kein Farbstoff, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 7 Tagen: Wie am Tage vorher, auf keinem Kolben Haut, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 8 Tagen: Wie am Tage vorher, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 9 Tagen: Sehr starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 10 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Versuchsreihe 6 wurde 8 Tage später angesetzt als Versuchsreihe 5, und Versuchsreihe 7 14 Tage später als Versuchsreihe 6.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 5	6	7
1. Tag	2,94	4,61	4,23
2. »	12,40	10,69	13,59
3. »	23,86	28,70	28,07
4. »	28,08	35,28	37,12
5. »	31,64	46,48	41,86
6. »	32,07	43,53	46,65
7. »	35,45	—	49,41
8. »	34,78	—	51,51
9. »	34,80	—	53,53
10. »	—	—	55,40
11. »	—	—	56,20

Mittlere Tabelle.

1. Tag	3,93
2. »	12,23
3. »	26,88
4. »	33,49
5. »	39,99
6. »	40,75
7. »	42,43
8. »	43,15
9. »	44,17
10. »	55,40
11. »	56,20

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 5	6	7
1. Tag	— 0,99	+ 0,68	+ 0,30
2. »	+ 0,17	— 1,54	+ 1,36
3. »	— 3,02	+ 1,82	+ 1,19
4. »	— 5,41	+ 1,79	+ 3,63
5. »	— 8,35	+ 6,48	+ 1,87
6. »	— 8,68	+ 2,78	+ 5,90
7. »	— 6,98	—	+ 6,98
8. »	— 8,37	—	+ 8,36
9. »	— 9,37	—	+ 9,36
10. »	—	—	+ 0,00
11. »	—	—	+ 0,00

Die Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten sind so groß, daß es nicht angängig ist, irgend welche Korrekturen anzubringen und eine korrigierte mittlere Tabelle aufzustellen.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HCOOH		
	Tabelle Nr. 5	6	7
1. Tages	2,94	4,61	4,23
2. »	9,46	6,08	9,36
3. »	11,46	8,01	14,48
4. »	4,22	6,58	9,05
5. »	3,56	11,20	4,74
6. »	0,43	+ 2,95	4,79
7. »	3,38	—	2,76
8. »	+ 0,67	—	2,10
9. »	0,02	—	2,02
10. »	—	—	1,87
11. »	—	—	0,80

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 5	6	7
1. Tag	135	212	194
2. „	571	492	625
3. „	1098	1321	1292
4. „	1294	1624	1708
5. „	1456	2139	1926
6. „	1476	2003	2147
7. „	1632	—	2274
8. „	1599	—	2371
9. „	1602	—	2464
10. „	—	—	2549
11. „	—	—	2586

Mittlere Tabelle.

1. Tag	180
2. „	563
3. „	1237
4. „	1542
5. „	1840
6. „	1875
7. „	1953
8. „	1985
9. „	2033
10. „	2549
11. „	2586

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 5	6	7
1. Tag	— 45	+ 32	+ 14
2. „	+ 8	— 71	+ 62
3. „	— 139	+ 84	+ 55
4. „	— 248	+ 82	+ 166
5. „	— 384	+ 299	+ 86
6. „	— 399	+ 128	+ 272
7. „	— 321	—	+ 321
8. „	— 386	—	+ 386
9. „	— 431	—	+ 431
10. „	—	—	+ 0
11. „	—	—	+ 0

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen
Ameisensäure.

Innerhalb des	Tabelle Nr. 5	Sind vergoren HCOOH		
		6	7	
1. Tages	135	212	194	
2. „	436	280	431	
3. „	527	829	667	
4. „	196	303	416	
5. „	162	515	218	
6. „	20	+ 136	221	
7. „	156	—	127	
8. „	+ 33	—	97	
9. „	3	—	93	
10. „	—	—	85	
11. „	—	—	37	

Die bei 17° erhaltenen Resultate sind sehr ungleichmäßig ausgefallen. Ein Unterschied in dem physiologischen Zustand der Bakterien kann die Ursache der Nichtübereinstimmung nicht sein, denn die 3 Versuchsreihen wurden innerhalb 4 Wochen ausgeführt, mit Bakterien aus derselben Kultur, und eine derartig schnelle Veränderung des physiologischen Zustandes innerhalb so kurzer Zeit dürfte wohl unmöglich sein. Für Versuchsreihe 6 ist die Ursache der Abweichung von den anderen beiden Versuchsreihen damit sicher nachgewiesen, daß für diese eine verschiedenartige Bouillon zur Anwendung kam. Die Verschiedenheit der bei dieser Versuchsreihe zur Anwendung gekommenen Bouillon macht sich auch in den makroskopischen Erscheinungen geltend; an den letzten drei Tagen findet sich immer die Bemerkung: «die Kolben sehen ungleichmäßig aus». Die Nichtübereinstimmung der beiden anderen Versuchsreihen läßt sich auch auf eine Verschiedenheit der zur Anwendung gekommenen Bouillonsorten oder auf eine Ungleichartigkeit der Luftzufuhr zurückführen, oder auf eine Kombination dieser beiden Ursachen. Innerhalb der beiden Versuchsreihen selbst kam eine gleichmäßige Bouillon zur Anwendung. Wenn bei beiden Versuchsreihen eine verschieden zusammengesetzte Bouillon zur Anwendung kam, so muß sich dies auch in einer Verschiedenheit der makroskopischen Erscheinungen bemerkbar machen und das ist in der Tat der

Fall. Vergleicht man die bei diesen beiden Versuchsreihen beobachteten makroskopischen Erscheinungen von Tag zu Tag miteinander, so wird man finden, daß die korrespondierenden Tage keine Übereinstimmung zeigen; auf Einzelheiten will ich mich hier nicht einlassen, nur soviel sei bemerkt, daß die makroskopischen Erscheinungen bei Versuchsreihe 7 auf eine viel üppigere Entwicklung schließen lassen als bei Versuchsreihe 5, und das macht sich, wie später gezeigt wird, auch in den erhaltenen Zahlen bemerkbar. Daß die Gärung innerhalb der beiden Versuchsreihen regelmäßig verlaufen ist, geht aus der bei den makroskopischen Erscheinungen an jedem Tage auftretenden Bemerkung hervor «Kolben sehen gleichmäßig aus» und wird auch durch die erhaltenen Zahlen betätigt.

In Versuchsreihe 5 werden im Maximum $0,1632 \text{ g} = 35,45\%$ Ameisensäure vergoren; die Vergärung ist nach 7 Tagen beendet, am 8. und 9. Tage ist die Menge der noch vorhandenen Ameisensäure annähernd dieselbe, wie am 7. Tage. Bei Versuchsreihe 7 sind im Maximum $0,2586 \text{ g} = 56,20\%$ Ameisensäure als vergoren gefunden worden, aber die Gärung war dann sicher noch nicht beendet. Die größte Intensität der Gärung liegt in beiden Versuchsreihen innerhalb des 3. Tages. Bei Versuchsreihe 5 werden innerhalb dieses Tages $0,0527 \text{ g} = 11,46\%$, bei Versuchsreihe 7 $0,0667 \text{ g} = 14,48\%$ Ameisensäure vergoren.

2. 21°.

Tabelle Nr. 8.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.

Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,3906	0,4291	93,24	0,0311	6,76
2	4,3426	0,4244	92,22	0,0358	7,78
3	3,7618	0,3676	79,88	0,0926	20,12
4	3,7898	0,3704	80,84	0,0898	19,52
5	3,2980	0,3223	70,03	0,1379	29,97
6	3,5400	0,3460	75,17	0,1142	24,83

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei dieser Versuchsreihe mit Phenolphthalein als Indikator. Die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Schwache Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Ziemlich starke Trübung, auf einem Kolben ziemlich starke Haut, auf den 3 anderen nicht, am Rand des Glases, dort wo die Flüssigkeit aufhört, rötter Ring; Kolben sehen sehr ungleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, auf allen Kolben Haut, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, schwache, zusammenhängende rosafarbene Haut, die ganze Flüssigkeit schwach rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Sehr starke Trübung, zusammenhängende rosenrote Haut, die Haut ist intensiver gefärbt als bei der zur gleichen Zeit angesetzten Versuchsreihe bei 27°, die ganze Flüssigkeit ist rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Die für diese Versuchsreihe verwendete Bouillon war ebenso wie bei Tabelle 6 nicht gleichmäßig in den einzelnen Kolben; die eine Partie war anormal hell gefärbt. Eine Bildung von Gasbläschen konnte nicht beobachtet werden.

Tabelle Nr. 9.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.
Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Kolben Nr.	Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,4158	0,4315	93,77	0,0287	6,23
2	2	3,7984	0,3712	80,66	0,0890	19,34
3	3	2,8538	0,2789	60,60	0,1813	39,40
4	4	2,4389	0,2384	51,81	0,2218	48,19
5	5	2,2034	0,2153	46,79	0,2449	53,21
6	6	1,9962	0,1951	42,39	0,2651	57,61
7	7	1,8196	0,1778	38,64	0,2824	61,36

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei dieser Versuchsreihe mit Phenolphthalein als Indikator; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Ziemlich starke Trübung, keine Haut, auf der Oberfläche der Flüssigkeit hat schon eine ziemlich intensive Farbstoffbildung eingesetzt, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, schwache rosenrote Haut, die ganze Flüssigkeit ist schwach rosa gefärbt, die Farbstoffbildung ist anscheinend nicht so intensiv wie am Tage vorher; während die Flüssigkeit am vorhergehenden Tage nur in den oberen Partien rot gefärbt war, war die Färbung an diesem Tage gleichmäßig durch die ganze Flüssigkeit verteilt; kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, schwache rosenrote Haut, die ganze Flüssigkeit ist rot gefärbt, aber nicht so intensiv wie in den zu gleicher Zeit angesetzten Kulturen von 27° (Tabelle 16). In der Intensität der Färbung sind geringe Unterschiede vorhanden; kein Bodensatz; Kolben sehen im allgemeinen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, Haut nicht mehr vorhanden, die Flüssigkeit ist gleichmäßig rot gefärbt, ungefähr ebenso intensiv wie in den zu gleicher Zeit angesetzten Kulturen von 27° (Tabelle 16); ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, die ganze Flüssigkeit ist intensiv rot gefärbt, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Wie am Tage vorher, nur die Flüssigkeit ist wieder etwas intensiver gefärbt; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 7 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 8	9
1. Tag	6,76	6,23
2. »	7,78	19,34
3. »	20,12	39,40
4. »	19,52	48,19
5. »	29,97	53,21
6. »	24,83	57,61
7. »	—	61,36

Wegen der ganz enormen Unterschiede ist es zwecklos, eine mittlere Tabelle aufzustellen.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH	
	Tabelle 8	9
1. Tages	6,76	6,23
2. »	1,02	13,11
3. »	12,34	20,06
4. »	+ 0,60	8,79
5. »	10,45	5,02
6. »	+ 5,14	* 4,40
7. »	—	3,75

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 8	9
1. Tag	311	287
2. „	358	890
3. „	926	1813
4. „	898	2218
5. „	1379	2449
6. „	1142	2651
7. „	—	2824

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH	
Tabelle Nr. 8	8	9
1. Tages	311	287
2. „	47	603
3. „	568	923
4. „	+ 28	405
5. „	481	231
6. „	+ 237	202
7. „	—	173

Die bei 21° erhaltenen Resultate sind ebenso wie die bei 17° recht ungleichmäßig. Versuchsreihe 8 kommt nun aber für Vergleichszwecke nicht in Betracht, da nachgewiesenermaßen in den einzelnen Kolben eine ungleichmäßige Bouillon zur Anwendung kam. Die ungleichmäßige Beschaffenheit der zur Anwendung gekommenen Bouillon drückt sich auch in den beobachteten makroskopischen Erscheinungen aus, fast immer findet sich die Bemerkung «Kolben sehen ungleichmäßig aus». Für Vergleichszwecke mit den bei anderen Temperaturen erhaltenen Werten kommt also nur die Versuchsreihe 9 in Betracht.

Die Menge der überhaupt vergorenen Ameisensäure ist 0,2824 g = 61,36%, diese Menge ist nach 7 Tagen erreicht; dann ist aber die Gärung noch nicht beendet. Die Hauptintensität der Gärung liegt innerhalb des 3. Tages; innerhalb dieses Tages werden 0,0923 g = 20,06% Ameisensäure vergoren.

3. 27°.

Ein Teil der Versuchsreihen, welche über die Vergärung der Ameisensäure durch *Bac. prodigiosus* Kräl bei 27° vor-

liegen, wurde im Sommer-Semester 1908 ausgeführt (Versuchsreihe 10, 11, 12, 13), ein anderer Teil im Winter-Semester 1908/09 (Versuchsreihe 14, 15, 16). Zwischen der Ausführung dieser beiden Gruppen von Versuchsreihen liegt ein Zeitraum von $3\frac{1}{2}$ —4 Monaten. Da diese beiden Gruppen von Versuchsreihen keine gute Übereinstimmung zeigen, sollen sie besonders aufgeführt werden.

Tabelle Nr. 10.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.
Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,5382	0,4435	96,37	0,0167	3,63
2	3,8248	0,3738	81,22	0,0864	18,78
3	—	—	—	—	—
4	3,2956	0,3221	69,98	0,1381	30,02
5	3,1744	0,3102	67,41	0,1500	32,59

Tabelle Nr. 11.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.
Nährlösung: Gew. Bouillon.
Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	—	—	—	—	—
2	3,8862	0,3798	82,52	0,0804	17,48
3	3,5022	0,3423	74,37	0,1179	25,63
4	3,2836	0,3209	69,73	0,1393	30,27
5	—	—	—	—	—

Tabelle Nr. 12.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH	Noch vorhandene HCOOH	Vergoren HCOOH	Vergoren HCOOH
		g	%	g	%
1	4,5528	0,4449	96,68	0,0153	3,32
2	3,9008	0,3812	82,83	0,0790	17,17
3	3,5230	0,3443	74,81	0,1159	25,19
4	3,2750	0,3201	69,54	0,1401	30,46
5	3,1497	0,3078	66,89	0,1524	33,11

Tabelle Nr. 13.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH	Noch vorhandene HCOOH	Vergoren HCOOH	Vergoren HCOOH
		g	%	g	%
1	4,5396	0,4436	96,40	0,0166	3,60
2	3,8618	0,3774	82,01	0,0828	17,99
3	3,5014	0,3422	74,35	0,1180	25,65
4	3,2886	0,3214	69,84	0,1388	30,16
5	3,1358	0,3065	66,59	0,1537	33,41

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei diesen Versuchsreihen mit Lackmuspapier als Indikator; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Versuchsreihe 10, 11 wurden gleichzeitig angesetzt und ebenso Versuchsreihe 12, 13. Zwischen der Ausführung der beiden Versuchsreihen (10, 11) und (12, 13) lag ein Zwischenraum von 3 Wochen.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

Tabelle Nr.	10	11	12	13
1. Tag	3,63	—	3,32	3,60
2. »	18,78	17,48	17,17	17,99
3. »	—	25,63	25,19	25,65
4. »	30,02	30,27	30,46	30,16
5. »	32,59	—	33,11	33,41

Mittlere Tabelle.

1. Tag	3,52
2. »	17,86
3. »	25,49
4. »	30,23
5. »	33,04

Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten.

Tabelle Nr.	10	11	12	13
1. Tag	+0,11	—	-0,20	+0,08
2. »	+0,92	-0,38	-0,69	+0,13
3. »	—	+0,14	-0,30	+0,16
4. »	-0,21	+0,04	+0,23	-0,07
5. »	-0,45	—	+0,07	+0,37

Die Abweichungen von der mittleren Tabelle sind, abgesehen von den Zahlen des 2. und 5. Tages, nicht größer als $\pm 0,30\%$. Merzt man die Zahlen des 2. Tages von 18,78 und des 5. Tages von 32,52, welche wahrscheinlich falsch sind, da sie eine zu große Abweichung von den anderen Zahlen besitzen, aus, so erhält man die folgende korrigierte mittlere Tabelle.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	3,52
2. »	17,55
3. »	25,49
4. »	30,23
5. »	33,26

Bac. prodigiosus bei 27°.

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

Tabelle Nr.	10	11	12	13
1. Tag	+0,11	—	-0,20	+0,08
2. »	+1,23	-0,07	-0,38	+0,44
3. »	—	+0,14	-0,30	+0,16
4. »	-0,21	+0,04	+0,23	-0,07
5. »	-0,67	—	-0,15	+0,15

Sehen wir von den eingerahmten Zahlen ab, so sind die Abweichungen von den wahrscheinlichen mittleren Werten recht klein, sie schwanken zwischen $+0,44\%$ und $-0,38\%$.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen HCOOH .

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren Ameisensäure
1. Tages	3,52
2. „	14,11
3. „	7,94
4. „	4,74
5. „	3,03

Bac. prodig. bei 27° .

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

1. Tag	167	—	153	166
2. „	864	804	790	828
3. „	—	1179	1159	1180
4. „	1381	1393	1401	1388
5. „	1500	—	1524	1537

Mittlere Tabelle.

1. Tag	162
2. „	822
3. „	1173
4. „	1391
5. „	1520

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

Tabelle Nr.	10	11	12	13
1. Tag	+ 5	—	— 9	+ 4
2. „	+ 42	— 18	— 32	+ 6
3. „	—	+ 6	— 14	+ 7
4. „	— 10	+ 2	+ 10	— 3
5. „	— 20	—	+ 4	+ 17

Merzt man die Zahlen 10_1 und 10_6 als wahrscheinlich falsch aus, so erhält man folgende korrigierte mittlere Tabelle:

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	162
2. „	807
3. „	1173
4. „	1391
5. „	1531

Bac. prodig. bei 27°.

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

Tabelle Nr. 10	11	12	13
1. Tag + 5	—	— 9	+ 4
2. „ + 57	— 3	— 17	+ 21
3. „ —	+ 6	— 14	+ 7
4. „ — 10	+ 2	+ 10	— 3
5. „ — 31	—	— 7	+ 6

Abgesehen von den eingerahmten Zahlen bewegen sich die Abweichungen zwischen den Werten + 0,0021 g und — 0,0017 g.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen HCOOH.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergorene Ameisensäure
1. Tages	162
2. „	645
3. „	366
4. „	218
5. „	140

Tabelle Nr. 14.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Calomel g	noch vorhandene HCOOH g	noch vorhandene HCOOH %	vergorene HCOOH g	vergorene HCOOH %
1	4,4796	0,4378	95,13	0,0224	4,87
2	3,8060	0,3719	80,82	0,0883	19,18
3	3,5650	0,3484	75,70	0,1118	24,30
4	3,2904	0,3216	69,87	0,1386	30,13
5	3,1936	0,3121	67,82	0,1481	32,18
6	3,1024	0,3032	65,88	0,1570	34,12
7	3,0982	0,3028	65,79	0,1574	34,21
8	3,0826	0,3022	65,67	0,1580	34,33

Die Neutralisation der Bouillon wurde bei dieser Versuchsreihe mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Schwache Trübung, keine Haut, an der Wandung des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, schmaler roter Ring, sonst kein Farbstoff, kein Bodensatz: Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, dünne zusammenhängende Haut, der Ring ist nicht breiter geworden, sonst kein Farbstoff, kein Bodensatz: Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, Haut wie am Tage vorher, die ganze Flüssigkeit ist schwach rot gefärbt, kein Bodensatz: Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Wie am Tage vorher, Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Starke Trübung, Haut nicht verändert, die ganze Flüssigkeit ist rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Wie am Tage vorher.

Nach 7 Tagen: Schwache Trübung, die rosenrote Haut ist so wenig stabil, daß schon bei gelinder Erschütterung Teile sich lösen und zu Boden sinken; die Haut ist schwächer gefärbt, als an den Tagen vorher; die ganze Flüssigkeit ist rot gefärbt, sehr viel Bodensatz: Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 8 Tagen: Schwache Trübung, die Haut ist fast farblos, es sind nur noch einzelne rosa gefärbte Partien vorhanden, die Flüssigkeit hat die ursprüngliche Bouillonfarbe wieder angenommen, ziemlich viel Bodensatz.

Tabelle Nr. 15.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,4970	0,4395	95,50	0,0207	4,50
2	3,9606	0,3871	84,10	0,0731	15,90
3	3,3528	0,3277	71,20	0,1325	28,80
4	3,5288	0,3449	74,94	0,1153	25,06
5	3,2350	0,3161	68,70	0,1441	31,30
6	2,7840	0,2721	59,12	0,1881	40,88

Die Neutralisation der Bouillon erfolgte bei dieser Versuchsreihe mit Phenolphthalein als Indikator. Die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Ziemlich starke Trübung, schwache Haut, an der Wandung des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, rosaroter Ring, kein Bodensatz.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, dünne zusammenhängende Haut, der rosarote Ring hat sich etwas verbreitert, kein Bodensatz: Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, dünne rosarote zusammenhängende Haut, die ganze Flüssigkeit ist rosa gefärbt, ziemlich viel Bodensatz: Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, Haut wie am Tage vorher, die ganze Flüssigkeit ist rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz: Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Starke Trübung, dünne zusammenhängende rote Haut, die ganze Flüssigkeit rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz: Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Gegen den vorhergehenden Tag kaum verändert.

Die für diese Versuchsreihe verwendete Bouillon war ebenso wie Versuchsreihe 6 und 8 nicht gleichmäßig in den einzelnen Kolben: die eine Partie war anormal hell gefärbt. Eine Bildung von Gasbläschen konnte nicht beobachtet werden.

Tabelle Nr. 16.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,5954	0,4491	97,58	0,0111	2,42
2	2	3,9691	0,3879	84,29	0,0723	15,71
3	3	3,5018	0,3422	74,36	0,1180	25,64
4	4	3,1948	0,3122	67,84	0,1480	32,16
5	5	2,9572	0,2890	62,80	0,1712	37,20
6	6	2,7926	0,2729	59,30	0,1873	40,70
7	7	2,6508	0,2591	56,29	0,2011	43,71
8	8	2,5206	0,2463	53,53	0,2139	46,47
9	9	2,3874	0,2333	50,70	0,2269	49,30
10	11	2,2615	0,2210	48,02	0,2392	51,98
11	12	2,1712	0,2122	46,12	0,2480	53,88

Die Neutralisation der Bouillon wurde bei dieser Versuchsreihe mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Ziemlich starke Trübung, keine Haut, an der Wandung des Glases, dort, wo die Flüssigkeit aufhört, schmaler rosenroter Ring, sonst kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, die ganze Flüssigkeit schwach rosenrot gefärbt; in der Intensität der Färbung sind geringe Unterschiede vorhanden, Kolben 4, 3, 6, 7, 8, 9, 10 sind intensiver gefärbt als 11 und 5, etwas Bodensatz.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, die Flüssigkeit ist gleichmäßig rot gefärbt, in Kolben 5 und 11 etwas weniger intensiv als in den anderen, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen recht gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Wie am Tage vorher, Färbung der Flüssigkeit etwas intensiver geworden, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, die ganze Flüssigkeit ziemlich intensiv rot gefärbt, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 6 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 7 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, Flüssigkeit intensiv rot gefärbt, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 8 Tagen: Trübung nicht mehr so stark wie am Tage vorher, keine Haut, Flüssigkeit intensiv rot gefärbt, viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Versuchsreihe 15 wurde 1 Woche später als Versuchsreihe 14 und Versuchsreihe 16 1 Woche später als Versuchsreihe 15 angesetzt.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tag	4,87	4,50	2,42
2. »	19,18	15,90	15,71
3. »	24,30	28,80	25,64
4. »	30,13	25,06	32,16
5. »	32,18	31,30	37,20
6. »	34,12	40,88	40,70
7. »	34,21	—	43,71
8. »	34,33	—	46,47
9. »	—	—	49,30
10. »	—	—	51,98
11. »	—	—	53,88

Mittlere Tabelle.

1. Tag	3,93
2. »	16,93
3. »	26,25
4. »	29,12
5. »	33,56
6. »	38,57
7. »	38,96
8. »	40,40
9. »	49,30
10. »	51,98
11. »	53,88

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tag	+ 0,94	+ 0,57	- 1,51
2. »	+ 2,25	- 1,03	- 1,22
3. »	- 1,95	+ 2,55	- 0,61
4. »	+ 1,01	- 4,06	+ 3,04
5. »	- 1,38	- 2,26	+ 3,64
6. »	- 4,45	+ 2,31	+ 2,13
7. »	- 4,75	-	+ 4,75
8. »	- 6,07	-	+ 6,07
9. »	-	-	+ 0,00
10. »	-	-	+ 0,00
11. »	-	-	+ 0,00

Wegen der großen Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten ist es nicht zweckmäßig, eine korrigierte mittlere Tabelle aufzustellen.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	Sind vergoren HCOOH		
	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tages	4,87	4,50	2,42
2. »	14,31	9,40	13,29
3. »	5,12	12,90	9,93
4. »	5,83	+ 3,74	6,52
5. »	2,05	6,24	5,04
6. »	1,94	9,58	3,50
7. »	0,09	-	3,01
8. »	0,12	-	2,76
9. »	-	-	2,83
10. »	-	-	2,68
11. »	-	-	1,90

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tag	224	207	111
2. „	883	731	723
3. „	1118	1325	1180
4. „	1386	1153	1480
5. „	1481	1441	1712
6. „	1570	1881	1873
7. „	1574	—	2011
8. „	1580	—	2139
9. „	—	—	2269
10. „	—	—	2392
11. „	—	—	2480

Mittlere Tabelle.

1. Tag	178
2. „	779
3. „	1208
4. „	1340
5. „	1545
6. „	1775
7. „	1793
8. „	1860
9. „	2269
10. „	2392
11. „	2480

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tag	+ 46	+ 29	— 77
2. „	+ 104	— 48	— 56
3. „	— 90	+ 117	— 28
4. „	+ 46	— 187	+ 140
5. „	— 64	— 104	+ 167
6. „	— 205	+ 106	+ 98
7. „	— 219	—	+ 218
8. „	— 277	—	+ 280
9. „	—	—	+ 0
10. „	—	—	+ 0
11. „	—	—	+ 0

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH		
	Tabelle Nr. 14	15	16
1. Tages	224	207	101
2. "	659	524	612
3. "	235	584	457
4. "	268	+ 172	300
5. "	95	288	232
6. "	89	440	161
7. "	4	—	138
8. "	6	—	128
9. "	—	—	130
10. "	—	—	123
11. "	—	—	88

Die Versuchsreihen 10, 11, 12, 13 zeigen im allgemeinen untereinander eine recht gute Übereinstimmung. Da nun Versuchsreihe 10, 11 und ebenso 12, 13 gleichzeitig angesetzt wurden, zwischen der Ausführung dieser beiden Gruppen von Versuchsreihen aber ein Zeitraum von 3 Wochen lag, so geht aus der guten Übereinstimmung hervor, daß der physiologische Zustand der Bakterien sich innerhalb dieses Zeitraums nicht geändert hatte; ferner daß es wohl möglich ist, in verschiedenen Darstellungen eine Nährbouillon zu erhalten, welche den Bakterien gleiche Ernährungsbedingungen bietet. Wäre dies nicht der Fall, würde man jedesmal eine Nährbouillon von anderer Zusammensetzung erhalten, so dürfte man mit Bouillonsorten verschiedener Darstellung niemals übereinstimmende Werte erhalten. Diese Überlegung wird auch noch bei vielen anderen Versuchsreihen zu machen sein. Eine ähnliche Überlegung wird zeigen, daß man auch mit Hilfe der Wattepfropfen eine gleichmäßige Luftzufuhr erzielen kann. Aber mit den Wattepfropfen ist die Sicherheit, Gleichmäßigkeit zu erzielen, doch noch etwas geringer, als mit der Bouillon. Wenn in eine Serie von Kolben, welche zu einer Versuchsreihe dienen sollen, Bouillon von derselben Darstellung gefüllt wird, so ist die Bouillon innerhalb ein und derselben Versuchsreihe natürlich gleichmäßig. Die Wattepfropfen können natürlich auch gleichmäßig sein, es ist aber nicht notwendig; ein oder mehrere Wattepfropfen können

lockerer, fester, länger oder kürzer sein als die Mehrzahl. Wenn dies der Fall ist, wird natürlich in den Kolben, welche mit den anormalen Wattedropfen versehen sind, ein anderer Luftwechsel herrschen, und die Entwicklung der Bakterien und damit die Vergärung der Ameisensäure wird eine andere werden.

Daß diese Verhältnisse in der Tat vorkommen, geht auch aus der Versuchsreihe 10, 11, 12, 13 hervor. Im allgemeinen stimmen die an den einzelnen Tagen erhaltenen Zahlen sehr gut überein, aber zwei Zahlen sind vorhanden, welche aus der Gleichmäßigkeit herausfallen, nämlich die Zahlen 18,78 und 32,59 des 1. und 5. Tages der Tabelle 10, und dieses Herausfallen kann nur, da ja eine gleichmäßige Bouillon verwendet wurde, der Verschiedenartigkeit der Luftzuführung zugeschrieben werden. Derartige Verhältnisse werden sich noch bei vielen Versuchsreihen finden.

Für die Vergleichszwecke sollen die korrigierten mittleren Werte verwendet werden.

Nach 5 Tagen sind $0,1531 = 33,04\%$ Ameisensäure vergoren, die Gärung ist aber dann noch nicht beendet. Die größte Intensität der Gärung liegt innerhalb des 2. Tages. Innerhalb dieses Tages werden $0,0645 \text{ g} = 14,11\%$ Ameisensäure vergoren. Die Gärungsintensität fällt dann langsam ab, ist aber innerhalb des 5. Tages noch nicht beendet, da innerhalb dieses Tages noch $0,0140 \text{ g} = 3,03\%$ Ameisensäure vergoren werden.

Die Versuchsreihen 14, 15, 16 zeigen untereinander keine gute Übereinstimmung. Versuchsreihe 15 ist für Vergleichszwecke überhaupt nicht zu verwenden, da hier ebenso wie bei Versuchsreihe 6 und 8 eine ungleichmäßige Bouillon verwendet wurde. Diese Ungleichmäßigkeit der Bouillon macht sich auch in den makroskopischen Erscheinungen bemerkbar, die Kolben sahen untereinander sehr ungleichmäßig aus. In Versuchsreihe 14 und 16 verlief die Gärung innerhalb der einzelnen Versuchsreihen gleichmäßig, denn die Kolben sahen, wie aus den Notizen über die makroskopischen Erscheinungen hervorgeht, gleichmäßig aus. Die Verschiedenheit dieser beiden Versuchsreihen läßt sich wieder auf eine Verschiedenartigkeit der angewendeten Bouillon zurückführen. Die Verschiedenartigkeit der Bouillon

muß sich, wenn sie wirklich bestanden hat, in der Nichtübereinstimmung der makroskopischen Erscheinungen ausdrücken, und das ist in der Tat der Fall. Vergleicht man die makroskopischen Erscheinungen, welche bei beiden Versuchsreihen beobachtet wurden, von Tag zu Tag, so wird man finden, daß keine Übereinstimmung herrscht. Die makroskopischen Erscheinungen bei Versuchsreihe 16 lassen auf eine viel üppigere Entwicklung der Bakterien schließen, und diese üppigere Entwicklung macht sich auch in den erhaltenen Zahlen geltend, während die Gärung in Versuchsreihe 14 nach 6 Tagen beendet ist, ist sie bei Versuchsreihe 16 nach 11 Tagen noch nicht beendet; in Versuchsreihe 14 sind nach 6 Tagen $0,1570 \text{ g} = 34,12\%$, in Versuchsreihe 16 $0,1873 \text{ g} = 40,70\%$ Ameisensäure vergoren. Genau dieselben Verhältnisse haben wir schon bei der Vergärung von Ameisensäure durch *Bac. prodigiosus* Kräl bei 17° angetroffen. Daß bei beiden Temperaturen die Verschiedenheit der Resultate auf eine Verschiedenartigkeit der zur Anwendung gekommenen Bouillon zurückzuführen ist, geht auch noch mit voller Sicherheit daraus hervor, daß für Versuchsreihe 5 eine Bouillon von derselben Darstellung wie für Versuchsreihe 14, und für Versuchsreihe 9 eine Bouillon von derselben Darstellung wie für Versuchsreihe 16 zur Anwendung kam. Bei beiden Temperaturgraden finden wir für ein und dieselbe Bouillon, wie man beim Vergleich der Zahlen finden wird, eine vollkommen analoge Entwicklung.

In Versuchsreihe 14 werden in 8 Tagen $0,1580 \text{ g} = 34,33\%$ Ameisensäure vergoren, in Versuchsreihe 16 in 11 Tagen $0,2480 \text{ g} = 53,88\%$. Die größte Intensität der Gärung liegt in beiden Versuchsreihen innerhalb des 2. Tages; in Versuchsreihe 14 werden innerhalb dieses Tages $0,0659 \text{ g} = 14,31\%$, in Versuchsreihe 16 $0,0622 \text{ g} = 13,29\%$ Ameisensäure vergoren. In beiden Versuchsreihen fällt dann die Intensität der Gärung allmählich ab, aber viel rascher bei Versuchsreihe 14 als bei Versuchsreihe 16. Bei Versuchsreihe 14 ist die Gärung schon nach 6 Tagen beendet, während sie bei Versuchsreihe 16 nach 11 Tagen noch nicht beendet ist.

Zum Vergleich der ersten Gruppe von Versuchsreihen 10,

11, 12, 13 mit der zweiten Gruppe 14, 15, 16 wird es wohl am besten sein, die erhaltenen Zahlen noch einmal direkt nebeneinander zu schreiben. Von der ersten Gruppe soll die korrigierte mittlere Tabelle, wegen der guten Übereinstimmung, herangezogen werden, von der anderen Gruppe 14 und 16 einzeln. Versuchsreihe 15 wird aus den weiter oben angeführten Gründen fortgelassen. Es werden die relativen und absoluten Werte nebeneinander aufgeführt.

Tabelle Nr.	Korrigiertes Mittel aus					
	10 12	11 13	14		16	
1. Tag	3,52	162	4,87	224	2,42	101
2. "	17,55	807	19,18	883	15,71	723
3. "	25,99	1173	24,30	1118	25,64	1180
4. "	30,23	1391	30,13	1386	32,16	1480
5. "	33,26	1531	32,18	1481	37,20	1712

Vergleicht man zunächst die erste Gruppe mit Versuchsreihe 14, so findet man, daß die Werte nicht sehr weit auseinander gehen; die größte Differenz ist am 3. Tage vorhanden, sie beträgt 1,69%; alle anderen Differenzen sind kleiner. Nun liegt zwischen der Ausführung der ersten Gruppe und der zweiten ein Zeitraum von $3\frac{1}{2}$ —4 Monaten und es wäre immerhin möglich, daß die physiologischen Eigenschaften der Kulturen sich soweit geändert hätten, daß hierdurch die Differenzen bedingt wären. Aber diese Ausnahme ist nicht notwendig aus folgenden Gründen. Die Differenzen zwischen den Versuchsreihen 14 und 16, welche mit einem Zeitunterschied von 2 Wochen angesetzt wurden, sind viel größer als die Differenzen zwischen der ersten Gruppe von Versuchsreihen und Versuchsreihe 14. Da nun die Differenzen zwischen 14 und 16 auf eine Verschiedenartigkeit der verwendeten Bouillon zurückgeführt werden konnten, zumal eine Veränderung des physiologischen Zustandes der Bakterien innerhalb 14 Tagen wohl ausgeschlossen ist, so können die viel kleineren Differenzen zwischen der ersten Gruppe von Versuchsreihen und Versuchsreihe 14 ebenfalls auf eine Verschiedenartigkeit der verwendeten Bouillon zurückgeführt werden. Die Ursache der großen Abweichungen der Versuchs-

reihe 16 von den anderen wurde schon weiter oben näher ausgeführt. Die größte Intensität der Gärung liegt bei allen Versuchsreihen innerhalb des zweiten Tages.

4. 37°.

Tabelle Nr. 17.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 37°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,6932	0,4587	99,66	0,0015	0,34
2	4,7026	0,4595	99,86	0,0007	0,14
3	4,7046	0,4598	99,90	0,0004	0,10
4	4,6915	0,4585	99,63	0,0017	0,37

Tabelle Nr. 18.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 37°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,7015	0,4595	99,84	0,0007	0,16
2	4,7043	0,4597	99,90	0,0005	0,10
3	4,7108	0,4604	100,04	0,0002	0,04
4	4,7052	0,4598	99,92	0,0004	0,08
5	4,6940	0,4587	99,68	0,0015	0,32

Tabelle Nr. 19.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 37°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,7040	0,4597	99,89	0,0005	0,11
2	4,7114	0,4604	100,05	0,0002	0,05
3	4,7008	0,4594	99,82	0,0008	0,18
4	4,7132	0,4606	100,09	0,0004	0,09
5	4,7050	0,4598	99,91	0,0004	0,09

Tabelle Nr. 20.

0,4602 Ameisensäure als Natriumformiat bei 37°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* Kräl.

Zeit in Tagen	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	4,7068	0,4600	99,95	0,0002	0,05
2	4,7060	0,4599	99,93	0,0003	0,07
3	4,7064	0,4599	99,94	0,0003	0,06
4	4,7078	0,4601	99,97	0,0001	0,03
5	—	—	—	—	—

Aus dem vorliegenden Zahlenmaterial geht mit Klarheit hervor, daß *Bac. prodigiosus* Kräl bei 37° Ameisensäure in Form von Natriumsalz nicht zu vergären vermag.

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Lackmuspapier als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 1 geimpft.

Vergleich der bei den verschiedenen Temperaturen erhaltenen Zahlen.

Zunächst fällt auf, daß bei 37° keine Ameisensäure mehr vergoren wird, diese Temperatur braucht also fernerhin nicht mehr berücksichtigt zu werden. Die größte Gärungsintensität liegt bei 17 und 21° innerhalb des 3. Tages, bei 27° innerhalb des 2. Tages.

Nach 5 Tagen sind vergoren

bei 17° 0,1691 g = 36,75%

» 21° 0,2449 » = 53,21%

» 27° 0,1531 » = 33,26%

Bei 17° ist das Mittel aus Versuchsreihe 5 und 7, bei 21° Versuchsreihe 9 und bei 27° das Mittel aus den 4 ersten Versuchsreihen gewählt worden. Diese Wahl ist recht willkürlich, aber um überhaupt einen Vergleich zu ermöglichen, muß eine derartige Wahl getroffen werden.

Die Zahlen sagen aus, daß innerhalb 5 Tagen bei 17 und 21° mehr Ameisensäure vergoren wird als bei 27° und daß bei 21° mehr Ameisensäure vergoren wird als bei 17°. Die Differenz zwischen 17 und 21° beträgt 0,0758 g = 16,46% und die zwischen 21 und 27° 0,0918 g = 19,95%.

Vergleich der mit Calciumformiat und mit Natriumformiat erhaltenen Zahlen.

Während mit Natriumformiat bei 37° überhaupt keine Vergärung mehr erhalten wird, wird Calciumformiat bei dieser Temperatur noch vergoren. Innerhalb 5 Tagen werden bei dieser Temperatur 0,0183 g = 3,97% vergoren. Bei 27° werden beide Salze vergoren. Bei Anwendung von Natriumformiat wird innerhalb 5 Tagen 0,1273 g = 27,65%, bei Anwendung von Calciumformiat dagegen nur 0,0177 g = 3,84%.

B. Stamm K.G.A.

1. 17°.

Tabelle Nr. 21.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: Bac. prodigiosus K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,8052	0,4696	102,04	+ 0,0094	+ 2,04
2	3	4,5536	0,4450	96,70	0,0152	- 3,30
3	5	4,4972	0,4395	95,50	0,0207	4,50
4	7	4,4426	0,4342	94,34	0,0260	5,66
5	9	4,3862	0,4287	93,14	0,0315	6,86

Tabelle Nr. 22.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: Bac. prodigiosus K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	2	4,8222	0,4713	102,40	+ 0,0111	+ 2,40
2	4	4,6216	0,4517	98,14	0,0085	- 1,86
3	6	4,4782	0,4376	95,10	0,0226	4,90
4	8	4,4502	0,4349	94,50	0,0253	5,50
5	10	4,3942	0,4294	93,31	0,0308	6,69

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt. Die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Schwache Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübungen, keine Haut, kein Farbstoff, sehr wenig Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, etwas Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Tabelle Nr. 23.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,8078	0,4698	102,09	+ 0,0096	+ 2,09
2	3	4,5504	0,4447	96,63	0,0155	3,37
3	5	4,4722	0,4371	94,97	0,0231	5,03
4	7	4,4386	0,4338	94,26	0,0264	5,74
5	9	4,3684	0,4269	92,76	0,0333	7,24

Tabelle Nr. 24.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 17°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	2	4,7932	0,4684	101,79	+ 0,0082	+ 1,79
2	4	4,5356	0,4432	96,31	0,0170	3,69
3	6	4,4680	0,4366	94,88	0,0236	5,12
4	8	4,4190	0,4319	93,84	0,0283	6,16
5	10	4,3704	0,4271	92,81	0,0331	7,19

Die Neutralisation der Bouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt. Die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Schwache Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Mittelstarke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Mittelstarke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, etwas Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, etwas Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Versuchsreihen 23, 24, welche gleichzeitig angestellt wurden, wurden 3 Wochen später als Versuchsreihen 21, 22, welche ebenfalls gleichzeitig angestellt wurden, durchgeführt.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 21	22	23	24
1. Tag	+ 2,04	+ 2,40	+ 2,09	+ 1,79
2. »	- 3,30	- 1,86	- 3,37	- 3,69
3. »	4,50	4,90	5,03	5,12
4. »	5,66	5,50	5,74	6,16
5. »	6,86	6,69	7,24	7,19

Mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 2,08
2. »	- 3,06
3. »	4,89
4. »	5,77
5. »	6,99

Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 21	22	23	24
1. Tag	- 0,04	+ 0,32	+ 0,01	- 0,29
2. »	+ 0,24	- 1,20	+ 0,31	+ 0,63
3. »	- 0,39	+ 0,01	+ 0,14	+ 0,23
4. »	- 0,11	- 0,27	- 0,03	+ 0,39
5. »	- 0,13	- 0,30	+ 0,25	+ 0,20

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 2. Tages, nicht größer als $\pm 0,39\%$. Wird die Zahl 1,86, welche vollkommen aus dem Rahmen der anderen 3 erhaltenen Werte herausfällt, ausgemerzt, so wird die folgende mittlere Tabelle erhalten.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 2,08
2. »	- 3,45
3. »	4,89
4. »	5,77
5. »	6,99

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 21	22	23	24
1. Tag	- 0,04	+ 0,32	+ 0,01	- 0,29
2. »	- 0,15	- 1,59	- 0,08	+ 0,24
3. »	- 0,39	+ 0,01	+ 0,14	+ 0,23
4. »	- 0,11	- 0,27	- 0,03	+ 0,39
5. »	- 0,13	- 0,30	+ 0,25	+ 0,20

Abgesehen von der eingerahmten Zahl von - 1,59%, welche ja dem ausgemerzten Wert zukommt, sind die Abweichungen von den korrigierten mittleren Werten recht klein; sie schwanken zwischen + 0,39% und - 0,39%.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	+ 2,08
2. »	5,53
3. »	1,44
4. »	0,88
5. »	1,22

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des sind vergoren HCOOH

Tabelle Nr. 21	22	23	24	
1. Tages	+ 2,04	+ 2,40	+ 2,09	+ 1,79
2. »	5,34	4,26	5,46	5,48
3. »	1,20	3,04	1,66	1,43
4. »	1,16	0,60	0,71	1,04
5. »	1,20	1,19	1,50	1,03

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

Tabelle Nr. 21	22	23	24	
1. Tag	+ 94	+ 111	+ 96	+ 82
2. »	- 152	- 85	- 155	- 170
3. »	207	226	231	236
4. »	260	253	264	283
5. »	315	308	333	331

Mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 96
2. »	- 141
3. »	225
4. »	265
5. »	322

Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 21	22	23	24
1. Tag	- 2	+ 15	+ 0	- 14
2. „	+ 11	- 56	+ 14	+ 29
3. „	- 18	+ 1	+ 6	+ 11
4. „	- 5	- 12	- 1	+ 18
5. „	- 7	- 14	+ 11	+ 9

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 2. Tages, nicht größer als + 0,0018 g. Wird die Zahl 56, welche auch bei den relativen Werten nicht berücksichtigt wurde, angemerzt, so ergibt sich folgende korrigierte mittlere Tabelle.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 96
2. „	- 159
3. „	225
4. „	265
5. „	322

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 21	22	23	24
1. Tag	- 2	+ 15	+ 0	- 14
2. „	- 7	- 74	- 4	+ 11
3. „	- 18	+ 1	+ 6	+ 11
4. „	- 5	- 12	- 1	+ 18
5. „	- 7	- 14	+ 11	+ 9

Abgesehen von der eingerahmten Zahl von - 0,0074 g, welche dem ausgemerzten Wert zukommt, sind die Abweichungen von den korrigierten mittleren Werten sehr klein, sie liegen meist innerhalb der Versuchsfehler; die Differenzen schwanken zwischen den Werten + 0,0018 g und - 0,0018 g.

Menge der während der einzelnen Tage vorgorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vorgoren HCOOH
1. Tages	+ 96
2. „	- 255
3. „	66
4. „	40
5. „	57

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des Tabelle Nr. 21	sind vergoren HCOOH			
	22	23	24	
1. Tages	+ 94	+ 111	+ 96	+ 82
2. „	246	196	251	252
3. „	55	141	76	66
4. „	53	27	33	47
5. „	55	55	69	48

Aus diesen Versuchsreihen geht wieder hervor, daß man auch mit Hilfe von Nährbouillon und einem Wattepfropfen als Verschuß gleichmäßige Resultate erzielen kann. Die beiden Gruppen von Versuchsreihen wurden mit einem Zeitunterschied von 3 Wochen angesetzt, es kam also für jede Gruppe eine Bouillon von verschiedener Darstellung in Betracht; diese Bouillonsorten müssen jedenfalls identisch gewesen sein, denn sonst hätte keine Übereinstimmung in den Resultaten erlangt werden können. Daß im allgemeinen Gleichmäßigkeit in der Vergärung vorhanden war, geht auch daraus hervor, daß die makroskopischen Erscheinungen der beiden Gruppen von Versuchsreihen gut übereinstimmen. Betrachtet man die erhaltenen Zahlen etwas genauer, so findet man, daß am 2. Tage die Zahl 1,86 vollkommen aus der Reihe herausfällt.

Wir haben die Reihe

$$3,30 - 1,86 - 3,37 - 3,69.$$

Da nun die anderen 3 Zahlen eine gute Übereinstimmung zeigen, muß bei diesem Kolben eine Abweichung vorgelegen haben, welche die Unregelmäßigkeit verursacht; diese Abweichung kann nur durch eine Verschiedenartigkeit des Luftzutrittes bedingt sein, denn es wurde eine gleichmäßige Bouillon benutzt und auch war der physiologische Zustand derselbe geblieben; wäre der veränderte physiologische Zustand der Bakterien die Ursache der Abweichung, so hätte die Verschiedenheit der Zahlen an jedem Tage auftreten müssen.

Nach 5 Tagen sind $0,0322 \text{ g} = 6,99\%$ Ameisensäure vergoren. Die größte Gärungsintensität liegt innerhalb des 2. Tages; an diesem Tage werden $0,0255 \text{ g} = 5,53\%$ Ameisensäure vergoren: die Gärungsintensität fällt dann allmählich ab,

hat aber nach 5 Tagen noch nicht ihr Ende erreicht. Merkwürdig ist, daß zunächst Ameisensäure gebildet wird und daß dann erst die Zerstörung der Ameisensäure einsetzt. Innerhalb des 1. Tages werden 0,0096 g = 2,08 % Ameisensäure gebildet.

2. 21°.

Tabelle Nr. 25.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,7432	0,4635	100,70	+ 0,0033	+ 0,70
2	3	4,6088	0,4504	97,87	0,0098	- 2,13
3	5	4,4082	0,4308	93,61	0,0294	6,39
4	7	4,3122	0,4214	91,57	0,0388	8,43
5	9	4,2888	0,4191	91,08	0,0411	8,92

Tabelle Nr. 26.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vorhandene HCOOH g	Noch vorhandene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	2	4,7542	0,4646	100,96	+ 0,0044	+ 0,96
2	4	4,5886	0,4484	97,44	0,0118	- 2,56
3	6	4,4266	0,4326	94,00	0,0276	6,00
4	8	4,3630	0,4264	92,65	0,0338	7,35

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Ziemlich starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, Kolben 9 ist weniger stark gefärbt als 7 und 8; auf Kolben 7 einige farblose Hautschollen, auf den andern beiden Kolben keine Haut, kein Farbstoff, sehr wenig Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Starke Trübung, auf allen Kolben etwas farblose nicht zusammenhängende Haut, die Hautschollen auf Kolben 7 haben sich etwas vergrößert, kein Farbstoff, etwas Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Starke Trübung, etwas Haut, kein Farbstoff, etwas Bodensatz.

Tabelle Nr. 27.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	1	4,7382	0,4631	100,62	+ 0,0029	+ 0,62
2	3	4,5602	0,4456	96,84	0,0146	3,16
3	5	4,4192	0,4321	93,84	0,0281	6,16
4	7	4,3712	0,4272	92,82	0,0330	7,17
5	9	4,3104	0,4212	91,53	0,0390	8,47

Tabelle Nr. 28.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 21°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	Noch vor- handene HCOOH g	Noch vor- handene HCOOH %	Vergoren HCOOH g	Vergoren HCOOH %
1	2	4,6784	0,4572	99,35	0,0030	0,65
2	4	4,5778	0,4474	97,21	0,0128	2,79
3	6	4,3940	0,4294	93,31	0,0308	6,69
4	8	4,3828	0,4283	93,09	0,0319	6,91
5	—	—	—	—	—	—

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt; die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Mittelstarke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Trübung etwas stärker als am Tage vorher, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Wie am Tage vorher; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Wie am Tage vorher.

Versuchsreihen 27, 28, welche gleichzeitig angestellt wurden, wurden 3 Wochen später als Versuchsreihen 25, 26, welche ebenfalls gleichzeitig angestellt wurden, durchgeführt.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tag	+0,70	+0,96	+0,62	+0,65
2. „	-2,13	-2,56	-3,16	-2,76
3. „	6,39	6,00	6,16	6,69
4. „	8,43	7,35	7,18	6,91
5. „	8,92	—	8,47	—

Mittlere Tabelle.

1. Tag	+0,73
2. „	-2,65
3. „	6,31
4. „	7,47
5. „	8,70

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tag	-0,03	+0,23	-0,11	-0,08
2. „	-0,52	-0,09	+0,51	+0,11
3. „	+0,08	-0,31	-0,15	+0,38
4. „	+0,96	-0,12	-0,29	-0,56
5. „	+0,22	—	-0,32	—

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 2. und 4. Tages, nicht größer als +0,38% und -0,23%. Werden die Zahlen des 2. Tages 2,13 und 3,16 und des 4. Tages 8,43 und 6,91 nicht berücksichtigt, so wird folgende mittlere Tabelle erhalten.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 0,73
2. »	- 2,66
3.	6,31
4.	7,27
5.	8,70

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tag	- 0,03	+ 0,23	- 0,11	- 0,08
2. »	- 0,53	- 0,10	+ 0,50	+ 0,10
3. »	+ 0,08	- 0,31	- 0,15	+ 0,38
4.	+ 1,16	+ 0,08	- 0,09	- 0,35
5.	+ 0,22	-	- 0,23	-

Abgesehen von den eingerahmten Zahlen, welche den nicht berücksichtigten Werten zukommen, sind die Abweichungen der gefundenen Werte von den korrigierten mittleren Werten recht klein, sie schwanken zwischen + 0,38% und - 0,23%.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	+ 0,73
2. »	- 3,39
3. »	3,65
4. »	0,96
5. »	1,43

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tages	+ 0,70	+ 0,96	0,62	+ 0,65
2. »	2,83	3,52	3,78	3,41
3. »	4,26	3,44	3,00	3,93
4. »	2,04	1,35	1,02	0,32
5. »	0,49	--	1,29	--

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

Tabelle Nr. 25	26	27	28	
1. Tag	+ 33	+ 44	+ 29	+ 30
2. »	- 98	- 118	- 146	- 128
3. »	294	276	281	308
4. »	388	338	330	319
5. »	411	-	390	-

Mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 37
2. „	- 123
3. „	290
4. „	344
5. „	402

Abweichung der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tag	- 4	+ 7	- 8	- 7
2. „	- 25	- 5	+ 23	+ 5
3. „	- 4	- 14	- 9	+ 18
4. „	+ 44	- 6	- 14	- 25
5. „	+ 9	-	- 12	-

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 2. und 4. Tages, nicht größer als + 0,0018 und - 0,0014 g. Werden die Zahlen 98 und 146 des 2. Tages und 388 und 319 des 4. Tages, welche auch bei den relativen Werten nicht berücksichtigt wurden, ausgemerzt, so ergibt sich folgende korrigierte mittlere Tabelle.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	+ 37
2. „	- 123
3. „	290
4. „	334
5. „	402

Abweichung der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 25	26	27	28
1. Tag	- 4	+ 7	- 8	- 7
2. „	- 25	- 5	+ 23	+ 5
3. „	+ 4	- 14	- 9	+ 18
4. „	+ 54	+ 4	- 4	- 15
5. „	+ 9	-	- 12	-

Abgesehen von den eingerahmten Zahlen von - 0,0025 g, - 0,0023 g, + 0,0054 g, welche den nicht berücksichtigten Werten zukommen, sind die Abweichungen von den korrigierten mittleren Werten sehr klein, sie liegen zwischen + 0,0018 g und - 0,0015 g.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	+ 37
2. „	— 160
3. „	167
4. „	44
5. „	68

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	Tabelle Nr. 25	sind vergoren HCOOH		
		26	27	28
1. Tages	+ 33	+ 44	+ 29	+ 30
2. „	131	162	175	158
3. „	196	158	135	180
4. „	94	62	49	11
5. „	23	—	60	—

Auch hier findet man wieder, ebenso wie bei 17° , daß Bouillonsorten verschiedener Darstellung gut übereinstimmende Resultate geben können, daß sie also den Bakterien identische Lebensbedingungen bieten können, denn die beiden Gruppen von Versuchsreihen wurden mit einem Zeitunterschied von 3 Wochen angesetzt. — Während bei 17° nur eine Zahl aus den übrigen herausfiel, haben wir hier 4 Zahlen, welche nicht in die Reihen hereinpasse. Diese Abweichungen lassen sich nur auf eine Verschiedenartigkeit der Luftzuführung zurückführen. Diese größere Unregelmäßigkeit wird man auch bei der Durchsicht der makroskopischen Erscheinungen finden.

Nach 5 Tagen sind $0,0402 \text{ g} = 8,70\%$ Ameisensäure vergoren. Die größte Gärungsintensität liegt innerhalb des 3. Tages; an diesem Tage werden $0,0167 \text{ g} = 3,65\%$ Ameisensäure vergoren; die Gärungsintensität innerhalb dieses Tages ist aber nicht viel größer als innerhalb des 2. Tages; innerhalb dieses Tages werden $0,0160 \text{ g} = 3,39\%$ Ameisensäure vergoren.

Da die Unterschiede so gering sind, kann man wohl sagen, daß die Gärungsintensitäten an diesen Tagen dieselben sind. Nach dem 2. und 3. Tage fällt die Gärungsintensität allmählich ab, hat aber nach 5 Tagen noch nicht ihr Ende erreicht.

Merkwürdig ist auch hier wieder, ebenso wie bei 17°, daß zunächst Bildung von Ameisensäure eintritt, bevor die Zerstörung eintritt.

Innerhalb des 1. Tages werden 0,0037 g = 0,73% Ameisensäure gebildet.

3. 27°.

Tabelle Nr. 29.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K. G. A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	noch vor-	noch vor-	vergoren	vergoren
			handene HCOOH g	handene HCOOH %	HCOOH g	HCOOH %
1	1	4,6182	0,4513	98,07	0,0089	1,93
2	3	4,3678	0,4268	92,75	0,0334	7,25
3	5	4,1746	0,4080	88,65	0,0522	11,35
4	—	—	—	—	—	—
5	9	3,8746	0,3787	82,28	0,0815	17,72

Tabelle Nr. 30.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K. G. A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	noch vor-	noch vor-	vergoren	vergoren
			handene HCOOH g	handene HCOOH %	HCOOH g	HCOOH %
1	2	4,6356	0,4530	98,44	0,0072	1,56
2	4	4,3532	0,4254	92,44	0,0348	7,56
3	6	4,1682	0,4074	88,51	0,0528	11,49
4	8	3,9952	0,3904	84,84	0,0698	15,16
5	10	3,8962	0,3808	82,74	0,0794	17,26

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt: die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, keine Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Sehr starke Trübung, schwache zusammenhängende Haut: die ganze Flüssigkeit rötlich gefärbt, Kolben 7 ebenfalls, aber bedeutend weniger intensiv, in Kolben 10 ist die Flüssigkeit grünlich gefärbt, die Haut auf diesem Kolben scheint ebenfalls grünlich zu sein; die Flüssigkeit in Kolben 8 ist ebenfalls grünlich, aber nicht so intensiv wie in Kolben 10; kein Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Sehr starke Trübung, glatte zusammenhängende Haut, Kolben 10 ist am stärksten getrübt, in Kolben 9 ist die Flüssigkeit rötlich gefärbt, aber nicht mehr so intensiv wie am Tage vorher, die Haut auf diesem Kolben ist grünlich; in Kolben 7 ist die rötliche Farbe der Flüssigkeit auch verblaßt und ist fast grünlich geworden; die Flüssigkeit in Kolben 10 ist grünlich gefärbt, in Kolben 8 ebenfalls, aber nicht so intensiv wie in Kolben 10; kein Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: In Kolben 9 ist die Flüssigkeit rötlich gefärbt, starke grünliche Haut, nicht so stark getrübt wie Kolben 10, wenig Bodensatz; Kolben 10 sehr starke Trübung, keine Haut, Flüssigkeit grünlich gefärbt, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Tabelle Nr. 31.

0.4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: *Bac. prodigiosus* K. G. A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	noch vor-	noch vor-	vergoren	vergoren
			handene HCOOH g	handene HCOOH %	HCOOH g	HCOOH %
1	1	4,6084	0,4504	97,86	0,0098	2,14
2	3	4,3708	0,4271	92,82	0,0331	7,18
3	5	4,1356	0,4042	87,82	0,0560	12,18
4	7	3,9922	0,3901	84,78	0,0701	15,22
5	9	3,8950	0,3807	82,71	0,0795	17,29

Tabelle Nr. 32.

0,4602 g Ameisensäure als Natriumformiat bei 27°.

Bakterium: Bac. prodigiosus K. G. A.

Zeit in Tagen	Kolben Nr.	Kalomel g	noch vor-	noch vor-	vergoren	vergoren
			handene HCOOH g	handene HCOOH %	HCOOH g	HCOOH %
1	2	4,6344	0,4529	98,42	0,0073	1,58
2	4	4,3634	0,4264	92,66	0,0338	7,34
3	6	3,9934	0,3903	84,80	0,0699	15,20
4	8	3,9850	0,3894	84,62	0,0708	15,38
5	10	3,8812	0,3793	82,42	0,0809	17,58

Die Neutralisation der Nährbouillon wurde mit Hilfe von Phenolphthalein als Indikator durchgeführt: die Kolben wurden nach Methode 2 geimpft.

Makroskopische Erscheinungen.

Nach 1 Tag: Starke Trübung, farblose, nicht zusammenhängende Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 2 Tagen: Starke Trübung, farblose, nicht zusammenhängende Haut, kein Farbstoff, kein Bodensatz; Kolben sehen gleichmäßig aus.

Nach 3 Tagen: Starke Trübung, Haut zum Teil zu Boden gesunken; in Kolben 7 und 10 ist die Haut teilweise rot gefärbt; die Flüssigkeit ist in diesen beiden Kolben rötlich gefärbt; in Kolben 8 und 9 kein Farbstoff, etwas Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 4 Tagen: Sehr starke Trübung; auf Kolben 9 keine Haut, kein Farbstoff, etwas Bodensatz; auf Kolben 10 etwas nicht zusammenhängende ziegelrote Haut, die Flüssigkeit ist rot gefärbt, ziemlich viel Bodensatz; Kolben sehen ungleichmäßig aus.

Nach 5 Tagen: Wie am Tage vorher.

Versuchsreihen 31, 32, welche gleichzeitig angestellt wurden, wurden 3 Wochen später als Versuchsreihen 29, 30, welche ebenfalls gleichzeitig angestellt wurden, durchgeführt.

Vergleich der gefundenen relativen Werte.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	1,93	1,56	2,14	1,58
2. "	7,25	7,56	7,18	7,34
3. "	11,35	11,49	12,18	15,20
4. "	—	15,16	15,22	15,38
5.	17,72	17,26	17,29	17,58

Mittlere Tabelle.

1. Tag	1,80
2. „	7,33
3. „	12,56
4. „	15,25
5. „	17,46

Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	+ 0,13	- 0,24	+ 0,34	- 0,22
2. „	- 0,08	+ 0,23	- 0,15	+ 0,01
3. „	- 1,21	- 1,07	- 0,38	+ 2,64
4. „	-	- 0,09	- 0,03	+ 0,13
5. „	+ 0,26	- 0,20	- 0,17	+ 0,12

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 3. Tages, nicht größer als + 0,34% und - 0,24. Wird die Zahl 15,20 des 3. Tages, welche vollkommen aus den Rahmen der anderen 3 erhaltenen Werte herausfällt, ausgemerzt, so wird folgende mittlere Tabelle erhalten.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	1,80
2. „	7,33
3. „	11,67
4. „	15,25
5. „	17,46

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	+ 0,13	- 0,24	+ 0,34	- 0,11
2. „	- 0,08	+ 0,23	- 0,15	+ 0,01
3. „	- 0,32	- 0,18	+ 0,51	+ 3,53
4. „	-	- 0,09	- 0,03	+ 0,13
5. „	+ 0,26	- 0,20	- 0,17	+ 0,12

Abgesehen von der eingerahmten Zahl + 3,53, welche dem ausgemerzten Wert zukommt, sind die Abweichungen von den korrigierten mittleren Werten recht klein; sie schwanken zwischen + 0,51% und - 0,32%.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

(Berechnet aus der korrigierten mittleren Tabelle.)

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	1,80
2. „	5,53
3. „	4,34
4. „	4,58
5. „	2,21

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH			
	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tages	1,93	1,56	2,14	1,58
2. "	5,32	6,00	5,04	4,76
3. "	4,10	3,93	5,00	7,86
4. "	—	3,67	3,04	0,18
5. "	—	2,10	2,07	2,20

Vergleich der gefundenen absoluten Werte.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	89	72	98	73
2. "	334	348	331	338
3. "	522	528	560	699
4. "	—	698	701	708
5. "	815	794	795	809

Mittlere Tabelle.

1. Tag	83
2. "	338
3. "	577
4. "	702
5. "	803

Abweichungen der gefundenen von den mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	+ 6	- 11	+ 15	- 10
2. "	- 4	+ 10	- 7	+ 0
3. "	- 55	- 49	- 17	+ 122
4. "	—	- 4	- 1	+ 6
5. "	+ 12	- 9	- 8	+ 6

Die Abweichungen der einzelnen gefundenen Zahlen von den mittleren Werten sind, abgesehen von den Zahlen des 3. Tages, nicht größer als + 0,0015 g und - 0,0011 g. Wird die Zahl des 3. Tages 699, welche auch bei den relativen Werten nicht berücksichtigt wurde, ausgemerzt, so ergibt sich folgende korrigierte mittlere Tabelle.

Korrigierte mittlere Tabelle.

1. Tag	83
2. "	338
3. "	537
4. "	702
5. "	803

Abweichungen der gefundenen von den korrigierten
mittleren Werten.

	Tabelle Nr. 29	30	31	32
1. Tag	+ 6	- 11	+ 15	- 10
2.	- 4	+ 10	- 7	+ 0
3.	- 15	- 9	+ 23	+ 162
4.	-	- 4	- 1	+ 6
5.	+ 12	- 9	- 8	+ 6

Abgesehen von der eingerahmten Zahl von 0,0162 g. welche dem ausgemerzten Wert zukommt, sind die Abweichungen von den korrigierten mittleren Werten sehr klein, sie liegen meist innerhalb der Versuchsfehler: die Differenzen schwanken zwischen den Werten + 0,0023 g und - 0,0015 g.

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen
Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH
1. Tages	83
2. "	255
3. "	199
4. "	165
5.	101

Menge der während der einzelnen Tage vergorenen
Ameisensäure.

Innerhalb des	sind vergoren HCOOH			
Tabelle Nr. 29	30	31	32	
1. Tages	89	72	98	73
2. "	245	276	233	265
3. "	188	180	229	361
4. "	-	170	141	9
5.	-	96	94	101

Auch über diese Versuchsreihen läßt sich wieder dasselbe sagen, was schon bei den Versuchsreihen 17^o und 21^o gesagt worden ist, daß nämlich Bouillonsorten verschiedener Darstellung identisch sein können. Auch das Herausfallen der Zahlen des 5. Tages 12,18 und 15,20 läßt sich nur auf eine Ungleichmäßigkeit der Luftzuführung zurückführen. Betrachtet man die makroskopischen Erscheinungen, so wird man finden, daß sich hier gewisse Unregelmäßigkeiten zeigen; diese Unregelmäßigkeiten lassen sich aber kaum mit den kleinen Unregelmäßigkeiten der Zahlenreihen in Beziehung bringen.

Nach 5 Tagen sind $0,0803 = 17,46\%$ der vorhandenen Ameisensäure vergoren. Die größte Gärungsintensität liegt innerhalb des 2. Tages; innerhalb dieses Tages werden $0,0255 \text{ g} = 5,53\%$ Ameisensäure vergoren. Nach diesem Tage fällt die Gärungsintensität allmählich ab, hat aber nach dem 5. Tage noch nicht ihr Ende erreicht.

Vergleich der bei den verschiedenen Temperaturen erhaltenen Zahlen.

Zunächst fällt auf, daß, je niedriger die Temperatur ist, desto mehr Ameisensäure am 1. Tage gebildet wird. Bei 17° wird am 1. Tage $0,0096 \text{ g}$, bei 21° $0,0037 \text{ g}$ Ameisensäure gebildet, während bei 27° an diesem Tage keine Ameisensäure gebildet, sondern $0,0083 \text{ g}$ zerstört wird. Das Maximum der Gärungsintensität liegt bei 17° innerhalb des 2. Tages, bei 21° innerhalb des 2. und 3. Tages und bei 27° innerhalb des 2. Tages.

Nach 5 Tagen sind vergoren

bei 17° $0,0322 \text{ g} = 6,99\%$ Ameisensäure

21° $0,0402 \text{ g} = 8,70 \text{ »}$

» 27° $0,0803 \text{ g} = 17,46 \text{ »}$

Bei 21° wird mehr Ameisensäure vergoren, als bei 17° , und bei 27° mehr als bei 21° . Die Differenz zwischen 17° und 21° beträgt $0,0080 \text{ g} = 1,71\%$, zwischen 21° und 27° $0,0401 \text{ g} = 8,76\%$. Der Sprung von 17° auf 21° (Unterschied 4°) ist bedeutend kleiner als der zwischen 21° und 27° (Unterschied 6°).

Vergleich von *Bac. prodigiosus* Kräl mit *Bac. prodigiosus* K.G.A.

Nach 5 Tagen sind vergoren

Kräl		K.G.A.
	17°.	
$0,1691 \text{ g} = 36,75\%$		$0,0322 \text{ g} = 6,99\%$
	21°.	
$0,2499 \text{ g} = 53,21 \text{ »}$		$0,0402 \text{ g} = 8,70 \text{ »}$
	27°.	
$0,1531 \text{ g} = 33,26 \text{ »}$		$0,0803 \text{ g} = 17,46 \text{ »}$

Während bei *Bac. prodigiosus* K.G.A. die Menge der vergorenen Ameisensäure mit der Temperatur steigt, steigt bei

Bac. prodigiosus Kräl zunächst mit der Temperatur auch die Menge der vergorenen Ameisensäure, um dann aber wieder abzufallen. Im allgemeinen wird von *Bac. prodigiosus* Kräl viel mehr Ameisensäure vergoren als von *Bac. prodigiosus* K.G.A. Diese gewaltigen Unterschiede in der Menge der vergorenen Ameisensäure machen sich auch in den makroskopischen Erscheinungen bemerkbar.

Der tiefgreifendste Unterschied zwischen *Prodigiosus* Kräl und *Prodigiosus* K.G.A. besteht darin, daß letzterer zunächst recht beträchtliche Mengen Ameisensäure bildet und erst dann mit ihrer Zerstörung beginnt. Schon Scheurlen¹⁾ hat bei dem von ihm untersuchten *Prodigiosus* die Bildung von Ameisensäure nachweisen können. Ca. 50 *Prodigiosus* kartoffelkulturen wurden in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelsäure angesäuert, filtriert und destilliert. Das deutlich saure Destillat wurde durch seine Fähigkeit, Silbernitrat zu reduzieren, als Ameisensäure erkannt. Übrigens liegen eine ganze Reihe von Beobachtungen über die Bildung von Ameisensäure durch Bakterien vor. Ich habe die vorliegenden Beobachtungen aus O. Emmerling »Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien«, Braunschweig 1902, zusammengestellt.

E. Kayser²⁾: Verschiedene Milchsäurebakterien (*B. Bischleri*, *B. aërogenes*, *B. Freudenreichii*, ein *Bacillus* aus Roggeninfus, zwei aus Brennereimaische, einer aus Sauerkraut, zwei aus belgischem Bier, einer, welcher die Euterentzündung der Kuh hervorruft) bilden Kohlendioxyd, Essigsäure, Ameisensäure, Aceton und Alkohol. A. Harden³⁾: Bakterium *Coli* liefert bei der Vergärung verschiedener Kohlenhydrate neben Milchsäure Gasarten, Alkohol, Bernsteinsäure, Essigsäure, Ameisensäure.

Brieger⁴⁾ — Frankland, Stanley und Frew⁵⁾ — Grimert⁶⁾ Pneumoniekokken bilden in Traubenzuckerlösungen

¹⁾ Arch. Hyg., Bd. XXVI (1896), S. 28.

²⁾ Ann. Pasteur, Bd. VIII (1894), S. 779.

³⁾ Journ. Chem. Soc., Mai 1901.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. VIII, S. 310.

⁵⁾ Journ. Chem. Soc., Bd. LIX, S. 253.

⁶⁾ Ann. Pasteur. Bd. IX, S. 840.

Kohlensäure, Essigsäure, Ameisensäure, Alkohol und Bernsteinsäure, Milchsäure.

Brieger¹⁾: Bakterium coli liefert in Milchzuckerlösungen bei Zusatz von Pepton Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure.

Dzierzowski²⁾: Diptheriebazillen erzeugen aus Glukose Milchsäure, Ameisensäure und Bernsteinsäure.

Kerry und Fränkel³⁾: Bacillus oedematis maligni bildet aus Stärke Alkohol, Ameisensäure und Milchsäure.

Wood und Wilcox⁴⁾: Bakterium furfuris bildet aus den Kohlenhydraten der Kleie Milchsäure, Ameisensäure, Essigsäure und Buttersäure.

O. Neumann⁵⁾ — Henneberg⁶⁾: Saccharobacillus pastorianus Varietät berolinensis gibt in Maische und Würze Alkohol, Essigsäure, Ameisensäure und Kohlensäure.

Rensch⁷⁾: Glycerin wird durch ein Bakterium von halbmondförmiger Gestalt zu Äthylenglykol und Ameisensäure vergoren.

Fitz⁸⁾: Glycerinsaurer Kalk wird durch einen Micrococcus aus Kuhdünger zu Alkohol, Essigsäure und Ameisensäure vergoren.

Frankland und Frew⁹⁾: Mannit wird durch den Bacillus ethacetosuccinicus zu Alkohol, Ameisensäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Kohlensäure und Wasserstoff vergoren. Bacillus ethaceticus liefert aus Mannit Kohlensäure, Wasserstoff, Ameisensäure und Essigsäure. Mannit liefert mit Kuhexkrementen infiziert in gewissen Fällen Äthylalkohol, Essigsäure, Ameisensäure und etwas Bernsteinsäure.

Patrouillard¹⁰⁾: Essigsäure Magnesia zersetzt sich an

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 352.

²⁾ Chem. Zentralblatt 1892 II, S. 928.

³⁾ Monatshefte f. Chemie, Bd. XII, S. 380.

⁴⁾ Journ. Chem. Ind., Bd. XII, S. 422; Bd. XVI, S. 512.

⁵⁾ Wochenschrift f. Brauereien, Bd. XVII, S. 608.

⁶⁾ Wochenschrift f. Brauereien 1901, Nr. 30.

⁷⁾ Pharm. Ztg., Bd. XXXIX, S. 864.

⁸⁾ Ber. 1879, S. 474.

⁹⁾ Chem. News., Bd. LXV, S. 82.

¹⁰⁾ Comptes rend., Bd. LXXXIV, S. 553.

der Luft in Kohlensäure, Ameisensäure und vielleicht Methylalkohol.

König¹⁾: *Bacterium Termo* (?) zersetzt weinsauren Kalk in Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure und Kohlensäure.

Béchamp²⁾: Calciumoxalat wird durch ein unbekanntes Ferment in Ameisensäure verwandelt.

Frankland und Frew³⁾: *Bacillus ethaceticus* verwandelt glycerinsauren Kalk in Alkohol, Essigsäure und kleine Mengen Ameisensäure und Bernsteinsäure.

Frankland und Mc. Gregor⁴⁾: Arabinose wird durch den *Bacillus ethaceticus* zu Essigsäure, Kohlensäure, Wasserstoff und einer Spur Bernsteinsäure vergoren: bei Sauerstoffmangel tritt viel Ameisensäure auf.

Teixeira-Mendès⁵⁾: Gewisse Bakterien der Abflüßwässer von Zuckerfabriken vergären Rohrzucker zu Essigsäure, Ameisensäure, Alkohol und Bernsteinsäure.

Walther Brasch⁶⁾: Asparaginsäure gibt beim Abbau durch *Bac. putrificus* Ameisensäure; ebenso Serin beim Abbau durch Fäulnislösung und durch *Bac. putrificus*.

¹⁾ Ber. 1881, S. 211.

²⁾ Comptes rend., Bd. LXX, S. 999.

³⁾ Transact Royal Soc. 1891.

⁴⁾ Chem. News., Bd. LXVI, S. 33.

⁵⁾ Neue Zeitschrift Z., Bd. XIV, S. 218.

⁶⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XXII (1909), S. 403.