© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

8. A. Nestler: Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoësäure in der Preißelbeere und Moosbeere.

(Mit Tafel III.)

(Eingegangen am 16. Februar 1909.)

Es ist eine biologisch sehr interessante Erscheinung, daß eine Frucht, die Preißelbeere (*Vaccinium Vitis idaea* L.) von Natur aus in verhältnismäßig bedeutender Menge ein so ausgezeichnetes Konservierungsmittel besitzt, wie es nach vielfachen Erfahrungen die Benzoësäure ist. Nachdem ihr Vorkommen in diesen Früchten als freie Benzoësäure zuerst von O. LÖW [1]) entdeckt worden war, wurden zahlreiche Untersuchungen ausgeführt, die diese Entdeckung bestätigten und die Quantität der Säure in frischen, trockenen und eingemachten Preißelbeeren bestimmten. — So fanden E. MACH und K. PORTELE [2]) in 1 l frischer Beeren 0,0638 bis 0,0862 pCt.; KANGER [3]) ebenfalls in frischen Beeren 676 mg, in 1 kg trockener Beeren 4,51 g; G. F. MASON [4]) 1 Teil Benzoësäure in 2000 Teilen Beeren (= 500 mg in 1 kg); „dies ist mehr, als bei den am leichtesten verderblichen Nahrungsmitteln als Konservierungsmittel angewendet wird". MASON wies auch nach, daß der Gehalt an Benzoësäure im Verlaufe der Reifungsperiode der Beeren steigt. LEHMANN [5]) konstatierte in 1 kg eingemachter Preißelbeeren 740 mg Benzoësäure.

Zum qualitativen Nachweis der Benzoësäure benutzt der Chemiker unter anderen Methoden mit Vorliebe die Eisenchloridreaktion [6]).

---

1) Journ. prakt. Chem. Bd. 20, S. 312, zit. nach K. B. LEHMANN: „Die Benzoësäure". Chemiker-Zeitung 1908 Nr. 79, S. 949. Hier eine ausführliche Literaturangabe.

2) Landw. Versuchsst. 1890, 38, 69.

3) Zit. n. LEHMANN l. c. 950.

4) Chemisches Centralblatt 1905, II, S. 57.

5) l. c. S. 950.

6) Nach W. v. GENERSICH (Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Gen. 1908, Bd. XVI, H. 4, S. 223): „Die Benzoësäure wird durch Ansäuern aus ihren Verbindungen befreit und mit Äther extrahiert; hierauf wird der Äther in einem Wasserbade von 30—40° verdampft, sodann die Schale auf eine Asbestplatte gestellt und die zurückgebliebene Benzoësäure vorsichtig auf Sublimationstemperatur erhitzt; gleichzeitig stellt man ein mit Wasser gefülltes

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Obwohl es meines Wissens für Benzoësäure eine mikrochemische Farbenreaktion, wie sie z. B. für die ebenfalls leicht sublimierende Salizylsäure (mittels Eisenchlorid) selbst bei einzelnen Kriställchen sehr gut verwendbar ist, nicht gibt, so ist in vielen Fällen, namentlich bei sehr kleinen Mengen des zu untersuchenden Materials (z. B. bei einer einzigen Frucht oder einem bestimmten Gewebeteile derselben) der mikrochemische Nachweis der Benzoësäure unter Beachtung der folgenden Eigenschaften derselben unbedingt notwendig und vollkommen ausreichend:

1. Die Form der Kristalle und Aggregate des unter bestimmten Bedingungen durch Sublimation der Benzoësäure erhaltenen Beschlages;
2. die Löslichkeitsverhältnisse der Benzoësäure;
3. der mikrochemische Nachweis derselben.

Was die Form der Kristalle und Aggregate des durch Sublimation erhaltenen Beschlages anbelangt, so ist folgendes zu bemerken:

Benzoësäure sublimiert bekanntlich sehr leicht. Ich bediene mich dazu mit Vorteil jenes Verfahrens, das ich seinerzeit mit gutem Erfolge für den direkten Nachweis von Theïn und Cumarin in Pflanzenteilen[1]), ferner zur Isolierung des Primelhautgiftes[2]) angewendet habe: Uhrschale mit ungefähr 7 cm Durchmesser des Kantenkreises, 1 mm dick; runde Glasplatte zum Bedecken mit 10 cm Durchmesser, 1,5 mm dick; Mikroflamme ungefähr $^3/_4$ cm hoch, die Spitze derselben 12 cm vom Drahtnetz entfernt, das auf einem Dreifuß ruht. — Die Glasplatte gestattet leicht, daß man auf ihrer Außenseite genügend Wasser anbringt: eine größere

---

Uhrglas über den Tiegel. Die auf dem Glase haftende sublimierte Benzoësäure wird nun über einen Trichter gehalten und durch Aufspritzem von heißem Wasser in ein Reagenzglas abgespült; darauf wird die Lösung nach Zusatz von 1—2 Tropfen Phenolphthaleïnlösung neutralisiert und noch 1 Tropfen $^1/_{10}$ Lauge im Überschuß hinzugegeben. Die schwach alkalische Lösung wird von 1—2 Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung gelb.

1) A. NESTLER, a) Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Theïn und seine praktische Anwendung. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel. 1901.

b) Der direkte Nachweis des Cumarins und Theïns durch Sublimation. Berichte der Deutsch. Bot. Ges. 1901.

c) Nachw. von extrah. Tee durch Sublimation. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 1902.

d) Untersuchungen über das Theïn der Theepflanze. Jahresbericht der Vereinigung der Vertreter der angewandten Botanik. I. Jahrg. 1903.

2) A. NESTLER, Hautreizende Primeln. Berlin 1904.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Menge genau über dem in der Uhrschale befindlichen Objekte und einige kleine Tropfen im Kreise angeordnet. Dieses Kühlwasser ist für das gute Gelingen der Sublimierung von Bedeutung. Man kann ferner den Beschlag sofort nach seiner Entstehung unter dem Mikroskope untersuchen. Ich erwähne diese Einzelheiten, weil dadurch die Form der Kristalle und Aggregate des Beschlages wesentlich bedingt ist.

Verwendet man auf diese Weise einige wenige Kriställchen der Benzoësäure, so erhält man bereits nach 3 Minuten einen deutlichen Beschlag, der nach weiteren 2 Minuten stark geworden ist: zierliche Gruppen aus rosettenförmig angeordneten dünnen, daher öfters in schönen Farben erscheinenden Blättchen, deren freie Enden meist einen einspringenden Winkel zeigen, einzelne schief rhombische Prismen (Benzoësäure kristallisiert monoklin); langgestreckte, gerade oder gekrümmte Aggregate, die aus prismatischen Formen aufgebaut sind; die Einzelformen dieser Aggregate sind öfters nur durch Zähne und vorspringende Kanten angedeutet.

Wenn die Benzoësäure vereint mit kleinen Wassertröpfchen an der Glasplatte sich niederschlägt (z. B. bei Untersuchung des Fruchtfleisches der Preißelbeere), so erscheint sie nach dem Verdunsten der Tröpfchen in sehr unregelmäßigen Formen.

Ich erwähne noch eine Erscheinung, die meines Wissens bisher nicht beobachtet worden ist. Dünne, durch Sublimation erhaltene Beschläge der Benzoësäure verdunsten bei Zimmertemperatur nach wenigen Stunden vollständig.

Bezüglich der Löslichkeit der Benzoësäure ist zu bemerken: in kaltem Wasser sind mikroskopisch kleine Teilchen sehr langsam löslich (nach BEHRENS[1]) in 470 Teilen Wasser von 10° löslich), während kleinere Gruppen von Kristallen selbst nach 1 Stunde kaum eine Veränderung zeigen; — in Äther sehr leicht löslich; nach dem Verdunsten derselben sieht man lange, stabförmige Prismen dichtgedrängt angeordnet, an manchen Stellen (bei 80 f. Vergrößerung) dunkle Flecken, die aus zahlreichen, dichtgedrängt liegenden Kristallen und Aggregaten bestehen; — in Chloroform sehr leicht löslich, nach dem Verdunsten sehr schöne, rankenartige Bildungen[2]), bei sehr geringen Mengen von Benzoësäure nach meiner Erfahrung nur kleine haarförmig gekrümmte und gekräuselte Formen; — leicht löslich in Alkohol; nach dem

---

1) H. BEHRENS, Anleitung zur mikrochemischen Analyse. 1897, Heft IV, S. 71.

2) BEHRENS, l. c. S. 71.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Verdunsten stabförmige Prismen, feine Nadeln oft büschelförmig angeordnet; kleine, gekrümmte Nadeln, einzelne monokline Prismen u. a. Formen.

Sehr charakteristisch ist der mikrochemische Nachweis mit Natronlauge und einer Säure. Benzoësäure ist in verdünnter Natronlauge (ich nehme stets $^{n}/_{10}$ Natronlauge) leicht löslich. Fügt man zu dieser Lösung eine ganz geringe Menge Salzsäure oder Salpetersäure[1]) — es genügt nach BEHRENS schon Essigsäure — hinzu, so scheidet sich die Benzoësäure sofort in charakteristischen Formen aus: vorherrschend zierliche Aggregate, die an Cypressen- oder Thujenzweige erinnern, außerdem „langgestreckte Kristallfelder, die aus vielen annähernd in gleicher Richtung aneinander gereihten, rektangulären Lamellen bestehen“[2]) und kleinere Aggregate aus wenigen Täfelchen. Ich gehe bei diesem Nachweise so vor, daß ich, da es sich bei den folgenden Untersuchungen meist um sehr geringe Mengen von Benzoësäure handelt, etwas von dem durch Sublimation erhaltenen Beschlage abschabe, auf einen Objektträger übertrage und einen Tropfen Natronlauge hinzufüge. Nach der rasch erfolgten Lösung wird eine Spur von Salzsäure (spez. Gew. 1,092) zugesetzt, worauf sofort die bezeichneten Formen der Benzoësäure sichtbar werden.

Ich erinnere noch an die bekannte Reaktion der in Ammoniak gelösten Benzoësäure nach Zusatz von Silbernitrat[3]).

Alle diese genannten Eigenschaften der Benzoësäure geben die Gewißheit, daß durch das mikroskopische Verfahren ein vollkommen einwandfreier Nachweis derselben möglich ist, dessen praktische Bedeutung aus den folgenden Untersuchungen ersichtlich ist.

Eine einzige Frucht der Preißelbeere (*Vaccinium Vitis idaea* L.) genügt, um den sicheren Beweis zu liefern, daß sie verhältnismäßig reich an Benzoësäure ist. Wenn man dieselbe — ich habe meine Untersuchungen nur mit trockenen Beeren angestellt — einfach mit den Fingern oder mit einem Messer in grobe Stücke zerkleinert, diese Teile auf dem Boden des Uhrschälchens zu einem Häufchen vereinigt und in der oben angegebenen Weise dem Sublimationsverfahren unterzieht, so erhält man nach 7—10 Minuten einen starken Beschlag: zahlreiche Aggregate (Fig. 1—2) mit öfters sehr langen, flachen, prismatischen Bildungen, die am Ende zerschlitzt

---

1) K. HAUSHOFER, Mikroskopische Reaktionen 1885, S. 71.
2) K. HAUSHOFER, l. c. S. 72.
3) H. BEHRENS, l. c. S. 72.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

sind, ferner Einzelkristalle (Fig. 3), die sowohl nach ihrer Form wie nach den sonstigen Eigenschaften (Fig. 5 — in Natronlauge gelöst und durch Salzsäure abgeschieden) als Benzoësäure charakterisiert sind. (Mit demselben Erfolge kann man auch mit Zuckerzusatz eingekochte, also zum Genusse hergerichtete Preißelbeeren verwenden.)

Bei dem von mir verwendeten trockenen Material kamen durchschnittlich 45 Früchte auf 1 g. Da nach KANGER in 1 kg trockener Beeren 4,51 g Benzoësäure gefunden wurden, so ist die Menge derselben in einer einzigen Beere ungefähr 0,0001 g. Damit hat die Leistungsfähigkeit des Sublimationsverfahrens noch lange nicht ihre Grenze erreicht; wie aus den späteren Versuchen ersichtlich sein wird, genügen einzelne Teile einer Frucht, um in diesen die Benzoësäure leicht nachzuweisen.

Will man in einfacher Weise eine größere Menge von Benzoësäure erhalten, so braucht man nur etwa 10 Beeren flüchtig mit Äther übergießen; nach dem Verdunsten desselben bleibt im Uhrschälchen eine dicke weiße Kruste zurück, die eine körnige Beschaffenheit zeigt. Diese, der Sublimation unterzogen, gibt nach etwa 10 Minuten einen sehr starken Beschlag von Benzoësäure. — Zu diesem Verfahren ist zu bemerken, daß nach der durchgeführten Sublimierung noch eine bedeutende Menge eines weiß erscheinenden körnigen Rückstandes im Schälchen übrig bleibt, der, abermals durch Sublimation geprüft, keinen Beschlag mehr gibt. Da er ferner in Natronlauge selbst nach längerer Einwirkung derselben nicht löslich ist, so kann es keine Benzoësäure sein. Wie die durchgeführten Reaktionen zeigen, ist es Wachs, das die Früchte aller *Vaccinium*-Arten in beträchtlicher Menge bedeckt: unlöslich in Wasser, Alkohol, Alkalien, konz. Salzsäure; leicht löslich in Äther. Zur Beantwortung der Frage, ob die Benzoësäure nur in gewissen differenzierten Teilen der Preißelbeere enthalten sei oder die ganze Frucht durchdringe, dürfen aus leicht ersichtlichen Gründen keine eingekochten Früchte verwendet werden.

Aus dem Umstande, daß, wie gesagt, ein ganz flüchtiges Übergießen von vollständig intakten Früchten mit Äther genügt, um gleichzeitig mit Wachs auch Benzoësäure zu erhalten, kann geschlossen werden, daß Benzoësäure auf der Außenseite der Fruchtepidermis in Gemeinschaft mit dem Wachsüberzug sich befindet. — Daß die Benzoësäure aber nicht allein auf der Außenseite der Fruchtepidermiszellen, sondern auch im Innern derselben vorkommt, geht aus folgendem Versuch hervor.

Eine trockene, intakte Beere wird mit Äther gewaschen,

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

durch welche Prozedur das Wachs samt der Benzoësäure von der Außenseite der Epidermis entfernt wird. Isoliert man nun einige größere Fragmente dieser Epidermis, was bei einiger Vorsicht leicht gelingt, und prüft sie auf Benzoësäure, so erhält man ein positives Resultat (Fig. 4).

Die Samenkerne geben, wenn man sie direkt ohne Zerkleinerung der Sublimationsprobe unterzieht, ein negatives Resultat auch dann, wenn man gleichzeitig 50 Stück dieser kleinen Samen dazu verwendet. — Wenn man jedoch die Samen in einer Reibschale zerreibt, einige Minuten mit Äther extrahiert und den abgegossenen Äther bei Zimmertemperatur in der Uhrschale verdunsten läßt, so erhält man einen relativ bedeutenden Rückstand, der, durch Sublimation geprüft, einen deutlichen Beschlag von Benzoësäure gibt.

Man erhält ferner ein positives Resultat, wenn man das Fruchtfleisch einer einzigen Beere isoliert und direkt durch das Sublimationsverfahren auf Benzoësäure prüft.

Wenn es auch nicht möglich ist, die Benzoësäure in der Zelle selbst nachzuweisen, so kann man sich doch, wie gezeigt wurde, durch jene einfache Sublimationsmethode mit Leichtigkeit überzeugen, daß die Benzoësäure sowohl an der Außenseite der Fruchtepidermis, als auch im Innern der Epidermiszellen, im Fruchtfleische und in den Samen vorkommt, kurz die ganze Frucht durchdringt.

Auch die Laubblätter und Stengel der Preißelbeere im Zustande nach der Reife der Früchte wurden auf die Gegenwart von Benzoësäure geprüft. Weder die direkte Sublimation dieser zerkleinerten Organe, noch mehrstündiges Extrahieren mit Äther, auch nicht Ausschütteln mit Äther nach vorheriger Behandlung mit angesäuertem Wasser hatten einen positiven Erfolg.

Es lag nun die Frage nahe, ob auch die Früchte der der Preißelbeere nächst verwandten Arten Benzoësäure haben oder nicht. Ich konnte diesbezüglich nur die Moosbeere (*Vaccinium Oxycoccus* L.), die Heidelbeere (*V. Myrtillus* L.) und die Rauschbeere (*V. uliginosum* L.) untersuchen.

Die Moosbeere, die durch ihre Größe, Farbe und die größeren Samen sich von der Preißelbeere unterscheidet, besitzt, wie durch Sublimation leicht nachgewiesen werden kann, ebenfalls freie Benzoësäure, doch in geringerer Menge als die Preißelbeere.

Eine einzige Beere, zerkleinert, gibt, direkt der Sublimation unterworfen, keine Benzoësäure; bei drei Beeren erhält man nur sehr wenige Kristalle und Aggregate. — Zehn trockene Beeren

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

wurden in grobe Stücke geteilt, mit Äther etwa 2 Minuten geschüttelt und der abgegossene Äther bei Zimmertemperatur zum Verdunsten gebracht. Der Rückstand besteht aus einer dicken, weiß erscheinenden Kruste, deren Substanz nach dem Zusammenkratzen mit einem Skalpell von gelblicher Farbe ist.

Sublimation: schon nach 5 Minuten ein deutlicher Beschlag, der nach 10 Minuten bedeutend stärker geworden ist. Er besteht aus flachen Prismen und Aggregaten derselben von der gleichen Form, wie sie bei der Preißelbeere erhalten wurden, ferner aus sehr großen, mit freiem Auge sichtbaren, zierlich gekrümmten und verzweigten Formen (Fig. 6, 7). Die Lösungsverhältnisse dieses Beschlages und die Reaktion mittelst Natronlauge und Salzsäure zeigen deutlich, daß er aus Benzoësäure besteht. — Auch hier ist, wie bei der Preißelbeere, ein Wachsrückstand zu konstatieren.

Da Benzoësäure auch in Alkohol leicht löslich ist, dagegen Wachs unlöslich, so kann man, um nach der Behandlung der Beeren mit Äther im Rückstande das Wachs zu vermeiden, auch Alkohol (96proz.) verwenden. Behandelt man auf diese Weise 5 Preißelbeeren, so erhält man nach dem Verdunsten des Alkohols einen sehr kleinen Rückstand, der bei der Sublimierung sehr schöne rosettenförmige Gruppen von Benzoësäurekristallen gibt. Verwendet man in derselben Weise 5 Moosbeeren zum Versuche, so erhält man einen bedeutend geringeren Beschlag, aber gleichfalls sehr schöne Kristalle und Aggregate.

Bei Schwarzbeeren und Rauschbeeren hatten alle Versuche, auch unter Berücksichtigung des Umstandes, daß die Benzoësäure hier möglicherweise nicht frei, sondern in einer Verbindung vorkommen könnte und unter Anwendung größerer Mengen von Früchten, einen negativen Erfolg.

Ob der verhältnismäßig hohe Gehalt an freier Benzoësäure in den Früchten der Preißelbeere eine wesentliche Rolle im Leben dieser Pflanze spielt, ist durch weitere Untersuchungen und Experimente zu ermitteln. — Ich möchte nur daran erinnern, daß auf den Blättern und Stengeln der Preißelbeere manche parasitische Pilze nachgewiesen wurden (*Exobasidium Vaccinii* Woron., *Gibbera Vaccinii* Fr. u. a. m.), in den Früchten aber meines Wissens nur ein einziger Parasit, der seinerzeit von WORONIN[1]) genau studiert worden ist: *Sclerotinia Urnula* (Weinm.) Rehm. Er entwickelt sein Sclerotium in den Beeren und erzeugt hier die Sclerotiumkrankheit der Preißelbeeren. — Danach sollte es scheinen, daß die Benzoësäure die

1) A. B. FRANK, Die Krankheiten der Pflanzen. 1896, II. Bd., S. 509.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

schädigende Wirkung dieses Parasiten nicht hindern könnte. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß dieser Pilz schon zu einer Zeit in den Fruchtknoten eindringt, wo die freie Benzoësäure in demselben wahrscheinlich noch nicht vorhanden ist, sondern sich erst allmählich beim Ausreifen der Früchte bildet. Es müßte auch untersucht werden, ob in den von der *Sclerotinia* befallenen Früchten Benzoësäure überhaupt vorhanden ist.

Ich bemerke schließlich noch kurz, daß man jene einfache Sublimationsmethode auch bei anderen Objekten anwenden kann, welche Benzoësäure von Natur aus oder zugesetzt als Konservierungsmittel[1]) erhalten.

Benzoëharz enthält bekanntlich neben anderen auch Benzoësäure, frei und in Form zusammengesetzter Äther (im ganzen etwa 20 pCt.). Ein Stückchen von der Größe eine Hirsekorns gibt pulverisiert einen starken Beschlag, die früher erwähnten, aus dünnen, in Farben schillernden Blättchen aufgebauten Rosetten, selaginellaartige und andere Aggregate.

Bei Tolubalsam (Balsamum Tolutanum) ist zu beachten, daß hier neben anderen Substanzen freie Benzoësäure und Zimtsäure vorkommt; letztere sublimiert ebenfalls verhältnismäßig leicht. Die Formen des Beschlages, die ich beim Sublimieren erhielt, zeigten sich stets, ob nun eine sehr kleine oder eine größere Flamme angewendet wurde, verschieden von denen der reinen Benzoësäure. Durch Anwendung von Ammoniak und Silbernitrat konnte auch hier Benzoësäure nachgewiesen werden[2]).

Erklärung der Abbildungen auf Tafel III.

Benzoësäure.

Fig. 1—4. Sublimate, gewonnen aus der Preißelbeere, (Vergr. 80).
Fig. 5. Aus einer Lösung in Natronlauge, durch Salzsäure abgeschieden, (Vergr. 80).
Fig. 6. Sublimat, gewonnen aus der Moosbeere. (Schwach vergr.).
Fig. 7. Ein Teil der Fig. 6 und einzelne Formen desselben Sublimates, (Vergr. 80).

---

1) Von Essig, Marmeladen, Fett u. a. mit z. B. 1‰ freier Benzoësäure können kleine Mengen direkt für die Sublimation verwendet werden.

2) H. BEHRENS, l. c. S. 93.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

A. Westlergez.

F. Laue lith.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1909

Band/Volume: 27

Autor(en)/Author(s): Nestler Anton

Artikel/Article: Ein einfaches Verfahren zum Nachweise der Benzoesäure in der Preißelbeere und Moosbeere. 63-70