

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION TE HOORN.

Over Tabaksfermentatie

DOOR

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

Omtrent het fermenteeren der tabak zijn, zooals bekend, verschillende theorieën opgesteld, welke de omzettingen, die zich gedurende het proces afspelen, zouden moeten verklaren. Schloesing¹⁾ neemt aan, dat het eene samenwerking is van microben en een oxydatieverschijnsel. De temperatuursverhooging zoude ingezet worden onder den invloed van micro-organismen, maar bij eene zekere hoogte boven 40° en onder 70° in een zuiver chemisch proces overgaan. Suchsland²⁾ daarentegen ziet er een proces in dat veroorzaakt wordt door bacteriën, eene meening welke vele aanhangers telt, terwijl O. Loew³⁾ elke werking van micro-organismen buiten sluit, en het fermenteeren beschouwt als eene oxydatie welke door middel van enzymen, zoo genaamde oxydasen en peroxydasen, tot stand komt.

Suchsland heeft, bouwende op zijn theorieën „edelfermenten” in den handel gebracht, welke aan minderwaardige tabaksoorten toegevoegd deze, bij fermentatie, in een beter product zouden omzetten. Wanneer we echter bij Vernhout⁴⁾ lezen, dat Suchsland hem in 1895 mededeelt, dat de industrie zich bijna niet meer van zijne methode bediende en O. Loew aangeeft⁵⁾: „Nach einer gütigen Privatmitteilung aus Rom hat man in der dortigen Tabakmanufaktur seit Jahren vergeblich versucht, mittels Bakterienkulturen von Tabaksblättern das Aroma beim „Fermentieren” zu verbessern”, dan wil het ons schijnen, dat nog niet met zekerheid is aangetoond, dat bacteriën het proces veroorzaken.

1) Th. Schloesing. Sur la fermentation en masses du tabac pour poudre. Mémorial des manufactures de l'état. Tabacs. Tome I 1884—1888 en Tome II 1880—1892. Contribution à l'étude de la fermentation du rapé en Tome II 1889—1892.

2) E. Suchsland. Ueber Tabaksfermentation. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft Band IX 1891. Ook zijn Vernhout. Konink (De Natuur 1897 en 1898. Hollandsche Tabak) en Behrens van dezelfde meening.

3) O. Loew. Curing and fermentation of cigar leaf tobacco (U. S. Department of agriculture. Report No. 59 Washington 1899.

O. Loew. Sind Bacterien die Ursache der Tabaksfermentation? Centralblatt für Bacteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten IIe Abteilung VI, Band 1900.

4) J. H. Vernhout. Onderzoek over bacteriën bij de fermentatie der tabak. Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin 1899, bladz. 9.

5) O. Loew. Sind Bacterien die Ursache der Tabaksfermentation? Centralbl. für Bacteriologie, Infektionskrankheiten und Parasitenkunde IIe Abt. 1900, bladz. 110.

Geven nu de bovengenoemde verhandelingen van O. Loew de overtuiging, dat micro-organismen, voor zoover ze mogen aanwezig zijn, in deze geen rol spelen, daartegenover staat, dat wat het voorkomen van oxydasen en peroxydasen betreft, men ook wel niet tot eene overeenstemming is kunnen komen. Vernhout¹⁾ meldt, dat een onderzoek op gedroogde tabak door Raciborski uitgevoerd geen oxydase of peroxydase aantoonde en deze oxydeerende fermenten gedurende het drogingsproces verdwijnen, terwijl ook Behrens²⁾ bij Duitsche tabak resultaten verkreeg, welke afwijkend waren van die van Loew en o. a. eveneens vond, dat de oxydase onmogelijk het agens bij de fermentatie kan zijn, omdat ze reeds gedurende het drogingsproces vernietigd werd. In het algemeen blijkt dus, dat tot dusver nog geene afdoende verklaring is gegeven van de oorzaak der tabakfermentatie en de meeningen in dit opzicht zeer verdeeld zijn.

Wat de chemische veranderingen betreft, welke gedurende de fermentatie in de tabaksblaren plaats vinden, daarover vindt men hoofdzakelijk gegevens bij Behrens³⁾ en S. W. Johnson⁴⁾.

Johnson haalt daaromtrent de volgende cijfers aan, welke opgeven hoeveel van elk bestanddeel 1000 K.G. ongefermenteerde tabaksbladen bevatten en hoeveel daarvan bij het fermenteeren verloren ging.

		Verlies.		Verlies.		Verlies.
Water	235,9	23,4	274,0	89,4	275,0	48,8
Droge stof	765,0	73,8	726,0	34,0	725,0	41,9
Asch	148,9	10,8	228,6	7,1	158,3	10,8
Nicotine	25,0	8,8	7,7	3,3	12,5	2,0
Salpeterzuur (N ₂ O ₅) . . .	18,6	0,9	23,7	?	25,9	4,6
Ammoniak	6,7	0,2	1,6	0,2	3,3	?
Eiwit (rest N × 6,25) . .	121,0	0,9	67,6	7,9	113,1	7,5
Ruwvezel	79,1	?	78,9	0,3	99,0	4,2
Zetmeel	31,9	1,6	27,6	1,3	28,9	0,9
Stikstofvrije extractiefstoffen	295,2	43,2	260,6	12,0	255,6	11,1
Aether-extract	38,7	7,8	29,7	3,0	23,4	1,8

Voor de droge stof wordt door hem bij elke proef dus eene afname geconstateerd, die in één geval in hoofdzaak komt voor rekening der stikstofvrije extractiefstoffen, asch, nicotine en aether-extract, terwijl in de beide anderen stikstofvrije extractiefstoffen, asch en eiwitstoffen het meest verminderen.

¹⁾ Vernhout. Onderzoek over bacteriën bij de fermentatie der tabak, bldz. 49.

²⁾ J. Behrens. Centralblatt für Bacteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten VII Bd. IIe Abteilung 1901.

³⁾ Die landwirtschaftlichen Versuchstationen. Band. XLIII, 1894, bldz. 297.

⁴⁾ S. W. Johnson. Connecticut Experiment Station Report 1892, p. 28—31. New-Haven 1893. Referat in Biedermanns Centralblatt für Agriculturchemie, 23 Jahrgang, 1894, bldz. 427.

Behrens geeft de volgende analyse. De zandvrije droge stof bevat procentisch:

	Dakrijp.	Gefermenteerd.
Totaal stikstof	3,09	3,24
Eiwitstikstof	1,30	1,36
Nicotine	1,464	1,075
Aether-extract	9,41	8,34
Daarin zuur (als melkzuur berekend) .	0,446	0,450
Organische, niet vluchtige zuren (als appelzuur berekend)	16,81	14,45
Met waterdamp vluchtige zuren (als boterzuur berekend)	0,124	0,299
Reduceerende suiker (na neerslaan van het extract met loodacetaat)	1,26	0
Salpeterzuur ($N_2 O_5$)	0,201	0
Zwavelzuur ($S O_3$)	2,147	2,201
Zandvrije asch	19,83	21,01

Ammoniumzouten komen volgens Behrens in tabaksblaren niet voor¹⁾, zoodat deze stikstofverbinding door hem niet wordt aangegeven. Verder deelt hij mede, dat door een toeval het grootste gedeelte van het materiaal verloren was gegaan, zoodat het onderzoek niet dien omvang had kunnen verkrijgen als eerst in het plan had gelegen.

Uit deze gegevens worden de volgende conclusiën getrokken:

1. De fermentatie gaat gepaard met eene vermindering der stof ten gevolge van de koolzuurafscheiding. Deze vermindering kan, daar een verlies van aschbestanddeelen buitengesloten is, berekend worden uit het gehalte daaraan vóór en na de fermentatie. Ze bedraagt volgens het aschgehalte berekend 5,6 %, volgens het zwavelzuurgehalte 2,5 %.
2. Dit verlies betreft in hoofdzaak de oplosbare koolhydraten en de organische niet vluchtige zuren.
3. Ook een deel der nicotine, in dit geval circa 30 % van het oorspronkelijk aanwezige, wordt vernietigd.
4. Salpeterzuur verdwijnt geheel.
5. Wat de overige stikstofhoudende verbindingen betreft, kan slechts over de verhouding der eiwitstoffen (peptonen enz.) tot de overigen (amiden enz.) iets uit de analyse besloten worden. Deze verhouding werd niet veranderd; zoowel voor als na de fermentatie zijn 42 % van de aanwezige stikstof in den vorm van eiwit voorhanden. Of dit altijd het geval is, is de vraag, veel meer houd ik het verkregene resultaat voor toeval.
6. De in aether oplosbare stoffen ondergaan ook hier, evenals bij het drogen der tabaksblaren, eene vermindering.

¹⁾ Zie de hierboven genoemde mededeeling in de Landw. Versuchsstationen bild. 279.

7. Daarentegen wordt eene met waterdampen vluchtig zuur gevormd, waarvan men wel mag vermoeden dat het boterzuur is.

Vergelijkt men de resultaten van Johnson en Behrens met elkaar dan vindt men in sommige punten overeenkomst, maar in andere groote verschillen.

Beide onderzoekers constateeren dat bij de fermentatie eene vermindering der stof plaats grijpt, welke in hoofdzaak betreft de stikstofvrije extractiefstoffen (koolhydraten en organische zuren); de nicotine en de in aether oplosbare stoffen.

Geeft Behrens verder op dat het salpeterzuur totaal verdwijnt, dat ammoniumzouten niet voorkomen en het aschgehalte constant blijft, ja zelfs op dit laatste steunende eene berekening van het verlies aan organische stoffen doorvoert, daartegenover staat dat Johnson vindt een gering of geen verlies aan salpeterzuur, dat ammoniumzouten aanwezig zijn, welke bijna niet verdwijnen¹⁾ en dat het aschgehalte verre van constant is.

Tot dusver kunnen dan ook alleen die resultaten der onderzoekingen in dit opzicht als vaststaand worden aangenomen voor zoover ze gelijkloidend zijn; zoolang in de overige geene overeenstemming is verkregen, is het te onzeker daarop verder te bouwen.

In het algemeen kan dus gezegd worden, dat bij de tabaksfermentatie de volgende omzettingen plaats grijpen:

1. Koolzuur gevormd wordt.
 2. Eene vermindering der stof ontstaat door de vorming van dit koolzuur, en andere vluchtige verbindingen.
 3. Deze vermindering hoofdzakelijk komt voor rekening der stikstofvrije extractiefstoffen.
 4. Een gedeelte van de nicotine wordt vernietigd.
 5. De in aether oplosbare stoffen ondergaan eene vermindering.
- Verder kan aan deze 5 punten nog toegevoegd worden dat ook:
6. Furfurol ontstaat.

Volgens eene mededeeling van Splendore²⁾ toch ontstaat bij het fermenteeren van tabaksblaren voor zware sigaren bij 45—60° C. een karakteristiek aroma (odore di pancotto of montante genaamd), dat volgens onderzoekingen van den laatsten tijd afkomstig is van furfurol.

Bij de onderzoekingen omtrent hooibroei is reeds eene enkele maal door ons er op gewezen, dat de fermentatie der tabak, welke een analoog verschijnsel is, waarschijnlijk eveneens zijn ontstaan te danken heeft aan een oxydatieproces.

Ten einde dit te bewijzen, was aan te toonen dat, evenals

¹⁾ Wat het salpeterzuur en de ammoniumzouten betreft wordt o. a. door A. van Bijlert (Onderzoek van Deli-tabak. Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin 1909) medegedeeld, dat in de meeste gefermenteerde Deli-tabak voorkomen en ammoniak en kaliumnitraat (zie bidz. 143).

²⁾ A. Splendore. Pastorizzazione del tabacco (Boll. teen. della coltivazione dei tabacchi Anno 1 No. 2 (refer. in Koch's Jahresbericht 1902, 13e Jahrg. bidz. 514).

gedroogd gras ook gedroogde tabaksblaren gretig zuurstof tot zich nemen, daarbij koolzuur afsplitsen en veranderingen ondergaan, die overeenkomen met degenen, welke voor zoover na te gaan is, bij de practische fermentatie plaats grijpen.

Daartoe zijn proeven genomen geheel analoog aan die, welke we mededeelden in de publicaties over hooibroei¹⁾ alleen met dien verstande, dat inplaats van hooi of gedroogd gras gebruik is gemaakt van dakrijpe tabaksblaren. Op verschillende punten zullen we dus bij de beschrijving in herhalingen moeten treden, maar voor een gemakkelijker overzicht lijkt ons dit beter, dan telkens te verwijzen naar de vroegere mededeelingen.

Voorceerst dan werd onderzocht of door verhitting met zuurstof ook koolzuur ontstond, zooals dit onder de gewone omstandigheden geschiedt. Te dien einde werd een glazen buis van een lengte van ongeveer 25 c.M. aan een uiteinde uitgetrokken, tot een dikwandig buisje van een achttal c.M. lengte en ongeveer 1 m.M. in doorsnede ontstond; het andere uiteinde werd eveneens uitgetrokken, echter op zoodanige wijze, dat nog gemakkelijk kortgeknipte dakrijpe tabaksblaren naar binnen waren te brengen. Nadat de buis op die manier geprepareerd was geworden, werd eerst een laagje asbest ingebracht, vervolgens de blaren, 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 van de bewerking was dan eene glazen buis gevuld met tabaksblaren, aan beide kanten voorzien van een capillair. De asbest was alleen aanwezig om de blaren te beschutten tegen den nadeeligen invloed der hitte, ontwikkeld door de blaasvlam. Door middel van vacuumslang werd een der capillairen verbonden met eene kwikluchtpomp, de andere met een gashouder, waarin zuurstof aanwezig was (één met loog en één met water gevulde waschflesch waren ingeschakeld). De buis werd nu luchtledig gepompt, daarna weer gevuld met zuurstof en deze bewerking eenige malen herhaald ten einde zooveel mogelijk de oorspronkelijke dampkringslucht te verwijderen en ze vervangen door zuurstof. Nadat dit geschied was, werden de capillairen toegesmolten.

Was bij de proeven de aanwezigheid van water noodzakelijk, dan werden, voor met leegpompen begonnen werd, eenige c.c. gedestilleerd water in de buis opgezogen.

Na het toesmelten werden de buizen in kokend water ondergedompeld, dus aan eene constante temperatuur van ongeveer 100° C. blootgesteld; hierdoor was dan eene bacteriën- of 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

¹⁾ Centralblatt für Bacteriologia, Parasitenkunde und Infectionskrankheiten. IIe Abt. Band XXI 1908, Band. XXIII 1909.

volgens de bekende methode; de inhoud van de buizen werd bepaald door ze voor 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 de blaren door het voorkomen daarin van 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 gevuld met 4 gr. in vacuum gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren en zuurstof.

Duur der verhitting 8 uur.

Gewicht buis + water	146,5 gr.
" "	72,0 "

Gewicht water 74,5 gr.

dus inhoud ongeveer 74,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	70,2 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	62,0 "

dus koolzuur 8,2 c.c.

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 dit geval vastgelegd kunnen zijn $74,5 - 70,2 = 4,3$ c.c. zuurstof.

Buis II geheel op dezelfde wijze gevuld als Buis I.

Duur der verhitting 16 uur.

Gewicht buis + water	199,0 gr.
" "	95,0 "

Gewicht water 104,0 gr.

dus inhoud ongeveer 104 c.c.

Volume van het aanwezige gas	95,4 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	81,6 "

dus koolzuur 13,8 c.c.

Ten opzichte van de koolzuurvorming hetzelfde veronderstellende, zoude in dit geval vastgelegd kunnen zijn $104 - 95,4 = 8,6$ c.c. zuurstof.

Buis III geheel op dezelfde wijze gevuld als Buis I.

Duur der verhitting 23 uur.

Gewicht buis + water	176,5 gr.
" "	100,0 "

Gewicht water 76,5 gr.

dus inhoud ongeveer 76,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	68,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	53,2 „
	<hr/>
dus koolzuur	15,6 c.c.

In dit geval zoude dus vastgelegd kunnen zijn 7,7 c.c. zuurstof. Ten einde de invloed van water bij deze reactie na te gaan werden de volgende proeven genomen.

Buis IV gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren, zuurstof en ongeveer 6 c.c. water.

Duur der verhitting 8½ uur.

Gewicht buis + water	131,0 gr.
„ „	58,0 „
	<hr/>
Gewicht water	73,0 gr.
dus inhoud ongeveer 73 c.c.	

Volume van het aanwezige gas	45,2 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	15,8 „
	<hr/>
dus koolzuur	29,4 c.c.
Na absorbtie in pyrogallol	8,0 „
	<hr/>
dus zuurstof	7,8 c.c.

De rest van het gasmengsel dus de 8 c.c. waren stikstof 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.

Vastgelegd kunnen in dit geval dus zijn $73 - 45,2 = 27,8$ c.c. zuurstof.

Buis V geheel gevuld als Buis IV.

Duur der verhitting 16 uur.

Gewicht buis + water	152,0 gr.
„ „	77,5 „
	<hr/>
Gewicht water	74,5 gr.
dus inhoud ongeveer 74,5 c.c.	

Volume van het aanwezige gas	48,0 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	9,7 „
	<hr/>
dus koolzuur	38,3 c.c.
Na absorbtie in pyrogallol	9,7 „
	<hr/>
dus zuurstof	0,0 c.c.

De rest 9,7 c.c. was stikstof.

Volume van het aanwezige gas	76,6 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	69,6 „

dus koolzuur 7,0 c.c.

In deze buis was dus overdruk aanwezig.

Buis VII gevuld op dezelfde wijze als Buis VI.

Duur der verhitting 16 uur.

Gewicht buis + water	180,0 gr.
„ „	101,5 „

Gewicht water 78,5 gr.

dus inhoud ongeveer 78,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	78,4 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	68,4 „

dus koolzuur 10,0 c.c.

Buis VIII gevuld op dezelfde wijze als Buis VI.

Duur der verhitting 24 uur.

Gewicht buis + water	190,0 gr.
„ „	87,0 „

Gewicht water 103,0 gr.

dus inhoud ongeveer 103 c.c.

Volume van het aanwezige gas	100,6 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	88,2 „

dus koolzuur 12,4 c.c.

Buis IX gevuld op dezelfde wijze als Buis VI.

Duur der verhitting 32 uur.

Gewicht buis + water	164,0 gr.
„ „	81,5 „

Gewicht water 82,5 gr.

dus inhoud ongeveer 82,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	80,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	67,2 „

dus koolzuur 13,6 c.c.

Na absorbtie in pyrogallol	63,2 c.c.
--------------------------------------	-----------

dus zuurstof 4,0 c.c.

Uit deze analyse blijkt dus, dat meer CO₂ gevormd als O₂ verdwenen is. Aanwezig zijn oorspronkelijk geweest 17,3 c.c. O₂ terwijl de volumens van het O₂ en CO₂ 17,6 bedragen. Wordt water aan de tabaksblaren toegevoegd, dan wordt ook in dit geval de koolzuurontwikkeling versterkt.

Buis X gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren, lucht en ongeveer 6 c.c. water.

Duur der verhitting 8 uur.

Gewicht buis + water	141,0 gr.
" "	75,0 "
	<hr/>
Gewicht water	66,0 gr.
dus inhoud ongeveer 66 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	66,0 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	51,8 "
	<hr/>
dus koolzuur	14,2 c.c.
Na absorbtie in pyrogallol	51,8 "
	<hr/>
dus zuurstof	0,0 c.c.

Buis XI gevuld op dezelfde wijze als Buis X.

Duur der verhitting 16 uur.

Gewicht buis + water	180,0 gr.
" "	100,5 "
	<hr/>
Gewicht water	79,5 gr.
dus inhoud ongeveer 79,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	79,6 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	60,8 "
	<hr/>
dus koolzuur	18,8 c.c.
Na absorbtie in pyrogallol	60,8 "
	<hr/>
dus zuurstof	0,0 c.c.

Voor deze beide analyses geldt dat er o.a. ook door wordt aangetoond dat meer CO_2 is gevormd als O_2 is verdwenen. Oorspronkelijk aanwezig respectievelijk 13,9 c.c. en 16,7 c.c. O_2 , terwijl gevormd zijn 14,2 en 18,8 c.c. CO_2 .

Dat bij proeven het koolzuur niet is vrijgekomen door verhitting op 100°C . van de in plantendeelen aanwezige stoffen als zoodanig, blijkt daaruit, dat zoo goed als geen gas optreedt, wanneer in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren met een weinig water gedurende eenigen tijd in een luchtledig gepompte, toegesmolten buis verhit wordt op 100°C .

3 Buizen gevuld met 4 gr. van dergelijke blaren en ongeveer 6 c.c. water gedurende 19 uur in kokend water verhit gaven respectievelijk 1,1 en 1,4 c.c. gas, waarvan 0,6; 0,6 en 0,8 c.c. koolzuur was.

Aangezien tot dusver als verhittingstemperatuur die van kokend water, dus ongeveer 100°C ., is genomen, blijft de vraag over of deze warmtegraad, waardoor weliswaar alle georganiseerde stoffen buiten medewerking worden gesteld, daarentegen niet zoo hoog gelegen is, dat met den invloed daarvan bij het oxydatieproces rekening te houden is.

Het spreekt wel van zelf, 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 de hierboven vermelde proeven herhaald met dien verstande, dat de buizen gelegd werden in eene thermostaat, welke op 33° C. werd gehouden. Om groei van microorganismen buiten te sluiten, werden de buizen, waarin water aanwezig was, na eerst luchtledig te zijn gepompt, gesteriliseerd voor en alerzoe met lucht of zuurstof, welke na de waschflesschen met loog en water gepasseerd te hebben, door watten gefiltreerd was, gevuld werden. Voor de buizen, welke in vacuo gedroogde dakrijpe tabaksblaren bevatten, waren dergelijke voorzorgsmaatregelen niet noodig, omdat het vochtgehalte daarin zoo gering was, dat eene ontwikkeling van microorganismen 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 onderzocht. Hieronder volgen de op deze wijze verkregene resultaten.

Buis XII van 31/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren en zuurstof. Geopend 16/11 '08.

Gewicht buis + water	188,5 gr.
" "	92,0 "
	<hr/>
Gewicht water	96,5 gr.
dus inhoud ongeveer 96,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	90,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	90,8 "
	<hr/>
dus koolzuur	0,0 c.c.

Vastgesteld is in dit geval 5,7 c.c. zuurstof terwijl geen koolzuur gevormd is.

Buis XIII van 31/10 '08 gevuld als Buis XII.

Geopend 30/11 '08.

Gewicht buis + water	195,0 gr.
" "	100,5 "
	<hr/>
Gewicht water	94,5 gr.
dus inhoud ongeveer 94,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	90,7 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	90,7 "
	<hr/>
dus koolzuur	0,0 c.c.

Vastgesteld is dus 3,8 c.c. zuurstof terwijl geen koolzuur gevormd is.

Buis XIV van 2/11 '08 gevuld als Buis XII.
Geopend 17/12 '08.

Gewicht buis + water	176,0 gr.
" "	93,5 "
	<hr/>
Gewicht water	82,5 gr.
dus inhoud ongeveer 82,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	82,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	82,4 "
	<hr/>
dus koolzuur	0,4 c.c.

Wordt water toegevoegd, dan ontstaat meer koolzuur en wordt meer zuurstof vastgelegd.

Buis XV van 31/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijn gesneden dakrijpe tabaksblaren, ongeveer 6 c.c. water en zuurstof.

Geopend 16/11 '08.

Gewicht buis + water	200,0 gr.
" "	116,0 "
	<hr/>
Gewicht water	84,0 gr.
dus inhoud ongeveer 84 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	70,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	65,5 "
	<hr/>
dus koolzuur	5,3 c.c.

Vastgesteld is dus 13,2 c.c. zuurstof en is 5,3 koolzuur gevormd.

Buis XVI van 31/10 '08 gevuld op dezelfde wijze als Buis XV.
Geopend 30/11 '08.

Gewicht buis + water	178,0 gr.
" "	97,5 "
	<hr/>
Gewicht water	80,5 gr.
dus inhoud ongeveer 80,5 c.c.	
Volume van het aanwezige gas	66,5 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	59,8 "
	<hr/>
dus koolzuur	6,7 c.c.

Vastgelegd zijn dus 14 c.c. O₂ en gevormd 6,7 c.c. CO₂.

Buis XVII van 31/10 '08 gevuld als Buis XV.
Geopend 17/12 '08.

Gewicht buis + water	182,5 gr.
" "	94,0 "
	<hr/>
Gewicht water	88,5 gr.
dus inhoud ongeveer 88,5 c.c.	

Volume van het aanwezige gas . . .	74,5 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	65,0 „

dus koolzuur 9,5 c.c.

Vastgelegd zijn dus 14 c.c. O₂ en gevormd 9,5 c.c. CO₂.

Wordt inplaats van zuurstof lucht gebruikt, dan ontstaan dezelfde verschijnselen.

Buis XVIII van 30/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren en lucht.

Geopend 16/11 '08.

Gewicht buis + water	149,5 gr.
„ „	79,0 „

Gewicht water 70,5 gr.

dus inhoud ongeveer 70,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas . . .	66,2 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	66,2 „

dus koolzuur 0,0 c.c.

Vastgelegd zijn dus 4,3 c.c. O₂ en is geen koolzuur gevormd.

Buis XIX van 30/10 '08 gevuld als Buis XVIII.

Geopend 30/11 '08.

Gewicht buis + water	162,5 gr.
„ „	84,5 „

Gewicht water 78,0 gr.

dus inhoud ongeveer 78 c.c.

Volume van het aanwezige gas . . .	73,4 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	73,4 „

dus koolzuur 0,0 c.c.

Vastgelegd zijn dus 4,6 c.c. O₂ en is geen koolzuur gevormd.

Buis XX van 30/10 '08 gevuld als Buis XVIII.

Geopend 17/12 '08.

Gewicht buis + water	161,0 gr.
„ „	86,5 „

Gewicht water 74,5 gr.

dus inhoud ongeveer 74,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas . . .	71,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	71,6 „

dus koolzuur 0,2 c.c.

Vastgelegd zijn dus 2,7 c.c. O₂ en gevormd 0,2 c.c. CO₂.

Bij toevoeging van water wordt het volgende verkregen:

Buis XXI van 30/10 '08 gevuld met 4 gr. in vacuo gedroogde fijngesneden dakrijpe tabaksblaren, lucht en ongeveer 6 c.c. water.

Geopend 16/11 '08.

Gewicht buis + water	205,0 gr.
" "	118,5 "

Gewicht water 86,5 gr.

dus inhoud ongeveer 86,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	75,6 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	71,3 "

dus koolzuur 4,3 c.c.

Vastgelegd zijn dus 10,9 c.c. O_2 en gevormd 4,3 c.c. CO_2 .

Buis XXII van 30/10 '08 gevuld als Buis XXI.

Geopend 30/11 '08.

Gewicht buis + water	151,0 gr.
" "	69,5 "

Gewicht water 81,5 gr.

dus inhoud ongeveer 81,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	69,8 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	63,9 "

dus koolzuur 5,9 c.c.

Na absorbtie in pyrogallol 60,0 "

dus zuurstof 3,9 c.c.

Vastgelegd zijn dus 11,7 c.c. O_2 en gevormd 5,9 c.c. CO_2 ,
terwijl van de oorspronkelijk aanwezige 17,1 c.c. zuurstof slechts
3,9 c.c. over zijn.

Buis XXIII van 30/10 '08 gevuld als Buis XXI.

Geopend 17/12 '08.

Gewicht buis + water	187,0 gr.
" "	109,5 "

Gewicht water 77,5 gr.

dus inhoud ongeveer 77,5 c.c.

Volume van het aanwezige gas	67,2 c.c.
Na absorbtie in kaliloog	59,8 "

dus koolzuur 7,4 c.c.

Na absorbtie in pyrogallol 58,0 "

dus zuurstof 1,8 c.c.

Vastgelegd zijn dus 10,3 c.c. O_2 en gevormd 7,4 c.c. CO_2 ,
terwijl van de oorspronkelijk aanwezige 16,3 c.c. zuurstof slechts
1,8 c.c. over zijn.

Vatten we de resultaten van dit onderzoek voor een gemakke-
lijker overzicht in eene tabel te zamen, dan krijgen we het
volgende:

Temperatuur der verhit-ting.	Duur der verhit-ting.	Met zuurstof:		Met lucht:		Met zuurstof en water:		Met lucht en water:	
		gebond. zuurst.	gevormd koolz.	gebond. zuurst.	gevormd koolz.	gebond. zuurst.	gevormd koolz.	gebond. zuurst.	gevormd koolz.
100° C.	8 uur.	4,8 c.c.	8,2 c.c.	—	7,— c.c.	—	—	—	14,2 c.c.
"	8 1/2 "	—	—	—	—	27,8 cc.	29,4 c.c.	—	—
"	16 "	8,6 "	13,8 "	—	10,0 "	26,5 "	38,3 "	—	18,8 "
"	23 "	7,7 "	15,6 "	—	—	—	—	—	—
"	24 "	—	—	2,4 c.c.	12,4 "	—	—	—	—
"	32 "	—	—	1,7 "	13,6 "	—	—	—	—
33° C.	16 dag.	5,7 "	0,0 "	—	—	13,2 "	5,3 "	—	—
"	17 "	—	—	4,3 "	0,0 "	—	—	10,9 c.c.	4,3 "
"	30 "	3,8 "	0,0 "	—	—	14,0 "	6,7 "	—	—
"	31 "	—	—	4,6 "	0,0 "	—	—	11,7 "	5,9 "
"	45 "	—	0,4 "	—	—	—	—	—	—
"	47 "	—	—	—	—	14,0 "	9,5 "	—	—
"	48 "	—	—	2,7 "	0,2 "	—	—	10,8 "	7,4 "

Daaruit blijkt, dat:

1. Zuurstof zoowel bij 33° als bij 100° C. oxydeerend op tabaksblaren inwerkt.
2. Deze oxydatie bij toename der temperatuur versneld wordt.
3. De aanwezigheid van water de oxydatie in groote mate bevordert.
4. Bij die oxydatie koolzuur vrij komt en zuurstof wordt vastgelegd.

Is dus hiermede aangetoond, dat het koolzuur, dat bij het fermenteeren der tabaksblaren wordt gevormd, ontstaan kan zijn door oxydatie, dan blijft nog na te gaan of ook de andere verschijnselen, welke bij het fermenteeren optreden op dezelfde manier verklaard kunnen worden.

Ten einde dit verder na te gaan, werd een Erlemeyer kookkolf, welke in een waterbad geplaatst was, van 10 gr. in vacuo gedroogde tabaksblaren benevens een weinig water, dat aangevuld werd naarmate het gedurende de verdere behandeling verdampte, voorzien. De hals werd gesloten door een caoutchoucstop waardoor een tweetal glazen buizen gingen, waarvan één tot op den bodem reikte en de andere even onder de stop eindigde. Door de eerste werd een langzame stroom zuurstof gevoerd, terwijl het waterbad op 100° C. was verhit, en na eenigen tijd de dus behandelde blaren geanalyseerd. Op droge stof omgerekend bevatten de blaren aan:

pentosanen 8,8 %
 asch 22,3 „

Nadat ze gedurende 19 dagen met zuurstof en water behandeld waren geworden, was van de 10 gr. nog over 8,3 gr. droge

stof, zoodat 1,7 gr. organische stoffen verdwenen waren of 17 %.
Verder bevatte de droge stof:

pentosanen	5,0 %
asch	26,95 „

zoodat omgerekend op de oorspronkelijke stof nog aanwezig waren:

pentosanen $0,83 \times 5$	4,15 %
asch $26,95 \times 0,83$	22,37 „

waaruit blijkt, dat de pentosanen verminderd zijn met 4,65 % en de asch constant is gebleven.

Bovendien kon aangetoond worden, dat ook furfurol optreedt (roodkleurig door de dampen van een reepje filtreerpapier gedrenkt met azijnzure aniline). Verder werden de blaren zeer zwart en ontstond de typische tabakslucht, nadat eerst een aan zoet roggebread herinnerende geur gevormd was geworden.

Voor zoover de weinige gegevens, welke we bezitten omtrent de chemische omzettingen bij de tabaksfermentatie dit toelaten, kan gezegd worden, dat al de genoemde veranderingen overeenstemmen met die, welke plaats grijpen. Aangetoond toch is dat:

1. Koolzuur gevormd wordt.
2. Eene vermindering der stof ontstaat door de vorming van dit koolzuur en andere vluchtige verbindingen.
3. De stikstofvrije extractiefstoffen (hier o. a. de pentosanen) verminderen.
4. Furfurol ontstaat.

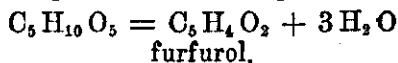
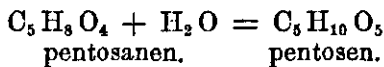
Door de genomen proeven is dus zoo goed als zekerheid geworden, dat de tabaksfermentatie is een scheikundig proces, dat veroorzaakt wordt door inwerking van de zuurstof uit de lucht.

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

Dat het ijzer eene zoodanige werking uitoefent ten opzichte van de pentosanen, is reeds bewezen in de mededeeling over hooibroei. Het ontstaan van furfurol werd daarbij aangetoond en waar ook bij de tabaksfermentatie furfurol optreedt en de pentosanen verminderen, kan eveneens voor dit geval het daar aangehaalde als bewijs dienen. Aangezien echter bij dit laatste proces het zetmeelgehalte eene sterke wijziging ondergaat is ook nagegaan of de aanwezigheid van ijzer van invloed is op de veranderingen, welke in dit opzicht plaats grijpen. Daartoe is gebruik gemaakt van ferrosulfaat ($\text{Fe SO}_4 + 7 \text{ aq.}$) en aardappelzetmeel, terwijl de inrichting van de proef overeenkwam

met die met tabaksblaren, waarvan hierboven sprake is. In een Erlemeyer kolf werd gebracht 2 gram aardappelmeel, welke met 20 c.c. water tot een stijve pap gekookt waren en waaraan eene oplossing van 20 m.Gr. Ferrosulfaat in ongeveer 2 c.c. water was toegevoegd. De kolf werd nu in kokend water geplaatst en zuurstof doorgeleid.

Na ongeveer 2 dagen is de pap dan geheel en al vloeistof geworden; na 4 dagen gaf Jodtinctuur eene roode kleur, was dus geen zetmeel meer voorhanden wel dextrine, en kon door middel van de Fehlingsche oplossing dextrose worden aangetoond; de reactie van de vloeistof was zuur. Waarschijnlijk zal dus de omzetting van het zetmeel in dextrine en suiker minder direct geschieden door de oxydatie dan wel indirect door het optreden van het zuur, omdat dezelfde producten ontstaan wanneer zetmeel onder den invloed van een zuur gehydrolyseerd wordt. Het vormen van furfurol uit de pentosanen kan op dezelfde wijze verklaard worden, ook hierbij heeft hydrolyse plaats en vallen de ontstane pentosanen onder afsplitsing van water uiteen in furfurol volgens de formule:



Benzelfde proef als de voorgaande, doch waarbij het ijzerzout is weggelaten, leverde tot resultaat, dat na 6 dagen verhitting geene verandering was opgetreden. Met Jodium ontstaat eene intensief blauwe kleur, terwijl dextrose met Fehling's proefvocht niet is aan te toonen, de reactie is iets zuur. Dat in deze de oorzaak der reactie moet toegeschreven worden aan het optreden van ijzerzout als katalysatoren en niet aan het door hydrolyse ontstane vrije zwavelzuur, bewijst de volgende proef:

Een rondkolf, waarin eveneens 2 gr. aardappelmeel met 20 c.c. water tot een stijve pap gekookt en 20 m.Gr. ferrosulfaat in ongeveer 2 c.c. water, wordt na luchtledig te zijn gepompt toegesmolten, en in kokend water geplaatst. Na 6 dagen verhit te zijn geweest, is de stijfsel geheel onveranderd gebleven. Met Jodiumtinctuur treedt eene intensief blauwe kleur op en met de Fehlingsche oplossing is geheel geene reductie waar te nemen; de reactie der massa is alkalisch.

Uit deze proeven blijkt duidelijk, dat het ijzer ook ten opzichte van het zetmeel als katalysator bij de oxydatie optreedt. Wanneer nu hiermede deze werking voor een tweetal organische stoffen, in casu pentosanen en amyllum bewezen is, zoo ligt het voor de hand, dat, al mag dan ook de oxydatie voor de een meer zijn dan voor den ander, alle organische stoffen, welke in de plant voorkomen in meer of mindere mate door invloed van die katalysator geoxydeerd worden.

De eigenaardige werking van het ijzer in deze moet toegeschreven worden aan het daarin voorkomend ijzeratoom; wel-

iswaar ontstaat door hydrolyse bij die hooge temperatuur vrij zwavelzuur, doch dat dit vrije zwavelzuur niet in staat is, de omzettingen tot stand te brengen blijkt uit de proef, waarbij de zuurstof door pompen verwijderd werd; aangezien daarbij ferrosulfaat aanwezig was, hadden des ondanks, indien de hydrolyse eene rol speelde de omzettingen moeten plaats grijpen.

In verband met het voorgaande kan elke oorzaak, welke ten gevolge heeft, dat het ijzergehalte van de planten verhoogd of de vorm waarin dit voorkomt veranderd wordt, aanleiding geven, dat de fermentatie sterker optreedt¹⁾.

Uit de resultaten van dit onderzoek blijkt dus, dat evenals de hooibroei de tabaksfermentatie een oxydatieproces is waarbij het in de plant aanwezige ijzer als katalysator op kan treden²⁾. De rol die het water in dezen speelt kan daarin gelegen zijn, dat het de stoffen in dusdanigen toestand brengt, dat ze gemakkelijker zijn te oxydeeren en dat de dissociatie van het ijzerzout of zouten wordt doorgevoerd, waardoor meer ijzer-ionen optreden en dus de katalyse intensiever plaats grijpt³⁾.

Ueber Tabaksfermentation (Kurze Zusammenfassung bigiger Ausführungen).

Bekanntlich giebt es verschiedene Theorien welche die Erscheinungen bei der Tabaksfermentation erklären sollen. So meint Schloesing, es sei eine Zusammenwirkung einer Oxydations-

¹⁾ De invloed, welke het behandelen der tabaksblaren met een ammoniumcarbonaat-oplossing teweegbrengt, zoude verklaard kunnen worden door het scheppen van een gunstiger reactie voor de katalysatie.

²⁾ Waar hier nogmaals is gebleken, dat het ijzer zoo'n belangrijke rol kan spelen bij de oxydatie van organische stoffen in de plant, doet zich de vraag voor of, uit een planten-physiologisch oogpunt, we hier niet te maken hebben met een belangrijken factor wat ademhaling en stofwisseling betreft.

³⁾ Wat het ijzergehalte der tabaksblaren betreft, werd door ons voor Hollandsche tabak gevonden 6—9 m.Gr. Fe_2O_3 per 10 gr. Van 10 monsters bevatten één 9 m.Gr., één 6 m.Gr., één 7.5 m.Gr. terwijl de overigen 8 m.Gr. bevatten, dus meerendeels 0.08 %₀. Voor Delitabak geeft van Bijlert (Onderzoek van Delitabak. Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin 1890) op 6 monsters met 0.24; 0.25; 0.26; 0.26; 0.29 en 0.34 %₀; 3 monsters met 0.1; 0.11 en 0.12 %₀ en 5 monsters met 0.03; 0.04; 0.06; 0.09 en 0.09 %₀.

Voor de bepaling van het ijzer in de plantendeelen volgden we de onderstaande methode. Na volledige verassing wordt de asch eenige malen met geconcentreerd zoutzuur ingedampt ter afscheiding van het kiezelzuur. Het residu wordt in verdund HCl opgelost en in deze oplossing na filtratie de kalk neergeslagen met ammoniumoxalaat, nadat vooraf ammonia in zoo'n mate is toegevoegd, dat de vloeistof nog helder blijft (dit ten einde het overtollige zuur zooveel mogelijk te neutraliseeren). Het praecipitaat van calciumoxalaat, dat ook wat ijzer kan bevatten, wordt op een filter gebracht, uitgewaschen en gegloeid; vervolgens opgelost in verdund HCl, waarna uit deze oplossing met ammonia het ijzer wordt afgescheiden. Het filtraat afkomstig van de CaO praecipitatie wordt tot droog ingedampt. Het residu gegloeid, teneinde de overtollige ammoniumzouten te verwijderen, waarna het in salpeterzuur wordt opgenomen. Bij deze oplossing wordt gevoegd het ijzrneerslag uit het CaO verkregen, en door middel van molybdeenzure ammoniak het phosphorzuur uit het mengsel afgescheiden. Het neerslag van phosphormolybdeenzuur ammoniak wordt afgefiltreerd en in het filtraat ijzer en aluminium met ammoniak neergeslagen. Om deze beide metalen te scheiden wordt opgelost in salpeterzuur en behandeld met loog in overmaat. Ter verwijdering van loogresten wordt het $Fe_2(OH)_6$ opgelost in salpeterzuur en met NH_4OH gepraecipiteerd.

erscheinung und Microben. Die Micro-organismen würden die Temperaturerhöhung einleiten, welche bei ihrer Maximaltemperatur vollständig übernommen würde durch die rein chemischen Oxydationserscheinungen. Demgegenüber meint Suchsland und mit ihm viele anderen Forscher dass dieser Process seine Ursache lauter in Bacterientätigkeit findet. O. Loew dagegen schliesst jede Micro-organismen-tätigkeit bei diesem Prozesse aus und betrachtet die Tabaksfermentation als eine Oxydation, hervorgerufen von bestimmten Enzymen im Tabaksblatt s.g. Oxydasen und Peroxydasen. Jede dieser Theorien findet in der Litteratur ihre Bekämpfer und aus alledem geht hervor, dass es bis jetzt keine genügende Erklärung giebt für die Ursache der Tabaksfermentation. Da dieser Process grosze Aenlichtkeiten zeigt mit der Selbsterhitzung des Heues wurde unsere Aufmerksamkeit wie vonselbst darauf gerichtet und versuchten wir auch in dieser Hinsicht mehr Klarheit zu bekommen. Die Verwandtschaft beider Processen würde hervorgehen können aus dem Verlaufe der chemischen Umsetzungen in beiden Fällen. Die Litteratur gab uns dazu zwar verhältnissmässig wenig Material an der Hand weil nur zwei Untersucher: Behrens und Johnson sich hiermit eingehend befasst haben, aber die gemeinschaftlichen Resultate entsprechen unseren Erwartungen:

1. Die Fermentation bringt eine bedeutende Verminderung der Substanz, in erster Linie der Stickstofffreien Extractstoffe (Kohlehydraten und organische Säuren) des Nikotins und der aetherlöslichen Verbindungen, mit sich. Uebrigens gehen die Versuchsergebnisse der beiden Forscher weit auseinander n.l. bezüglich dem Verschwinden der Salpetersäuren- und Ammoniumsalsen.

2. Kohlensäure entsteht bei diesem Prozesse.

Nach Untersuchungen von Splendore soll auch Furfurol gebildet werden.

Zum Nachweis der Analogie zwischen der Tabaksfermentation und der Selbsterhitzung des Heues wiederholten wir die verschiedenen Versuche mit Tabak anstatt Gras in Glasröhren¹⁾. Für die Vorbereitung der verschiedenen Röhren verweisen wir nach dem Originale. Erstens wurde untersucht in wiefern Kohlensäure entsteht durch Erhitzung der feingeschnittenen Tabaksblätter mit Sauerstoff. Aus diesen Versuchen folgte:

1. Sauerstoff wirkt bei 100° oxydirend ein auf Tabaksblätter.
2. Dabei wird Kohlensäure gebildet und Sauerstoff gebunden.

Was der Einfluss des Wassers bei dieser Temperatur anbelangt, konnte nachgewiesen werden:

1. dass in derselben Zeit bedeutend mehr Sauerstoff festgelegt

¹⁾ Dazu wurden die Glasröhren mit einigen Grammen (meistens 4 Gr.) in vacuo getrockneten feingeschnittenen dachreifen Tabaksblättern und Sauerstoff gefüllt, worauf die beiden Enden zugeschmolzen und die Rohre in kochendem Wasser gelegt wurden.

wird nach Wasserzusatz. Die Zahlen für die Röhre mit und ohne Wasser waren nach 8 und 16 Stunden 4,3 und 8,6 c.c. O_2 ohne Wasser, respective 27,8 und 36,5 c.c. O_2 mit Wasser. Die Anwesenheit des Wassers fördert also die Oxydation in hohem Grade;

2. dass in derselben Zeit bedeutend mehr Kohlensäure gebildet wird durch Wasserzusatz; war doch für die Röhre nach 8 und 16 stündiger Erhitzung ohne Wasser die Production 8,2 und 13,8 c.c. CO_2 und mit Wasser 29,4 und 38,3 c.c. CO_2 .

Nimmt man anstatt Sauerstoff atmosphärische Luft in den Röhren, so findet eine ähnliche Wirkung des Sauerstoffes statt. Hier thut sich aber dieselbe Erscheinung auf, welche wir schon bei der Selbsterhitzung des Heues constatirten n. es entsteht ein Ueberdruck in den Röhren, weil die Kohlensäure-Production grösser ist wie die Bindung des Sauerstoffes, da die oxydirten Körper ein Teil ihres Sauerstoffes zur Bildung der Kohlensäure zur Verfügung stellen.

Durch Wasserzusatz wird auch in diesen Fällen die Kohlensäure-Production verstärkt.

Dass die Kohlensäure nicht entsteht durch blosze Erhitzung der Tabaksblätter bei $100^\circ C.$ geht hervor aus Versuche mit Röhren, welche feuchte Tabaksblätter enthalten und darauf luftleer gepumpt worden sind. Derartige Röhre bei $100^\circ C.$ hingelegt lieferten nur 0,6—0,8 c.c. CO_2 .

Die Temperatur von $100^\circ C.$ war bis jetzt gewählt damit alle Microben- und Enzymwirkung ausser Tätigkeit gesetzt wurden; es könnte aber sein dass diese Temperatur an und für sich Durchschlag gebend wäre für die Oxydationserscheinungen. Dies wurde untersucht durch Wiederholung dieser Versuche bei $33^\circ C.$, teilweise ohne und mit Wasser. In letztem Falle wurden die Blätter vorher in Vacuum sterilisirt damit auch hier jede Microbenwirkung ausgeschlossen wäre.

Die Resultate dieser Untersuchungen waren dass:

1. Sauerstoff sowohl bei $33^\circ C.$ wie bei $100^\circ C.$ oxydirend einwirkt auf Tabaksblätter.
2. Diese Oxydation beschleunigt wird durch Temperaturzunahme.
3. Die Anwesenheit des Wassers auch bei $33^\circ C.$ in hohem Grade die Oxydation fördert.
4. Bei der Oxydation Kohlensäure frei kommt und Sauerstoff gebunden wird.

Es fragt sich jetzt ob auch die übrigen Erscheinungen der Tabaksfermentation in plausibeler Weise ihre Erklärung in der Oxydation finden können. Dazu wurde eine grössere Portion (10 Gr.) Tabaksblätter bei $100^\circ C.$ während einiger Zeit unter Sauerstoff-durchleitung in einem Erlenmeyer Kolben behandelt

und darauf analysirt. Nachgewiesen wurde in diesen Versuchen dass:

1. Die Stickstofffreien Extractstoffe (hier die Pentosanen) zurück gehen.
2. Furfurol dabei entsteht.

Da die Erscheinungen genau dieselben sind wie bei der Selbsterhitzung des Heues und der Eisengehalt des Tabaks sogar höher ist wie im Heu (n.l. 6—9 m.Gr. pro 10 Gr. holländische Tabak) kann man für die Furfurolbildung und Verminderung des Pentosanengehaltes die Mitwirkung des Eisens als Katalysator annehmen.

Die in der Litteratur speciell erwähnte Zerstörung der Stärke in den Tabaksblättern kann gleichfalls auf Rechnung der Eisensalze geschrieben werden. Dies wurde durch Versuche näher erläutert. Kartoffel-Stärke-kleister mit Spuren Eisensalz (Ferro-sulfat) in Sauerstoffstrom erhitzt bei 100° C. liefert nach 2 Tagen eine vollständige Verflüssigung und nach 4 Tagen konnte schon mit Jodiumtinctur keine Stärke mehr gefunden werden. Die Reaction war sauer, Dextrine war vorhanden und auch Dextrose konnte mit Fehlingscher Lösung nachgewiesen werden. Wahrscheinlich wird die Umänderung der Stärke in Dextrine und Dextrose weniger direct stattfinden durch Oxydation als indirect durch das Auftreten der Säure, aber das Eisensalz ist dabei unentbehrlich. Dies wurde gezeigt durch eine Wiederholung des Versuches ohne Eisenzusatz. Nach 6 Tagen war alsdann noch keine Aenderung in dem Kleister nachzuweisen: Dextrine und Dextrose fehlten.

Dass auch die Säure des Eisensalzes (in diesem Falle Schwefelsäure) nicht als Ursache der Hydrolyse anzusehen war, ging hervor aus einem derartigen Versuche mit Eisensalzhaltigem Stärke-kleister im Rundkolben, welcher vor der Erhitzung luft-leer gemacht worden war. Trotz der Anwesenheit des Sulfates war nach 6 Tagen keine Umsetzung der Stärke zu constatiren und reagirte die Flüssigkeit sogar alcalisch.

Aus den vorgehenden Versuchen geht deutlich hervor, dass die eigenthümliche Wirkung der Eisensalze auch in diesem Prozesse zugeschrieben werden muss an die katalytische Wirkung des Eisen-ion.

Diese Versuche zeigen also: dass die Tabaksfermentation, gleich wie die Selbsterhitzung des Heues ein Oxydationsprocess ist, welcher an erster Stelle die Stickstofffreien Extractstoffe der Tabaksblätter angreift; und dass dabei das Eisen in der Pflanze als Katalysator auftritt.
