

# Über die Bestimmung kleinster Arsenmengen in Harn, Blut und anderen Körperflüssigkeiten nebst der Arsenbilanz bei Silbersalvarsanbehandlung.

Von

Dr. Hugo Engleson in Malmö (Schweden).

Mit 2 Figuren im Text.

---

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.)  
(Der Redaktion zugegangen am 2. Oktober 1920.)

---

Seit ungefähr einem Jahr bin ich durch das Entgegenkommen des Vorstandes des Institutes für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M., Geheimrat Kolle, in der Lage, an Patienten eine neue, von ihm biologisch erprobte Salvarsanverbindung, das Silbersalvarsan, zu verwenden. Die vorzüglichen Wirkungen, die ich mit diesem neuen Arsenpräparat sowohl in Bezug auf die Heilung klinischer Symptome, als auch auf das Verschwinden der Wassermann-Reaktion erzielte, haben mir den Gedanken nahegelegt, ob diese nicht darauf beruhen, daß die Verweilungsdauer des Silbersalvarsans im Körper eine andere, vielleicht eine längere ist, als die der übrigen Arsenpräparate.

In den Berichten der schwedischen Arsenkommission vom Jahre 1919 sind zwei im Prinzip verschiedene Verfahren zur Bestimmung kleiner Arsenmengen mitgeteilt: einerseits ein elektolytisches von Ramberg-Sjöström, welches mir nach der dort gegebenen Schilderung für Massenuntersuchungen zu kompliziert und zu zeitraubend zu sein schien, und andererseits zwei maßanalytische Verfahren, das eine von Iyar Bang, das andere ebenfalls von Ramberg-Sjöström. Da sich diese Verfasser dabei mit einer Genauigkeit von 0,01 mg As begnügten, und ich für meine Zwecke eine höhere Ge-

nauigkeit anstreben mußte, suchte ich nach einem anderen Verfahren, welches meinen Zwecken besser entsprechen könnte.

Da in der Monographie „Die quantitative organische Mikroanalyse“ von Prof. Fritz Pregl, erschienen im Jahre 1917, auch eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Phosphor beschrieben ist, verfiel ich zuerst auf den Gedanken, daß man infolge der nahen Verwandtschaft von Arsen zum Phosphor das Prinzip dieses Verfahrens vielleicht auch zur Bestimmung kleinster Arsenmengen im Harn und anderen Körperflüssigkeiten verwenden könnte.

Vor einigen Monaten hatte ich Gelegenheit, mich in Prof. Pregls Institut an der Universität in Graz mit der quantitativen Mikroanalyse bekannt zu machen. Meine Absicht, das Arsen durch Ausfällung und nachherige Wägung auf der mikrochemischen Wage von Kuhlmann zu bestimmen, hat für so außerordentlich kleine Mengen, wie sie im Harn und im Blute in Frage kommen, insofern zu keinem zufriedenstellenden Resultate geführt, als zumindest ein solches Verfahren für Massenuntersuchungen auch zu zeitraubend und zu mühsam geworden wäre.

Nach dieser Einsicht wandte ich mich dem Gedanken zu, ob nicht wenigstens das Prinzip des Titrationsverfahrens von Ramberg-Sjöström meinen Anforderungen von Genauigkeit unter gewissen, erst sorgfältig zu ermittelnden Bedingungen genügen könnten. Dies erschien mir auch deshalb erreichbar, weil es die beiden Verfasser an einer Stelle sogar lächerlich finden, eine höhere Genauigkeit, als die oben angegebene, anstreben zu wollen. Da ich aber gerade das letztere für meine Zwecke anstreben mußte, unterzog ich aus diesem Grunde das Titrationsverfahren dieser Verfasser einer kritischen Untersuchung in allen seinen einzelnen Teilen, bevor ich es für die Beantwortung der eingangs angedeuteten Fragen am Lebenden im großen in Anwendung ziehen wollte.

Schon während meines Aufenthaltes an der Universität in Graz hat sich meine Hoffnung, eine größere Genauigkeit

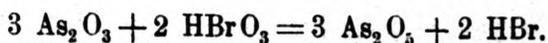
erreichen zu können, erfüllbar gezeigt, doch ist die Durchführung des genannten Verfahrens dort nicht zum Abschluß gekommen, sondern sie konnte erst später in meinem eigenen Laboratorium in Malmö, unterstützt von meinem Assistenten, Herrn Dr. Herbert Lamprecht, einem in Graz bei Prof. Pregl ausgebildeten Mikroanalytiker, zu Ende geführt werden.

Da ich glaube, daß dieses verfeinerte Verfahren für einen großen Kreis von Fachgenossen, physiologischen Chemikern und anderen Fachleuten Interesse haben dürfte, und da weiters die Originalliteratur der schwedischen Arsenkommission nur dem geringsten Teil derselben zugänglich und verständlich sein dürfte, möchte ich über dasselbe und die eigenen Erfahrungen darüber, sowie über die ausgeführten Prüfungen und Kontrollen an dieser Stelle eingehend berichten.

Im Nachfolgenden soll zuerst (A) das Prinzip, die Erfordernisse und das Ergebnis der Prüfung des Verfahrens der Bestimmung von arseniger Säure in salzsaurer Lösung nach Ramberg-Sjöström beschrieben werden. In einem zweiten Abschnitt (B) wird mein Verfahren zur Behandlung von Körperflüssigkeiten, wie Harn, Blut und Lumbalflüssigkeit, zum Zwecke der Isolierung des darin enthaltenen Arsens in Form von arseniger Säure für die nachträgliche Bestimmung nach dem beschriebenen Titrationsverfahren mitgeteilt werden. In einem dritten Abschnitt (C) soll nur an einem Beispiel gezeigt werden, wie sich die Arsenausscheidung vor, während und nach einer Behandlung mit Silbersalvarsan am Menschen mit Hilfe der von mir geschilderten verfeinerten Verfahrensweise verfolgen läßt.

### A. Das Titrationsverfahren.

Das Verfahren von Ramberg-Sjöström ist ein maßanalytisches: es bedient sich mit großem Vorteil der Überführung von arseniger Säure in Arsensäure durch Kaliumbromat, entsprechend der Gleichung:



Diese Überführung erfolgt in stark saurer Lösung und kann ebenso auch für die Überführung von Antimontrioxyd

in Antimonpentoxyd Verwendung finden. Der Endpunkt der Reaktion ist daran erkenntlich, daß ein als Indikator zugesetzter Farbstoff (Methylorange, Indigo) von einem kleinen Überschuß der Titerflüssigkeit entfärbt wird, wenn alle arsenige Säure oder alles Antimontrioxyd vollständig oxydiert ist. Gerade dadurch, daß die Titration in einer stark sauren Lösung vorgenommen werden soll, hat dieses Verfahren einen entschiedenen Vorzug, weil die zu bestimmende Arsenmenge ohnedies infolge der Destillation nach dem Prinzipie von Schneider als arsenige Säure völlig isoliert vorliegt.

Der Schwerpunkt des Verfahrens liegt also in der Durchführung der Titration von arseniger Säure in stark saurer Lösung mit einer Kaliumbromatlösung von bekanntem Gehalt unter Verwendung von Methylorange als Indikator.

#### Erfordernisse:

1. Eine Kaliumbromatlösung, von der 1 ccm 0,2 mg Arsen entspricht. Man bereitet sie durch Lösen von 0,1485 g im Exsikkator über Chlorcalcium (nicht Schwefelsäure) getrocknetem reinstem Kaliumbromat zum Liter. Diese Lösung ist in gutverschlossenen Flaschen unbegrenzt lange haltbar.

2. Eine Lösung von Methylorange, 1 : 2500. Sie wird durch Lösen von 0,2 g Methylorange in ungefähr 50 ccm kochendem Wasser und darauffolgendem Verdünnen auf 250 ccm bereitet. Wenn nötig, wird nach mehrtägigem Stehn filtriert.

3. Für die Ausführung der Titration bediente ich mich mit größtem Vorteil jener Quetschhahnbüretten, wie sie Prof. Pregl für Mikrotitrationsen in seiner Monographie angegeben hat. Sie verhindern durch ihre langen, englumigen Auslaufröhrchen, daß auch bei vollgeöffnetem Hahne größere Mengen unbeabsichtigterweise ausfließen und ermöglichen es infolge deren Länge, auch die kleinsten Tröpfchen mit dem Niveau der zu titrierenden Flüssigkeit unmittelbar abzunehmen. Sie fassen nur 10 ccm, sind in  $\frac{1}{30}$  ccm geteilt, und die Zwischenräume zwischen den Teilstrichen sind so groß, daß man mit Leichtigkeit, namentlich unter Zuhilfenahme einer

Uhrmacherlupe  $\frac{1}{100}$  ccm verlässlich abschätzen kann. Dieses Volumen Bromatlösung entspricht also einer Menge von 0,002 mg elementarem Arsen<sup>1)</sup>).

Bei der volumetrischen Arsenbestimmung nach diesem Verfahren kommt der meist unvermeidliche spurweise Arsengehalt auch der reinsten Reagenzien, namentlich der verwendeten Salzsäure, als wesentlich in Betracht. Es ist daher selbstverständlich, daß sich der Arsengehalt einer Probe aus der Differenz des im einzelnen Ernstfalle gewonnenen Wertes und jenes Wertes ergibt, den die angewandten Reagenzien unter gleichen Bedingungen im blinden Versuche ergeben.

Schon aus den Angaben der beiden genannten Autoren geht hervor, daß:

- I. der Chlorwasserstoffgehalt der zu titrierenden Lösung von arseniger Säure,
- II. die Temperatur und
- III. die Konzentration und Menge des Indikators

bei der Ausführung der volumetrischen Bestimmung kleiner Arsenmengen eine Rolle spielen.

Für die Zwecke der Ausführung einer Bestimmung versetzt man die salzsaure Lösung von arseniger Säure mit einem einzigen Tropfen der früher genannten Methylorangefärbung, erwärmt die Flüssigkeit auf eine zwischen 30 und 40° gelegene Temperatur, indem man den Kolben aus Jenaerglas, der sie enthält, in eine mit Wasser von dieser Temperatur gefüllte Porzellanschale, unter der sich ein Brenner befindet, einstellt. Der Zusatz der Kaliumbromatlösung hat nur tropfenweise, anfänglich höchstens etwa 4 Tropfen in der Minute, zu erfolgen, wobei die Flüssigkeit ununterbrochen in rotierender Bewegung erhalten werden soll. Sobald man bemerkt, daß die rote Flüssigkeit bleicher wird, wartet man mindestens eine Minute mit dem Zusatz des nächsten Tropfens. Diese nun zuzusetzenden Tropfen dürfen keinesfalls größer als

<sup>1)</sup> Die Büretten sind von der Firma Paul Haack, Wien IX, Garelligasse 4, zu beziehen.

$\frac{1}{100}$  ccm sein. Man erreicht dies leicht dadurch, daß man ein kleines Tröpfchen aus der Kapillare austreten läßt, worauf man es mit dem Flüssigkeitsniveau abnimmt. Man benötigt nur wenige solcher Tröpfchen bis zum Schlusse der Titration, d. h. der vollständigen Entfärbung der Flüssigkeit. Für Mindergeübte ist es angezeigt, einen Vergleich mit einem Kolben aus gleichartigem Glase, mit destilliertem Wasser gefüllt, anzustellen. Die Titration soll bei gutem Tageslicht und nicht im direkten Sonnenlicht vorgenommen werden, am besten beim Fenster. Die weiße Farbe der mit Wasser gefüllten Porzellanschale läßt den Umschlag recht gut erkennen. Am besten erkennt man den Beginn des Farbumschlages aus der Entfernung von ein paar Schritten. Wenn man einen Jenaerglas- oder Reijmyre-Spezialglaskolben verwendet, ist der Farbumschlag von einem schwach rötlichen Schimmer zu einem ähnlichen in grün (Glasfarbe) besonders deutlich. Ist die Titration richtig ausgeführt, so soll die entfärbte Flüssigkeit auf Zusatz eines Tropfens Methylorangelösung noch nach einer Minute eine schwach rötliche Färbung zeigen. Man verabsäume es nicht, diese Kontrolle auszuführen. Nach bereits früher Gesagtem zieht man von dem verbrauchten Volumen Bromatlösung die durch eine Blindanalyse bestimmte Korrektur ab. Der Rest mit 0,2 multipliziert, ergibt den Gehalt der Probe an elementarem Arsen in Milligrammen.

Schon die ersten Versuche der Bestimmungen kleiner Arsenquantitäten in Natriumarsenitlösung von bekanntem Arsengehalt und gemessenem Volumen ergaben ermunternde Resultate. Stets wurde dabei in stark saurer Lösung von 150 ccm und bei einer Temperatur von 40° titriert.

Arsenzusatz mg	Gefunden mg	Differenz mg
0,0076	0,008	+ 0,0004
0,015	0,014	— 0,001
0,076	0,074	— 0,002
0,045	0,040	— 0,005
0 121	0,120	— 0,001

I. Um den früher genannten Einfluß des Gehaltes an Chlorwasserstoff in der zu titrierenden Lösung zu ermitteln, wurden stets 150 ccm einer Lösung von Natriumarsenit, entsprechend einem Gehalte von 0,045 mg As mit der in nachfolgender Tabelle angeführten Menge Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 versetzt und bei einer Temperatur von 40° titriert. Bei Zusatz von 3, 5 und 6 ccm Salzsäure  $d = 1,19$  verlief die Reaktion nicht in absehbarer Zeit zu Ende, das heißt, die Lösung entfärbte sich auch bei Zusatz eines größeren als dem erforderlichen Volumen Kaliumbromatlösung nicht in einer Stunde bzw. nicht in 10 Minuten.

Zusatz von Salzsäure $d = 1,19$ in ccm	Konzentration g HCl in 100 ccm	Gefunden mg As	Differenz gegenüber dem theor. Wert von 0,045 mg As
8	2,24	0,036	— 0,009
10	2,77	0,036	— 0,009
12	3,28	0,038	— 0,007
14	3,78	0,044	— 0,001
16	4,27	0,042	— 0,003
18	4,75	0,042	— 0,003
20	5,21	0,044	— 0,001
22	5,66	0,046	+ 0,001
24	6,10	0,044	— 0,001
26	6,54	0,046	+ 0,001
28	6,96	0,050	+ 0,005
30	7,38	0,052	+ 0,007
35	8,38	0,054	+ 0,009
40	9,32	0,054	+ 0,009
45	10,22	0,056	+ 0,011
50	11,08	0,058	+ 0,013
55	11,91	0,060	+ 0,015
60	12,66 <sup>1)</sup>	—	—

Daraus ergibt sich, daß bei einem Zusatz von 14—26 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19, entsprechend einer Chlor-

<sup>1)</sup> Bei dieser Konzentration erfolgte auch nach 2 Minuten keine Entfärbung, trotz Zusatz von mehr als der hinreichenden Menge Bromatlösung.

wasserstoffkonzentration der zu titrierenden Lösung von 3,78 bis 6,54 das Ergebnis mit den theoretischen Werten in außerordentlich befriedigender Weise übereinstimmt, während in den hohen Konzentrationen, also bei einem Zusatz von 28—55 ccm zum Volumen von 150 ccm, entsprechend einer Chlorwasserstoffkonzentration von 6,96—11,91 die Bestimmungen Werte lieferten, die die theoretischen immerhin merklich überstiegen.

Es war naheliegend zu vermuten, daß der zeitliche Ablauf der Reaktion zwischen Bromatlösung einerseits, arseniger Säure und MethylorangeLösung andererseits durch höhere Chlorwasserstoffkonzentrationen eine Verzögerung erfährt. Durch Verlängerung der Zeitdauer zwischen den letzten bei der Titration zuzusetzenden Tropfen Bromatlösung ließ sich die Annahme als zutreffend bestätigen. Als Beleg dafür sei auf die später mitgeteilten Beleganalysen hingewiesen (siehe S. 219), die mit einer Lösung von Arsensäure von bekanntem Arsengehalt durch Behandlung wie im Ernstfalle, d. h. Oxydation, Reduktion, Destillation und Titration des Destillates, gewonnen waren. Der Unterschied gegenüber dem früher beobachteten Verhalten beim Endpunkt der Titration lag nur darin, daß die Zeitdauer zwischen den einzelnen zuletzt zuzusetzenden Tropfen der Bromatlösung über 1 Minute hinaus auf 2—3 Minuten erstreckt wurde.

Wie man aus jenen Beleganalysen ersieht, konnten also auch in Lösungen mit einer Chlorwasserstoffkonzentration von etwa 9—11% fast durchwegs innerhalb der Fehlergrenze von  $\pm 0,002$  mg As vollkommen korrekte Werte auf diese Weise erhalten werden. Diese Feststellung ist aber nicht nur für die Kenntnis der erreichten Genauigkeit, sondern namentlich auch deshalb von Wert, weil bei der später zu beschreibenden Isolierung der arsenigen Säure durch Destillation stets Destillate erhalten werden, deren HCl-Konzentrationen in der Regel zwischen 9 und 10% schwanken — höchst selten erreichen sie etwas höhere Werte, etwa 11%, wovon wir uns durch wiederholte unmittelbare acidimetrische Titration solcher Destillate überzeugen konnten.

II. Um den Einfluß der verschiedenen Temperaturen bei der Titration zu ermitteln, wurden je 150 ccm Natriumarsenitlösung mit einem Gehalt von 0,045 mg Arsen verwendet, dabei jedoch jedesmal dieselbe Menge Salzsäure, und zwar 20 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 zugesetzt.

Titriert bei °	Gefunden mg	Differenz mg
18	0,042	— 0,003
18	0,042	— 0,003
18	0,044	— 0,001
25	0,046	+ 0,001
31	0,044	— 0,001
34	0,042	— 0,003
37	0,044	— 0,001
40	0,042	— 0,003
43	0,040	— 0,005
46	0,046	+ 0,001
49	0,044	— 0,001

Wie man hieraus ersieht, hat die Temperatur keinen Einfluß auf den zahlenmäßigen Ausfall des Resultates. Man ist zwar nicht gezwungen, bei einer bestimmten Temperatur zu arbeiten, wohl aber ist es zweckmäßig, bei höheren Temperaturen, etwa zwischen 30 und 40° zu arbeiten, weil bei tieferen Temperaturen die Verzögerung des Eintrittes der Endreaktion, die schon als von der Chlorwasserstoffkonzentration abhängig erkannt worden ist, eine weitere Verstärkung erfährt. Es würde also nur ein noch mühsameres Arbeiten bedingen, auf die zweckmäßige Temperatur von 30—40° zu verzichten.

III. Der Einfluß der Menge und der Konzentration der Indikatorlösung erscheint, wenn man die nachfolgende Zahlenreihe überblickt, von weit größerem Einfluß zu sein, als man erwartet hätte. In den nachfolgenden Versuchen, bei denen stets die gleichen Mengen Wasser und Salzsäure und wechselnde Mengen von Indikator zur Anwendung gelangten, ergaben sich folgende Werte:

Methylorangefärbung in Tropfen	Unmittelbar verbrauchte ccm Bromatlösung	Nach Abzug von 0,06 ccm
1	0,11	0,05
5	0,31	0,25
10	0,56	0,50
20	1,02	0,96
50	2,49	2,43

Aus den Differenzen der aufeinanderfolgenden einzelnen Versuche läßt sich indirekt für den unvermeidlichen Bromatverbrauch des Salzsäure-Wassergemisches allein ein mittlerer Wert von 0,06 ccm Bromatlösung berechnen. Zieht man diesen Wert (0,06) von den im zweiten Vertikalstabe angeführten unmittelbar gefundenen Werten ab, so ergeben sich die im Vertikalstabe 3 die für die zugesetzte Tropfenanzahl des Indikators bis zur völligen Entfärbung verbrauchten Volumina Bromatlösung. Diese sind bis auf ganz geringe Abweichungen bei den zwei höchsten Indikatorkonzentrationen der zugesetzten Tropfenanzahl von Methylorangefärbung direkt proportional. Mithin verbraucht ein Tropfen meiner Methylorangefärbung 1:2500 aus meinem Tropffläschchen mit der feinen Tropfpipette entnommen, 0,05 ccm Bromatlösung, was einer Menge von 0,010 mg elementarem Arsen entspräche.

Trotz dieses unerwartet hohen Wertes ist aber die Genauigkeit einer Arsenbestimmung mit einer maximalen Abweichung von  $\pm 0,002$  mg Arsen dadurch nicht im geringsten in Frage gestellt, sofern man bei jeder Titration immer nur einen einzigen gleich großen Tropfen der Indikatorlösung verwendet, weil sich der Zahlenwert einer jeden Arsenbestimmung, wie schon eingangs hervorgehoben wurde, als Differenz zwischen der Bestimmung des Ernstfalles und der Bestimmung im blinden Versuche ergibt. Wenn aber in jedem Falle ein gleich großer Tropfen Methylorangefärbung zur Verwendung gelangt, so fallen die darauf verwendeten Bromatlösmengen bei der Differenzbildung aus der Rechnung. Aus diesem Grunde ist es aber notwendig, den Indikator in einem Tropffläschchen mit fein ausgezogener Pipettenspitze mit Gummikappe zu ver-

wahren, weil dabei ein Eintrocknen und damit eine Konzentrationsänderung der Indikatorlösung an der Tropfstelle ausgeschlossen ist.

Aus den mitgeteilten eigenen Versuchen ergibt sich also, daß es mir gelungen ist, nach dem Prinzip des von Ramberg-Sjöström angegebenen Verfahrens den Arsengehalt bei Einhaltung gewisser Vorsichtsmaßregeln, die sich sogar innerhalb weiter Grenzen variieren lassen, bei der geschilderten Titration arsenige Säure in salzsaurer Lösung mit Bromatlösung unter Voraussetzung der größten Sorgfalt und entsprechender Übung mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,002$  mg elementaren Arsens zu bestimmen<sup>1)</sup>.

Die Bedingungen, auf die man dabei zu achten hat, sind:

1. eine Chlorwasserstoffkonzentration der zu titrierenden Flüssigkeit, die zwischen  $3\frac{1}{2}$  und sogar 11 g in 100 ccm schwanken kann,
2. der Zusatz einer stets gleichen Menge Methylorange-lösung sowohl im blinden Versuche bei der Prüfung der Reagenzien als im jeweiligen Ernstfalle,
3. womöglich eine Temperatur zwischen 30 und 40° und
4. daß man in der Nähe des Endpunktes der Reaktion, d. h. beim ersten Beginn des Blässerwerdens der Lösung, zwischen dem Zusatz der einzelnen Tropfen Bromatlösung einen Zeitraum von 2—3 Minuten verstreichen läßt.

Zum Schlusse möchte ich nicht unerwähnt lassen, daß die erreichte hohe Genauigkeit nicht zum geringsten Teil der Verwendung der von Prof. Pregl für die Mikroanalyse angegebenen Präzisionsquetschhahnbüretten zu verdanken ist.

## **B. Die Bestimmung von Arsen in Harn, Blut und anderen Körperflüssigkeiten.**

Nun erübrigt es noch, das Verfahren zu beschreiben, welches es auf dem kürzesten Wege ermöglicht, aus Harn, Blut und anderen Körperflüssigkeiten darin enthaltenes Arsen

<sup>1)</sup> Aus einer in Parenthese gemachten Bemerkung von Ramberg-Sjöström geht übrigens hervor, daß die beiden diese Genauigkeit gelegentlich vielleicht auch erreicht haben dürften (Seite 8 l. c.).

als arsenige Säure so zu isolieren, daß es nach dem im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Titrationsverfahren bestimmt werden kann. Der Übersicht halber empfiehlt es sich, einen kurzen Überblick über die einzelnen Phasen der Verarbeitung dieser Körperflüssigkeiten zu geben:

- a) Die organischen Stoffe der Probe werden durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure zerstört.
- b) Die nach der Verbrennung zurückbleibenden Stickstoffverbindungen werden durch Erhitzen mit Ammoniumoxalatlösung entfernt.
- c) Nach Zusatz von Wasser, Salzsäure, Bromkalium und Hydrazinsulfat wird das Arsen als Trichlorid abdestilliert. Dabei wird
- d) das Destillat in Wasser aufgefangen und das Arsen durch Titration mit Kaliumbromatlösung bestimmt.

### I. Erfordernisse.

#### A. Geräte.

- a) Kjeldahlkolben aus Jenaerglas, 300 ccm fassend, mit eingeschliffenem Destillationskühler ohne Wassermantel

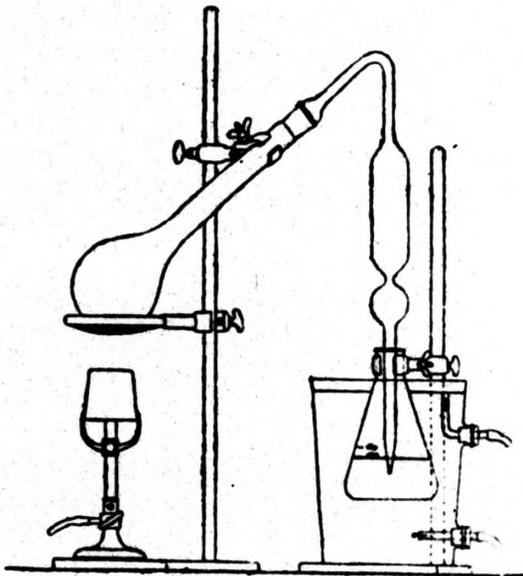


Fig. 1 (ca. 1/2)

(siehe Abb. 1). Zwei Kolben können zu demselben Kühler passend geschliffen sein. Der untere Teil des Kühlers

ist in eine langgestreckte Spitze von 3 mm Öffnung ausgezogen.

- b) Ein Tropfzylinder (siehe Abb. 2). Dieses von Ramberg-Sjöström angegebene praktische Gerät ermöglicht es, rauchende Salpetersäure in einer Menge von jederzeit nur 0,2 ccm bequem entnehmen zu können, ohne daß man sich damit die Finger beschmutzt, oder daß die Säure darin eine Veränderung erlitte.
- c) Erlenmeyerkolben, 300 ccm, am besten aus Jenaerglas, womöglich mit einer 150 und 170 ccm-Marke versehen.
- d) Meßzylinder, 5 Stück à 25 ccm, für Salpetersäure, Schwefelsäure, Salzsäure, Ammoniumoxalatlösung und Wasser. Man soll nie dasselbe Meßgefäß für verschiedene Flüssigkeiten verwenden.
- e) Verschiedene Stative und Brenner mit Schornstein. Zur Verbrennung selbst verwendet man am besten ein Holzstativ, welches von den Säuredämpfen weniger als ein Metallstativ angegriffen wird.
- f) Ein Kühlwassergefäß mit Zu- und Abfluß, zweckmäßig 2—3 Liter enthaltend (siehe Abb. 1).

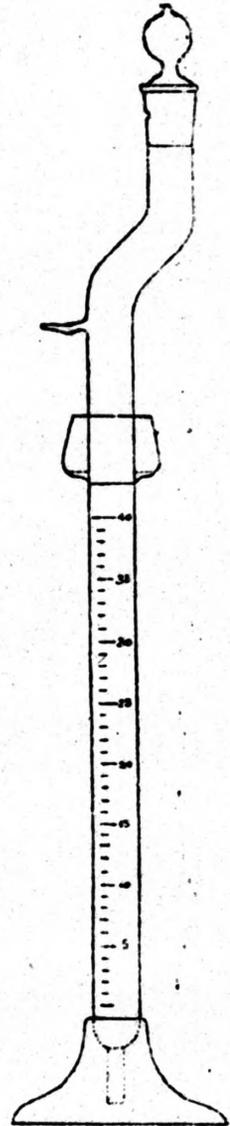


Fig. 2 (ca.  $\frac{1}{4}$ )

#### B. Reagenzien.

- a) Konzentrierte Schwefelsäure.
- b) Salzsäure, spez. Gewicht 1,19.
- c) Rauchende Salpetersäure, spez. Gewicht 1,49—1,5.
- d) Gesättigte Lösung von reinem, chlorfreiem Ammoniumoxalat. Kahlbaums Präparat „zur Analyse“ ist ohne weiteres verwendbar. Gewöhnliche Handelsware muß aus kochendem Wasser umkristallisiert werden.
- e) Bromkalium.
- f) Hydrazinsulfat von Kahlbaum.

## II. Die Vorbehandlung der Probe.

Wie bekannt ist Harn reich an Chloriden, aus denen beim Kochen mit Schwefelsäure Chlorwasserstoff entweicht. Nun können die vorhandenen organischen Stoffe beim Einkochen mit Schwefelsäure reduzierend auf Arsenverbindungen einwirken, so daß sich arsenige Säure bildet, die dann mit dem Chlorwasserstoff als Arsenrichlorid entweichen würde. Um dies sicher zu vermeiden, verdampft man zuerst den Harn unter Zusatz von 20 Volumprozenten Salpetersäure in einer Porzellanschale am Wasserbad zur Trockne. Zur gewöhnlich untersuchten Harnmenge von 150 ccm setzt man also 30 ccm Salpetersäure zu. Dies genügt für jede vorkommende Chlormenge.

## III. Die Verbrennung der organischen Stoffe.

Diese Operation muß immer unter einem gutziehenden Abzug vorgenommen werden, so daß die sich entwickelnden nitrosen Gase und Schwefelsäureschwaden nicht in den Arbeitsraum gelangen können.

Den Verdampfungsrückstand des Harns führt man quantitativ mit Hilfe eines langstieligen Trichters in einen 300 ccm Kjeldahlkolben über und spült die Schale zuerst mit 25 ccm rauchender Salpetersäure, am besten in drei Portionen, und hierauf mit 20—22 ccm konzentrierter Schwefelsäure, ebenfalls in drei Portionen, nach. Hierauf fügt man eine kleine Glasperle zur Verhinderung des Stoßens dem Inhalt zu, befestigt den Kolben in einem Stativ aus Holz und beginnt vorsichtig mit dem Erhitzen. Man steigert die Temperatur nur allmählich. Entfärbt sich der Gasinhalt des Kolbens und nimmt danach die Flüssigkeit infolge Verkohlungs organischer Substanzen eine dunklere Farbe an, so setzt man mit Hilfe des Tropfzylinders 0,2—0,3 ccm rauchende Salpetersäure zu. Das Erhitzen und den Zusatz von Salpetersäure wiederholt man so lange, bis die Flüssigkeit wieder hell und klar geworden und eine lichtgrünlichgelbe Farbe angenommen hat. Man läßt nun die Flüssigkeit etwas abkühlen, fügt neuerlich 0,2

bis 0,3 ccm Salpetersäure zu und erhitzt hierauf, bis sich Schwefelsäuredämpfe zeigen, und erhält sie von da ab noch ca. 10 Minuten in gelindem Sieden.

Es ist absolut notwendig, daß jede Spur von organischen Körpern zerstört wird, da man sonst bei der Titration zu hohe Werte erhält.

Die korrekte Verbrennung erfordert die Zeit von 20 bis 40 Minuten.

Nachdem der Kolbeninhalt auch nach zehnminutenlangem Sieden sich nicht verändert hat, läßt man ihn erkalten, fügt 25 ccm gesättigte Ammoniumoxalatlösung in feinem Strahl und unter gutem Umschütteln zu, worauf man einkocht, bis sich wieder Schwefelsäuredämpfe im Kolben zeigen, und läßt den Inhalt noch 15 Minuten in gelindem Sieden.

Sollten beim Zusatz von Ammoniumoxalatlösung keine nitrosen Gase frei werden, so ist man nicht sicher, daß die Verbrennung vollständig war. In diesem Falle ist man genötigt, durch neuerliches Einkochen das Wasser zu vertreiben, setzt hierauf 0,2—0,3 ccm Salpetersäure zu und verfährt weiters wie oben.

#### IV. Die Reduktion und Destillation.

In dem abgekühlten Kolbeninhalt liegt nun alles Arsen in Form von Arsensäure vor. Um daraus das Arsen durch Destillation zu isolieren, ist es notwendig, zuerst die gebildete Arsensäure durch Reduktion in arsenige Säure überzuführen. Ursprünglich wurden die Reduktion und Destillation als getrennte Operationen durchgeführt. Nach langen Bemühungen ergaben sich Verfahrensweisen, beides gleichzeitig vorzunehmen. Während früher Bang ausschließlich Mohrsches Salz oder Ferrosulfat als Reduktionsmittel anwandte, führten Kamberg-Sjöström zum größten Vorteil des Verfahrens das Hydrazinsulfat als Reduktionsmittel ein. Als das wichtigste Mittel, das angestrebte Ziel zu erreichen, erwies sich aber der Zusatz weniger Milligramme Bromkalium. Bang berichtet darüber folgendes:

„Wir erhielten mit ‚Kahlbaums Präparat zur Analyse‘ stets bessere Resultate als mit dem von uns selbst durch

wiederholtes Reinigen hergestellten Chlorkalium. Unser Präparat war eben vollkommen frei von Bromkalium, während sich im Kahlbaumschen Präparat eine Spur von Bromid befand. Lange Zeit wurde dieser Faktor übersehen, da auf der dem Kahlbaumschen Präparat beigefügten Analyse nichts angeführt war.“

Durch die Untersuchungen Rambergs wurde nun erwiesen, daß die Anwesenheit einer geringen Menge von Bromkalium für die vollständige Reduktion in zweckmäßig kurzer Zeit von unerläßlicher Notwendigkeit ist.

Weiters zeigt er an beobachteten Zahlenreihen, daß es sich nicht um eine Beschleunigung der Destillation handle, etwa dadurch, daß das Arsenbromid flüchtiger wäre als das Trichlorid, weil schon außerordentlich kleine Mengen des Bromids genügten, um mit den theoretischen Werten gut übereinstimmende Resultate bei der Durchführung von Reduktion und Destillation in einer Operation zu erhalten.

Nachdem sich der Kolbeninhalt nach dem Einkochen mit Ammoniumoxalatlösung abgekühlt hat, setzt man 20 ccm Wasser unter Drehen des Kolbens so zu, daß die Schliffstelle und der Kolbenhals von kondensierter Schwefelsäure befreit werden. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur trocknet man den Kolbenhals vorsichtig mit einer Flamme.

Sollten sich beim Zusatz von Wasser nitrose Gase entwickeln, was nur der Fall ist, wenn man einen unnötig großen Überschuß von Salpetersäure angewandt hatte und das darauffolgende Erhitzen zu kurz oder die Temperatur zu niedrig war, so kocht man das zugesetzte Wasser fort und erhitzt die Schwefelsäure 15 Minuten zum Kochen, worauf man von neuem 20 ccm Wasser zusetzt.

Um geschliffene Destillationskolben zu sparen, empfiehlt es sich, die Verbrennung und das Aufkochen mit Ammoniumoxalatlösung in einem gewöhnlichen Kjeldahlkolben vorzunehmen und den Inhalt hierauf in einen Destillationskolben mit eingeschliffenem Kühler überzuführen, wobei man den ersten Kolben zweimal mit 10 ccm Wasser nachspült.

Zum kalten Kolbeninhalt setzt man 1 g Hydrazinsulfat,

30 g Chlorkalium und 25 ccm Salzsäure, spez. Gewicht 1,19, sowie eine kleine Messerspitze Bromkalium (10—15 mg), worauf man gut umschüttelt. Besser ist es, die 30 g Chlorkalium durch weitere 25 ccm Salzsäure zu ersetzen, so daß man im ganzen 50 ccm Salzsäure zufügt. Ein kristallisierter Körper wie das Chlorkalium ist nie so homogen wie die Salzsäure und daher können darin eben leichter Verunreinigungen vorkommen, die man bei der Blindanalyse übersehen kann. Auch erhält man gleichmäßigere HCl-Konzentrationen in den Destillaten. Sodann befestigt man den Kolben in geneigter Stellung in einem Stativ, setzt den Kühler an und dichtet die Schliffstelle mit ein paar Tropfen Schwefelsäure. Die Vorlage, den mit 150 ccm Wasser beschickten Erlenmeyerkolben, versenkt man bis zum Hals derart in Kühlwasser, daß sich das Ende des Kühlers ungefähr einen cm unter der Wasseroberfläche in der Vorlage befindet.

Die Destillation ist vom Zeitpunkt des Entzündens der Flamme an gerechnet in 10 Minuten beendet.

Die Größe der Flamme hat man so einzustellen, daß:

- a) des Kühlers gekrümmtes Rohr nach  $2\frac{1}{2}$ — $2\frac{3}{4}$  Minuten heiß wird,
- b) daß bis zum Schluß der Destillation, also nach 10 Minuten, 20—25 ccm Flüssigkeit überdestillieren,
- c) die Destillation nicht so rasch vorgenommen wird, daß sich etwa die Oberfläche des heißen Kolbeninhaltes innerhalb der 10 Minuten mit einer Haut von auskristallisierenden Salzen zu überziehen beginnt. Dies kann jedoch nur dann vorkommen, wenn man die Destillation unter Verwendung von Chlorkalium vorgenommen hat.

Nachdem die Destillation 10 Minuten gewährt hat, hebt man das Stativ mit dem Kolben auf, bevor der Brenner abgestellt ist, um so ein Zurücksteigen der Flüssigkeit in den Kühler zu verhindern. Sobald der Kolbenhals abgekühlt ist, kann man den Kühler vom Kolben lösen. Des Kühlers Schliffstelle befreit man durch sorgfältiges Spülen von Schwefelsäure. Sobald man Kolben und

Kühler nicht verwendet, soll man sie so aufbewahren, daß kein Staub eindringen kann.

## V. Die Prüfung der Reagenzien und die Ausführung blinder Versuche.

Um den Bromatverbrauch der Reagenzien zu bestimmen, führt man eine vollständige Analyse, alle oben beschriebenen Operationen umfassend, mit den angegebenen Reagenzmengen aus. Sind die Reagenzien von tadelloser Beschaffenheit, so verbraucht man im blinden Versuche immerhin 0,20—0,35 ccm Bromatlösung. Die Korrektur bleibt auf 0,01 ccm vollkommen konstant, solange man dieselben Reagenzien verwendet. Man muß aber diese Korrektur jedesmal neu bestimmen, sobald man ein neubeschafftes Reagens in Verwendung nimmt. Dies bezieht sich auch auf das destillierte Wasser. Wenn die Korrektur 0,35 ccm übersteigt, ist von der Verwendung dieser Reagenzien abzuraten. Meist ist nur das Chlorkalium verunreinigt; auch aus diesem Grunde ist es geboten, wie schon früher auseinandergesetzt, auf die Verwendung desselben ganz zu verzichten und statt dessen nur Salzsäure zu nehmen.

Die rauchende Salpetersäure prüft man auf ihre Verwendbarkeit auf folgende Art. Man dampft 100 ccm derselben in einem Kolben auf 5—10 ccm ein, worauf man den blinden Versuch auf gewöhnliche Art fortsetzt. Das hierbei verbrauchte Volumen Bromatlösung soll das bei einem gewöhnlichen blinden Versuch mit nur wenig Salpetersäure um höchstens 0,05 ccm übersteigen. Arsenhaltige Salpetersäure reinigt man leicht durch vorsichtige Destillation.

## VI. Beleganalysen und Arsenbestimmungen im normalen Harn.

### a. Beleganalysen.

Als zu untersuchende Probe wurde eine Lösung von Arsensäure verwendet, die im ccm 0,002 mg Arsen enthält.

Theoretischer As-Gehalt	Gefunden	Differenz
0,010 mg As	0,012	+ 0,002
0,045 " "	0,046	+ 0,001
0,170 " "	0,172	+ 0,002
0,200 " "	0,202	+ 0,002
0,230 " "	0,232	+ 0,002
0,340 " "	0,342	+ 0,002
0,490 " "	0,492	+ 0,002
0,615 " "	0,620	+ 0,005
0,700 " "	0,704	+ 0,004
0,890 " "	0,890	± 0,000

**b. Arsenbestimmungen im normalen Harn ohne und mit Zusatz von Arsen resp. Silbersalvarsan.**

Verwendet wurden je 150 ccm Harn.

Harn I. gefunden . . . . 0,034 mg As  
 desgl. . . . . . . . . . 0,032 " "

Zu diesem Harn (150 ccm) wurden nun zugesetzt (in Form von Arsensäure):

0,084 mg As	Gefunden: 0,086 mg As	Differenz: + 0,002
0,235 " "	" 0,232 " "	" - 0,003
0,140 " "	" 0,142 " "	" + 0,002

Harn II. Gefunden 0,028 mg As  
 desgl. " 0,028 " "

Zu diesem Harn (150 ccm) wurden nun verschiedene Mengen Silbersalvarsanlösung zugesetzt, und zwar entsprechend

0,243 mg Silbersalv.	Gef.: 0,058 mg As	theor.: 0,0544	Diff.: + 0,0036
0,170 " "	" 0,040 " "	" 0,0378	" + 0,0022
1,093 " "	" 0,240 " "	" 0,2430	" - 0,0030

**VII. Modifikation der Methode zur Bestimmung von Arsen in Blut und Lumbalflüssigkeit.**

Zur Verbrennung, die man in einem 100 ccm Kjeldahlkolben vornimmt, versetzt man 5 ccm Blut mit 5 ccm rauchender Salpetersäure, worauf man erwärmt, bis die Flüssigkeit klar und auf ca. 3 ccm eingengt ist. Dann setzt man 5 ccm

Schwefelsäure zu und verbrennt weiter, genau wie bei der Verbrennung von Harn. Nur setzt man nach vollendeter Verbrennung nicht 25 ccm, sondern nur 6 ccm Ammoniumoxalat-lösung zu. Hierauf erhitzt man abermals, bis Schwefelsäure entweicht, und hält die Flüssigkeit von da ab noch ca. 5 Minuten in gelindem Sieden.

Dann läßt man erkalten, setzt 5 ccm Wasser zu, so daß Schliffstelle und Kolbenhals reingespült werden, und trocknet sie dann. Hierauf fügt man 0,2 g Hydrazinsulfat, 10 ccm Salzsäure (spez. Gewicht 1,19) und 10—20 mg Bromkalium zu. Alsdann destilliert man durch 5 Minuten in die mit 60 ccm Wasser beschickte Vorlage. In dieser Zeit sollen nicht mehr als 10 ccm Destillat übergehen.

Bei der darauffolgenden Titration verfährt man wie bei der Bestimmung von Arsen im Harn, nur verwendet man mit Vorteil eine Methylorangelösung von 1 : 5000.

**C. Beispiel für die tägliche Arsenausscheidung mit dem Harn und der As-Gehalt des Blutes vor, während und nach einer Behandlung mit Silbersalvarsan.**

Gewonnen an einem 23jährigen Patienten.

Datum 1920	Injektion	Harn ccm pro Tag	mg As in 150 ccm Harn	mg As in der Tages- harn- menge	mg As in 5 ccm Blut
9. VI.	—	1258	0,044	0,369	
10. "	—	1036	0,078	0,538	
11. "	—	1073	0,066	0,472	
12. "	—	1153	0,022	0,169	
13. "	—	1185	0,014	0,110	
14. "	0,10 S.-S.	794	0,060	0,317	0,000
15. "	—	979	0,504	3,289	
16. "	—	1198	0,278	2,220	
17. "	—	2037	0,198	2,668	
18. "	0,15 S.-S.	930	0,202	1,252	0,002
19. "	—	799	0,656	3,494	
20. "	—	1038	0,254	1,757	
21. "	—	1034	0,160	1,102	

Datum 1920	Injektion	Harn ccm pro Tag	mg As in 150 ccm Harn	mg As in der Tages- harn- menge	mg As in 5 ccm Blut
22. VI.	0,15 S.-S.	1486	0,124	1,228	0,012
23. "	—	756	0,870	4,384	
24. "	—	998	0,282	1,876	
25. "	—	1298	0,230	1,990	
26. "	—	1243	0,170	1,408	
27. "	—	1376	0,126	1,155	
28. "	—	1040	0,118	0,818	
29. "	0,20 S.-S.	878	0,134	0,784	0,018
30. "	—	1236	0,652	5,372	
1. VII.	—	954	0,406	2,584	
2. "	—	860	0,374	2,144	
3. "	—	1204	0,184	1,476	
4. "	—	892	0,252	1,498	
5. "	0,20 S.-S.	966	0,108	0,695	0,002
6. "	—	790	0,896	4,718	
7. "	—	708	0,562	2,652	
8. "	—	714	0,308	1,466	
9. "	—	1068	0,148	1,053	
10. "	0,25 S.-S.	848	0,172	0,972	0,004
11. "	—	776	0,918	4,738	
12. "	—	796	0,546	2,897	
13. "	—	882	0,384	2,257	
14. "	—	862	0,292	1,678	
15. "	—	810	0,144	0,777	
16. "	0,25 S.-S.	788	0,162	0,869	0,002
17. "	—	782	1,022	5,328	
18. "	—	858	0,568	3,248	
19. "	—	880	0,340	1,994	
20. "	—	904	0,304	1,832	
21. "	—	766	0,358	1,828	
22. "	—	770	0,280	1,437	
23. "	—	762	0,188	0,955	
24. "	—	936	0,210	1,310	
25. "	—	790	0,194	1,021	
26. "	—	824	0,142	0,780	
27. "	—	904	0,106	0,638	
28. "	—	932	0,104	0,646	
29. "	—	994	0,084	0,556	
30. "	—	942	0,094	0,590	

Datum 1920	Injektion	Harn ccm pro Tag	mg As in 150 ccm Harn	mg As in der Tages- harn- menge	mg As in 5 ccm Blut
31. VII.	—	2554	0,034	0,579	
1. VIII.	—	892	0,072	0,428	
11. „	—	—	—	—	0,012
13. „	—	732	0,028	0,136	
18. „	—	—	—	—	0,033
21. „	—	920	0,056	0,343	
27. „	—	—	—	—	0,035

Wie man aus der mitgeteilten Arbeit ersehen kann, sind während der Zeit vom 15. VI. bis 1. VIII. 1920 89,941 mg elementaren Arsens ausgeschieden worden. Wenn die durchschnittliche Arsenausscheidung im normalen Harn zu 0,250 mg angenommen wird, so sind hievon 12 mg abzuziehen. Der Rest macht 77,941 mg Arsen aus. Die gesamte, dem Patienten einverleibte Menge Silbersalvarsan betrug 1300 mg, entsprechend 292,5 mg elementarem Arsen.

Daraus ergibt sich, daß nur 26,6% Arsen den Körper mit dem Harn verlassen haben. Also ist die Hauptmenge des Arsens bis zum 16. Tage nach der letzten Injektion im Körper verblieben.

Auf welche Art und wo dieses Arsen im Organismus gebunden wird, soll den Gegenstand einer späteren Arbeit bilden.