

Über die Wirkung des elektrischen Stromes auf die Arbeit der Fermente der alkoholischen Gärung.

Von **W. Palladin** und **H. Millak**.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität St. Petersburg.)

Einer der Verfasser hatte die Ansicht ausgesprochen, daß sowohl das anaerobe Stadium der Atmung, wie auch die alkoholische Gärung aus einer Aufeinanderfolge oxydierender und reduzierender Reaktionen auf Kosten des Wassers besteht¹⁾. In neuester Zeit hat Neuberg²⁾ sowohl die Teilnahme des Wassers an der alkoholischen Gärung, als auch die Bildung von Wasserstoff-Ionen anerkannt. „Alle Phasen des Abbaus, die vor der Brenztraubensäure liegen, sind im weitesten Sinne des Wortes Hydrolysen und Umlagerungen, bewirkt durch Abspaltung und Aufnahme von H_2O . Auf einen Punkt möchten wir noch die Aufmerksamkeit lenken, der von hohem Interesse für die Kenntnis der Operationsmechanismen der Zelle zu sein scheint. Der Übergang des neutralen Zuckers, der nach den Untersuchungen von Michaelis und Rona als eine äußerst schwache Säure mit der Dissoziationskonstante $6,6 \cdot 10^{-13}$ aufgefaßt werden kann, in Brenztraubensäure (Dissoziationskonstante $5,6 \cdot 10^{-1}$) bzw. die nahe verwandte Milchsäure (Dissoziationskonstante $1,38 \cdot 10^{-4}$) bedeutet eine gewaltige Produktion von H-Ionen.“ Da eine direkte Bestimmung des Wasserverbrauchs in den verschiedenen Stadien der alkoholischen Gärung einstweilen experimentell nicht möglich ist, so machen wir in der vorliegenden Arbeit den Versuch, die Teilnahme des Wassers an der alkoholischen Gärung klarzustellen, indem wir die Wirkung des konstanten wie des Wechselstroms auf die Arbeit der Fermente der alkoholischen Gärung untersuchen. Bei dieser Arbeit

¹⁾ W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie. **1**, 1912, S. 91. Der erste Autor, welcher angab, das Wasser nehme an der alkoholischen Gärung Anteil, war M. Trauber, Theorie der Fermentwirkungen. Berlin 1858, S. 105.

²⁾ C. Neuberg und J. Kerb, Biochem. Zeitschr. **53**, 1913, S. 418 u. 419.

wird man im Auge behalten müssen, daß der elektrische Strom nicht nur auf das Ausgangsmaterial, die Zwischen- und Endprodukte der Gärung einwirkt, sondern auch auf die Fermente. So hat Renard¹⁾ während der Elektrolyse die Oxydation verschiedener Alkohole und der Glukose, Hardy²⁾ eine Veränderung der Eiweißstoffe beobachtet. Neuberg³⁾ führt eine Reihe von Substanzen an, welche unter der Einwirkung des konstanten Stromes zerfallen. W. Loeb⁴⁾ teilt eine Reihe von Zerfallsprodukten der Glukose mit. Schepss⁵⁾ hat die elektrolytische Reduktion von Aldehyden studiert. Auch auf Fermente übt der elektrische Strom eine starke Wirkung aus. Henry mit seinen Mitarbeitern⁶⁾, sowie Michaelis⁷⁾ haben in einer Reihe von Arbeiten nachgewiesen, daß die einen Fermente nach der Anode wandern, andere dagegen nach der Kathode. Eine derartige Wanderung steht in Abhängigkeit von der Reaktion des Mediums. Diese Untersuchungen befinden sich in völliger Übereinstimmung mit den früheren Untersuchungen von Michaelis⁸⁾ über die Adsorption der Fermente. Der elektrische Strom kann auch eine schädliche Wirkung auf die Fermente ausüben⁹⁾.

Untersuchungen über die Abänderung der Arbeit von Fermenten unter der Einwirkung des elektrischen Stromes liegen in nur geringer Anzahl vor. Für die Fermente der alkoholischen Gärung liegt nur die eine Arbeit von Resenschek¹⁰⁾ vor. Dieser Autor unterwarf nach Buchner zubereiteten Hefepreßsaft zuvor der Einwirkung der Elektrolyse und fügte sodann zu der Anode- und der Kathodeportion Saccharose hinzu. Dauerte die Elektrolyse nur kurze Zeit, so war in der Anodeportion im Vergleich zu der Kontrollportion eine Herabsetzung der Gärung, in der Kathodeportion hingegen eine Verstärkung derselben zu

¹⁾ A. Renard, *Annales de chimie et de physique*, (5) **17**, 1879, S. 289.

²⁾ W. B. Hardy, *Journal of physiology* **24**, 1899, S. 288.

³⁾ C. Neuberg, *Biochem. Zeitschr.* **7**, 1908, S. 527; **17**, 1909, S. 271.

⁴⁾ W. Loeb, *Biochem. Zeitschr.* **17**, 1909, S. 132, 343; **22**, 1909, S. 103.

⁵⁾ W. Schepss, *Berichte d. D. chem. Gesellschaft*, **46**, 1913, S. 2564.

⁶⁾ P. Cernovodeanu et V. Henri, *Soc. de Biol.* 20 avril 1907, S. 669; Bierry, V. Henri et Schaeffer, *Soc. de Biol.* 27 juill. 1907, S. 226; V. Henri, *Biochem. Zeitschr.* **16**, 1909, S. 473.

⁷⁾ L. Michaelis, *Biochem. Zeitschr.* **16**, 1909, S. 81, 486; **17**, 1909, 231; **19**, 1909, S. 181; **53**, 1913, S. 320.

⁸⁾ L. Michaelis und M. Ehrenreich, *Biochem. Zeitschr.* **10**, 1908, S. 283; **15**, 1909, S. 196.

⁹⁾ T. Rudo, *Biochem. Zeitschr.* **16**, 1909, S. 233; A. Lebedeff, *Ibid.* **17**, 1909, S. 188; Iscovesco, *Soc. d. Biol.* **67**, 1909, S. 197, 292.

¹⁰⁾ F. Resenschek, *Biochem. Zeitschr.* **9**, 1908, S. 255.

bemerken. Nach lange andauernder Elektrolyse wurde die Gärung in beiden Portionen abgeschwächt. Durch die Elektrolyse von gepreßtem Hefepreßsaft wurde dessen stimulierende Wirkung herabgesetzt. Die Kathodeportionen übten noch fortgesetzt eine stimulierende Wirkung aus, wenn auch in schwächerem Maße, während die Anodeportionen eine schädliche Wirkung auf die Gärung ausübten. Michaelis und Rona¹⁾ konnten auf Grund ihrer Untersuchungen über die Adsorption von Buchnerschem Saft ebenso wenig zu einem bestimmten Resultat gelangen. Nach ihrer Ansicht ergibt es sich, daß „Zymase ein elektroindifferenter (also nicht amphoterer!) Stoff ist“. Ganz besonderes Interesse bietet die Arbeit von Rohonyi²⁾, der es sich zur Aufgabe gestellt hat, den Mechanismus der Arbeit der Fermente aufzuklären. Seine Vorgänger vermuteten, daß man den Mechanismus der Fermentwirkung auf Grund der Theorie der elektrischen Dissoziation erklären könne³⁾, und daß die Ionen der Fermente der wirkende Teil seien⁴⁾. Rohonyi fand, daß während der Wirkung von Diastase und Invertin die Konzentration der Wasserstoff-Ionen unverändert bleibt und behauptet, seine Versuche sprächen gegen eine Bildung von Ionen aus dem Lösungsmittel und dem Substrat. Es liegt kein Grund vor, die Resultate der Rohonyischen Versuche auf die Fermente der alkoholischen Gärung zu verallgemeinern. Bei der alkoholischen Gärung erfolgt eine Entfärbung von Methylenblau, während durch die Versuche von Platischewsky⁵⁾ mit Diastase, Takadiastase und Emulsin nachgewiesen worden ist, daß die genannten Fermente weder in wässrigen Lösungen, noch bei Anwesenheit von Stärke, Hühnereiweiß und Arbutin, noch endlich bei Anwesenheit von Acetaldehyd Methylenblau reduzieren. Ferner wird durch das Methylenblau, wie dies die Untersuchungen von Lvoff⁶⁾ bewiesen haben, die alkoholische Gärung gehemmt. Nach den Versuchen von Platischewsky übt das Methylenblau dagegen keinerlei Wirkung auf die Arbeit der Diastase und des Emulsins aus. Nimmt man nach Bach⁷⁾ an, daß die Reduktion auf Kosten des Wasserstoffs des Wassers vor sich geht, so folgt hieraus, daß während der alkoholischen Gärung ein

¹⁾ L. Michaelis und P. Rona. *Biochem. Zeitschr.* **15**, 1909, S. 217.

²⁾ H. Rohonyi, *Biochem. Zeitschr.* **34**, 1911, S. 176.

³⁾ O. Nasse. *Malys Jahrb.* 1894, S. 718.

⁴⁾ J. Loeb, *Biochem. Zeitschr.* **19**, 1909, S. 534.

⁵⁾ In einer noch nicht veröffentlichten Arbeit.

⁶⁾ L. Lvoff, *Bulletin Academ. Soc. St. Pétersbourg* 1913, S. 501; *Zeitschr. f. Gärungsphysiol.* **3**, 1913, S. 289.

⁷⁾ A. Bach, *Biochem. Zeitschr.* **31**, 1911, S. 443; **33**, 1911, S. 282.

Zerfall des Wassers in Ionen vor sich geht, daß aber während der Arbeit der Diastase, der Takadiastase und des Emulsins ein solcher Prozeß nicht beobachtet werden kann.

Für den Versuch wurde abgetötete Hefe (Hefanol und Lebedeffsche Trockenhefe) verwendet. Der angewandte Rezipient ist in Fig. 1 dargestellt. Er besteht aus zwei Teilen von je 50 ccm, welche durch ein Glasrohr *a* von 10 cm Länge und 1 cm Durchmesser miteinander verbunden sind. Dieses Rohr wurde vor Beginn des Versuches mit einer 10%igen Gelatinelösung gefüllt, welcher, um sie leitfähig zu machen, etwas Chlornatrium und mit Ätznatron rot gefärbtes Phenolphthalein beigefügt wurde¹⁾. In jeden

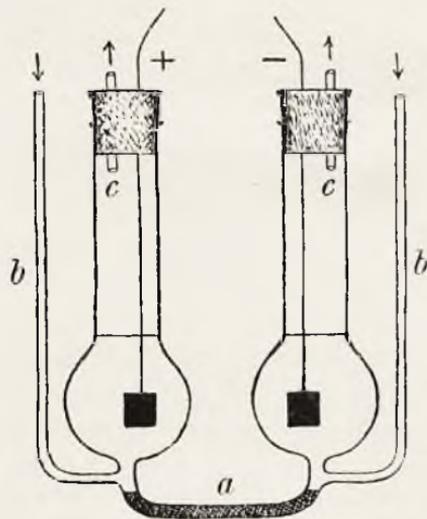


Fig. 1.

Teil des Rezipienten wurden je 25 ccm Lösung mit gleichen Mengen Hefe gegossen. Durch ein Kautschukrohr wurden Platindrähte mit Platinelektroden von 1 qcm Fläche an ihrem Ende eingeführt. Während des Versuches trat die von Kohlensäure gereinigte und mit Toluoldämpfen gesättigte Luft durch das Rohr *b* ein und ging durch die Röhren *c* in Pettenkoffersche Röhren über, wo sie die während des Versuches ausgeschiedene Kohlensäure zurückließ. Bei den Versuchen mit konstantem Strom war die eine Portion die Anodeportion, die andere die Kathodeportion. Während des Hin-

durchtretens des konstanten Stromes wurde ein Entfärben der Gelatine beobachtet, welches infolge der Wanderung der Wasserstoff-Ionen von der Anode zur Kathode vor sich ging. Die Kontrollportion wurde in einer Hälfte eines zweiten Apparates untergebracht, dessen andere Hälfte leer blieb.

Der konstante Strom wurde durch eine Batterie von 4 Grenet-Elementen ($5\frac{1}{2}$ Volt) erzeugt, der Wechselstrom wurde von der städtischen Station (37 Volt) entnommen. Bei den Versuchen mit Wechselstrom wurden außer der Kontrollportion zwei Versuchsportionen ver-

¹⁾ Eine mit gefärbter Gelatine gefüllte Röhre benützte Lodge, um die Geschwindigkeit der Verlagerung der Wasserstoff-Ionen zu bestimmen. Brit. Ass. Report. 1886, S. 314.

wendet, welche in den beiden Hälften des oben beschriebenen Apparates untergebracht wurden. Bei den einen Versuchen diente Saccharose als Material für die Gärung, bei anderen das Kalisalz der Brenztraubensäure.

Die Untersuchungen von Neuberg¹⁾ und seinen Mitarbeitern haben gezeigt, daß die Brenztraubensäure durch Hefe mit Hilfe eines besonderen Fermentes — der Karboxylase — in Azetaldehyd und Kohlensäure zerfällt.

A. Versuche mit Saccharose.

I. Konstanter Strom.

1. Versuch.

3 Portionen zu je 2 g Hefanol, je 25 ccm 15%iger Saccharose-lösung mit 0,0625 g K_2HPO_4 und je 2 ccm Toluol. Temperatur 16—19°.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodenportion		Kathodenportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
Ohne Strom: 2½ Stunden . . .	65,2	26,1	65,2	26,1	65,2	26,1
Mit Strom:						
4 Stunden . . .	38,8	9,7	36,0	9,0	42,4	10,6
3 " . . .	8,2	2,7	8,0	2,7	23,2	7,7
2 " . . .	1,2	0,6	1,2	0,6	13,2	6,6
	48,0	—	45,2	—	78,8	—
Ohne Strom:						
10 Stunden . . .	2,8	0,3	5,2	0,5	38,0	3,8
13 " . . .	—	—	—	—	45,6	3,5
21 " . . .	—	—	—	—	54,0	2,6
21 " . . .	—	—	—	—	24,0	1,1
19 " . . .	—	—	—	—	6,4	0,3
	116,0	—	115,6	—	312,0	—

Die Ergebnisse des Versuchs sind in der Fig. 2 dargestellt.

¹⁾ C. Neuberg, Biochem. Zeitschr. **36**, 1911, S. 68, 76; Zeitschr. f. Gärungsphysiol. I, 1912, S. 114 u. spätere Arb.

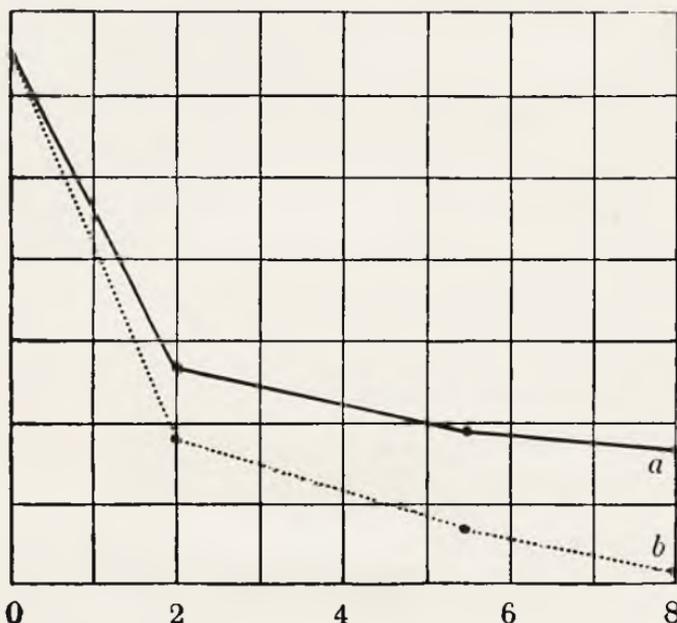


Fig. 2. Vergärung von Saccharose im konstanten Strom. *a* Ausscheidung von Kohlensäure durch die Kontrollportion, *b* Ausscheidung von Kohlensäure durch die Anode- oder Kathodeportion (beide Kurven verschmolzen miteinander).

2. Versuch.

3 Portionen zu je 2 g Hefanol, je 25 ccm 15%iger Saccharose-lösung mit 0,0625 g K_2HPO_4 und je 3 ccm Toluol. Temperatur 16—19°.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
Ohne Strom:						
2½ Stunden . . .	62,8	25,1	64,0	25,6	64,8	25,9
Mit Strom:						
2 Stunden . . .	32,0	16,0	31,6	15,8	32,4	16,2
2 „ . . .	17,2	8,6	16,0	8,0	24,0	12,0
3 „ . . .	6,8	2,3	6,8	2,3	26,4	8,8
	<u>56,0</u>	—	<u>54,4</u>	—	<u>82,8</u>	—
Ohne Strom:						
11 Stunden . . .	3,3	0,3	4,4	0,4	48,4	4,4
12 „ . . .	—	—	—	—	44,0	3,7
22 „ . . .	—	—	—	—	51,6	2,3
22 „ . . .	—	—	—	—	40,0	1,8
24 „ . . .	—	—	—	—	12,0	0,5
	<u>122,0</u>	—	<u>122,8</u>	—	<u>343,6</u>	—

Der Unterschied zwischen den beiden hier beschriebenen Versuchen und denen von Resenschek besteht darin, daß Resenschek die

Saccharose nach der Wirkung des Stromes hinzufügte, während sie bei unseren Versuchen vor dem Hindurchlassen des Stromes dazugetan wurde.

Unter der Einwirkung des konstanten Stromes scheiden die Anode- wie auch die Kathodeportion bedeutend weniger Kohlensäure aus, als die Kontrollportion. Bei dem ersten Versuch schied die Anodeportion 116,0 mg CO₂ aus, die Kathodeportion 115,6 mg, die Kontrollportion dagegen 312,0 mg. Bei dem zweiten Versuch schied die Anodeportion 122,0 mg CO₂ aus, die Kathodeportion 122,8 und die Kontrollportion 343,6 mg. Die von der Anode- und Kathodeportion ausgeschiedenen Kohlensäuremengen stehen einander so nahe, daß auf der Fig. 2 die Kurven der Anode- und der Kathodeportion (Kurve b) miteinander verschmolzen sind. Nach Abstellung des Stromes ist die Anode- wie auch die Kathodeportion kaum mehr imstande Kohlensäure auszuscheiden. Doch scheiden die Kathodeportionen (in Übereinstimmung mit Resenschek) etwas mehr Kohlensäure aus als die Anodeportionen. Vor den Versuchen war die Reaktion aller drei Portionen eine kaum merklich alkalische, fast neutrale. Nach Beendigung der Versuche war die Reaktion der Kontrollportionen schwach sauer, die der Anodeportion stark sauer und die der Kathodeportion stark alkalisch. Auch die Farbe der vergorenen Lösungen war eine verschiedene. Die Farbe der Kontrollportion (hell zimtfarben) entspricht 128 D, die der Anodeportion (fast farblos) 128 A, und die der Kathodeportion (ziegelrot) 72¹⁾.

3. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 ccm Wasser mit 0,0625 g K₂HPO₄ und je 2 ccm Toluol. Temperatur 16—19°. Anfangs wurde durch zwei Portionen ein konstanter Strom während 8 Stunden hindurchgelassen und hierauf allen drei Portionen je 3,75 g Saccharose hinzugefügt.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
Strom, ohne Saccha- rose 8 Stunden .	16,0	2,0	15,2	1,9	26,0	3,2
Ohne Strom, Saccha- rose 8 Stunden .	5,2	0,3	5,2	0,3	72,4	4,0
	21,2	—	20,4	—	98,4	—

¹⁾ P. Klinksieck et Th. Valette, Code des couleurs. Paris 1908.

Die Reaktion aller drei Portionen nach Beendigung des Versuches und ihre Färbung sind die gleichen wie bei den zwei ersten Versuchen.

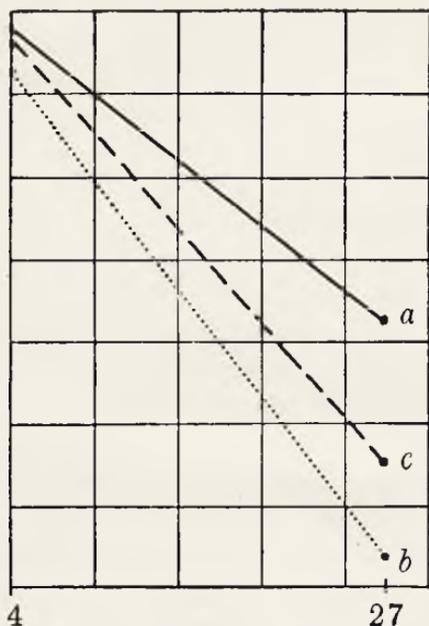


Fig. 3. Vergärung von Saccharose im konstanten Strom bei Gegenwart von Methylenblau. *a* Ausscheidung von Kohlensäure durch die Kontrollportion, *b* durch die Anode- und *c* durch die Kathodeportion.

Nach der Durcheinandermischung der Anode- und der Kathodeportion wurde die gemeinsame Reaktion schwach alkalisch und im Verlauf von 27 Stunden wurde an Kohlensäure ausgeschieden:

1. Kontrollportion 59,6
2. Gemisch der Anode- und Kathodeportionen 41,2.

Die Fermente waren demnach nicht abgetötet, ihre Wirkung wurde durch für sie ungünstige Medien beeinträchtigt.

4. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol (später erhalten), je 25 ccm Wasser mit 1% Methylenblau, 20% Saccharose und 0,25% K_2HPO_4 und je 2 ccm Toluol. Temperatur 16—19°.

Dauer der Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamtmenge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	Gesamtmenge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	Gesamtmenge der CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde
4 Stunden . . .	100,8	25,2	106,2	26,5	107,6	26,9
23 „ . . .	31,2	1,3	137,6	6,0	302,7	13,1
27 Stunden . . .	132,0	—	243,8	—	409,6	—

Die Resultate des Versuches sind in Fig. 3 wiedergegeben. Die Färbung der Kathodeportion ist gegen Ende des Versuches nur in der oberen Schicht der Flüssigkeit erhalten geblieben.

Der Versuch zeigt uns, daß das Methylenblau die schädliche Wirkung der Kathode in beträchtlichem Maße paralyisiert. Im Vergleich mit der Anodeportion hat die Kathodeportion um 84% mehr Kohlensäure ausgeschieden.

5. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Trockenhefe nach Lebedeff, je 25 ccm Wasser, welches 1% Methylenblau, 20% Saccharose und 0,25% K_2HPO_4 enthält, und je 2 ccm Toluol. Temperatur 16—19°.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
8 Stunden . . .	116,4	14,5	138,0	17,2	187,2	23,4
19 „ . . .	10,4	0,5	34,4	1,7	151,6	7,9
27 Stunden . . .	126,8	—	172,4	—	338,8	—

Die Resultate sind die gleichen wie bei dem vorhergehenden Versuch.

II. Wechselstrom.

6. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 ccm 15%iger Saccharose mit 0,0625 g K_2HPO_4 und je 2 ccm Toluol. Temperatur 16—19°. Während des ganzen Versuches ging ein Wechselstrom durch 2 Portionen.

Dauer des Versuches in Stunden	Portionen mit Wechselstrom				Kontrollportion	
	1. Portion		2. Portion		Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde		
3 Stunden . . .	47,2	15,7	46,4	15,5	27,2	9,1
2 „ . . .	52,8	26,4	52,8	26,4	47,6	23,8
3½ „ . . .	56,4	16,1	55,6	15,9	44,8	12,8
14 „ . . .	88,4	6,3	91,6	6,5	86,8	6,2
8 „ . . .	28,4	3,5	28,4	3,5	28,4	3,5
39 „ . . .	24,4	0,6	25,0	0	35,6	0,1
69½ Stunden . . .	297,6	—	297,8	—	270,4	—

Da bei diesem Versuch eine Erhöhung der Temperatur in den Versuchsportionen zu bemerken war, so wurden bei dem nächsten Versuch alle drei Kolben in ein großes Gefäß mit Wasser untergebracht, dessen Temperatur während des ganzen Versuches 18° betrug.

7. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 cem 15 %iger Saccharose mit 0,0625 g K_2HPO_4 und je 2 cem Toluol. Temperatur des die Kolben umgebenden Wassers 18°. Während des ganzen Versuches ging durch zwei Kolben ein Wechselstrom.

Dauer des Versuches in Stunden	Wechselstrom				Kontrollportion	
	1. Portion		2. Portion		Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde		
3 Stunden . . .	49,6	16,5	51,6	17,2	37,2	12,4
2 " . . .	55,6	27,8	54,8	27,4	47,2	23,6
3 " . . .	93,2	14,4	43,6	14,5	37,2	12,4
8 Stunden . . .	198,4	—	150,0	—	121,6	—
14 Stunden . . .	94,4	6,6	91,6	6,5	92,0	6,6
8 " . . .	24,0	3,0	21,6	2,7	21,6	2,7
20 " . . .	21,6	1,1	20,0	1,0	21,6	1,1
9 " . . .	4,0	0,2	6,0	0,3	5,0	0,3
69 Stunden . . .	340,4	—	289,2	—	261,8	—

Die Resultate dieses Versuches sind in Fig. 4 dargestellt.

Nach Beendigung des Versuches war die Lösung der Kontrollportion schwach sauer, was auch an der Färbung zu sehen war; die Färbung der Kontrollportion entsprach 128 D, diejenige der Versuchsportion dagegen — 128 A nach dem Code des Couleurs.

Beide Versuche zeigen uns, daß der Wechselstrom nicht nur keine schädliche Wirkung auf die Fermente der alkoholischen Gärung ausübt, sondern vielmehr eher eine nützliche, indem während der ersten acht Stunden die Versuchsportion beträchtlich größere Kohlensäuremengen ergeben hat (148,4 und 150,0), als die Kontrollportion. Der Unterschied beträgt 22,6 %. Die hierauf beginnende Abschwächung in der Energie der Kohlensäureausscheidung läßt sich dagegen nach allen an den Tag gelegten Anzeichen durch die zunehmende Azidität des Mediums erklären. In Anbetracht des Umstandes, daß die Gefäße während des zweiten Versuches im Wasser standen, liegt keinerlei Veranlassung vor, die erhöhte Kohlensäureausscheidung seitens der Versuchsportionen der erhöhten Temperatur zuzuschreiben.

Nach den Versuchen von Frl. Petruschewsky¹⁾ mit abgetöteter Hefe ist die Gesamtmenge der Kohlensäure bei erhöhter Temperatur geringer als bei niedriger Temperatur; bei unseren Versuchen ist aber die Gesamtmenge der von den Versuchsportionen ausgeschiedenen Kohlensäure (trotz der stark sauren Reaktion) größer, als die Gesamtmenge der Kohlensäure aus den Kontrollportionen. Aus dem weiter unten beschriebenen (18.) Versuch der Vergärung von Brenztraubensäure im Wechselstrom geht hervor, daß die Kontroll- und die Versuchsportion gleiche Mengen Kohlensäure ausscheiden. Diese Tatsache ist ein neuer

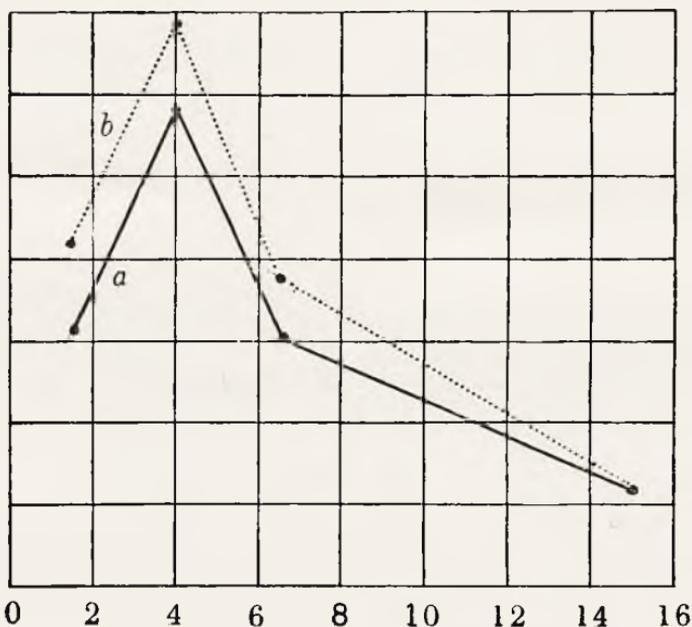


Fig. 4. Vergärung von Saccharose im Wechselstrom, *a* Ausscheidung von Kohlensäure durch die Kontrollportion, *b* Ausscheidung von Kohlensäure durch die der Wirkung eines Wechselstromes ausgesetzte Portion.

Beweis dafür, daß die bei der Vergärung von Saccharose im Wechselstrom beobachtete erhöhte Kohlensäureausscheidung durchaus nicht eine Folge der Temperaturerhöhung oder eine Folge des Zerfalls von Zwischenprodukten der Gärung darstellt. Der Kohlensäureüberschuß in den Versuchsportionen ist demnach eine Folge der verstärkten Arbeit der Zymase im Wechselstrom. Die Saccharose scheidet dagegen unter der Einwirkung des bei unseren Versuchen angewandten Wechselstromes keine Kohlensäure aus, wie dies aus dem nachstehenden Versuch hervorgeht.

¹⁾ A. Petruschewsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 1907, S. 251.

8. Versuch.

2 Portionen zu je 25 ccm 15 % Saccharoselösung mit 0,0625 g K_2HPO_4 und je 2 ccm Toluol wurden der Wirkung eines Wechselstromes im Verlauf von 20 Stunden unterworfen. Während dieser Zeit wurde von ihnen Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion . . .	1,6 mg
2. Portion . . .	2,0 mg.

Um eine stärkere Kohlensäureausscheidung unter der Wirkung des Wechselstroms zu erzielen, wurde bei den nächsten Versuchen außer Saccharose auch noch Formamid, $COH \cdot NH_2$ hinzugefügt, welches in starken Konzentrationen die alkoholische Gärung unterbricht.

Unsere Wahl fiel auf das Formamid, weil dasselbe nach den Untersuchungen von Walden¹⁾ eine größere Dielektrizitätskonstante aufweist als das Wasser.

9. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 ccm wässriger Lösung von 15 % Saccharose, 50 % Formamid und 0,25 % K_4HPO_4 sowie je 2 ccm Toluol. Temperatur des die Gefäße umgebenden Wassers 18°. Während 27 Stunden wurde Kohlensäure in mg ausgeschieden:

Kontrollportion	3,6	
Wechselstrom	{ 1. Portion	38,4
	{ 2. Portion	38,8
		} 38,6.

Die Reaktion der Lösungen hatte sich gegen das Ende des Versuches nicht merklich verändert. Unter der Einwirkung des Stromes wurde demnach bedeutend mehr Kohlensäure ausgeschieden. Um festzustellen, ob bei der Kohlensäureausscheidung nicht auch das Formamid selbst unter der Einwirkung des Wechselstromes gespalten wird, wurde nachstehender Versuch angestellt:

10. Versuch.

2 Portionen zu je 25 ccm einer 15 % Saccharose, 50 % Formamid und 0,25 % K_2HPO_4 enthaltenden wässrigen Lösung sowie je 2 ccm Toluol. Unter der Einwirkung eines Wechselstromes schieden dieselben während 27 Stunden Kohlensäure aus:

¹⁾ Walden, Bull. Ac. Sc. St. Pétersbourg 1911, S. 1055.

1. Portion	19,6	}	20,0
2. Portion	20,4		
38,6—20,0—3,6 = 15.			

Obleich demnach das Formamid unter dem Einfluß des Wechselstromes auch Kohlensäure ausscheidet, so wird von letzterer doch eine bedeutend geringere Menge gebildet, als während der alkoholischen Gärung bei Gegenwart von Formamid.

11. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Lebedeffscher Trockenhefe, je 25 ccm wässriger Lösung von 15% Saccharose, 20% Formamid und 0,25% K_2HPO_4 und je 2 ccm Toluol. Temperatur des die Gefäße umgebenden Wassers 18°.

Dauer des Versuches in Stunden	Wechselstrom				Kontrollportion	
	1. Portion		2. Portion			
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
3½ Stunden . .	94,8	27,1	94,0	26,9	84,0	24,0
3½ " . .	40,0	11,5	40,8	11,6	35,2	10,0
20 " . .	76,0	3,8	76,8	3,8	56,8	2,8
60 " . .	53,6	0,9	53,6	0,9	22,4	0,4
87 Stunden . . .	264,4	—	265,2	—	198,4	—

Die Portionen mit Wechselstrom haben demnach um 33,5% mehr Kohlensäure ausgeschieden. Ein Teil dieser Kohlensäure stammte natürlich von dem Zerfall des Formamids her.

Alle Versuche haben also ergeben, daß das Formamid im Wechselstrom weniger schädlich für die Zymase ist, als in Abwesenheit des Stromes. Es drängt sich die Frage auf, ob die nützliche Wirkung des Stromes nicht daher rührt, daß derselbe das Formamid zerstört? Um diese Frage beantworten zu können, wurde der folgende Versuch unternommen:

12. Versuch.

Die 1. und die 2. Portion zu je 25 ccm einer wässrigen Lösung von 15% Saccharose, 20% Formamid und 0,25% K_2HPO_4 , die 3. Portion

— 25 ccm einer wässerigen Lösung von ebenfalls 15% Saccharose und 0,25% K_2HPO_4 , aber ohne Formamid; durch die 1. Portion wurde im Laufe von 87 Stunden ein Wechselstrom hindurchgelassen. Von derselben wurde während dieser Zeit 35,6 mg Kohlensäure ausgeschieden. Hierauf wurde in alle 3 Portionen je 3 g Lebedeffsche Trockenhefe und 2 ccm Toluol hinzugetan. Temperatur 16—19°. Der Strom wurde während der Gärung unterbrochen.

Dauer des Versuches in Stunden	1. Das Formamid durch den Strom zersetzt		2. Das Formamid nicht durch den Strom zersetzt		3. Ohne Formamid	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
3½ Stunden . .	68,0	19,4	49,6	14,1	106,0	30,2
3 " . .	56,6	18,8	50,8	16,9	94,4	31,4
3 " . .	26,6	8,8	21,6	7,2	68,0	22,6
38 " . .	36,6	0,9	34,0	0,9	396,6	10,4
	187,2	—	156,0	—	665,0	—

Dieser Versuch zeigt uns, daß bei Gegenwart von zuvor durch den Wechselstrom zerlegtem Formamid die Zymase (um 20%) energischer wirkt, als bei Gegenwart von Formamid, welches durch den Strom nicht zerlegt wurde.

Für die Beantwortung der Frage nach der Wirkung des Wechselstromes auf die Arbeit der Zymase ist das Formamid demnach nicht geeignet, da es durch den Strom zerlegt wird. Aus diesem Grunde wurde bei den folgenden Versuchen zur Abschwächung der Gärung eine sehr starke (50%) Saccharoselösung verwendet.

13. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 ccm 50% Saccharose mit 0,25% K_2HPO_2 und je 2 ccm Toluol. Temperatur des die Gefäße umgebenden Wassers 18°. Während 50 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

Kontrollportion	23,6	
Wechselstrom	{ 1. Portion 31,2 { 2. Portion 30,0 }	} 30,6.

Im Wechselstrom wurde demnach um 30% mehr Kohlensäure ausgeschieden.

14. Versuch.

Die gleichen Bedingungen, nur wurde statt Hefanol Lebedeffsche Trockenhefe verwendet. Im Verlauf von 26 Stunden wurde Kohlensäure ausgeschieden:

Kontrollportion	206,0
Wechselstrom { 1. Portion	234,8
{ 2. Portion	233,8

B. Versuche mit Brenztraubensäure.

I. Konstanter Strom.

15. Versuch.

3 Portionen zu je 2 g Hefanol, je 25 ccm einer Lösung mit 0,25 g sorgfältig durch Ätzkali neutralisierter Brenztraubensäure und je 3 ccm Toluol. Temperatur 16—19°.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
Ohne Strom: 2 Stunden	38,0	19,0	38,0	19,0	38,0	19,0
Mit Strom: 3 Stunden	31,2	10,4	9,2	3,1	14,0	4,6
3½ „	20,4	4,7	1,2	0,3	10,0	2,8
4 „	4,4	1,1	0,4	0,1	8,0	2,0
	55,6		10,8		32,0	
Ohne Strom: 16 Stunden	2,4	0,15	1,2	0,07	5,2	0,3
	96,0	—	50,0	—	75,2	—

Eine Mischung der Anode- und der Kathodeportion schied im Verlauf von 6 Stunden nur 2 mg CO₂ aus.

16. Versuch.

Dauer des Versuches in Stunden	Anodeportion		Kathodeportion		Kontrollportion	
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
Mit Strom:						
3 Stunden . . .	88,4	29,5	24,8	8,2	43,2	14,4
2 " . . .	9,2	4,6	2,8	1,4	12,4	6,2
3 " . . .	2,8	0,9	2,4	0,8	9,6	3,2
	<u>100,4</u>		<u>30,0</u>		<u>65,2</u>	
Ohne Strom:						
15 Stunden . . .	3,2	0,2	2,4	0,2	13,2	0,7
20 " . . .	—	—	—	—	—	—
	103,6	—	32,4	—	78,4	—

Die Richtung des Stromes wurde gewechselt:

7 Stunden . . .	1,6	0,2	12,0	1,7	—	—
-----------------	-----	-----	------	-----	---	---

Die Resultate des Versuches sind in der Fig. 5 dargestellt.

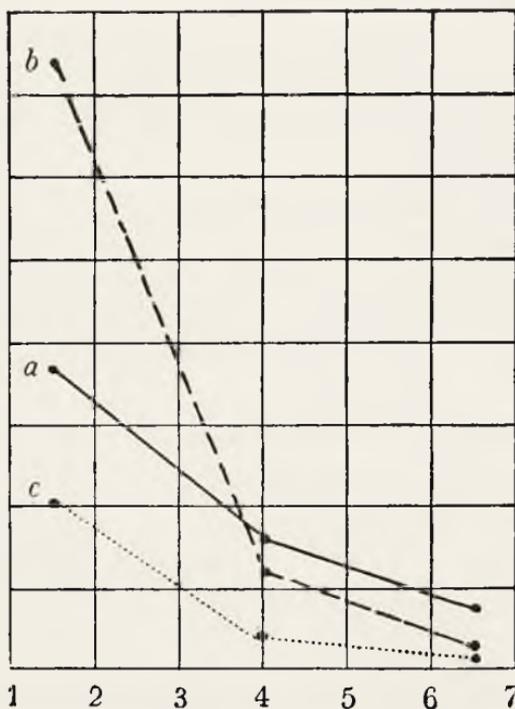


Fig. 5. Vergärung von brenztraubensaurem Kali. *a* Ausscheidung von Kohlensäure durch die Kontrollportion, *b* durch die Anode-, *c* durch die Kathodeportion.

Um feststellen zu können, ob nicht das brenztraubensaure Kali durch den Strom unter Ausscheidung von Kohlensäure zerlegt wird, wurde nachfolgender Versuch angestellt.

17. Versuch.

2 Portionen zu je 25 ccm 1 0/0 iger Lösung von brenztraubensaurem Kali und je 3 ccm Toluol. Der konstante Strom wurde während der ganzen Dauer des Versuches hindurchgelassen.

	Anodeportion		Kathodeportion	
	Gesamtmenge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamtmenge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
3 Stunden . .	13,6	4,5	2,0	0,7
3 1/2 „ . .	2,4	0,7	1,2	0,3
6 1/2 Stunden . .	16,0	—	3,2	—
Der Strom wurde in umgekehrter Richtung hindurch gelassen:				
7 1/2 Stunden .	1,2	0,2	11,2	1,5

Zum Schlusse der drei letzten Versuche waren die Lösungen der Kontrollportionen alkalisch, die Lösungen der Anodeportionen stark sauer, und die Lösungen der Kathodeportionen stark alkalisch. Auch ihre Färbungen waren verschieden. Nach dem Code des couleurs entsprachen die Kontrollportionen 128 D, die Anodeportion 128 A und die Kathodeportion 72.

An der Kathode geht Zersetzung oder Vergärung des brenztraubensauren Kali fast gar nicht vor sich. Allein die Karboxylase wird an der Kathode nicht zerstört, da nach Hindurchlassen des Stromes in umgekehrter Richtung eine Kohlensäureausscheidung einsetzt.

Wahrscheinlich erfolgt an der Kathode eine Reduktion der Brenztraubensäure zu Milchsäure:



Die Anodeportion scheidet bedeutend mehr Kohlensäure aus als die Kontrollportion. Ein besonders auffallender Unterschied ist während der ersten Stunden des Versuches zu beobachten. Hierauf beginnt die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure sich an der Anode rasch zu verringern, weil die Karboxylase infolge der stark erhöhten Azidität zu arbeiten aufhört. Die Kontrollportion hat im 2. Versuche während 3 Stunden 43,2 mg CO₂ ausgeschieden, die Anodeportion dagegen 88,4 mg, oder nach Abzählung der beim 17. Versuch durch Zerlegung der Brenz-

traubensäure allein an der Anode erhaltenen 13,6 mg nur 74,8 mg CO₂. Es wurden demnach an der Anode nur 31,6 mg oder nur 73% mehr Kohlensäure ausgeschieden. Diesen Überschuß an Kohlensäure kann man nicht als das Ergebnis intensiverer Arbeit der Karboxylase unter dem Einfluß der Anode ansehen, da das sich bildende Essigaldehyd an der Anode zu Essigsäure oxydiert wird, welche ihrerseits wiederum das sich bildende kohlensaure Kali zerlegt:

1. $2 \text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{COOK} + \text{H}_2\text{O} = 2 \text{CH}_3 \cdot \text{COH} + \text{CO}_2 + \text{CO}_3 \text{K}_2$.
2. $2 \text{CH}_3 \cdot \text{COH} + 2\text{O} = 2 \text{CH}_3 \cdot \text{COOH}$.
3. $\text{CO}_3 \text{K}_2 \cdot 2 \text{CH}_3 \cdot \text{COOH} = 2 \text{CH}_3 \text{COOK} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

Aus diesem Grunde konnte man an der Anode eine im Vergleich zu der Kontrollportion verdoppelte Kohlensäureausscheidung erwarten, allein die Arbeitsfähigkeit der Karboxylase beginnt infolge der hohen Azidität rasch zu sinken. An der Anode wird die Arbeitsfähigkeit der Karboxylase demnach nicht verstärkt, sondern sie verläuft anscheinend in normaler Weise, da die Spaltung der Brenztraubensäure in Essigaldehyd und Kohlensäure ihrem Wesen nach eine oxydierende, d. h. eine Anode-reaktion darstellt.

II. Wechselstrom.

18. Versuch.

3 Portionen zu je 3 g Hefanol, je 25 ccm 1%iger Lösung von brenztraubensaurem Kali und je 2 ccm Toluol. Die Gefäße befanden sich in Wasser bei einer Temperatur von 18°. Während des ganzen Versuches ging ein Wechselstrom durch zwei Kolben.

Dauer des Versuches in Stunden	Wechselstrom				Kontrollportion	
	1. Portion		2. Portion		Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde
	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde	Gesamt- menge der CO ₂ in mg	CO ₂ in 1 Stunde		
2 Stunden . . .	53,2	26,6	53,2	26,6	52,8	26,4
2 " . . .	17,2	8,6	17,2	8,6	17,6	8,8
18 " . . .	31,6	1,7	31,2	1,7	31,2	1,7
	102,0	—	101,6	—	101,6	—

Der Wechselstrom übt also keinerlei Wirkung auf die Arbeit der Karboxylase aus. Die geschilderten Versuche zeigen demnach das

verschiedene Verhalten der Zymase (als Summe von Fermenten) und der Karboxylase gegenüber dem konstanten und dem Wechselstrom. Die Karboxylase ist dem Wechselstrom gegenüber indifferent, sie arbeitet nicht an der Kathode und arbeitet normal an der Anode. Im Gegensatz hierzu ergibt die Zymase im Wechselstrom eine erhöhte Menge Kohlensäure, während ihre Arbeitsfähigkeit an der Anode und der Kathode fast in gleichem Maße allmählich geringer wird¹⁾. Wenn folglich die Arbeit der Karboxylase eine oxydierende Arbeit darstellt (intramolekulare Oxydation), so wird man die Arbeit der Zymase als eine abwechselnde Aufeinanderfolge oxydierender und reduzierender Prozesse auf Kosten des Wassers ansehen müssen.

Das verschiedene Verhalten dem Wechselstrom gegenüber weist auf ein verschiedenes Verhalten der Zymase und der Karboxylase in bezug auf Wasser hin. Offenbar besteht das Anfangsstadium der Vergärung des brenztraubensauren Kali in der Addition eines Molekel Wassers ($\text{CH}_3\text{CO} \cdot \text{COOK} \cdot \text{H}_2\text{O}$) und in einer darauffolgenden intramolekularen Verlagerung der Atome. Die Karboxylase tut demnach das gleiche, wie die Diastase, das Emulsin und ähnliche Fermente. Gleich den genannten Fermenten²⁾ bildet sie keine Ionen aus dem Lösungsmittel, d. h. aus dem Wasser. Wie das Methylenblau keinerlei Wirkung auf die Arbeit der Diastase und des Emulsins ausübt³⁾, ebenso übt das Methylenblau auch keinerlei Wirkung auf die Arbeit der Karboxylase aus, wie dies aus dem folgenden, von S. P. Lvoff⁴⁾ angestellten Versuche hervorgeht.

19. Versuch.

4 Portionen Saft von Lebedeffscher Hefe zu je 30 ccm. 1. Ohne Beimengung. 2. Beimischung von 210 mg Methylenblau. 3. 1 g Brenztraubensäure in Gestalt von Kalisalz. 4. 1 g Brenztraubensäure und 210 g Methylenblau. Der Versuch dauerte 3 Tage an. Es wurde Kohlensäure ausgeschieden:

1. Portion	10,7
2. Portion	28,3 (+ 17,6)

¹⁾ An der Kathode etwas weniger.

²⁾ Rohonyi, a. a. O.

³⁾ Die erwähnten Fermente sind, wie bereits erwähnt, unfähig, eine Reduktion des Methylenblaus hervorzurufen.

⁴⁾ Aus einer noch nicht im Druck erschienenen Arbeit.

Stunden	3. Portion	4. Portion
4	89,0	60,0
15	73,0	97,3
12	60,3	76,0
17	42,7	46,0
24	31,3	33,0
72	296,3	312,3 (+ 16,0)

Der geringe Überschuß (16,0) an Kohlensäure der 4. Portion stimmt, falls er nicht durch Zufälligkeiten zu erklären ist, mit dem Überschuß (17,6) an Kohlensäure der zweiten Portion überein. Auf die Vergärung der Brenztraubensäure übt demnach das Methylenblau keinerlei Wirkung aus. Während der alkoholischen Gärung dagegen wird bei Gegenwart von Methylenblau erstens eine Reduktion dieses Farbstoffes beobachtet und zweitens übt derselbe eine außerordentlich hemmende Wirkung auf die alkoholische Gärung aus, wie dies von Lvoff¹⁾ nachgewiesen worden ist. Nimmt man nach Bach²⁾ an, daß die Reduktion auf Kosten des Wassers vor sich geht, so folgt hieraus, daß nach der alkoholischen Gärung auf Kosten des Wassers die Oxydation der einen Zerfallsprodukte der Glukose und die Reduktion anderer vor sich geht.; ähnlich wie bei der Reaktion von Kannizero. Aus diesem Grunde stimuliert der Wechselstrom, indem er die Spaltung des Wassers begünstigt, die Arbeit der Zymase. Die Frage, wie man das Ferment, welches das Wasser zerlegt, vorausgesetzt, daß wir es hier wirklich mit einem selbständigen Ferment zu tun haben, am besten nennen kann, ob Hydrogenase (Grüs), ob Mutase (Parnas), ob Dehydrase (Wielandt) oder Perhydridase (Bach), wird erst durch spätere Untersuchungen beantwortet werden können, wenn wir das Wesen dieses wichtigen, allen Lebewesen gemeinsamen physiologischen Prozesses näher kennen gelernt haben werden.

Dies sind die theoretischen Betrachtungen, welche auf den in vorliegender Arbeit beschriebenen Versuchen begründet sind.

¹⁾ S. Lvoff, Bull. Acad. Sc. St. Pétersbourg 1913, S. 501; Zeitschr. f. Gärungsphysiologie **3**, 1913, S. 289.

²⁾ A. Bach, Biochem. Zeitschr. **31**, 1911, S. 443.

Referate.

Kossowicz, Alexander. Die Zersetzung und Haltbarmachung der Eier.
Eine kritische Studie mit zahlreichen eigenen Untersuchungen. Verlag
J. F. Bergmann, Wiesbaden 1913. Preis geheftet 4 Mk.

In dem ersten Teil des Buches wird die umfangreiche Literatur über die Zersetzung der Eier durch Bakterien und Schimmelpilze und das Eindringen von Mikroorganismen in das Eiinnere in eingehender Weise besprochen und dabei auch öfters auf den recht auffallenden Mangel an Übereinstimmung zwischen den von manchen Autoren experimentell erhaltenen Befunden und den weit darüber hinausgehenden, nicht hinlänglich begründeten Schlußfolgerungen hingewiesen. Nebenbei bemerkt, erscheint auch in größeren Handbüchern der Mykologie und Hygiene die ältere (nicht leicht zugängliche) Literatur nicht bloß sehr lückenhaft angegeben, sondern vielfach auch inhaltlich unrichtig angeführt. Der zweite Teil bringt eigene Untersuchungen über das Eindringen von Bakterien, darunter des wichtigsten Fäulnisregers des Vogeleies, des *Proteus vulgaris* (*Bacterium vulgare*), von Schimmelpilzen und von Sproßpilzen durch die intakte Eischale in das Eiinnere. Der dritte Teil behandelt die Konservierung der Eier. Autoreferat.

Kossowicz, Alexander. Das Vorkommen von Hefen und hefenähnlichen Pilzen im Vogelei. Extrait du Livre Jubilaire van Laer, 1913. S. 22.

Es liegen mehrere Literaturangaben über das Vorkommen von Sproßpilzen im Vogelei vor. In Fortsetzung früherer Untersuchungen des Verfassers (s. d. vorangehende Referat) konnte experimentell festgestellt werden, daß im Gegensatze zu dem Verhalten der Bakterien und Schimmelpilze, das Eindringen von Sproßpilzen in das Eiinnere durch die intakte Eischale wohl nur ganz ausnahmsweise erfolgen dürfte und daß bei hefenhaltigen Eiern meist auf eine Infektion bei der Eibildung zu schließen sein wird. Autoreferat.

Kossowicz, Alexander. Mykologische und warenkundliche Notizen. 1. und 2. Mitteilung. Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Österreich, 14, S. 59, 15, S. 737.

1. Durch Bakterien verursachte Verfärbungen von Roquefortkäse. Als Erreger gelblicher Punkte wurde eine unbewegliche stäbchen-

förmige Bakterie isoliert. Braune und bläulichgraue Streifen und Flecken bringt eine dem *Bacillus mesentericus niger* sehr nahestehende, wahrscheinlich identische Bakterie hervor. Eine stäbchenförmige Bakterie erzeugt im Roquefortkäse rötliche Flecken, eine *Sarcina* gelbbraune Flecken. In einer Kammer, in der Roquefortkäse aufbewahrt wurde, nahm auch darin befindliche Trockenmilch einen recht charakteristischen Roquefortkäsegeruch an und auch ein aus dieser isolierter stäbchenförmiger Spaltpilz brachte diesen Geruch in Milch und anderen Nährböden hervor.

2. Zur Mykologie des Sauerteiges. Die Untersuchungen wurden zum großen Teil in einer Wiener Bäckerei ausgeführt. Die isolierten Hefen werden näher beschrieben. Außerdem konnten neben langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien auch andere Bakterien in den Sauerteigproben nachgewiesen und in Reinzucht erhalten werden.

3. Über das Auftreten einer essigverzehrenden *Mykoderma* im französischen Senf. Es wird eine in Reinzucht abgeschiedene *Mykoderma* beschrieben, die einen raschen Essigsäureverlust des Senfes bewirkt und die weitere Zersetzung des Senfes durch Bakterien wesentlich begünstigt.

4. Die Fäulnis der Pfirsiche. Als Erreger wurden meist *Mucor*-Arten und *Rhizopus nigricans* vorgefunden, seltener *Penicillium glaucum*, *Monilia fructigena* und *Cladosporium herbarum*. Häufig tritt auch eine Bakterienfäulnis durch eine gelben Farbstoff produzierende Bakterie ein.

5. Über den Keimgehalt von Dörrobst (getrocknete Birnen). Die Keimzahl betrug 480 bis 3000 für 1 g. Isoliert wurden: *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. mycoides*, 2 gelbe *Sarcinen*, *Micrococcus candidans*, eine bewegliche Buttersäurebakterie (*Clostridium*), *Penicillium glaucum*, *Aspergillus glaucus*, *Cladosporium herbarum*, *Mucor Mucedo*, *Rhizopus nigricans*, eine Rosahefe und eine *Torula*.

6. Die Äpfelsäuerung. Es handelt sich um eine Alkoholgärung, die von einer Milchsäure-Essigsäuregärung begleitet wird. Der Alkoholgehalt betrug bis 2%, der Säuregehalt 0,5 bzw. in einer zweiten Probe 1,5%, der Gehalt an flüchtiger Säure in einer Probe 0,8%.

7. Aus verschimmeltem Mais isolierte *Eumyceten*. Abgesehen von zahlreichen Bakterien wurden aus verschimmeltem Mais (Körnern und Mehl) isoliert: *Penicillium glaucum* (vorherrschend in drei Rassen), *Mucor Mucedo*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus glaucus*, *Asperg. flavus*, *Cladosporium herbarum*, ein *Fusarium* und zwei *Eumyceten*, die bisher nicht identifiziert wurden.

8. Über eine knorpelige Froschlaichbildung (*Leuconostoc*). Die harte knorpelige Gallerte von grauweißer Farbe mit eigentümlichem Stärkekleistergeruch bestand aus ellipsoiden Hefen (*Saccharomyces*), aus dem *Leuconostoc Opalenitza* und aus *Cladothrix dichotoma*. *Cladothrix* allein rief in asparaginhaltigen Mineralsalzzuckerlösungen (*Saccharose*, *Galaktose*, *Raffinose*) eine kräftige Schleimbildung hervor.

9. Über einen Benzoeharz zersetzenden Eumyceten. Eine weiße *Penicilium*-Art erzeugte in aufgespeichertem Benzoeharz einen unangenehmen benzolartigen Geruch und führte zugleich zu einer oft starken Verpilzung des Benzoeharzes. Durch längeres Trocknen des Benzoeharzes konnte diesem in einer Fabrik aufgetretenen Übelstande abgeholfen werden.

10. Die Zusammensetzung der auf französischem Senf auftretenden Pilzdecken. Die Verpilzung beschränkt sich auf die oberflächlichen Schichten des aufbewahrten Senfes. Sie wird durch schlechte Korke, bzw. undichte Verschlüsse, ermöglicht. Notwendig erscheint daher die Anwendung guter, mit heißem Wasser abgebrühter Korke, empfehlenswert ein Lack- oder Paraffinüberzug. Die Pilzdecken bestehen meist aus: *Aspergillus*-, *Penicilium*- und *Mucor*-Arten. So wurden isoliert: *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus niger*, *Penicilium glaucum*, *Mucor Mucedo* und *Rhizopus nigricans*. Seltener treten *Dematium pullulans* und *Cladosporium herbarum* auf.

11. Über das Vorkommen einer *Torula* in gärendem Kremser-Senf. Die reingezüchtete *Torula* vermag Dextrose, Lävulose, Saccharose, Maltose und Raffinose, nicht aber Laktose und Galaktose zu vergären. Der gärende Kremser-Senf enthielt überdies (in geringerer Menge) auch Bakterien und zwar: *Bacillus sinapivagus*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus vulgatus* und *Bac. subtilis*.

12. Über das Vorkommen thermophiler Bakterien in Zuckersäften. Entgegen einer theoretischen Annahme von Lafar (Handbuch der Techn. Mykologie, Bd. II, S. 485) kommt Verfasser auf Grund seiner Untersuchungen zu der Feststellung, daß (für gewöhnlich) Bakterien, die sich bei Temperaturen um 80° herum entwickeln und betätigen, also noch unbekannte „hochthermophile“ Bakterien, in den Säften der Zuckerfabriken nicht vorkommen dürften und daß es sich auch bei der erst bei ca. 80° C eintretenden „eigentlichen Schaumgärung“ der Füllmassen nicht um bakterielle Vorgänge handeln könne (abgesehen von einer event. vorbereitenden Wirkung).

13. Die Schwefelwasserstoffgärung grüner Oliven. In Salzwasser eingelegte grüne Oliven nahmen einen unangenehmen Geruch nach Schwefelwasserstoff an, der durch eine in Reinzucht abgeschiedene, im Original näher beschriebene, sehr bewegliche gelatinelösende Bakterie verursacht wird. Der üble Geruch der Oliven kann durch Auswaschen, Behandeln mit 70–80° C warmer 10%iger Kochsalzlösung und mit Salzwasser verdünnter saurer Milch entfernt werden.

14. Die Perlzwiebelgärung. An der Vorgärung oder Schaumgärung beteiligen sich verschiedene Mikroorganismen, neben Milchsäurebakterien auch gasbildende und sporenbildende Bakterien und Sproßpilze, während der Hauptgärung herrscht eine dem *Bacterium aerogenes* nahestehende Milchsäurebakterie vor. Bei der Vorgärung entstehen Spuren von Alkohol, Milchsäure

und eine größere Menge Essigsäure, bei der Hauptgärung wird vorwiegend Milchsäure gebildet. Die Perlzwiebelgärung wurde vom Verfasser durch einen Zeitraum von mehr als 3 Monaten bezüglich des Keimgehaltes in qualitativer und quantitativer Beziehung näher erforscht. Bezüglich der Einzelheiten sei auf das Original hingewiesen, in dem auch Angaben über fehlerhafte Gärungen enthalten sind.

15. Über den Keimgehalt des Grün- und Darmmalzes. In 3 Proben von Grünmalz, die zwei Tage gekeimt hatten, wurde pro 1 g ein Keimgehalt von 48, 36, bzw. 62 Millionen Keimen nachgewiesen. Nach 7tägiger Keimdauer waren 180, 90 und 112 Millionen Keime, nach dem darauffolgenden Darren durch 32 Stunden bei 55° C 26000, 78000 bzw. 50000 Keime vorhanden. Aus dem Grünmalz, welches 2 Tage gekeimt hatte, wurden farbstoffbildende Bakterien, Fluoreszenten, Sproßpilze, Rosahefe und Schimmelpilze, aus dem Druck Milchsäurebakterien, der bewegliche Buttersäurebazillus, *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus vulgatus*, *Bac. mycoides*, eine fluoreszierende Bakterie, ein weißer Micrococcus, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium*-, *Aspergillus*- und *Mucor*-Arten isoliert.

16. Über das Vorkommen von Hefen im Schnupftabak und auf fermentierenden Tabakblättern. In den Saucen, im fermentierenden Schnupftabak und in dem zum Verkauf bestimmten Râpé kommen stets Sproßpilze (*Saccharomyceten* und *Torula*) vor. Ebenso konnten auf fermentierenden Tabakblättern Hefen (*Saccharomyceten* und *Torula*) nachgewiesen werden. Möglicherweise üben die Sproßpilze auch einen Einfluß auf das Tabakaroma aus.

17. Zur Mykologie der Trockenmilch. In Fortsetzung früherer Untersuchungen über den Keimgehalt der nach dem Hatmakerverfahren gewonnenen Trockenmilch (*Zeitschrift f. d. landw. Versuchswesen*, 1908, Bd. 11, S. 719) wurde nunmehr vom Verfasser auch der Keimgehalt der nach dem Sprayverfahren und der durch Eindampfen der Milch im Vakuum und darauffolgendes langsames Trocknen im Trockenschrank hergestellten Trockenmilch näher geprüft. Der Keimgehalt der Spray Trockenmilch lag zwischen 1800 und 5600 Keimen und bestand die Mikroorganismenflora aus sporenbildenden Bakterien, Mikrokokken und Schimmelpilzsporen. Der Keimgehalt der Vakuum-Trockenmilch war ein größerer und lag zwischen 10000 und 37000 pro g. Die Mikroflora setzte sich aus sporenbildenden und sporenfreien stäbchenförmigen Bakterien, weißen und gelben Mikrokokken, *Oidium lactis* und Schimmelpilzen zusammen. Der Keimgehalt führt häufig zu einem Käsig- oder Ranzigwerden der Trockenmilch. Da durch die verschiedenen Trocknungsverfahren eine Keimfreiheit der frischen Trockenmilch, wie der Verfasser experimentell zeigen konnte, nicht erzielt wird, soll zur Herstellung der Trockenmilch nur hygienisch einwandfreie Milch verwendet werden.

Löhnis, F. Untersuchungen über den Keimgehalt der in Leipzig im Handel befindlichen Milchsorten. Milchw. Zentralbl. 43, 1914, S. 9—15.

Eine zusammenfassende Übersicht über die Ergebnisse entsprechender während eines Zeitraumes von 6 Jahren durchgeführter Untersuchungen. Die mikroskopische Zählung der Keime lieferte in der Regel die gleichen Werte wie die Gußkulturen. Sehr stark machte sich die Art und die Dauer der Aufbewahrung der Milch in bezug auf deren Keimreichtum geltend. Unter den im Haushalte gewöhnlich gegebenen Bedingungen stiegen die Zahlen innerhalb eines halben Tages um das 150fache in Marktmilch und um das 2200fache in keimarmer Vorzugsmilch. Diese Befunde sind auch speziell für eine korrekte Durchführung der Vorzugsmilch-Kontrolle von Bedeutung. Erfolgte die Aufbewahrung bei 0—6°, so nahm der Keimgehalt innerhalb von 8 Tagen in Marktmilch ebenfalls um das 150fache zu, in der Vorzugsmilch aber nur um das 25—50fache. Sogen. „sterilisierte“ Kindermilch sowie Backhausmilch waren nie wirklich steril, meist enthielten sie pro Kubikzentimeter zwischen 100 und 1000 Keime. In der im „Biorisator“ behandelten sog. „Enzymbilch“ fanden sich zwischen 100 und 5 Millionen Keime. Die hohen Zahlen sind auf eine wenig sorgfältige Behandlung und Aufbewahrung der Milch in dem betreffenden Betriebe zurückzuführen. Ebenso war die von der Kindermilchanstalt der Stadt Leipzig gelieferte „Uviolmilch“ meist recht keimreich. Ca. 50% aller Proben enthielten mehr als 50000 Keime pro Kubikzentimeter, d. i. die von der Stadt selbst festgesetzte Maximalkeimzahl für Kindermilch.

Löhnis.

Wojtkiewicz, A. Untersuchung der Moskauer Marktmilch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 39, 1913, S. 53—61.

Es wurden festgestellt: Die Gesamt-Keimzahl (auf Fleischgelatine nach 6—7 Tagen bei 20° C), der prozentische Anteil an Milchsäure-Bakterien (auf Kreide-Molken-Gelatine) und an Coli-Bakterien (mit Hilfe der Aesculin-Bouillon-Verdünnungsmethode), der Ausfall der Schleuder-, Katalase-, Reduktions- und Gärprobe, sowie Säuregrad, Fettgehalt und spezifisches Gewicht der Milch. Die Keimzahl schwankte bei 79 Proben zwischen 13000 und 750 Millionen pro Kubikzentimeter. Im Jahresdurchschnitt stellte sie sich auf 7,9 Millionen. Im Sommer belief sie sich (wegen der hohen Temperatur) auf 17,9 Millionen im Mittel. Nur in der keimreichsten Milch fanden sich 71% Milchsäurebakterien, sonst hielt sich der auf sie entfallende Anteil unter 60%. Die mikroskopische Prüfung des bei der Schleuderprobe erhaltenen Sediments ergab in 9 Fällen Streptokokken-Befunde. Die Resultate der Katalaseprobe stimmten mit dem Ausfall der Schleuderprobe überein; in bezug auf den Keimgehalt lieferten sie keinen brauchbaren Anhalt. Die Reduktionsprobe tat dies im allgemeinen, doch finden sich in den der Arbeit beigegebenen Tabellen ziemlich viel Anomalien.

Löhnis.

Doane, C. F. The action of *Bacillus bulgaricus* in suppressing gassy fermentations in cheese making. Science [N. S.] 38, 1913, S. 377.

B. bulgaricus unterdrückte die Blähung. Verschiedene Stämme wirkten verschieden. Bestimmte Beziehungen zur Säuerungs-Intensität waren nicht vorhanden. Auf Geschmack und Struktur des Käses blieben die geprüften Stämme ohne Einfluß.

Löhnis.

Rogers, L. A. The preparation of dried cultures. Science [N. S.] 38, 1913, S. 377.

Es erwies sich vorteilhaft, die Milchsäurebakterien-Kulturen in gefrorenem Zustande über Schwefelsäure im Vakuum zu trocknen. 1 Teil einer solchen Kultur brachte 1 Million Teile Milch bei 30° C in 20 Stunden zur Gerinnung. Zur Züchtung bewährte sich am besten auf die Hälfte eingedickte Milch.

Löhnis.

Mazé, P. L'affinage des fromages moisis et les ferments qui y président. Journ. d'agric. prat. 78, 1914, S. 44—47.

Junge Weichkäse (nach französischer Art) bedecken sich zunächst mit Mycodermen und Oidien, die u. a. Äthylazetat (Äpfel-Ester) produzieren. Die später auftretenden Schimmelpilze unterdrücken die Aroma-Produzenten, zerstören die noch vorhandene Laktose, Laktate usw. und greifen Fett sowie Kasein an. Um diese Wirkungen möglichst einzuschränken, trocknet man die Oberfläche der Käse oder begünstigt die Entwicklung der die Rötung (der Käse-Oberfläche) hervorrufenden Bakterien. Diese entwickeln sich in dem durch die Schimmelpilze alkalisch gemachten Substrat, verbrauchen z. T. die vorhandenen Zersetzungsprodukte, wirken aber — abgesehen von einer nicht erheblichen Ammoniakbildung — am Reifungsprozeß selbst nicht mit.

Löhnis.

Allemann, O. Beiträge zur Kenntnis der wissenschaftlichen Grundlagen der Käsefabrikation, mit besonderer Berücksichtigung der Verwendung von sog. Kunstlab bei der Herstellung von Emmentaler Käse. Landw. Jahrb. d. Schweiz 27, 1913, S. 325—361.

In physikalisch-chemischer Hinsicht besteht kein prinzipieller Unterschied zwischen Natur- und Kunstlab. Bei Verwendung guter Kulturen erhält man auch mit Kunstlab und sogar sicherer als mit Naturlab erstklassige Emmentaler Käse. Feste, haltbare Dauerkulturen bewährten sich ebenso gut wie die bisher gebräuchlichen flüssigen Reifungskulturen. Die durch den Lab-Zusatz bedingte Keimvermehrung in der Kessel-Milch führt zu einer erheblichen Verkürzung der Reduktionszeit (in der Methylenblau-Probe um das 2—3fache).

Versuche, bei *B. casei* eine Endoproteolase nachzuweisen, waren ohne Erfolg. Wahrscheinlich handelt es sich bei dem Kasein-Abbau um eine di-

rekte Lebenstätigkeit der Mikroben. Die Laktobazillen fanden sich auch noch in 1 Jahr altem Käse in lebenskräftigem Zustande vor.

Das von Steinegger empfohlene „Casol“ besteht nach Verf.s Untersuchungen zu 90 % aus Essigsäure, 10 % Propionsäure und wahrscheinlich einer Spur Valeriansäure. Löhnis.

Eldridge, E. E. and Rogers, L. A. The normal bacteria of Swiss cheese. Science [N. S.] **38**, 1913, S. 377.

Aus Käsen verschiedener Beschaffenheit bzw. verschiedenen Alters wurden über 1700 Kulturen isoliert, die einem eingehenden Studium unterworfen wurden. Sie konnten in 3 Gruppen eingeordnet werden: lange Stäbchen, kurze Stäbchen und Kokken. Die Langstäbchen vermehren sich in der ersten Zeit des Reifens, während der auf die Kurzstäbchen entfallende Anteil ständig zurückgeht. Nach 6—8 Wochen beläuft er sich auf ca. 50 %, nach 20 Wochen sind fast allein noch Langstäbchen am Leben. Löhnis.

Lang, L. R. A method for the improvement of butter milk from pasteurized cream. Illinois Univ. Agric. Exp. Stat. **116**, 1913.

Zusatz von 10 % einer Magermilch-Kultur von *B. bulgaricus* verbessert die Beschaffenheit, insbesondere den Geschmack solcher Buttermilch bedeutend. Löhnis.

Fodor, K. von. Über die anormale Reifung von Liptauer Käse. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **26**, 1913, S. 225—234.

Infolge zu weit gehender Fettspaltung kann der Geschmack des Liptauer Käses scharf und kratzend werden. Insbesondere sind die freie Caprin-, Capron- und Caprylsäure hierfür verantwortlich zu machen. Die Stickstoff-Zahlen weichen dagegen in solchem Käse kaum von der Norm ab.

Löhnis.

Tillmans, J., Splittgerber, A. und Riffart, H. Über Bestimmung und Bedeutung des Ammoniak-Gehalts der Milch. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **27**, 1914, S. 59—76.

Der anfangs sehr niedrige Ammoniakgehalt nimmt während der Aufbewahrung zu. Mehr als 10 mg pro Liter deutet auf hohen Keimgehalt hin. Der Nachweis geschieht am besten durch Zusatz von Magnesiumchlorid und Natriumphosphat zum Bleiessig-Serum und durch nachfolgendes Austreiben des Ammoniaks aus dem abfiltrierten Niederschlage mittels Magnesiumoxyds. Erhitzen erhöht den Ammoniakgehalt der Milch nicht. Löhnis.

Edwards, S. F. Fruity or sweet flavor in Cheddar cheese. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **39**, 1913, S. 449—455, m. 3 Taf.

In 25 Fällen wurden 12 Hefe-Varietäten (Torulaceen) aufgefunden, die hinsichtlich ihres Verhaltens in Milch, in Käse und gegen verschiedene Zucker-

Arten sowie bezüglich ihrer Resistenz geprüft wurden. Sie hielten sich, wenn auch in verminderter Zahl, bis zu vollendeter Reife des Käses am Leben; bei Kühllreifung kamen sie gleichfalls zur Wirkung. Löhnis.

Makrinoff, J. Die Knöllchenbakterien und die Präparate für Bodenimpfung. Russ. Journ. f. exp. Landw. **14**, 1913, S. 341—368 [russisch mit deutscher Zusammenfassung].

Das flüssige Nitragin von A. Kühn sowie Nitrobacterine enthielten keine Knöllchenbakterien. Dagegen bildeten diese zu etwa 50% den Mikrobenbestand in Nitragin-Erde und in Azotogen. Demgemäß befriedigte die Impfwirkung nur im letzteren Falle. Löhnis.

Vogel, J. Beitrag zum Verhalten durch Erhitzen sterilisierter Erde. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 280—284.

Manche Erden ergaben nach (scheinbarer) Sterilisierung starke Nitritbildung. Tatsächlich war diese aber bewirkt durch überlebende Sporenbildner, die durch die beim Erhitzen aufgeschlossenen organischen Substanzen in den Stand gesetzt wurden, das Nitrat zu reduzieren. Löhnis.

Bischoff, A. Über die Wirkung einer Strohdüngung unter verschiedenen äußeren Verhältnissen. Journ. f. Landw. **62**, 1914, S. 1—95.

Eine starke Strohdüngung (40 g pro 20 kg Erde = ca. 8000 kg pro Hektar) wirkte, je nachdem sie flach oder tief untergebracht, allein oder neben anderer Düngung, früh oder spät, auf Sand oder auf Lehm gegeben war, in sehr verschiedenem Grade auf den Ertrag ein. Für die Depression der Ernten sind wahrscheinlich sowohl die Denitrifikation, wie die Stickstoff-Festlegung wie auch schädliche Stoffwechselprodukte verantwortlich zu machen. Löhnis.

Klimmer, M. und Krüger, R. Sind die bei den verschiedenen Leguminosen gefundenen Knöllchenbakterien artverschieden? Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 256—265.

18 Knöllchenbakterien-Stämme wurden mittels der Agglutinations-, Komplementbindungs- und Präzipitations-Methode geprüft. Nach deren Ausfall werden 9 verschiedene, selbständige Arten aufgestellt:

1. *Lupinus perennis*, *luteus*, *angustifolius*, *Ornithopus sativus*;
2. *Melilotus albus*, *Medicago sativa*, *lupulina*, *Trigonella foenum graecum*;
3. *Lotus uliginosus*, *Anthyllis vulneraria*, *Tetragonolobus purpurea*;
4. *Vicia sativa*, *Pisum arvense*;
5. *Vicia Faba*;
6. *Trifolium pratense*;
7. *Phaseolus vulgaris*;
8. *Soja hispida*;
9. *Onobrychis sativa*.

Löhnis.

Simon, J. Über das Impfen der Hülsenfrüchte. Deutsche landw. Presse 41, 1914, S. 311.

Zur Sicherung der Impfwirkung bewährte es sich (besonders auf Moorboden) sehr, unter Verwendung des Azotogen zunächst eine Vorkultur der Knöllchenbakterien in einigen Kilogramm Erde von dem betreffenden Felde an Ort und Stelle anzulegen und diese Impferde dann auszusäen.

Löhnis.

Pringsheim, H. Zur Stickstoffassimilation in Gegenwart von Salpeter. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 40, 1914, S. 21—23.

Clostridium americanum assimilierte in 0,5proz. Glukose-Lösung, der 10—20 mg Salpeter-Stickstoff beigegeben worden waren, noch etwa $\frac{1}{2}$ so viel Stickstoff als bei Abwesenheit des Nitrats. Dagegen hörte in 1proz. Glukose-Lösung die Stickstoff-Bindung auf, wenn 40 mg Nitrat-Stickstoff hinzugefügt wurden. Indessen fand auch dann noch eine Stickstoffbindung statt, wenn in Mischkultur mit Zellulose-zersetzenden Düngerbakterien auf je 5 g Papier 40 mg Stickstoff in Form von Kalisalpeter zugesetzt worden waren.

Löhnis.

Gainey, P. L. Effect of CS_2 and toluol upon nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 39, 1914, S. 584—595.

Die Nitrifikation wurde erst dann gehemmt, wenn zu je 100 g Erde mehr als 0,1 ccm Toluol oder mehr als 1 ccm Schwefelkohlenstoff hinzugefügt wurden. Doch stellt sie sich auch bei starker Desinfektion später von selbst (ohne Impfung) wieder ein. Da auf dem Felde kaum jemals mehr als 0,1 ccm Toluol usw. auf 100 g Erde gegeben werden, so kann die Erklärung für die spezifische Wirkung einer solchen Behandlung wohl nicht in einer Beeinflussung der Nitrifikation gesucht werden.

Löhnis.

Löhnis, F. und Smith, J. H. Die Veränderungen des Stalldüngers während der Lagerung und seine Wirkung im Boden. Fühlings landw. Zeitg. 63, 1914, S. 153—167.

Die Maximal-Keimzahl in (6 Wochen altem) Stalldünger wurde auf Fleischextrakt-Agarplatten zu 11,6 Milliarden pro Gramm ermittelt. Mit Hilfe des Verdünnungs-Verfahrens konnten bis zu 5 Milliarden Pepton-Zersetzer, 100 Millionen Harnstoffbakterien und 2,5 Millionen Zellulose-Zersetzer nachgewiesen werden. Salpeterbakterien waren nicht in frischem Dünger, dagegen in altem Stallschmutz regelmäßig anzutreffen. Wurde harnfreier und harnhaltiger Dünger unter verschiedenen Bedingungen aufbewahrt, so ergab sich, daß eine rasche Ammoniakbildung nur auf Kosten des Harnstickstoffs möglich war, und daß die Stickstoff-Verluste nur zu einem kleinen Teile durch Denitrifikation bedingt sein konnten. Die Stickstoffwirkung des Stallmistes ist zu einem sehr großen Teile von dem erreichten Rottnungsgrade abhängig. Während der Stickstoff frischen Materials nur zu 4% nitrifiziert

wurde, wurde er unter im übrigen gleichen Bedingungen zu 58 % umgesetzt, wenn der betreffende Dünger zunächst 4 Wochen bei 20° C aufbewahrt worden war. Bei längerer Dauer der Rotte ging die Nitrifizierbarkeit dann wieder zurück. Analoge Werte lieferten zweijährige Vegetations-Versuche mit frischem und 6 Wochen gelagertem Stallmist. Die prozentische Stickstoff-Ausnutzung war hierbei die folgende:

	Kot + Stroh	Kot + Stroh + Harn	Harn
frisch . .	- 3,2	+ 14,7	+ 56,7
gerottet .	+ 17,3	+ 40,1	+ 73,5

Die Notwendigkeit verstärkter Versuchsanstellung in diesen Richtungen wird nachdrücklich betont. Löhnis.

Vogel, J. Die Einwirkung von Schwefel auf die bakteriellen Leistungen des Bodens. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 60—83.

Kleine Schwefel-Beigaben förderten sowohl die Ammoniakbildung, wie die Nitrifikation wie auch die Stickstoff-Assimilation in Erde. Kleine Schwefelsäure-Mengen wirken ähnlich; der Schwefel geht im Boden ziemlich rasch in Schwefelsäure über, die allerdings nur kurze Zeit in freier Form zugegen ist. Löhnis.

Densch und Arnd. Zur Frage der schädlichen Wirkung zu starker Kalkgaben auf Hochmoor. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **40**, 1914, S. 83—87.

Die im stark gekalkten Moor wahrnehmbare Nitritbildung ist auf Bakterienwirkung zurückzuführen. In (durch Hitze) sterilisierter Moorerde sind zwar schwach reduzierend wirkende Substanzen vorhanden, nicht aber im nicht erhitzten Substrat. Die Nitritbildner sind besonders in der obersten, zersetzten Schicht der Hochmoore sehr verbreitet. Löhnis.

Kossowicz, Al. Zur Frage der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Hefen und Schimmelpilze. Biochem. Zeitschr. **64**, 1914, S. 82.

Versuche (in Fortsetzung früherer Untersuchungen des Verf.) mit *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor Boidin*, *Botrytis Bassiana*, *Isaria farinosa*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium brevicaulis*, *Saccharomyces validus*, *Pichia membranaefaciens*, *Sacch. anomalus*, *Sacch. ellipsoideus*, *Monilia candida* und *Oidium lactis* ergaben, daß die genannten Pilze (Versuchsdauer 3 Wochen, Versuchstemperatur 20° C) wohl die in der Laboratoriumsluft enthaltenen Stickstoffverbindungen, nicht aber den elementaren Stickstoff der Luft assimilieren. Bei längerer Versuchsdauer (mehrere Monate) erscheint die Abhaltung der Luft-Stickstoffverbindungen von den benützten Nährlösungen mit großen Schwierigkeiten verbunden, weshalb auch leicht Fehlerquellen resultieren können.

Autoreferat.