

Mitteilung aus dem pharmazeutisch-chemischen Institut  
der Universität Königsberg.

## Zur quantitativen Ausmittelung des Arsens.

Von E. Rupp und F. Lehmann.

(Eingegangen den 20. V. 1912.)

Der viel bearbeitete Schicksalsverfolg des Salvarsans im Tierkörper hat das Bedürfnis nach einer möglichst einfachen und raschen Sonderung des Arsens vom Grundmaterial hervortreten lassen. Wir haben uns für die Zwecke eines medizinischen Instituts in dieser Richtung bemüht und möchten über das eingeschlagene Verfahren berichten. Es läßt sich damit in 1—2 Stunden eine Bestimmung durchführen.

Zugrunde gelegt wurde die Methode von Schneider-Fyfe-Beckurts, nach der das Arsen als Arsenrichlorid abdestilliert und mit Jod titriert wird. Die Zerstörung des organischen Materials hierfür muß bekanntlich eine sehr weitgehende sein, da andernfalls jodbindende Substanzen (Furfurol) in das Destillat übergehen. Bei der üblichen Materialvorbehandlung mit Chlorat und Salzsäure, hat man daher die mit Chlorwasserstoff gesättigte und im Salzsäurestrom überdestillierte Lösung trivalenten Arsens mit Permanganatlösung nachzuoxydieren und die Destillation wie zuvor im Chlorwasserstoffstrom zu wiederholen.

Diese Destillationen erfordern nicht allein einen Zeitaufwand von mehreren Stunden, sondern insbesondere auch eine ständige Ueberwachung des Chlorwasserstoff-Entwicklers, da Stockungen im Gasstrom sofort Rücksteigerscheinungen auslösen. Der Behelf mit einem reichlichen Zusatze von rauchender Salzsäure an Stelle des Gasstromes zwingt zu einem Abdestillieren fast bis zur Trockne, wobei Retorte oder Destillierkolben nicht selten zu Bruch gehen.

Wir suchten nun zu erzielen:

1. Ausreichende Destruierung der organischen Substanz durch Permanganat oder Persulfat und Schwefelsäure in einer Operation.
2. Destillation des Arsens als Trichlorid in einem aus der Substanzlösung selbst herausentwickelten Salzsäurestrom.
3. Einfachste Kondensation des übergehenden Arsenrichlorids bei gleichzeitiger Zurückhaltung etwaiger flüchtiger organischer Abbauprodukte.

Zu den orientierenden Versuchsreihen dienten mit Alkaliarsenit bzw. mit Salvarsan in bekannten und wechselnden Mengen versetzte Hackfleischproben.

**Permanganat-Behandlung:** 20 g Fleisch wurden in einer Reibschale mit 10 g gepulvertem Kaliumpermanganat möglichst gleichmäßig verrieben; hierbei trat sehr bald eine beträchtliche Erwärmung ein. Das Gemisch wurde in einen Rundkolben von  $\frac{1}{2}$  Liter Inhalt geschüttet, mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure übergossen und unter häufigem Umschütteln 10 Minuten lang stehen gelassen. Darauf wurden vorsichtig unter Umschwenken in kleinen Portionen 25 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugegeben. Es trat sofort eine stürmische Gasentwicklung auf, nach deren Verlauf das Fleisch bis auf wenige Klümpchen und Fett zerstört war. Lästig fielen das Umfüllen des Fleisch-Permanganatgemenges und dessen heftige Reaktion mit der Schwefelsäure. Es wurde daher das Fleisch-Permanganatgemisch in der Schale mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure gründlich durchgearbeitet, während zehn Minuten langen Stehens häufig durchgemischt und darauf mit der konzentrierten Schwefelsäure in kleinen Portionen unter beständigem Umrühren versetzt. Der Zerstörungseffekt war ein besserer wie zuvor. Als nun das Gemisch von Fleisch, Kaliumpermanganat und verdünnter Schwefelsäure ca. 15 Minuten unter häufigem Umrühren auf einem siedenden Wasserbade erhitzt und dann mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt wurde, verlief die Reaktion noch ruhiger und vollständiger. Durch das Erhitzen wird eine sehr feine, gleichmäßige Verteilung von Fleischresten und Kaliumpermanganat erreicht, die auf Zusatz der konzentrierten Schwefelsäure rasch in Lösung gehen.

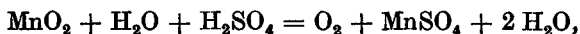
Man verreibt also in einer Porzellanschale 20 g Fleischmasse zuerst mit 10 g gepulvertem Kaliumpermanganat und darauf mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure möglichst gleichmäßig. Die Mischung wird auf einem siedenden Wasserbad erhitzt und während dieser Zeit häufig durchgearbeitet. Die noch warme, **fast pulverige Masse** wird mit 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure in kleinen Portionen unter beständigem Umrühren versetzt und bildet nunmehr eine gelb bis bräunlich gefärbte Flüssigkeit, in der keine oder ganz geringe Fleischreste vorhanden sind.

**Persulfat - Behandlung:** 20 g Fleisch wurden mit 10 g Kaliumpersulfat gemischt. Die Mischung wurde mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure übergossen, 10 Minuten unter häufigem Umrühren stehen gelassen und mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Die Reaktion war bei weitem nicht so energisch, und ein großer Teil des Fleisches blieb unzerstört zurück. Daher wurde das Gemisch auf einer Asbestpappe über ganz kleiner Flamme bis zum Sieden erhitzt. Die Fleischstückchen verschwanden hierbei immer mehr, namentlich wenn sie mit einem dicken Glasstab oder einer Reibkeule zerdrückt wurden, und es blieb eine, wenn nicht zu stark erhitzt war, hellgelb gefärbte Flüssigkeit zurück.

Die beiden Zerstörungsverfahren erwiesen sich im weiteren Verlauf der Untersuchungen als gleichwertig. Da Permanganat überall eher zur Hand sein dürfte und wohl auch sicherer arsenfrei ist, geben wir diesem den Vorzug.

**Destillation und Titration:** Den zur Verflüchtigung des Arsens benötigten Salzsäurestrom erzeugt man durch Eintragen von reinem Kochsalz in das schwefelsaure Zerstörungsgemisch. Wir kehrten damit auf den schon von Schneider im Prinzip eingeschlagenen Weg zurück, vermeiden aber durch die Permanganat-Voroxydation die Entstehung von Schwefligsäure, welche das nach dem Schneider'schen Originalverfahren gewonnene Destillat zur direkten Titration unbrauchbar macht.

Zunächst ist das Zerstörungsgemisch von superoxydischen Manganresten zu befreien, um eine Chlorbildung aus dem hernach zu entwickelnden Chlorwasserstoff zu verhindern. Hierzu verwandten wir anfänglich Natriumsulfit und vertrieben überschüssiges Schwefeldioxyd durch Erhitzen. Bequemer ist ein Zusatz von ca. 30 ccm officinellem 3% igem Wasserstoffsulfoxid, das unter lebhaftem Aufschäumen vergast,



und im Ueberschuß durch die Mischwärme der Schwefelsäure zersetzt wird.

Nunmehr war zu untersuchen, ob und inwieweit mit dem Salzsäurestrom jodbindende organische Trümmerstoffe überdestillieren. Die Zerstörungsgemische wurden in einen Halbliterkolben verbracht, mit 50 g Chlornatrium, sowie 5 g wasserfreiem Ferrosulfat versetzt und durch einen einfach gebohrten Stopfen mit zweimal rechtwinkelig gebogener Ableitungsröhre verschlossen. Der äußere Glasrohrschenkel tauchte in einen Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Wasser. Das der Reduktion von Arsensäure zu Arsenig-

säure dienende Ferrosulfat war des etwa möglichen Einflusses wegen auch den arsenfreien Blindversuchen zugesetzt worden.

Beim Erhitzen auf dem Drahtnetz trat sehr bald stürmische Salzsäureentwicklung auf. Sobald diese ruhiger wurde und das Schäumen nachließ (6—7 Minuten), wurde die Destillation unterbrochen, der Vorlagen-Inhalt durch Bikarbonat neutralisiert und mit  $\frac{n}{100}$  Jod titriert<sup>1)</sup>. Der Verbrauch hieran betrug bei einer längeren Versuchsreihe 0,5—2,5 ccm.

Bei einer auf freier Flamme fraktioniert destillierten Probe erforderte die erste Destillathälfte in bikarbonatalkalischer Lösung 0,3 ccm, der zweite, erheblich höher erhitzte Anteil 1,7 ccm  $\frac{n}{100}$  Jod. Daraus ergab sich, daß insbesondere Ueberhitzung zu meiden ist. So wurde nunmehr auf dem Sandbade erhitzt, wodurch der Jodverbrauch auf durchschnittlich 1 ccm  $\frac{n}{100}$  Lösung fiel. Schließlich wurde die Destillation im langhalsigen Kjeldahlkolben mit dem bei Stickstoffbestimmungen üblichen Stutzer'schen Aufsatz vorgenommen, und damit erreicht, daß der „innere Jodbedarf“ auf 0,4—0,6, also im Mittel 0,5 ccm  $\frac{n}{100}$  Lösung zurückging. Dieser Betrag blieb konstant.

Hand in Hand mit diesen Blindproben gingen Versuchsreihen mit Arsenigsäurezusatz bis zu 0,264 g, durch welche der Flüchtigkeitsgrad des Arsens unter den jeweils eingehaltenen Destillationsbedingungen kontrolliert wurde. Dabei ergab sich durchweg, daß in der obwaltenden höchst wasserdampfarmen Atmosphäre naszenten Chlorwasserstoffs das gebildete Arsentrichlorid überraschend leicht quantitativ übergeht.

Erwähnenswert halten wir hier folgenden Versuch: In einem Fraktionierkölbchen mit nahezu bis zum Boden reichenden Gaszuleitungsrohr wurden 30 g Arsentrichlorid (Siedepunkt 134°) auf dem Wasserbad erhitzt. Da keine Siedeerscheinung stattfand,

---

<sup>1)</sup> Zur Kontrolle der Materialien und der Empfindlichkeit des Stärke-Indikators unter obigen Versuchsverhältnissen wurden 40 g Bikarbonat mit 100 ccm Wasser angeschüttelt, mit arsenfreier rauchender Salzsäure annähernd neutralisiert und mit  $\frac{n}{100}$  Jodlösung versetzt. Nach drei Tropfen trat deutliche Blaufärbung ein. Ein Zusatz von 3 g Jodkalium vor der Titration war ohne Einfluß. Des weiteren wurden vorsichtig 10 g Kaliumpermanganat mit 10 ccm verdünnter und dann 50 ccm konzentrierter Schwefelsäure übergossen, mit 20 ccm Wasser und 2 g Natriumsulfit gekocht und nach dem Erkalten mit 5 g Ferrosulfat und 50 g Natriumchlorid destilliert. Das Destillat wurde in 100 ccm Wasser aufgefangen, wie vorher alkalisiert und titriert. Es wurden ebenfalls nur 0,15 ccm  $\frac{n}{100}$  Jod verbraucht.

zeigte der Faden eines bis zum Fraktionieransatz eintauchenden Thermometers keinen erheblichen Anstieg. Als nun aber ein kräftiger Strom von Salzsäuregas zugeleitet wurde, stieg das Thermometer alsbald auf  $75^{\circ}$  an, und das Arsentrichlorid war binnen weniger Minuten überdestilliert, obschon die Temperatur allmählich wieder auf  $66^{\circ}$  gefallen war.

Der Kondensation des Destillates nach Schneider-Fyfe ist daher größte Sorgfalt zu widmen für den Fall, daß gasförmige Salzsäure die Vorlage passiert. So findet man für die gewöhnliche Destillation im quantitativ unbestimmten Salzsäurestrom mit Recht intensive Wasserkühlung und doppelte Wasservorlage vorgeschrieben. Indem wir nun das Destillat in eine Aufschwemmung von 40 g Natriumbikarbonat und 100 g Wasser leiten, wird für rascheste Hydrolyse des übergehenden Arsentrichlorids Sorge getragen, so daß jegliche Kühlung oder sonstige Vorsichtsmaßregel entbehrlich ist.

Wie der Versuch ergab, genügte es auch, einfach 100 ccm Wasser vorzulegen, welche mit der aus 50 g Kochsalz entwickelbaren Chlorwasserstoffmenge eine höchstens 25% ige Salzsäure liefern können, aus der Arsentrichlorid gleichfalls nicht zu entweichen vermag. Das Bikarbonat ist jedoch ein bequemer Indikator des Reaktionsendes. Ist selbiges annähernd zersetzt, d. h. vollkommen in Lösung gegangen, so ist nahezu aller Chlorwasserstoff übergetrieben, die Destillation kann also unterbrochen werden.

Die Resultate einer der diesbezüglichen mit 20 g Fleisch angestellten Versuchsreihen waren die folgenden:

Angewandt	Jodverbrauch	Gefunden
0,001 g As	3— 3,3 ccm $n/_{100}$ J	0,0011—0,0012 g As
0,0025 „ „	7,0 „ „ „	0,0026 „ „
0,005 „ „	12,8—13,3 „ „ „	0,0048—0,005 „ „
0,01 „ „	25,6—26,2 „ „ „	0,0096—0,0098 „ „
0,05 „ „	12,6—12,9 „ $n/_{10}$ J	0,047 —0,049 „ „
0,1 „ „	25,2—26,2 „ „ „	0,093 —0,098 „ „
0,15 „ „	38 —38,6 „ „ „	0,140 —0,145 „ „
0,2 „ „	51,6—52,2 „ „ „	0,193 —0,196 „ „

Als Korrekturabzug des inneren Jodverbrauchs waren 0,05 ccm  $n/_{10}$  bzw. 0,5 ccm  $n/_{100}$  Jod in Anschlag gebracht worden.

Da bei physiologischen Untersuchungen nicht immer 20 g festes Material zur Verfügung sein werden, war weiterhin zu prüfen, ob für geringere Materialmengen die beschriebene Versuchsanordnung

unverändert beibehalten werden kann. Aus den mit 5 bzw. 10 g Fleisch angestellten Titrationsserien ging hervor, daß dies der Fall ist. Auch die Permanganatmenge bedarf keiner Veränderung. Die Blindversuche ergaben einen inneren Jodverbrauch

von 0,5—0,7 ccm  $\frac{n}{100}$  Jod bei 10 g Material,  
 „ 0,3—0,5 „ „  $\frac{n}{100}$  „ „ 5 g „

im Mittel also wiederum 0,5 ccm, die vom Arsen-Titrationsverbrauch in Abzug zu bringen sind.

#### 5 g Fleisch, 10 g Permanganat:

Angewandt	Jodverbrauch	Gefunden
0,001 g As	3,3 ccm $\frac{n}{100}$ J	0,0012 g As
0,0025 „ „	6,0 „ „ „	0,0022 „ „
0,005 „ „	12,4 „ „ „	0,0047 „ „
0,0125 „ „	32,2 „ „ „	0,0121 „ „
0,05 „ „	12,3 „ $\frac{n}{10}$ J	0,046 „ „
0,2 „ „	51,0 „ „ „	0,191 „ „

In Zusammenfassung ergibt sich folgender

#### Quantitativer Arsennachweis in Fleischmaterial.

5—20 g des krümelig feuchten Untersuchungsmaterials werden mit 10 g gepulvertem Kaliumpermanganat und darauf mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure möglichst gleichmäßig gemischt. Die Mischung wird auf einem siedenden Wasserbad 15 Minuten lang erwärmt und während dieser Zeit häufig durchgearbeitet. Der noch warme, fast pulverige Rückstand wird unter beständigem Umrühren in kleinen Portionen mit 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure und bald darauf mit 30 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. Sobald die Flüssigkeit nicht mehr schäumt, gießt man sie in einen Kjeldahlkolben um, spült die Schale mit 30 ccm konzentrierter Schwefelsäure nach, fügt 5 g entwässertes oder 10 g krystallisiertes Ferrosulfat hinzu, kühlt ab, gibt nunmehr 50 g Natriumchlorid zu und destilliert unter Benutzung eines Kjeldahl-Kugelaufsatzes auf dem Sandbad. Der nach unten abgebogene Außenschenkel des Aufsatzes ist durch ein Schlauchstück pendelnd mit einem 30—40 cm langen Glasrohr verbunden, das in einen geräumigen Erlenmeyerkolben mit 40 g Natriumbikarbonat und 100 ccm Wasser taucht. Ist in dem öfters umzuschwenkenden Kolben alles feste Bikarbonat verschwunden, so unterbricht man die Destillation durch Lüften des Aufsatzstopfens oder löst die Schlauchverbindung und spült das Glasrohr mit etwas

Wasser nach. Das Destillat läßt man erkalten, alkalisiert es nötigenfalls mit Bikarbonat, filtriert<sup>1)</sup> und titriert mit  $\frac{n}{10}$  bzw.  $\frac{n}{100}$  Jodlösung und Stärke.

0,05 ccm  $\frac{n}{10}$  bzw. 0,5 ccm  $\frac{n}{100}$  Jod werden vom Titrationsverbrauch als Korrekturwert in Abzug gebracht.

1 ccm  $\frac{n}{10}$  J = 0,003748 g As bzw. 0,00495 g  $\text{As}_2\text{O}_3$ ,

1 ccm  $\frac{n}{100}$  J = 0,0003748 g As bzw. 0,000495 g  $\text{As}_2\text{O}_3$ .

Die Arbeitsweise für das Zerstörungsverfahren mit Kaliumpersulfat ergibt sich aus nachstehender Versuchsreihe:

20 g arsenhaltiges Fleisch wurden mit 10 g Kaliumpersulfat und darauf mit 10 ccm verdünnter Schwefelsäure möglichst gleichmäßig gemischt und unter häufigem Umrühren 10 Minuten lang stehen gelassen. Darauf gibt man 25 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu, erhitzt beständig durchrührend die Mischung über kleiner Flamme bis zum beginnenden Sieden, gießt sie in einen Kjeldahlkolben, spült mit 30 ccm Wasser nach, fügt noch 30 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzu und verfährt dann weiter wie bei der Permanganatmethode. Als Umschlagswert waren auch hier 0,5 ccm  $\frac{n}{100}$  Jod vom Titrationsergebnis in Abzug zu bringen.

Angewandt	Verbraucht	Gefunden
0,00483 g As	12,7–12,8 ccm $\frac{n}{100}$ J	0,00476–0,0048 g As
0,0966 „ „	25 – 25,2 „ „ „	0,0937 – 0,0944 „ „
0,120 „ „	31 – 30,8 „ $\frac{n}{10}$ J	0,116 – 0,115 „ „
0,240 „ „	60,7–61 „ „ „	0,2275 – 0,229 „ „

Schließlich wurde noch festgestellt, daß der nötige Chlorwasserstoffstrom auch durch Eintropfen von rauchender Salzsäure in die schwefelsauren Zerstörungsgemische erzeugt werden kann, wenschon man es als einen großen Vorteil des Kochsalzes erachten wird, daß dieses leicht arsenfrei zu erhalten ist, bzw. durch schwache Rotglut von Arsen befreit werden kann.

Die Apparatur ist dieselbe wie oben, außerdem ragt jedoch durch den doppelt gebohrten Stopfen ein Tropftrichter mit 50 ccm rauchender Salzsäure in den Kjeldahlkolben hinein. Man erhitzt den Kolbeninhalt zum Sieden und läßt, gelinde weiter erhitzend, die Salzsäure in dünnem Strahle zufließen. Nach weiteren 5 Minuten Kochens wird die Destillation unterbrochen.

<sup>1)</sup> Filtrierte Proben zeigen besseren Indikatorumschlag.

	Angewandt	Verbraucht	Gefunden
Mit Permanganat	0,00483 g As	13,2 ccm $n/_{100}$ J	0,0049 g As
	0,0483 „ „	12,8 „ $n/_{10}$ J	0,048 g „
	0,120 „ „	30,7 „ „ „	0,115 „ „
	0,240 „ „	61,5 „ „ „	0,230 „ „
Mit Percollat	0,005 „ „	12,8—13,2 ccm $n/_{100}$ J	0,0048—0,0049 g As
	0,05 „ „	12,65—12,9 „ $n/_{10}$ J	0,0475—0,0483 „ „
	0,2 „ „	51,3 „ „ „	0,192 g As

Ueber die Anwendung des Verfahrens auf Blut und Harn, sowie den kolorimetrischen Nachweis von Arsenmengen unterhalb 1 mg wird demnächst berichtet werden.

Aus dem pharmazeutischen Institut der Universität Breslau  
(Direktor: Professor Dr. Gadamer)  
und der Königlich chirurgischen Universitätsklinik Breslau  
(Direktor: Geheimrat Professor Dr. Küttner).

## Vitalfärbung und Chemotherapie.

### II. Versuchsfehler bei Vitalfärbungs-Arbeiten.

Von W e r n e r S c h u l e m a n n.

(Eingegangen den 24. V. 1912.)

Bei den Versuchen, Tiere vital zu färben<sup>1)</sup>, ist man so vielen Versuchsfehlern ausgesetzt, daß es mir berechtigt erscheint, sie hier zu behandeln, soweit ich sie bei meiner Arbeit bemerkt habe. Einmal scheint mir dies zur Beurteilung der früheren Arbeiten über Vitalfärbung wesentlich, dann aber wird es für denjenigen, der auf diesem Gebiet auch arbeiten will, nicht ohne Interesse sein, wenigstens einige „Klippen und Untiefen“ vorher zu kennen, um sie leichter vermeiden bzw. berücksichtigen zu können.

Zunächst sind rein chemische Momente zu nennen. Hierzu bedarf es einer Abschweifung auf das Gebiet der F a r b e n - f a b r i k a t i o n. Die Verwandten des Trypanblaus leiten sich ab von einem Diamin und von Naphtalinderivaten. Von den Diaminen kommen für uns vor allem Benzidin, Tolidin, Dianisidin bzw. deren

<sup>1)</sup> Literatur siehe bei S c h u l e m a n n; Arch. d. Pharm. 1912, Heft 4.