

Da aber hiermit nicht gesagt ist, daß sie im regulären System krystallisieren, dürfte die Angabe in Gmelin-Krauts Handbuch der anorganischen Chemie, Bd. II, Abt. 1 (aus dem Jahre 1906), „daß das bei Winterkälte entstehende Natriumbisulfat ($\text{NaHSO}_3 + 3\text{H}_2\text{O}$) reguläre Krystalle bilde“, einer Korrektur bedürfen.

Aus den krystallinen Krystallböden, aus welchen die schönen, glänzenden und gut ausgebildeten säulenförmigen Bisulfatkrystalle emporgewachsen waren, konnten andere gut ausgebildete kleinere, z. T. aber auch haselnußgroße Krystalle isoliert werden, die in der äußeren Form an Krystalle von Glaubersalz erinnerten und ebenfalls, wenn auch in geringerem Grade, zur Verwitterung geneigt waren.

Die Analyse ergab 26,1% Schwefelsäure (SO_3), 19,18% Natron (Na_2O) und 54,5% Wasser (H_2O). Glaubersalz enthält 24,8% Schwefelsäure (SO_3), 19,3% Natron (Na_2O) und 55,9% Wasser (H_2O).

Die im vorstehenden mitgeteilten Untersuchungen wurden von Herrn Reg.-Rat Prof. Dr. A. Goldberg angeregt und unter seiner Leitung im Laboratorium der Staatlichen Gewerbeakademie in Chemnitz durchgeführt.

[A. 73.]

Benzoesäure als Desinfektionsmittel.

Von Privatdozent Dr. H. P. KAUFMANN, Jena.

(Eingeg. 17./5. 1919.)

Bei Gelegenheit umfangreicher Versuche über die baktericide Wirkung der Benzoesäure, die am hygienischen Institut der Universität Jena ausgeführt wurden, und über die an anderer Stelle ausführlich berichtet werden soll, ließen sich einige Beobachtungen machen, die allgemeineres Interesse beanspruchen.

Desinfizierende Chemikalien verdanken ihre praktische Bedeutung einmal ihren entwicklungshemmenden Eigenschaften gegenüber Mikroorganismen; sie spielen infolgedessen in der Nahrungsmittelchemie eine gewisse Rolle. Dieser Anwendung ist allerdings früher vielfach widersprochen worden, und zwar von seiten hervorragender Vertreter der Hygiene¹⁾, die die althergebrachten und hygienisch einwandfreien Methoden der Konservierung durch Hitze und Kälte oder durch die einfachen chemischen Hilfsmittel, wie Kochsalz, Zucker und Rauchgase, für fast durchweg ausreichend hielten. Die durch den Krieg geschaffene Notlage, besonders die durch den Mangel an Zucker in vielen Fällen erschwerte Konservierung, machte die restlose Aufrechterhaltung dieser Forderung jedoch unmöglich und zwang zu gewissen Konzessionen. Infolgedessen hat in letzter Zeit die Verwendung antiseptischer Chemikalien zur Konservierung von Nahrungsmitteln wieder größeren Umfang angenommen. Die Zahl derselben, die ohne Bedenken, allerdings bei Einhaltung bestimmter Vorschriften, angewandt werden darf, ist trotzdem gering. Unter ihnen gewinnt die Benzoesäure immer mehr an Bedeutung. Sie hat sich auch bei langandauerndem Genuß als unschädlich erwiesen und besitzt, bei bestimmten Lebensmitteln zugesetzt, eine ausgezeichnete konservierende Wirkung.

Neben der entwicklungshemmenden ist es die keimtötende Kraft gewisser desinfizierender Chemikalien, die sie praktisch verwendbar macht. Sie können dazu dienen, Bakterien, die den menschlichen Organismus befallen haben oder ihm gefährlich werden können, abzutöten, und erfordern somit die besondere Beachtung des Arztes und Chemikers bei der Bekämpfung von Krankheiten infektiösen Ursprungs. Über den Erfolg der Anwendung baktericider Mittel zu diesem Zweck besteht kein Zweifel. Ein großer Teil unserer modernen Heilmittel enthält desinfizierende Stoffe, die — äußerlich oder innerlich in geeigneter Form zur Therapie benutzt — als von vortrefflicher Wirkung sich erwiesen. Das gleiche gilt von ihrer Benutzung zu den prophylaktischen Maßnahmen der Hygiene. So sind auch die Benzoesäure und ihre Verbindungen therapeutisch vielfach zur Anwendung gekommen. Die freie Säure wird äußerlich in der Wundbehandlung wie Carbolsäure und Salicylsäure in 1%ig. alkoholisch-wässriger Lösung, ferner in Salben und in Form von Verbandstoffen, innerlich als erregendes oder expektorierendes Mittel in Pulvern oder subcutanen Injektionen verwendet. Von ihren zahlreichen Verbindungen seien nur erwähnt das Natriumsalz, das bei Phtisis, Gelenkrheumatismus usw. empfohlen, und das Ammoniumsalz, das bei Asthma, Gicht und Nephritis therapeutisch benutzt wurde.

¹⁾ Z. B. R. A bel, Handbuch der praktischen Hygiene 1913, Bd. I, S. 445.

Bei der Wichtigkeit der Benzoesäure zu den beiden erwähnten Zwecken, die in der Hauptsache ihre desinfizierende Wirkung ausnützen, sind Versuche in dieser Hinsicht von hohem Interesse. In bezug auf die bisher vorliegende Literatur verweise ich auf die Referate von K. B. Lehmann²⁾. Auf Anregung desselben hat D. Held³⁾ später durch Versuche mit verschiedenen Sporenarten unsere Kenntnisse über die desinfizierende Wirkung der Benzoesäure weiterhin bereichert. Meine Versuche beziehen sich einmal auf die entwicklungshemmende und keimtötende Kraft der Benzoesäure in wässrigen Lösungen bei Konzentrationen von 0,05—0,25%, dann aber besonders auf die gleichen Eigenschaften der mit Wasserdampf verflüchtigten Benzoesäure im Hinblick auf therapeutische Maßnahmen. Als Testbakterien dienten Diphtheriebacillen, Staphylokokken und Sporen des Bac. Hoffmann, einer Erdbacillenart.

Bei Ausführung eines Teiles dieser Desinfektionsversuche wurde die Benzoesäure in verschiedener Konzentration Nährflüssigkeiten mit oder ohne Bacillenkulturen zugesetzt. Es erwies sich nun als unbedingt notwendig — was in älteren Arbeiten oft nicht genügend berücksichtigt worden ist —, das Verhalten der Benzoesäure gegen die Bestandteile der Nährlösung zu untersuchen. Schon praktische Erfahrungen wiesen mit voller Klarheit auf diese Notwendigkeit hin. Es hat sich nämlich gezeigt, daß Benzoesäure saure und eiweißarme Substanzen, z. B. Citronensaft, ausgezeichnet konserviert, während ihre Wirkung in alkalischen und eiweißreichen Nahrungsmitteln, z. B. bei Hackfleisch, sehr unvollkommen ist. In diesen Fällen wird die geringe Menge der angewandten Benzoesäure ganz oder teilweise gebunden und damit der Desinfektionswirkung entzogen. Demgemäß muß auch bei Anwendung der verschiedenen Nährböden bei Desinfektionsversuchen die Menge der wirklich freien Benzoesäure bestimmt und bei der Beurteilung herangezogen werden.

Nährlösungen, die mit Natronlauge oder Soda neutralisiert oder alkalisch gemacht worden sind, sind bei vorliegenden Versuchen, wenn irgend möglich, auszuschließen. In ihnen wird die Benzoesäure als benzoesaures Natron teilweise gebunden, und man müßte die Menge der noch vorhandenen freien Säure bestimmen. Bei Bewertung der desinfizierenden Wirkung der betreffenden Lösung wäre jedoch zu berücksichtigen, daß auch dem benzoesauren Natron eine antiseptische Kraft eigen ist, die allerdings wesentlich geringer ist, als die der Benzoesäure. Aber auch bei Anwendung alkalifreier Nährböden kann eine Bindung eintreten, sofern bei ihrer Herstellung Eiweißstoffe benutzt wurden. Als Nährlösung für Staphylokokken und Erdsproten kam bei meinen Versuchen eine 3% ige Traubenzuckerbouillon zur Anwendung, hergestellt aus 10 T. Liebigextrakt, 10 T. Pepton und 30 T. Traubenzucker in 1000 T. dest. Wasser. Für Diphtheriebacillen erwies sich eine neutrale (gegen Lackmus) Traubenzuckerbouillon, die aus Pferdefleisch hergestellt wurde, als günstiger Nährboden. Zur Bestimmung der durch die Nährlösung gebundenen Benzoesäure wurden zunächst die verwandte Lösung der letzteren und die Nährlösung mit Natronlauge titriert und darauf gleiche Mengen zusammengegeben. Dabei ließ sich sofort eine Trübung beobachten, während nach einigen Stunden sich schwach gelb gefärbte Flocken absetzten. Nun wurde abfiltriert und in dem Filtrat durch Titration die nunmehr noch in der Lösung befindliche Benzoesäure bestimmt. Die Prüfung des Niederschlags ergab, daß dieser nicht auf einer Koagulation irgendwelcher Eiweißstoffe, hervorgerufen durch den Säurezusatz, beruht, sondern daß darin Benzoesäure vorhanden ist, die so aus der Lösung ausgefällt wird. Die gefundene geringe Menge derselben legt aber die Wahrscheinlichkeit nahe, daß ein großer Teil der gebundenen Benzoesäure in der Lösung verbleibt. Bei der Traubenzucker-Pepton-Fleischextrakt-Bouillon wurden 0,02%, bei der Traubenzucker-Pferdefleisch-Bouillon 0,01% Benzoesäure gebunden. Bei höheren Konzentrationen spielt dieser Fehler keine große Rolle, bei geringeren jedoch, z. B. bei 0,05 und 0,075% Benzoesäure, fällt er erheblich ins Gewicht. Die angewandte Konzentration mußte demnach einer Korrektur unterzogen werden, um die Beurteilung der Stärke der Entwicklungshemmung oder der Keimtötung jeweils einwandfrei zu ermöglichen. Die Versuche ergaben, daß auf Staphylokokken (*Staphylococcus aureus*) in Traubenzucker-Pepton-Liebigextrakt eine Konzentration von 0,03% Benzoesäure in 7 Tagen eine erkennbare Wirkung nicht hat. Bei 0,08% waren zur völligen Abtötung 5—6 Tage nötig, bei 0,18% 2 Tage. Eine Konzentration von 0,23% Benzoesäure hatte schon nach 24 Stunden völlige Sterilität zur Folge. Wesentlich empfindlicher sind Diphtheriebacillen in Traubenzucker-Pferdefleisch-

²⁾ Chem.-Ztg. 79, S. 949, [1908]; 140, S. 1297 und 142 1314. [1911].

³⁾ Diss. Würzburg 1915.

Bouillon. 0,14% tötete bereits nach 10 Stunden, 0,09% benötigte zu sicherer Wirkung 2 Tage, während die schwächste Konzentration von 0,04% 5 Tage brauchte. Bei allen Versuchsreihen bewiesen Kontrollversuche das einwandfreie Wachstum der nicht der Benzoesäure ausgesetzten Bakterienkulturen.

Zur Entwicklungshemmung genügten wesentlich geringere Konzentrationen. Bei Staphylokokken (*Staphylococcus aureus*) war schon bei 0,03% Benzoesäure eine deutliche Schwächung des Wachstums zu beobachten, völlige Hemmung trat jedoch nicht ein. Alle höheren Konzentrationen waren dazu befähigt. Bei Diphtheriebacillen genügte die schwächste Konzentration von 0,04% Benzoesäure zur völligen Entwicklungshemmung. Die Empfindlichkeit der Diphtheriebacillen gegenüber Benzoesäure erscheint bemerkenswert.

Eingehend wurde die baktericide Wirkung der Benzoesäure in Dampfform untersucht. In trockenem Zustand verdampft, erzeugt sie Husten und Katarrhe der Atemwerkzeuge, und die baktericide Wirkung ist gering, wie die Erfahrungen, die man mit anderen Desinfektionsmitteln bei Abwesenheit von Wasser machte, erwarten ließen. Nun entweicht aber die Benzoesäure beim Kochen ihrer Lösungen mit den Wasserdämpfen, und falls genügend verdünnte Dämpfe angewandt werden, liegt die Möglichkeit einer Inhalation vor. Es galt nun festzustellen, ob letzteren eine genügende Desinfektionswirkung zukommt. Der Versuch hat in der Tat bewiesen, daß der mit Wasserdämpfen verflüchtigten Benzoesäure eine viel beträchtlichere baktericide Kraft innewohnt, als der in wässriger Lösung befindlichen. Sporen des *Bac. Hoffmann*, einer sehr widerstandsfähigen Erdbacillenart, wurden in strömendem Wasserdampf nach 12 Min. abgetötet; setzt man dagegen dem siedenden Wasser 2,5% Benzoesäure zu, so ließ sich dieser Erfolg teilweise schon in 1 Min., sicher in 2 Min. erzielen. Wie ein vergleichender Versuch zeigte, hatte durch Erhitzen einer 2,5%ig. Carbonsäurelösung erzeugter Dampf nach 2 Min. eine starke Entwicklungshemmung, nach 3 Min. Sterilität zur Folge, wenn ihm Erdsproren in gleicher Weise ausgesetzt wurden. Trotzdem die Carbonsäure mit Wasserdämpfen viel flüchtiger ist als die Benzoesäure, erwies sich letztere also als von gleicher baktericider Kraft.

Besonderer Wert wurde darauf gelegt, mit Dämpfen niedriger Temperatur und Konzentration zu arbeiten, da nur diese für therapeutische Verwendung in Frage kommen. Diese Absicht wurde beispielsweise dadurch erreicht, daß zunächst in einem geräumigen Kolben eine 2,5% ige Lösung der Benzoesäure zum Sieden erhitzt wurde, bis die Dämpfe den Kolben völlig füllten. Läßt man nun im Brutraum auf 37° abkühlen, so enthält der Kolben oberhalb der Flüssigkeit ein bei 37° gesättigtes Gemisch von Wasserdampf und Benzoesäuredampf. In diese Atmosphäre wurden dann in einer großen Anzahl von Versuchen und in mannigfaltiger Versuchsanordnung die an Seidenfäden angetrockneten Testbakterien eingebracht. Diphtheriebacillen wurden nach 12 stündiger, Staphylokokken nach 24 stündiger Einwirkung abgetötet. Es liegt also in diesem außerordentlich verdünnten Dampfgemisch schon eine beträchtliche baktericide Kraft. In 12 stündiger Einwirkung wurde der Erfolg erzielt, der einer 0,15% igen wässrigen Benzoesäurelösung in der gleichen Zeit entspricht, bei Staphylokokken in 24 Stunden derjenige einer 0,25% igen wässrigen Lösung.

Nach den erzielten Ergebnissen scheint mir die praktische Anwendung der mit Wasserdämpfen verflüchtigten Benzoesäure umfangreicherer Versuche wert zu sein. Man könnte einmal an die Reinigung der Zimmerluft, in Krankenzimmern usw., denken. Wenn auch natürlich die hohe baktericide Kraft des Formaldehyds nicht annähernd erreicht wird, so wird die sich auf längere Zeit erstreckende stetige Wirkung der Benzoesäure auch in der großen Verdünnung, die keinerlei Belästigung bei der Einatmung zur Folge haben darf, von Erfolg sein können. Viel wirksamer sind natürlich Inhalationen mit Wasserdampf-Benzoesäuregemischen, die gleichfalls so verdünnt zu wählen sind, daß Reizungen der Atemwege nicht eintreten können. Da die Benzoesäure in Dampfform vorliegt, so kann sie in alle Buchten und Winkel der Schleimhäute eindringen und dort zur Wirkung kommen; eine durch Abkühlung entstehende geringe Abscheidung von Benzoesäure wird diese nur erhöhen, ohne daß bei den in Frage stehenden Konzentrationen eine Schädigung zu befürchten ist. Ich habe z. B. eine Anwendung derartiger Inhalationen bei der Behandlung der Diphtherierekonvaleszenten im Auge, die erfahrungsgemäß noch lange Zeit nach Ablauf der eigentlichen Krankheit Träger virulenter Bacillen sein können und infolgedessen eine große Gefahr für die Umgebung darstellen.

Bei Gelegenheit vorliegender Versuche wurde die Flüchtigkeit der Benzoesäure mit Wasserdämpfen aus siedenden Lösungen verschiedener Konzentration bestimmt. Da ich hierüber keine Angaben gefunden habe, seien die Ergebnisse hier kurz zusammengestellt.

Je 500 ccm wässriger Lösungen der Benzoesäure von 1, 2,5 und 5% wurden der Destillation unterworfen. Da in dem Maße, in dem das Wasser verdampft, die Flüssigkeit sich konzentriert, so mußten verschiedene Destillate nacheinander untersucht werden. Dies war nötig, um festzustellen, wie lange bei Desinfektionsversuchen die Lösung benutzt werden durfte, um Dämpfe von gleichem Gehalt an Benzoesäure zu erhalten. Angewandt wurde ein Liebig'scher Kühler, dessen Kühlwasser bei ca. 50° gehalten wurde, um die Abscheidung der Benzoesäure in den kondensierten Wasserdämpfen möglichst lange hintenzuhalten. Trat diese trotzdem ein, so wurde der Kühler mit heißem Wasser durchspült, und das Destillat gleichfalls mit heißem Wasser bis zur völligen Lösung der Benzoesäure versetzt. Davon kamen aliquote Teile zur Untersuchung, und zwar wurde nach Zusatz einiger Tropfen Phenolphthalein mit $\frac{1}{10}$ -n Natronlauge titriert. Die Ergebnisse sind aus folgenden Tabellen ersichtlich.

Prozentgehalt des Destillates einer 1%igen Benzoesäurelösung.

Abdestillierte ccm	$\frac{1}{10}$ -n NaOH	Benzoesäure g	Benzoesäure %
0—20	4,2 ccm	0,0512	0,256
20—40	4,2 „	0,0212	0,256
40—60	4,2 „	0,0512	0,256
60—80	4,5 „	0,0549	0,27
80—100	5,0 „	0,061	0,3
100—150	13,7 „	0,167	0,334
150—200	15,2 „	0,186	0,372
200—250	17,3 „	0,211	0,422
250—300	19,5 „	0,238	0,476
300—350	23,9 „	0,292	0,584
350—400	32,3 „	0,394	0,788
400—450	44,5 „	0,544	1,088

Bei weiterer Destillation beginnt sich infolge Konzentrierung der Lösung Benzoesäure ölig auszuscheiden. Durch Sublimation der nicht mehr gelösten Säure steigt die Konzentration der übergelassenen Dämpfe stark an. Da nur Wert gelegt wurde auf die Bestimmung des Benzoesäuregehaltes der Dämpfe, die aus Lösungen übergehen, wurde der Versuch abgebrochen.

Prozentgehalt des Destillates einer 2,5%igen Benzoesäurelösung.

Abdestillierte ccm	$\frac{1}{10}$ -n NaOH	Benzoesäure g	Benzoesäure %
0—20	9,9 ccm	0,121	0,605
20—40	9,9 „	0,121	0,605
40—60	10,3 „	0,126	0,630
60—80	10,6 „	0,129	0,645
80—100	10,8 „	0,132	0,660
100—150	28,3 „	0,345	0,690
150—200	31,0 „	0,378	0,756
200—250	34,7 „	0,423	0,846
250—300	38,5 „	0,469	0,938
300—350	41,3 „	0,503	1,006
350—400	ölige Ausscheidung der Benzoesäure.		

Prozentgehalt des Destillates einer 5%igen Benzoesäurelösung.

Abdestillierte ccm	$\frac{1}{10}$ -n NaOH	Benzoesäure g	Benzoesäure %
0—20	16,3 ccm	0,1989	0,995
20—40	16,2 „	0,1976	0,988
40—60	16,5 „	0,2013	1,0065
60—80	16,8 „	0,205	1,015
80—100	17,0 „	0,2074	1,037
100—150	44,0 „	0,5307	1,0614
150—200	ölige Abscheidung der Benzoesäure.		

[A. 79.]