

Über den Nachweis des Arsens im Harn.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.

(Der Redaktion zugegangen am 26. April 1908.)

Von den vielen Verfahren, die im Laufe der Zeit zur Zerstörung der organischen Substanz bei forensischen Untersuchungen von Magen- und Darminhalt usw. auf metallische Gifte und Arsen empfohlen worden sind, hat sich nur eines dauernd in Gebrauch gehalten: die Behandlung mit Salzsäure und Kaliumchlorat oder Überchlorsäure. Man muß also wohl annehmen, daß dieses Verfahren in der Tat vor den anderen entscheidende Vorzüge besitzt. Für fortlaufende Untersuchungen im klinischen Interesse ist dasselbe indessen wegen seiner großen Umständlichkeit und Langwierigkeit kaum anwendbar. Dieser Umstand hat dazu geführt, es abzukürzen und zwar, indem man die Ausfällung des Arsens durch Schwefelwasserstoff, die allein ca. 12 Stunden erfordert — ganz abgesehen von der langwierigen Behandlung des Schwefelarsen enthaltenden Niederschlages —, ganz fortließ und die von Chlor resp. den niedrigen Oxydationsstufen des Chlors tunlichst befreite Lösung direkt in den Marshschen Apparat brachte. So sind wohl die meisten klinischen Untersuchungen von Harn auf Arsen ausgeführt worden, allenfalls hat man noch die filtrierte saure Lösung vor dem Einbringen in den Marshschen Apparat schwach alkalisiert und dann mit Schwefelsäure wieder schwach angesäuert. Aber auch dieses abgekürzte Verfahren ist immer noch ziemlich langwierig und auch nicht einwandfrei. Es besteht also für die Untersuchung des Harns auf Arsen unzweifelhaft das Bedürfnis nach einem kürzeren und einfacheren Wege. Dies machte sich

auch bei mir geltend, als ich eine größere Anzahl von Kaninchenharnen nach Einführung einer Eisen und Arsen enthaltenden Verbindung der Paranucleinsäure auf Arsengehalt zu untersuchen hatte.

Meine Versuche zur Auffindung eines solchen einfacheren Verfahrens sind ausschließlich an Kaninchenharnen angestellt, streng genommen beziehen sich meine Angaben im folgenden also nur auf diesen. Zu jedem Versuch diente, wenn nichts anderes bemerkt ist, eine Tagesquantität frischen oder mit Chloroform konservierten Harns. Die Kaninchen wurden in den weiter zurückliegenden Versuchen mit Weißkohl und Hafer gefüttert, in den späteren ausschließlich mit Weißkohl, weil es sich gezeigt hatte, daß dieser als alleiniges Futter am längsten — wochen-, selbst monatelang ununterbrochen — vertragen wird und die Tiere dabei große Mengen typischen, stark alkalischen Harns entleeren. Die Kaninchen von ca. 2000—2300 g Körpergewicht bekamen täglich 600 g Kohl und entleerten dabei täglich ca. 420 bis 500 ccm Harn. In den früheren Versuchen ist, entsprechend der anderen Fütterung, die Harnmenge und auch wohl die Quantität der im Harn entleerten festen Substanz, etwas, zum Teil erheblich, geringer.

Zur Konstatierung des Arsens diente ausschließlich der Marshsche Apparat; ich will durchaus nicht behaupten, daß man nicht auch mit der Gutzeit-Hagerschen Reaktion mit Silbernitrat (mit konzentrierter Silbernitratlösung 1 : 1 befeuchtetes Filtrierpapier wird dem zu prüfenden Wasserstoff ausgesetzt) zu beweisenden Resultaten gelangen kann, ich habe aber das Marshsche Verfahren¹⁾ vorgezogen, weil es mir das Gefühl größerer Sicherheit gab, außerdem aber den nicht zu unterschätzenden Vorzug bietet, daß man die Röhren aufbewahren und die Stärke des Arsenspiegels in verschiedenen Röhren vergleichen kann. Arsenfreie Reagenzien sind jetzt ohne Mühe

¹⁾ Wie ich aus Otto «Ausmittlung der Gifte», 4. Aufl., 1870, S. 72, entnehme, rührt das Verfahren, die Abscheidung des Arsens durch Glühen zu bewirken und Arsen auf diesem Wege zu erkennen, nicht von Marsh, sondern von Berzelius her, Marsh hat nur die Bildung von Arsenflecken empfohlen.

zu haben, gegen Irrtümer kann man sich durch Kontrollversuche schützen, ist auch durch die negativ ausfallenden Proben geschützt.

Der Apparat war der gewöhnlich gebrauchte, nur war der einfache Trichter durch einen Hahntrichter ersetzt. Diese Abänderung halte ich für sehr zweckmäßig, ja eigentlich notwendig. Wenn man einen einfachen Trichter anwendet, gelangt beim Eingießen der zu prüfenden Lösung unvermeidlich Luft in den Apparat. Dies läßt sich bei Anwendung eines Tropftrichters vollständig vermeiden, wenn man folgendermaßen verfährt. Man beschickt das Entwicklungsgefäß mit Zink — es wurden stets ca. 20 g angewendet — und 2—3 Tropfen etwa $\frac{1}{3}$ 0/0iger Platinchloridlösung, läßt die Schwefelsäure einfließen — es wurden ca. 60—80 ccm 20 0/0ige Schwefelsäure angewendet —, drückt dann den Gummischlauch am Ende des Apparates zusammen, um die Dichtigkeit des Apparates zu prüfen: sobald die in dem Entwicklungsgefäß enthaltene Flüssigkeit über die Hahnbohrung gestiegen ist, dreht man den Hahn um und kann nun die zu prüfende Lösung vollständig eingießen, ohne daß Luft in den Apparat gelangt. Der Hahn ermöglicht es auch, nur einen Teil der Lösung anzuwenden, was oft zweckmäßig ist. Wenn der Arsengehalt des Harns groß ist, sieht man öfters, nachdem nur die Hälfte oder ein Drittel der Lösung eingelassen ist, schon nach einigen Minuten den ersten Anflug von Arsen Spiegel. Man kann dann sicher sein, aus der hineingelassenen Quantität einen starken Arsenspiegel zu erhalten, und es würde dann keinen Zweck haben, den Rest auch noch einfließen zu lassen, es sei denn, daß man die Ausbildung des Spiegels zu Vergleichen benutzen will. Es empfiehlt sich übrigens, in jedem Falle die zu prüfende Flüssigkeit successiv zuzusetzen, um eine zu starke Entwicklung von Wasserstoff zu vermeiden.

Wie jedes andere Verfahren hat auch das Marshsche bei aller Feinheit seine Klippen. Es ist bekannt, daß die Gegenwart von Salpetersäure oder Nitraten störend wirkt. Ich habe mich durch einige Versuche hiervon überzeugt.

Bei Anwendung von 0,2 mg As_2O_3 (2 ccm einer Lösung von 0,1 0/00 auf etwa 80 ccm verdünnt) zeigte sich bereits einige Minuten nach dem Zusatz der erste deutliche bräunliche Anflug,

nach einer halben Stunde (vom Beginn des Versuches an gerechnet) war ein außerordentlich starker Spiegel zu konstatieren.

Bei Zusatz von $0,2 \text{ mg As}_2\text{O}_3 + 2 \text{ g KNO}_3$ war unter denselben Bedingungen der erste Anflug erst nach 8—10 Minuten wahrzunehmen; als der Versuch 1 Stunde nach Beginn unterbrochen wurde, war der Spiegel nur sehr schwach.

Weniger bekannt und unter Umständen in Betracht kommend ist der Einfluß einer, wenn auch nur geringen Quantität von gleichzeitig mit dem Wasserstoff sich entwickelnden Schwefelwasserstoff; dieser vereitelt den direkten Nachweis von zu Kaninchenharn (bei der angegebenen Fütterung) zugesetzter arseniger Säure unbedingt.

Zu einer Tagesquantität (ca. 450 ccm) stark alkalisch reagierenden Kaninchenharns wurden $0,2 \text{ mg As}_2\text{O}_3$ hinzugesetzt, eingedampft, dann mit H_2SO_4 angesäuert und in den Marshschen Apparat gebracht. Es konnte keine Spur von Arsen Spiegel erhalten werden. Die Anwesenheit von H_2S dokumentierte sich dadurch, daß in der Röhre ein anfangs gelblich-weißer, später deutlich gelber Belag von Schwefel entstand, sowie durch die Bräunung einer alkalischen Bleilösung, durch die man den austretenden Wasserstoff streichen ließ. Es ist mir nicht gelungen, die H_2S -Entwicklung durch Einbringen von etwas Bleihydrat oder einigen Tropfen Bleiessig in das Entwicklungsgefäß zu verhüten.

Ebenso blieb der Arsen Spiegel aus, wenn der mit arseniger Säure versetzte Harn stärker eingedampft, mit etwas Schwefelsäure angesäuert und dann bei bereits bestehender Wasserstoffentwicklung hinzugesetzt wurde.

Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich zu der Hauptfrage, der Auffindung eines zweckmäßigen und bequemen Oxydationsverfahrens, über. Diese Frage wurde teils an arsenhaltig entleerten Harnen, teils an solchen mit Zusatz von arseniger Säure und Arsensäure zu Kaninchenharn untersucht und zwar zum Teil vergleichend mit dem üblichen Oxydationsverfahren mit Salzsäure und Kaliumchlorat.

Der leichteren Verständigung wegen halte ich es für zweckmäßig, die einzelnen Versuchsreihen und außerdem die einzelnen Versuche mit fortlaufenden Zahlen zu versehen.

Erster Teil.

Harne, die nach Arseneingabe entleert sind.

Versuchsreihe I.

Zur Anwendung kam der Harn eines ca. 2300 g schweren, mit Hafer und Kohl gefütterten Kaninchens, nach Zufuhr von As_2O_3 in sehr verdünnter, schwach alkalischer Lösung von 0,1%.

Am 9./8. 07, ebenso am 10./8. und 11./8. erhielt das Kaninchen je 10 ccm auf 25 ccm verdünnt, also im ganzen 0,03 As_2O_3 = 0,0227 As. Das Tier blieb gesund. Harn der darauffolgenden 6×24 Stunden gesammelt = 1140 ccm,¹⁾ in diesem Fall durch Ansäuern mit Salzsäure konserviert. — Die Verarbeitung geschah erst etwa 1 Monat später.

Versuch 1. 190 ccm = Tagesquantität bei alkalischer Reaktion (Zusatz von Na_2CO_3) eingedampft, Behandlung mit $\text{HCl} + \text{KClO}_3$, Ausfällen mit H_2S (12 Stunden bei 70—80°) usw. Oxydation mit rauchender Salpetersäure, Schmelzen des alkalisierten Abdampfungsrückstandes mit Salpetermischung, Abdampfen mit Schwefelsäure: Schwacher Arsenspiegel.

Versuch 2. Ebenso, jedoch ohne vorgängige Fällung des Arsens durch H_2S : Mäßiger Arsenspiegel.

Versuch 3. Der Harn bei neutraler Reaktion eingedampft, mit ca. 150 ccm Alkohol extrahiert, nach kurzem Stehen filtriert, Alkoholauszug verdunstet, auf den noch heißen Rückstand in der Schale 12—15 ccm Salpetersäure von 1,48 D. (nicht rauchende) gegossen, wobei stürmische Reaktion eintritt, eingedampft. Der gelbliche Rückstand unter Zusatz von K_2CO_3 in Wasser gelöst, die trübe Lösung in eine Platinschale gebracht, auf Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft, dazu 15 g Salpetermischung (2 T. KNO_3 , 1 T. Na_2CO_3), welche die Flüssigkeit ganz aufsaugt, Schmelzen (geht ohne Schwierigkeit). Die Schmelze in Wasser gelöst, filtriert. Filtrat im Kolben mit H_2SO_4 angesäuert, zur Entfernung von Kohlensäure und salpetriger Säure gekocht, dann eingedampft (saure Reaktion bleibt bestehen), mit Alkohol gefällt, die alkoholische

¹⁾ Die relativ geringe Harnmenge erklärt sich aus der Art der Fütterung und der etwas verminderten Freßlust.

Lösung abfiltriert, eingedampft, der bleibende Rückstand mit Wasser in den Kjeldahl-Kolben, 8—10 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzugesetzt, ca. 1 Stunde erhitzt, nach dem Erkalten Wasser hinzugesetzt (keine nitrosen Dämpfe). Die schwefelsaure Lösung in den Marshschen Apparat.

Schon nach wenigen Minuten beginnender Arsenspiegel, der schließlich enorm wird.

Der leichteren Verständigung wegen bezeichne ich dieses Verfahren als «Schmelzverfahren a». Im Anschluß hieran wurde ein blinder Versuch mit allen gebrauchten Reagenzien ungefähr in denselben Quantitäten angestellt, der ein gänzlich negatives Resultat hatte.

Ich habe nun das eingeschlagene Verfahren in einigen Punkten zu begründen.

Die Extraktion des Harns mit Alkohol wurde in der Absicht vorgenommen, die Quantität der organischen Substanz etwas zu verringern, nachdem ich mich an der Tagesquantität eines normalen Harnes überzeugt hatte, daß die direkte Schmelzung mit Salpetermischung nicht ohne partielle Verpuffungen durchzuführen war, durch welche ein Teil des Inhaltes der Platinschale herausgeschleudert wurde. Man hätte diesen Übelstand wohl durch Steigerung der Quantität der Salpetermischung vermeiden können, allein gar zu groß wollte ich diese nicht nehmen. Abgesehen davon, daß die Größe der zur Verfügung stehenden Platinschale eine Grenze gebot, entstehen auch aus der Quantität des Salpeters bzw. des hieraus entstehenden Kaliumsulfats Schwierigkeiten. Derselbe Gedanke — Verminderung der organischen Substanz — liegt auch die «Voroxydation» mit Salpetersäure von 1,48 D. zugrunde: die stürmische Entwicklung roter Dämpfe zeigt zur Genüge, daß man durch die «Voroxydation» eine große Quantität organischer Substanz los wird.

Wenn nun auch das Resultat durchaus günstig war, ließ sich doch die große Umständlichkeit des Verfahrens, namentlich hinsichtlich der Bearbeitung der Schmelze, nicht verkennen; ich bemühte mich daher, diese zu vereinfachen. Zu dem Zweck wurde in Versuch 4 die Schmelze in Wasser gelöst,

die Lösung bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft, die Lösung mit Alkohol gefällt, in der Voraussetzung, daß das gebildete arsensaure Kali in Alkohol hinlänglich löslich sein werde.

a) Die alkoholische Lösung wird verdampft, der bleibende Rückstand nach Lösen in Wasser im Kjeldahl-Kolben mit Schwefelsäure erhitzt. Resultat gänzlich negativ.

b) Das vom Alkohol Ungelöste im Kjeldahl-Kolben mit Schwefelsäure erhitzt: Enormer Arsenspiegel.

Nach dem Ergebnisse dieses Versuches lag es nahe, die Schmelze direkt mit H_2SO_4 zu erhitzen.

Versuch 5. Verfahren zunächst wie in Versuch 3. Die Schmelze wurde, soweit sie sich von der Schale ablösen ließ, in Stücke geschlagen und in den Kjeldahl-Kolben gebracht, der Rest in Wasser gelöst, die Lösung gleichfalls in den Kolben, dann in diesen vorsichtig und allmählich 15 ccm konzentrierte Schwefelsäure¹⁾ hinzugesetzt («Schmelzverfahren b»): Sehr starker Arsenspiegel, anscheinend nicht ganz so stark, wie in Versuch 3 und 4.

Endlich wurde mit dem Rest des Harns (annähernd 190 ccm) noch folgender Versuch angestellt:

Versuch 6. Alkoholextraktion. Voroxydation. Die erhaltene salpetersaure Lösung nicht eingedampft, sondern sofort in den Kjeldahl-Kolben, 10 ccm Schwefelsäure dazu und erhitzt, bei beginnender Bräunung mit einer langen Pipette ca. 12 Tropfen Salpetersäure von 1,48 D. hinzugetropft, dies öfters wiederholt; nach $\frac{1}{2}$ Stunde ist die Lösung farblos. Die verdünnte, durch nochmaliges Erhitzen von Nitrosylschwefelsäure befreite Lösung in den Marshschen Apparat: Sehr starker Arsenspiegel, jedoch entschieden schwächer als bei 3 und 4.

Ich möchte gleich an dieser Stelle bemerken, daß ich keineswegs aus dem Resultat den Schluß ziehe, daß das modifizierte A. Neumannsche Verfahren weniger gut ist, wie das Schmelzverfahren. Bestimmend für die Stärke des Spiegels

¹⁾ Ursprünglich wurden nur 10 ccm genommen, da der Kolben aber nach ca. 1 Stunde noch mit gelblichen Dämpfen erfüllt war, wurden noch 5 ccm erhitzte Schwefelsäure hinzugefügt.

ist nicht allein die Quantität des Arsens, sondern auch die Schnelligkeit der Gasentwicklung und die Intensität, mit der die Glasröhre glüht (es wurde stets mit 2 starken Bunsenbrennern erhitzt); bei sehr starker Gasentwicklung kann leicht ein Teil des Arsenwasserstoffs unzersetzt entweichen, natürlich gilt das nur für hohen Arsengehalt.

Versuchsreihe II.

Kaninchen von 2050 g Körpergewicht; Lösung von arsenparanucleinsaurem Eisen¹⁾ (der Kürze halber künftig mit APE bezeichnet) in 0,2% Na₂CO₃, die in 100 ccm 0,05 As (= 0,066 As₂O₃) enthält. Das Tier erhielt am 8., 9., 10., 11. je 10 ccm (+ 15 Wasser), im ganzen also 40 ccm, entsprechend 0,02 As (= 0,0264 As₂O₃); frißt etwas schlechter (daher die geringere Harnmenge), am 13. schon wieder ganz gut.

Harn der nächsten 6 × 24 Stunden gesammelt = 1080 ccm, stark alkalisch, ohne Säurezusatz mit Chloroform konserviert. Tagesquantität = 180 ccm.

1. Versuch 7. 180 ccm in der üblichen Weise mit KClO₃ + HCl behandelt, jedoch nicht mit H₂S gefällt: mäßig starker Arsenspiegel.

2. Versuch 8. 180 ccm eingedampft und mit Salpetermischung geschmolzen (also ohne Alkoholextraktion und ohne Voroxydation). Schmelzung geht nicht glatt, partielle Verpuffungen.

Zur filtrierten Lösung der Schmelze 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure, gekocht, eingedampft, mit Alkohol ausgezogen, filtriert; beim Verdunsten des Alkoholauszuges macht sich Äthergeruch bemerkbar.

Sehr schwacher Arsenspiegel, nur Anflug. Daraus geht hervor, daß die Quantität der Schwefelsäure nicht zu groß sein darf, vermutlich geht bei zu starkem Schwefelsäuregehalt des Alkoholauszuges Arsen als arsensaures Äthyl verloren.

3. Versuch 9. 180 ccm Harn, Alkoholextraktion, Voroxydation. Schmelzverfahren. Die Schmelze wie in Versuch 4 behandelt.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr., 1908, Nr. 4.

a) Alkoholauszug der Schmelze: Resultat gänzlich negativ.

b) Rückstand: enormer Arsenspiegel.

4. Versuch 10. 180 ccm Harn. Alkoholextraktion, Voroxydation. Schmelzverfahren a, wie in Versuch 3: Enormer Arsenspiegel.

5. Versuch 11. 180 ccm Harn. Alkoholextraktion, Voroxydation in der Schale, dann mit H_2SO_4 im Kjeldahl-Kolben wie in Versuch 6: Enormer Arsenspiegel.

Versuchsreihe III.

Kaninchen von 2200 g Körpergewicht. Lösung von APE, die in 100 ccm 0,05 As enthält. Am 16./12. 07. 10 ccm + 15 Wasser, ebenso am 17./12.

Versuch 11. Der gesamte Harn vom 16. eingedampft dann nach A. Neumann mit den angegebenen Abweichungen in der Ausführung, jedoch ohne Alkoholextraktion: Enormer Arsenspiegel.

Versuch 12. Gesamtquantität des Harns vom 17. Alkoholextraktion, dann Voroxydation usw. wie in Versuch 6 und 11: Enormer Arsenspiegel.

Harn vom 18., 19., 20., 21. vereinigt, durch Wasserzusatz auf 1800 abgerundet. Tagesquantität = 450 ccm.

Versuch 13. 450 ccm mit $KClO_3$ und HCl (das ganze Verfahren durchgemacht): schwacher Arsenspiegel.

Versuch 14. 450 ccm. Alkoholextraktion, Schmelzverfahren b, wie in Versuch 5: starker Arsenspiegel.

Versuch 15. 450 ccm. Alkoholextraktion, Voroxydation, dann Erhitzen mit Schwefelsäure usw.: starker Arsenspiegel.

Versuchsreihe IV.

Kaninchen von 2200 g Körpergewicht. Lösung von APE, die in 100 ccm 0,05 As enthält. Das Tier erhielt am 4./3. 08. 10 ccm der Lösung + 15 Wasser = 0,005 As.

Harn vom 4. und 5. fast 1000 ccm, aufgefüllt auf 1000 ccm.

1. Versuch 16. 250 ccm Harn (halbe Tagesquantität) eingedampft, mit Alkohol extrahiert.

a) Alkoholauszug mit Salpetersäure oxydiert usw.: sehr starker Spiegel.

b) Rückstand im Kolben mit HNO_3 und H_2SO_4 : schwacher Spiegel.

2. Versuch 17. 250 ccm Harn. Alkoholauszug. Schmelzverfahren. Schmelze direkt mit H_2SO_4 im Kolben: sehr starker Spiegel.

3. Versuch 18. 250 ccm Harn. Alkoholauszug. Schmelzverfahren. Lösung der Schmelze eingedampft und mit Alkohol extrahiert, wie in den Versuchen 4 und 9.

a) Alkoholauszug der Schmelze: gänzlich negativ.

b) Rückständige Salzmasse im Kolben mit H_2SO_4 behandelt: sehr starker Spiegel.

Das in den vorstehenden Versuchen angewendete Oxydationsverfahren mit Salpetersäure lehnt sich an das A. Neumannsche Verfahren der «Veraschung auf nassem Wege» an, die Unterschiede bestehen in folgendem:

1. Es wird nicht der eingedampfte Harn selbst oxydiert, sondern der Abdampfungsrückstand des Alkoholauszuges.

2. Statt Salpetersäure von 1,4 D. kommt solche von 1,48 in Anwendung.

3. Dieselbe wird zunächst nicht im Gemisch mit Schwefelsäure, sondern für sich allein angewendet, indem man 15 ccm derselben (für die Tagesquantität Harn eines Kaninchens) direkt in die noch heiße Schale gießt: «Voroxydation». Die Schwefelsäure (10 ccm) wird erst nachträglich hinzugesetzt, nachdem die salpetersaure Lösung in den Kolben gebracht ist.

4. Es wird nicht ein Gemisch von Schwefelsäure und Salpetersäure nachtropfen gelassen, sondern nur einigemal mit der Pipette je $1/2$ ccm Salpetersäure von 1,48 D hinzugesetzt.

Der Kürze halber wird dieses Verfahren im 2. Teil als modifiziertes A. Neumannsches Verfahren oder mit den Buchstaben A. N. M. bezeichnet werden.

Zweiter Teil.

Versuche mit Harn,¹⁾ der mit As_2O_3 resp. H_3AsO_4 versetzt war.

Versuchsreihe V.

1. Versuch 19. Tagesquantität normalen, stark alkalischen Kaninchenharnes — ca. 450 ccm — mit 2 ccm einer 0,1^o/₁₀₀igen Lösung von As_2O_3 = 0,2 mg As_2O_3 versetzt, A. N. M.: gänzlich negativ.

2. Versuch 20. Wiederholung von 19 mit demselben gänzlich negativen Resultat.

¹⁾ Stets nach Fütterung mit 600 g Weißkohl pro Tag.

3. Versuch 21. Wiederholung. Resultat fast ganz negativ, minimale Andeutung von Spiegel.

Ganz unerwarteterweise haben also die Versuche mit Zusatz von arseniger Säure beim Alkoholverfahren ein negatives Resultat ergeben, im Widerspruch mit den arsenhaltig entleerten Harnen.

Zur Aufklärung dieses Widerspruches wurde zunächst folgende Versuchsreihe angestellt.

Versuchsreihe VI.

Frischer, stark alkalischer Kaninchenharn von 2 Tagen, unter Chloroformzusatz gesammelt. 840 ccm, davon 820 ¹⁾ ccm mit 0,5 mg As_2O_3 versetzt.

Versuch 22. 410 ccm (enthaltend 0,25 mg As_2O_3) eingedampft. Salpetersäureoxydation usw. (also ohne Alkoholextraktion). Nur die Hälfte der schwefelsauren Lösung eingegossen: starker Arsenspiegel.

Versuch 23. 420 ccm eingedampft, mit Alkohol extrahiert.

a) Alkoholauszug. Resultat so gut wie negativ.

b) Die gut ausgewaschene trockene Alkoholfällung im Kolben mit HNO_3 und H_2SO_4 . Die Hälfte der schwefelsauren Lösung gibt starken Arsenspiegel.

Nach den beiden Versuchsreihen V und VI steht es fest, daß zugesetzte arsenige Säure — wenigstens bei Anwendung stark alkalischen Kaninchenharns — in den angegebenen Mengen nicht in den Alkoholauszug übergeht, sich vielmehr vollständig im Niederschlag findet.

Es fragt sich nun, ob sich der Übergang in den Alkoholauszug vielleicht erreichen läßt, wenn man den Harn bei saurer Reaktion eindampft.

Versuchsreihe VII.

Kaninchenharn, doppelte Tagesquantität = 840 ccm mit 0,6 mg As_2O_3 versetzt = 0,3 mg pro Tag.

Versuch 24. 420 ccm, mit Salzsäure angesäuert, eingedampft (nicht ganz bis zur Trockene).

a) Alkoholauszug: schwacher Spiegel.

b) Rückstand, wie in 23 b behandelt: gänzlich negativ.

2. Versuch 25. Wiederholung von 24 mit genau demselben Resultat.

Aus dieser Versuchsreihe folgt, daß, wenn man den mit arseniger Säure versetzten Harn bei durch Salzsäure saurer Reaktion eindampft, die Alkoholfällung kein Arsen ent-

¹⁾ 20 ccm sind anderweitig verwendet.

hält; der Alkoholauszug ist arsenhaltig, aber augenscheinlich weit schwächer, als der zugesetzten arsenigen Säure entspricht, es geht somit beim Eindampfen Arsen, vermutlich als Arsenrichlorid verloren. Um diese Vermutung zu prüfen, wurde die folgende Versuchsreihe angestellt.

Versuchsreihe IX.

Alkalischer Kaninchenharn, doppelte Tagesquantität = 880 ccm, dazu 6 ccm der Lösung von 0,1 ‰ = 0,3 mg für die Tagesquantität.

Versuch 26. 220 ccm = 0,15 mg As_2O_3 (= 0,125 mg As) bei alkalischer Reaktion eingedampft, dann Oxydation mit Salpetersäure usw., also ohne Alkoholextraktion: ziemlich starker Arsenspiegel.

Versuch 27. 220 ccm mit Salzsäure eingedampft, dann A. N. M.:¹⁾ Resultat negativ.

Versuch 28. 220 ccm bei alkalischer Reaktion eingedampft, dann mit Alkohol extrahiert.

a) Alkoholauszug nach A. N. M.: kein Arsenspiegel.

b) Alkoholfällung mit HNO_3 und H_2SO_4 im Kjeldahlkolben: ziemlich starker Arsenspiegel, mindestens ebenso stark wie in Versuch 26.

Aus den angeführten Versuchen folgt, — zunächst für den stark alkalisch reagierenden Kaninchenharn —, daß bei Gegenwart von arseniger Säure bezw. arsenigsaurem Alkali das Arsen nicht im Alkoholauszug zu suchen ist, sondern im Niederschlag, womit gleichzeitig ein relativ schnell arbeitendes und sehr bequemes Verfahren gegeben ist, um arsenige Säure als solche im Harn nachzuweisen, was bisher nicht möglich ist. Selbstverständlich gilt das nur für die angewendeten Quantitäten von As_2O_3 ; inwieweit das auch für geringere²⁾ oder größere gilt, bleibt noch zu untersuchen.

Es war nun noch von Interesse, festzustellen, ob sich die Arsensäure ebenso verhält.

Versuchsreihe X.

Die doppelte Tagesquantität, gegen 1000 ccm, durch Wasserzusatz auf 1000 abgerundet, wird mit 8,5 ccm einer Arsensäurelösung von 0,1 ‰ versetzt, die Tagesquantität enthält also fast genau eine 0,3 mg As_2O_3 entsprechende Quantität As, wie in der vorigen Versuchsreihe.

¹⁾ Siehe S. 104.

²⁾ Anm. bei der Korrektur. $\frac{1}{2}$ ‰ mg As_2O_3 in 500 ccm Harn = 1 : 10 Millionen ließ sich so noch mit aller Sicherheit nachweisen.

Versuch 29 mit 500 ccm Harn.

a) Alkoholauszug: gänzlich negativ.

b) Niederschlag: ziemlich starker Arsenspiegel.

Versuch 30. Wiederholung von 28 mit genau demselben Resultat.

Der oben angegebene Satz ist also dahin zu erweitern, daß er nicht nur für arsenige Säure gilt, sondern für ionisiertes Arsen überhaupt, welches sich also auf diesem Wege von organisch gebundenem unterscheiden läßt, was bisher nicht möglich war.

Allerdings hat vor kurzem A. Carlson¹⁾ für den Nachweis des Arsens in ionisierter Form die Elektrolyse empfohlen, ich habe mich aber überzeugt, daß der stark schwefelhaltige Kaninchenharn (bei der angegebenen Fütterung) bei der Elektrolyse ebenso Schwefelwasserstoff liefert wie mit Zink und Schwefelsäure, wodurch der Nachweis des Arsens in jedem Falle vereitelt wird, welches Verfahren man zur Konstatierung des Arsens auch anwenden mag.²⁾

Aus den mitgeteilten Versuchen folgt, daß der nach Einführung von arsenparanucleinsaurem Eisen entleerte Kaninchenharn das Arsen überwiegend organisch gebunden enthält, ein kleiner Teil kann, wie aus der Versuchsreihe IV hervorgeht, auch in ionisierter Form vorhanden sein. Auffallend ist nun, daß auch aus dem nach Zufuhr von As_2O_3 entleerten Harn das Arsen in den Alkoholauszug überging. Ich möchte daraus noch nicht direkt schließen, daß auch in diesem Falle das Arsen organisch gebunden war. Gegen diesen Schluß ist noch ein Einwand möglich. Der Harn war in diesem Fall nicht bei alkalischer Reaktion durch Chloroformzusatz konserviert worden, sondern durch Ansäuern mit Salzsäure und beim Eindampfen neutralisiert. Es ist denkbar, daß unter diesen Bedingungen vielleicht auch das ionisierte Arsen in den Alkohol übergeht. Dieser Punkt bedarf noch der Aufklärung durch weitere Versuche.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIX, S. 410.

²⁾ Es ist vielleicht nicht überflüssig, an dieser Stelle zu bemerken, daß Kaninchenharn, auch bei Kohlfütterung, mit H_2SO_4 angesäuert bei Zimmertemperatur — wenigstens in einigen Stunden — nicht merklich H_2S abgibt, sondern nur beim Erwärmen. Es genügt aber schon die beim Eingießen von etwa 10—15 ccm konzentrierter Schwefelsäure in 100 ccm Harn entstehende Erwärmung, um die Entwicklung von H_2S zu bewirken

Überblicken wir nun die Ergebnisse, so zeigt sich, daß das «Schmelzverfahren» und modifizierte Neumannsche Verfahren dem üblichen Oxydationsverfahren mit $\text{HCl} + \text{KClO}_3$, was Schnelligkeit und Bequemlichkeit der Ausführung betrifft, bedeutend überlegen ist. Dasselbe scheint mir aber auch hinsichtlich der Sicherheit des Erfolges und der Feinheit des Nachweises der Fall zu sein. Ich schließe dieses nicht allein aus den mitgeteilten Versuchen, sondern auch aus weiteren Erfahrungen, die ich über die Dauer der Ausscheidung von Arsen nach Einführung von arsenparanucleinsaurem Eisen gemacht habe. Bei den ersten derartigen Versuchen wandte ich das übliche Kaliumchloratverfahren an, bei den späteren eines der beiden anderen, besonders das modifizierte Neumannsche. Die Dauer der Ausscheidung ergab sich in letzterem Falle bei gleichartiger Versuchsanordnung, ja selbst bei kleineren Dosen eine ganze Reihe von Tagen länger. Ich muß gestehen, daß ich dadurch betreffs der Angaben in der Literatur über die Dauer der Ausscheidung, soweit dabei das Kaliumchloratverfahren angewendet ist, sehr skeptisch geworden bin und negative Angaben nicht mehr für beweisend halten kann.

Welches Oxydationsverfahren verdient nun den Vorzug, die Salpeterschmelze oder das modifizierte A. Neumannsche Verfahren? Nach meinen Versuchen kann ich keinem der beiden Verfahren einen bestimmten Vorzug einräumen. Bei parallelen Versuchen an demselben Harn ergab bald das eine, bald das andere Verfahren einen stärkeren Spiegel; für die Stärke des Spiegels ist aber, wie bereits bemerkt, nicht allein der Arsengehalt maßgebend, sondern auch Momente, die man nicht ganz beherrscht, vor allem die Schnelligkeit des Wasserstoffstromes, außerdem ist die Abschätzung der Stärke des Spiegels doch immer nur ein ungefähres Maß für die Quantität des ausgeschiedenen Arsens. Was die Verarbeitung der Schmelze betrifft, wenn man dieses Verfahren einschlagen will, so halte ich das umständlichere Verfahren a an sich für besser, als die

(Prüfung stets mit Papierstreifen, der mit Bleiessig getränkt ist). Die Versuche sind übrigens, wie ich noch bemerken will, nicht mit frischem Harn angestellt, sondern mit durch Chloroformzusatz konserviertem.

direkte Erhitzung der Schmelze mit Schwefelsäure, es kann aber gelegentlich bei Anwendung einer zu großen Quantität Schwefelsäure mißlingen. Das Schmelzverfahren ist etwas umständlicher als das modifizierte Neumannsche und erfordert relativ große Platinschalen; handelt es sich um die Oxydation größerer Harnmengen, als etwa die Tagesquantität eines Kaninchens bei Kohlfütterung (400—500 ccm), so ist die Schmelzmethode unbequem, namentlich auch wegen der großen Quantität der schließlich erhaltenen schwefelsauren Alkalien. Gleiche Mengen, d. h. 400—500 ccm menschlichen Harns wird man schwerlich noch auf diesem Wege verarbeiten können, hier verdient das im Vorhergehenden beschriebene modifizierte A. Neumannsche Verfahren zweifellos den Vorzug.

Über die Anwendung dieses Verfahrens zum Arsennachweis bei menschlichem Harn habe ich (einen Fall ausgenommen) keine eigenen Erfahrungen, es ist indessen im Laboratorium eine größere Anzahl von Untersuchungen mit bestem Erfolg ausgeführt worden; die angegebenen Säuremengen reichten bei Anwendung einiger 100 ccm Harn nicht aus. Will man Schwefelsäure — einige Kubikzentimeter — in den heißen Kjeldahl-Kolben nachgießen, so empfiehlt es sich, sie vorher zu erhitzen. Welche Quantität menschlichen Harns soll man anwenden? Ich würde raten, zunächst nicht mehr wie etwa $\frac{1}{6}$ der Tagesquantität — unter Umständen noch weniger — in Arbeit zu nehmen; fällt die Untersuchung negativ aus, so kann man immer noch die anderen $\frac{5}{6}$ verarbeiten. Es dürfte übrigens nur selten vorkommen, daß man mit der kleinen Quantität ein negatives Resultat erhält, mit der größeren ein positives. Die Oxydation der ganzen Tagesquantität resp. $\frac{5}{6}$ derselben geht aber natürlich nicht so leicht und erfordert größere Mengen von Reagenzien. Bestimmte Angaben hierüber lassen sich nicht machen. Die Anwendung so großer Mengen von Salpetersäure und Schwefelsäure — es kommt nur das modifizierte Neumannsche Verfahren in Betracht — involviert aber doch die Gefahr einer Täuschung durch einen, wenn auch nur minimalen Gehalt der Reagenzien an Arsen. Bei derartigen subtilen Untersuchungen auf letzte Spuren ist es doppelt uner-

läßlich, dieselben Mengen sämtlicher Reagentien zu blinden Versuchen anzuwenden.

Soll man die Alkoholextraktion anwenden oder direkt den eingedampften Harn oxydieren? Der Vorzug der Alkoholextraktion besteht darin, daß die Oxydation weit leichter vor sich geht. Da sich dieselbe nur nach Zusatz von As_2O_3 oder H_3AsO_4 bei Kaninchenharn unanwendbar erwiesen hat, dagegen noch keine derartige Beobachtung für den nach Arsengebrauch entleerten Harn vorliegt und auch die normalem, sauer reagierenden menschlichem Harn zugesetzte arsenige Säure, wie ich mich überzeugt habe, in den Alkoholauszug übergeht, so glaube ich die Alkoholextraktion auch für den menschlichen Harn empfehlen zu können. Bei negativem Ausfall bliebe immer noch die schnell ausführbare Verarbeitung der Alkoholfällung offen, die natürlich keinen Alkohol mehr enthalten darf. Ich möchte hieran noch einige Bemerkungen resp. Ratschläge bezüglich der Ausführung des Verfahrens knüpfen.

1. Sobald der Inhalt der Schale, in der man den Alkoholauszug eingedampft hat, nicht mehr nach Alkohol riecht (resp. der Harn selbst genügend eingedampft erscheint), stellt man den Dampfstrom ab resp. löscht die Flamme des Wasserbades und setzt 15 ccm Salpetersäure (von 1,48 D) in 2—3 Portionen hinzu. Durch Umschwenken der Schale sorgt man dafür, daß der Harnrückstand vollständig von der Salpetersäure benetzt wird. Man kann dabei die Schale, um die Hände vor den nitrosen Dämpfen zu schützen, mit der Zange fassen. Sobald die stürmische Reaktion vorüber ist, gießt man die Lösung ohne Verzögerung in den Kjeldahl-Kolben, ehe sie erstarrt, was schnell eintritt. Der Zusatz von Schwefelsäure (10 ccm) muß langsam und vorsichtig geschehen, da die Reaktion oft sehr heftig ist. Es empfiehlt sich im allgemeinen nicht, die Schale mit Wasser nachzuspülen. Die Reaktion kann dann leicht so heftig werden, daß ein Teil des Inhalts des Kolbens herausgeschleudert wird.¹⁾

¹⁾ Unter Umständen erstarrt indessen wenigstens ein Teil der salpetersauren Lösung so schnell, daß ein Nachspülen mit Wasser nicht zu umgehen ist, man muß dann mit dem Zusatz von Schwefelsäure doppelt vorsichtig verfahren.

In jedem Fall ist es gut, den Kjeldahl-Kolben in ein passendes Glas einzusetzen und ihm eine senkrechte oder etwas gegen die Wand des Abzuges geneigte Stellung zu geben, um vor Verletzungen durch etwa herausgeschleuderte Säuremischung gesichert zu sein. Selbstverständlich wird man sich nicht unnötig nahe an den Kolben stellen. Häufig habe ich die Schale mit der konzentrierten Schwefelsäure nachgespült und dann etwas mehr, etwa 11—12 ccm angewendet. Die Erhitzung des Kolbens geschieht erst, nachdem die erste stürmische Reaktion vorüber ist, und anfangs vorsichtig. Die Oxydation muß dann die erste Zeit überwacht werden. Sobald der Inhalt des Kolbens anfängt, eine bräunliche Färbung anzunehmen, was in 6—8 Minuten der Fall zu sein pflegt, setzt man mit einer langen Pipette etwa 10 Tropfen oder $\frac{1}{2}$ ccm Salpetersäure von 1,48 D hinzu¹⁾ und wiederholt dieses in kurzen Intervallen, sobald wieder leichte Bräunung eintritt; meistens habe ich den Zusatz 3—4 mal gemacht. Nach etwa einer halben Stunde im ganzen pflegt die Oxydation beendet zu sein. Der Inhalt des Kolbens ist dann, falls man die Alkoholbehandlung angewendet hat, klar²⁾ und fast farblos, im anderen Fall trüb und weiß oder gelblichweiß, jedoch empfiehlt es sich nicht, die Erhitzung schon in diesem Stadium zu unterbrechen, es ist besser, sie noch etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden fortzusetzen, eine Beaufsichtigung ist dabei nicht nötig.³⁾ Verdünnt man den Kolbeninhalt nach dem Erkalten, so zeigen sich dann meistens keine von zersetzter Nitrosylschwefelsäure herrührende rötlichen Dämpfe mehr, unterbricht man die Erhitzung schon nach einer halben Stunde, so ist dieses regelmäßig der Fall und es bedarf eines erneuten Eindampfens und Erhitzens. Die Salpetersäure muß natürlich möglichst vollständig fortgeschafft werden, Spuren von

¹⁾ Es ist nicht nötig, die Pipette mit in den Hals des Kolbens einzuführen, was natürlich sehr unbequem wäre.

²⁾ Abgesehen von einer etwaigen Ausscheidung von etwas schwefel-saurem Kalk.

³⁾ Die Färbung ist dann vollständig verschwunden; mitunter zeigte der Kolbeninhalt einen gelblichen Schimmer, wurde aber beim Erkalten farblos; eine Erklärung dafür vermag ich vorläufig nicht zu geben (Eisen-gehalt?). Vgl. Thierfelder, Chem. Analyse, VII. Auflage, S. 394.

restierender Salpetersäure scheinen indessen nichts zu schaden. Nach dem Verdünnen mit Wasser muß der Kolbeninhalt völlig farblos sein.¹⁾

2. Es ist nicht zweckmäßig, die Oxydation resp. die Erhitzung zu unterbrechen und am nächsten Tage fortzusetzen. Das meistens ausgeschiedene Calciumsulfat verursacht dann leicht heftiges Stoßen, jedenfalls muß man bei erneutem Erhitzen sehr vorsichtig verfahren und den Kolben bis zum beginnenden Sieden umschwenken. Hat sich nach dem Verdünnen der schwefelsauren Lösung Calciumsulfat abgeschieden, was namentlich vorkommt, wenn die verdünnte Lösung erst am nächsten Tage weiter untersucht wird, so ist es gut, zu filtrieren, damit nicht unliebsame Verstopfungen der Hahnbohrung eintreten.

3. Es empfiehlt sich, das Wasserstoffgas auf Gehalt an H_2S zu prüfen und zwar sowohl vorher, als auch nach Zusatz der zu prüfenden Lösung, am einfachsten dadurch, daß man das austretende Gas durch alkalische Bleilösung streichen läßt, die sich in einem kleinen Bechergläschen befindet, indessen möchte ich widerraten, dieses während des ganzen Versuches zu tun. Es kann sonst vorkommen, daß die beim Glühen erweichte Röhre durch den, wenn auch geringen Überdruck ausgeblasen wird. Aus demselben Grunde darf auch die Schicht der alkalischen Bleilösung — Wasser mit einigen Tropfen Bleiessig, dazu Natronlauge bis zur Lösung des Bleihydroxyds — nur einige Zentimeter hoch sein. Bei dem Schmelzverfahren habe ich H_2S -Entwicklung nicht beobachtet, bei dem Salpetersäureverfahren (A. N. M.) ist es ein- oder zweimal vorgekommen,

¹⁾ Statt Salpetersäure hinzuzusetzen, kann man übrigens auch gut getrockneten, feingepulverten Kalisalpeter portionsweise einstreuen, jedoch bietet dieses Verfahren keine Vorteile, im Gegenteil Nachteile, auf die ich hier nicht eingehen will. Es liegt auch nahe, den Harn mit Kalisalpeter einzudampfen und dann den Eindampfungsrückstand in der Schale mit konzentrierter Schwefelsäure zu behandeln, auch das kann ich nicht empfehlen. Dagegen wäre es wohl der Mühe wert, einen Versuch der Oxydation des Harnrückstandes mit Natriumsuperoxyd nach Asboth zu machen, man hätte dann nicht nötig, die störende Salpetersäure zu entfernen; ich gedenke hierauf noch zurückzukommen.

ob infolge ungenügender Oxydation oder zufällig aus einem anderen Grunde, muß ich dahingestellt sein lassen. Eine minimale H_2S -Beimischung scheint übrigens nicht zu stören, bei irgend deutlicher Bräunung bleibt die Deutung eines negativen Resultates unsicher.

Statt das Gas durch alkalische Bleilösung zu leiten, kann man auch einen mit alkalischer Bleilösung getränkten, etwas abgedrückten Filtrierpapierstreifen zwischen den Stöpsel und den Hals des Entwicklungsgefäßes einklemmen, indessen erschwert dieses Vorgehen die Erreichung der Dichtigkeit des Apparates. Durch starkes Anfeuchten beim Einsetzen des Papierstreifens oder Eingießen von Wasser in die Rinne zwischen Stöpsel und Hals des Entwicklungsgefäßes ist völlige Dichtigkeit zu erzielen, indessen muß man auf diesen Punkt besonders achten.

4. Es ist zweckmäßig, die schwefelsaure verdünnte Lösung vor dem Eingießen durch Alkali, das natürlich auf Arsengehalt geprüft sein muß, teilweise abzustumpfen, etwa, indem man ca. $\frac{2}{3}$ der Lösung neutralisiert, dann das restierende $\frac{1}{3}$ wieder hinzugibt, da sonst bei irgend schnellem Vorgehen die Gasentwicklung leicht zu stürmisch wird; notwendig ist es indessen nicht, da die Einschaltung des Hahns ja das Eingießen in beliebigen langen Pausen ermöglicht.

Schließlich möchte ich, um mißverständlichen Auffassungen zu begegnen, nicht verfehlen, zu bemerken, daß ich keineswegs für mich in Anspruch nehme, ein neues Verfahren angegeben zu haben. Die Salpeterschmelze haben bereits Wöhler und v. Siebold¹⁾ zur Untersuchung von Leichenteilen auf Arsen angewendet.

Der Arbeit von Hödlmoser²⁾ über das etwaige Vorkommen von Arsen in den Organen im physiologischen Zustand entnehme ich, daß Armand Gautier schon im Jahre 1876 die Anwendung von Salpetersäure und Schwefelsäure zur Zerstörung von Organen bei der Untersuchung auf Arsen empfohlen hat. Hödlmoser hat bei Nachuntersuchung mit Zusatz

¹⁾ Otto, Anleitung zur Ausmittelung der Gifte, 4. Aufl., 1870, S. 57.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 329.

von As_2O_3 mit dieser Methode gute Resultate erhalten, ebenso gute allerdings auch mit Salzsäure und Kaliumchlorat.

Ja, auch für den Nachweis des Arsens im Harn ist die Anwendung von Salpetersäure und Schwefelsäure nicht neu, wie ich allerdings angenommen hatte. Erst, nachdem ich meine Arbeit größtenteils abgeschlossen hatte, bin ich von befreundeter Seite darauf aufmerksam gemacht worden, daß Croner und Seligmann¹⁾ gleichfalls schon Erhitzen mit Salpetersäure und Schwefelsäure zur Zerstörung der organischen Substanz bei Untersuchung des Harns auf Arsen angewendet haben. Dennoch halte ich die aufgewendete Mühe nicht für verloren und meine Arbeit nicht für überflüssig, da die Einzelheiten in der Ausführung für das Resultat von entscheidender Bedeutung sind.

¹⁾ Deutsche med. Wochenschr., 1907, Nr. 25.