

Ueber die Gährung der Cellulose mit Bildung von Methan und Kohlensäure.

Von

F. Hoppe-Seyler.

II. Der Zerfall der Cellulose durch Gährung unter Bildung von Methan und Kohlensäure und die Erscheinungen, welche dieser Process veranlasst.

Werden Glaskolben nahezu vollständig mit Schlamm aus Flüssen oder Kloaken, Sümpfen u. s. w. und der erforderlichen Menge Wasser gefüllt, der Hals zur feinen Röhre ausgezogen, dieselbe passend abwärts und am Ende etwas aufwärts gebogen, sodass die freie Mündung unter Quecksilber gebracht das Auffangen der entwickelten Gase leicht und vollständig gestattet, so geht bei nicht zu niedriger Temperatur die Gasentwicklung meist auf lange Zeit vor sich, indem der Gehalt des Gases an CO_2 höher und höher steigt, der Stickstoff mehr und mehr abnimmt, bis entweder das vergahrende Material im Schlamm verbraucht ist, oder nahezu gleiche Volumina von CO_2 und CH_4 entwickelt werden. Ist diese Zusammensetzung erreicht, so ändert sich dieselbe nicht mehr, aber es bedarf oft lange andauernder Gährung bis dieser Zustand erreicht wird, weil die Flüssigkeit viel CO_2 absorbiert zururuhalt und die im Schlamm vorhandenen Carbonate von Calcium, Magnesium und etwaiges Eisenoxyd, letzteres von der Oberfläche des Schlammes, zur Bicarbonatbildung CO_2 verbrauchen.

Von Popoff ¹⁾ sind bereits Analysen solcher Schlammgase angestellt und die Resultate publicirt, doch ist das Fort-

¹⁾ Pflüger's Archiv, Bd. 10, S. 113, 1875.

schreiten der Veränderung von Anfang an nicht von ihm durch Versuche geprüft.

Aus dem Illflusse in Strassburg habe ich eine Portion Schlamm entnommen. In offener Schale unter Wasser stehend entwickelte derselbe beim Umrühren Gasmischungen, welche aus Methan und Stickstoff im Uebrigen bestanden und nur 0,6 bis über 2 Vol. Procent CO_2 enthielten.

Ein Theil dieses Schlammes, wie oben beschrieben in einen Kolben eingeschlossen und im Dunkeln erhalten, gab Gase von folgender Zusammensetzung in Volumenprocenten, die Zeit gerechnet von dem Tage des Einschmelzens und Abschliessens durch Quecksilber:

	I 4 Tage	II 7 Tage	III 14 Tage	IV 21 Tage	V 40 Tage	VI 79 Tage	VII 115 Tage	VIII 121 Ta.
CO_2	16,80	21,75	25,79	26,37	28,82	32,14	36,27	37,69
CH_4	79,38	77,34	74,21	73,63	71,18	67,86	63,73	62,31
N_2	3,85	0,91	—	—	—	—	—	—

Als an Stelle von destillirtem Wasser Nordseewasser von der holländischen Küste verwendet wurde, indem eine Portion des gleichen Flussschlammes zunächst abfiltrirt und einige Male mit dem Seewasser gewaschen, dann mit einer neuen Portion des Seewassers in einen Kolben eingeschmolzen und das Gasableitungsrohr unter Quecksilber gebracht war, ging die Gasentwicklung vielleicht etwas langsamer vor sich, immerhin war dieselbe doch gleichfalls eine lebhaftere. Zwei Portionen des entwickelten Gases, die eine bald nach Anfang der Gasentwicklung, die andere einen Monat später, wurden analysirt und zeigten folgende Zusammensetzung in Volumenprocenten:

	I	II
CO_2	22,10	23,953
CH_4	32,18	63,635
N_2	45,72	12,412

Die Anwesenheit der Seesalze in dem Procentverhältniss des Nordseewassers hindert sonach die Methangährung nicht oder wenigstens nicht erheblich, selbst in dem aus süßem Wasser entnommenen Schlamm.

In einem, im Uebrigen gleichen, Versuche mit einer Portion von demselben Flussschlamm zu gleicher Zeit begonnen, in welchem an Stelle des Seewassers Wasser aus dem toden Meere in Palästina verwendet war, trat überhaupt keine Gasentwicklung ein. Das im Schlamm vorhandene Schwefel-eisen oxydirte sich mit dem im Luftraume über der Flüssigkeit im Kolben vorhandenen Sauerstoff, bildete an der Oberfläche des Schlammes eine dicke braunrothe Schicht, das Quecksilber trat eine Strecke weit im Gasableitungsrohr zurück und diese Quecksilbersäule schwankte dann mit den geringsten Temperatur- und Luftdruckänderungen, ohne im Laufe eines halben Jahres auch nur im Geringsten an Höhe abzunehmen.

Die Vermuthung, dass vegetabilische Reste bei der Gährung im Schlamm Methan und Kohlensäure lieferten, ist eine alte. Solche Reste finden sich stets im Schlamm, haben aber recht verschiedene und complicirte Zusammensetzung. Ausser den Cuticular- oder Korbsubstanzen finden sich in den Resten der Holztheilchen Holzgummi, Lignin und Cellulose. Alle diese Holzbestandtheile zeigen grosse Beständigkeit. In einer 7 cm. dicken, dunkelbraunen, an Humussäure reichen Eichenbohle, welche unter einer alten Befestigungsmauer von Strassburg kürzlich gefunden und von mir untersucht wurde, fand sich noch 7,05 Procent reines Holzgummi. Dies Holz hat im Grundwasser mehrere hundert Jahre gelegen. Weisses, mit dem Finger zerreibliches, faules Holz von Conifern, Buchen, Eichen und Apfelbäumen giebt mit Anilinsulfat, Phloroglucin oder Resorcin und Salzsäure noch schöne Ligninreaction, ebenso das Holz der erwähnten Eichenbohle. Cellulose habe ich noch in Lignit aus Braunkohle durch ihre Umwandlung in rechtsdrehende Maltose und gährungsfähigen Zucker durch Behandlung mit Schwefelsäure und nachheriges Kochen mit Wasser nachweisen können. Die Bestandtheile des Holzes sind sonach sehr widerstandsfähig.

Dass die Cellulose durch Gährung aufgelöst werden kann, ist zuerst von Mitscherlich¹⁾ beobachtet und beschrieben.

1) Monatsberichte der k. Academie d. Wiss. zu Berlin 1850, S. 104.

Er hat die Lösung der Cellulosemembranen in Kartoffeln und das constante Auftreten von zahlreichen Vibrionen dabei geschildert. Er spricht es auch aus, dass wahrscheinlich durch diese Vibrionen diese fermentative Lösung erfolge. In welche Stoffe jedoch die Cellulose umgewandelt werde, hat er nicht angegeben.

Von L. Popoff²⁾ sind dann viel später in meinem Laboratorium Versuche angestellt, welche zum Theil an die Beobachtungen von Mitscherlich sich unmittelbar anschliessen. Durch sie wurde der Zusammenhang zwischen der fermentativen Zerlegung der Cellulose und der Entwicklung von Methan und Kohlensäure wahrscheinlich gemacht, aber die wenig zahlreichen Versuche stimmten untereinander nicht genügend überein, das Licht war nicht abgehalten, welches lebhaftere Vegetation grüner Algen im Schlamm bewirkt und hierdurch die Resultate ändert; die quantitativen Vergleichen der zersetzten Substanz und der gebildeten Stoffe wurde nicht versucht.

Einige Jahre später sind von van Tieghem²⁾ Mittheilungen gemacht, welche gleichfalls zunächst an Mitscherlich's Beobachtungen sich anschliessen und zuerst zu dem Resultate führten, dass die Lösung der Cellulose durch Organismen ausgeführt würden, deren Eigenschaften mit dem von van Tieghem Amylobacter benannten Spaltpilz übereinstimmten, dass es ferner derselbe Spaltpilz sei, welcher die sogenannte Buttersäuregährung in Lösungen milchsaurer Salze veranlasse, dass ausserdem dieselbe Pilzspecies auch zahlreiche andere Stoffe wie äpfelsauren, citronensauren Kalk, Glycerin, Lactose, Arabin, Lichenin, Mannit durch Gährung zerlege. Er glaubt, dass bei dieser fermentativen Zerlegung der Cellulose, die nach seiner Beobachtung mit Gasentwicklung erfolgt, neben Wasserstoff eine Säure gebildet werde, die allmählig den weiteren Fortschreiten der Gährung hinderlich sei.

1) Pflüger's Archiv, Bd. 10, S. 113. 1875.

2) Compt. rend. T. 88, S. 205 und T. 89, S. 5. 1879.

Vor einigen Jahren sind von Tappeiner³⁾ Versuche veröffentlicht, aus denen der Schluss abgeleitet wird, dass Cellulose unter Bildung von CO_2 , CH_4 , H_2 , Aldehyd, fetten Säuren etc. durch organisirte Fermente des Pansen, der Haube und des Dickdarms vom Rinde zerlegt werde. Leider ist aus diesen Versuchen ein klares Resultat nach keiner Richtung zu entnehmen. Sie bestätigen zwar, was man seit Mitscherlich wusste, dass Cellulose gelöst werden kann, geben aber über die Beziehungen der gelösten Cellulose zu den erhaltenen Gasen, Säuren u. dergl. gar keinen Aufschluss. Wenn man beabsichtigt, Spaltpilze zu züchten, ist es wohl zweckmässig, Zusätze wie Fleischextract der Flüssigkeit, in welchen die Entwicklung und Vermehrung stattfinden soll, zuzufügen, will man aber untersuchen, in welcher Beziehung die gewonnenen Producte zu der zersetzten Substanz stehn, so sind so zersetzliche und leichtgährende Stoffe wie die im Fleischextract vorhandenen durchaus zu vermeiden. Fleischextract gährt schon wegen seines Gehaltes an Milchsäure schnell und reichlich, wenn man ein wenig Schlamm oder Darminhalt von Menschen oder Pflanzenfressern hinzufügt. Eine kurze Notiz, dass ein Parallelversuch mit etwas Fleischextract keine Gasentwicklung etc. gegeben habe, genügt hier nicht. Mit Recht sagt van Tieghem, dass Stoffe wie Milchsäure, Zucker viel leichter zersetzt würden als Cellulose; sie schützen geradezu die Cellulose vor Zersetzung.

Durch die Vergleichung dreier gleichzeitig begonnenen und gleich lange durchgeführten Versuchen mit Flussschlamm in gleichen Quantitäten, sterilisirtem Papier und sterilisirten Gefässen und gut ausgekochtem destillirten Wasser ist es mir gelungen festzustellen, welche Art von Spaltpilzen nach Form, Grösse und Verhalten gegen Reagentien die Entwicklung von CO_2 und CH_4 aus Papier bewirkt.

Der zu diesen Versuchen, wie zu den später zu beschreibenden benützte Flussschlamm war gesiebt, geschlämmt und

³⁾ Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Jahrg. 1882, XV. 999, 1883 XVI., S. 1734 und 1740. — Zeitschrift für Biologie, Bd. 19, S. 228 und Bd. 20, S. 52.

im Dunkeln verschlossen in einer Flasche über ein Jahr aufbewahrt. Auf diese Art allein wird derselbe frei von Würmern und Infusorien erhalten ohne seine fermentative Wirkung einzubüssen, wenn sie auch allmählig abnimmt. Keine grünen Algen enthält er auch dann noch unzersetzt.

Die in angegebener Weise beschickten Flaschen, mit Kautschukstopfen und Gasableitungsrohr unter Quecksilber abgeschlossen, blieben im Laboratorium bei Zimmertemperatur stehn. Aus einer derselben wurde überhaupt Gas in wesentlicher Quantität gar nicht erhalten. Aus der zweiten entwickelte sich lange Zeit nur sehr wenig Gas. Nach $\frac{3}{4}$ Jahren wurde die Gasentwicklung reichlich und blieb so bis die Flasche geöffnet wurde. Im Laufe eines Monats wurden sieben Portionen Gas aufgefangen und analysirt. Aus der dritten Flasche entwickelte sich sehr bald Gas, die Entwicklung nahm schnell zu, wurde später allmählig schwächer und war nur noch gering, als der Versuch abgebrochen und die Flasche geöffnet wurde. Es waren im Laufe eines halben Jahres fünf Gasportionen aufgefangen und analysirt. Sie enthielten ebenso wie die der zweiten Flasche CO_2 , CH_4 und N_2 in entsprechenden Verhältnissen und zwar mehr von den ersten beiden Gasen als aus den organischen Stoffen des in kleinen Portionen zugesetzten Schlammes gebildet sein konnten. Am 2. August 1885 wurden alle drei Flaschen geöffnet, nachdem sie über $1\frac{1}{4}$ Jahr lang mit Quecksilber abgeschlossen gestanden hatten. Der Inhalt wurde mikroskopisch und chemisch untersucht.

Die Oberfläche der Flüssigkeit, auch an der Wandung, soweit die Flüssigkeit sie berührte, war in der ersten Flasche mit einer rostbraunen, brüchigen, an der Wandung mehr schleimigen Haut überzogen, in welcher nur wenige Stäbchen, aber zahlreiche kugelige Gebilde, von sehr reichlichen Ansammlungen von feinen Körnchen umschlossen, sich fanden. In der Flüssigkeit und an der Oberfläche fanden sich zahlreiche kleine, der Sarcine ähnliche Gebilde aus 2, 4, 8 und mehr regelmässig angeordneten, stark lichtbrechenden Körn-

chen zusammengesetzt. Diese Gebilde zeigen grosse Aehnlichkeit mit den Abbildungen, welche Zopf¹⁾ für *Bacterium merismopedioides* giebt. Auch die von Zopf für diese Spaltpilzformen gegebene Schilderung stimmt überein. Diese Kokken entsprechen nach ihm der *Merismopedia hyalina* Kützing. Im Niederschlage, der sich am Boden der ersten Flasche fand, war nur sehr wenig Schwefeleisen enthalten, wenige Bacterien, dagegen zahlreiche Aggregate von Kokken. Weder sogleich nach der Herausnahme aus der Flasche noch nach Verlauf einer Stunde zeigte sich in den untersuchten Proben auf den Objectträgern eine deutliche Bewegung der sehr spärlich vorhandenen Bacterien und Stäbchen.

In der zweiten Flasche fand sich an der Oberfläche nur eine sehr dünne rostfarbene Haut, an den Wandungen schwärzlicher Niederschlag, ebenso am Boden der Flasche. Die Flüssigkeit war leicht getrübt; in ihr fanden sich zahlreiche kurze, an den Enden gerundete, sehr schwach contourirte Stäbchen, nicht deutlich gegliedert, auch nicht nach Zusatz von Essigsäure, oft zwei aneinanderhängend, meist ohne Sporen. Colonien von Bacterien und Kokken waren zahlreich vorhanden. Unmittelbar nach dem Herausnehmen aus der Flasche waren die Stäbchen regungslos; bald trat aber ihre Bewegung ein, sie wurde dann lebhafter, aber ohne dass diese Bacterien Neigung zeigten weit weg zu wandern.

In der dritten Flasche fanden sich in der Haut an der Oberfläche und in der Flüssigkeit dieselben Stäbchen wie in der zweiten Flasche, aber zum Theil todt, in der Haut eingokittet, stark contourirt wie versteinert, zum andern Theil schwach contourirt und wenige Minuten nach der Herausnahme aus der Flasche sich lebhaft bewegend. Die Flüssigkeit war weniger trübe als die aus der zweiten Flasche entnommene. In der Haut an der Oberfläche der Flüssigkeit fanden sich glasige Kugeln wie in der ersten Flasche, aber keine sarcineartigen Gebilde wie dort, die ich für *Bacterium merismopedioides* halte.

1) Zopf, Die Spaltpilze. Breslau 1883. S. 56.

Die filtrirte Flüssigkeit der ersten Flasche nach der Filtration eingedampft überzog sich nicht mit einer Decke von Eisenoxyd; sie schien Eisen gar nicht mehr zu enthalten. Der geringe, beim völligen Trocknen enthaltene Rückstand, soweit er im Wasser wieder gelöst wurde, enthielt keinen Körper der Kupferoxyd in der alkalischen Lösung auflöste, auch Reduction von Kupferoxydhydrat zu Oxydul trat beim Erhitzen nicht ein. Die Flüssigkeiten aus der zweiten und ebenso aus der dritten Flasche gaben beim Abdampfen reichliche Ausscheidung von Eisenoxyd und von Calciumcarbonat. Ein kupferoxydlösender oder reducirender Körper fand sich auch hier nicht. Alle drei Flüssigkeiten zeigten beim Oeffnen und während des Eindampfens neutrale Reaction.

Nach dem Abdampfen der Flüssigkeit, Extraction des filtrirten Auszugs wurden aus der ganzen, gegen 500 chem. betragenden Quantität der Flüssigkeit erhalten:

Feste Stoffe aus Flasche	I	0,0148	gr.
»	»	»	»
»	»	»	»
»	»	»	»
	II	0,0638	»
	III	0,0165	»

Von den festen Stoffen aus der zweiten Flasche war 0,0490 gr. nur in Wasser und 0,0148 gr. auch in Alkohol löslich. In dieser in Alkohol löslicher Substanz befand sich etwas Natronseife. Der in Alkohol nicht lösliche Theil enthielt die Calciumverbindung einer in Aether löslichen Säure, deren Bariumsalz ungefähr 50,8 Procent Barium gab. Bernsteinsaures Barium verlangt 54,15 Procent Barium. Beim Verdunsten ihrer ätherischen Lösung wurde die Säure nicht krystallisirt erhalten, ihre neutralen Salzlösungen wurden durch Eisenchlorid nicht gefällt. Aus der in Alkohol löslichen geringen Quantität von Substanz wurde beim Destilliren mit etwas Schwefelsäure eine geringe Menge einer flüchtigen Säure erhalten, deren Barytsalz 43,58 Procent Barium gab. Es kann jedoch diese Bestimmung nur als eine ganz zweifelhafte angesehen werden, da für sie nur 17 Milligramm Substanz zu Gebote stand.

Es scheint nach diesem Befunde, ebenso wie nach manchen weiteren, über die theilweise noch unten zu berichten ist.

dass die gefundenen löslichen Stoffe Producte der Gährung sind, die aber im Verlauf des Gährungsprocesses selbst wieder zerfallen oder in geringer Menge nur als Nebenprodukt auftreten.

Besonders deutlich trat in diesen Versuchen hervor, dass die Entwicklung von CO_2 und CH_4 nur soweit und in dem Maasse stattfand, als sich in der gährenden Flüssigkeit lebende Bacterien von bestimmter Form vorfanden. Diese Bacterien zeigten keine erkennbare Verschiedenheit von der als Amylobacter von van Tieghem bezeichneten Spaltpilzform.

Ausser den sehr geringen Mengen von Schlamm war in den Flaschen nichts anderes vorhanden, als Wasser und Papier, die entwickelten CO_2 und CH_4 konnten nur aus dem Papier herkommen. Neben diesen Gasen waren bei der Zerlegung des Papiers nur Spuren löslicher Stoffe entstanden.

Die von Mitscherlich erkannte Lösung der Cellulose durch einen fermentativen Process, als dessen Ursache die Thätigkeit von stets dabei vorhandenen Vibrionen vermuthet wurde, ist von van Tieghem auf eine Wirkung von Amylobacter zurückgeführt. Die hier geschilderten Versuche lassen keinen Zweifel darüber bestehn, dass durch die Einwirkung von Amylobacter auf Cellulose CO_2 und CH_4 gebildet werden.

Der Beweis dafür, dass die Bildung von CO_2 und CH_4 ohne irgend wesentliche weitere Nebenproducte unter Lösung und Zersetzung von Cellulose geschieht, wurde durch einen andern Versuch geführt, über den ich in einer vorläufigen Mittheilung vor 3 $\frac{1}{2}$ Jahren bereits berichtet habe¹⁾, soweit damals eine Entscheidung dieser Frage bereits gewonnen war.

Am 2. December 1881 wurden in eine Flasche von 1101 cbcm. Inhalt eingebracht 1. Filtrirpapier, 2. Wasser, 3. etwas Schlamm vor der Ausmündung eines Strassenabzugs-canal's in den Illfluss entnommen. Dieser Schlamm war durch

¹⁾ Berichte d. deutschen chemischen Gesellschaft 1883, Bd. XVI, S. 122.

feines Drahtnetz gesiebt und geschlämmt, dann mit Wasser in verschlossener Flasche im Dunkeln bei Stubentemperatur aufbewahrt. Es wurden von demselben zwei gleiche Portionen abgemessen, die eine in die Flasche eingebracht, die andere der Untersuchung auf ihren Gehalt an organischen Stoffen unterworfen. Nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure wurden aus ihr durch Aether, Alkohol und verdünnter wässriger Natronlauge ein wenig fetter Säure und Huminstanz extrahirt, zusammen im Gewicht von 0,1100 gr. Der ungelöste Rückstand wurde getrocknet und gewogen, dann verascht und die Asche gewogen. Der Gewichtsverlust beim Veraschen betrug 0,613 gr. Diese Zahl würde also im Maximum das Gewicht der in jenen Lösungsmitteln unlöslichen organischen Stoffe darstellen.

Das Papier, welches in die Flasche gebracht wurde, war ein gutes Filtrirpapier und zeigte mit Anilinsulfat, ebenso mit Phloroglucin und Salzsäure nur äusserst seltene und sehr kleine Fragmente, die sich färbten. Der Ligningehalt des Papiers war hiernach verschwindend gering; es bestand nahezu aus einer Cellulose. Nach Bestimmung der Feuchtigkeit und der Asche enthielt die in die Flasche eingebrachte Papierquantität 25,773 gr. reine trockne Cellulose. Das benutzte Wasser war 1 Stunde lang im Sieden erhalten, im Kolben erkaltet und mit einem Theil dieses Wassers die Flasche vorher ausgespült.

Die Mischung von Papier, Schlamm und Wasser füllte die Flasche zu ungefähr 700 ccm. an. Die Flasche wurde mit einem guten Kautschukstopfen geschlossen, in dessen Bohrung eine Röhre befestigt war, welche zunächst rechtwinklig horizontal, dann abwärts gebogen und unten im engen Bogen aufwärts gekrümmt war, um die entweichenden Gase vollständig in übergestülpten Gefässen über Quecksilber aufzusammeln zu können. Es wurde das umgebogene freie Ende des Glasrohrs unmittelbar über dem Boden einer Porcellanreischale aufgestellt, die mit Quecksilber gefüllt war, so dass ein Druck von oben auf die untere Biegung oder

auf das offene Ende des Rohrs, wie er beim Wechseln der mit Quecksilber gefüllten Absorptionsröhren, in denen das Gas gesammelt wurde, nicht immer vermieden wird, nicht eine Lockerung des Stopfens herbeiführen konnte. Zur grösseren Sicherheit wurde der Stopfen an dem Rande des Flaschenhalses mit Eisendraht festgebunden. Die Flasche erhielt eine Umhüllung von doppelter Lage schwarzen Papiers, aus der allein das Gasableitungsrohr heraustrat, und wurde in dieser Weise beschickt und umkleidet bei gewöhnlicher Temperatur im Laboratorium an einem Orte stehen gelassen, an dem sie weder von directem noch von reflectirtem Sonnenlichte getroffen werden konnte und ebenso durch die Heizung keine schnelle Aenderung in der Wärmezufuhr erhielt. Erst am 6. December 1885 wurde sie wieder geöffnet. Während dieser Zeit blieb auch das offene Ende des gasableitenden Glasrohrs stets unter Quecksilber.

Schon am Tage nach der Füllung und dem Verschluss der Flasche war das Quecksilber im gasableitenden Rohre eine Strecke hoch hinaufgetreten. Diese Erscheinung ist bei dem Beginne solcher Versuche eine regelmässige und nothwendige, weil der Schlamm stets Schwefeleisen enthält, dies beim Zutritt atmosphärischer Luft oxydirt wird, dem entsprechend der Sauerstoff aus dem Luftraume über der Flüssigkeit verschwindet und der summarischen Druckabnahme im Luftraume der Flasche entsprechend das Quecksilber durch den äusseren Atmosphärendruck hinaufgepresst wird. Es ist deshalb zweckmässig, diesen Luftraum nie grösser zu bemessen, als es die Rücksicht auf die stets eintretende Schaumbildung der gährenden Flüssigkeit erheischt.

Die Gasentwicklung trat alsbald ein und bestand unablässig bis zum December 1885, mit Erhöhung der Temperatur sich steigend und bei ihrer Erniedrigung sich verlangsamend. Vom Ende des Jahres 1883 an wurde sie geringer und war in der zweiten Hälfte des Jahres 1885 sehr träge, so dass aus diesem Grunde der Versuch am 6. December abgebrochen wurde.

Das entweichende Gas wurde gewöhnlich in mit Quecksilber gefüllten Absorptionsröhren aufgefangen; nur einige Male, wenn ich Strassburg auf längere Zeit verliess, habe ich für die Zeit meiner Abwesenheit mit Quecksilber gefüllte, 500 ccm. fassende, in Millimeter getheilte und calibrierte Röhren zur Aufsammlung des entwickelten Gases verwendet. Bei lebhafter Gasentwicklung sind oft nach vollständiger Anfüllung der Absorptionsröhren mit Gas offenbar nicht geringe Quantitäten der Gasmischung verloren gegangen.

Die zur Aufnahme der entwickelten Gase benutzten Röhren sind nach Bunsen's Vorschriften eingerichtet und ihr Inhalt in ccm. mit Quecksilber calibriert. Die Gasanalysen wurden sämmtlich zunächst nach Bunsen's bekannten Methoden ausgeführt. Die zuletzt aufgefangenen Gasportionen wurden dann ausserdem mittelst erhitztem fein vertheilten Palladium nach Zumischung von atmosphärischer Luft auf ihren Gehalt an Wasserstoff neben Methan geprüft, weil die Methode von Bunsen zur Bestimmung geringer Mengen von Wasserstoff neben viel Methan genaue Werthe nicht ergiebt. Da nun eine für diesen Zweck passende Methode der Bestimmung mit Quecksilber als Sperrflüssigkeit nicht existirte, musste hierfür ein neues Verfahren ausfindig gemacht werden, und dies ist auch, wie die unten zu schildernden Versuche ergeben haben, in ganz zufriedenstellender Weise gelungen.

In folgender Tabelle sind die in den angegebenen Zeiten aufgefangenen Gasquantitäten und die in ihnen enthaltenen Mengen Kohlensäure und Methan in Cubikcentimetern für 0° und 760 mm. Quecksilberdruck berechnet aufgeführt. Der nach Abzug der Summe von CO_2 und CH_4 von der ganzen Gasquantität bleibende Rest kann als Stickstoff angesehen werden, doch könnte im Anfang des Gährungsversuchs auch etwas Wasserstoff entwickelt sein. Die bei den Gasanalysen erhaltenen Werthe beweisen jedoch, dass die Volumina entwickelten Wasserstoffgases nur sehr geringe gewesen sein können.

Tabelle I.

Zeitdauer der Entwicklung.	Gas- quantität.	Darin:	
		CO ₂	CH ₄
2. Decbr. 1881 bis 4. Januar 1882	57,223	12,148	4,468
4. Januar 1882 .. 13. .. "	49,295	15,820	5,685
13. .. " .. 18. .. "	36,360	11,936	5,096
18. .. " .. 24. .. "	45,823	15,721	6,589
24. .. " .. 28. .. "	53,571	19,454	9,098
28. .. " .. 2. Februar ..	57,775	21,015	10,506
2. Februar 7. .. "	57,584	21,124	12,711
7. .. " .. 10. .. "	53,074	19,829	11,419
10. .. " .. 14. .. "	61,969	23,449	13,520
14. .. " .. 20. .. "	55,500	21,846	12,817
20. .. " .. 24. .. "	59,760	23,326	15,983
24. .. " .. 28. .. "	53,009	21,669	15,488
28. .. " .. 6. März ..	62,690	27,000	19,353
6. März 10. .. "	56,429	24,422	18,739
10. .. " .. 14. .. "	29,870	12,776	10,184
14. .. " .. 23. Mai ..*)	57,260	27,415	22,553
23. Mai 31. .. "	48,942	25,273	16,768
31. .. " .. 15. Juni ..	59,756	31,379	23,445
15. Juni 22. .. "	59,231	30,740	22,018
22. .. " .. 25. .. "	57,384	30,547	22,893
25. .. " .. 30. .. "	59,942	32,505	23,046
30. .. " .. 6. Juli ..	53,469	28,324	21,915
6. Juli 14. .. "	58,667	30,343	23,274
14. .. " .. 18. .. "	56,408	29,863	24,831
18. .. " .. 21. .. "	59,515	31,248	25,272
21. .. " .. 25. .. "	58,828	31,194	25,301
25. .. " .. 2. August ..	65,089	32,409	30,274
2. August 16. October ..	470,670	195,860	263,650
16. October 21. .. "	60,589	25,414	34,637
21. .. " .. 25. .. "	58,647	24,908	29,502
25. .. " .. 27. .. "	54,600	23,954	28,814
27. .. " .. 3. Novbr. ..	59,399	24,967	32,725
3. Novbr. 7. .. "	55,349	24,156	29,852
7. .. " .. 9. .. "	56,357	24,076	28,977
Zu übertragen	—	996,110	892,403

*) In dieser Zeit ist bei Weitem nicht alles entwickelte Gas aufgesammelt.

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Zeitdauer der Entwicklung.	Gas- quanti- tät.	Darin:		
		CO ₂	CH ₄	
Uebertrag	—	996,110	892,403	
Vom 9. Novbr. 1882 bis 16. Novbr. 1882	54,967	22,278	32,689	
„ 16. „ „ „ 22. „ „	60,605	24,533	33,818	
„ 22. „ „ „ 25. „ „	54,782	22,811	27,083	
„ 25. „ „ „ 29. „ „	42,142	17,736	22,316	
„ 29. „ „ „ 5. Decbr. „	55,252	22,468	29,794	
„ 5. Decbr. „ „ 9. „ „	53,500	22,497	22,540	
„ 9. „ „ „ 15. „ „	60,667	25,094	32,224	
„ 15. „ „ „ 22. „ „	57,697	23,878	33,579	
„ 22. „ „ „ 28. „ „	64,584	26,931	34,935	
„ 28. „ „ „ 31. „ „	55,047	23,825	30,167	
„ 31. „ „ „ 3. Januar 1883	58,645	26,157	30,397	
„ 3. Januar 1883 „ 10. „ „	57,613	25,137	31,103	
„ 10. „ „ „ 15. „ „	59,293	25,686	32,575	
„ 15. „ „ „ 20. „ „	55,046	24,029	29,137	
„ 20. „ „ „ 24. „ „	59,383	25,896	31,223	
„ 24. „ „ „ 29. „ „	59,918	26,745	31,222	
„ 29. „ „ „ 1. Februar „	61,621	28,217	30,137	
„ 1. Februar „ „ 6. „ „	54,964	25,938	24,465	
„ 6. „ „ „ 9. „ „	59,108	27,326	30,101	
„ 9. „ „ „ 13. „ „	54,845	25,151	28,626	
„ 13. „ „ „ 17. „ „	61,008	28,453	32,251	
„ 17. „ „ „ 21. „ „	57,033	26,311	27,790	
„ 21. „ „ „ 26. „ „	64,860	29,933	32,530	
„ 26. „ „ „ 2. März „	58,767	27,045	29,652	
„ 2. März „ „ 6. „ „	58,889	26,751	32,138	
„ 6. „ „ „ 9. „ „	42,711	19,340	23,371	
„ 9. „ „ „ 31. Juli „	343,010	142,977	178,722	
„ 31. Juli „ „ 29. October „	44,274	15,893	23,562	Viel Gas in dieser unaufgesammelte wichen.
„ 29. October „ „ 8. Novbr. „	57,591	25,145	32,434	
„ 8. Novbr. „ „ 24. „ „	45,564	19,728	24,741	
„ 23. „ „ „ 9. Decbr. „	62,654	26,947	31,887	
„ 9. Decbr. „ „ 7. Januar 1884	60,305	25,000	22,935	
„ 7. Januar 1884 „ 11. Februar „	58,250	24,488	21,560	
„ 11. Februar „ „ 28. „ „	55,363	23,725	18,963	
„ 28. „ „ „ 15. März „	57,925	25,389	17,675	
Zu übertragen	—	1975,568	2040,745	

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Zeitdauer der Entwicklung.		Gas- quantität.	Darin:		
			CO ₂	CH ₄	
Uebertrag . . .		—	1975,568	2040,745	
15. März	1884 bis 2. April 1884	54,869	24,499	27,609	
2. April 29. ..	60,971	25,997	20,239	
29. 9. Mai ..	57,800	25,925	19,783	
9. Mai 13. ..	57,921	27,189	18,811	
13. 19. ..	44,083	20,996	14,242	
19. 30. ..	55,243	26,303	19,995	
30. 22. Juni ..	60,391	27,607	24,171	
22. Juni 28. ..	55,964	26,580	19,658	
28. 3. Juli ..	59,105	29,025	18,457	
3. Juli 9. ..	55,021	27,317	19,870	
9. 14. ..	54,880	27,704	21,464	
14. 24. ..	57,030	28,412	21,755	
24. 5. August ..	55,576	26,411	26,596	
5. August 13. ..	35,917	17,663	15,361	
13. 18. Novbr. ..	58,459	25,193	25,987	
18. Novbr. 9. Januar 1885	36,953	14,710	9,686	
9. Januar 1885 30. ..	55,561	20,716	9,395	
30. 28. Mai ..	43,346	15,799	4,497	
28. Mai 14. Juni ..	46,838	18,616	8,140	
14. Juni 10. Juli ..	54,582	22,028	19,881	
10. Juli 17. ..	38,414	16,066	8,262	
17. 24. Septbr. ..	60,844	25,563	16,740	
24. Septbr. 26. Novbr. ..	49,479	18,695	15,274	
Raumraum der Flasche beim Oeffnen derselben am 6. December 1885 vor- handen		381,000	143,953	117,611	Nach der procentischen Zusammensetzung, welche die am 26. No- vember 1885 abgenom- mene letzte Gasportion zeigte, berechnet.
700 ccm. der Gährungsflüssigkeit am Ende des Versuchs absorbiert .		—	205,000	6,700	
von Bicarbonaten von Ca und Fe locker gebundene Säure		—	317,600	—	
Gesammtsumme		—	3281,135	2570,930	

Da bei gleicher Temperatur und gleichem Druck in gleichen Volumina CO_2 und CH_4 auch gleiche Gewichtstheile Kohlenstoff enthalten sind, ergiebt sich aus den Daten vorstehender Tabelle, dass (1 Liter CO_2 zu 1,9666 gr. angenommen) die gesammte Quantität der aufgefundenen CO_2 und CH_4 zusammen den Kohlenstoffgehalt von 11,5087 gr. CO_2 , nämlich 3,1387 gr. Kohlenstoff enthalten hat. In den aufgefundenen Gasen ist sonach ein drei bis viermal so hohes Gewicht Kohlenstoff enthalten, als das ganze Gewicht der organischen Stoffe betrug, welche ausser dem Papier in die Flasche gebracht waren. Es muss deshalb auch wenigstens der bei Weitem grösste Theil der entwickelten Gase durch Zersetzung des Papiers entstanden sein. Schon nach Ablauf des ersten Jahres dieses Gährungsversuchs war mehr Kohlenstoff in den Gasen ausgetreten, als die organischen Substanzen des in die Flasche eingebrachten Schlammes enthalten haben konnten; dies habe ich in meiner oben citirten vorläufigen Mittheilung nachgewiesen.

Nachdem zuletzt am 26. November 1885 eine Gasportion abgenommen war, zeigte sich das neu aufgesetzte Absorptionsrohr am 6. December noch vollständig mit Quecksilber gefüllt. Es wurde dann die Flasche ihrer Hüllen von schwarzem Papier entkleidet. Die Flüssigkeit in der Flasche war farblos, aber an der Oberfläche mit einer dünnen spröden Haut von brauner Farbe überzogen. Beim Oeffnen war kein besonderer Geruch wahrzunehmen, die Reaction der Flüssigkeit neutral. Eine sehr schwache Rothfärbung von blauem Lakmuspapier verschwand an der Luft in wenigen Minuten.

Kleine Portionen der Haut an der Oberfläche, sowie vom Niederschlage, der theils weisse theils graue Farbe zeigte, wurde zu mikroskopischen Untersuchungen sofort verwendet. Die nachherige Gewichtsbestimmung dieser Proben ergab nur 0,0027 gr. Gesamtgewicht, welches in der Berechnung unten mit einbegriffen ist. Der ganze übrige Inhalt der Flasche wurde möglichst schnell und bedeckt durch einen ausgeglühten in die Verengerung eines Trichters eingesteckten Asbestpfropf

filtrirt. Die unverweilt vorgenommene mikroskopische Untersuchung ergab, dass die braune spröde dünne Haut aus einem Filz von dünnen, zum Theil ziemlich langen Leptothrixfäden bestand. Auch kurze Stäbchen waren reichlich in diese sonst homogene structurlose Haut wie eingegossen. In der Flüssigkeit und viel reichlicher im Bodensatz fanden sich kürzere Stäbchen und Bakterien, die sämmtlich viel schwächer contourirt waren, als die in der Haut gefundenen, zum Theil mit Sporen. Daneben im Bodensatz zahlreiche Kügelchen und Körnchen. Anfangs waren alle Bakterien und Körnchen regungslos, nach wenigen Minuten zeigten schwach contourirte Bakterien sämmtlich von Form, Grösse und Aussehen des Amylobacter mit und ohne Sporen Bewegung, die allmählig lebhafter wurde. Die in die braune Haut eingegossene Leptothrixfäden und Stäbchen, von denen viele in eine Reihe von Körnchen aufgelöst schienen, blieben regungslos. In Essigsäure, selbst sehr verdünnter Salzsäure, welche aus der braunen Haut Eisenoxydhydrat löste, ebenso in Glycerin blieben die Contouren der Bakterien und Fäden scharf, waren sogar nach dieser Behandlung noch besser erkennbar als in Wasser. Querwände, Einschnürungen oder Abtheilungen fanden sich in den Fäden und Bakterien nicht.

Das Papier, welches sich im Bodensatz fand, sah weiss aus. Die Papierfasern waren sehr zerfasert, zwischen den Fasern an vielen Stellen zahlreiche Bakterien deutlich erkennbar, aber relativ nur wenige von denselben nahmen Bewegung an.

Die bedeckt filtrirte Flüssigkeit wurde der Destillation unterworfen bis ungefähr $\frac{1}{3}$ ihres Volumen übergegangen war. Das Destillat reagirte neutral, enthielt weder Ammonialsalze, noch Aceton, noch Alkohole. Während des Siedens war die Flüssigkeit im Kolben sehr trübe geworden; gleich im Anfang entwickelte sich viel CO_2 und es bildete sich reichlicher Niederschlag von Ca CO_3 und $\text{Fe}_2 \text{O}_3$. Auch eine geringe Quantität von farbloser organischer Substanz wurde abgeschieden. Die vom Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit lieferte beim Abdampfen

0,2005 gr. trocknen Rückstand, der zum Theil von Alkohol gelöst wurde.

Der auf dem Trichter und Asbestpfropf mit Wasser gut ausgewaschene Bodensatz wurde wie der aus der Flüssigkeit beim Sieden erhaltene Niederschlag, der auf gewogenen Filter gesammelt war, mit verdünnter Salzsäure behandelt und dann bis zum Verschwinden der sauren Reaction mit kaltem Wasser ausgewaschen, der Rückstand zunächst mit Alkohol, darauf mit viel Aether extrahirt. Die Aether und Alkoholauszüge lieferten beim Abdestilliren und Verdampfen des Rückstandes 0,1526 gr. trockne Substanz, welche in der Alkohol- und Aetherlösung bei der Extraction die spectroskopischen und Fluorescenz-Erscheinungen der Chlorophylllösungen ganz unzweifelhaft zeigte. Vier Jahre langes Verweilen der gährenden Masse im Dunkeln hatte nicht vermocht, das Chlorophyll der im Schlamm wohl nie fehlenden grünen Algen zu zerstören. Es ist hieraus ersichtlich, dass alle Versuche der Gährung mit Schlamm mit Ausschluss des Lichtes vorgenommen werden müssen, da sonst Bildung von organischer Substanz und freien Sauerstoff durch Einwirkung des Sonnenlichtes stattfindet und hiermit eine Complication einführt, welche nicht wohl controlirt werden kann.

Die ungelöst gebliebenen Reste von Papier und Schlamm mit dem Asbestpfropf wurden in einer Platinschale im Luftbade erst längere Zeit bei 100° , schliesslich mehrere Stunden lang bei 125° erhalten, mit Platinblech bedeckt über Schwefelsäure erkalten gelassen und gewogen. Bei mehrmaligem Trocknen bei 125° , Erkalten über Schwefelsäure und Wägen ergab sich keine weitere Gewichtsabnahme. Diese Masse wurde dann verascht und die Asche gewogen. Das Gewicht der organischen Substanz betrug 11,3315 gr. im Maximum. Die Asche wog nach Abzug des Gewichts vom Asbestpfropf 2,7086 gr. (SiO_2 des Papiers und die in verdünnter Salzsäure unlöslichen anorganischen Stoffe des Schlammes). Rechnet man hierzu die Asche des Niederschlags, welcher beim Abdampfen der salzsauren Lösung aus dem Bodensatz, wie oben

geschildert ist, erhalten wurde, so betrug die Summe des in Wasser unlöslichen anorganischen Stoffe 2,7316 gr. In dieser Aschensubstanz befindet sich etwas Thon, der beim Glühen Wasser abgiebt. Das Gewicht der noch unzersetzt gebliebenen organischen Stoffe wird wegen dem Wasserverlust des Thons beim Glühen etwas zu hoch gefunden.

Wird zu diesen 11,3315 gr. organischer Stoffe noch das Gewicht der beim Abdampfen der Flüssigkeit und der Waschwasser im Niederschlage abgesetzten organischen Substanz hinzugerechnet, so hat das Gewicht der rückständigen Cellulose des Papiers, der Spaltpilze und der noch restirenden organischen Stoffe des angewendeten Schlamms im Ganzen im Maximum 11,3992 gr. betragen.

Am Anfang des Versuchs am 2. December 1881 waren in die Flasche eingebracht 25,773 gr. Cellulose in Papier und im Maximum 0,6139 gr. Cellulose im Flussschlamm, zusammen Cellulose 26,3869 gr. Wiedergefunden ist Cellulose am Ende des Versuchs am 6. December 1885 im Maximum 11,3992 gr. Bei der 4jährtigen Gährung sind gelöst zu flüchtigen Producten 14,9877 gr. oder in runder Summe 15 gr. reine trockne Cellulose. Die organischen Stoffe, welche sich neben diesen Rückständen beim Oeffnen der Flasche in Wasser oder in Alkohol oder Aether gelöst vorfanden, waren 0,1526 gr. in Alkohol oder Aether und 0,2005 gr. nur in Wasser gelöst, zusammen 0,3531 gr. organische Substanz.

In dem salzsauren Auszug des Rückstandes und des beim Sieden in der Flüssigkeit erhaltenen Niederschlags wurden gefunden:

Eisen	0,0592 gr.
Thonerde	0,0636 »
Calcium	0,4278 »
Magnesium	0,0333 »

Calcium, und der grösste Theil des Eisens fanden sich in der abfiltrirten Flüssigkeit als Bicarbonat, Eisen zum sehr kleinen Theil als Sulfür und sehr wenig in der Haut auf der Flüssigkeit als Oxydhydrat. Rechnet man das ganze Eisen als Bicarbonat (bei der Behandlung der Rückstände un-

mittelbar nach dem schnellen Abfiltriren mit verdünnter Salzsäure entwickelten sich nur Spuren von SH_2), so enthielt die Flüssigkeit:

Calciumbicarbonat	0,47056 gr.
Magnesiumbicarbonat	0,06103 »
Eisenbicarbonat	0,09306 »

zusammen 0,6265 gr. CO_2 , die durch Gährung aus der Cellulose entstanden war.

Von dem Rückstande der Alkohol- und Aether-Auszüge löste sich in Aether 0,1202 gr., ferner in Alkohol aber nicht in Aether 0,0060 gr. Substanz, auch nicht in absoluten Alkohol 0,0200 gr., auch in Wasser wurde nicht wieder gelöst 0,0035 gr.; die Summe beträgt 0,1497 gr. Von den 0,1202 gr. Aetherextractstoffen wurden 0,0410 gr. als freie Säure von wässriger Sodalösung aufgenommen, 0,0792 gr. bestanden aus Harzen, Chlorophyllan etc.

Im Verdampfungsrückstande der wässrigen Lösung aus der Flasche fand sich kein Körper, der Kupferoxyd in alkalischer Lösung beim Erhitzen reducirte. Auch durch den in Alkohol nicht löslichen Theil des Rückstandes wurde etwas Kupferoxyd bei Gegenwart von Natronlauge in Lösung erhalten und die Lösung behielt auch beim Sieden ihre blaue Farbe. Die wässrige Lösung enthielt in geringer Quantität ein in Alkohol nicht lösliches Kalksalz, dessen Säure auf Zusatz von etwas Schwefelsäure und Schütteln mit Aether in diesen überging, beim Verdunsten des Aethers amorph, ölig erhalten wurde, auch beim Stehen nicht krystallisirte. Bernsteinsäure wurde nicht nachgewiesen.

Die nach der obigen Berechnung durch die Gährung während 4 Jahren zersetzte Cellulose enthält so viel Kohlenstoff, als in 12,2775 Liter CO_2 oder CH_4 bei 0° und 760 mm. Barometerdruck enthalten ist. Die aufgesammelten Gase haben nur 5,852 Liter $\text{CO}_2 + \text{CH}_4$ von 0° 760 mm. Druck ergeben, und hierbei ist die beim Oeffnen der Flasche in deren Luftraume und der Flüssigkeit vorgefundene Quantität dieser Gase bereits eingerechnet. Obwohl diese 5,85 Liter $\text{CO}_2 + \text{CH}_4$

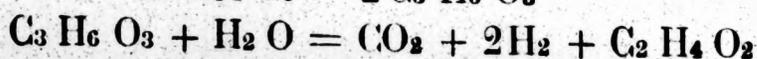
im Kohlenstoffgehalte mehr als 7 gr. Cellulose entsprechen und die bei Beginn des Versuchs eingebrachte Schlammquantität nur $\frac{1}{10}$ dieser Quantität an organischen Stoffen enthalten hat, bleibt doch die Frage zu beantworten, wie die Differenz zwischen der gesammelten Quantität dieser Gase und dem Gewicht Cellulose, die, wie nachgewiesen, zersetzt ist, erklärt werden kann. Ich habe nun selbst lange Zeit an dem Glauben festgehalten, dass bei der Gährung der Cellulose neben CO_2 und CH_4 noch andere organische Zerfallproducte gebildet würden, aber so wie in mehreren andern, hier nicht beschriebenen, nicht quantitativen Versuchen haben sich auch in dem soeben geschilderten Versuche, in welchem gegen 15 gr. Cellulose zersetzt ist, nicht allein nur Spuren von löslichen organischen Stoffen in der Flüssigkeit gefunden, sondern es ist auch in den Bestandtheilen des Bodensatzes neben den Resten von Schlamm und Papier nichts von andern organischen Stoffen gefunden. Somit ist auch, da in diesem Niederschlage von Huminsubstanzen nichts sich gefunden hat und die Farbe des Papiers wie der Flüssigkeit ganz farblos geblieben ist, durch diese Versuche festgestellt, dass der Gährungsprocess der Cellulose, bei welchem CO_2 und CH_4 gebildet wird, mit dem Process der Bildung von Huminsubstanz, Torf, Braunkohle in keinem erkennbaren Zusammenhange steht. Ebenso ergiebt sich die von van Tieghem und Tappeiner aufgestellte Ansicht, dass bei dieser Gährung organische Säure gebildet werde, als unhaltbar, wenn auch recht wohl möglich bleibt, dass Säure als Durchgangsproduct bei dieser fermentativen Zerlegung gebildet werde.

Da als die einzigen wesentlichen Producte der Umwandlung der Cellulose die Gase CO_2 und CH_4 gefunden sind und zwar in nahezu gleichen Volumina, bleibt keine andere Möglichkeit der Erklärung, als dass die Cellulose unter Aufnahme von 1 Mol. H_2O für $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ in ein zuckerartiges Kohlehydrat übergeht, welches mit oder ohne Bildung weiterer Zwischenproducte zu gleichen Volumina CO_2 und CH_4 zerfällt, entsprechend den Gleichungen:



Es ist dann weiterhin die Annahme nöthig, dass ein sehr bedeutender Theil der entwickelten Gase im obigen Versuche unaufgesammelt entwichen ist. Das letztere ist nachweisbar der Fall gewesen und es wird hiervon unten noch die Rede sein.

Hinsichtlich der Umwandlung des Kohlehydrats $\text{C}_6 \text{H}_{12} \text{O}_6$ in gleiche Volumina CO_2 und CH_4 kann man bis jetzt nur so viel als unzweifelhaft ansehen, dass dieser Process mit den sonst bekannten fermentativen Zerlegungen der Kohlehydrate, nämlich 1. der Bildung von CO_2 und Alkohol und 2. der Bildung von Milchsäure nichts gemein hat. Alle bis jetzt in dieser Richtung untersuchten Zuckerarten, Dextrine, Amylum, Glycogen u. s. w. geben bei der Gährung mit Flussschlamm Milchsäure, die dann weiter in CO_2 , H_2 und fette Säure (Essigsäure, Buttersäure, Capronsäure etc.) zerfällt. Wenn dieser Vorgang auch hier bei der Cellulose im Spiele wäre, müsste neben CO_2 und CH_4 auch reichlich Wasserstoff gebildet werden. Es würde dann als Zwischenprodukt Essigsäure entstehn und diese könnte in CO_2 und CH_4 übergeführt werden.



Bei diesem Vorgange würde auf 2 Vol. CO_2 und 2 Vol. H_2 nur 1 Vol. CH_4 entstehn können.

Da die früheren Untersuchungen vielfach reichlichen Wasserstoffgehalt der Gase neben CO_2 und CH_4 bei der Gährung von Cellulose ergeben haben, war ich zunächst erstaunt, nur sehr wenig Wasserstoff in meinen sämtlichen Analysen der bei dieser Gährung entwickelten Gase zu finden. Schliesslich hat die genauere Untersuchung ergeben, dass auch der berechnete geringe Gehalt an Wasserstoff in den analysirten Gasen gar nicht vorhanden ist, und dass allein Mängel der analytischen Methode die Ursache der Täuschung sind. Es wird aus Cellulose durch Gährung mit Schlamm nur CO_2 und CH_4 ent-

wickelt; ob hierbei als Zwischenproduct zunächst Essigsäure entsteht oder nicht, ist jetzt noch nicht zu entscheiden, aber die sogenannte Buttersäuregährung, welche durch *Amylobacter* bei der Einwirkung auf milchsaures Salz hervorgerufen wird, und durch welche bei genügender Verdünnung fast nur Essigsäure entsteht (entsprechend obiger Gleichung), kann nicht bei dieser Cellulosegährung betheiligt sein, da sie Producte liefern würde wie Wasserstoff, welche in selbst sehr lange fortgesetzten Versuchen vermisst sind.

So wie ich es früher bezüglich der Essigsäure gefunden, erfolgte im Ganzen auch bei der Cellulose die fermentative Umwandlung zu CO_2 und CH_4 in allen meinen Versuchen relativ ziemlich langsam und schwierig.

Ebenso wie bei der Lösung der Cellulose durch Einwirkung starker Säure scheint bei der fermentativen Umwandlung zunächst ein dextrinartiger Körper zu entstehen, denn nur von einem solchen wird man die Erscheinung herleiten wollen, die oben erwähnt ist, dass nämlich etwas Kupferoxydhydrat durch die gährende Flüssigkeit bei Alkalizusatz gelöst, aber beim Sieden nicht reducirt wird.

In den ersten Monaten der Gährung sind die aufgefundenen Gasportionen die CO_2 -Volumina grösser als die des CH_4 , ebenso in den letzten Monaten des Versuchs, als die Gährung bereits sehr träge verlief; in den mittleren Monaten oder Jahren dagegen übertrifft das CH_4 -Volumen meist sehr deutlich das Volumen der CO_2 . Die Erklärung dieser Veränderungen und Abweichungen von dem nach obiger Gleichung geforderten Verhältniss ergibt sich 1. aus der im Anfang noch vorhandenen Mitwirkung des im Luftraum der Flasche befindlichen atmosphärischen Sauerstoffs, sowie des im Papier und im Schlamme eingeführten Eisenoxydes, dessen Reduction zu Oxydul sich vollzieht unter Abtretung von Sauerstoff an die gährende Substanz, 2. aus der Diffusion der Gase durch den die Flasche verschliessenden Kautschukstopfen, deren Wirkung auf die Zusammensetzung der aufgesammelten Gase um so deutlicher hervortreten muss, je träger die Entwicklung erfolgt.

Weil mir keine Versuche über das Verhalten von CO_2 , CH_4 , O_2 und N_2 bezüglich der Diffusion durch dicke Kautschukplatten bekannt sind, habe ich einen Versuch in der Weise angestellt, dass ein an beiden Enden offenes Glasrohr von 22 mm. Durchmesser im Lichten an der einen Seite durch einen sehr fest eingefügten Kautschukstopfen von 3 Centimeter Höhe, zur Hälfte derselben in die Oeffnung eingepresst, in dessen Bohrung ein massives Glasstäbchen völlig luftdicht eingesetzt war, geschlossen wurde. In die circuläre Fuge am Rande, wo der Kautschukstopfen aus dem Glasrohr heraustritt, war etwas Mischung von Fett und Wachs eingestrichen. Als das Glasrohr, im Uebrigen mit Quecksilber gefüllt, so in einer Schale mit Quecksilber senkrecht aufgestellt war, dass die mit Kautschuk verschlossene Oeffnung nach oben, die unverschlossene Oeffnung unten im Quecksilber stand, das innere Quecksilberniveau 15 Centimeter über dem äussern, wurde nach 18 Stunden kein Sinken des innern Quecksilberniveau beobachtet. Das Rohr wurde nun mit einer Gas Mischung gefüllt, welche aus Schlamm entwickelt war, und senkrecht so aufgestellt, dass die unverschlossene Oeffnung unter Quecksilber stand und das Quecksilberniveau im Innern um 35 Millimeter den äussern Quecksilberspiegel überragte. Das Rohr blieb an einem ruhigen Orte bei wenig wechselnder Temperatur, nie vom Sonnenlicht getroffen, im Gaszimmer 14 Tage stehen. Dann wurde das Gas aus demselben in ein Absorptionsrohr übergefüllt und analysirt. Sein Volumen hatte sich während der 14 Tage nicht auffallend geändert. A giebt in folgender Zusammenstellung in Volumencenten die Quantitäten der Bestandtheile am Anfang des Versuchs und B dieselben nach 14tägigem Stehen im mit Kautschukstopfen verschlossenen Rohre.

	A:	B:	Differenz zwischen A und B:
CO_2	37,687	32,102	-- 5,585.
CH_4	62,313	60,580	-- 1,733.
O_2	—	0,677	+ 0,677.
N_2	—	6,641	+ 6,641.

Es tritt in diesem Resultate die Wirkung der Gasdiffusion sehr deutlich hervor. Trotz dem viel höheren Gehalte der Gas-mischung an CH_4 als an CO_2 ist aus dem innern Gasraume viel mehr CO_2 als CH_4 durch den Kautschuk in die äussere Luft übergegangen. Zugleich sind die beiden Bestandtheile der atmosphärischen Luft durch den Kautschuk in das Innere eingetreten und zwar Stickstoff 10 mal so viel als Sauerstoff, obwohl in der Atmosphäre die Partialpressionen dieser Gase sich ungefähr wie 4 : 1 verhalten. Da die Quantität des Sauerstoffs gering ist, wird es nicht überflüssig sein, durch weitere Versuche festzustellen, ob dies Resultat bezüglich des Verhältnisses von Stickstoff zu Sauerstoff nicht durch diesen niedrigen Werth an Genauigkeit eingebüsst hat.

Entsprechend diesem Versuchs-Resultate dürfen wir schliessen, dass durch den Kautschukstopfen bei obigem 4-jährigen Versuche recht beachtenswerthe Quantitäten von CO_2 und CH_4 in die Atmosphäre übergetreten sind, und zwar mehr CO_2 als CH_4 , so dass, wenn beide Gase in gleichen Quantitäten gebildet sind, die aufgefangenen Gasquantitäten durch den Einfluss der Diffusion so verändert sein müssen, dass das Volumen des enthaltenen CH_4 das der CO_2 übertrifft. Die Quantität des im entwickelten und aufgefangenen Gase enthaltenen Stickstoffs wird zugleich einen Maassstab geben für die Grösse der Veränderung, welche das Gas durch die Diffusion erfahren hat. Der durch Diffusion eintretende Sauerstoff wird nun weiterhin die Bildung der CO_2 auf Kosten des CH_4 erhöhen, wie dies bei Luftzutritt stets geschieht und von mir mehrfach bereits erläutert ist. Durch den eingedrungenen Sauerstoff ist auch die braune Oxydhaut an der Oberfläche der Flüssigkeit gebildet. Werden nun durch diese Versuchsergebnisse und Erwägungen die gefundenen Volumenverhältnisse von CO_2 , CH_4 und N_2 im obigen mehrjährigen Gährungsversuche genügend erklärt, so ist doch der grosse Unterschied zwischen den Kohlenstoffgehalten des aufgefangenen CO_2 - und CH_4 -Volumen und der zersetzten Cellulose offenbar nur zum sehr kleinen Theil aus dem Diffusionsverlust herzuleiten. Zur Zeit der lebhaften Gährung wurde häufig das

aufgesetzte Absorptionsrohr Morgens vollständig mit Gas gefüllt gefunden, ebenso entwich beim Wechseln der Absorptionsröhren sehr oft eine Portion Gas und zu mehreren Malen im Jahre 1882 und 1883 sind bei warmer Temperatur und dementsprechend schnellem Fortschreiten der Gährung während meiner Abwesenheit sehr bedeutende Quantitäten Gas nach Anfüllung der übergestülpten Absorptionsröhren durch das Quecksilber entwichen. Die entwickelten Gasquantitäten sind bei lebhafter Gährung so bedeutend, dass es sehr umständlich sein würde, alles austretende Gas über Quecksilber aufzufangen; es wurde deshalb auch darauf von vornherein verzichtet, quantitativ dies auszuführen, nachdem einmal so viel und mehr Gas erhalten war, als zum Beweis der geschehenen Entwicklung desselben nicht aus dem Schlamm allein, sondern aus dem Papier erforderlich schien.

Um die Einwirkung der Bestandtheile der Atmosphäre auf die gährenden Flüssigkeiten und die über ihnen sich ansammelnden Gase vollkommen auszuschliessen, ist und bleibt es das sicherste Verfahren, die gährenden Massen in Kolben zu füllen, den Hals des Kolbens zum feinen Rohr auszuziehen und dies letztere passend gebogen unter Quecksilber münden zu lassen. Paschutin¹⁾, ebenso nach ihm Popoff²⁾ haben zur Abhaltung der Atmosphäre die Kolben zwar mit Kautschukstopfen geschlossen, aber das Gasableitungsrohr im Stopfen bis zum Boden des Kolbens hinaufgeschoben, den Kolben verkehrt aufgestellt und über denselben eine Schicht Quecksilber gegossen. Man kann dann auch, statt Quecksilber einzubringen, den Stopfen in eine Schale mit Quecksilber zum Abschluss der Atmosphäre einsetzen. Weil die fein ausgezogenen Röhren leicht abgebrochen werden, besonders beim Wechsel der zur Gasaufsammlung dienenden Röhren, habe ich Flaschen anfertigen lassen, welche über der Mündung noch eine 7 Centimeter weite und 5 Centimeter hohe schalenartige Erweiterung haben. Man kann diese Flaschen mit

1) Pflüger's Archiv, Bd. 8, S. 352, 1874.

2) Ebendasselbst, a. a. O.

Kautschukstopfen schliessen, das Gasableitungsrohr erst ungefähr 15 Centimeter aufwärts, dann fast ebensoviel bis nahe zum Stopfen abwärts und am Ende etwas aufwärts biegen, in die schalenförmige Erweiterung Quecksilber giessen und in aufgesetzten, mit Quecksilber gefüllten Messröhren die Gasportionen auffangen. Das Quecksilber dient hier als Sperrflüssigkeit sowohl für den Kautschukstopfen, als für die Mündung des Gasableitungsrohrs.

Ueber die Methoden der Untersuchung der in allen den angeführten Versuchen entwickelten Gasportionen halte ich es für nöthig, einige Bemerkungen hier anzufügen.

Nach der Bestimmung des CO_2 -Gehaltes derselben mit Aetzkalikugeln und Ablesung der Volumenabnahme im Absorptionsrohr wurden dieselben in angefeuchtete Eudiometer übergefüllt. Die Kalikugeln waren aus stark erhitztem und hierdurch sehr wasserarmen Aetzkali gegossen. Sie wurden nur leicht und oberflächlich angefeuchtet beim Einbringen und stets über Nacht im Absorptionsrohr gelassen, gewöhnlich dann nochmals gewechselt und nach mehreren Stunden geprüft, ob weitere Volumenabnahme erfolgt sei, was nie der Fall war.

Mehrmals wurden dann grössere Quantitäten der kohlenstofffreien Gasproben in eine Absorptionsröhre übergefüllt, mit rauchender Schwefelsäure in Koaxskugeln auf absorbirbare Kohlenwasserstoffe geprüft, aber stets mit durchaus negativem Erfolge.

Die Bestimmung des Methan wurde nach den Vorschriften von Bunsen ausgeführt, indem die von CO_2 befreiten Gasportionen im Eudiometer mit dem 10- bis 15fachen Volumen Luft gemischt nach Zusatz von Sauerstoff zur Explosion gebracht wurden. Oft waren die Mischungen nicht zur Explosion zu bringen ohne Zusatz von etwas electrolytischem Knallgas. Es wurde möglichst darauf Bedacht genommen, nahe an der Grenze der Entzündbarkeit der Gas Mischung zu bleiben und nicht mehr Knallgas zuzuführen, als gerade erforderlich war, über diese Grenze zu gelangen.

Mit ganz seltenen Ausnahmen wurde bei mehr als 200 in dieser Weise ausgeführten Analysen solcher Gasproben der Cellulosegährung eine Verminderung des Gasvolumens nach der Explosion abgelesen, welche etwas mehr als das Doppelte von derjenigen Volumenabnahme betrug, die nachher durch Absorption der bei der Explosion gebildeten CO_2 mittelst Kalikugel sich ergab. Es musste deshalb angenommen werden, dass in den Gasproben neben Methan noch ein geringer Gehalt an Wasserstoff vorhanden sei, der nach den angestellten Bestimmungen 2 Vol.-Procent des ganzen Gasgemisches selten überstieg, oft unter 0,5 Vol.-Procent blieb.

Auch bei der Bestimmung der durch die Explosion im Eudiometer gebildeten Kohlensäure wurden sehr wasserarme Kalikugeln verwendet und dieselben stets über Nacht im Eudiometer gelassen, auch Sorge getragen, dass Wassertropfen an der Oberfläche des Quecksilbers im Eudiometer ganz vom Kali aufgenommen oder völlig damit gesättigt wurden. In mehr als 20 Analysen wurde nach Entfernung der gebildeten Kohlensäure noch der rückständige Sauerstoff durch Zuleiten eines mässigen Ueberschusses von Wasserstoff und Messung der bei der Explosion entstehenden Volumenverminderung bestimmt. Die Gasvolumina wurden hierbei trocken gemessen, weil von der Kalikugel, welche die CO_2 entfernte, stets geringe Reste an der innern Wandung des Eudiometers zurückblieben, eine vollständige Sättigung mit Wasserdampf sonach ohne Zusatz von Wasser nicht ausführbar war.

In der grössten Mehrzahl dieser Bestimmungen entsprach das aus der Volumenabnahme bei der zweiten Explosion berechnete Sauerstoffvolumen nur dann dem aus der eingebrachten Luft und zugeleiteten Sauerstoff berechneten Volumen, wenn die Differenz zwischen Volumenabnahme bei der Explosion des Methan und etwaigem Wasserstoff einerseits und dem doppelten Volumen der gebildeten Kohlensäure andererseits nicht als Knallgas, sondern als durch anderweitige Oxydation verschwundener Sauerstoff gerechnet wurde. Die Werthe, um die es sich hierbei handelte, waren allerdings

klein, aber die Zuverlässigkeit der Bestimmung wurde durch diese Bestimmungen sehr in Frage gestellt. Die unumgängliche sehr bedeutende Verdünnung mit Luft, welche das fast oder ganz aus reinem Methan bestehende Gas vor der Explosion erhalten musste, hatte zur Folge, dass selbst in den angewendeten sehr langen Eudiometern nur relativ kleine Gasportionen zur Analyse eingebracht werden konnten, um so mehr, als immer noch Raum für etwa zur Entzündung erforderliches Knallgas bleiben musste.

Als bereits der grösste Theil dieser Bestimmungen ausgeführt war, erschien die Beschreibung einer offenbar sehr vortheilhaften Modification der Bunsen'schen Bestimmungsmethode für Kohlenwasserstoffe von Loth. Meyer und C. Seubert¹⁾. Auch diese Methode versprach mir aber keine Aufklärung über An- oder Abwesenheit geringer Volumina von Wasserstoff in den Gährungsgasen, weil die Resultate, welche bei der Analyse von Methan von Meyer und Seubert erhalten sind, gleichfalls eine etwas zu grosse Abnahme des Volumens bei der Explosion ergeben.

Von Hempel²⁾ und ebenso von Winkler³⁾ ist offenbar mit grossem Vortheil die bereits von William Henry⁴⁾ für den Platinschwamm gefundene und zur Analyse verwendete, mit fein vertheiltem Palladium noch besser verwendbare leichte Vereinigung des Wasserstoffs mit Sauerstoff bei mässiger Erwärmung zur Trennung des Wasserstoffs von dem erst bei sehr hoher Temperatur mit Sauerstoff sich verbindenden Methan benutzt. Die von Hempel und von Winkler beschriebenen sehr handlichen Methoden haben jedoch den Nachtheil, dass bei ihnen Wasser als Sperrflüssigkeit dient und deshalb die Volumenmessungen weniger

1) Liebig's Ann. d. Chemie, Bd. 226, S. 87.

2) W. Hempel. Neue Methoden der Analyse der Gase. Braunschweig 1880, S. 71.

3) Cl. Winkler. Lehrbuch der technischen Gasanalyse. Freiburg 1887, S. 86.

4) The Annals of philosophy. New Series, Vol. IX, p. 429, 1825.

genau ausfallen, besonders wenn man befürchten muss, dass sich bei der Verbrennung des Wasserstoffs doch auch etwas CO_2 gebildet hat. Ich habe deshalb, gestützt im Wesentlichen auf die Principien von Hempel und Winkler, einen neuen Apparat construirt, in welchem Quecksilber als Sperrflüssigkeit benutzt ist, in den Gase leicht eingebracht, gemessen, mit anderen Gasen gemischt, über erwärmtes Palladium geleitet, wieder gemessen und die rückständigen Gas-mischungen dann zur weiteren Analyse quantitativ in andere Röhren, Eudiometer etc. übergefüllt werden können, ohne dass der Apparat auseinandergenommen wird. Derselbe ist nach Entleerung der behandelten Gase sofort für eine neue Gasportion zur Trennung von Methan und Wasserstoff in Bereitschaft. In diesem Apparat, der im Anhang beschrieben und abgebildet wird, habe ich zunächst Mischungen von Luft mit kleinen Wasserstoffquantitäten untersucht, dann Gasproben, welche bei Gährung von Fluss- und Kloakenschlamm erhalten und von CO_2 befreit waren, mit gemessenen Quantitäten von Luft gemischt und über das erwärmte Palladium 8- bis 12mal hin- und zurückgeleitet, ohne dass auch nur in einem Falle eine messbare Volumenabnahme sich ergeben hat. Es wurden dann kleine gemessene Quantitäten von Wasserstoff diesen Mischungen hinzugefügt und abermals über das erwärmte Palladium geleitet. In allen Analysen ergab sich eine dem zugeführten Wasser im Verhältniss von 3 : 2 entsprechende Volumenabnahme. Das in grossem Ueberschuss vorhandene Methan blieb völlig unoxydirt, während jede Spur von Wasserstoff mit Sauerstoff in Verbindung trat. Die bei der Gährung von Papier erhaltenen von CO_2 befreiten Gasproben mit Luft gemischt zeigten ebenso wenig eine Volumenabnahme als die aus dem Schlamm erhaltenen Gasproben bei der Einwirkung von erwärmtem Palladium.

Durch diese Versuche habe ich die volle Gewissheit erhalten, dass bei der Gährung von Cellulose mit Schlamm aus Flüssen etc. nur Kohlensäure und Methan entstehe, und nicht, wie ich gestützt auf die Ergebnisse der Verbrennung im Eudiometer bis dahin

angenommen hatte, eine geringe Quantität von Wasserstoff gleichzeitig mit diesen Gasen entwickelt wird.

Da die sämtlichen Angaben über Methanvolumina in diesen Mittheilungen aus den nach der Verbrennung durch Aetzkalikugeln oder 7procentige Natronlauge absorbirten Kohlensäurevolumina sich herleiten, sind dieselben unabhängig von der grösseren oder geringeren Contraction der Gasvolumina bei der Explosion. Nach den in diesen analytischen Bestimmungen gesammelten Erfahrungen bin ich zu der Ueberzeugung gekommen, dass selbst bei sehr geringem Sauerstoffüberschuss und so bemessener Verdünnung mit Stickstoff, dass die Explosion mit einem starken Ruhmkorff'schen Inductor noch gerade zu erreichen ist, doch bei der Verbrennung von Methan eine bemerkbare Activirung von Sauerstoff erfolgt, welche durch Bildung von Ozon oder anderen Oxyden eine messbare Verminderung des Gasvolumens hervorruft und hierdurch den Schein erweckt, als sei etwas Wasserstoff in der Gasmischung vorhanden gewesen.

Wie bereits oben kurz erwähnt ist, erleiden die Verhältnisse der Quantitäten, in denen CO_2 und CH_4 bei der Gärung von Cellulose gebildet und ausgeschieden werden, eine wesentliche Aenderung, wenn der Sauerstoff nicht vollständig ausgeschlossen ist. Dasselbe ist der Fall, wenn Stoffe zugegen sind, welche bei ihrer Reduction Sauerstoff abtreten können, wie Eisenoxyd, Manganoxyde oder Sulfate, oder wenn chlorophyllhaltige Algen zugegen sind und das Sonnenlicht nicht vollständig abgehalten wird. Diesen letzteren Fall habe ich nicht quantitativ in Untersuchung genommen, wenigstens nicht die eintretende Aenderung der entwickelten Gasquantität untersucht. Es lässt sich aber schon im Voraus sagen, dass unter der Einwirkung von Sonnenlicht die grünen Algen einen Theil der gebildeten Kohlensäure sich zu nutze machen werden, indem sie aus derselben Amylum und Sauerstoff bilden. Dieser Sauerstoff wird aber CH_4 im stat. nasc. zerlegen und CO_2 und Wasser bilden, so dass die Entwicklung von Gas überhaupt vermindert wird und CH_4 gar nicht zur Ausscheidung gelangt, soweit diese Einwirkung stattfindet.

Durch einen länger ausgedehnten Versuch wurde aber der Beweis geliefert, dass durch die Einwirkung von Calciumsulfat und Eisenoxyd eine bedeutende Aenderung in den Quantitäten der entwickelten Kohlensäure und des Methan bei der Cellulosegährung herbeigeführt wird.

Am 5. December 1882 wurden in eine Flasche von 1065 cbem. Inhalt eingebracht: 13,090 gr. Filtrirpapier, enthaltend 12,150 gr. reine trockne Cellulose, ferner 34,400 gr. Gyps, lufttrocken gewogen, und 16,000 gr. Eisenoxyd. Es wurde 910 cbem. ausgekochtes Wasser hinzugefügt und eine kleine gemessene Portion Flussschlamm, in welcher 0,2515 gr. organische und 0,7612 gr. anorganische Stoffe enthalten waren. Diese Schlammportion war von einer grössern Quantität Schlamm entnommen, die in verschlossener Flasche im Dunkeln seit Mai 1882, also 7 Monate, aufbewahrt gestanden hatte. Die Flasche mit der Mischung von Papier, Wasser, Schlamm, Gyps, Eisenoxyd wurde mit ausgesuchtem Kautschukstopfen, in dessen Bohrung eine passendgebogene Glasröhre luftdicht eingesetzt war, geschlossen und die Mündung des Glasrohrs unter Quecksilber gebracht. Flasche, Stopfen und Glasrohr waren unmittelbar vor dem Versuche gründlich gereinigt und zuletzt mehrmals mit ausgekochtem Wasser gespült. Das Licht war durch eine übergestülpte dichte Holzkiste abgehalten, die Temperatur blieb die der Luft des Laboratoriums.

In der ersten Zeit nach der Aufstellung fehlte die Gasentwicklung vollständig, sie trat erst $2\frac{1}{2}$ Monate nach der Aufstellung der Flasche ein und das erste mit Quecksilber auf die Mündung des Gasableitungsrohrs gesetzte Absorptionsrohr war erst am 22. April 1883 gefüllt. Von da ab verstärkte sich die Gasentwicklung allmählig bis zum Herbst 1883, liess dann bald nach und hörte schliesslich ganz auf. Es wurden die in folgender Tabelle zusammengestellten Gasportionen aufgefangen und analysirt. Die Zahlen bedeuten Cubikcentimeter bei 0° und 1 m. Quecksilberdruck.

Zeitdauer der Entwicklung.	Gas- quantität.	Darin:	
		CO ₂	CH ₄
Vom 5. Decbr. 1882 bis 22. April 1883	33,556	12,399	4,882
22. April 1883 .. 8. Mai ..	39,646	18,532	5,843
8. Mai 24.	30,422	17,765	7,308
24. 1. Juni	36,481	25,431	9,757
1. Juni 9.	28,028	19,920	7,826
9. 24.	32,094	19,851	11,235
24. 28.	29,733	18,555	10,524
28. 1. Juli	30,310	19,931	9,729
1. Juli 4.	30,170	19,955	9,592
4. 7.	30,829	20,520	10,299
7. 11.	35,793	23,282	11,027
11. 18.	31,568	20,112	11,239
18. 30.	37,643	20,353	16,575
30. 3. August ..	32,372	18,115	13,202
3. August 1. Novbr. ..	248,215	131,436	106,321
1. Novbr. 23. Februar ..	17,356	11,241	1,006
Summe	—	417,398	246,365

Am 23. Februar 1885 wurde die Flasche geöffnet. In ihrem Luftraum von 150 chem. befand sich Gas von der Zusammensetzung:

CO₂ 45,315 Vol. p. Ct.

CH₄ 3,416 » »

N₂ 51,269 » » bei 15° und 757,0 mm. Druck.

Es waren demgemäss darin enthalten CO₂ 62,972 und CH₄ 5,124 chem. für 0° und 0,76 m. Quecksilberdruck berechnet. Nach Bunsen's Absorptionsbestimmungen berechnet waren den Partiardrücken dieser Gase im Luftraume entsprechend in der 910 chem. betragenden Flüssigkeit 410,7 chem. CO₂ von 0° und 0,760 m. Druck und CH₄ in verschwindend geringer Quantität absorbiert enthalten.

Die Flüssigkeit erwies sich bei der Oeffnung der Flasche fast geruchlos, neutral, etwas weisslich getrübt. Sie wurde durch aschefreies Filter von bekanntem Gewicht sogleich filtrirt, das Filtrat auf sehr kleines Volumen im Wasserbade verdampft, dann filtrirt. Von der filtrirten Flüssigkeit wurde

ein gemessener Theil für Reactionen, ein zweiter für die Bestimmung des darin enthaltenen Sulfats benutzt.

Eine Probe der Flüssigkeit durch Natriumcarbonat von Calcium befreit gab mit Natronlauge erwärmt keine Gelbfärbung, eine andere mit Natronlauge und etwas Kupfersulfat erhitzt keine Reduction; eine Spur Kupferoxyd blieb gelöst. Der zweite Theil der Lösung zur Trockne verdunstet gab an Alkohol etwas Natronseife ab, aus der mit Salzsäure und Aether eine Mischung von fetten Säuren erhalten wurde, die bei 49° schmolz, aber dabei nicht klar durchsichtig wurde. Die vom Alkohol nicht gelöste Substanz bestand fast nur aus Calciumsulfat, die organische Substanz wog nur wenige Milligramme. Im Ganzen fanden sich in der filtrirten Flüssigkeit aus der Flasche 1,4109 gr. CaSO_4 und 0,0396 gr. FeCO_3 .

Der Niederschlag auf dem Filter enthielt unverändert gebliebenes Eisenoxyd, Schwefeleisen, Gyps, Calciumcarbonat, Reste vom Papier und vom Schlamm. Dieser Rückstand wurde mit verdünnter Salzsäure behandelt, bis Calciumcarbonat und Schwefeleisen vollständig gelöst waren, dann mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaction ausgewaschen. Im Filtrat und dem Waschwasser wurde der Schwefelsäuregehalt durch zwei Parallelbestimmungen festgestellt. Auf dem Filter blieb noch Calciumsulfat, Eisenoxyd, Schlammreste und Papier. Dieser Rückstand wurde mit dem Filter bei 120° anhaltend getrocknet, nach Abzug des Filtergewichts wog der Rückstand 17,3683 gr. Durch Behandlung mit starker Salzsäure in der Wärme wurde nun das Eisenoxyd allmählig vollständig gelöst. Der aus Gyps und unlöslichen Aschenbestandtheilen des Papiers und Schlammes bestehende Rückstand wurde verascht. Die Asche wog 0,3955 gr. In der Lösung wurden 8,3656 gr. Eisenoxyd und 2,0094 gr. CaSO_4 durch Bestimmung von Eisen, Calcium und Schwefelsäure nachgewiesen. Rechnet man hierzu das Gewicht des Glührückstandes, 0,3955 gr., und zieht die Summe von dem Gewichte des bei 120° getrockneten Rückstandes von 17,3683 gr. ab, so erhält man das Gewicht der rückständigen Cellulose.

und der organischen Reste des Schlammes, als Maximum 6,5978 gr.

Eingebracht waren in die Flasche am Anfang des Versuchs:

Cellulose	12,1500 gr.
Organische Substanz im Schlamm	0,2515 »
Summa	12,4015 gr.
Wiedergefunden im Maximum	6,5978 »
Es sind also durch Gährung entfernt	5,8037 gr.

und wenn man annimmt, dass auch die organische Substanz des Schlammes ganz zersetzt sei, so ergibt sich, dass im Minimum 5,5522 gr. Cellulose des Papiers zu gasförmigen Producten umgewandelt ist. Viel wahrscheinlicher ist es, dass eine Vergrößerung des Gewichtes der Bacterien stattgefunden hat durch Wachstum und Vermehrung derselben und es kann die Zahl 5,8037 unsomewhat als das Minimum der zersetzten Cellulose gelten, als in dem Gewichte für die organischen Stoffe im Schlamm am Anfange und Ende des Versuchs auch das Gewicht des im Thon des Schlammes chemisch gebundenen, beim Glühen entweichenden Wassergehaltes eingegriffen ist und als organische Substanz figurirt.

Am Anfang des Versuchs war 34,40 gr. $\text{CaSO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$ (27,20 gr. CaSO_4) in die Flasche eingebracht und am Ende desselben wurde in der Flüssigkeit und im Niederschlage zusammen im Ganzen 12,7311 gr. CaSO_4 wiedergefunden. Während dem Verlauf der Gährung sind also 14,4689 gr. CaSO_4 zu CaCO_3 und FeS umgewandelt. Wie viel Schwefel-eisen gebildet war, wurde nicht bestimmt. Jedenfalls waren von 16 gr. Eisenoxyd 8,3656 gr. als Fe_2O_3 noch übrig und von den umgewandelten 7,6344 gr. Fe_2O_3 war nur ein kleiner Theil als Carbonat in der Lösung gefunden, das Uebrige wird fast ganz als Sulfür im Niederschlage, der beim Ueber-giessen mit verdünnter Salzsäure sehr bedeutend und anhaltend Schwefelwasserstoff neben CO_2 entwickelte, enthalten gewesen sein.

In Verbindung mit Calcium fand sich als Carbonat im Niederschlage und als Bicarbonat in der Lösung mindestens 4,681 gr. CO_2 , in der Lösung als Bicarbonat an Eisen gebunden 0,030 gr. CO_2 . Im entwichenen Gase waren während der Versuchsdauer aufgefangen 417,398 cbcm. CO_2 von 0 und 1 m. Quecksilberdruck oder 549,208 cbcm. CO_2 von 0 und 0,76 m. Druck. Im Luftraume der Flasche und absorbiert in der Lösung fanden sich noch zusammen 173,672 cbcm. CO_2 von 0° und 0,76 m. Druck. Im Ganzen sind also gasförmig nachgewiesen 1022,880 cbcm. CO_2 , in den Niederschlägen oder überhaupt als Carbonat 4,711 gr. = 2395,5 cbcm. 0,76 m. Druck CO_2 . Neben dieser grossen Quantität von im Ganzen 3418,38 cbcm. CO_2 wurden nur 329,290 cbcm. CH_4 erhalten.

Da in einem Volumen CH_4 unter gleichen Druck- und Temperatur-Verhältnissen ebenso viel Kohlenstoff enthalten ist als im gleichen Volumen CO_2 , so ist im Ganzen in Kohlensäure und Methan während und am Ende des Versuchs gefunden in Summa der Kohlenstoff von 3747,67 cbcm. oder 7,370 gr. CO_2 .

Die bei der Gährung verschwundene Cellulose beträgt nach obiger Berechnung im Minimum 5,8037 gr. Diese Quantität Cellulose enthält so viel Kohlenstoff wie 9,458 gr. CO_2 . Es ist sonach während dem Verlauf des Versuchs Kohlenstoff von 2,09 gr. in nicht aufgefangenen Gasen verloren gegangen.

Wie in dem oben beschriebenen, 4 Jahre hindurch fortgesetzten Versuche mit Papier und Schlamm allein, so hat sich auch bei diesem zuletzt geschilderten Versuche mit Papier, Schlamm, Gyps und Eisenoxyd durch die Zusammensetzung der entwickelten Gase erwiesen, dass durch den Kautschukstopfen hindurch eine Diffusion stattfindet, welche mehr CO_2 als CH_4 verloren gehen lässt. Ausserdem hat die Aufsaugung der Gase vollkommen quantitativ nicht stattfinden können, auch soweit das Gas durch das Quecksilber hindurch sich entwickelte. Es lag auch nur in der Absicht, soweit es unter den gegebenen Verhältnissen möglich war, die gebildeten

Quantitäten CO_2 und CH_4 zu bestimmen. Die Berechnungen der zersetzten Cellulose einerseits und der gebildeten CO_2 und CH_4 andererseits widersprechen deshalb einander durchaus nicht.

Bei den Versuchen mit Schlamm und Papier allein verhielten sich die entwickelten Volumina von CO_2 zu denen des CH_4 ungefähr wie 1 zu 1. In diesem Versuche mit Gyps und Eisenoxyd dagegen ist das Verhältniss 10 Vol. CO_2 zu 1 Vol. CH_4 . Dieser sehr erhebliche Unterschied beweist mit voller Entschiedenheit, dass durch den bei der Umwandlung von Gyps und Eisenoxyd zu CaCO_3 und Eisensulfür frei werdenden Sauerstoff die Bildung von CO_2 sehr erheblich vergrössert und ebenso die des CH_4 verringert ist. Beide Prozesse nämlich 1. der Cellulosezersetzung zu CO_2 und CH_4 und 2. der Reduction von CaSO_4 und Fe_2O_3 lassen sich nicht als von einander unabhängige, neben einander hin verlaufende ansehen, weil bereits gebildetes Methan weder Eisenoxyd noch Calciumsulfat reducirt und ebenso Papier und diese Körper auf einander keine Wirkung zeigen.

Nach der Gleichung $\text{CH}_4 + \text{CaSO}_4 = \text{CaCO}_3 + \text{SH}_2 + \text{H}_2\text{O}$ liefern 17 Gewichtstheile CaSO_4 bei ihrer Reduction den erforderlichen Sauerstoff, um 2 Gewichtstheile CH_4 zu CO_2 und H_2O zu oxydiren. Nach obiger Rechnung sind im letzten Versuche 14,4689 gr. CaSO_4 reducirt, durch sie werden also 1,702 gr. oder 2,379 Liter CH_4 von 0° und 0,76 m. Druck oxydirt sein.

Werden bei der Gährung der Cellulose gleiche Mengen von CO_2 und CH_4 gebildet, so müssten neben den gefundenen 329,3 cbcm. CH_4 noch weitere 2379 cbcm. CH_4 , die durch Gyps oxydirt sind, entwickelt worden sein, wenn kein Gyps zugegen gewesen wäre. Es würden dann 2,7083 Liter CH_4 und ebenso viel CO_2 , zusammen 5,4166 Liter Gas mit 2,9052 gr. Kohlenstoffgehalt, entsprechend 6,537 gr. Cellulose entwickelt sein.

Durch Vergleichung der eingebrachten mit der am Ende des Versuchs wiedergefundenen Cellulose war oben berechnet, dass im Minimum 5,8037 gr. Cellulose zerlegt sei. Es ist aber bereits gesagt, dass der wirkliche Werth etwas grösser

sein müsse. Jedenfalls ist die Differenz in den Resultaten der Berechnung 1. aus den Papiergewichten, 2. aus der Quantität des zersetzten Gypses keine erhebliche unter Verhältnissen, welche einer genaueren Bestimmung manche Hindernisse entgegenstellen. Es ist hierbei in Betracht zu ziehen, dass ein Theil des von dem Gyps gelieferten Sauerstoffs in dem Falle, dass nicht allein FeS , sondern auch FeS_2 gebildet wird, nicht zur Einwirkung auf die Cellulose gekommen ist. Hierfür spricht auch die Bildung von Eisencarbonat, welche, wie oben angegeben ist, sicher nachgewiesen wurde. Die Gleichung $\text{Fe}_2\text{O}_3 + 4 \text{SH}_2 = 2 \text{FeS}_2 + 3 \text{H}_2\text{O} + \text{H}_2$ zeigt, dass mit der Schwefelkiesbildung eine Abspaltung von Wasserstoff, also eine Reduction von Eisenoxyd erfolgen muss.

Die in dem Schlamme von Kloaken, Bächen, Flüssen, Sümpfen u. s. w., ebenso im Schlamme von Mineralquellen sehr oft beobachtete Reduction von Sulfaten und Bildung von Schwefelwasserstoff oder von Schwefeleisen hat man wohl ziemlich allgemein als einen selbstständigen Process aufgefasst, der durch niedere Organismen ausgeführt werde. Die Bacteriologen stützen diese Angaben besonders auf Mittheilungen von Loth. Meyer ¹⁾ und F. Cohn ²⁾, aber ohne genügenden Grund. L. Meyer beweist, dass Landecker Thermalwasser mit Algen in Flaschen eingeschlossen Schwefelwasserstoff bildet, und schliesst mit Recht, dass eine Reduction von Sulfat zu H_2S hier geschehe durch Prozesse, welche durch die Algen eingeführt würden. Hiermit ist weder einer bestimmten Species der Process zugewiesen, noch derselbe als unabhängig von andern dargestellt, sondern einfach die beobachtete Thatsache geschildert. In der im Uebrigen höchst interessanten und wichtigen citirten Abhandlung von Cohn ist zuerst angegeben, dass die Beggiatoen des Meerwassers im höchsten Maasse die Fähigkeit besitzen, Schwefelwasserstoff zu entbinden. Er sagt auch, dass die abgestorbenen

¹⁾ Journ. f. pract. Chemie v. Erdmann u. Werther, Bd. 91 S. 5, 1864.

²⁾ Archiv f. mikroskop. Anatomie v. Max Schultze, Bd. III S. 54, 1867.

Beggiatoen und Oscillarien überhaupt Schwefelwasserstoff entwickeln. Die Schwefelwasserstoffbildung würde sonach von ihm nicht als Lebensact der Beggiatoen aufgefasst. Seine Beobachtungen sind ebenso wie die von Loth. Meyer vollkommen richtig, aber sein Schluss, dass die Beggiatoen des Meer- oder Thermalwassers Schwefelwasserstoff bildeten, ist ebenso unrichtig, wie der später von Anderen weiterhin abgeleitete Schluss, dass die in den Beggiatoen ganz gewöhnlich innerhalb der Zellen auftretenden Schwefelkörnchen einen Beweis hierfür gäben. Dies Auftreten der Schwefelkörnchen beweist ganz bestimmt, dass in den Beggiatoen Schwefelwasserstoff unter Schwefelabscheidung zersetzt wird, und dieser Process kann nur als ein Oxydations-, nicht als Reductionsprocess aufgefasst werden.

Die Beggiatoen überziehen Schlamm Massen, in denen Reduction von Sulfaten zu Sulfiden geschieht, und sie ertragen dies, indem sie den Schwefelwasserstoff zerlegen. Zu der Reduction der Sulfate gehören aber Energien, welche nur durch andere Prozesse geliefert werden können, welche kräftige Affinitäten zum Sauerstoff in Action treten lassen und zwar kräftigere Affinitäten, als wir sie vom Wasserstoff im Entstehungszustande kennen.

So wie sich in dem obigen Versuche die Reduction des Sulfats an die Cellulosegährung anschliesst, findet sie auch statt, wenn statt der Cellulose milchsaurer Kalk oder ameisen-saurer Kalk oder Eiweissstoffe durch Schlamm bei Luftausschluss zur Gährung gebracht werden. Sie ist für sich nicht denkbar und stets nur ein secundärer Process, ebenso wie die Oxydation bei Gährungen unter Zutritt von Sauerstoff.

Die hier gegebene Erklärung bezüglich der Thätigkeit der Beggiatoa stimmt auch allein zu der Beschreibung, welche Engler ¹⁾ von dem weissen oder todten Grunde in der Kieler

¹⁾ Ad. Engler, Ueber die Pilzvegetationen des weissen oder todten Grundes der Kieler Bucht. Vierter Bericht der Commission zur wissenschaftlichen Untersuchung der deutschen Meere in Kiel 1878—1881. VII. bis XI. Jahrgang. Berlin 1881.

Bucht giebt. Es wird hier gesagt, dass wenn sich die Decke von *Beggiatoa alba* gebildet hat, der unangenehme Geruch aufhöre und nun sich die Decke ein oder mehrere Tage unverändert erhalte. Ueber der unverletzten *Beggiatoadecke* riecht es, so viel ich selbst beobachtet habe, gar nicht nach H_2S , wohl aber sobald man die Decke durchbricht.

In der Flüssigkeit und dem Niederschlage, die beim Oeffnen der Flasche bei dem von mir oben geschilderten Verfahren zur Beobachtung kamen, fanden sich nur die Formen, die ich für *Amylobacter* halte, von *Beggiatoafäden* waren keine Spuren zu finden. Nach meinen Erfahrungen stirbt *Beggiatoa* ab, wenn ihr die Sauerstoffzufuhr ganz abgeschnitten wird.

Da in dem obigen Versuche erwiesen wurde, dass der Sauerstoff des Calciumsulfats zur Bildung von CO_2 aus der Cellulose an Stelle von Methan verwendet ist, ergibt sich auch die Abhängigkeit und das Zusammenwirken der Gährung und Reduction. Der Sauerstoff wandert beim Zerfall der Cellulose vom Calcium und Schwefel an die Kohlenstoffatome, welche aus dem Verbande des Kohlehydrats herausgelöst, je nach den vorhandenen Verhältnissen, in neue Verbindungen eintreten, entsprechend den Affinitäten, welche die Oberhand gewinnen.

Wären beide Prozesse, 1. die Methankohlensäuregährung der Cellulose und 2. die Reduction des Sulfats nebeneinander und unabhängig von einander verlaufen, so würde die Bildung von Methan in demselben Verhältniss stattgefunden haben, wie in dem oben geschilderten Versuche ohne Gyps und Eisenoxyd.

Die in dem Versuche zugesetzten Gyps- und Eisenoxymengen würden ausgereicht haben, um die Cellulose ganz zu CO_2 und H_2O zu oxydiren, aber die Reduction geschieht natürlich nur dann, wenn an Ort und Stelle, wo die Spaltung eintritt, auch die genügende Menge Gyps stets vorhanden ist.