

Anwendung der Silberdiäthylthiocarbamat- methode zur Bestimmung von Arsen im Tabak

von L. Hjern

AB Svenska Tobaksmonopolet, Centrallaboratoriet, Stockholm (Schweden)

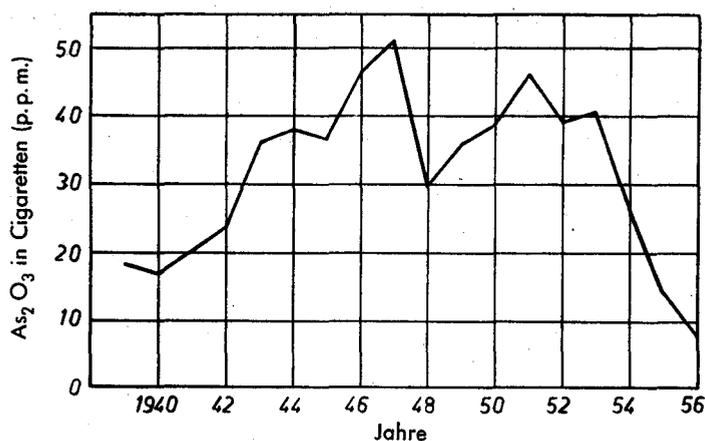
1. EINLEITUNG UND ÜBERSICHT

Seitdem *Remington* (1) im Jahre 1927 das Vorkommen von Arsen in Tabakwaren nachwies, und zwar in Mengen, die die lebensmittelgesetzlich festgelegten Maximalgrenzen öfters überschritten, ist der Arsengehalt des Tabaks Gegenstand einer Reihe von Untersuchungen gewesen. Als die in der ganzen Welt zunehmende Lungenkrebshäufigkeit im Anfang der 50er Jahre ernstlich mit dem Tabakrauchen in Verbindung gebracht wurde, diskutierten *Kennaway* und Mitarbeiter in einer Reihe von Publikationen (2, 3, 4) die Möglichkeit, daß die dem Rauchen zugeschriebene krebs-erregende Wirkung vielleicht auf das Vorkommen von Arsen im Tabak zurückzuführen sei. Da sie aber keine Korrelation zwischen der Lungenkrebsstatistik und dem Arsengehalt der Tabak-waren in verschiedenen Ländern fanden, verwarfen sie ihre Hypothese und erklärten es als un-wahrscheinlich, daß Arsen der dominierende krebs-erregende Faktor im Tabakrauch sei.

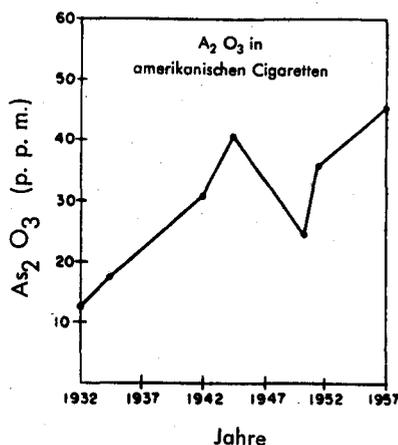
Man hat nun seit etwa 10 Jahren den Gebrauch von Bleiarsenat als Insektizid im amerikanischen Tabakbau (5, 6) aufgegeben, und mehrere Untersuchungen aus den letzten Jahren bestätigen, daß der Arsengehalt des Tabaks stark abnimmt (4–7), (Abbildung 1a).

Im Widerspruch hierzu behauptete kürzlich eine amerikanische Forschergruppe (8–10), daß der Arsengehalt amerikanischer filterloser Cigaretten in der Periode 1932–1957 um mehr als 200 bis 600% angestiegen ist (Abbildung 1b), und wollten abermals den Arsengehalt mit der noch immer zunehmenden Lungenkrebshäufigkeit in Verbindung setzen. Es wird auch geltend gemacht, daß der Boden mit arsenhaltigen Insektizidresten noch stark bemengt ist. Diesen Gesichtspunkten wurde von der Presse viel Interesse gewidmet.

Obwohl uns alle experimentelle Beweise, daß Arsen bei Tieren Krebs hervorruft, bisher fehlen (11), müssen wir feststellen, daß die Frage des Arsenvorkommens im Tabak noch immer existiert und daß somit die Bestimmung des Arsengehaltes im Tabak noch immer eine aktuelle Aufgabe des Tabakchemikers ist.



a) nach Weber (5)



b) nach Holland et al (9)

ABBILDUNG 1a und 1b
Arsengehalt in Cigarettentabak

Remington bestimmte den Arsengehalt des Tabaks mittels eines Mikro-Marsh-Verfahrens. Die meisten späteren Verfasser (2, 5-7, 9, 12-17) verwendeten verschiedene Modifikationen (13, 14, 18-20) der bekannten Gutzeitmethode. In einigen Fällen (2, 21) wurde ein jodometrisches Titrierverfahren und in zwei weiteren Fällen (6, 7) eine Molybdänblaureaktion angewandt.

Bei allen diesen Methoden wird das Arsen in Form von Arsenwasserstoff oder Arsentrihalogenid aus der mineralisierten Probe entbunden. Die Ausführungsformen unterscheiden sich hauptsächlich hinsichtlich der Art der Mineralisierung sowie im Auffangen und Bestimmen der entbundenen flüchtigen Arsenverbindung.

In unserem Labor verwenden wir seit einigen Jahren eine von skandinavischen Lebensmittelchemikern standardisierte Modifikation der Gutzeitmethode (22) unter Berücksichtigung, daß beim nassen Aufschluß von Proben, die Pyridinverbindungen enthalten, für besonders stark oxydierende Reaktionsbedingungen gesorgt werden muß (20, 23). Bei der Gutzeitmethode wird bekanntlich die Arsenmenge aus der Schwärzung eines im Gasstrom befindlichen mit Merkuribromid imprägnierten Papierstreifens abgelesen. Da aber die Länge der geschwärzten Zone u. a. von der Gasgeschwindigkeit stark abhängig ist, können reproduzierbare Werte nur durch sorgfältigste Kontrolle der Reaktionsbedingungen erhalten werden. Obwohl ein geübter Laborant reproduzierbare Resultate mit einer Empfindlichkeit von 0,03-0,07 mcg/g bei 15 g Einwaage erhalten kann, eignet sich die Methode schlecht für sporadisch vorkommende Analysen.

Kolorimetrische Bestimmungsverfahren, bei welchen die Farbe direkt in der Absorptionslösung entsteht, wären für diesen Zweck vorzuziehen, da bei solchen die Gasentwicklungsgeschwindigkeit von wesentlich geringerer Bedeutung wäre, und außerdem das umständliche und schlecht reproduzierbare Imprägnieren des Papiers wegfallen würde. — Versuche mit der Molybdänblauemethode zeigten, daß das Resultat auch in diesem Falle sehr von den Reaktionsbedingungen abhängig ist und daß die Farbe außerdem so unbeständig ist, daß man nach einem Zeitschema arbeiten muß. — Vasak und Sedivec (24) führten ein kolorimetrisches Verfahren ein, nach welchem Arsenwasserstoff und Silberdiäthylthiocarbamat in Pyridinlösung unter Bildung eines roten Farbkomplexes reagieren. Das Verfahren wurde bereits mit Erfolg zur Bestimmung kleiner Mengen Arsen in Luftverunreinigungen (25), in technischem Eisen (26) sowie in Rohnaphta und in Katalysatoren (27, 28, 29) angewandt. Wir beschlossen, seine Anwendbarkeit zur Arsenbestimmung im Tabak zu untersuchen.

2. GRUNDZÜGE DES VERFAHRENS

Wie oben angedeutet, unterscheidet sich diese Methode von der Gutzeitmethode nur hinsichtlich der Art des Auffangens und Messens des in Form von Arsenwasserstoff entbundenen Arsengehaltes der mineralisierten Probe.

Die Probe wird auf nassem Wege durch Aufschluß in einem Gemisch von Salpetersäure und Schwefelsäure mineralisiert. So lange der Chloridgehalt des Tabaks noch Veranlassung zur Entwicklung von freiem Chlor geben kann, liegt die Gefahr vor, daß As sich als $AsCl_3$ (KP 130°) verflüchtigt, dem man teils durch Aufrechterhalten oxydierender Reaktionsbedingungen (Zusatz neuer Portionen Salpetersäure) teils durch Rückflußkühlung bei der ersten Phase des Aufschließens entgegenwirkt. Wie *Groß* (20) zeigte, lassen sich Nikotin und andere Pyridinverbindungen mit Salpetersäure und Schwefelsäure nicht vollständig oxydieren. Nach *Cassil* (23) kann dadurch abgeholfen werden, daß gegen Schluß des Aufschließens Perchlorsäure zugesetzt wird. — Obwohl *Cassils* Aufschlußmethode nach unserer Erfahrung zufriedenstellende Resultate bei der Gutzeitmethode ergeben hat, erhielten wir bei der vorliegenden Methode ein Störspektrum bei der anschließenden Spektrophotometrierung. Diese Störung konnte durch Erhöhung des Siedepunktes des Aufschlußgemisches durch Zusatz von festem Salz (Na_2SO_4) eliminiert werden. — Nach vollständigem Aufschluß werden Stickoxydreste mit Ammoniumoxalat ausgetrieben.

Nach geeigneter Verdünnung wird eine aliquote Menge der mineralisierten Probe wenn erforderlich weiter angesäuert und dann mit Kaliumjodid und Zinnchlorür reduziert (As^V zu As^{III}). Granuliertes Zink wird zugesetzt und der entwickelte Wasserstoff und Arsenwasserstoff in ein Absorptionsrohr mit einer Pyridinlösung von Silberdiäthylthiocarbamat geleitet. Eventuell gebildeter Schwefelwasserstoff wird zuvor entfernt, indem man das Gasgemisch einen mit Bleiazetat imprägnierten Wattebausch passieren läßt.

Arsenwasserstoff reagiert mit Silberdiäthylthiocarbamat in Pyridinlösung unter Bildung einer löslichen Komplexverbindung, deren Absorptionsspektrum (Abbildung 2) bei $540\text{ m}\mu$ ein Maximum aufweist. Die Lichtabsorption beim Absorptionsmaximum folgt dem Beer'schen Gesetz innerhalb des aktuellen Konzentrationsbereiches (Abbildung 3). Der Farbkomplex ist innerhalb praktischer Grenzen stabil (Tabelle 1).

ABBILDUNG 2

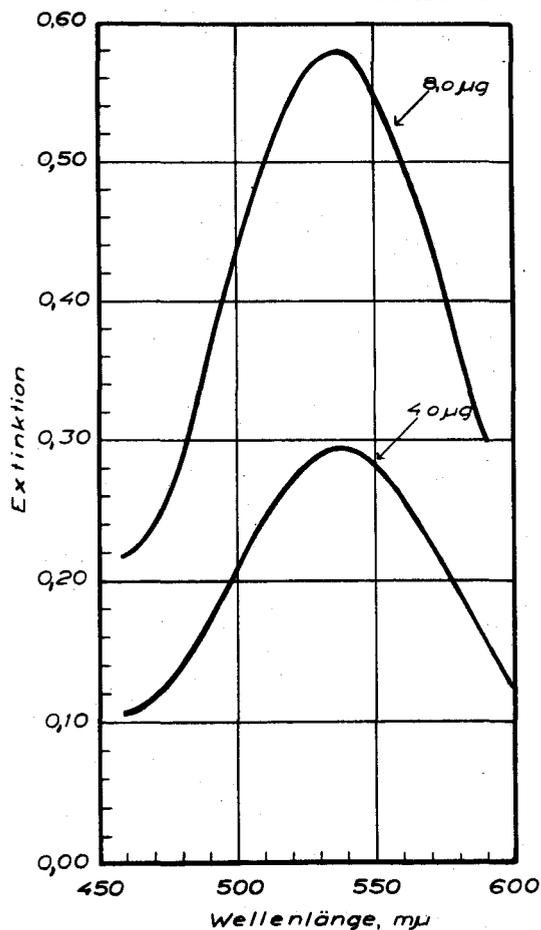


ABBILDUNG 3

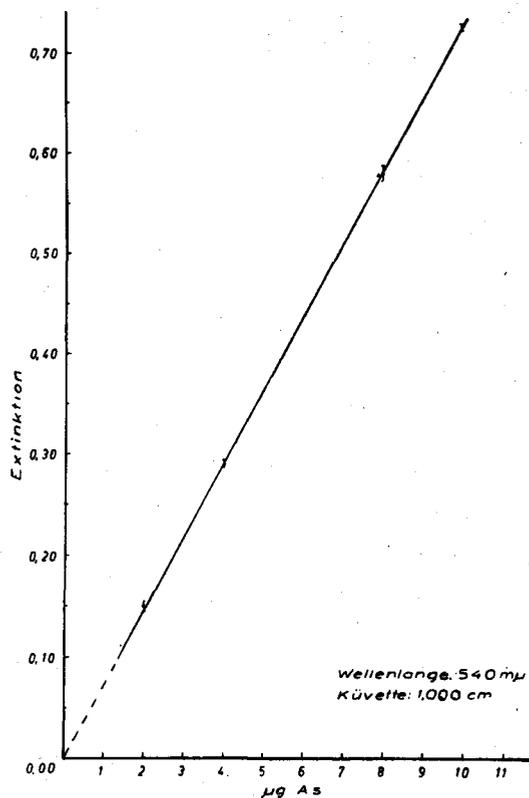
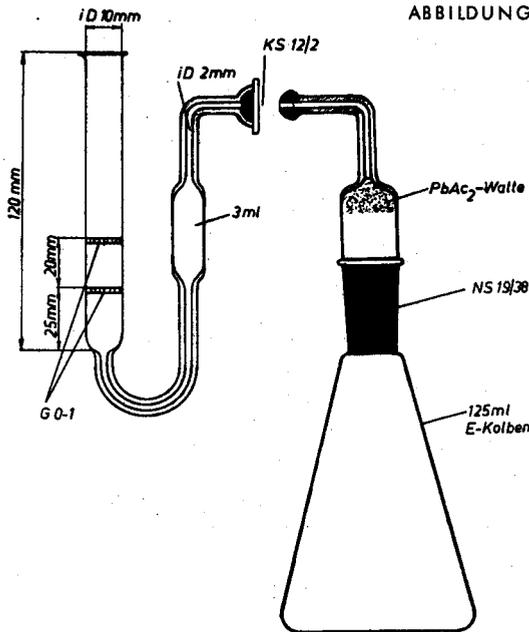


ABBILDUNG 4



3. AUSFÜHRUNG

3. 1. Apparatur

500 ml Kjeldahlkolben mit Rückflußkühler im Schliff.

Die zur Entwicklung und Absorption von Arsenwasserstoff verwendete Apparatur (Abbildung 4) besteht aus einem 125 ml Erlenmeyerkolben mit langem Schliff, einem Kapillarrohr zum Ableiten der Gase, und einem Absorptionsrohr mit zwei weitporigen Glasfilterfritten. Die Ausmaße des Absorptionsrohres sind aus der Abbildung ersichtlich. Das Kapillarrohr hat eine etwa 3 ml fassende Erweiterung und ist mit einem Kugelschliff mit dem Kolbenaufsatz vereinigt. Letzterer enthält einen mit Bleiazetat imprägnierten Wattebausch.

3. 2. Reagenzien und Lösungen

Salpetersäure, spez. Gew. 1,40, p. a., Merck Nr 454

Schwefelsäure, spez. Gew. 1,84, p. a., Merck Nr 731

Perchlorsäure, spez. Gew. 1,67, p. a., Merck Nr 519

Natriumsulfat, wasserfrei, p. a., Merck Nr 6649

Ammoniumoxalatlösung, gesättigt

Schwefelsäure-Natriumchloridlösung, 100 ml Schwefelsäure werden in 400 ml dest. Wasser gegossen. Nach Erkalten löst man hierin 50 g NaCl, p. a. auf.

Kaliumjodidlösung, 15 g KJ, p. a. in 100 ml dest. Wasser

Zinnchlorürlösung, 40 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, p. a., in 100 ml konz. HCl, p. a.

Isopropylalkohol, p. a., Mallinckrodt No. 3032

Zink, p. a., Mallinckrodt No. 8701 oder Merck Nr 8780

Bleiazetatwatte, chemisch reine Watte wird mit einer gesättigten, filtrierten Bleiazetatlösung getränkt. Die überschüssige Lösung wird durch Pressen entfernt. Die feuchte Watte wird im Vakuum getrocknet, bis sie sich zwischen den Fingern gerade trocken anfühlt, und luftdicht aufbewahrt.

Silberdiäthylthiocarbamat. Eine auf 5° gekühlte Lösung von 2,25 g Natriumdiäthylthiocarbamat (»Kupral«) in 100 ml dest. Wasser wird mit einer ebenfalls gekühlten Lösung von 1,7 Silbernitrat in 100 ml dest. Wasser versetzt. Der gelbe Niederschlag wird vorerst mit gekühltem dest. Wasser in einem Becher dekantiert und dann im Büchnertrichter durch Papier filtriert. Der Filterrückstand wird gründlich mit gekühltem dest. Wasser gewaschen, zwischen Papier und schließlich im Vakuum-exsikkator unter 20° getrocknet.

Pyridin-Silberdiäthylthiocarbamatlösung. 1 g Silberdiäthylthiocarbamat wird in 200 ml redestiliertem Pyridin gelöst. Die Lösung wird filtriert und in dunkler Flasche aufbewahrt.

Arsenstandardlösung. 1,320 g Arsen trioxyd-Standardsubstanz (U. S. Bureau of Standards) werden in 10 ml 40%igem Natriumhydroxyd gelöst und auf 1 Liter verdünnt. Diese Lösung enthält 1 mg As/ml.

Alle Reagenzien müssen von möglichst arsenfreier Qualität sein!

3. 3. Aufschließen der Probe

15 g der getrockneten und gemahlenden Tabakprobe werden in einem 500 ml Kjeldahlkolben mit Rückflußkühler mit wenig dest. Wasser angefeuchtet und dann vorsichtig unter kräftigem Schütteln mit 60 ml Salpetersäure-Schwefelsäure-Gemisch (1:1) versetzt. Wenn sich die anfangs heftige

Reaktion beruhigt hat, wird zum Sieden erhitzt. 10 ml Salpetersäure werden portionsweise zugefügt, sobald der Kolbeninhalt braun oder schwarz wird. Es wird 45 Minuten unter Rückfluß gekocht. Dann entfernt man den Kühler, setzt 5 g festes Natriumsulfat zu und erhitzt kräftig. Portionsweise werden weitere 15 ml Salpetersäure zugesetzt, sobald sich der Kolbeninhalt dunkel färbt. Wenn etwa die Hälfte dieser Salpetersäuremenge zugesetzt ist, fügt man zur übrigen Hälfte 10 ml Perchlorsäure und gießt dann vorsichtig dieses Säuregemisch portionsweise in den Kolben, dessen Temperatur jetzt am Schwefelsäuresiedepunkt liegt. Der Kolbeninhalt wird bald klar und nahezu farblos. Man setzt mit dem Erhitzen fort, bis sich weiße Nebel von Schwefeltrioxyd bilden und danach noch weitere 15 Minuten. Nach Erkalten setzt man 25 ml Ammoniumoxalatlösung und 75 ml Wasser zu und erhitzt wieder bis Schwefeltrioxydnebel sichtbar werden und dann noch weitere 10 Minuten. Nach Erkalten wird der Kolbeninhalt in einem Meßkolben je nach Arsengehalt mit dest. Wasser zu einem bestimmten Volumen verdünnt.

3. 4. Entwicklung von Arsenwasserstoff, Photometrierung

Von der verdünnten Lösung der mineralisierten Probe nimmt man 10–35 ml, die in dem Erlenmeyerkolben des Arsenwasserstoffgenerators auf 35 ml verdünnt werden. Je nach Bedarf wird mit Schwefelsäure-Natriumchloridlösung weiter angesäuert, so daß die Azidität wenigstens ca. 150 mval beträgt. Man setzt 2 ml Kaliumjodidlösung, 1 ml Zinnchlorürlösung und 2 ml Isopropylalkohol zu und läßt über Nacht im Kühlschrank stehen.

In den Kolbenaufsatz wird ein Bausch Bleiazetatwatte eingeführt. Das Absorptionsrohr wird mit 3,00 ml Pyridin-Silberdiäthylthiocarbamatlösung beschickt, die in die Erweiterung des Kapillarrohres aufgesaugt wird. Die Schiffe werden eingefettet.

In rascher Folge fügt man jetzt $5 \pm 0,1$ g Zink zum Kolben und setzt den Aufsatz mit dem Absorptionsrohr auf. Nach 75 Minuten wird das Absorptionsrohr am Kugelschliff losgemacht, die Absorptionslösung zwecks Durchmischung mehrmals auf- und abgesaugt, und dann in eine 1 cm Küvette gegossen. Ihre Extinktion wird bei 540 m μ in einem Spektrophotometer gemessen. Als Vergleichsprobe dient eine aus sämtlichen Reagenzien ohne Tabak bestehende, gleichartig behandelte Blindprobe. Die Arsenmenge in der gemessenen Lösung wird einer Eichkurve entnommen.

Sämtliche Teile der Apparatur müssen vor Anwendung im Trockenschrank getrocknet werden!

3. 5. Eichkurve

Aus der Arsenstandardlösung erhält man durch 500faches Verdünnen eine Lösung mit 2 mcg As/ml. Mit 1, 2, 3 und 4 ml dieser Lösung stellt man Versuche laut 3. 4. an, wobei die Extinktion der Standardproben mit der der reinen Pyridin-Silberdiäthylthiocarbamatlösung verglichen werden. Die erhaltenen Extinktionswerte legt man der Eichkurve zugrunde.

4. PRÄZISION UND RICHTIGKEIT

Zur Festlegung der Reproduzierbarkeit im Entwickeln und Auffangen von Arsenwasserstoff wurden aus derselben verdünnten Lösung einer mineralisierten Tabakprobe acht 20 ml-Aliquoten genommen und deren Arsengehalt bestimmt. Das Resultat ist in Tabelle 2 wiedergegeben (umgerechnet auf Arsengehalt der ursprünglichen Tabakprobe). Die Spannweite ist 0,22 mcg/g, und die Standardabweichung zwischen Einzelbestimmungen 0,068 mcg/g.

Die Präzision der ganzen Methode wurde durch sechs Einzelbestimmungen in je zwei Tabaken mit verschiedenem Arsengehalt untersucht. Das in Tabelle 3 zusammengestellte Resultat zeigt, daß die Standardabweichung zwischen den Einzelbestimmungen 0,079 bzw. 0,033 mcg/g war, was einer Präzision von 2–6% entspricht.

Die Richtigkeit wurde durch Bestimmen verschiedener, einer gemahlener Tabakprobe zugesetzter Arsenmengen ermittelt (Tabelle 4). Der Arsengehalt des Tabaks wurde dadurch subtrahiert, daß die Messung gegenüber einer aus dem Tabak erhaltenen Blindprobe erfolgte.

Hinsichtlich Präzision und Richtigkeit dürfte die vorliegende Methode mit der Gutzeitmethode vergleichbar sein

TABELLE 1

Stabilität des AgDDC-As-Farbkomplexes

Minuten	Extinktion	
	a	b
0	0,357	0,220
5	0,356	0,217
10	0,355	0,213
20	0,354	0,208
30	0,353	0,216
60	0,353	0,213

TABELLE 2

**Präzision
bei Bestimmung in derselben Lösung
(Entwicklung von AsH₃ u. Spektrophotometrierung)**

Gef. As, mcg/g
3,59
3,67
3,61
3,65
3,59
3,65
3,53
3,45
$\bar{X} = 3,59$
$S = 0,068$

TABELLE 3

**Präzision
bei Bestimmung in derselben Tabakprobe
(Ganze Methode)**

Gef. As, mcg/g	
Marke A rein Virgin	Marke B rein Orient
3,61	0,55
3,61	0,60
3,50	0,57
3,66	0,57
3,68	0,60
3,47	0,51
$\bar{X} = 3,59$	$\bar{X} = 0,57$
$S = 0,079$	$S = 0,033$

TABELLE 4

Bestimmung von zugesetztem Arsen

As, mcg/g		
Soll	Gef.	Diff.
1,66	1,73	+ 0,07
2,94	2,87	- 0,07
3,99	4,01	+ 0,02
5,32	5,13	- 0,19
6,65	6,72	+ 0,07
	$\bar{X} = 0,08$	

5. STÖRUNGSQUELLEN

Es wird angegeben (30, 31), daß Salze von Kobalt, Quecksilber, Nickel, Platin, Silber, Palladium und größere Mengen von Kupfer-, Chrom- und Molybdänsalzen die Entwicklung von Arsenwasserstoff stören. Im Tabak dürften die genannten Salze kaum in störender Konzentration vorkommen.

Wenn Schwefelwasserstoff von der Bleiazetatwatte vollständig zurückgehalten wird, dürfte nur Antimonwasserstoff auf die Farbreaktion einwirken können. Antimonwasserstoff ruft in der Absorptionslösung eine kirschrote Farbe hervor, die ihr Absorptionsmaximum bei ca. 507 m μ hat. Da die spezifische Extinktion nur etwa 13% von der des Arsenkomplexes ist, ist aber mit Antimonstörungen kaum zu rechnen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Silberdiäthylthiocarbamatmethode eignet sich außerordentlich gut zur Bestimmung von kleinen im Tabak vorkommenden Arsenmengen. Sie ist ebenso empfindlich wie die Gutzeitmethode und liefert Resultate von ungefähr derselben Genauigkeit, ist aber einfacher und weniger kritisch im Ausführen und wird daher besonders für sporadisch vorkommende Analysen empfohlen.

SUMMARY

The silverdiethylthiocarbamate method has been found suitable for determining small quantities of arsenic in tobacco. It is as sensitive and about as precise as the Gutzeit method, but its performance is easier and less complicated. The method described is therefore particularly recommended for sporadic analyses.

RÉSUMÉ

La méthode sur le diethyldithiocarbamate d'argent est particulièrement indiquée pour l'identification de petites quantités d'arsenic dans le tabac. Elle est aussi bien sensible et donne des résultats d'environ la même exactitude que la méthode Gutzeit, l'exécution étant moins difficile et moins compliquée. La méthode décrite est particulièrement recommandée pour des analyses sporadiques.

LITERATUR

1. Remington, R. E., *J. Am. Chem. Soc.* 49, 1410 (1927).
2. Daff, M. E., Kennaway, E. L., *Brit. J. Cancer* 4, 173 (1950).
3. Daff, M. E., Doll, R., Kennaway, E. L., *Brit. J. Cancer* 5, 1 (1951).
4. Bailey, E. J., Kennaway, E. L., Urquhart, M. E., *Brit. J. Cancer* 11, 49 (1957).
5. Weber, J. H., *J. Sci. Food Agr.* 8, 490 (1957).
6. Guthrie, F. E., McCants, C. B., Small, N. G., Jr., *Tob. Sci.* 3, 62 (1959).
7. Deschreider, A. R., *Rev. intern. Tabacs* 33, 3 (1958).
8. Holland, R. H., Wilson, R. H., Acevedo, A. R., McCall, M. S., Clark, D. A., Lanz, H. C., 7th International Cancer Congress, London 1958, Abstracts S. 153.
9. *idem.*, *Cancer* 11, 1115 (1958).
10. Holland, R. H., McCall, M. S., Lanz, H. C., *Cancer Research* 19, 1154 (1959).
11. Vallee, B. L., Ulmer, D. D., Wacker, W. E. C., *Arch. Ind. Health* 21, 132 (1960).
12. Popp, H., *Z. angew. Chemie* 41, 838 (1928).
13. Groß, C. R., Nelson, O. A., *Am. J. Publ. Health* 24, 36 (1934).
14. Griffon, H., Delga, J., *Ann. pharm. franc.* 5, 343 (1947).
15. Bunce, E. H., *The Lancet*, Nov. 29, 1952, S. 1082.
16. Enercan, S., *Tekel Inst. Raporl.* 6, 298 (1954).
17. Satterlee, H. S., *New Engl. J. Med.* 254, 1149 (1956).
18. Carey, F. P., Blodgett, G., Satterlee, H. S., *Anal. Chem.* 6, 327 (1934).
19. Satterlee, H. S., Blodgett, G., *Anal. Chem.* 16, 400 (1944).
20. Groß, C. R., *Anal. Chem.* 5, 58 (1933).
21. Thomas, M. D., Collier, T. R., *J. Ind. Hyg. & Toxicol.* 27, 201 (1943).
22. Nordisk Metodikkommitté, Metod M₃-50 (Nunmehr Methode Nr 35, 1959).
23. Cassil, C. C., *J. Assoc. Off. Agr. Chemists* 20, 171 (1937).
24. Vašák, V., Sedivec, V., *Chem. Listy* 46, 341 (1952).
25. *Manual of the American Conference of Governmental Industrial Hygienists*, 1956.
26. Večera, Z., Bieber, B., *Gießereitechnik* 3, 61 (1957).
27. Powers, G. W., Jr., Martin, R. L., Piehl, F. J., Griffin, J. M., *Anal. Chem.* 31, 1589 (1959).
28. Albert, D. K., Granatelli, L., *Anal. Chem.* 31, 1593 (1959).
29. Liederman, D., Bowen, J. E., Milner, O. I., *Anal. Chem.* 31, 2052 (1959).
30. Harkins, W. D., *J. Am. Chem. Soc.* 32, 518 (1910).
31. Sandell, E. B., „*Colorimetric Determination of Traces of Metals*“, Interscience, New York, 1950.

Anschrift des Verfassers: Svenska Tobaks Aktiebolaget, Stockholm 4.