

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Szeged (Ungarn)  
(Direktor: Prof. Dr. I. GY. FAZEKAS)

## Schnelle Arsenbestimmung in Haar und Nagel

Von

**BÉLA RENGEI**

*(Eingegangen am 3. April 1958)*

Wie bekannt, kann — beim größten Teil der Arsenbestimmungen — die Abtrennung des Arsens von den übrigen Verunreinigungen durch Destillation bzw. durch Umwandlung in Form von Arsenwasserstoff durchgeführt werden. Die quantitative Ausführung beider Methoden erfordert aber sehr große Aufmerksamkeit und Pünktlichkeit sowie Praxis von seiten der untersuchenden Person. Um diese Schwierigkeiten aus dem Wege räumen zu können, versuchte ich die aus der Literatur schon bekannten und mit organischen Lösungsmitteln durchgeführten Trennungsmethoden an biologisches Material anzupassen. Große Schwierigkeit bietet aber hier die relativ enorme Menge von Phosphor bzw. Phosphaten, welche Menge um mehrere Ordnungsgrößen größer ist als der zu bestimmende Bestandteil, in diesem Fall: das Arsen. Zur Veranschaulichung dieser Tatsache teile ich 2 Tabellen mit, die eine zahlenmäßige Vergleichung ermöglichen. Aus obigem Grund kann die Abtrennung mit organischen Lösungsmitteln in dem Fall durchgeführt werden, wo kleinere oder beinahe gleiche Mengen abzusondern sind. Folgende Methode kann bei Bestimmung des Arsengehaltes in Haar und Nagel verwendet werden, da diese Materien Phosphor gar nicht oder nur in Spuren enthalten. Da diese Fähigkeit des Haares bzw. Nagels, Arsen anzubinden, sehr groß ist, kann diese Fähigkeit in der Diagnostik der Arsenvergiftung sehr positiv verwendet werden.

Die Vorbereitung der Lösungen zur colorimetrischen Bestimmung ist oft mit Abtrennungsvorgängen verbunden, die zur Trennung der Elemente auch bei anderen analytischen Methoden angewendet werden. Unter diesen Methoden sind die Niederschlagung (NASARENKO, MEYER) sowie die Extraktion (GOTO, WADELIN, WADELIN, YAKOSOKA) die gebräuchlichsten.

Wie bekannt, wird mit dem colorimetrischen Verfahren kleine Menge Stoff neben großer Menge Grundstoff bestimmt. Der zu bestimmende Stoff sondert sich im Niederschlag aus, die übrigen Bestandteile des zu analysierenden Stoffes bleiben aber in der Lösung zurück. Wenn der Niederschlag etwas verunreinigt ist, so wird er durch wiederholtes Fällens gereinigt, oder der störende Bestandteil in geringer Menge auf andere

Weise entfernt. Eine Trennung, bei der der Begleitstoff in den Niederschlag gelangt, ist nicht erwünscht, und ist nur dann anzuwenden, wenn es keine andere Trennungsmethode gibt, denn es kann sich eine Koprä-

Tabelle 1. *Arsengehalt in normalen Organen des Menschen ( $\gamma$ -% des frischen Organs)*<sup>1</sup>

	Erwachsene	Neugeborene	Bemerkungen
Leber . . . . .	11	6	Andere geben 200 $\gamma$ -% an
Niere . . . . .	10,5	7,8	
Milz . . . . .	8,7	4,8	
Herz . . . . .	10		
Lunge . . . . .	9,5		
Gehirn . . . . .	11		
Knochen . . . . .	8,8		
Haut . . . . .	9,7		
Haare . . . . .	9,7		Andere geben 24—30 $\gamma$ -% an
Nägel . . . . .	17		Andere geben 235 $\gamma$ -% an
Blut . . . . .	8,3		
Harn (Tagesmenge) . .	10,4		Andere geben 500 $\gamma$ an

cipitation einstellen, die in dem zu bestimmenden Bestandteil einen deutlichen Verlust verursachen kann. In unserem Fall könnte diese Trennung nur mit großer Schwierigkeit verwendet werden, weshalb die andere Methode, nämlich die Extraktionsmethode zur

Tabelle 2. *Phosphorgehalt in normalen Organen des Menschen (mg-% des frischen Organs)*<sup>2</sup>

Muskel	220
Herz .	270
Lunge	120
Gehirn	380
Leber .	210
Niere .	140
Plasma	15

Anwendung gebracht worden ist.

Bei chemischer Analyse haben die Trennungen mit organischen Lösungsmitteln, die sich mit Wasser nicht mischen, große Bedeutung. Der Vorteil dieser Methode liegt dem Präcipitationsverfahren gegenüber darin, daß das Grenzgebiet der einzelnen Phasen klein ist, weshalb eine Adsorption, die bei zahlreichen, mit Niederschlagbildung verbundenen Trennungsmethoden störend wirkt, überhaupt nicht stattfindet. Ein weiterer Vorteil: das ganze Verfahren spielt sich viel schneller ab als bei vorbesagter Methode.

Diese Methode kann verwendet werden

1. bei vorheriger Trennung der zu bestimmenden Ionen von den Begleitstoffen. In diesem Fall muß in der Wasserphase ein gewisses bestimmtes chemisches Milieu zustande gebracht (durch Auswahl des Reagens und des  $p_H$  der Lösung usw.) oder ein besonderes Lösungsmittel verwendet werden.

<sup>1</sup> FLASCHENTRÄGER, B.: Physiologische Chemie. Die Stoffe, S. 242. Berlin-Göttingen-Heidelberg. Springer 1951.

<sup>2</sup> ZBARSZKY-IVANOV-MERDESEV: Biológiai Kémia, S. 401, Egészségügyi Kiado.

2. bei Steigerung der Bestimmungsempfindlichkeit. Die farbige chemische Verbindung wird aus einer voluminösen Wasserbase mit einem wesentlich weniger voluminösen organischen Lösungsmittel ausgeschüttelt.

3. bei Elimination des Einflusses der in der Lösung vorhandenen farbigen Ionen.

*Das Prinzip der Methode.* Nach Zerstörung mit Schwefel-, Salpeter- und Überchlorsäure wird die Lösung mit 10 n Natriumhydroxyd neutralisiert, mit n-Schwefelsäure — aufs Gesamtvolumen gerechnet — auf eine Normalität von 0,2—0,3 eingestellt, mit Ammoniummolybdat Heteropolisäure gebildet, mit Amylalkohol ausgeschüttelt (um den eventuell vorhandenen Phosphor zu entfernen), zur Wasserphase eine Ascorbinsäurelösung gegeben, während Erwärmung von 10 min zu Molybdänblau reduziert, nach Abkühlung mit einem Gemisch von n-Butanol und Äthylacetat (1:1) ausgeschüttelt und photometrisch mit einem Rotfilter gemessen.

*Lösungen.* (Alle Reagentien müssen arsenfrei sein!) 1. Konzentrierte Schwefelsäure und 3 n-Schwefelsäure. 2. Rauchende konzentrierte Salpetersäure. 3. 60%ige konzentrierte Überchlorsäure. 4. Gesättigtes Ammoniumoxalat. 5. 4%ige wässrige Ammoniummolybdatlösung (empfehlenswert ist, die Lösung nach einigen Tagen frisch zu verfertigen). 6. 6%ige Ascorbinsäurelösung (im Kühlschrank bei 2—4° C 5 Wochen stabil zu erhalten). 7. 2%ige Kaliumpermanganatlösung. 8. Konzentriertes Wasserstoffsperoxyd. 9. Amylalkohol. 10. n-Butanol und Äthylacetat 1:1 gemischt. 11. 1 n-Salzsäure. 12. 10 n und 1 n-Natriumhydroxyd. 13. Standard-Arsenlösung: 1,319 g Arsenitrioxyd p. a. wird in 15 ml n Natriumhydroxyd aufgelöst, mit 200 ml destilliertem Wasser verdünnt, während Zugabe von 0,5 g Kaliumchlorid mit 15 ml Salzsäure neutralisiert und auf 1 Liter aufgefüllt. Davon werden 5 ml genommen, dazu 1 ml 3 n Schwefelsäure zugegeben und unter Kochen 2%iges Kaliumpermanganat tropfenweise zugemengt, bis eine ständige Rosafärbung erreicht worden ist. Das entstandene Mangandioxyd wird unter Kochen mit Wasserstoffsperoxyd abgebaut. Nach Abkühlen wird es auf 100 ml aufgefüllt. So bekommt man eine Stammlösung, deren je 1 ml 50  $\gamma$  Arsen entspricht (I.). Auf gleiche Weise kann auch eine 1 ml = 10  $\gamma$  Arsen enthaltende Stammlösung verfertigt werden (II.).

*Anfertigung einer Standardserie und Kurve.* In einen Meßkolben von 25 ml wird — aus der Standardlösung I — 2:1,5; 1; 0,5; 0,2 ml (das sind 100; 75; 50; 25; 10  $\gamma$ ) gemessen, dazu 5 ml n Salzsäure gegeben, dann auf gleiche Weise verfahren, wie es bei Beschreibung der Methode erwähnt worden ist. Auf die Ordinatenachse wird die Extinktion, auf die Abszissenachse die bekannte Arsenmenge aufgetragen und so die Absorptionskurve erhalten. Aus der Standardlösung II werden 1:0,75; 0,50; 0,25; 0,10 ml (d. h. 10; 7,5; 5; 2,5; 1  $\gamma$ ) in einem Meßkolben von 25 ml gemessen und auf obige Weise verfahren. Erhaltene Resultate ergeben eine Kurve. Auf Grund dieser Kurve kann der Arsengehalt des zu untersuchenden Materials ausgerechnet werden.

#### Verfahren

*Zerstörung.* In einem Kjeldahlschen Kolben von 100 ml wird — der erwarteten Arsenmenge entsprechend — eine vorher mit Alkohol gereinigte und getrocknete, genau gemessene Haar- bzw. Nagelmenge getragen, dazu 10 ml konzentrierte Schwefelsäure, 20 ml rauchende Salpetersäure, 5 ml Überchlorsäure gegeben, der Kolben bedeckt, und möglichst eine Nacht hindurch stehen gelassen. Danach

werden 2—3 Glasperlen in den Kolben gelegt, auf übliche Weise die Zerstörung durchgeführt bis zur totalen Aufklärung der Lösung.

*p<sub>H</sub>-Einstellung, Farbenentwicklung, Extraktion.* Die zerstörte Lösung wird mit 10 n Natriumhydroxyd neutralisiert und in einen Meßkolben von 50 ml über-

Tabelle 3

	Arsengehalt von 10 ml Stammlösung in $\gamma$	Zugegebene Arsenmenge in $\gamma$	Insgesamt vorgefunden in $\gamma$	Mittelwert in $\gamma$	Abweichung	
					$\gamma$	%
Haare	8	5	13	12,66	-0,34	97
		5	12			
		5	13			
		10	18,5			
		10	17	17,83	-0,17	99
		10	18	57,50	-0,50	99
		50	58			
		50	56,5			
50	58					
Haare	3	10	13	12,50	-0,50	96
		10	12			
		10	12,5			
		25	29			
		25	28	28,16	+0,16	100,5
		25	27,5	77,83	-0,17	99
		75	78			
		75	78			
75	77,5					
Nägel	11,5	5	16	16,33	-0,67	98
		5	17			
		5	16			
		10	21,5			
		10	22	21,50	0	100
		10	21	61,66	+0,16	100,2
		50	61			
		50	63			
50	61					
Nägel	18	10	28	27,66	-0,34	98
		10	28			
		10	27			
		25	42,5			
		25	43	42,83	-0,17	98
		25	43	92,66	-0,34	99
		75	93			
		75	93			
75	92					

tragen, dazu werden 4 ml 3 n Schwefelsäure gegeben, damit im Gesamtvolumen von 50 ml die Acidität 0,2—0,3 n betrage. Danach wird mit 2 ml 4%iger Ammoniummolybdatlösung Heteropolisäure gebildet, auf 50 ml aufgefüllt und, um die Reaktion zu beschleunigen, mild gewärmt. Nach Abkühlung wird es quantitativ in einen Schiedetrichter von 100 ml übertragen, 5 ml Amylalkohol zugegeben und etwa 1 min geschüttelt. Bis zur vollkommenen Separation der beiden Schichten bleibt es stehen und wird dann abgesondert. Wenn die Amylalkoholphase gelblich

ist — wegen Anwesenheit des Phosphors — so muß die Extraktion wiederholt werden. Zu der in einem Erlenmayer-Kolben aufgefangenen wäßrigen Phase werden 2 ml 6%ige Ascorbinsäurelösung gegeben und auf kochendem Wasserbad punkt 10 min lang gewärmt, abgekühlt und quantitativ in einem Scheidetrichter von 100 ml übertragen und dort mit 5 × 4 ml Gemisch von n-Butanol und Äthylacetat (1:1) durchschüttelt. Das Extrakt wird in einen Meßkolben von 25 ml gesammelt, bis zum Zeichen aufgefüllt und bei Anwendung eines Rotfilters S 72 sowie einer der Farbenintensität entsprechenden Cuvette gemessen. Die Arsenmenge kann mittels der aus der Standardserie angefertigten Kurven ausgerechnet werden.

Tabelle 3 zeigt die Pünktlichkeit der Bestimmungen mit dieser Methode. Die quantitative Bestimmung von Arsen in Haar und Nagel kann also mit dieser verhältnismäßig einfachen Methode mit maximaler Abweichung von —4 bis +0,5% durchgeführt werden.

#### *Zusammenfassung*

Zerstörtes Haar bzw. Nagel wird mit konzentrierter Schwefel-, Salpeter- und Überchlorsäure neutralisiert, auf eine Normalität von 0,2—0,3 eingestellt, mit Ammoniummolybdat Heteropolysäure gebildet bei milder Wärmung. Der zufällig anwesende Phosphor bzw. Phosphat wird mit Amylalkohol ausgeschüttelt, die wäßrige Phase aber mittels Ascorbinsäure reduziert. Nach 10 min Wärmen wird es mit einem Gemisch von n-Butanol und Äthylacetat (1:1) ausgeschüttelt und die Intensität bei Anwendung eines Filters S 72 gemessen. Die Bestimmungen können mit einer Abweichung von —4 bis +0,5% durchgeführt werden.

#### **Literatur**

GOTO, H., and Y. KAKITA: Studies on the determination of arsenic. Science Reports of the Research Institutes Tohoku University June 3, p. 294, 1955. — MEYER, S., u. O. G. KOCH: Massanalytische Bestimmung von Arsen als Chinolinarsenmolybdat. Z. anal. Chem. **158**, 434 (1957). — NASARENKO, W. A., u. G. J. BYK: Über die Mitfällung von Mikrogrammen-Mengen Arsen mit Magnesiumammoniumphosphat. Ukrain. chem. J. **22**, 234 (1956). — WADELIN, C., and M. G. MELLON: Ultra-violet absorptiometric determination of arsenic as 12-molybdoarsenic acid. Analyst **77**, 708 (1952). — WADELIN, C., and M. G. MELLON: Extraction of heteropoly acids. Application to determination of phosphorous. Analyt. Chem. **25**, No 11, 1668 (1953). — YAKOSOKA, S.: Die colorimetrische Bestimmung von Spuren Phosphor und Arsen in Kupfermetall. Jap. Analyst **5**, 395 (1956).

BÉLA RENGEI, Szeged (Ungarn) Kossuth Lajos sugarut 40,  
Institut für gerichtliche Medizin der Universität