

# Die Zerstörung der organischen Substanz nach der Methode von Fresenius-Babo, bei vorheriger Behandlung mit Antiformin und die Bestimmung kleinster Bleimengen in den so behandelten Organen.

Von

Dr. Alexander Friedmann, Assistent am Institut.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.

Direktor: Prof. Dr. Kiskalt.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. Juni 1914.)

Die Methode von Fresenius-Babo beruht auf von Dulfos und Millon gemachten Beobachtungen, daß, um gewisse Metalle in organischen Substanzen zu bestimmen, keine vollständige Mineralisierung nötig sei. Es genügt meistens eine Destruierung des Eiweißes und eine starke Oxydation durch Chlor. Zu diesem Zwecke haben Fresenius-Babo die Behandlung der gut zerriebenen Substanz mit konzentrierter Salzsäure und Kaliumchlorat vorgeschlagen.



An diese Methode <sup>1)</sup> knüpften sich im Laufe der Zeit eine Reihe von Beobachtungen an, die den Zweck hatten, sie zu vereinfachen oder zu beschleunigen. So schlug G. Bruylants vor, den Zusatz von Kaliumchlorat in Tablettform vorzunehmen, da dadurch die Chlorentwicklung langsamer und gleichmäßiger vor sich geht und die Ausbeute eine viel bessere ist. <sup>2)</sup>

Um die Anhäufung von Cl-Salzen zu vermeiden, die durch den Kaliumchloratzusatz bewirkt werden, wurde von Jeserich <sup>3)</sup> der Vorschlag gemacht, letzteres durch kleine Mengen Chlorsäure zu ersetzen.

Die Erfahrungen A. Livaches, <sup>4)</sup> daß trockene Öle durch Zusatz von Mangan schneller oxydiert werden als beim Zusatz anderer Metalle — da Mangan in diesem Falle der beste Katalysator ist —, und die Arbeiten G. Bertrands, <sup>5)</sup> die die Rolle des Mangans bei der durch die Lactase bewirkten Oxydation nachgewiesen, führten Villiers <sup>6)</sup> zu einer Modifikation der

Methode von Fresenius-Babo. Nach Villiers geht die Zerstörung organischer Substanzen schnell und glatt vor sich mit Hilfe von Salzsäure und Salpetersäure unter Zusatz einer Mangansalzlösung. Kippenberger,<sup>7)</sup> der die Methode Villiers in mehr als 30 Versuchen nachprüfte, ist mit der Methode Villiers jedoch nicht so sehr zufrieden. «Die von Villiers so sehr betonte Schnelligkeit im Verlauf der Oxydation — Leber, Milz, Lunge soll in wenigen Minuten, Muskelfasern binnen einer Stunde gelöst werden — konnte ich nicht bestätigen, auch trat die Zersetzung der Organteile bei meinen Versuchen niemals vollkommen ein, sondern es mußte gegen Ende der Operation jeweilig noch Kaliumchlorat zugesetzt und weiter erhitzt werden, um ein für den weiteren Gang der Untersuchung brauchbares Liquidum zu erhalten.» Kippenberger schlägt daher vor, die fein verteilte Substanz mit Kaliumchlorat und Salzsäure zu zerstören unter Zusatz von Mangansuperoxyd. Dieser Manganzusatz beschleunigt die Oxydation und verkürzt die ganze Operation.

Muß dieser Manganzusatz als Fortschritt in der Verbesserung der Methode von Fresenius-Babo betrachtet werden, so hat sie doch den Nachteil, daß die weitere Behandlung des Filtrats nach Kippenberger ziemlich zeitraubend wirkt, so daß die Methode nur in ganz bestimmten Fällen wird Anwendung finden können.

Auf der 7. Versammlung der freien Vereinigung Bayerischer Vertreter der angewandten Chemie in Speyer am 2. und 3. September 1889 hielt A. Halenke<sup>8)</sup> einen sehr instruktiven Vortrag über die Verwendung der Kjeldahlschen Methode zur Zerstörung der organischen Substanz. In diesem Vortrage wird die Methode von Fresenius-Babo sehr stark angegriffen. «Ich selbst habe mich weder mit der Behandlung der Apfelschnitte mit Salzsäure und chlorsaurem Kali, noch mit der Zerstörung der organischen Substanz durch Hitze befreunden können. Dabei habe ich die Erfahrung machen müssen, daß in verschiedenen Gutachten von Nahrungsmittelchemikern amerikanische Apfelschnitte als zinkfrei erklärt worden waren, die in der Tat Zinksalze enthielten, oder daß für das gefundene

Zink Zahlen angegeben waren, die ganz wesentlich hinter der Wirklichkeit zurückblieben.»

Bei 50 g Substanz braucht man aber nach dieser Methode allein schon 8 Stunden. Auch O. Gras und W. Gintel<sup>9)</sup> haben nach dieser Methode gearbeitet und fügen neben der konzentrierten Schwefelsäure noch eine 10%ige Kaliumsulfatlösung hinzu. Vollständige Entfärbung wird durch einen kleinen Zusatz von Kaliumnitrat erreicht. Schneider<sup>10)</sup> versuchte die Zerstörung der organischen Substanz mittels Salpetersäure und Kaliumchlorat durchzuführen, während Grahm<sup>11)</sup> die Zerstörung durch Salpetersäure durchführt und die organischen Zerstörungsprodukte mit Silbernitrat fällt. M. Page<sup>12)</sup> verwendet chromsaures Chlorit ( $\text{CrO}_2\text{Cl}_2$ ), das durch Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf ein Gemisch aus zwei Teilen NaCl und einem Teil  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  in Gegenwart der zu zerstörenden organischen Substanz gebildet wird. Nach diesem Verfahren soll es gelingen, selbst geringe Mengen Blei, Arsen, Zinn usw. nachzuweisen bei Vermeidung der Belästigung durch schädliche Gase.

Danger und Flaudin<sup>13)</sup> erhitzen die gut zerriebene Substanz mit konzentrierter Schwefelsäure und Königswasser, dasselbe Prinzip finden wir bei der A. Neumannschen Methode<sup>14)</sup> «Die Veraschung auf nassem Wege durch konzentrierte Schwefelsäure und Salpetersäure». Bei diesem Verfahren werden nicht die Stoffe in gewöhnlicher Weise verascht, sondern durch ein kräftig wirkendes Oxydationsgemisch aus Salpetersäure und Schwefelsäure zerstört. Die Verkohlung wird vermieden durch langsames beständiges Zufügen dieser Oxydationsmittel.

Mit vielen Bleibestimmungen in Organen bleivergifteter Tiere hatten wir Gelegenheit, die Schwierigkeiten der Zerstörungsmethode nach Fresenius-Babo kennen zu lernen und glauben eine Erleichterung und Vereinfachung in der vorhergehenden Behandlung mit Antiformin gefunden zu haben.

#### Experimenteller Teil.

Das Antiformin stellt eine Hypochloritlösung mit einem Zusatz von Natronlauge dar. Die Flüssigkeit hat eine hellgelbe Farbe und verbreitet einen schwachen Geruch nach Chlorkalk,

«Am einfachsten wird das Antiformin bereitet durch Umsetzen von Chlorkalk mit Soda, Trennung der gebildeten Natriumhypochloritlösung von dem ausgefällten Kalk unter Zusatz von Natriumhydrat».

Das Antiformin machte einen ganz merkwürdigen Weg durch die verschiedensten naturwissenschaftlichen Gebiete. In der Patentschrift als Reinigungs- und Desinfektionsmittel für die Gärindustrie empfohlen, finden wir es bald auch in die Bakteriologie durch die eingehenden Arbeiten von Uhlenhuth<sup>15)</sup> eingeführt. Die Eigenschaft des Antiformins, selbst geballten eitrigen Auswurf von Phthisikern zu einer homogenen Masse aufzulösen, benutzt Uhlenhuth, um eine Anreicherung der Tuberkelbacillen im Sputum durchzuführen. Derselbe Autor prüfte auch, wie weit dieses Präparat auf organische und anorganische Körper einwirkt. Bei organischen Körpern trat stets ein gewisser Zerfall und Auflockerung ein.

Die oxydierende Wirkung des freiwerdenden Chlors zeigte sich ganz besonders bei der Einwirkung einer 15%igen Lösung auf Kotballen. Nach 6 Stunden waren keine Kotpartikelchen nachweisbar. Wedemann,<sup>16)</sup> der fünf verschiedene Proben dieses Präparats untersuchte, gibt folgende Analysenzahlen an:

Natronlauge 7,5%,

100 ccm Antiformin entwickeln durch Ansäuern 5,3 Cl.

Auf Natriumhypochlorit umgerechnet, würde dieses einem Gehalt von 5,6% entsprechen. Die Antiforminlösung läßt sich wochen- und monatelang, ohne sich merklich zu zersetzen, aufbewahren.

Die Arbeitsweise, wie wir unsere Bestimmungen ausführten, war folgende: Die bei 105 Grad getrockneten Organe wurden auf einer Handmühle sehr fein gemahlen und im Mörser sehr fein verrieben. Je feiner die Organe so vorbereitet wurden, desto einheitlicher vollzieht sich die Zerstörung. Die pulverisierte Substanz wird vor der Verarbeitung nochmals zwischen Uhrgläsern gewogen, vorsichtig mit einer 50%igen Antiforminlösung übergossen und mit dem Glasstabe angerührt, bis sich ein gleichmäßig aussehender Brei gebildet hat. Bei dieser Operation erhitzt sich der Inhalt der Schale bis auf 50—60° C.

Die Schalen mit dem Inhalt werden des freiwerdenden Chlors wegen unter den Abzug gestellt und 24 Stunden stehen gelassen. Nach dieser Zeit ist meistens ein homogener Brei vorhanden. Die einzelnen Teilchen sind aufgequollen, das Volumen vergrößert. Die Angriffsfläche für die nun einsetzende Zerstörung nach Fresenius-Babo ist durch den Antiforminzusatz eine sehr große geworden. Die Schale mit dem Inhalt wird nun unter dem Abzuge auf ein Wasserbad gesetzt und zunächst bis auf 80 Grad erwärmt. Es tritt ein schwaches Schäumen auf. Nun wird in kleinen Portionen reine konzentrierte Salzsäure zugesetzt, bis das Schäumen nachläßt. Dann erst wird in kleinen Portionen Kaliumchlorat zugefügt, bis die überstehende Lösung weingelb wird und sich auch nach fortgesetztem Erwärmen nicht mehr verfärbt. Andernfalls muß mit dem Zusatz von Salzsäure und Kaliumchlorat fortgefahren werden. Der Verlauf der Zerstörung ist sonst wie nach der Methode von Fresenius-Babo, nur geht hier die Zerstörung viel energischer und einfacher vor sich. Bei den vielen Untersuchungen und Bestimmungen, die wir vorgenommen haben, zeigte es sich, daß man nach dieser Methode an Zeit sehr viel sparen kann. Mehr als 3 oder 3½ Stunden haben wir selbst bei Mengen von 30 bis 35 g nicht gebraucht.

Die weingelbe klare Lösung wird alsdann mit Wasser verdünnt und bis auf 60 Grad Celsius erwärmt und durch ein Faltenfilter von der zurückgebliebenen Substanz getrennt mit heißem Wasser von 60 Grad Celsius einigemal nachgewaschen. Um das überschüssige Cl zu verdrängen, wird längere Zeit hindurch Kohlensäure durchgeleitet; das Filtrat kann schon zum Einleiten von Schwefelwasserstoff verwendet werden. Manchmal kommt es jedoch vor, daß, wenn man das Filtrat jetzt einengen muß, sich dasselbe verfärbt. Dann muß man die Zerstörung nochmals beginnen, die meistens schon nach einem einmaligen Zusatz einer kleinen Menge von Kaliumchlorat beendet ist. Wir haben bei der Ausfällung in schwach ammoniakalischer Lösung gearbeitet. Der Schwefelwasserstoff wurde längere Zeit, meistens 6—8 Stunden eingeleitet. Nach beendeter Operation wurde das Erlenmeyer-Kölbchen, in

welchem das Einleiten des Wasserstoffgases geschah, gut verschlossen und 24 Stunden stehen gelassen. Die weitere Verarbeitung des Niederschlages zur quantitativen Ermittlung des Pb-Gehaltes geschah nach der titrimetrischen Methode von B. Kühn.<sup>17)</sup> Wir wählten diese jodometrische Bestimmung des Bleies, weil sie neben ihrer Genauigkeit und guten Ausführbarkeit den großen Vorteil hat, daß die Anwesenheit von Eisen auf das Resultat von keinem Einfluß ist, sofern diese Zersetzung des Bleisuperoxyds mit Essigsäure stattfindet und jede Spur einer Mineralsäure, namentlich Salzsäure ausgeschlossen wird. Diese Methode beruht auf der von Diehl gemachten Beobachtung,<sup>18)</sup> daß Eisenoxydhydrat, welches aus einer Eisenchloridlösung durch Erhitzen mit Natriumacetatlösung frisch gefällt und mit heißem Wasser ausgewaschen war, keine Spur Jod aus einer mit Essigsäure ausgesäuerten Jodkaliumlösung freimachte. Auch die Anwesenheit von Mangan, Kobalt, Nickel ist auf das Resultat der Bleibestimmungen ohne Einfluß.

Die Versuche Kühns wurden von uns eingehend nachgeprüft und in einer größeren Anzahl von Analysen für gut befunden. Ebenso hatte Herr Prof. Kisskalt diese Methode gelegentlich der Bestimmung kleiner Bleimengen im Wasser schon früher mit gutem Erfolg angewandt.

Die Genauigkeit dieser von uns angewandten Methode wurde durch folgende Untersuchungen festgestellt: 4 Portionen fein zermahlene Fleisch (15—20 g Trockensubstanz) wurden in kleinen Porzellanschalen mit Bleiacetat (10 und 5 mg) vermischt und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach dem Trocknen und Pulverisieren geschah die Verarbeitung nach der oben beschriebenen Methode.

### Analysenresultate.

#### Nach Fresenius-Babo.

- |                            |             |            |
|----------------------------|-------------|------------|
| I. 14,5 g Trockensubstanz  | enthalten = | 10,0 mg Pb |
|                            | gefunden =  | 9,75 „ „   |
| II. 23,2 g Trockensubstanz | enthalten = | 5,0 „ „    |
|                            | gefunden =  | 4,86 „ „   |

Nach der Antiforminmethode.

- I. 25,65 g Trockensubstanz enthalten = 10,0 mg Pb  
gefunden = 9,87 » »  
II. 18,3 g Trockensubstanz enthalten = 5,0 » »  
gefunden = 4,95 » »

Die weiteren, mit der Methode erhaltenen Resultate werden demnächst in der «Zeitschrift f. Hygiene» erscheinen.

Literatur.

1. Ann. d. Chemie und Pharm., Bd. 49, S. 308.
  2. Ann. d. Pharm., Bd. 8, S. 310, 1902.
  3. Repertorium d. analyt. Chemie, Bd. 2, S. 379, 1882.
  4. Compt. rend., 1897, Bd. 124, S. 1520—1521.
  5. Compt. rend., 1897, Bd. 124, S. 1032—1035 und S. 1355—1358.
  6. Rep. d. Pharm., 1897, Bd. 349; Compt. rend., 1897, Bd. 124, S. 1457 bis 1458; Zeitschrift für Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., 1898, Bd. 62.
  7. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., 1898, S. 683.
  8. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., 1899, S. 128.
  9. Österreichische Chemikerzeitung 1899, Bd. 2, S. 308—309.
  10. Gadamar, Lehrbuch der chemischen Toxikologie.
  11. Gadamar, Lehrbuch der chemischen Toxikologie.
  12. Pharm. Post, Bd. 35, S. 489 (1900).
  13. Gadamar, Lehrbuch der chemischen Toxikologie.
  14. In Felix Hoppe-Seylers Handbuch d. chem. Analyse bearbeitet von H. Thierfelder, 1909.
  15. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 32, S. 158, 1909.
  16. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 32, S. 158, 1909.
  17. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 23, S. 389, 1906.
  18. Dingl. polyt. Journal, Bd. 246, S. 196—200.
-