

## Zur Theorie der Desinfektion.

Von

R. O. Herzog und R. Betzel.

Mit einer Abbildung und sieben Kurvenzeichnungen im Text.

(Aus dem chemischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.)

(Der Redaktion zugegangen am 29. Juli 1911.)

Im folgenden wird eine ausführlichere Darstellung und die Ergänzung zu den Versuchen gegeben werden, die wir vor einiger Zeit mehr andeutungsweise mitgeteilt haben.<sup>1)</sup>

Preßhefe wurde mit verschiedenen konzentrierten Lösungen der im weiteren genannten Desinfektionsmittel geschüttelt, nach einiger Zeit abzentrifugiert und in der Lösung die Menge der nicht aufgenommenen Desinfektionsmittel untersucht.

### Chloroform.

In der vorläufigen Mitteilung sind die Ergebnisse zweier Versuche angeführt. Zur Orientierung sei noch ein dritter Versuch hier etwas ausführlicher beschrieben.

Je 5 g Hefe wurden in Zentrifugengläser eingewogen und hierzu 50 ccm einer Mischung von Chloroformlösung und Wasser gebracht. Die Anwendung der direkt zur Zentrifugierung bestimmten Gläser ließ ein Umfüllen vermeiden, bei dem stets Chloroformverluste auftraten, wie viele Versuche gezeigt hatten. Das Volumen von Hefe + Chloroformmischung betrug 53,77 ccm.

Der Feuchtigkeitsgehalt der Hefe war durch Trocknen von 5 g Hefe bei 110° festgestellt worden. 1 ccm der wässerigen Chloroformvorratslösung enthielt 5,84 mg Chloroform. Die Hefe wurde 5 Stunden mit der Desinfektionsflüssigkeit auf der Schüttelmaschine geschüttelt.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 67, S. 309 (1910).

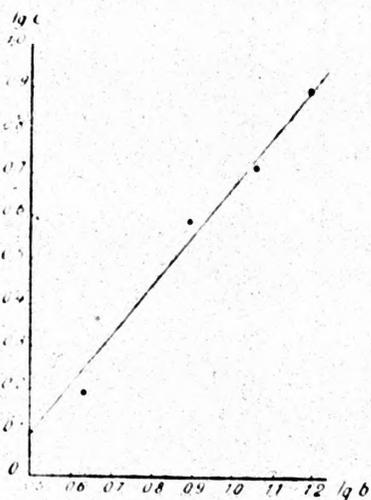
Angewandtes Chloroform ccm	+ destilliertes Wasser ccm	Nach der Adsorption zur Bestimmung verwandte Menge ccm	Verbrauchtes Silbernitrat $\frac{1}{10} \cdot n$
40	10	10	7,25
30	20	20	10,62
20	30	20	7,27
10	40	30	5,99

Daraus folgt:

Angewandtes Chloroform a mg	In der Lösung geblieben b mg	Von der Hefe adsorbiert c mg	Berechnet c mg
23,36	15,51	7,85	7,68
17,52	11,36	5,16	5,36
11,68	7,78	3,90	3,47
5,84	4,27	1,57	1,74

Die Werte unter «berechnet» sind aus der Gleichung  $\log c = \log k + n \log b$  erhalten, in der  $c$  die von der Hefe aufgenommene,  $b$  die in der Lösung verbliebene (ursprüngliche minus von der Hefe aufgenommene) Menge des Desinfektionsmittels bedeutet. Im vorliegenden Falle ist  $n = 1,15$ ;  $k = 1,528$ . (Bei den beiden schon mitgeteilten Versuchen war  $n = 1,42$  und  $k$  im ersten Falle 5,37; im zweiten 3,75.)

Die folgende Kurve gibt den beschriebenen Versuch wieder.



Kurve 1.

Überblickt man die drei Versuche, so findet man, daß das Chloroform von Hefe so aufgenommen wird, wie dies bei einem Adsorptionsprozeß der Fall sein müßte. Der Adsorptionsexponent ist nur geringen Schwankungen unterworfen und ist im Mittel gleich 1,3, fällt also aus den gewöhnlichen Grenzen heraus. Doch ist zu berücksichtigen, daß auch bei anderen typischen Adsorptionsvor-

gängen ein ähnliches abnormes Verhalten beobachtet wurde; so sei auf die von Freundlich und Losev<sup>1)</sup> gefundenen Werte bei Krystallviolett, auf die Versuche von Wöhler und Plüddemann,<sup>2)</sup> u. a. hingewiesen.

Zieht man die Schwierigkeit und Fehlerquellen der Methodik in Betracht, so muß die Übereinstimmung zwischen den berechneten und gefundenen Werten als sehr gut bezeichnet werden.

Ein weiterer Versuch sollte darüber Aufklärung verschaffen, ob man es bei der Aufnahme von Chloroform durch Hefe mit einem reversiblen Gleichgewicht zu tun hat. Zu diesem Zwecke wurde in ein Zentrifugenglas 5 g Preßhefe, 25 ccm destilliertes Wasser und 25 ccm einer wässrigen Chloroformlösung, die 5,84 g Chloroform im Liter enthielt, gebracht; in ein zweites kamen 5 g Preßhefe und 25 ccm der Chloroformlösung und in ein drittes 2,5 g Preßhefe, 25 ccm destilliertes Wasser und 25 ccm Chloroformlösung. Hierauf wurden die Gläschen auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Nach drei Stunden wurde in das zweite Gläschen 25 ccm destilliertes Wasser und in das dritte 2,5 g Preßhefe gegeben und nochmals drei Stunden geschüttelt; dann wurde zentrifugiert. Das gesamte Flüssigkeitsvolumen betrug wieder 53,77 ccm. Die folgende Tabelle gibt die gefundenen Resultate wieder.

	Die zur Bestimmung verwandte Menge ccm	Verbrauchte $\frac{1}{10}$ -n-Silber- nitratlösung ccm
1. Gläschen	20	9,79
2. „	20	9,31
3. „	20	9,22

Daraus ergibt sich:

	Angewandtes Chloroform mg	In Lösung geblie- benes Chloroform mg	Adsorbiertes Chloroform mg
1. Gläschen	14,6	10,5	4,1
2. „	14,6	10,0	4,6
3. „	14,6	9,9	4,7

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 59, S. 284 (1907).

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 62, S. 660.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß bei der Adsorption von Chloroform durch Hefe ein reversibles Gleichgewicht vorliegt; denn die drei gefundenen Werte, besonders aber die beiden letzten, stimmen gut miteinander überein. Der etwas abweichende Wert des ersten Gläschens dürfte auf einem kleinen Versuchsfehler beruhen.

Bezüglich der Durchführung der beschriebenen Versuche sei noch folgendes bemerkt.

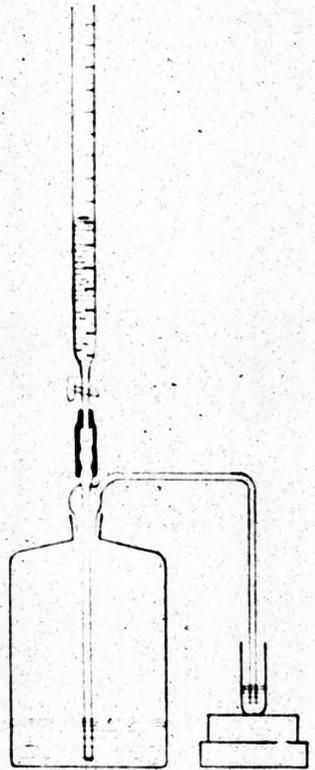
Bei der Bestimmung des Chloroforms ging man von der Tatsache aus, daß es sich in alkoholischer Lösung durch alkoholische Kalilauge quantitativ verseifen läßt. Da aber in den vorliegenden Fällen stets wässrige Lösungen zu bestimmen waren, so mußten diese erst in alkoholische Lösungen übergeführt werden. Nach den Angaben von M. Nicloux <sup>1)</sup> wurde dies in folgender Weise ausgeführt: 10 oder 20 ccm der zu untersuchenden wässrigen Chloroformlösung — 100 ccm Wasser lösen bei 20° C. 0,8 g Chloroform — wurden mit dem fünffachen Volumen 95%igen Alkohols versetzt und mit 0,25 g Weinsäure angesäuert. Hierauf wurde  $\frac{1}{3}$  des Gesamtvolumens in eine mit 10 ccm Alkohol beschickte und durch eine Eis-Kochsalzlösung stark abgekühlte Vorlage abdestilliert. Als Vorlage wurden die üblichen kleinen Rundkölbchen von 200 ccm Inhalt benutzt, die den Vorteil haben, daß die ganze Chloroformbestimmung, ohne umgießen zu müssen, bis zu Ende in ihnen ausgeführt werden kann. Nach dem Destillieren wurden zu der nunmehr alkoholischen Chloroformlösung 10 ccm einer 10%igen alkoholischen Kalilauge gegeben und 1,5 Stunden am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Zu den Versuchen darf nur reinste Kalilauge verwendet werden; eine Probe darf nach Zugabe von Wasser und Ansäuern mit Salpetersäure mit Silbernitrat keine Chlorreaktion zeigen. Die Zersetzung des Chloroforms ist quantitativ. Nach dem Erkalten gibt man etwas Wasser hinzu, neutralisiert genau mit verdünnter Schwefelsäure unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator, destilliert den größten Teil des Alkohols ab und titriert in Gegenwart von Kaliumchromat mit einer  $\frac{1}{10}$ -n-Silberlösung. 1 ccm der  $\frac{1}{10}$ -n-Silberlösung entspricht 3,98 mg Chloroform. Diese Methode ist sehr genau, wie aus den beiden, zu verschiedenen Zeiten ausgeführten Analysen hervorgeht.

10 ccm CHCl <sub>3</sub>	verbrauchten	14,68 ccm	$\frac{n}{10}$ -AgNO <sub>3</sub> .
10 „ „ „	„ „ „	14,67 „ „	„ „

Um eine Chloroformlösung von stets gleichbleibender Konzentration im Vorrat zu haben, wurde 1 Liter Wasser mit überschüssigem Chloroform längere Zeit geschüttelt. Die un-

<sup>1)</sup> Compt. rend. d. l'Acad. d. sciences, Bd. 142, S. 163—165.

gefähr gesättigte Lösung wurde dann in die etwas mehr wie 1200 ccm fassende Flasche des nebenstehenden Apparates gegossen und mit destilliertem Wasser nahezu gefüllt, gut durchgeschüttelt und durch Einfließenlassen von reinstem Quecksilber aus der Bürette die Luft aus dem Apparate vollständig verdrängt. Wollte man dem Apparate eine bestimmte Menge der Lösung entnehmen, so verdrängte man erst durch ungefähr 1 ccm Quecksilber die in der seitlich angeetzten Kapillare stehende Flüssigkeit und konnte dann dadurch, daß man aus der Bürette eine bestimmte Menge Quecksilber in die Flasche fließen ließ, ein entsprechendes Volumen der Chloroformlösung auslaufen lassen. Wurde der Apparat nicht benutzt, so ließ man die seitliche Kapillare in Quecksilber tauchen. Auf diese Weise wurde erreicht, daß die Lösung mit keinem Luft- oder Gasraume in Berührung stand und daher auch bei längerem Stehen ihre Konzentration nicht ändern konnte. Die oben angeführten Analysen beweisen die Konstanz der Chloroformlösung. Eine ziemliche Anzahl unangenehmer Erfahrungen hatte bewiesen, daß solche Vorsichtsmaßregeln notwendig sind.



Von der verwendeten Silbernitratlösung entsprach 1 ccm 3,474 mg Chloroform; 1 ccm der Vorratschloroformlösung enthielt 5,681 mg Chloroform.

### Silbernitrat.

Das Wesentliche der Versuche ist in der vorläufigen Mitteilung erwähnt worden; es sei daran erinnert, daß die Aufnahme aus der Lösung durch die Hefe völlig einem typischen Adsorptionsprozeß zu gleichen schien. Hier sei nur noch ein Versuch zur Prüfung auf die Existenz eines beweglichen Gleichgewichtes wiedergegeben, der im Prinzip ebenso aufgeführt wurde, wie der bei den Chloroformversuchen beschriebene.

Es wurden je 10 g Hefe und 100 ccm Flüssigkeit angewendet. Die Schütteldauer betrug 6 Stunden.

Zur Titration verwandte Menge ccm	$n/_{10}$ -Rhodanammonium ccm
30	24,06
30	23,64
30	24,18

Hieraus ergibt sich:

Angewandte Menge $\text{AgNO}_3$ g	In Lösung geblieben $\text{AgNO}_3$ g	Adsorbiert $\text{AgNO}_3$ g
1,840	1,465	0,375
1,840	1,439	0,401
1,840	1,472	0,368

Während 1 und 3 miteinander übereinstimmen, zeigt 2 einen etwas zu hohen Wert, der aber noch innerhalb der Fehlergrenzen liegt. Daraus geht hervor, daß auch in diesem Falle reversibles Gleichgewicht vorliegt.

### Sublimat.

Nachdem sich die Gültigkeit der Adsorptionsisotherme bei der Einwirkung von Silbernitrat auf Hefe erwiesen hatte, lag es nahe, die Versuche auch auf Sublimat auszudehnen. Hierbei war nur die Schwierigkeit zu überwinden, eine geeignete Analysenmethode ausfindig zu machen; als solche erwies sich endlich die Methode von Rupp.<sup>1)</sup>

Das Prinzip der Methode ist kurz folgendes: Quecksilber wird in alkalischer Lösung metallisch niedergeschlagen, durch einen Überschuß von  $1/_{10}$ -n-Jodlösung zu Quecksilberjodid umgesetzt und das unverbrauchte Jod mit Natriumthiosulfat zurückgemessen. Die Überführung des Sublimats in alkalische Lösung bewirkt man durch Jodkalium und Lauge. Das

<sup>1)</sup> Chem.-Ztg., 1906. S. 1077.

resultierende Quecksilberjodidjodkalium wird durch Formaldehyd bei gewöhnlicher Temperatur augenblicklich reduziert. Da Formaldehyd durch saure Jodlösung nicht angegriffen wird, so kann die nachträgliche Jodierung direkt im angesäuerten Reduktionsgemisch vorgenommen werden. Die Ausführung der Titration gestaltet sich folgendermaßen: Etwa 0,1–0,25 g Sublimat in 5–50 ccm Wasser werden in einer Glasstöpsellflasche mit 1–2 g Jodkalium versetzt, so daß der anfänglich entstehende Niederschlag von Quecksilberjodid wieder in Lösung geht. Alsdann wird mit 10–20 ccm einer 10%igen Kalilauge alkalisch gemacht und unter Umschwenken eine Mischung aus etwa 3 ccm reiner 40%iger Formaldehydlösung und 10 ccm Wasser zugesetzt. Nach etwa 2 Minuten langem Schütteln säuert man mit etwa 10 ccm Eisessig (nicht Mineralsäure!) an, schüttelt nochmals durch und fügt ein überschüssiges Volumen (25 ccm) von  $\frac{1}{10}$ -n-Jodlösung zu. Nachdem man, was sehr wichtig ist, sich davon überzeugt hat, daß am Boden des Gefäßes kein ungelöstes Quecksilber mehr lagert und den Lösungsprozeß nötigenfalls durch kräftiges Schütteln befördert hat, wird der Jodüberschuß durch  $\frac{1}{10}$ -n-Natriumthiosulfat unter Anwendung von Stärkelösung als Indikator zurücktitriert.

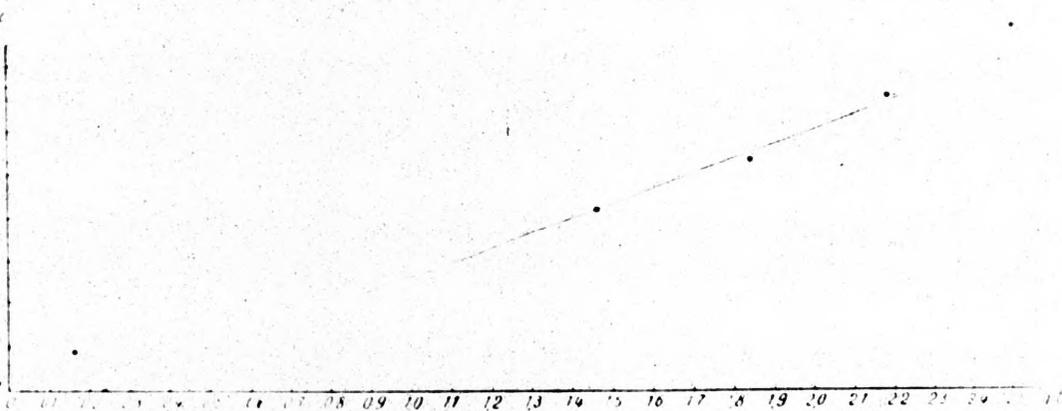
Zur Feststellung der Adsorptionsisotherme wurden je 10 g Preßhefe mit einem Flüssigkeitsgehalt von 7,4 ccm und 100 ccm Desinfektionslösung verwendet. Ein Nullversuch mit destilliertem Wasser zeigte, daß die Lösung, das Hefewasser, etwas Jod verbrauchte, und zwar betrug die verbrauchte Menge für 107,4 ccm Flüssigkeit 0,1 ccm  $\frac{1}{10}$ -Jodlösung. Dieser Betrag mußte jeweils in Rechnung gezogen werden. Die in nachstehender Tabelle angeführten Zahlen bilden die Mittelwerte zweier parallel miteinander ausgeführten Versuchsreihen. Von der verwendeten Jodlösung entsprachen 25 ccm = 23,14- $\frac{1}{10}$ -Thiosulfatlösung.

Zur Titration verwendet ccm	Jodlösung ccm	$\frac{1}{10}$ -Thiosulfat zurücktitriert ccm
5	25	12,03
20	30	6,55
20	25	13,47
30	25	17,10
50	20	17,96

Daraus folgt:

Angewandtes HgCl <sub>2</sub> a g	In Lösung ge- bliebenes HgCl <sub>2</sub> b g	Adsorbiertes HgCl <sub>2</sub> c g	Berechnet c g
3,683	3,234	0,449	0,438
1,841	1,537	0,304	0,317
0,921	0,702	0,219	0,242
0,460	0,292	0,168	0,180
0,092	0,015	0,077	0,064

Die graphische Darstellung der Logarithmen von b und c ergibt wiederum eine Gerade.



Kurve 2.

Für k ergibt sich der Wert 3,654 und für n der Wert 0,343, der mit den bei Silbernitrat gefundenen Werten in auffallender Weise übereinstimmt.

Ein weiterer Versuch galt der Prüfung des Adsorptionsgleichgewichtes und wurde in ganz analoger Weise und mit denselben Mengenverhältnissen wie bei Silbernitrat ausgeführt. Eine Trockenbestimmung der Hefe ergab für sie wieder ein Flüssigkeitsvolumen von 7,4 ccm. Es sei hier erwähnt, daß wie bei diesem und den vorausgehenden Versuchen auch bei den folgenden jedes verwendete Hefequantum eine besondere Trockenbestimmung ausgeführt wurde. Um allzuhäufige Wiederholungen aber zu vermeiden, werden diese Bestimmungen, zumal sie bei der zu den verschiedensten Zeiten bezogenen

Preßhefe in äußerst engen Grenzen schwanken,<sup>1)</sup> nicht mehr besonders angeführt, sondern ohne weiteres in Rechnung gezogen. — Ein Nullversuch mit 10 g Hefe und 100 ccm destilliertem Wasser führte wieder dazu, für 107,4 ccm Flüssigkeit eine Korrektur von 0,10 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung anzubringen. 20 ccm der verwendeten Jodlösung entsprachen 25,42 ccm  $n_{10}$ -Thiosulfatlösung.

Zur Titration verwandt ccm	Jodlösung zugesetzt ccm	Zurücktitriert mit $n_{10}$ -Thiosulfat ccm
30	20	11,52
30	20	11,66
30	20	11,61

Hieraus ergibt sich:

Angewandte Menge $HgCl_2$ g	In Lösung gebliebenes $HgCl_2$ g	Adsorbiert $HgCl_2$ g
0,898	0,669	0,229
0,898	0,658	0,240
0,898	0,667	0,231

Die gefundenen Werte für das adsorbierte  $HgCl_2$  zeigen gute Übereinstimmung. Dies beweist, daß man es hier tat-

<sup>1)</sup> Um ein Bild von der Konstanz des Feuchtigkeitsgehaltes der Hefe zu geben, seien die verschiedenen Bestimmungen hier kurz tabellarisch wiedergegeben:

Datum	Hefe g	Feuchtig- keit g	Datum	Hefe g	Feuchtig- keit g
5. VII. 09	10	7,50	29. XI. 10	10	7,46
27. X. 10	10	7,38	6. XII. 10	10	7,41
3. XI. 10	10	7,44	13. XII. 10	10	7,46
10. XI. 10	10	7,41	26. I. 11	5	3,72
22. XI. 10	10	7,42	7. II. 11	5	3,77
24. XI. 10	10	7,42	21. II. 11	5	3,77

sächlich ebenso wie bei Silbernitrat mit einem reversiblen Gleichgewicht zu tun hat. Es ist zwar nicht zu verkennen, daß der zweite Wert etwas ansteigt, doch ist der Unterschied gegenüber den beiden anderen Werten mit Rücksicht auf die unvermeidlichen Versuchsfehler nur gering.

### Formaldehyd.

In der vorläufigen Mitteilung ist gesagt worden, daß eine gewisse Hefemenge immer eine konstante, von der Konzentration unabhängige Menge Formaldehyd bindet.

Wurden aber sehr geringe Konzentrationen angewandt, dann traten regelmäßig Abweichungen ein, die zunächst für Versuchsfehler gehalten wurden. Aus diesem Grunde wurde ein Versuch mit verdünnten Lösungen angestellt. Preßhefemenge: 10 g, Volumen der Lösung: 100 ccm, Schütteldauer: 6 Stunden. Die in Abzug zu bringende Korrektur betrug 2,25 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung.

Zur Titration verwendet ccm	Jodlösung ccm	$n_{10}$ -Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert ccm
25	100	52,27
25	50	37,82
25	50	57,46

Daraus folgt:

Angewandte Menge a g	In Lösung gebliebene Menge b g	Adsorbierte Menge c g
0,522	0,481	0,041
0,209	0,164	0,045
0,104	0,037	0,067

Die Abweichung liegt wieder im selben Sinne. Man kommt zu der Annahme, daß die Hefe möglicherweise, wenn sie mild abgetötet wird, imstande ist, etwas Formaldehyd zu zersetzen.

Ergänzend seien hier noch die Gleichgewichtsversuche angefügt.

Versuchsordnung wie früher. Korrektur, da im Zusammenhang mit Versuch 11 ausgeführt, dieselbe wie dort.

Zur Titration verwendet ccm	Jodlösung ccm	$n_{10}$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
10	50	32,45
10	50	32,55
10	50	32,70
Folgt:		
Angewandte Menge g	In Lösung geblieben g	Adsorbiert g
0,523	0,502	0,021
0,523	0,500	0,023
0,523	0,496	0,027

Da von der Hefe überhaupt nur geringe Mengen Formaldehyd aufgenommen werden, so können auch die Versuche nicht den gewünschten Grad der Genauigkeit erreichen. Immerhin sprechen die gefundenen Werte für ein reversibles Gleichgewicht.

Die Formaldehydbestimmungen wurden nach der Romijnschen <sup>1)</sup> Jodmethode ausgeführt, die sich auf die leichte Oxydierbarkeit des Formaldehyds in wässriger Lösung gründet. In eine mit einem eingeschliffenen Glasstopfen versehene Glasflasche bringt man eine gemessene Menge einer Formaldehydlösung, fügt eine genau abgemessene Menge  $\frac{1}{5}$ -n-Jodlösung hinzu und versetzt hierauf mit soviel  $\frac{1}{1}$ -n-Kalilauge, daß die Lösung noch stark gelb erscheint. Dann schüttelt man kräftig durch und läßt noch ungefähr 10 Minuten stehen. Hierauf säuert man mit  $\frac{1}{1}$ -n-Salzsäure an und titriert nach einer halben Stunde den Überschuß des Jods mit  $\frac{1}{10}$ -n-Natriumthiosulfat zurück. 1 ccm einer  $\frac{1}{5}$ -n-Jodlösung entspricht 3,0016 mg Formaldehyd. Um völlig scharfe Resultate zu erhalten, ist es notwendig, nur reinste Kalilauge zu verwenden; auch dürfen Jodlösung und Alkali vor dem Formaldehydzusatze nicht miteinander gemischt werden; ferner ist zu starkes Ansäuern zu vermeiden und die Flüssigkeit während der Titration mit Natriumthiosulfat ständig zu bewegen.

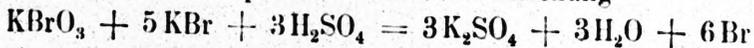
### Phenol.

Die Versuche waren wie in den anderen Beispielen an-

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. analyt. Chem., Bd. 36, S. 18.

gestellt; 10 g Preßhefe auf 100 ccm Desinfektionslösung. Die Analyse erfolgte nach Koppeschaar.<sup>1)</sup>

In eine mit gut eingeschliffenem Stöpsel versehene Flasche bringt man 25–35 ccm der Phenollösung (1:1000) und 50 ccm einer Lösung, die man sich herstellt, indem man 6 g Kaliumbromid und 1,67 g Kaliumbromat in 1 l Wasser auflöst. Versetzt man nun mit 25 ccm Schwefelsäure (1:5) und schüttelt kräftig um, so wird die Lösung bald opalisierend und scheidet nach und nach einen voluminösen Niederschlag ab. Nach etwa 15 Minuten ist die Reaktion beendet; man fügt 10 ccm einer Jodkaliumlösung hinzu, die 125 g Kaliumjodid im Liter enthält, schüttelt um und titriert nach weiteren 10 Minuten das ausgeschiedene Jod mit  $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfat und Stärkelösung als Indikator zurück. Der angewandten Menge Kaliumbromat entsprechen nach der Gleichung



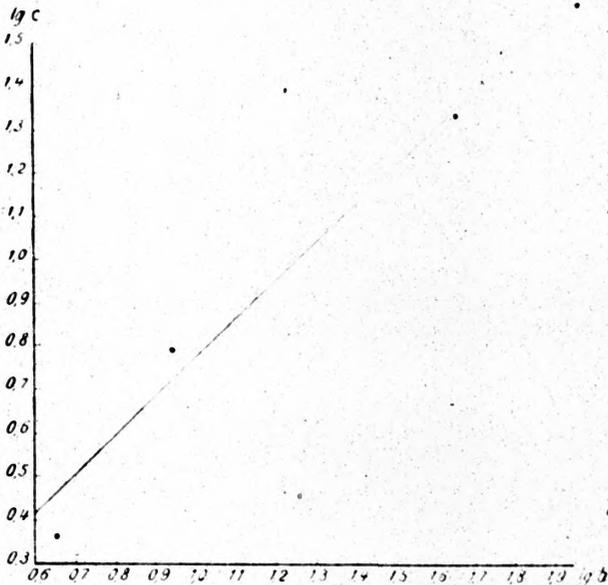
30 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung. Andererseits entspricht 1 ccm  $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung 1,5673 mg Phenol. 50 ccm der angewandten Bromid-Bromatlösung entsprachen 30,23 ccm einer  $\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung.

Verdünnung ccm	Zur Titration verwendet ccm	Bromid-Bromat- lösung ccm	$\frac{1}{10}$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
25 auf 250	30	50	14,10
20 » 100	30	50	14,11
—	30	50	13,96
—	30	50	21,66
Nullversuch	30	50	29,55

Unter Berücksichtigung des Nullversuches ergeben sich folgende Werte ( $n = 0,89$ ,  $k = 2,25$ ):

Angewandte Menge a g	In Lösung geblieben b g	Adsorbiert c g	Berechnet c g
0,9419	0,9017	0,0402	0,0405
0,4710	0,4489	0,0221	0,0218
0,0942	0,0880	0,0062	0,0051
0,0471	0,0448	0,0023	0,0028

<sup>1)</sup> Bekurts, Die Methoden der Maßanalyse, 1910.



Kurve 3.

Zur Vermeidung der, wenn auch geringen Verluste an Brom, die bei Öffnen der Flaschen zwecks Zusatz von Jodkalium entstehen, wurde weiterhin in folgender Weise vorgegangen. Man ließ die Reaktion zwischen Phenol und Brom in  $\frac{1}{2}$  Liter-Meßkolben vor sich gehen; das Jodkalium wurde dann in der Weise zugesetzt, daß man durch Abkühlen der Flasche einen kleinen Unterdruck erzeugte, in die Rinne zwischen Stöpsel und Flaschenrand etwas Jodkaliumlösung gab und hierauf vorsichtig die Flasche öffnete. Durch den in der Flasche herrschenden Unterdruck wurde die Jodkaliumlösung in die Flasche hineingezogen und dadurch einem Verlust an Brom vorgebeugt.

In vorliegendem Versuche wurden fernerhin die Untersuchungen auf einen größeren Konzentrationsbereich ausgedehnt.

Angewandt: 10 g Preßhefe.

Gesamtes Flüssigkeitsvolumen 107,5 ccm.

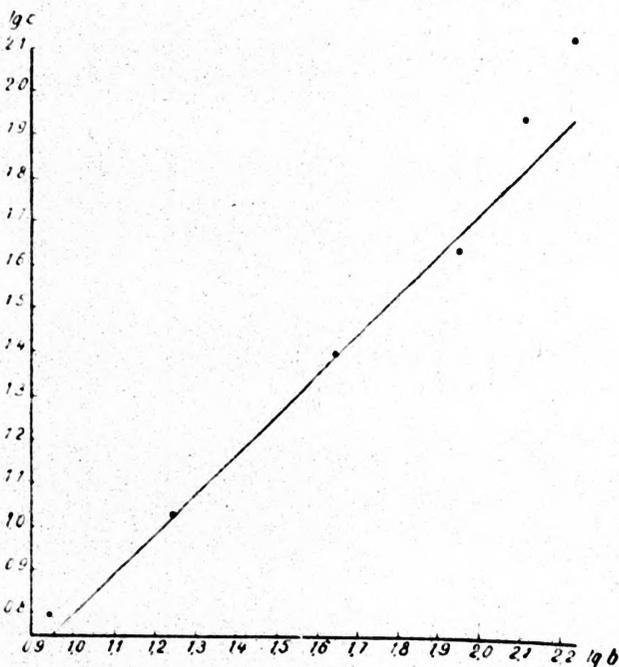
50 ccm der Bromid-Bromatlösung entsprechen 29,84 ccm

<sup>1)</sup> 10-Natriumthiosulfatlösung.

Verdünnung ccm	Zur Titration verwendet ccm	Bromid-Bromat- lösung ccm	$n/10$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
25 auf 250	20	50	9,15
25 „ 250	30	50	6,34
20 „ 100	20	50	8,56
—	10	50	3,30
—	20	50	8,46
—	30	50	13,66
Nullversuch	50	50	28,84

Daraus folgt:

Angewandte Menge a g	In Lösung geblieben b g	Adsorbiert c g	Berechnet	
			c g	$\Delta^1)$
1,8745	1,7426	0,1319	0,0965	+ 0,0354
1,4059	1,3195	0,0864	0,0750	+ 0,0114
0,9372	0,8944	0,0428	0,0528	— 0,0100
0,4686	0,4437	0,0249	0,0280	— 0,0031
0,1874	0,1767	0,0107	0,0122	— 0,0015
0,0937	0,0874	0,0063	0,0064	— 0,0001



Kurve 4.

<sup>1)</sup>  $\Delta$  = Differenz zwischen c gefunden und c berechnet.

$$n = 0,905.$$

$$k = 1,713.$$

Auffallend ist das plötzliche Ansteigen der logarithmischen Kurve bei Konzentrationen, die einen ursprünglichen Gehalt von ca. 1% =  $1/10$  normal übersteigen. Zur Erklärung muß man annehmen, daß die konzentrierten Phenollösungen so weitgehende Veränderungen der Zelle bewirken, daß eine Zerstörung der Zellenmembran eintritt und Teile des Zellinhaltes in die Lösung austreten. Dies geht auch daraus hervor, daß die zentrifugierten Lösungen von 1% aufwärts stark gelb gefärbt sind, während die schwächeren Lösungen ein fast wasserhelles Aussehen haben. In dem nächsten Versuche findet sich dies Verhalten ebenso deutlich wieder.

In dem folgenden und auch in den nächsten Versuchen wurde die Hefemenge von 10 g auf 5 g und die Desinfektionsflüssigkeit von 100 ccm auf 50 ccm herabgesetzt.

Angewandt: 5 g Preßhefe.

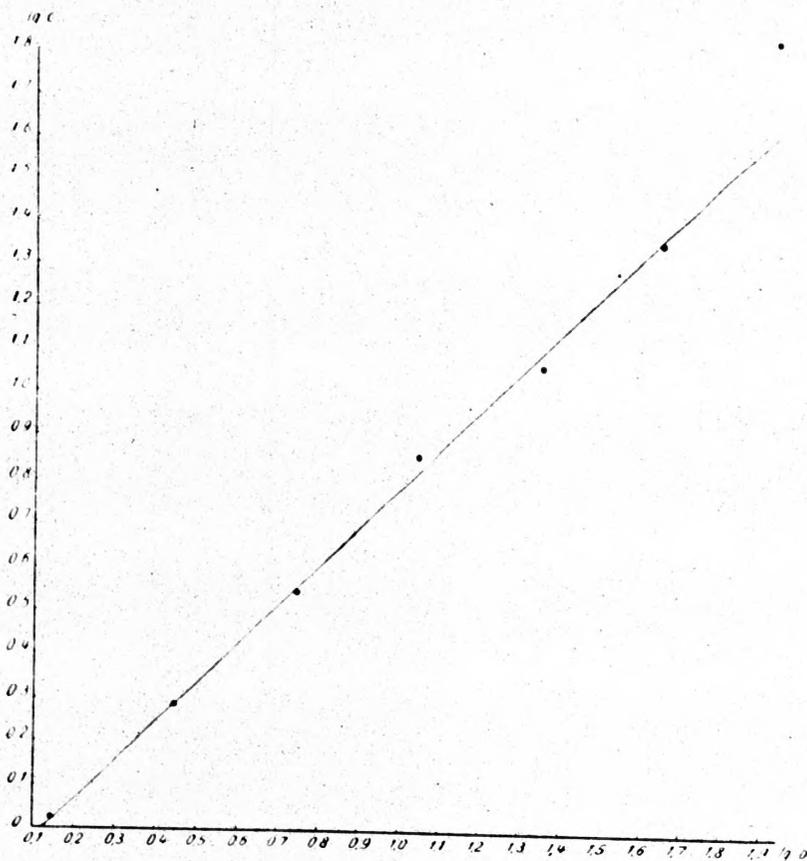
Gesamtes Flüssigkeitsvolumen 53,7 ccm.

50 ccm der Bromid-Bromatlösung entsprechen 30,09 ccm  $n_{10}$ -Natriumthiosulfatlösung.

Zur Titration verwendet	Bromid-Bromatlösung	$n_{10}$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert
ccm	ccm	ccm
5	100	7,59
10	100	6,11
10	50	2,98
20	50	3,12
30	50	9,54
30	50	19,58
30	50	24,57
Nullversuch 30	50	29,50

Daraus berechnet sich:

Angewandte Menge	In Lösung geblieben	Adsorbiert	Berechnet	
a	b	c	c	$\Delta$ <sup>1)</sup>
g	g	g	g	
0,9530	0,8839	0,0691	0,0452	+ 0,0239
0,4765	0,4536	0,0229	0,0244	— 0,0015
0,2382	0,2266	0,0116	0,0135	— 0,0019
0,1191	0,1119	0,0072	0,0072	— 0,0000
0,0596	0,0561	0,0035	0,0039	— 0,0004
0,0298	0,0279	0,0019	0,0021	— 0,0002
0,0149	0,0138	0,0011	0,0011	— 0,0000



Kurve 5.

$$n = 0,89.$$

$$k = 1,981.$$

Man sieht auch hier ganz deutlich, wie der für die ca. 2%ige Lösung gefundene Wert völlig aus dem Rahmen der

<sup>1)</sup>  $\Delta$  = Differenz zwischen c gefunden und c berechnet.

Adsorptionsgleichung herausfällt. Die Flüssigkeit der 1- und 2%igen Lösungen waren wieder gelb gefärbt, die der anderen dagegen farblos.

Der Überblick über die bei Phenol gefundenen Resultate lehrt, daß auch hier bei den Lösungen, die schwächer als 1%ig sind, die Adsorptionsformel angewendet werden kann; allerdings erlangt der Exponent  $n$  einen hohen Wert. Andererseits zeigen die bei den drei Versuchsreihen, die zu den verschiedensten Zeiten ausgeführt wurden, gefundenen Werte für  $n$  unter sich eine große Übereinstimmung, indem sie nur um ein geringes von dem Werte 0,9 abweichen.

Im folgenden sei ein Gleichgewichtsversuch wiedergegeben, der ganz analog den früher beschriebenen ausgeführt wurde.

Angewandt: 10 g Hefe.

Gesamtes Flüssigkeitsvolumen 107,46 ccm.

50 ccm der Bromid-Bromatlösung entsprechen 30,23 ccm

$n_{10}$ -Natriumthiosulfatlösung.

Zur Titration verwendet ccm	Bromid-Bromatlösung ccm	$n_{10}$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
20	100	12,50
20	100	12,65
20	100	11,50
Nullversuch 50	50	29,37

Daraus berechnet sich:

Angewandte Menge g	In Lösung geblieben g	Adsorbiert g
0,4212	0,4010	0,0202
0,4212	0,3997	0,0215
0,4212	0,4010	0,0202

Damit ist erwiesen, daß das zwischen Phenol und Zellen sich einstellende Gleichgewicht reversibel ist.

Es war nun von Interesse, auch Versuche mit getöteter Hefe anzustellen. Die Abtötung geschah auf bekannte Weise mit Aceton-Äther.

Angewandt: 1,5 g getötete Hefe.

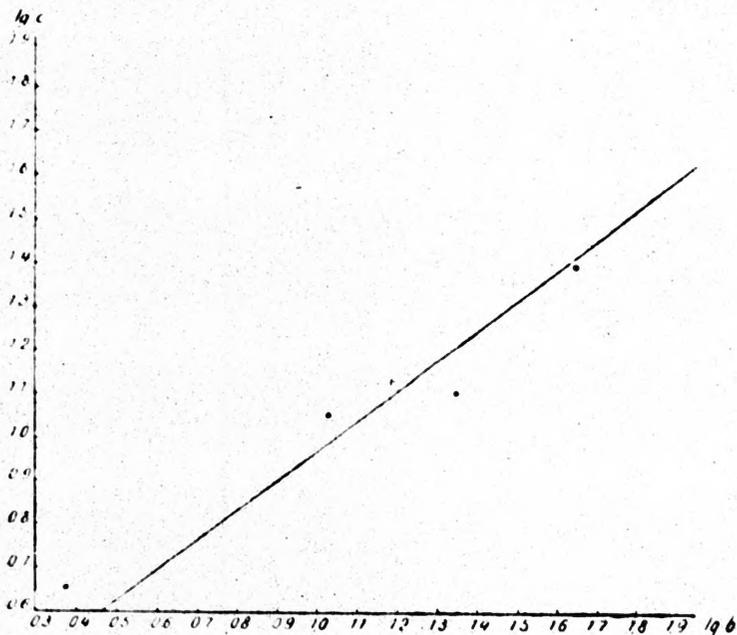
Gesamtes Flüssigkeitsvolumen 50 ccm.

50 ccm der Bromid-Bromatlösung entsprachen 30,10 ccm Natriumthiosulfatlösung.

Zur Titration verwendet ccm	Bromid-Bromatlösung ccm	$n/10$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
5	110	10,00
5	100	30,56
5	50	14,74
10	50	14,24
30	50	14,24
Nullversuch 30	50	23,39

Daraus berechnet sich:

Angewandte Menge a g	In Lösung geblieben b g	Adsorbiert c g	Berechnet c g
0,9440	0,8636	0,0804	0,0491
0,4720	0,4470	0,0250	0,0311
0,2360	0,2230	0,0130	0,0191
0,1180	0,1067	0,0113	0,0114
0,0284	0,0239	0,0045	0,0040



Kurve 6.

$$n = 0,7.$$

$$k = 1,84.$$

Der Versuch zeigt also, daß die Aufnahme des Phenols durch die toten Zellen völlig vergleichbar der der lebenden verläuft. Gewisse Schwierigkeiten ergaben sich bei diesen Versuchen dadurch, daß es auch durch längeres Lagern der Hefe an der Luft und durch gelindes Erwärmen nicht gelingen wollte, die letzten Spuren des Acetons zu entfernen, und diese bedingten dann vor allem ungenaue Resultate beim Titrieren.

Gleichgewichtsversuch. Einmal wurden 1,5 g tote Hefe mit 25 ccm der ca. 1%igen Phenollösung geschüttelt und dann 25 ccm destilliertes Wasser zugesetzt. Das andere Mal wurden 50 ccm der ca. 0,5%igen Phenollösung mit 0,75 g toter Hefe geschüttelt und dann 0,75 g weitere getötete Hefe zugesetzt. Das Resultat war folgendes:

Zur Titration verwendet ccm	Bromid-Bromatlösung ccm	$n/10$ -Natriumthiosulfat zurücktitriert ccm
5	50	14,74
5	50	14,79

Daraus folgt:

Angewandte Menge g	In Lösung geblieben g	Adsorbiert g
0,236	0,223	0,013
0,236	0,222	0,014

Diese Resultate zeigen sowohl unter sich, wie mit dem zugehörigen früheren Versuch eine gute Übereinstimmung und lassen deutlich erkennen, daß auch hier ein reversibles Gleichgewicht vorliegt.

Die im Vorangegangenen beschriebenen Versuche lehren, daß sich in mehreren Fällen die Verteilung des gelösten Desinfektionsmittels zwischen Lösung und Zellen wie eine Adsorption verhält, während sich bei anderen Desinfizientien wieder andere Verteilungsregeln zeigen.

Selbstverständlich ist die besprochene Verteilung nur die erste Phase des Desinfektionsprozesses, die aber bis in die neueste Zeit in ihrer Bedeutung übersehen wurde. Das Verständnis des ganzen Vorganges wird dadurch gefördert werden, daß man diese erste Phase mit der zweiten, der chemischen Einwirkung des Desinfektionsmittels auf die Mikroorganismen, in Verbindung bringt.

Im Nachstehenden sollen einige Versuche nach dieser Richtung mitgeteilt werden, die mit Phenol und Hefe angestellt wurden.

Die Hefe wurde vier Stunden mit der Phenollösung geschüttelt, dann durch Zentrifugieren von der Lösung getrennt, durch wiederholtes Aufschwemmen mit 50 ccm einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung und ebenso wiederholtes Abzentrifugieren vom Giftstoff befreit und endlich durch Übertragung in eine Nährlösung auf Gärfähigkeit als kennzeichnende Lebensäußerung der Zellen geprüft.

Im nächsten Versuche wurde der Abtötungsgrad, wie er durch die Verschiedenheit der Konzentration bei konstanter Einwirkungsdauer bestimmt ist, quantitativ festgestellt.

Man ging in folgender Weise vor. Nach der Einwirkung entfernt man durch dreimaliges Auswaschen mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung das Desinfektionsmittel. Dann schwemmt man die Hefe nochmals auf, impft in Würzelgelatine und gießt nach entsprechender Verdünnung Platten. Die sich bildenden Kolonien sind ein Maß für die lebensfähig gebliebenen Hefezellen. Da die Hefekolonien schon makroskopisch deutlich von Bakterienkolonien zu unterscheiden sind, so ist eine Infektion leicht zu erkennen; übrigens trat nur einmal und zwar eine Schimmelinfection auf.

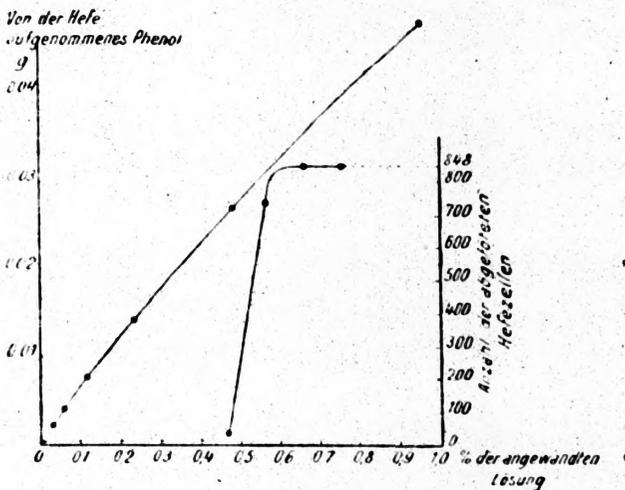
Phenol- konzentration	Anzahl der gebildeten Kolonien		
	1. Reagenzglas	2. Reagenzglas	3. Reagenzglas
1.0	0	0	0
0.8	0	1	3
0.6	238	269	274
0.4	287	362	328

In einer zweiten Versuchsreihe war die Einwirkungsdauer 5 Stunden. Als Vergleichsversuch wurden 5 g Hefe von vornherein mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt.

Konzentration	Kolonien		
	1. Reagenzglas	2. Reagenzglas	3. Reagenzglas
0.8	0	0	0
0.7	2	0	0
0.6	131	102	109
0.5	863	747	824
0.0	907	824	815

Die Zahlen zeigen, daß die Abtötung fast plötzlich vor sich geht; eine 0,7%ige Phenollösung tötet in 5 Stunden fast sämtliche Hefezellen, eine 0,5%ige Lösung ist fast ohne Einwirkung.

Die folgende Kurventafel zeigt das Verhältnis der von der Hefe aufgenommenen Phenolmengen zu der Zahl der abgetöteten Zellen. Sie zeigt keine einfache Beziehung an und lehrt, daß weitere Überlegungen erst an der Hand neuer Versuche anzustellen sind.



Kurve 7.