

# Zur Verwendung des Elektronenmikroskops für den Nachweis kleinster Arsenikmengen.

Von

H. Jansch und F. X. Mayer.

Aus dem chemischen Laboratorium der Institutes für gerichtliche Medizin der Universität Wien.

(Eingelangt am 9. Mai 1950. Vorgelegt in der Sitzung am 11. Mai 1950.)

Unter dem Titel „Eine neue Verwendung des Elektronenmikroskops in der analytischen Chemie“ berichten *R. Strebinger* und *E. Orth*<sup>1</sup> über den Nachweis kleinster Mengen Arsenik ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ). Aus einem Tröpfchen einer Lösung von der Konzentration  $3 \cdot 10^{-9}$  mg As/ccm erhielten sie durch Sublimieren noch Niederschläge, die im Elektronenmikroskop die für Arsenik charakteristischen sechseckigen Kristalltafeln zeigten<sup>2</sup>.

Um nun die Leistungsfähigkeit der Methode an einem praktischen Beispiel zu demonstrieren, wurden einer etwa 15 g schweren Maus 0,1 mg arsenige Säure in die Bauchhöhle injiziert. Nachdem das Tier innerhalb 12 Stdn. verendet war, wurde von der Lungenspitze ein stecknadelkopfgroßes Stück sublimiert. Da das Sublimat die gleichen Kristallformen aufwies, wurde daraus geschlossen, daß in der untersuchten Probe mindestens Arsenikmengen, wie sie oben angegeben sind, vorhanden waren<sup>3</sup>. Desgleichen wurden der Tierleiche 3 Haare, 4 bis 6 mm lang, entnommen und deren Sublimat im Elektronenmikroskop untersucht, wobei ebenfalls die gleichen Kristallformen festgestellt werden konnten. Unter der Annahme, daß sich die verabreichte Arsenikmenge im Tierkörper einschließlich der Haare gleichmäßig verteilt hat und daß die 3 Haare ein Gewicht von 0,006 mg hatten, kamen die ge-

<sup>1</sup> Mh. Chem. 81, 256 (1950).

<sup>2</sup> Nimmt man die Menge eines der verwendeten Tröpfchen mit rund 0,01 ccm an, so ergibt sich eine auf diese Weise noch sicher nachgewiesene absolute Arsenikmenge von rund  $10^{-11}$  mg, was an sich sehr beachtlich ist.

<sup>3</sup> An der betreffenden Stelle (S. 258) muß es wohl  $3 \cdot 10^{-11}$  mg statt  $3 \cdot 10^{-9}$  mg lauten, da ja bei den Vorversuchen nicht 1 ccm, sondern nur ein Tröpfchen verdunstet wurde.

nannten Autoren zu dem Schluß, daß es gelungen ist, eine Arsenikmenge von  $2 \cdot 10^{-10}$  mg nachzuweisen.

Zu diesen Ergebnissen bzw. den daraus gezogenen Schlüssen möchten wir auf Grund unserer in Jahrzehnten gesammelten Erfahrungen als Gerichtschemiker folgendes bemerken:

Wir haben uns der Mühe unterzogen, das Gewicht eines stecknadelkopfgroßen Stückes der Lunge einer 15 g schweren Maus sowie das Gewicht von Maushaaren festzustellen. Besonders letzteres war sehr mühevoll; es mußte unter dem Mikroskop gearbeitet werden und es gelang uns nicht, weniger als nur 4 bis 5 Haare in einer Länge von etwa 5 mm auf einmal zu isolieren. Das Gewicht des frischen Stückchens Lunge betrug 2,917 mg, das der 4 bis 5 Maushaare wurde zu maximal 0,001 mg (eher weniger) ermittelt<sup>4</sup>. Nimmt man nun an, daß das trockene Skelett einer Maus im Mittel etwa ein Fünftel ihres Gesamtgewichtes beträgt, so ergeben sich bei einer 15 g schweren Maus an organischer Substanz ohne Knochen rund 12 g. Unter der Annahme der gleichen Verteilung (daß auch an die Knochen Arsen abgegeben wird, bleibt unberücksichtigt) errechnet sich somit für 2,917 mg Lunge ein Arsenikgehalt von  $2,43 \cdot 10^{-5}$  mg, also rund eine Million mal mehr ( $10^6$ ) als *Strebinger* und *Orth* noch mit Sicherheit erfassen können.

Nach den Angaben von *A. Gautier* bzw. *K. Klimke*<sup>5</sup> ist der normale Arsengehalt eines menschlichen oder tierischen Organs mit rund 0,01 mg-% anzunehmen. Umgerechnet auf ein etwa 3 mg schweres Stück Lunge würde sich ein Normalarsengehalt von größenordnungsmäßig  $10^{-7}$  mg ergeben, eine Menge, die ebenfalls weit oberhalb des von den genannten Autoren bis jetzt angegebenen Grenzwertes liegt. Weiters ist zu berücksichtigen, daß nach den Erfahrungen bei akuten Arsenvergiftungen — und um eine solche handelt es sich hier — die Annahme einer gleichmäßigen Verteilung des Giftes im Organismus nicht zutrifft. Von den Organen der zweiten Giftwege (hierzu ist in der Regel auch die Lunge zu zählen) weist bei dieser Art der Vergiftung nur die Leber einen erheblichen Gehalt an Arsen auf. Wenn auch, wie bekannt, Arsen bei akuten Vergiftungen ziemlich rasch in beachtlichen Mengen mit Harn und Kot ausgeschieden wird, so müssen die im Körper verbliebenen Anteile des Giftes doch noch erheblich über dem oben angegebenen Wert des Normalarsengehaltes der einzelnen Organe liegen. Es kann daher das Ergebnis des angestellten Versuches nicht ohne weiteres im Sinne einer Prüfung der Leistungsfähigkeit des Elektronenmikroskops gewertet werden.

<sup>4</sup> Benützt wurde eine Mikrowaage von *Welharticky*.

<sup>5</sup> *A. Gautier* bzw. *K. Klimke*, beide zit. bei *C. Oppenheimer*, Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere, Bd. I. Jena 1924. Ergänzungswerk Bd. A. Jena 1933.

Zu dem Versuch mit den Maushaaren ist folgendes zu bemerken: Unter Zugrundelegung eines maximalen Gewichtes von 0,001 mg (in Wirklichkeit eher weniger) für 3 Haare errechnet sich bei der an sich nicht richtigen Annahme einer gleichmäßigen Verteilung der injizierten 0,1 mg Arsenik einschließlich der Haare ein Arsengehalt von  $8 \cdot 10^{-9}$  mg (ohne Knochen), bei Berücksichtigung der gleichen Verteilung der injizierten Arsenikmenge im gesamten Mauskörper einschließlich der Knochen ein solcher von rund  $6 \cdot 10^{-9}$  mg<sup>6</sup>. Nun wissen wir aber unter anderem, auch nach den Versuchen von *S. Schönberg*<sup>7</sup> und *S. Blumenfeldt*<sup>8</sup>, daß bei überlebten einmaligen Gaben von Arsenik dieses in den Haaren relativ spät — beim Menschen erst etwa 7 Tage nach der Verabreichung — nachzuweisen ist. Es wird daher ein positiver Arsenbefund bei Haaren immer dahingehend ausgewertet, daß es sich um eine länger zurückliegende bzw. durch mehrfache kleinere Gaben bewirkte Vergiftung handelt. Was den Nachweis des Normalarsengehaltes der Haare betrifft, der größenordnungsmäßig mit etwa 0,01 mg-% angegeben wird, so ist dieser, wenn man nicht größere Mengen Haare verarbeitet, kaum mit dem Elektronenmikroskop zu erfassen, da bei Haarmengen von wenigen tausendstel Milligrammen der Normalarsengehalt größenordnungsmäßig  $10^{-10}$  mg beträgt<sup>9</sup>. Für diese Überlegung sprechen auch die negativen Ergebnisse der von *Strebing* und *Orth* angestellten Vergleichsversuche.

Unter Berücksichtigung dieser Erkenntnisse bzw. Überlegungen kann demnach das von den genannten Autoren berichtete positive Ergebnis der Untersuchung der Haare keinesfalls als eine Bestätigung des Nachweises einer akuten Arsenvergiftung gewertet werden; vielmehr ergibt sich zwangsläufig der Schluß, daß es sich hier um die Feststellung einer äußeren Verunreinigung handelt, wie eine solche nach unseren Erfahrungen beim Injizieren, durch Verschmutzung des Felles durch abgehenden Stuhl und Harn bzw. bei der Sektion leicht eintreten kann.

Die von *Strebing* und *Orth* ausgearbeitete Methode des Nachweises kleinster Arsenmengen mit dem Elektronenmikroskop verspricht eine wertvolle Hilfe, insbesondere bei histochemischen Untersuchungen, z. B. bei Nachweis und Bestimmung der Verteilung des Normalarsengehaltes in den einzelnen Organen zu werden; Voraussetzung hierzu ist aber die Durchführung grundlegender und systematischer Versuchsreihen. Das

<sup>6</sup> Bei der Annahme eines Gewichtes von 0,006 mg für 3 Maushaare errechnet sich — gleiche Verteilung vorausgesetzt — ein Arsengehalt von  $4 \cdot 10^{-8}$  mg und nicht  $2 \cdot 10^{-10}$  mg.

<sup>7</sup> *S. Schönberg*, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **13**, 111 (1929).

<sup>8</sup> *S. Blumenfeldt*, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **15**, 501 (1930).

<sup>9</sup> Nach *Bloemendal* — zit. bei *C. Oppenheimer* (l. c.) — beruht der Arsengehalt der Haare auf Verunreinigungen und ist nicht normal.

Ergebnis eines einzigen, mit allen möglichen Fehlern behafteten Tierversuches ist in diesem Sinne nicht verwertbar. Aus den oben angeführten Überlegungen ergibt sich aber auch, daß sich dieses Verfahren zur Beurteilung von Vergiftungen so lange nicht heranziehen läßt, als über den mengenmäßigen Anteil des nachgewiesenen Giftes keine Aussagen gemacht werden können.

## Zur Verwendung des Elektronenmikroskops in der analytischen Chemie.

(Stellungnahme zur vorstehenden Arbeit von H. Jansch und  
F. X. Mayer.)

Von

R. Strebinger und E. Orth.

Aus dem Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Technischen  
Hochschule in Wien.

(Eingelangt am 9. Okt. 1950. Vorgelegt in der Sitzung vom 26. Okt. 1950.)

Ohne in das Detail der vorstehenden Ausführungen einzugehen, muß doch festgestellt werden, daß die beiden Autoren *H. Jansch* und *F. X. Mayer* nicht das Wesentliche unserer Arbeit berühren, was übrigens auch im letzten Absatz ihrer Stellungnahme ersichtlich ist. Es lag uns einzig und allein daran, nachdem wir die wertvolle Hilfe des Elektronenmikroskops zum Nachweis geringster Mengen verschiedener Elemente erkannt hatten, die Priorität für uns auf diesem Gebiete zu wahren, wie schon aus dem Titel unserer Arbeit hervorgeht „Eine neue Verwendung des Elektronenmikroskops in der analytischen Chemie“. Es handelte sich keineswegs um die Veröffentlichung einer ausgearbeiteten Methode zum Nachweis des Arsens und ist in unserer Arbeit keinerlei Hinweis in dieser Hinsicht zu finden. Die von *H. Jansch* und *F. X. Mayer* erwähnte „Voraussetzung hierzu ist aber die Durchführung grundlegender und systematischer Versuchsreihen“ erscheint wohl jedem Analytiker als selbstverständlich und braucht nicht näher erwähnt werden.

Bezüglich der quantitativen Bestimmung geringster Mengen wurden von uns auch schon Versuche unternommen und durchaus verwertbare Ergebnisse erhalten. Berücksichtigt man jedoch die für die elektronenmikroskopische Untersuchung maßgeblichen Faktoren, so wird man verstehen, weshalb wir mit unseren Ergebnissen diesbezüglich vorsichtig waren. Ganz abzulehnen ist daher die Berechnung des Tröpfchens mit 0,01 cm und der daraus gefolgerten Nachweisbarkeit einer absoluten Arsenikmenge von  $10^{-11}$  mg. Man kann wohl die Menge absolut angeben, wie es *H. Jansch* und *F. X. Mayer* tun, es ist aber ebenso möglich,