

## Über Trinkwasserprüfung mittels Amido-naphthol-K-säure.

Von Prof. Dr. H. Erdmann.

(Mittheilung aus dem Unterrichtslaboratorium für angewandte Chemie zu Halle.)

Bereits vor mehr als 10 Jahren habe ich der Ansicht Ausdruck gegeben<sup>1)</sup>), dass die chemische Methode der Trinkwasserprüfung der bakteriologischen im Prinzip überlegen sei. Diese Überlegenheit hat nicht nur darin ihren Grund, dass erst die chemische Untersuchung feststellen kann, ob ein Wasser vermöge seiner Zusammensetzung als Nährboden für Mikroorganismen geeignet ist, sondern ist auch namentlich in dem Umstände zu suchen, dass die charakteristischen Stoffwechselprodukte der anaeroben und pathogenen Bakterien längere Zeit in dem inficirten Wasser nachweisbar sind, während die Krankheitserreger selbst, durch starken Zutritt von Luftsauerstoff in ihren Lebensbedingungen beeinträchtigt und von harmlosen Mikroorganismen überwuchert, meist ausserordentlich rasch nach der Probeentnahme dem Untergange verfallen. In der That sind in abgestandenem Wasser fast nie gesundheitsschädliche Mikroorganismen gefunden worden; wohl aber lässt sich darin, wenn das Wasser inficirt war, noch nach Monaten, ja mitunter noch nach Jahren salpetrige Säure nachweisen.

Die zahlreichen zum Nachweis und zur Bestimmung der salpetrigen Säure im Wasser angegebenen Methoden — von den wichtigsten derselben wird weiter unten noch die Rede sein — haben mich durchweg nicht befriedigt. Ich arbeitete schon vor längerer Zeit ein colorimetrisches Verfahren aus<sup>2)</sup>), welches auf der Überführung der salpetrigen Säure in Naphthionsäure-azo- $\alpha$ -naphthol in stark alkalischer Lösung beruhte. Diese Methode hat mir und auch einigen Fachgenossen in Ermangelung einer besseren zwar ganz gute Dienste geleistet, aber schon gelegentlich der Choleraepidemie in Nielleben bei Halle a. S. im Jahre 1892 gewann ich die Überzeugung, dass wir zur Verhütung von Epidemien eines noch schärferen Mittels zum Nachweis und zur Bestimmung der salpetrigen Säure bedürfen. Gerade die Untersuchung der Cholerabakterien hat ja seinerzeit zu der Entdeckung dieses wichtigsten Stoffwechselproduktes pathogener Mikroorganismen geführt. Schon vor 12 Jahren wurde nämlich von verschiedenen Seiten die Beobachtung gemacht, dass in Culturen des Cholerabacillus auf Zusatz von Mineral-

säuren schön violett gefärbte Lösungen entstehen<sup>3)</sup>). Bujvid, der diese Reaction näher untersuchte, fand, dass hier die violetten Salze einer wohl charakterisierten Farbbase vorliegen, welche sich der alkalisch gemachten Lösung durch Ausschütteln mit Benzol entziehen lässt und in braunrothen Blättchen krystallisiert. Durch Lösen in concentrirter Schwefelsäure und Neutralisiren der in Wasser eingetragenen Lösung mit Natronlauge wurde aus diesem „Choleraroth“ eine neue Farbbase, das „Cholerablau“ erhalten; bei der Destillation mit Zinkstaub lieferte das Choleraroth Indol. E. Salikowski<sup>4)</sup> zeigte, dass die Cholerabakterien constant salpetrige Säure produciren und dass die Cholerarothreaction nichts anderes ist als eine bekannte Farbreaction der salpetrigen Säure<sup>5)</sup>.

In der Folge hat man die salpetrige Säure als Stoffwechselproduct zahlreicher und zwar namentlich anaerober und pathogener Bakterien kennen gelernt und man sollte daher annehmen, dass der Nachweis der salpetrigen Säure namentlich im Trinkwasser als ein sehr wichtiger Hinweis auf das Vorkommen solcher Bakterien allgemein benutzt werden wird, wenn es gelingt, die Probe sicher, einfach und scharf genug zu gestalten, um sie überall an Ort und Stelle ohne besondere Apparate ausführen zu können.

Nach meinen Erfahrungen handelt es sich bei Brunnen- oder Grundwasser, welches als Trinkwasser oder doch noch zum Tränken der Haustiere Verwendung findet, um Nitritmengen, die bei sehr mässiger Verunreinigung oder Iufiltration mit thierischen Abgangsstoffen einer Millionstel-Normallösung entsprechen, während eine Hunderttausendstel-Normallösung bereits starke Mikrobenthätigkeit anzeigt. In Ausnahmefällen kann die bakterielle Nitritproduktion in natürlichen Wässern bis zu einer Concentration führen, welche einer Zehntausendstel-Normallösung entspricht. Auf geringere Gehalte als 1 cg Nitritstickstoff im Cubikmeter braucht also keine Rücksicht genommen zu werden; bei Gehalten von 1 cg bis hinauf zu 1 g im Cubikmeter ist aber eine wenigstens annähernde quantitative Bestimmung unerlässlich, wenn man feststellen will, ob das betreffende Wasser durchaus zu verwerfen ist, oder nur als weniger gut, als mehr oder minder verdächtig bezeichnet werden muss.

<sup>3)</sup> Brieger, Deutsche Medicinische Wochenschr. 1887, 303 und 469.

<sup>4)</sup> Über das Choleraroth und das Zustandekommen der Cholerareaktion, Virchow's Archiv Bd. CX, 366.

<sup>5)</sup> Nencki, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1875, VIII, 727.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Naturwissenschaften 1888, 61, 654.

<sup>2)</sup> Dasselbst 1889, 62, 360.

Für einen grossen Theil der ländlichen Bevölkerung, welche ebenso wie die Marine in Auslands- oder Colonialhäfen und das Militär im Manöver sich oft genug mangels eines wirklich einwandfreien Trink- oder Tränkwassers vor die Aufgabe gestellt sieht, unter verschiedenen Brunnen oder Quellen die am wenigsten bedenklichen auszusuchen, ist diese einfache Forderung von grösster Wichtigkeit. Wie wenig aber die bisher üblichen Methoden nach dieser Richtung genügen, geht am deutlichsten aus den Worten hervor, mit welchen Fr. Erismann<sup>6)</sup> den einschlägigen Abschnitt in der neuesten Auflage des trefflichen Böckmann'schen Werkes einleitet:

„Bei der Analyse von Trink- und Brauchwässern kommt man selten in den Fall, die salpetrige Säure quantitativ zu bestimmen. Ein wirklich reines Wasser soll gar keine salpetrige Säure enthalten, und wenn in einem Wasser mehr als Spuren derselben vorhanden sind, so hat dasselbe gewöhnlich auch noch andere Eigenschaften, welche auf eine vor sich gegangene Verunreinigung hindeuten und das Wasser, wenigstens zum Trinken, nicht geeignet erscheinen lassen.“

Von praktischem Interesse ist eben nur die Bestimmung derjenigen Nitritmengen, welche hier als „Spuren“ bezeichnet werden. Die äussere Beschaffenheit solcher für Menschen und Thiere gefährlichen Wässer ist häufig eine sehr gute, selbst wenn sie sich bezüglich ihres Nitritgehaltes bereits der oberen Grenze (1 bis 2 g Nitritstickstoff im Cubikmeter) nähern, und aus „anderen Eigenschaften“, z. B. aus dem Chlorgehalt, Schlüsse auf die Brauchbarkeit eines Trinkwassers ziehen zu wollen, wie dies immer noch häufig geschieht, ist natürlich namentlich da vollständig verfehlt, wo (wie z. B. sehr allgemein in Mitteldeutschland) der Boden Salzschätze in sich birgt und zahlreiche Solequellen entspringen.

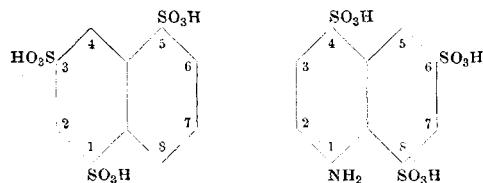
Gelingt es, die salpetrige Säure des Wassers ganz quantitativ in einen farbkärfiigen Azokörper überzuführen, so muss die erzielte Farbenintensität für vorliegenden Zweck zur qualitativen und quantitativen Prüfung vollkommen genügen<sup>7)</sup>. Phenyldiamine<sup>8)</sup> oder ähnliche Körper sind dabei zu vermeiden, da die Braunfärbungen nicht

<sup>6)</sup> Lunge, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden (Springer, Berlin 1899) Bd. I, 728.

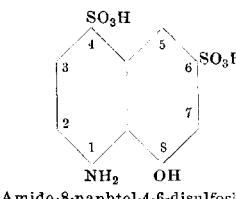
<sup>7)</sup> Vgl. über Farbenintensitäten Annaheim, Berichte d. d. chem. Ges. 1876, IX, 1151.

<sup>8)</sup> Vgl. Griess; Preusse und Tiemann, Berichte d. d. chem. Ges. 1878, XI, 624.

charakteristisch genug sind; auch sind diese Diamine zu empfindlich gegen Oxydationsmittel, mit denen sie ganz ähnliche Farbenerscheinungen geben wie mit salpetriger Säure<sup>9)</sup>. Nach sehr zahlreichen Vorversuchen bin ich schliesslich dabei stehen geblieben, die 1-8-Amidonaphthol-4-6-disulfosäure zu verwenden, welche aus der kürzlich von mir beschriebenen 1-3-5-Naphtalintrisulfosäure<sup>10)</sup> durch Nitrieren, Reduciren und Erhitzen mit Natronlauge gewonnen wird<sup>11)</sup>:



1-3-5-Naphtalintrisulfosäure. 1-Naphthylamin-4-6-8-trisulfosäure.



1-Amido-8-naphthol-4-6-disulfosäure.

Diese Säure hat die Eigenthümlichkeit, in saurer Lösung sich mit Diazovertbindungen sehr glatt zu Monoazofarbstoffen zu kuppeln, welche für den vorliegenden Zweck durch ihre Leichtlöslichkeit, ihre aussergewöhnliche Farbstärke und ihre charakteristische Nüance hervorragend geeignet sind. Die Ausführung der Prüfung geschieht in folgender Weise.

50 cc des zu prüfenden Wassers werden mit 5 cc einer salzauren Sulfanilsäurelösung (2 g krystallisiertes sulfanilsaures Natrium im Liter) versetzt und nach 10 Minuten (in sehr verdünnter Lösung vollzieht sich die Diazotirung nicht momentan) etwa 0,5 g 1-Amido-8-naphthol-4-6-disulfosäure in fester Form (als saures Alkalialsalz) zugegeben. Es tritt bei Anwesenheit von salpetriger Säure eine leuchtend bordeauxrote Färbung ein, welche in einer Stunde ihre volle Intensität erreicht. Zur quantitativen Bestimmung vergleicht man nach Verlauf dieser Zeit die erhaltene Färbung in bekannter Weise mit den gleich-

<sup>9)</sup> Aus dem gleichen Grunde ist die Jodzinkstärkeprobe zu verwerfen (vgl. auch Kämmerer, Zeitschr. f. analyt. Chemie XII, 377), welche z. B. in bakteriologischen Laboratorien leider noch vielfach in Anwendung ist. Nicht nur auf das Vorkommen von Eisenoxyd, sondern auch auf freies Chlor, Ozon und andere Oxydationsmittel ist bei dem heutigen Stande der Abwasserfrage Rücksicht zu nehmen. Bei der Anwendung der Jodstärke-reaction würde gerade ein durch solche Stoffe völlig desinfiziertes Wasser verdächtig erscheinen.

<sup>10)</sup> Berichte d. d. chem. Ges. 1899, XXXII, 3186.

<sup>11)</sup> Chemische Industrie 1898, 523; Lehne's Färberzeitung 1899, X, 358.

zeitig hergestellten Controlfärbungen. Zu diesen bedient man sich einer Millionstel-Normalnitritlösung, einer Hunderttausendstel-Normalnitritlösung und einer Zehntausendstel-Normalnitritlösung<sup>12)</sup>. Bei genauen Bestimmungen sind diese Lösungen durch Verdünnen von Normalnatriumnitrit mit Wasser frisch zu bereiten, da sich in so dünnen Nitritlösungen bald Mikroorganismen ansiedeln, durch deren Thätigkeit der Gehalt an salpetriger Säure mit der Zeit abnimmt. Aus demselben Grunde findet man beim längeren Aufbewahren der infizierten Wässer eine Abnahme des Salpetrigsäuregehaltes; indessen ergibt sich wohl aus folgendem Beispiel bereits zur Genüge, dass die salpetrige Säure die Lebenszeit der sie erzeugenden Mikroorganismen erheblich überdauert.

Infolge einer aufgetretenen Milzbrandepidemie in dem Rinderstalle der Domäne B. (in den Vorbergen des Harzes gelegen) sandte mir der Domänenpächter Herr M. im Januar 1899 Proben I und II des zum Tränken benutzten Wassers. Da in wenigen Tagen 5 Rinder der Seuche zum Opfer gefallen waren, wurde ein anderes Tränkwasser besorgt, wos nach die Krankheit aufhörte. Als auf die sehr bestimmte Behauptung des Thierarztes, dass das Wasser nicht die Ursache der Epidemie sein könne, der verlassene Brunnen wieder benutzt wurde, trat Milzbrand wieder auf. Nun wurde Probe I entnommen und nach erfolgter Reinigung des Brunnens Probe II. Beide Proben enthielten unzulässige Mengen von salpetriger Säure. Um nun festzustellen, ob nur eine zeitweilige zufällige Verunreinigung vorlag oder fortwährend schädliche Einflüsse auf den Brunnen stattfanden, entnahm ich persönlich nach 10 Monaten (December 1899) eine neue Probe III.

Probe I Probe II Probe III  
Nitritstickstoff pro cbm 1,2 g 0,05 g 0,15 g

Der aussergewöhnlich hohe Gehalt an Nitritstickstoff der Probe I blieb auch beim Aufbewahren sehr constant und betrug nach einem Jahr an nähernd 1,0 g pro Cubikmeter.

Von den bisher für die Bestimmung des Nitritstickstoffes bei Gegenwart von Nitrat vorgeschlagenen Proben ist wohl noch die beste das von P. Griess<sup>13)</sup> empfohlene Reagens mit  $\alpha$ -Naphylamin, welches durch einen Ministerialerlass vom 31. Juli 1894 in Elsass-Lothringen eingeführt wurde<sup>14)</sup>. Diese Reaction ist zwar ziemlich empfindlich, aber doch für den vorliegenden Zweck viel weniger geeignet. Zunächst ist schon lästig, dass dieses Reagens sehr schwer farblos zu erhalten ist und sich beim Aufbewahren nicht

<sup>12)</sup> An Stelle von Controlösungen kann man sich natürlich auch einer Farbenskala auf Papier zur colorimetrischen Vergleichung bedienen.

<sup>13)</sup> Berichte d. d. chem. Ges. 1879, XII, 427.

<sup>14)</sup> Jahrbuch der Medicinalverwaltung in Elsass-Lothringen 1895, VII, 130.

gut hält. Noch störender ist die Schwierlichkeit des gelbrothen Farbstoffes, der namentlich bei der Prüfung harter oder salzhaltiger Wässer in unansehnlichen Flocken ausfällt; dies macht natürlich eine colorimetrische Bestimmung ganz unmöglich. Ohne daher die Verwendbarkeit dieses Reagens zur Prüfung der Schwefelsäure auf Nitrosylschwefelsäure<sup>15)</sup>, über die ich keine Versuche angestellt habe, in Frage stellen zu wollen, kann ich es für Wasseruntersuchung nicht für scharf und charakteristisch genug erachten. Noch weniger hält das Verfahren von Riegler<sup>16)</sup> den Vergleich mit der soeben beschriebenen neuen Methode aus; die Naphthionsäure, ebenso wie zahlreiche andere leicht diazotirbare Substanzen, die ich auch zu meinen Versuchen herangezogen habe, wirkt schon durch ihre Fluorescenz störend. Die Lösungen der 1-Amido-8-naphthol-4-6-disulfosäure fluoresciren unter den angegebenen Bedingungen nicht; durch Oxydationsmittel wie Eisenchlorid werden sie gelb gefärbt. Eine Verwechslung dieser Gelbfärbung mit dem leuchtend bordeauxrothen Farbstoff, auf dessen Bildung die beschriebene Wasserprüfung beruht, ist vollständig ausgeschlossen.

Proben der soeben beschriebenen neuen Reagentien, fertig für die Wasserprüfung zubereitet, werden aus dem Unterrichtslaboratorium für angewandte Chemie zu Halle, Domplatz 1, an Interessenten bereitwilligst und kostenfrei abgegeben<sup>17)</sup>. Diejenigen Herren Collegen, welche von diesem Anerbieten Gebrauch machen, werden gebeten, die von ihnen gemachten Erfahrungen mitzutheilen, entweder brieflich oder durch eine kurze Notiz in dieser Zeitschrift. Namentlich würden vergleichende bakteriologische und chemische Untersuchungen eines und des selben Wassers, dessen Gehalt an pathogenen Bakterien durch toxische Wirkung bewiesen ist, sehr erwünscht sein. Die Einrichtungen meines Laboratoriums reichen leider zur Zeit für solche Arbeiten nicht aus.

<sup>15)</sup> Lunge u. Lwoff, Zeitschr. angew. Chemie 1894, 348.

<sup>16)</sup> Zeitschr. f. analyt. Chemie XXXV, 677; XXXVI, 377; König, Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe (2. Aufl. 1898) 610.

<sup>17)</sup> Die Versendung dieser Gratisproben hat die Firma J. F. Schwarzlose Söhne (Berlin SW., Markgrafenstr. 29), in bakteriologischen Kreisen durch die Einführung des Loeffler'schen Mäusebacillus bereits wohlbekannt, freundlichst übernommen.