

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION TE HOORN.

(BACTERIOLOGISCHE AFDEELING.)

OVER HOOIBROEI

DOOR

F. W. J. BOEKHOUT EN J. J. OTT DE VRIES.

Het is een van oudsher bekend feit, dat, wanneer hooi in niet volkomen drogen toestand gewonnen wordt, in den hoop warmte-ontwikkeling optreedt, die men met den naam hooibroei bestempelt. Bij een te hoog vochtgehalte stijgt de temperatuur echter te veel, er ontstaat eene zoetachtige, aan roggebrood herinnerende reuk; het hooi wordt zwart en bros, zoodat het met de hand fijn te wrijven is; het bezit dan reeds geene voederwaarde meer en ten slotte kan onder tot dusver onbekend gebleven omstandigheden brand ontstaan. Het sterke broeien van het hooi heeft echter nooit plaats over de geheele massa; veeleer kan men spreken van bepaalde broeihaarden, die over den hooiberg meer of minder verspreid zijn. Als voorzorgsmaatregel tegen deze minder gewenschte verschijnselen bepaalt men op zeer primitieve wijze de temperatuur van het hooi op verschillende punten, namelijk door eene lange, spits toeloope ijzeren stang in het hooi te steken, er eenigen tijd in te laten verblijven, er uit te halen en daarna over de geheele lengte met de hand te voelen of de warmte van dien aard is, dat de staaf nog is vast te houden. Daar de staaf aan de spits weerhaakvormig is ingekapt, blijft tevens van de plek, waar de punt zich bevindt, een weinig hooi aan de staaf hangen en wordt dit bij het terugtrekken meegenomen. Het aspect van dit beetje hooi in verband met de al of niet bestaande mogelijkheid de staaf te kunnen vasthouden dicht bij de punt, is dan de ruwe schatting voor den voortgang van het broeien op die plek. Is de punt daartoe te warm en begint het propje hooi eene zwartachtige kleur te verkrijgen, dan wordt het hooi uit de boerderij verwijderd en uit elkaar gegooid om af te koelen. Daarbij verschijnen dan sterk prikkelend zure dampen, die het werken in dergelijk hooi verre van aangenaam maken.

Zooals bekend, werd aangenomen, dat bacteriën de oorzaak zijn van dit verschijnsel. Bewezen werd in dezen wel niets, maar sedert de publicatie van F. Cohn (Berichte der Botanischen Gesellschaft 1893, p. 66) worden alle processen van dien aard aan werking van micro-organismen toegeschreven.

Om eenig inzicht in het verloop van het proces te verkrijgen, werd begonnen met de temperatuur te bepalen van sterk broeiende plekken. Gelegenheid werd daartoe geboden door een tweetal landbouwers, wier hooi sterk broeide. Eene spits toeloopende buis werd gedreven in de plek, waar het hooi broeide en vervolgens een maximum-thermometer voorzien van een ijzerdraad daarin gesloten; de temperatuur bleek toen 85° C. en 96° C. te zijn. In deze beide gevallen werd het hooi uit den berg verwijderd; volgens de practici was de toestand dus van dien aard, dat direct gevaar voor zelfontbranding bestond. Ook het gas in den hooiberg werd onderzocht; het werd in voldoende hoeveelheid verzameld op de bekende wijze. De analyse gaf de volgende samenstelling:

7,0 pCt.	koolzuur	CO ₂ ,
12,4	„	zuurstof O ₂ ,
80,6	„	stikstof N ₂ .

Daar nu oorspronkelijk dampkringslucht aanwezig is geweest en de verhouding daarin is van O₂ tot N₂ als 21 : 79, zoo blijkt hieruit, dat zuurstof in een niet gasvormigen toestand is vastgelegd, ook al wordt het koolzuur als product van een gewoon oxydatie-proces opgevat en het volume als zoodanig als oorspronkelijk volume O₂ berekend; daar 1 volume O₂ bij de verbranding zoude geven 1 volume CO₂, blijft nog tekort aan O₂ over. In hoofdzaak echter verdwijnt O₂ en komt CO₂ hiervoor in de plaats.

Om de veranderingen, welke in het hooi zelf ontstonden, na te gaan, werd uit eenzelfde hooiberg gebroeid hooi genomen en dicht in de buurt van de broeiende plekken hooi, dat niet gebroeid had. De samenstelling van deze beide monsters was omgerekend op droge stof:

	Gebroeid:	Niet gebroeid:
Asch	9,2	8,4
Eiwit	11,5	10,8
Pentosanen	20,6	24,0
Ruwvezel	35,4	31,6
Ruwvet	3,1	2,0
N-vrije extractiefstoffen	20,2	23,2

Wanneer men deze cijfers met elkaar vergelijkt, dan blijkt, dat

voortgaan, het aschgehalte, het eiwitgehalte, het percentage ruwvezel ¹⁾ en het ruwvet ²⁾.

Verminderd daarentegen wordt het pentosanengehalte en de hoeveelheid N-vrije extractiestoffen.

Gedurende het proces verdwijnen dus in hoofdzaak zetmeel- en suikerachtige stoffen.

Zooals reeds vroeger is meegedeeld, ontstaan bij het broeien nevels, die sterk zuur reageeren. Dit is met een lakmoespapiertje gemakkelijk aan te toonen.

Het monster gebroeid hooi reageerde zuur en de lucht deed herinneren aan mierenzuur. Daarom werd onderzocht of dit zuur werkelijk daarin aanwezig was. Een gedeelte werd met water overgoten en vervolgens aan een koeler verhit. Het destillaat, dat zuur reageerde, werd met natronloog geneutraliseerd en tot droog toe ingedampt. Het residu werd in weinig water opgenomen en zilvernitraat toegevoegd. Reductie tot zilver trad na koken in. En uit het vluchtig zijn met waterdamp, en uit het reduceerend vermogen mag dus wel besloten worden, dat dit zuur mierenzuur is.

Vatten we nu deze gegevens samen, dan blijkt dus, dat het broeien van hooi een proces is, waarbij:

- 1°. Warmte wordt ontwikkeld tot een graad, die bij deze opnamen dicht bij 100° C. gelegen was.
- 2°. Pentosanen en zetmeelachtige stoffen worden aangetast.
- 3°. Koolzuur en mierenzuur gevormd worden na binding van zuurstof.

Als directe oorzaak van het broeien een micro-organisme aan te nemen, is alleen reeds onmogelijk met het oog op de hoge temperatuur, die ontwikkeld wordt. Het leven is bij zoo'n toestand onmogelijk; wel kunnen sporen aanwezig zijn, maar aangezien deze meer een latente toestand van het leven zijn, kunnen ze buiten beschouwing blijven. Zouden toch micro-organismen in het spel zijn, dan kon het proces misschien alleen verklaard worden doordat men aannam, dat deze een pyrophoren toestand van het hooi schiepen en dat door de aanwezige zuurstof eene langzame oxydatie ontstond, die de temperatuur zoo hoog deed stijgen. Nu zou verwacht mogen worden, dat op de plek, waar het hooi sterk broeide, ontwikkeling van micro-organismen had plaats gegrepen. Deze zouden dus aantoonbaar moeten zijn.

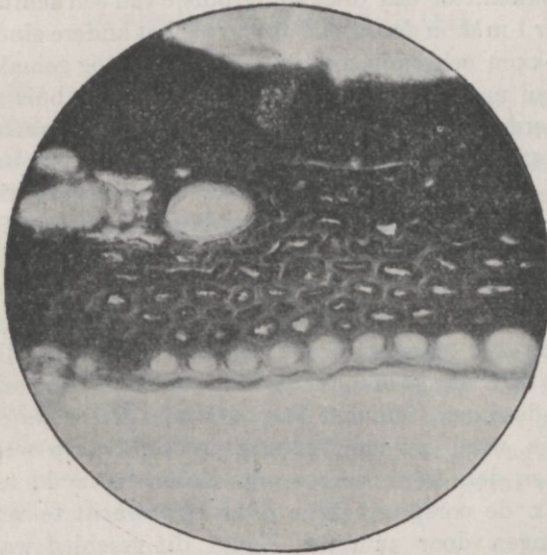
Toch mocht het niet gelukken micro-organismen in eenige

¹⁾ Daar bij de bepaling der ruwvezel volgens Holdfleiss altijd pentosanen in de ruwvezel achterblijven, werd deze hoeveelheid apart bepaald en van de ruwvezel afgetrokken.

²⁾ Het ruwvet heeft als zoodanig in dit geval weinig te beteekenen, maar is meer bepaald om eene zuiverder waarde voor de N-vrije extractiestoffen te verkrijgen.

hoeveelheid van beteekenis aan te toonen. Noch waren ze direct onder het microscoop zichtbaar, noch gelukte het ze te kweken.¹⁾ Deze verschillende feiten gecombineerd doen de veronderstelling, dat micro-organismen de oorzaak van hooibroei zijn, sterk wankelen.

Wordt van een gebroeiiden zwart zienden hooistengel eene coupe gemaakt, dan vindt men bij beschouwing onder het microscoop het volgende.



De inhoud der cellen, welke de buitenste of epidermislaag vormen, is ongekleurd, terwijl de celwanden onaangestast en geheel onbeschadigd zijn (zie fig.) Bij de andere cellen is eveneens de celwand geheel gaaf, doch is het protoplasma geheel of gedeeltelijk zwart geworden. De kleur der wanden van dergelijke cellen is wel eenigszins geelachtig bruin, doch dit is

waarschijnlijk op te vatten als een diffundeeren van de kleurstof uit het zwarte protoplasma naar de celwanden. Ook de vaatbundels zijn ongekleurd.²⁾

Uit het niet gekleurd zijn van de epidermiscellen en vaatbundels volgt, dat het zwart worden, van het protoplasma niet kan toegeschreven worden aan stoffen, die van buitenaf in den hooistengel kunnen doorgedrongen zijn, doch van dat die kleurstof in den stengel zelf ontstaan is. Wanneer nu vaststaat, dat dit het geval is, dan blijkt ook verder uit de coupe, dat bacteriën niet de oorzaak van kleurverandering van het protoplasma kunnen zijn, daar zij nooit het inwendige van de cel zouden kunnen bereiken zonder den celwand te vernietigen. Uit al deze gegevens blijkt dus, dat hooibroei geen proces is, waarvan de oorzaak moet toegeschreven worden aan de levensuitingen van micro-organismen.

Verschillende feiten, die gedurende de onderzoekingen aan het

¹⁾ Bij de poging ze te kweken werd gebruik gemaakt van hooi-gelatine. Een andere voedingsbodem zooals bijv. Löffler-gelatine te nemen zoude onzes inziens door de totale afwijking der natuurlijke voeding geen zin hebben.

²⁾ De fig. is eene fotografie der coupe, gemaakt van een willekeurigen, botanisch niet nader gedefinieerden stengel uit gebroeid hooi.

licht kwamen, o. a. de bovengenoemde gas-analyse deden het vermoeden rijzen, dat de zuurstof eene belangrijke rol bij dit proces zou kunnen spelen. Om dit na te gaan werden de hieronder beschreven proeven genomen.

Vooreerst werd onderzocht of door verhitting met zuurstof ook koolzuur ontstond, zooals dit onder de gewone omstandigheden geschiedt. Te dien einde werd eene glazen buis ter lengte van ± 25 c.M. aan een einde uitgetrokken, tot een dikwandig buisje van een achttal c.M. lengte en ongeveer 1 m.M. in doorsnede ontstond; het andere einde werd eveneens uitgetrokken echter op zoodanige wijze, dat nog gemakkelijk kort geknipt hooi naar binnen was te brengen. Nadat de buis op die manier geprepareerd was, werd eerst een laagje asbest ingebracht, vervolgens het hooi, daarna weer een laagje asbest en het uitgetrokken gedeelte, waardoor de vulling had plaats gehad, door verdere uittrekking vernauwd tot op 1 m.M. Het resultaat was dan eene glazen buis gevuld met hooi, aan beide kanten voorzien van een capillair. De asbest was aanwezig om het hooi te beschutten tegen den nadeeligen invloed der hitte, ontwikkeld door de blaasvlam. Door middel van vacuumslang werd een der capillairen verbonden met een kwikluchtpomp, de andere met een gashouder, waarin zuurstof aanwezig was (een paar waschflesschen, één met loog, één met water waren ingeschakeld). De buis werd nu luchtledig gepompt, daarop weer gevuld met zuurstof en deze bewerking eenige malen herhaald ten einde zooveel mogelijk de oorspronkelijke dampkringslucht te verwijderen en te vervangen door zuurstof. Nadat dit geschied was, werden de capillairen dicht gesmolten.

Was bij de proeven de aanwezigheid van water noodzakelijk, dan werden, vóór met het leegpompen begonnen werd, eenige c.M³. gedistilleerd water in de buis opgezogen. Na het toesmelten werden de buizen in kokend water ondergedompeld, dus aan eene constante temperatuur van $\pm 100^{\circ}$ blootgesteld; hierdoor was dan een bacteriëngroei en enzymwerking uitgesloten, zoodat alleen chemische reacties, welke onafhankelijk zijn van de aanwezigheid van georganiseerde stoffen, konden plaats grijpen. Als de verhitting eenigen tijd geduurd had, werd het gasmengsel boven water opgevangen en geanalyseerd volgens de bekende methode; de inhoud van de buizen werd bepaald, door ze vóór het openen als zoodanig te wegen en daarna als ze met het water, dat de gassen verdrongen had, gevuld waren. Het verschil van deze twee wegingen leverde dan ongeveer den inhoud. Het spreekt wel vanzelf, dat op deze wijze geen absoluut cijfer werd verkregen, maar in aanmerking nemende, dat het hooi door het voorkomen daarin van de uiterst fijne zeef- en houtvaten en het opnemen van imbibitievocht vele moeilijkheden opleverde, leek het ons de meest geschikte manier toe; alleen moest eenigszins vlug te werk worden gegaan.

Buis I met vocht.

Duur der verhitting 20 uur.

Gewicht buis met water 99,9 gr.

Gewicht buis 57,4 „

Gewicht water 42,5 gr.

dus inhoud \pm 42,5 c. c.

Volume van het gas 23,4 c. c.

na absorbtie in kaliloog (K O H). 9,8 „

dus koolzuurgas 13,6 c. c.

Het overgebleven volume 9,8 c. c. was stikstof. De aanwezige stikstof was, zooals later bleek, afkomstig uit de zuurstof. Door onvolledige verdringing der lucht uit het ontwikkelingsapparaat en de waschflesschen kwam er eene niet geringe quantiteit stikstof in den gashouder, eene hoeveelheid die in procenten uitgedrukt, grooter werd naarmate de hoeveelheid zuurstof, die bereid werd, kleiner was. Vandaar dat in sommige proeven een hoog restant stikstof werd gevonden.

In de buis was dus oorspronkelijk aanwezig een mengsel van 9,8 c. c. N_2 en \pm 32,7 c. c. O_2 na afloop van de proef 9,8 c. c. N_2 en 13,6 c. c. CO_2 . Aannemende dat het koolzuur gevormd is uit de zuurstof en dus daardoor geene volumeverandering ontstaat (daar 1 volume O_2 geeft 1 volume CO_2) zoude in dat geval vastgelegd kunnen zijn \pm 32,7—13,6 = \pm 19,1 c. c. O_2 .

Buis II met vocht.

Duur der verhitting 17 uur.

Gewicht buis met water 101,0 gr.

Gewicht buis 59,2 „

Gewicht water 41,8 gr.

dus inhoud \pm 41,8 c. c.

Volume van het aanwezige gas 21,5 c. c.

na absorptie in K O H. 6,4 „

dus CO_2 15,1 c. c.

Het overgebleven volume 6,4 c. c. was stikstof.

Oorspronkelijk was dus in de buis aanwezig een mengsel van \pm 35,4 c. c. O_2 en 6,4 c. c. N_2 . Passen we hierbij dezelfde berekening toe als bij de vorige proef, dan kon vastgelegd zijn \pm 35,4—15,1 = \pm 20,3 c. c. O_2 .

Buis III met vocht.

Duur der verhitting 11 uur.

Gewicht buis met water 105,5 gr.

Gewicht buis 59,5 „

Gewicht water 46,0 gr.

dus inhoud \pm 46 c. c.

Volume van het aanwezige gas	24,0 c. c.
na absorptie met KOH.	7,2 „
	<hr/>
dus CO ₂	16,8 c. c.

De rest van het volume 7,2 c. c. was N₂.

Oorspronkelijk was dus in de buis een mengsel van $\pm 38,8$ c. c. O₂ en 7,2 c. c. N₂ waarvan $\pm 38,8 - 16,8 = \pm 22$ c. c. O₂ zou kunnen vastgelegd zijn.

Buis IV met vocht.

Duur der verhitting 9 uur.

Gewicht buis met water	104,9 gr.
Gewicht buis	57,4 „
	<hr/>
Gewicht water	47,5 gr.
dus inhoud $\pm 47,5$ c. c.	
Volume van het aanwezige gas	24,4 c. c.
na absorptie in KOH.	6,2 „
	<hr/>
dus CO ₂	18,2 c. c.

Het overgeblevene volume 6,2 c. c. was stikstof.

Aanvankelijk was dus in de buis een mengsel van $\pm 41,3$ c. c. O₂ en 6,2 c. c. N₂ waarvan $\pm 41,3 - 18,2 = \pm 23,1$ c. c. O₂ kunnen vastgelegd zijn.

Uit deze proeven blijkt dus, dat onder de gegeven omstandigheden zuurstof in korten tijd inwerkt op hooi en wel op zoodanige wijze, dat al het aanwezige gas verbruikt wordt onder gedeeltelijke vastlegging en vorming van koolzuur.

Om den invloed te bepalen, die de toevoeging van water bij deze reactie uitoefent, werden een paar proeven genomen op geheel dezelfde wijze als de vorige, alleen met dit verschil, dat het vocht weggelaten werd.

Buis V zonder vocht.

Duur der verhitting 17 uur.

Gewicht buis met water	13,05 gr.
Gewicht buis	71,0 „
	<hr/>
Gewicht water	59,5 gr.
dus inhoud $\pm 59,5$ c. c.	
Volume van het aanwezige gas	46,9 c. c.
na absorptie in KOH.	12,8 „
	<hr/>
dus CO ₂	34,1 c. c.

De rest van het volume 12,8 c. c. was N₂.

Aanvankelijk was dus in de buis $\pm 46,7$ c. c. O₂ en 12,8 c. c. N₂, waarvan $\pm 46,7 - 34,1 = 12,6$ c. c. O₂ zouden vastgelegd zijn.

Buis VI zonder vocht.

Duur der verhitting 17 uur.

Gewicht buis met water	123,3 gr.
Gewicht buis	70,0 „
	<hr/>
Gewicht water	53,3 gr.
dus inhoud \pm 53,3 c. c.	
Volume van het aanwezige gas	38,4 c. c.
na absorptie in KOH	7,0 „
	<hr/>
dus CO ₂	31,4 c. c.

De rest van het volume 70 c. c. was N₂.

Aanvankelijk was dus in de buis \pm 46,3 c. c. O₂ en 7,0 c. c. N₂, waarvan \pm 46,3—31,4 = \pm 14,9 c. c. O₂ vastgelegd is.

Ook in deze beide gevallen treedt dus CO₂ op en is O₂ vastgelegd.

Een bepaalde invloed van het toegevoegde water is uit deze proeven niet te constateeren; hoogstens zou aangenomen kunnen worden, dat een weinig meer CO₂ ontstaat en iets minder O₂ vastgelegd wordt; er moet echter hierbij niet vergeten worden, dat hooi als zoodanig toch altijd nog 14 pCt. vocht bevat, welke bij de reactie invloed kan uitoefenen.

Wordt in plaats van zuurstof, lucht genomen, dan treden geheel dezelfde verschijnselen op; ook dan ontstaat CO₂.

Buis VII met vocht.

Duur der verhitting 13 uur.

Volume van het aanwezige gas	55,2 c. c.
na absorptie in KOH	44,2 „
	<hr/>
dus CO ₂	11,0 c. c.
na absorptie met pyrogallol	44,2 c. c.

Er was dus geene zuurstof meer aanwezig; de rest was uit den aard der zaak N₂.

Buis VIII zonder vocht.

Duur der verhitting 15 uur.

Gewicht buis met water	139,4 gr.
Gewicht buis	73,3 „
	<hr/>
Gewicht water	66,1 „
dus inhoud \pm 66,1 c. c.	
Aanwezig gas volume.	62,8 c. c.
na absorptie in KOH	48,4 „
	<hr/>
dus CO ₂	14,4 c. c.
na absorptie in pyrogallol	48,4 „

Er was dus geene zuurstof meer aanwezig; de rest van het volume is N₂.

Uit deze laatste analyse blijkt, dat er meer koolzuur gevormd is geworden, dan oorspronkelijk zuurstof aanwezig was; bedroeg toch het volume lucht \pm 66,1 c. c. dan kon hoogstens 13,9 c. c. CO₂ ontstaan zijn, als de zuurstof alleen gebruikt was ter oxydatie van de

koolstof. Dat er toch meer gevonden wordt, kan zijne verklaring daarin vinden, dat in de plantencellen stoffen aanwezig zijn, welke koolstofatomen bevatten, zoodanig aan zuurstof en waterstof gebonden, dat door oxydatie van deze laatste, koolzuur vrij komt, bijv. in den vorm van de carboxylgroep. Een eenvoudig voorbeeld daarvan zoude o. a. oxaalzuur kunnen zijn, daaruit kan volgens onderstaande vergelijking $2 \begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{COOH} \end{array} + \text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + 4 \text{CO}_2$, op 1 volume gebonden zuurstof 4 volumens koolzuur ontstaan.

Dat eene dergelijke reactie plaats grijpt, blijkt uit de volgende proeven, waarbij de buizen gevuld zijn met stikstof, welke $2\frac{1}{2}$, tot 3 pCt. zuurstof bevat. In deze buizen trad altijd overdruk op en werd het volume CO_2 veel hooger gevonden, dan dat van de oorspronkelijk aanwezige zuurstof bedragen had.

Buis IX met vocht.

Duur der verhitting 19 uur.

Volume aanwezige gasmassa	42,6 c. c.
na absorptie met KOH.	30,0 „
	<hr/>
dus CO_2	12,6 c. c.

Buis X met vocht.

Duur der verhitting 17 uur.

Gewicht buis met water.	82,5 gr.
Gewicht buis.	49,9 „
	<hr/>
Gewicht water	32,6 „
dus inhoud \pm 32,6 c. c.	
totaal volume van het aanwezige gas	41,4 c. c.
na KOH absorptie	32,6 „
	<hr/>
dus CO_2	8,8 c. c.

Buis XI met vocht.

Duur der verhitting 12 uur.

Volume aanwezige gasmassa	48,4 c. c.
na absorptie in KOH	39,4 „
	<hr/>
dus CO_2	9,0 c. c.

Buis XII met vocht.

Duur der verhitting 9 uur.

Gewicht buis met water	72,8 gr.
Gewicht buis	43,0 „
	<hr/>
Gewicht water	29,8 gr.
dus inhoud \pm 29,8 c. c.	
Volume aanwezige gas	34,4 c. c.
na absorptie in KOH	29,6 „
	<hr/>
dus CO_2	4,8 c. c.

Buis XIII zonder vocht.

Duur der verhitting 15 $\frac{1}{2}$ uur.

Gewicht buis met water. 119,5 gr.

Gewicht buis 69,2 „

Gewicht water 50,3 „

Volume aanwezige gas 66,2 c. c.

na absorptie in KOH 50,0 „

dus CO₂ 16,2 „

Het spreekt wel van zelf, dat in verband met dit verschijnsel de berekening van de hoeveelheid door het hooi gebonden zuurstof, zooals die aangehaald is voor de proeven buis I tot en met VI in het geheel geene absolute waarde oplevert, doch zeer benaderend is en alleen een minimum geeft, omdat aangenomen is, dat al het koolzuur ontstaan zoude zijn door oxydatie.

Dat het koolzuur niet vrij is gekomen door verhitting op 100° C. van de in de plantendeelen aanwezige organische stoffen, blijkt daaruit, dat zoo goed als geen gas optreedt, wanneer in vacuo gedroogd gras met een weinig water gedurende eenigen tijd in eene luchtledig gepompte toegesmolten buis verhit wordt op 100° C.

Deze proef werd eenige malen herhaald en gaf tot resultaat, dat bij een verhittingsduur van 24 tot 56 uren en eene grasquantiteit van 1 en 2 gr. dikwijls zoo weinig gas ontstond, dat het niet overgebracht kon worden in een Hempelsche buret, daar het in fijne belletjes bleef verspreid zitten in het gras. Zoo werd eens volgens schatting $\pm \frac{1}{2}$ c. c. gevonden. Voor de enkele malen, dat het wel in de buret gemeten kon worden, bedroeg het volume 1,6 c. c. (waarvan 1 c. c. CO₂) en 0,4 c. c. doch bij deze laatste proef waren eenige gasbellen blijven steken, zoodat dit volume iets te klein is, doch hoogstens 1,0 c. c. zal bedragen hebben.

Bij deze laatste proeven is niet gebruik gemaakt van hooi, maar van versch gras, dat spoedig in een vacuum gedroogd was, omdat hooi door het drogen in de lucht een product is, dat reeds een meer of mindere oxydatie heeft ondergaan. Dergelijk gras moet uit den aard der zaak nog gevoeliger zijn tegenover de zuurstof dan hooi. Dat het dit gas eveneens gretig opneemt leeren de volgende proeven.

Buis XIV met vocht. Gevuld met 5 gr. gedroogd gras.

Duur der verhitting 24 uur.

Gewicht buis met water. 182,0 gr.

Gewicht buis 89,6 „

Water 92,4 gr.

dus inhoud \pm 92,4 c. c.

Volume van het aanwezige gas	76,3 c. c.
na absorptie in KOH	48,6 „
dus CO ₂	27,7 c. c.
na absorptie in pyrogallol	20,0 „
dus O ₂	28,6 c. c.

Van de aanvankelijk aanwezige zuurstof is dus verbruikt 72,4—28,6 = 43,8 c. c.

Buis XV met vocht. Gevuld met 1 gr. gedroogd gras.

Duur der verhitting 16 uur.

Inhoud buis ± 96,6 c. c.

Volume van het aanwezige gas	93,4 c. c.
na absorptie in KOH	75,0 „
dus CO ₂	18,4 c. c.
na absorptie in pyrogallol	21,2 „
dus O ₂	53,8 c. c.

Van de zuurstof is dus verbruikt ± 72,2 — 53,8 = 18,4 c. c.

Buis XVI met vocht. Gevuld met 1 gr. gedroogd gras.

Duur der verhitting 38 uur.

Gewicht buis met water	149,8 gr.
Gewicht buis	66,0 „
Gewicht water	83,8 gr.
dus inhoud ± 83,8 c. c.	
Volume van het aanwezige gas	52,0 c. c.
na absorptie in KOH	11,0 „
dus CO ₂	41,0 c. c.
na absorptie in pyrogallol	11,0 „
dus O ₂	0,0 „

Alle zuurstof is dus verbruikt.

Buis XVII zonder vocht. Gevuld met 1 gr. gedroogd gras.

Duur der verhitting 34 uur.

Gewicht buis met water	132,3 gr.
Gewicht buis	54,2 „
Gewicht water	78,1 gr.
dus inhoud ± 78,1 c. c.	
Volume van het aanwezige gas	73,6 c. c.
na absorptie in KOH	64,4 „
dus CO ₂	9,2 c. c.
na absorptie in pyrogallol	9,4 „
dus O ₂	55,0 c. c.

Verbruikt is dus ± 68,7 — 55,0 = ± 13,7 c. c. O₂.

In deze beide laatste gevallen is de invloed van het vocht duidelijk zichtbaar; terwijl toch bij ongeveer gelijken verhittingsduur en gelijke hoeveelheden stof bij de aanwezigheid van water 41 c. c. koolzuur is gevormd, is bij afwezigheid van het vocht slechts 9,2 c. c. ontstaan.

In alle voorgaande proeven werd als verhittings-temperatuur die van kokend water, dus ongeveer 100° C. genomen, om enzym — en bacteriënwerking buiten te sluiten. Die warmtegraad ligt echter zoo hoog, dat met den invloed daarvan op het oxydatieproces zeer zeker rekening gehouden moet worden.

Het spreekt wel vanzelf, dat de inwerking bij eene lagere temperatuur niet zoo snel zal plaats grijpen, doch de mogelijkheid was niet uitgesloten, dat ver beneden 100° C. de directe verbinding der organische stoffen en de zuurstof niet meer zoude tot stand komen.

Ten einde te onderzoeken in hoeverre de reactie geschiedde ook bij geringeren warmtegraad, werden buizen, waarin in vacuo gedroogd gras, gevuld met lucht of zuurstof, al of niet onder toevoeging van water, op geheel dezelfde wijze als bij de vorige proefreeksen. Deze werden gedurende eenigen tijd gelegd in een thermostaat, welke op 33° C. werd gehouden, terwijl om groei van micro-organismen buiten te sluiten, de buizen, waarin water aanwezig was, na eerst luchtledig te zijn gepompt, gestereliseerd waren vóór en al eer ze met lucht of zuurstof gevuld werden. De zuurstof uit den gashouder passeerde vooraf twee waschflesschen, waarvan één met loog en één met water, en werd dan nog door watten gefiltreerd. Voor de buizen, welke alleen gedroogd gras bevatten, waren dergelijke voorzorgsmaatregelen niet noodig, omdat het vochtgehalte daarin zoo gering was, dat eene ontwikkeling van micro-organismen niet kon plaats grijpen. Nadat de dus behandelde buizen eenigen tijd op 33° C. verhit waren geweest, werden ze geopend en het daarin aanwezige gas geanalyseerd.

Hieronder volgen de resultaten, welke op deze wijze verkregen werden.

Buis XVIII geprepareerd op 12/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogd gras, waarin 6 c. c. water en lucht. Geopend 28/10 '08.

Volume van het aanwezige gas	74,2 c. c.
na absorptie in KOH	70,2 „

dus CO₂ 4,0 c. c.

Eenzelfde buis XVIIIa van 12/10 waarin geen water aanwezig was, gaf op 28/10 het volgende:

Volume van het aanwezige gas	71,4 c. c.
na absorptie in KOH	70,6 „

dus CO₂ 0,8 c. c.

Buis XIX geprepareerd op 15/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogd gras, waarin 6 gr. water en zuurstof. Geopend 28/10 '08.

Volume van het aanwezige gas	78,1 c.c.
na absorptie in K O H	73,8 „
dus CO ₂	4,3 c.c.
Een dergelijke buis XIX _a van 15/10, waarin het water ontbrak gaf op 23/10 het volgende:	
Volume van het aanwezige gas	92,4 c.c.
na absorptie in K O H	92,2 „
dus CO ₂	0,2 c.c.
Buis XX geprepareerd 14/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo ge- droogd gras, waarin 6 c.c. water en lucht. Geopend 11/11 '08.	
Volume van het aanwezige gas	60,1 c.c.
na absorptie in K O H	54,7 „
dus CO ₂	5,4 c.c.
Eenzelfde buis XX _a van 12/10 '08, waarin het water ontbrak, gaf op 11/11 '08 het volgende:	
Volume van het aanwezige gas	62,8 c.c.
na absorptie in K O H	60,8 „
dus CO ₂	2,0 c.c.
Buis XXI geprepareerd op 15/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogd gras, waarin 6 c.c. water en zuurstof. Geopend 12/11 '08.	
Gewicht van de buis met water	194,5 gr.
Gewicht van de buis	100,6 „
Gewicht van het water	93,9 gr.
dus inhoud ± 93,9 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	81,2 c.c.
na absorptie in K O H	76,0 „
dus CO ₂	5,2 c.c.
Eenzelfde buis XXI _a van 15/10 '08, waarin het water ontbrak, gaf op 12/11 het volgende:	
Gewicht van de buis gevuld met water	172,0 gr.
Gewicht van de buis	98,5 „
Gewicht van het water	73,5 gr.
dus inhoud ± 73,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	68,8 c.c.
na absorptie in K O H	68,0 „
dus CO ₂	0,8 c.c.
Buis XXII geprepareerd op 12/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogd gras, waarin 6 c.c. water en lucht. Geopend 24/11 '08.	
Gewicht van de buis met water	176,0 gr.
Gewicht van de buis	80,0 „
Gewicht van het water	96,0 gr.
dus inhoud ± 96 c.c.	

Volume van het aanwezige gas	83,8 gr.
na absorptie in KOH	77,0 „
dus CO ₂	6,8 gr.

Eenzelfde buis XXIIa van 12/11 '08 waarin het water ontbrak, gaf op 24/11 het volgende:

Gewicht van de buis met water	155,5 gr.
Gewicht van de buis	68,0 „
Gewicht van het water	87,5 gr.
dus inhoud ± 87,5 c. c.	
Volume van het aanwezige gas.	83,8 c. c.
na absorptie in KOH	81,4 „
dus CO ₂	2,4 c. c.

Buis XXIII geprepareerd op 15/10 '08, gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogd gras, waarin 6 c. c. water en zuurstof. Geopend 25/11 '08.

Gewicht van de buis met water	170,5 gr.
Gewicht van de buis	89,0 „
Gewicht van het water	81,5 gr.
dus inhoud ± 81,5 c. c.	
Volume van het aanwezige gas.	67,2 c. c.
na absorptie in KOH	60,5 „
dus CO ₂	6,7 c. c.

Eenzelfde buis XXIIIa van 15/10 '08, waarin het water ontbrak, gaf op 25/11 het volgende:

Gewicht van de buis met water	194,0 gr.
Gewicht van de buis	108,5 „
Gewicht van het water	85,5 gr.
dus inhoud ± 85,5 c. c.	
Volume van het aanwezige gas.	81,5 c. c.
na absorptie in KOH	80,9 „
dus CO ₂	0,6 c. c.

Beknopt samengevat leveren de door dit onderzoek verkregen gegevens het volgende:

4 gr. in vacuo gedroogd gras leveren:

Na	Met lucht.	Met lucht en water.	Met zuurstof.	Met zuurstof en water.
13 dagen . . .	—	—	0,2 c. c. CO ₂	4,3 c. c. CO ₂
16 „ . . .	0,8 c. c. CO ₂	4,0 c. c. CO ₂	—	—
28 „ . . .	2,— c. c. CO ₂	5,4 c. c. CO ₂	0,8 c. c. CO ₂	5,2 c. c. CO ₂
41 „ . . .	—	—	0,6 c. c. CO ₂	6,7 c. c. CO ₂
43 „ . . .	2,4 c. c. CO ₂	6,8 c. c. CO ₂	—	—

4 gr. in vacuo gedroogd gras absorbeeren:

Na	Met lucht.	Met lucht en water.	Met zuurstof.	Met zuurstof en water.
28 dagen . . .	—	—	4,7 c c CO ₂	12,7 c. c. CO ₂
41 " . . .	—	—	4,— c. c. CO ₂	14,3 c. c. CO ₂
43 " . . .	3,7 c. c. CO ₂	12,2 c. c. CO ₂	—	—

Uit beide tabellen is af te leiden:

- 1°. Dat ook bij een temperatuur, aanmerkelijk lager dan 100° C., zuurstof oxydeerend op hooi inwerkt, zij het dan ook al niet in eene sterke mate.
- 2°. Dat onder deze omstandigheden eveneens zuurstof vastgelegd en koolzuur gevormd wordt.
- 3°. Dat de invloed, welke het vocht in het oxydatieproces heeft in dit geval en wat koolzuurvorming en wat zuurstofbinding betreft, zeer op den voorgrond treedt.

Verder is op te merken, dat een verschil van inwerking tusschen lucht en zuurstof zoo goed als niet bestaat. Of een mengsel van stikstof en zuurstof of alleen dit laatste gas aanwezig is, heeft blijkbaar geen invloed op de intensiteit van de oxydatie; in drogen toestand van het gras doet lucht zelfs eene grootere hoeveelheid koolzuur ontstaan dan zuurstof.

Is dus hiermede aangetoond, dat het koolzuur, dat in een broeienden hooiberg gevormd wordt, door eenvoudige oxydatie ontstaat, dan blijft nog na te gaan of ook de andere verschijnselen, welke bij het broeien optreden op dezelfde manier verklaard kunnen worden.

Daartoe werden de proeven genomen, waarvan de beschrijvingen en resultaten hieronder volgen.

Van twee buizen, bevattende ieder 1 gr. in vacuo gedroogd gras, wordt, na toevoeging van weinig water, één gevuld op de bekende wijze met zuurstof, de andere luchtledig gepompt. Na toegesmolten te zijn, worden beide in kokend water verhit gedurende \pm 33 uur.

Na dien tijd is het gras in de luchtledige buis totaal groen gebleven, dat in de met zuurstof gevulde is donkerbruin geworden met vele stukjes, welke zwart zijn. De coupe van een dergelijk deeltje geeft hetzelfde te zien als die van normaal broeihooi; de celwanden zijn intact, terwijl het protoplasma zwart gekleurd is. De reactie van de bruine massa is sterk zuur, welke eigenschap gemist wordt bij het in het luchtledige verhitte gras, dat bijna neutraal reageert. Het pentosanengehalte op droge stof omgerekend, was voor het eerste 11 pCt., voor het laatste 16,5 pCt., zoodat door de behandeling met zuurstof eene vermindering was ontstaan van 5,5 pCt.

Uit deze feiten bleek dus reeds dat analoge verschijnselen optraden als bij de hooibroei.

Om de uitwerking van de oxydatie verder na te gaan, werd eene Erlemeyer kookkolf, welke in een waterbad geplaatst was, van ongeveer 10 gr. in vacuo gedroogd gras benevens een weinig water voorzien, dat aangevuld werd, naarmate het gedurende de verdere behandeling verdampte. De hals werd gesloten door eene caoutchouc stop, waar door heen een tweetal glazen buizen gingen, waarvan één tot op den bodem reikte. Door deze laatste werd een langzame stroom zuurstof toegevoerd, terwijl het waterbad op 100° C. was verhit en na korteren of langeren tijd het behandelde gras geanalyseerd.

Gras I.

Samenstelling van het gras op droge stof omgerekend:

asch	12,3 pCt.
pentosanen	14,6 „
ruwvet	3,3 „
ruwvezel	26,6 „
eiwit	22,6 „
stikstofvrije extractiefstoffen	20,6 „

Samenstelling van hetzelfde na 4 dagen met zuurstof en water behandeld te zijn, op droge stof omgerekend:

asch	16,0 pCt.
pentosanen	10,7 „
ruwvet	6,0 „
ruwvezel	29,9 „
eiwit	26,7 „
stikstofvrije extractiefstoffen	10,7 „

In dit geval zijn dus toegenomen asch, ruwvet, ruwvezel en eiwit, terwijl afgenomen zijn pentosanen en stikstofvrije extractiefstoffen.

Gras II.

Samenstelling van het gras op droge stof omgerekend:

asch	14,8 pCt.
pentosanen	13,8 „
ruwvet	3,9 „
ruwvezel	23,1 „
eiwit	22,8 „
stikstofvrije extractiefstoffen	21,6 „

Samenstelling van hetzelfde na 5 dagen met zuurstof en water behandeld te zijn, op droge stof omgerekend:

asch	17,1 pCt.
pentosanen	7,7 „
ruwvet	6,4 „
ruwvezel	28,7 „
eiwit	23,4 „
stikstofvrije extractiefstoffen	16,7 „

Ook in dit geval zijn toegenomen asch, ruwvet, ruwvezel en eiwit, terwijl afgenomen zijn pentosanen en stikstofvrije extractiefstoffen.

Gras III.

Samenstelling van het gras op droge stof omgerekend:

asch	14,1 pCt.
pentosanen	14,3 "
ruwvet	4,3 "
ruwvezel	22,5 "
eiwit.	23,3 "
stikstofvrije extractiefstoffen	21,5 "

Samenstelling, nadat het gedurende 5 dagen met zuurstof en water behandeld is op droge stof omgerekend:

asch	16,8 pCt.
pentosanen	7,4 "
ruwvet	5,0 "
ruwvezel	29,7 "
eiwit.	24,8 "
stikstofvrije extractiefstoffen	16,3 "

Samenstelling, nadat het gedurende 9 dagen met zuurstof en water behandeld is op droge stof omgerekend:

asch	16,5 pCt.
pentosanen	4,0 "
ruwvet	5,6 "
ruwvezel	30,8 "
eiwit.	27,0 "
stikstofvrije extractiefstoffen	16,1 "

Ook in dit geval zijn toegenomen asch, ruwvezel, ruwvet en eiwit, terwijl afgenomen zijn pentosanen en stikstofvrije extractiefstoffen.

Uit de laatste analyse blijkt, dat van deze twee vooral de pentosanen door de langere inwerking zijn aangetast.

Wat de verdere verschijnselen betreft, kan meegedeeld worden, dat in al deze gevallen de typische reuk ontwikkeld werd, welke bij het broeien van hooi optreedt en dat furfurol aangetoond kon worden (roodkleurig door de dampen van een reepje filtreerpapier gedrenkt met azijnzure aniline).¹⁾

Worden de veranderingen, welke het gras ondergaan heeft, vergeleken met die, welke bij het normale broeiproces plaats grijpen in het hooi, dan blijkt dat ze geheel dezelfde zijn. Zooals uit de analyse van gebroeid en niet gebroeid hooi, afkomstig uit denzelfden hooiberg op te merken valt, nemen ook daarbij toe: asch, ruwvet, ruwvezel en eiwit en worden verminderd de pentosanen en stikstofvrije extractiefstoffen.

¹⁾ Het ontstaan van furfurol in broeiend hooi is door ons nog niet geconstateerd, omdat de gelegenheid daartoe zich nog niet aangeboden heeft (sterke broei komt niet elk jaar voor en dan nog sporadisch) doch we twijfelen er niet aan of ook deze verbinding ontstaat er bij.

Door al de genomen proeven is dus bewezen, dat het broeien van hooi is een scheikundig proces, dat van den oorsprong af ontstaat door inwerking van de zuurstof uit de lucht en dat deze oxydatie toeneemt met de stijging der temperatuur, terwijl de aanwezigheid van water de reactie bevordert.

Het is nu de vraag of deze inwerking, zooal niet geheel dan toch gedeeltelijk tot stand komt door tusschenkomst van zekere metalen, welke in de planten aanwezig zijn. Daaronder toch worden er twee gevonden, waarvan bekend is, dat ze bij verschillende oxydatieprocessen als katalysatoren kunnen optreden, het ijzer en het mangaan. Een daarvan, het ijzer, is als chlorophylvormer voor de plant onontbeerlijk, terwijl het andere, ofschoon niet algemeen, dan toch zeer sterk verspreid o. a. ook in gras voorkomt.

Om na te gaan of werkelijk deze metalen katalyseerend inwerken, is gebruik gemaakt van ferrosulfaat ($\text{Fe SO}_4 + 7 \text{ aq.}$), manganosulfaat ($\text{Mn SO}_4 + 7 \text{ aq.}$) en een zuiver pentosanenpreparaat, dat op de volgende wijze bereid is. Hooi wordt zoolang met water uitgekookt tot geene reductie met de Fehlingsche vloeistof meer optreedt, daarop gekookt met een 2 pCt. N_2OH -oplossing in water, uitgewasschen tot neutrale reactie en de massa gedroogd. 20 gr. van deze stof wordt gebracht in één Liter ammoniakale koperhydroxyd-oplossing, bereid uit 1 Liter geconcentreerde ammonia en 20 gr. Cu (OH)_2 . Na enkele dagen staan bij kamertemperatuur, onder herhaaldelijk omschudden, ontstaat eene slijmige vloeistof, welke na dien tijd, zonder te filtreren, uitgegoten wordt in eene schaal en tot droog toe ingedampt wordt. Door het indampen verdwijnt de ammonia, waardoor het koper neerslaat als oxyd. Dit brengt wederom precipitatie van cellulose met zich mede. Het residu, bestaande uit onaangetast hooi, cellulose en pentosanen, wordt met water goed bevochtigd, nogmaals drooggedampt teneinde de laatste sporen ammonia te verwijderen en daarna uitgetrokken met water onder verhitting. Er wordt gefiltreerd en het filtraat, hetwelk de in oplossing gegane pentosanen en eenige andere stoffen bevat, tot droog toe ingedampt. Het achtergeblevene wordt opgelost in zoo weinig mogelijk water, iets zoutzuur toegevoegd, waardoor eene heldere vloeistof ontstaat en eene gelijke hoeveelheid alcohol bijgegoten. De pentosanen slaan dan als eene witte massa neer; men filtreert af, lost wederom op in weinig water, nu zonder zoutzuurtoevoeging, precipiteert nogmaals met alcohol en herhaalt deze bewerking eenige malen om het HCl en de onzuiverheden te verwijderen. Ten laatste wordt het neerslag gedroogd aan de lucht en daarna in den exsiccator. De aldus verkregen stof heeft een zeer hoog pentosanegehalte; zoo gaven bijv. 300 en 200 m.gr. van verschillende preparaten, behandeld volgens de methode van Tollens respectievelijk: 314 m.gr. en 206 m.gr. phloroglucid, welke hoeveelheden overeenkomen respectievelijk met 329 m.gr. Araban of 277 m.gr. Xylan en 212 m.gr. Araban of 172 m.gr. Xylan, waaruit afgeleid

kan worden, dat ze bestonden uit een mengsel van Araban en Xylan.

Om bij het onderzoek naar de katalyse een groot aanrakingsoppervlak te hebben voor de zuurstof, wat voor de inwerking van belang is, werd de stof niet als zoodanig gebezigd, doch opgelost in zoo weinig mogelijk water, deze oplossing opgezogen in filtreerpapier en dit aan de lucht gedroogd, waarna het in kleine stukjes gescheurd, gebruikt werd. De inrichting van de proef was overeenkomstig die met het gedroogde gras, waarvan hiervoren sprake is. In een Erlenmeijer kolf werd eene nauwkeurig afgewogen hoeveelheid snippers met pentosanen gebracht en eene kleine hoeveelheid water, waarin het ijzer- of mangaanzout is opgelost, toegevoegd. Vervolgens werd de kolf gesloten met eene caoutchouc-stop, waardoor twee glazen buizen staken en zuurstof doorgeleid, terwijl verwarmd werd in kokend water.

Proef I.

Gebruikt 3 gr. snippers, bevattende zooveel pentosanen dat 0,234 gr. phloroglucid geleverd kan worden.

Na gedurende 8 dagen alleen met water en zuurstof behandeld te zijn bij 100° C. is nog aanwezig 0,229 gr. phloroglucid, zoodat verdwenen zijn 0,005 gr.

Proef II.

Gebruikt 3 gr. van dezelfde snippers, daaraan toegevoegd 10 c. c. van een oplossing van 0,100 gr. $Mn. SO_4 + 7 aq.$ in 100 c. c. water.

Na een verhitting van 8 dagen onder zuurstof is nog over 0,230 gr. zoodat verdwenen zijn 0,004 gr.

Proef III.

Eene herhaling van de voorgaande proef II.

Hierbij was nog over 0,225 gr. phloroglucid, zoodat verdwenen 0,009 gr.

Proef IV.

Gebruikt 3 gr. van dezelfde snippers daaraan toegevoegd 10 c. c. van een oplossing van 0,200 gr. $Fe SO_4 + 7 aq.$ in 100 c. c. water.

Na een 5 tal dagen met O_2 behandeld te zijn is nog over 0,178 gr. zoodat verdwenen zijn $0,234 - 0,178 = 0,056$ gr.

Proef V.

Gebruikt 3 gr. snippers, welke zooveel pentosanen bevatten, dat verkregen kan worden 0,209 gr. phloroglucid, waaraan eenzelfde hoeveelheid ferrosulfaatoplossing is toegevoegd als bij proef IV.

Na gedurende 5 dagen behandeld te zijn met zuurstof is nog over 0,153 gr., zoodat verdwenen zijn 0,056 gr.

Respectievelijk zijn dus verdwenen door water en zuurstof alleen 5 mgr., door manganosulfaat 4 en 9 mgr. in 8 dagen tijd en door ferrosulfaat telkens 56 mgr. phloroglucid, in 5 dagen, welke laatste hoeveelheid overeenkomt met 59,6 mgr. Araban of 49,4 mgr. Xylan.

Wordt dus door de inwerking van water en manganosulfaat eene kleine afname geconstateerd, voor ferrosulfaat daarentegen bedraagt deze ongeveer het 9 à 11-voudige daarvan. Bovendien kon in de

beide kolven, welke voorzien waren van het ijzerzout, door middel van een papiertje, gedrenkt met azijnzure aniline, furfurol worden aangetoond, terwijl dit ontbrak in de andere gevallen.

De eigenaardige werking van het ferrosulfaat in deze moet toegeschreven worden aan het daarin voorkomend ijzeratoom; weliswaar ontstaat door hydrolyse bij die hooge temperatuur vrij zwavelzuur, doch eene proef, waarbij eene aequivalente hoeveelheid zwavelzuur werd gebruikt, waarbij dus aangenomen was, dat de hydrolyse tot 100 pCt. was doorgevoerd, leverde het resultaat, dat de phloroglucidvermindering verre beneden die, door het ijzerzout verkregen, bleef.

Is dus hiermede de invloed van het ijzer bewezen, wat die van het mangaan betreft, deze is nog onuitgemaakt. Wel is geene versnelling van de oxydatie door manganosulfaat aangetoond kunnen worden, maar daar het bekend is, dat de vorm, waarin een dergelijk zout voorkomt, in dezen van zulk een grooten invloed is en omtrent den toestand van het mangaan in de plant niets met zekerheid te zeggen valt, zoo is de mogelijkheid niet uitgesloten, dat ook dit metaal een katalysator is bij deze reactie.

Uit de resultaten, die dit onderzoek heeft opgeleverd, blijkt dus, dat hooibroei is een oxydatieproces, waarbij het in de plant aanwezige ijzer als katalysator op kan treden. ¹⁾

De rol, die het water in deze speelt, kan daarin gelegen zijn, dat het de pentosanen en stikstofvrije extractiestoffen in dusdanigen toestand brengt, dat ze gemakkelijker zijn te oxydeeren en dat de dissociatie van het ijzerzout of -zouten wordt doorgevoerd, waardoor meer ijzerionen optreden en dus de katalyse intensiever plaats grijpt.

Rekening houdende met de resultaten van het onderzoek kan elke oorzaak, welke tot gevolg heeft, dat het ijzergehalte van de planten verhoogd wordt eene soort praedispositie voor broeien van het daaruit gewonnen hooi doen ontstaan.

¹⁾ Eene vingerwijzing in die richting is dat planten, zooals weegbree en klaver, welke bij de landbouwers bekend staan als de broei sterk bevorderend, meer ijzer bevatten dan hooi. Zoo bedroeg het ijzergehalte (als Fe_2O_3 berekend) van gedroogd gras 3,5 à 4 m.gr.; van gedroogde klaver 6 m.gr. en van gedroogde weegbreeblaren 9,5 m.gr. per 10 gr. stof.

De bepaling van het ijzer in de plantendeelen geschiedde op de volgende wijze: Na volledige verasching wordt de asch eenige malen met geconcentreerd H Cl ingedampd ter afscheiding van het SiO_2 . Het residu wordt in verdund H Cl opgelost en in deze oplossing na filtratie de kalk neergeslagen met ammoniumoxalaat, nadat vooraf ammonia in zoo'n mate is toegevoegd, dat de vloeistof juist nog helder blijft (ten einde het overtollige H Cl zooveel mogelijk te neutraliseeren). Het praecipitaat van calciumoxalaat, dat ook wat ijzer kan bevatten, wordt op een filter gebracht, uitgewasschen, gegloeid en vervolgens opgelost in verdund H Cl, waarna uit deze oplossing met ammonia het ijzer wordt afgescheiden. Het filtraat, afkomstig van de Ca O-praecipitatie wordt tot droog ingedampd, het residu gegloeid teneinde de organische ammoniakzouten en chloriden te verwijderen en vervolgens dit opgenomen in salpeterzuur. Bij deze oplossing wordt het ijzerpraecipitaat gevoegd en door middel van molybdaenzure ammoniak het phosphorzuur daaruit verwijderd. De neerslag van phosphormolybdaenzure ammoniak wordt afgefiltreerd en in het filtraat ijzer en aluminium met ammonia neergeslagen. Om deze beide metalen te scheiden wordt opgelost in zoutzuur en behandeld met loog in overmaat. Ter verwijdering van loogresten wordt het $Fe_2(OH)_6$ na oplossing in H Cl nogmaals met Ammonia gepraecipiteerd.