

Über eine quantitative Mikrobestimmung des Arsens in Leichenteilen.

Von **P. Szendrö** und **G. Fleischer**.

(Aus d. Inst. f. med. Chem. d. Tierärztl. Hochschule, Wien, Vorst. Prof. Dr. H. Jansch.)

(Eingelangt am 6. Juli 1929.)

Die lange Dauer der Arsenbestimmung im Leichenmaterial sowie die zeitraubende Arbeit, die, abgesehen von einem großen Aufwand an Chemikalien, nach der alten Methode notwendig ist, haben es wünschenswert erscheinen lassen, eine Methode ausfindig zu machen, die den Anforderungen sowohl in bezug auf Kürze der Zeit als auch an Genauigkeit der gefundenen Resultate entspricht.

Über Anregung des Herrn Prof. Dr. H. JANSCH sollte versucht werden, unter den von verschiedenen Autoren angegebenen mikroanalytischen Bestimmungen des Arsens die zu dem erwähnten Zweck geeignetste aufzufinden.

Es sei nur erwähnt, daß nach der alten Untersuchungsweise die Zerstörung und Fällung einige Tage in Anspruch nimmt und erst nach dieser Zeit der qualitative Nachweis des Arsens erbracht werden kann, welcher Umstand besonders bei forensischen Untersuchungen als sehr unangenehm empfunden wird.

Der quantitative Nachweis erfordert wieder eine eintägige Wartezeit und somit ist das Resultat im besten Falle an eine etwa einwöchige Untersuchungsdauer gebunden.

Daß sich diese alte Methode so langwierig gestaltet, hat folgende Gründe:

1. Ist die Verarbeitung einer großen Menge organischen Materials notwendig.
2. Ist die Abtrennung des Arsens von den übrigen Metallen langdauernd und mit Schwierigkeiten verbunden, und
3. die Langwierigkeit der quantitativen Bestimmung des Arsens auf gravimetrischem Wege.

Diese Schwierigkeiten können umgangen werden:

1. Wenn es gelingt, in kleinen Mengen des Untersuchungsmaterials genügend genaue Resultate zu erhalten.
2. Wenn es möglich ist, eine Bestimmungsmethode für das Arsen zu finden, bei der keine zeitraubenden Trennungen vorgenommen werden müssen.
3. Durch Anwendung einer in kurzer Zeit ausführbaren Bestim-

mungsmethode für das Arsen, bei der vor allem die volumetrischen Bestimmungen in Betracht zu ziehen sind.

Die in letzter Zeit von verschiedenen Autoren angeführten mikroanalytischen Arsenbestimmungsmethoden, mit deren Hilfe es möglich ist, kleine Arsenmengen mit weitgehender Genauigkeit zu bestimmen, berechtigten zu der Hoffnung, auch mit geringsten Mengen Untersuchungsmaterial das Auslangen zu finden. Nur war es notwendig, durch möglichst feine Verteilung und innigstes Durchmischen des Materials eine so weitgehende Gleichmäßigkeit in der Verteilung zu erreichen, daß eine Menge von wenigen Grammen bereits als einwandfreie Durchschnittsprobe angesehen werden konnte.

Unter allen nach dieser Richtung hin arbeitenden Bestimmungsmethoden für das Arsen erschien uns die von O. WINTERSTEINER¹⁾ beschriebene als die für unsere Zwecke geeignetste, da sie außer der raschen Ausführbarkeit auch noch den Vorteil besitzt, das Arsen ohne vorhergehende Reduktion zu bestimmen (das heißt direkt in der Form, in der es nach Zerstörung der organischen Substanz vorliegt).

Außerdem steht sie keiner der anderen Bestimmungsmethoden an Genauigkeit nach. Eine Beeinträchtigung des Resultats ist für gewöhnlich höchstens durch Eisen oder Kupfer zu befürchten; es ist klar, daß bei Gegenwart von Antimon die Methode nicht anwendbar ist.

Die Anwesenheit von Kupfer müßte also vor Ausführung der Bestimmungsmethode nach WINTERSTEINER durch eine qualitative Untersuchung festgestellt werden und bei positivem Ausfall der Kupferreaktion wäre das Kupfer nach der bekannten und bewährten Mikromethode nach F. PREGL zu entfernen.

Mit der Gegenwart von Eisensalzen muß bei Aufarbeitung von Organmaterial selbstverständlich immer gerechnet werden. Um also auch bei Vorhandensein von Eisen richtige Werte für das Arsen zu erhalten, scheinen zwei Wege gangbar zu sein. Entweder könnte man eine vollständige Trennung des Arsens vom Eisen versuchen und die Bestimmung des Arsens in der eisenfreien Lösung ausführen, oder aber man könnte den Gesamtwert (also für Eisen und Arsen) bestimmen, den Gehalt an Eisen quantitativ ermitteln und um den entsprechenden Eisenwert von dem ersteren abziehen.

¹⁾ O. WINTERSTEINER, unter Mitwirkung von H. HANNEL, Mikrochemie IV, 155 (1926).

Vorversuche über eine Trennung des Arsens vom Eisen ließen bald erkennen, daß dieser Weg entweder eine Verlängerung der Arbeitszeit bedingt oder zu ungenauen Resultaten führt.

Dagegen bot die colorimetrische Bestimmung des Eisens Aussicht auf Erfolg.

Durch eine Reihe von Versuchen konnte festgestellt werden, daß die von BERMANN²⁾ angegebene colorimetrische Bestimmung des Eisens als Rhodanid, auch bei Zerstörung der organischen Substanz mit dem NEUMANN'schen Säuregemisch in der von WINTERSTEINER angegebenen Modifikation, und zwar direkt in den wässrigen Lösungen (BERMANN setzt zu den zu colorimetrierenden Lösungen das gleiche Volumen Aceton zu) einwandfreie Resultate liefert.

Die beigeschlossene Tabelle zeigt, daß die durch Verbindung dieser beiden Methoden (colorimetrische Bestimmung des Eisens; maßanalytische Bestimmung von Eisen und Arsen nach WINTERSTEINER) unternommenen Versuche bis herab zu einer Menge von 0,1 bis 0,05 mg Arsen in 1 g Organen durchaus befriedigende Werte liefern.

Die Bestimmungen wurden im wesentlichen nach den von WINTERSTEINER gemachten Angaben durchgeführt und nur insoweit kleine Änderungen berücksichtigt, als sie für die Untersuchung des organischen Materials und die Genauigkeit der Versuche nach dieser Richtung hin notwendig waren.

Ausführung der Bestimmung*):

2 g Organe werden in einen Zerstörungskolben eingewogen, einige ccm Schwefelsäure von 33 Volum-Prozent zugesetzt, wodurch etwa an der Wand haftende Organteilchen in die Kugel des Kolbens hinabgespült werden. Dann werden zirka 1 ccm konzentrierte Salpetersäure und schließlich eine bestimmte Menge Arsen zugesetzt. Das Eindampfen erfolgt nun am schnellsten aus freier Hand über der Flamme eines klein gedrehten Bunsenbrenners, bis weiße Schwaden von Schwefeltrioxyd zum Vorschein kommen. Der Vorgang muß unter oftmaligem Zusatz von konzentrierter Salpetersäure solange fortgesetzt werden, bis auch die letzten Spuren organischer Substanz zerstört sind. Als beendet ist der Vorgang erst

²⁾ BERMANN, Journ. biol. Chem., Bd. 35, S. 231 (1918).

*) Anmerkung: Soweit sich die Beschreibung auf die Zerstörung organischen Materials und auf die Ausführung der Titration bezieht, haben wir uns zum Teil des Wortlautes von O. WINTERSTEINER bedient.

dann anzusehen, wenn die Flüssigkeit vollkommen klar und hell gefärbt ist, was durch mehrmaligen Zusatz von konzentrierter Salpetersäure in den meisten Fällen erreicht werden kann. In jenen Fällen, wo eine einwandfreie helle und klare Farbe durch konzentrierte Salpetersäure nicht zu erzielen ist, geht man sicher, wenn unter Zusatz von einigen Tropfen Perhydrol nochmals bis zum Aufsteigen von Schwefeltrioxyddämpfen erhitzt wird. Bei schwer verbrennlichen Substanzen, welche durch einmaliges Zusetzen von Perhydrol noch keine wasserklare Lösung liefern, wird die Behandlung mit Perhydrol solange fortgesetzt, bis die Flüssigkeit vollkommen klar erscheint. Der Inhalt des Kolbens wird nun abkühlen gelassen, sodann mit ungefähr 1 ccm Wasser versetzt und bis zum Auftreten der Schwefeltrioxyddämpfe eingedampft. Dieser Vorgang wird am besten noch einmal wiederholt zum Zwecke der vollständigen Zersetzung der Sulfomonopersäure und Nitrosylschwefelsäure. Das Abdampfen des Wassers geschieht am schnellsten und sichersten aus freier Hand über der Flamme und nimmt kaum einige Minuten in Anspruch. Der ganze Vorgang einschließlich der Titration und Colorimetrie dauert höchstens eine bis eineinhalb Stunden.

Zum Kolbeninhalt wird nun noch zirka 1 ccm Wasser zugesetzt, zur Entfernung der Luft noch einmal aufgeköcht, in ein 10 ccm fassendes Meßkölbchen ausgegossen und bis zur Marke mit destilliertem Wasser gefüllt. Der Inhalt des Kölbchens wird nach kräftiger Durchmischung mit dem Wasser in ein 150 ccm fassendes Gefäß mit eingeschliffenem Glasstöpsel ausgegossen, 5 ccm werden für die Colorimetrie entnommen und die restlichen 5 ccm nach mehrmaligem Ausspülen des Meßkölbchens mit 10 ccm konzentrierter reiner Salzsäure zur Titration verwendet. (Die Salzsäure wird vorher durch ungefähr zwei Minuten auf dem Drahtnetz über einer klein gedrehten Bunsenflamme ausgeköcht, um den Sauerstoff und freies Chlor zu entfernen.)

Zu der für die Titration zur Verwendung kommenden Lösung werden 2 ccm einer 4%igen Lösung von reinem, jodstoffreiem Kaliumjodid zugefügt, das Gefäß verschlossen und zehn Minuten stehengelassen. Die Titration des ausgeschiedenen Jods erfolgt mit 0,01 n-Thiosulfatlösung aus einer BANG'schen, 10 ccm fassenden Mikrobürette (zur genauen Ablesung wurde im späteren Verlauf der Untersuchungen eine 2 ccm fassende Mikrobürette mit Hundertstelteilung verwendet). Ist das Jod soweit durch das Thio-

sulfat entfernt, daß die Lösung nur mehr schwach gelb gefärbt erscheint, so wird soviel Wasser zugesetzt, daß das Volumen ungefähr 20 ccm beträgt, und drei Tropfen einer 1%igen Stärkelösung zugefügt. Als Endpunkt der Titration wird das Auftreten eines charakteristischen, schwach rötlichen Farbtones angesehen. Eine schwache Nachbläuung wird beim Einhalten der Angaben erst nach ungefähr zehn Minuten zu beobachten sein. Zur Erreichung einwandfreier Ergebnisse ist es notwendig, eine Blindprobe mit der zur Verwendung gelangenden Kaliumjodidlösung auszuführen. Nach unseren Erfahrungen treten schon nach zwei- bis dreistündigem Stehen der Kaliumjodidlösung so starke Jodausscheidungen auf, daß sie nicht mehr vernachlässigt werden dürfen und auch bei ganz frisch bereiteten Lösungen wurden nach dem zehn Minuten langen Stehen mit der starken Salzsäure meistens geringe Mengen der $\frac{n}{100}$ - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ -Lösung (0,1 bis 0,2 ccm) verbraucht.

Aus der beigegeführten Tabelle ist ersichtlich, daß die bei der Untersuchung „konstruierter“ Fälle (Zusatz einer genau bekannten Menge arsensauren Natriums zu einer abgewogenen Menge tierischer Organe) durchaus befriedigende Resultate erhalten wurden. Es wurde in der Weise eine Annäherung an einen Ernstfall versucht, daß größere Mengen (365 g) Organe mit einer Arsenlösung von bestimmter Konzentration versetzt wurden. Hiervon wurden nach inniger Durchmischung dreimal je 2 g entnommen und das Arsen in der angeführten Weise bestimmt. Die Titrationswerte blieben sich mit unbedeutenden Schwankungen im wesentlichen gleich. (Nr. 13, 14, 15 der Tabelle.)

Um ganz sicher zu gehen und den natürlichen Verhältnissen in jeder Weise zu entsprechen, wurde die Brauchbarkeit des beschriebenen Untersuchungsverfahrens auch für gerichtlich-chemische Ernstfälle durch Vergiftung eines Hundes (kurzhaariger Dackel von ungefähr 10 kg Körpergewicht) geprüft. Zur Bestimmung wurden die sämtlichen inneren Organe verwendet. Die Untersuchungen wurden vergleichsweise nach dem bei uns üblichen Makroverfahren quantitativ auf Arsen vorgenommen. Die gesamten Organe (Magen, Darm, Herz, Lunge, Leber, Nieren) im Gewichte von 2045 g wurden mit der Faschiermaschine möglichst fein zerschnitten und dann wurde durch langes gründliches Durchmischen eine gleichmäßige Verteilung des enthaltenen Arsens erzielt.

200 g dieser gut durchgemischten Menge wurden mit HCl und KClO_3 zerstört und das Arsen durch Fällen mit H_2S , Lösen in

$(\text{NH}_4)_2\text{S}$, Oxydieren mit HNO_3 , Schmelzen mit Soda-Salpeter, Ansäuern, Fällern mit Mg-Mixtur bestimmt. Die Menge des Mg-Pyrosarsenats betrug in je der Hälfte der Lösung 0,0170, bezw. 0,0159 g, dies entspricht einem Gehalt von 10,83, bezw. 10,13 mg Arsen-trioxyd in je 100 g der Organe.

In je 2 g der Organe wurde unter Anwendung der Arsenbestimmung nach WINTERSTEINER und der colorimetrischen Bestimmung des Eisens ein Gehalt von 0,091, 0,096, 0,115 mg As_2O_3 für je 1 g Organe festgestellt. Dies entspricht einem Gehalt von 10,1 mg As_2O_3 auf je 100 g der Organe. (Durchschnittswert der drei ausgeführten Bestimmungen.) (Nr. 16, 17, 18 der Tabelle.)

Diese Bestimmungen zeigen demnach genügend weitgehende Übereinstimmung, um die Anwendung dieses neuen Verfahrens auch für gerichtlich-chemische Untersuchungen berechtigt und empfehlenswert erscheinen zu lassen.

Zum Schluß erlauben wir uns, Herrn Professor Dr. H. JANSCH für die gegebenen Anregungen unseren wärmsten Dank auszusprechen.

	Gesamtverbrauch an Thiosulfat $\frac{\text{ccm } n^*}{100 \text{ Lösung}}$	Blindwert $\frac{\text{ccm } n^*}{100 \text{ Thiosulfat Lösung}}$	Dem Eisen entsprechende Menge Thiosulfat $\frac{\text{ccm } n^*}{100 \text{ Lösung}}$	Dem Arsen entsprechende Menge $\frac{\text{ccm } n^*}{100 \text{ Lösung}}$ Thiosulfat	Zugesetzte Menge Arsen als $\text{mg As}_2\text{O}_3$	Gefundene Menge Arsen als $\text{mg As}_2\text{O}_3$
1.	3,75	0,15	0,56	3,04	1,505	1,462
2.	2,70	0,20	0,93	1,57	0,753	0,765
3.	1,80	0,15	0,87	0,78	0,375	0,375
4.	1,70	0,20	0,58	0,39	0,149	0,187
5.	0,95	0,20	0,41	0,34	0,149	0,164
6.	0,85	0,15	0,52	0,18	0,075	0,087
7.	1,84	0,20	1,27	0,37	0,154	0,178
8.	1,54	0,20	0,99	0,35	0,154	0,168
9.	0,96	0,20	0,56	0,20	0,077	0,096
10.	0,88	0,00	0,70	0,18	0,077	0,087
11.	1,04	0,20	0,70	0,14	0,039	0,067
12.	1,00	0,20	0,67	0,13	0,039	0,062
13.	1,12	0,20	0,54	0,38	0,164	0,183
14.	1,60	0,20	1,03	0,37	0,164	0,178
15.	1,58	0,20	0,98	0,40	0,164	0,192
16.	0,71	0,22	0,30	0,19		0,191
17.	0,96	0,20	0,56	0,20		0,096
18.	0,82	0,22	0,36	0,24		0,115

*) Normalitätsfaktor = 0,9719.