

Zum Nachweis der phosphorigen und unterphosphorigen Säure in Organen (nach Phosphorvergiftung).

II. Mitteilung.

Von

weil. R. Ehrenfeld¹⁾ und W. Kulka.

(Aus dem Laboratorium des Hofrates Prof. Dr. Habermann der k. k. techn. Hochschule in Brünn.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. November 1909.)

Im Jänner d. J. teilten wir eine Methode zum Nachweis der phosphorigen und unterphosphorigen Säure in Organen mit,²⁾ die, auf der Bildung von PH_3 beim Erhitzen der genannten Säuren resp. deren Salzen beruhend, geeignet sein konnte, die bekannte Blondlot-Dusartsche Reaktion insofern zu ergänzen, als sie die gegenwärtig noch kontroverse Möglichkeit der Bildung von Phosphorwasserstoff aus faulenden Organen durch den nascierenden Wasserstoff und den Umweg über das relativ leicht zersetzliche Phosphid³⁾ vermeidet und überdies viel kürzere Zeit zur Ausführung benötigt.

Es erübrigte nun zu untersuchen, ob diese Methode auch zum Nachweis einer vor längerer Zeit erfolgten Phosphorvergiftung herangezogen werden könnte.

Das durchwegs angewendete Verfahren war kurz skizziert folgendes: Die zerkleinerten Organe wurden mit destilliertem Wasser übergossen, im verschlossenem Gefäß durch 12—24 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen gelassen, sodann filtriert, das Filtrat im CO_2 -Strom am Wasserbad ein-

¹⁾ Da mein werter Mitarbeiter Herr Priv.-Doz. Dr. R. Ehrenfeld im Juli d. J. plötzlich vom Tode dahingerafft wurde, oblag es mir, die Arbeit allein zu Ende zu führen.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 43.

³⁾ Poleck und Thümmel, Berl. Ber., Bd. XVI, S. 2443.

gedampft, der Rückstand mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure angefeuchtet und wieder im CO_2 -Strom zur Trockene gebracht. Der so behandelte Extrakt wurde im Porzellanschiffchen in der seinerzeit beschriebenen Apparatur¹⁾ im CO_2 -Strom erhitzt und die dabei entstehenden Gase durch das Innenrohr eines Knallgashahnes in den Flammenkegel einer Wasserstoffflamme geleitet, welcher das Vorhandensein von PH_3 auch nur in Spuren durch intensive Grün- resp. Grün- und Violett-färbung erkennen ließ.

Es sei gleich an dieser Stelle bemerkt, daß zwar dieselbe Apparatur zu beliebig vielen Untersuchungen verwendet werden kann, daß aber das Verbrennungsrohr nach jedem Versuch gut mit konzentrierter HNO_3 oder HCl gereinigt und die Asbestvorlage am besten ganz erneuert werden muß, da in den sich an den Röhrenwandungen und der Asbestvorlage absetzenden teerartigen Destillationsprodukten Spuren von PH_3 hartnäckig festhaften, deren Entfernung auch durch kräftiges Erhitzen nur schwer sicher zu erreichen ist, jedenfalls aber viel Zeit in Anspruch nimmt. Für das innere Gasleitungsrohr des Knallgashahnes genügt mechanische Reinigung von den Schweißprodukten und kurzes Ausglühen. Jedenfalls muß vor jeder Untersuchung eine blinde Probe mit leerem Apparat und der Wasserstoffflamme angestellt werden. Zur Reinigung des Wasserstoffes wurden, um an AgNO_3 zu sparen, 2 Waschflaschen, die erste mit ca. $n/10$ - KMnO_4 -Lösung, die zweite erst mit $n/10$ - AgNO_3 verwendet.

Es war nun vor allem festzustellen, ob wegen des bereits am Schlusse der I. Mitteilung²⁾ erwähnten relativ raschen Verschwindens der phosphorigen und unterphosphorigen Säure im Blute in vitro, diese Zwischenstufen für den Nachweis in der Leiche nach längerer Zeit überhaupt in Frage kämen.³⁾

¹⁾ I. c. S. 47. Dortselbst auch Versuche bezüglich der nachweisbaren Minima.

²⁾ I. c. S. 52.

³⁾ Bei einem Gehalt von 0,125—0,2 ‰ P (im ganzen immer 5 mg P fein verteilt) konnte in sterilem Blut nach längstens 48 Stunden kein Phosphor (nach Mitscherlich) und bald darauf auch keine H_3PO_3 und H_3PO_2 (mit der oben beschriebenen Reaktion) mehr nachgewiesen werden.

Zweitens, ob dieselben nicht anderweitig im Organismus resp. in faulenden Leichenteilen aus Phosphaten oder organischen phosphorhaltigen Bestandteilen des Körpers (Phosphatiden, Nucleoproteiden usw.) oder Nahrung entstehen und zu Täuschung Veranlassung geben könnten.

Vor allem wiesen die vielen Fälle, wo der Phosphornachweis nach Mitscherlich und besonders mit Hilfe der Dusartschen Reaktion noch nach vielen Wochen und Monaten gelang, darauf hin, das diese Umwandlungsvorgänge in der Leiche jedenfalls bedeutend langsamer ablaufen dürften, was auch durch die nachstehend beschriebenen Versuche vollauf bestätigt wurde.

I. Kaninchen 1143 g schwer, wurde am 24. I. per os mit 10 mg Phosphor (in Vaselineöl emulgiert) vergiftet (mit Magenschlauch eingeführt); exitus am 25. I.; Obduktion am 26. I. Die Untersuchung nach Mitscherlich war für alle Organe (jedes einzeln untersucht, auch Magen, Dünn- und Dickdarm von einander getrennt) bis auf den mit Nahrung gefüllt vorgefundenen Magen negativ, dagegen zeigten neben dem Magen auch Leber, Niere und Dünndarm nach der eingangs beschriebenen Methode (im folgenden kurzweg als Flammenreaktion bezeichnet) untersucht, deutlich grünen Flammenkegel bei ihrer Untersuchung 14 Tage nach der Obduktion.

II. Kaninchen, 1235 g, erhält am 23. I. 8 mg Phosphor in Vaselineöl, am 25. I. noch weitere 5 mg P, am 26. I. exitus. Die sofort an die Obduktion (27. I.) angeschlossene Untersuchung von Teilen der einzelnen Organe nach Mitscherlich versagt bei allen. Der geöffnete Leichnam wird mit den Resten der Organe vernäht und bei einer Temperatur von 8–10° liegen gelassen. Nach einem Monat (23. II.) ist die Mitscherlichsche Probe, wie zu erwarten, wieder negativ, dagegen geben alle Organe, jedes für sich untersucht, deutliche Grünfärbung, und

Spektroskopisch zeigte sich das Verschwinden der beiden Oxyhb.-Streifen, makroskopisch eine leichte Braunfärbung. Die darauf bezüglichen Vorgänge wurden aus äußeren Gründen vorläufig nicht weiter verfolgt, doch schien beim Stehen in CO₂-Atmosphäre und im Dunkeln der Vorgang deutlich verlangsamt.

zwar Leber, Magen, Niere, Gehirn und Muskulatur sehr deutlich, dagegen nur schwach Darm und Lunge.

Dauerversuche.

III. Kaninchen (Nr. 74), 3000 g, erhält 1,2 ccm Phosphoröl (12 mg P) langsam intravenös (Ohrvene) injiziert. Nach etwa 12' Tod unter Krämpfen und Lähmungen. 28. I. Obduktion: Bei der Eröffnung des Bauchraumes starker Phosphorgeruch, der aber bald verschwindet. Phosphor durch Destillation nachgewiesen: Gehirn, Muskel, Niere, Herz, Milz, Magen (schwach), Lunge; negativ dagegen im Blut (Herz- und Portalblut). Am 29. I. wird noch Blut aus dem Brustraum untersucht mit demselben Ergebnis. Die Hohlorgane wurden vor Entnahme einzelner Stücke zur Untersuchung gut abgebunden, der Kadaver vernäht und in einem dünnen Holzkistchen in die Gartenerde (etwa 40 cm tief) vergraben.

Am 23. IX. ist folgender Befund: das Kistchen feucht, morsch, teilweise im Zerfallen, der Leichnam stark verwest, teilweise skelletiert, so daß eine deutliche Sonderung der Organe kaum möglich (Gehirn nicht mehr vorhanden), daher Proben von allen zusammen untersucht (verarbeitet ca. 20 g, vorwiegend Magen, Darm und Muskulatur, zu gleichen Teilen für beide Reaktionen verwendet).

Der Phosphornachweis nach Mitscherlich vollkommen negativ. Die Flammenreaktion ergibt anfangs violetten, dann in smaragdgrün übergehenden Kegel.

II. Kaninchen (Nr. 86), 2400 g, werden 8 mg Phosphoröl wie Nr. 74 injiziert, Verlauf der Vergiftung wie oben.

Am 13. III. ein Stückchen Rückenmuskel herausgeschnitten zeigt bei der Destillation kein Leuchten, dagegen deutliche Grünfärbung des Flammenkegels. Bis zu diesem Tage bei ca. 8° gelegen. Am selben Tag in Holzkistchen in die Gartenerde eingegraben.

24. IX. ausgegraben, makroskopischer Befund wie oben, daher wieder Proben aller Organe (vorwiegend Magen, Darm, Muskulatur und Reste der Lunge) zusammen (wieder ca. 20 g) am 28. IX. untersucht. Die Reaktion nach Mitscherlich voll-

kommen negativ, dagegen prachtvoll grüne, lang andauernde Flammenreaktion.

Die angeführten Ergebnisse zusammengehalten mit den bereits erwähnten bisher bekannten Erfahrungen zeigen wohl zur Genüge, daß auch in der Leiche (von besonderen Umständen abgesehen) der Übergang von Phosphor zu H_3PO_2 und H_3PO_3 relativ rasch erfolgt, die weitere Umwandlung aber, mindestens in vielen Fällen, sehr langsam vonstatten geht. Ließen sich doch in den beiden letztbeschriebenen Versuchen (Kaninchen Nr. 74 u. 86) noch nach 240 Tagen diese Oxydationsstufen, trotzdem die Leichen einen heißen und dabei niederschlagsreichen Sommer hindurch vergraben waren, so deutlich nachweisen, daß man wohl vermuten kann, dieselben wären auch noch nach viel längerer Zeit noch zu finden gewesen.

Eine Reduktion von Phosphaten durch Vorgänge bei der Fäulnis war schon nach den Untersuchungen von Klett¹⁾ und Carapelle²⁾ im Gegensatz zu den Ergebnissen von Krepss³⁾ nicht zu erwarten. Überdies wurden von uns eine Reihe von Organen im ausgebluteten Zustande (darunter Gehirn, Herz, Lunge, Leber, Niere, Muskel, Magen, Dick- und Dünndarm) und ganze Kadaver mit Na_2HPO_4 teils imbibiert, teils injiziert durch mehrere Monate während des Sommers sich selbst überlassen, eine ganze Versuchsreihe wie die P-Kaninchen vergraben. Bei keinem dieser Versuche konnte auch nur eine Spur von Phosphor liefernden Gasen oder den beiden Säuren gefunden werden. (Nach Mitscherlich und der Flammenreaktion untersucht.) Die Organe waren dabei teils geschrumpft, teils in stinkende, faulige Massen umgewandelt.

Zur bestimmten Erledigung der Angelegenheit war noch die Frage zu erwägen, wie sich die Phosphatide und die phosphorhaltigen Eiweißprodukte in dieser Beziehung verhielten, welcher Natur die beim Zerfall resp. bei der Fäulnis der genannten Stoffe sich bildenden Phosphorverbindungen sein könnten, und

¹⁾ Zeitschrift f. Hygiene, Bd. XXXVII, S. 107, 1900.

²⁾ Bakt. Zentralbl., 47/I., 1908, S. 545.

³⁾ Methoden des Phosphornachweises usw., Inaug.-Diss. Petersburg 1901, zitiert nach A. Fischer, Pflügers Archiv, Bd. XCVII, S. 581.

ob diese die Reaktion bezüglich ihrer Verwertung beeinträchtigen konnten.

Damit wäre gleichzeitig die momentan wohl noch als kontravers zu betrachtende Streitfrage betreffs der möglichen Bildung phosphorhaltiger Gase bei der Fäulnis von Organen wieder aufgegriffen worden, die, von Selmi¹⁾ angeregt, seither eine große Zahl von Forschern²⁾ beschäftigte, was für die Wichtigkeit, aber auch für die Schwierigkeit dieser Untersuchungen spricht. Sagt doch selbst Kobert³⁾ in seinem bekannten Lehrbuche bei der Zusammenfassung bezüglich des Phosphornachweises, nachdem er zuerst konstatiert, daß es weder Ch. Yokote gelang, die Versuche Marpmanns noch seinem Mitarbeiter A. Fischer⁴⁾ die Resultate von Krepss und Stich zu bestätigen: «Trotzdem wage ich nicht, die Richtigkeit der Versuche von Krepss und Stich ganz in Abrede zu stellen» und fordert vielmehr zur Wiederholung und Variierung dieser Versuche dringend auf, weil davon auch eventuell die Erklärung mancher Krankheitsfälle zu erwarten sein könnte.

Diese Frage hatten wir eben durch die von uns beschriebene Methode zu umgehen versucht, da hierbei eine weitere Reduktion durch naszierenden Wasserstoff wie bei der Dusartschen Methode vermieden wird und bei der Extraktion mit Wasser und zweimaligem Eindampfen am Wasserbad zur völligen Trockene im CO₂-Strome auch derartige möglicherweise gebildete gasförmige P-haltige Verbindungen entfernt werden.

Daß aber bei diesen Fäulnisvorgängen auch die beiden fraglichen Oxydationsformen des Phosphors als solche gebildet werden könnten, ist wohl sehr unwahrscheinlich, ebenso auch eine Täuschung durch solche organische Phosphorverbindungen, die beim Erhitzen des Rückstandes Phosphorwasserstoff liefern, da die primären und sekundären Phosphine äußerst flüchtig, zersetzlich und fast wasserunlöslich sind, die tertiären als Phosphoniumbasen dagegen beim Erhitzen keinen PH₃ liefern.

¹⁾ Archiv d. Pharmazie, Bd. CCXIX, S. 276 (1881).

²⁾ Literatur darüber bei Kobert, Lehrbuch d. Intoxikationen, II., 2. Aufl., S. 309—10 u. a. O.

³⁾ l. c.

⁴⁾ Pflügers Archiv, Bd. XCVII.

Bei den zahlreichen von uns in dieser Richtung angestellten Versuchen, die teilweise mit den Untersuchungen betreffs Reduktionen des Na_2HPO_4 zusammenfallen, erhielten wir bisher durchwegs vollkommen negative Resultate.¹⁾

Als letzter Einwand blieb noch die Möglichkeit, daß Hypophosphite, wenn auch nicht allzu häufig, therapeutische Verwendung finden und hierdurch zur Täuschung Veranlassung geben könnten, was aber wegen der raschen Ausscheidung dieser Verbindungen aus dem lebenden Organismus nur in Frage käme, wenn diese längstens ein bis zwei Tage vor dem Tode eingenommen worden waren.²⁾ Begann doch auch bei einem Versuch Vermeulens³⁾ am Menschen die Ausscheidung der in therapeutischen Gaben per os eingeführten Hypophosphite nach 2—3 Stunden und war nach 12 Stunden bereits beendet, während Salze der phosphorigen Säure im Organismus rasch vollständig oxydiert zu werden scheinen⁴⁾ und nur bei sehr großen Dosen noch im Harn als solche ausgeschieden werden. Es wären also für den Fall, daß die Möglichkeit der Einnahme von Hypophosphiten längstens 2—3 Tage vor dem Tode vorhanden wäre, betreffs Verwertung der Flammenreaktion ähnliche Kautelen zu treffen, wie sie Panzer⁵⁾ schon für die Blondlot-Dusartsche Reaktion festgestellt hat (Ausschließen des Harnes und des Inhaltes von Magen-Darmkanal von dieser Untersuchungsweise, resp. von vornherein getrennte Aufbewahrung).

Unter den angeführten Umständen glauben wir wohl annehmen zu dürfen, daß die beschriebene Methode neben der

¹⁾ Über systematische Versuche betreffs Reduktionserscheinungen an organischen Phosphorverbindungen durch anaerobe und bei Sauerstoffabschluß wachsende aerobe Bakterien hoffen wir seinerzeit berichten zu können. Vorläufig mußten dieselben aus äußeren Gründen unterbrochen werden.

²⁾ Panzer, Zeitschrift f. Nahrungs- u. Genußmittel, 5. Jahrg., 1902, S. 11.

³⁾ Zitiert nach Kobert, l. c. S. 310.

⁴⁾ Neumann, Experim. Studien z. Phosphorvergiftung, Dissertation Rostock 1886. — Gamel, De l'élimination des composés oxygenés de phosphor etc., Montpellier 1901. — Beide zitiert nach Kobert, l. c.

⁵⁾ l. c.

Blondlot-Dusartschen Reaktion zum Nachweis von in den Organismus eingeführtem Phosphor auch noch nach dem Versagen der Destillationsprobe herangezogen werden kann, «jedenfalls dort, wo klinische und pathologisch-anatonische Zeichen auf Vergiftung hinweisen.»

Es erübrigt noch, zu betonen, daß, wie unsere Versuche an per os vergifteten Tieren zeigen, für diese Untersuchung im Gegensatz zu A. Fischers¹⁾ Ergebnissen auch die Muskulatur in Betracht kommt.

Zum Schlusse obliegt es mir als eine angenehme Pflicht, Herrn Hofrat Prof. Habermann auch an dieser Stelle für sein weitgehendes Entgegenkommen bei Durchführung dieser Arbeit bestens zu danken.

¹⁾ A. Fischer, Pflügers Archiv, Bd. XCVII (1903), S. 601.