

Formel $C_8H_8Ag_2O_5$ verlangt 24.0 pCt. Kohlenstoff, 2.0 pCt. Wasserstoff und 54.0 pCt. Silber.)

Indem ich eine Reihe von Versuchen, die einzelnen bei der sehr complicirten Reaction zwischen Zucker und Kalk entstehenden Substanzen rein zu erhalten, übergehe, möchte ich am Schluss nur noch einmal bemerken, dass ich lediglich deshalb, weil ich augenblicklich an der Fortsetzung dieser Untersuchung verhindert bin, diese lückenhaften Resultate der chemischen Gesellschaft übergebe, dass ich aber die Absicht habe, später diese Reaction eingehend zu studiren, um nachzuweisen, dass das Metaceton und das Isophoron in keinem Falle der Condensation des Acetons ihre Entstehung verdanken.

Berlin. Laboratorium der Thierarzneischule.

332. H. Tappeiner: Ueber Cellulosegährungen.

(Eingegangen am 10. Juli.)

In einer früheren Mittheilung¹⁾ habe ich gezeigt, dass man in Flaschen, die mit 1 pCt. Fleischextraktlösung und fein vertheiltem Papier oder Baumwolle gefüllt und sterilisirt waren, durch Zusatz einer kleinen Menge Inhalts des ersten Magens der Wiederkäuer eine Gährung erzeugen kann, welche zu einer fast vollständigen Auflösung der angewandten Cellulose führt.

Die Untersuchung der entwickelten Gase und die Prüfung der Reaction gab sodann das Resultat, dass hierbei zwei Cellulosegährungen entstehen können, eine wobei nur Kohlensäure und Wasserstoff, die andere wo nur Kohlensäure und Grubengas entwickelt werden, beide aber zur Bildung organischer Säuren führen.

In dieser Mittheilung wurde zum ersten Male durch ein Experiment bewiesen, dass auch Cellulose eine vergärbare Substanz sei. Die bisherigen einwurfsfreien Angaben über Cellulosegährung bezogen sich nur auf mikroskopische Wahrnehmungen. Das heisst, man beobachtete, dass gewisse Bakterien Zellwände anzufressen, ja selbst zu durchbohren vermochten, was darauf hindeutete, dass sie Cellulose zu lösen im Stande seien.

Ich habe diese Cellulosegährungen seither nach mehreren Richtungen verfolgt und gebe das bisher Erlangte in seinen Hauptresultaten hier wieder, wenngleich dasselbe in vielen Punkten noch keinen Ab-

¹⁾ Diese Berichte XV, p. 1001, wo in der Ueberschrift H. Tappeiner statt W. Tappeiner zu lesen ist.

schluss erfahren hat. Bezüglich der allgemeinen Methode, die ich bei allen meinen Gährungsversuchen angewandt habe, schicke ich das Folgende voraus. Zu den Versuchen verwandte ich dickwandige Flaschen mit eingeriebenem Stöpsel. Nachdem dieselben mit der Nährlösung resp. mit der Cellulose bis nahezu an den Hals gefüllt und auf Kochtemperatur vorgewärmt waren, wurden sie fest verschlossen und eine starke mit dicken Lagen von Baumwolle gefütterte Leinwandkappe übergestülpt. Sie wurden hierauf im Dampftrichter mindestens 3 Stunden einer Temperatur von 110—120° ausgesetzt. Nach der Herausnahme und dem Erkalten wurden die Stöpsel erst vorsichtig gelockert, damit bei der Druckausgleichung erst alle Luft durch die Baumwollkappe zu streichen gezwungen war. Hierauf wurden Kappe und Stöpsel entfernt, inficirt und ein bereit gehaltenes mit Kautschukstöpsel versehenes Gasentwicklungsrohr fest in den Hals eingedreht und die Flaschen sogleich in den auf 38—40° geheizten Thermostaten übertragen, wobei das Ende des Entwicklungsrohres in einen kleinen mit Quecksilber gefüllten Trog eintauchte, aus dem dann die Gase aufgefangen wurden. Stöpsel und Entwicklungsrohr waren ebenfalls vorher sterilisirt und während des Erkaltens gegen den Zutritt unfiltrirter Luft geschützt. Um eine direkte Berührung des Stopfens mit der Hand beim Eindrehen zu vermeiden, trug derselbe vielfach eine Kappe von Baumwolle, die dann den weiteren Vortheil hatte, dass ein Auffallen von Staub auf Stopfen und Hals der Flasche während der Gährung nicht mehr stattfinden konnte.

I. Cellulose-Sumpfgasgährung.

Diese Gährung stellt sich in einprocentiger neutraler Fleischextraktlösung ein, die gereinigte Baumwolle oder Papierbrei suspendirt enthält und mit etwas Inhalt vom Pansen inficirt wird. Die Gährung beginnt nach einigen Tagen (etwas eingeschlossene Luft befördert den Eintritt) und verläuft zuerst rascher dann langsamer, um nach 1 bis 4 Wochen zum Stillstand zu kommen. Die hierbei entwickelten Gase bestehen aus CO₂, Spuren von SH₂ und CH₄. Das Verhältniss zwischen CO₂ und CH₄ erfährt im Verlaufe der Gährung eine Aenderung in der Weise, dass die Menge der CO₂ ab, die des CH₄ zunimmt.

Papiergährung			
Anfang		Ende	
CO ₂ }	85.48	CO ₂ }	76.98 pCt.
SH ₂ }		SH ₂ }	
H	0.03	CH ₄	23.01 »
CH ₄	11.86	CH ₄ : CO ₂ = 1 : 3.4	»
N	2.73		
CH ₄ : CO ₂ = 1 : 7.2			

Nach Schluss der Gährung findet man die Reaktion regelmässig sauer und die angewandte Cellulose entweder nahezu vollständig oder doch um 50 pCt. (durch Wägen der Cellulose vor und nach der Gährung constatirt) verbraucht. Zur Untersuchung der nicht gasförmigen Gahrungsprodukte wurde die Flüssigkeit nach der Filtration mit Schwefelsäure angesäuert und destillirt. Es gehen grosse Mengen flüchtiger Säuren über, weit mehr als aus der Stärke der Reaktion am Ende der Gährung zu erwarten ist. Ein Beweis, dass während der Gährung auch basische Produkte (wahrscheinlich Ammoniak) aus dem Extrakte gebildet werden, welche die sauren Gahrungsprodukte zum Theil neutralisiren. — Die sauren Destillate wurden in Fraktionen aufgefangen und mit kohlensaurem Kalk versetzt. Das erste Destillat wurde sodann nochmals destillirt. Die ersten 10—20 ccm dieses neutralen Destillates hatten einen dem Acetylaldehyd ähnlichen Geruch und gaben in der That die Reaktionen eines Aldehyds. Mit Tollenscher Silberlösung entstand sogleich Braunfärbung und nach einigem Stehen im Dunkeln ein gut ausgebildeter Silberspiegel. Auf Zusatz von Kalilauge färbte eine Probe des Destillates sich gelb, dann braun unter Entwicklung eines stechenden Geruchs, beim längeren Stehen schied sich eine rothbraune harzartige Masse aus. Mit Diazobenzolsulfosäure endlich wurde, schon ohne Zusatz von Natriumamalgam eine schöne rothe, in's violette spielende Färbung erzeugt. Auf Zusatz von Jod und Natronlauge schieden sich Jodoformkrystalle aus. Die Jodoformreaktion verschwand in den Destillaten gleichzeitig mit den Aldehydreaktionen. Dies spricht mit grosser Wahrscheinlichkeit dafür, dass dieser Aldehyd (vermuthlich Acetylaldehyd) nicht erst durch die Destillation aus einem anderen, die Jodoformreaktion gebenden Körper (Alkohol z. B.) sich gebildet haben kann, sondern bei der Gährung selbst entstanden ist, eine Beobachtung, die meines Wissens bisher bei keiner anderen Gährung gemacht wurde.

Ueber die fraktionenweise aufgefangenen flüchtigen Säuren wurde Folgendes ermittelt. Die zuerst erhaltene Säure ging in öligen Tropfen über, die in mehr Wasser zu einer klaren Flüssigkeit sich lösten. Die Lösung hatte ausgesprochenen Buttersauregeruch. Mit kohlensaurem Kalk versetzt und heiss eingeengt, erstarrte sie beim Erkalten zu einem steifen Krystallbrei, der, wieder erwärmt, sich vollständig löste. Sämmtliche Fraktionen, welche dieses Verhalten zeigten, wurden vereinigt. Aus der heissen concentrirten Lösung derselben schied sich beim Erkalten ein aus kurzen Prismen und Nadeln zusammengesetzter Krystallbrei aus, dessen Analyse Folgendes ergab:

	Berechnet	Gefunden
$2(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2)$	75.00	— pCt.
Ca	17.24	17.55 >
H_2O	7.75	9.00 >

Ein Theil dieses Kalksalzes in das Silbersalz umgewandelt, krystallisirte aus heiss gesättigter Lösung beim Erkalten in Nadeln und gab

	Berechnet	Gefunden
$(C_4H_7O_2Ag)$	55.38	55.88 pCt.

Die heiss concentrirte Mutterlauge, aus der das Kalksalz gewonnen worden war, erstarrte beim Erkalten nochmals zu einem Krystallbrei, der diesmal aus längeren, von gemeinsamen Punkten ausstrahlenden Nadeln gebildet war. In das Silbersalz übergeführt, wurden aus der heiss gesättigten Lösung beim Erkalten büschelförmig vereinigte Nadeln erhalten, von der Zusammensetzung:

	Berechnet für			Gefunden
	Essigsäures Silber	Propionsäures Silber	Buttersäures Silber	
C	14.37	19.89	24.62	18.32 pCt.
H	1.80	2.76	3.58	2.81 »
Ag	64.67	59.67	55.38	60.30 »

Ueber die hier vorliegenden Säuren enthalte ich mich vorläufig eines bestimmten Urtheils. Die Säure der ersten Krystallisation steht der Isobuttersäure in manchen Eigenschaften (beschränkte Löslichkeit in Wasser, leichte Löslichkeit des Kalksalzes in heissem Wasser) sehr nahe, unterscheidet sich aber von ihr durch die Krystallform und den Krystallwassergehalt des Kalksalzes, sowie durch die Krystallform des aus heisser Lösung abgetrennten Silbersalzes. Die zweite Krystallisation des Kalksalzes scheint ein Doppelsalz dieser Säure mit Essigsäure gewesen zu sein. Aus der Mutterlauge der zweiten Krystallisation schieden sich bei weiterer Einengung breite Nadeln und Blättchen aus, die den Kalkgehalt der Essigsäure besaßen.

Gefordert $2(C_2H_3O_2)Ca$	Gefunden
25.32	25.26 pCt.

Auch die nicht mehr zu Krystallbrei erstarrenden Kalksalzlösungen der späteren Destillationen führten bald auf die Zusammensetzung der Essigsäure.

Gefordert f. $C_2H_3O_2Ag$	Gefunden
64.67	64.62 pCt.

Ameisensäure war auch in den letzten sauer übergehenden Destillaten mit Sicherheit nicht nachzuweisen. Die flüchtigen Fettsäuren und darunter die Essigsäure sind, abgesehen von den Gasen, jedenfalls die Hauptprodukte, in welche die Cellulose bei der Gährung übergeführt wurde. Genauere quantitative Bestimmungen sind erst in Aussicht genommen; bei einem vorläufig angestellten Versuch wurden aus 5.5 g gelöster Baumwolle 5.8 g flüchtiger Säuren erhalten.

Die eben behandelte Cellulose Sumpfgasgährung lässt sich nicht bloß künstlich in der beschriebenen Weise erzeugen, sondern ist auch

ein Process, der in grossem Umfange im Verdauungskanale der Pflanzenfresser, und zwar in den Vormägen der Wiederkäuer, im Dickdarm des Pferdes und der Wiederkäuer abläuft. Die Thatsachen, dass an diesen Orten Lösung von Cellulose durch Gährung¹⁾, Entwicklung von Kohlensäure und Grubengas in gleichen Verhältnissen wie bei der künstlichen Cellulosegährung (7 : 1 im Anfange, 3 : 1 am Schlusse der Gährung)²⁾ sowie Bildung derselben flüchtigen Produkte — Aldehyd und reichliche Mengen von niederen Fettsäuren, und zwar vorwiegend Essigsäure, daneben aber auch die Säure von der Zusammensetzung der Buttersäure und dem charakteristischen Verhalten ihres Kalksalzes — stattfindet, lassen kaum eine andere Deutung zu. Das Nähere über diese zuletzt erwähnten Beobachtungen, sowie über die Schlüsse, welche sich hieraus in Bezug auf die Bedeutung der »Celluloseverdauung« für die thierische Ernährung ziehen lassen, sollen demnächst in einer ausführlichen Mittheilung behandelt werden.

II. Cellulose-Wasserstoffgährung.

Diese Gährung wird beobachtet, wenn in den sonst in gleicher Weise behandelten Gährungsflaschen die neutrale einprocentige Fleischextraktlösung ersetzt wird 1. durch eine solche von schwach alkalischer Reaction, 2. durch eine einprocentige Fleischextraktlösung, die zu gleichen Theilen mit Wasser verdünnt war, das in 100 Theilen nach der Vorschrift von Nägeli enthielt K_2HPO_4 0.2 g, $MgSO_4$ 0.04 g, $CaCl_2$ 0.02 g, welche Flüssigkeit ich in der Folge als Nägeli'sche Salzlösung bezeichnen werde, 3. durch wässrige Lösungen, die in 100 Theilen die genannten Salze und ausserdem als stickstoffhaltigen Körper enthielten entweder 0.35 Ammoniumacetat, 0.3 Acetamid oder 0.6 Asparagin.

In allen diesen Fällen entwickelten sich einige Tage nach der Infektion mit etwas Panseninhalt reichliche Mengen von Gas, welche von Anfang bis zu Ende nur aus Kohlensäure und Wasserstoff neben Spuren von Schwefelwasserstoff bestehen, wie die folgenden Analysen, zu welchen Proben des gesammten, bei einem Versuche entwickelten Gases verwendet worden waren, bezeugen.

$\frac{1}{2}$ pCt. Fleischextraktlösung	Asparaginlösung	Acetamidlösung
CO_2 } 55.39	CO_2 } 86.47	CO_2 } 78.14 pCt.
SH_2 }	SH_2 }	SH_2 }
H 42.71	H 5.73	H 13.68 >
N 1.90	N 7.80	N 8.18 >

¹⁾ Diese Berichte XV, 1000.

²⁾ Diese Berichte XIV, 2375 u. f..

Die entwickelten Gase können (abgesehen vom Stickstoff, der wohl nur von der eingeschlossenen atmosphärischen Luft herrührt) nur aus vergohrener Cellulose stammen, denn in Controlflaschen welche analog behandelt worden wären, aber keine Cellulose enthielten, trat keine Gasentwicklung ein und der Verbrauch von Cellulose konnte in allen Fällen durch die Waage constatirt werden.

Die Beobachtungen einer zweiten Art von Cellulosegährung, welche ich Cellulose-Wasserstoffgährung zu nennen vorschlage, haben nicht blos für die Gährung der Cellulose, sondern auch für die Gährungsvorgänge im Allgemeinen Bedeutung. Sie zeigen insbesondere, wie scheinbar geringfügige Aenderungen in der Beschaffenheit der Nährlösung die Zersetzung derselben Substanz, wenigstens nach gewissen Richtungen hin (Entwicklung der brennbaren Gase), vollständig umgestalten können. Die Gründe, weshalb der Wechsel der Nährlösung die Gährung verändert, ob dadurch die Thätigkeit ein und derselben Spaltpilzform modificirt wird oder ob die beiden Cellulosegährungen durch zwei verschiedene Spaltpilzformen verursacht werden, deren Gedeihen dann in einer ausserordentlich engen Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Nährlösung stehen würde, lassen sich nur durch Reinculturen aufdecken, die ich bisher nicht durchgeführt habe.

Morphologische Verschiedenheiten der an beiden Gährungen theiligten Bacterien habe ich bisher nicht finden können. Beachtenswerth für die aufgeworfene Frage ist auch die Beobachtung, dass beide Cellulosegährungen in derselben Flasche neben und nach einander auftreten können, wobei immer die Sumpfgascellulosegährung allmählich das Uebergewicht erhält.

Die Untersuchung der sonstigen bei der Cellulose-Wasserstoffgährung entstehenden Produkte beschränkte sich bisher auf die Ermittlung der flüchtigen Bestandtheile, in die, wie es scheint, auch bei dieser Gährung der grösste Theil der zersetzten Cellulose verwandelt wird. Die Untersuchung wurde in derselben Weise wie bei der Cellulose-Sumpfgasgährung geführt und führte merkwürdigerweise zu fast gleichen Ergebnissen.

Das erste Destillat gab in gleicher Deutlichkeit wie früher sämtliche Aldehydreaktionen. Nach dem Verschwinden derselben aber gab das nachfolgende noch gute Jodoformreaktion. Mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure oxydirt entstand eine flüchtige Säure, die nach Geruch und Verhalten zu Eisenchlorid als Essigsäure anzusprechen war. Es scheint demnach bei der Cellulose-Wasserstoffgährung ausser Aldehyd noch ein alkoholartiger Körper (vielleicht Aethylalkohol) in kleinen Mengen zu entstehen. Das Destillat färbte sich ausserdem auf Zusatz von Alkohol (zu gleichen Theilen) etwas Anilin und Salzsäure eben erkennbar roth (Furfurol?). Die flüchtigen Säuren verhielten sich in Zusammensetzung und Eigenschaften ganz so wie bei der Cellulose-

Sumpfgasgährung. Zuerst erschien die der Isobuttersäure ähnliche Säure, die Hauptmenge aber bildete Essigsäure.

Eine nicht uninteressante Frage ist die nach dem Vorkommen dieser Cellulosegährung in der Natur. Eine Entwicklung von Wasserstoff durch Gährung ist meines Wissens auf der Erdoberfläche bisher nicht beobachtet worden. Es sind jedoch Anzeichen vorhanden, die einen solchen Vorgang als einen nicht selten stattfindenden erscheinen lassen. Schliesst man Wiesenheu mit Wasser und etwas Luft in eine Flasche ein, deren Hals in eine unter Quecksilber tauchende Röhre sich fortsetzt, so beginnt sehr bald eine starke Entwicklung von Gas von der Zusammensetzung:

CO ₂	51.15	pCt.
H	44.58	»
CH ₄	0.09	»
N	4.18	»

Aus dem Inhalte lassen sich dann durch Destillation bedeutende Mengen von flüchtigen Säuren, die grösstentheils aus Essigsäure bestehen, gewinnen, die ersten Destillate gaben auch sehr deutliche Alkohol- und Aldehydreaktionen. Man sollte nun glauben, die Bedingungen für die beschriebene Gährung müssten auf der Erdoberfläche, wo vertrocknete Pflanzentheile mit Wasser unter geringem Luftzutritt häufig zusammentreffen, nicht selten sich finden. Sollten vielleicht die im Moor- und Torfwasser gefundenen flüchtigen, niederen Fettsäuren auf diese Quelle sich zurückführen lassen? Ich hoffe noch den Beweis zu erbringen, dass bei der beschriebenen Heugährung Cellulose die Substanz ist, welche in die aufgeführten Produkte zerfällt.

Bei diesen Untersuchungen hat mich im chemischen Theile derselben Hr. F. Strauss eifrigst unterstützt.

333. H. Tappeiner: Ueber die Sumpfgasgährung im Schlamme der Teiche, Sümpfe und Kloaken.

(Eingegangen am 10. Juli.)

Die Frage, welche Substanz bei dieser Gährung im Schlamme zersetzt wird, muss noch als eine offene bezeichnet werden, denn die bisher veröffentlichten Versuche, welche beweisen sollten, dass diese Substanz Cellulose sei, indem sie zeigten, dass man durch Zusatz von Kloakenschlamm in Wasser suspendirtes Papier vergähren könne, lassen zwei Einwände zu:

1. Es waren, wie es scheint, die bei diesen Versuchen verwandten Materialien (Gefässe, Papier, Wasser u. s. w.) nicht sterilisirt, wenig-