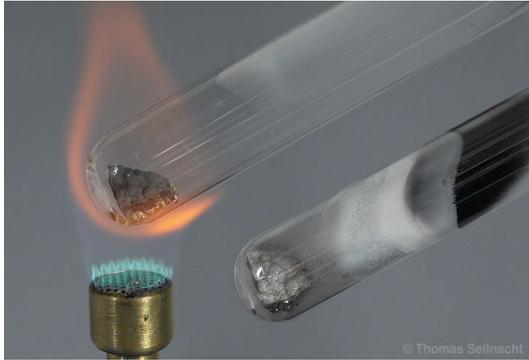


Arsen – Vom Fliegenteller zur Arsenik-Suppe – Teil 2

Torsten Arndt und Karsten Stemmerich

Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH, Konrad-Adenauer-Straße 17, 55218 Ingelheim; torsten.arndt@bioscientia.de



Teil 1 dieser Übersicht [1] befasst sich mit den Erscheinungsformen, dem Vorkommen, der Gewinnung und Verwendung von Arsen, mit den geogenen und anthropogenen Arsenquellen und mit dem Arsengehalt von Nahrung und Trinkwasser.

Der vorliegende Teil 2 widmet sich der Analytik, der Physiologie und der Toxikologie des Arsens. Das klinische Bild, der Obduktionsbefund sowie Labordiagnostik und Therapie folgen in Teil 3.

Abb. 1. Beim Erhitzen von Arsen in reinem Sauerstoff bildet sich Arsengas, das mit Sauerstoff zu As_2O_3 (Arsenik) reagiert. Dieses setzt sich als weißer Niederschlag im Reagenzglas ab, in den kühleren Zonen schlägt sich ein schwarzer Arsenspiegel nieder (Foto mit freundlicher Genehmigung von Thomas Seilnacht, www.seilnacht.com).

1. Analytik

Im 19. Jahrhundert hatte nicht nur die Gerichtsmedizin Interesse an einem validen Arsennachweis, sondern auch der Bergbau, das Hüttenwesen und die chemische Industrie. So enthielt zum Beispiel die im Bleikammerverfahren aus arsenhaltigem Pyrit hergestellt Schwefelsäure Arsen, das in Folgeprodukte wie zum Beispiel die Salzsäure verschleppt wurde. Arsen zog sich somit durch ganze Produktionsketten und war ein (auch toxikologisches) Problem [2].

Arsen in Chemikalien für den gerichtsmedizinischen Arsennachweis, zum Beispiel im Zink und in der Schwefelsäure für den Marsh-Test (Kap. 1.3) oder in der Salpetersäure und deren Salzen für den Aufschluss organischer Matrix von Organproben (Kap. 1.7), war ein bekanntes Problem und der Nachweis der Arsenfreiheit war von grundlegender Bedeutung. Pioniere der modernen Toxikologie wie Mathieu Orfila (1787-1853) und James Marsh (1794-1846) widmen ihm beachtlichen Raum in ihren Arbeiten [3,4]. Das Problem persistierte jedoch und 1869 mahnt zum Beispiel Sonnenschein in seinem „Handbuch der gerichtlichen Chemie“ [5]:

„Ich will hier noch einmal daran erinnern, dass das allgemein gültige Gesetz bei forensischen Untersuchungen absolut reine Reagentien und Apparate anzuwenden, nirgendwo strenger beobachtet werden muss, als beim Nachweis einer Vergiftung durch As. Wird dasselbe auch nur in einem Stadium der Untersuchung ausser Augen gelassen, so bereitet sich der Gutachter qualvolle Zweifel, wenn nicht Gewissensbisse... Fast alle Reagentien können As enthalten...“ [5]

Nachweisgrenzen im sub-ppb-Bereich für moderne Analysentechniken machen Blindproben genauso wichtig wie vor ca. 200 Jahren. Sie führen auch zu „neuen“ Problemen: Arsen ist in unserem Lebensumfeld ubiquitär verteilt [1]. Der Nachweis hängt also nur von der Detektionsgrenze der Analysenmethode ab. Liegt diese unterhalb der natürlichen Hintergrundbelastung in Boden, Luft und Wasser (siehe [1]) sind „arsenfreie Proben“ nicht zu erwarten. Die Bewertung von Messergebnissen bedarf deshalb mehr denn je einer ausgeprägten Expertise. Ein positiver Arsennachweis hat nicht immer toxikologische oder ökologische Relevanz.

1.1. Vorproben, Riech- und Schmauchtests

Flammenfärbung, Phosphorsalzperle und Lötrohrprobe sind für den forensischen Arsen-nachweis wenig aussagekräftig. Die Lötrohrprobe ergibt einen weißen As_2O_3 -Niederschlag unter Entwicklung intensiven Knoblauchgeruchs [6]. In Gegenwart von Azetat bildet sich das widerlich riechende Kakodyloxid $(\text{CH}_3)_2\text{As-O-As}(\text{CH}_3)_2$ (**Kakodyl-Probe**) [6-8].

Bei der **Mikroskopie** von zum Beispiel „sandigen Körnchen“ aus „verdächtigen Stellen“ der Magenschleimhaut erkannte man im Vergiftungsfall bei 300facher Vergrößerung „deutlich demantglänzende reguläre Octaëder“. Sie rührten von verschlucktem aber nicht erbrochenem Arsenik (As_2O_3) her. Mit Kohle oder KCN erhitzt, schieden sie einen „Spiegel von metallischem Arsenik ab, welcher sich unter Verbreitung eines Knoblauchgeruches verflüchtigen lässt“ [9]. Die „Entdeckungs- oder Erkennungsgrenzen“ lagen bei 1/10.000 bis 1/50.000 Gran und „nicht immer sicher“ bei 1/100.000 Gran [9]. Dies entspricht 0,62 μg bis 6,5 μg Arsen (1 Gran = landesabhängig 62 bis 65 mg [10]). Zum Vergleich: Heutige Techniken [11] erreichen 0,1 $\mu\text{g/L}$ je Arsenspezies bzw. 5 pg (50 μL Probe) und sind damit wenigstens 130.000fach sensitiver.

Riechtests beruhen auf der Freisetzung eines nach Knoblauch riechenden Gases in Hitze. Carl Wilhelm Scheele (1742-1786) (siehe [1]) identifizierte das Gas 1775 als Arsenwasserstoff [12]. Er legte damit eine wichtige Grundlage für den „Marsh-Test“ (s. Kap. 1.3). Riechtests hatten mannigfache Fehlerquellen. Christian Friedrich Samuel Hahnemann (1755-1843, Begründer der Homöopathie) diskutiert solche schon 1786 [13]. Danach können falsch-positive Befunde u. a. durch einen knoblauchartigen Eigengeruch der Probe (Knoblauch im Magen oder Fäulnis) oder der Chemikalien herrühren, insbesondere, wenn die Präparate, wie damals üblich, zum Riechtest auf glühende Kohlen oder Bleche gelegt wurden. Falsch-negative Befunde sieht Hahnemann durch Arsinkonzentrationen unter der Riechgrenze, durch zu geringe Gift- und Probenmengen und durch unzureichenden Giftverbleib im Magen nach Erbrechen [13].

Schmauchtests wurden von Hahnemann empfohlen, wenn der Riechtest nicht eindeutig ausfiel oder die zu prüfende Substanz mikroskopisch-morphologisch nicht Arsenik zugeordnet werden konnte [13]. Dabei soll sich aus stark erhitzten arsenhaltigen Proben ein weißer feinkristalliner Niederschlag auf einem über den Ansatz gehaltenem kalten Eisenblech niederschlagen.

1.2. Nasschemischer Nachweis

Die Bedeutung nasschemischer Arsennachweise vor dem Marsh-Test kann nicht überschätzt werden. Orfila schreibt hierzu in seinen „Vorlesungen ueber Arsenikvergiftung...“ [14,15]:

„Die durch das Schwefelwasserstoffgas erhaltenen Resultate wurden früher in allen gerichtlichen Verhandlungen für die entschiedensten gehalten.“ [15]

Es handelt sich dabei um einen kräftig gelben Niederschlag von As_2S_3 (= Auripigment, siehe [1]) in stark saurer Lösung durch Schwefelwasserstoff. Orfila führt weiter aus:

„Das reine Sesqui-sulphuret des Arseniks [As_2S_3 , Auripigment] ist unlöslich in Wasser, löst sich aber leicht in Ammoniakflüssigkeit mit einer farblosen Auflösung; setzt man irgend eine Säure hinzu, so erscheint sofort der gelbe Niederschlag, der gesammelt, ausgewaschen und getrocknet Arsenikmetall giebt, wenn man ihn der Einwirkung von Kohlen, kohlensaurem Kali [K_2CO_3] und der Hitze aussetzt.“ [16]

Orfila kommt in seiner Vorlesungsreihe von 1843 [14] schließlich zu folgender Einschätzung:

„Ich sagte Ihnen, dass dies die einzige Operation war, die man vor 1838 anwandte, Arsenik zu entdecken; seitdem ist aber die gerichtliche Chemie mit einem Apparate bereichert worden, der in Fällen, wo nur sehr geringe Quantitäten Arsenike untersucht werden sollen, bei weitem genauere Resultate gibt...“ [17]

Er meint den Marsh-Apparat und fügt hinzu, das damit die vorbeschriebene Methode „keineswegs in Folge der neueren Methode ganz zu verwerfen sei“ [17].

Nasschemische Arsennachweise sind u. a. der **Diethyldithiocarbamat-Test** (Farbkomplex mit Silberdiethyldithiocarbamat in Pyridin) [18], der **Bettendorf(f)-Test** (Arsen-Abscheidung in salzsaurer SnCl_2 -Lösung) [6,19], der **Gutzeit-Test** (gelbes $\text{Ag}_6\text{As}(\text{NO}_3)_3$ auf silbernitrat-haltigem-Teststreifen) [20] und der **Modifizierte Gutzeit-Test** (gelb-braun-orange Färbung von Testpapier oder Teststreifen mit Quecksilberchlorid (HgCl_2) oder Quecksilberbromid (HgBr_2)) [21-23]. Für weitere Tests siehe zum Beispiel [6,24,25].



HgBr_2 -imprägnierte Teststreifen zum Nachweis von anorganischem Arsen ($\text{As}^{\text{III}} + \text{As}^{\text{V}}$) in Mosten, Wein oder Wasser sind kommerziell erhältlich. Sie erreichen Detektionsgrenzen von $5 \mu\text{g/L}$ bei Einsatz von 100 mL Wasser [23] oder $100 \mu\text{g/L}$ mit 5 mL Probe [22].

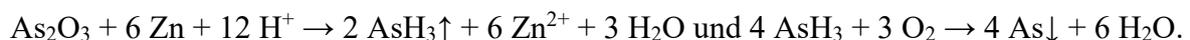
Abbildung 2 zeigt einen Testkoffer für die semiquantitative Analyse von anorganischem Arsen ($\text{As}^{\text{III}} + \text{As}^{\text{V}}$) mit HgBr_2 -dotierten Teststreifen (Prinzip: Modifizierter Gutzeit-Test, 10 Sensitivitätsstufen, untere Detektionsgrenze $5 \mu\text{g/L}$ bei 100 mL Probenvolumen; WHO-Grenze $10 \mu\text{g/L}$ [1]), obere Grenze $500 \mu\text{g/L}$ [23]).

Die hier erwähnten Produkte sind nicht für die In-vitro-Diagnostik zugelassen! Für die Notfallanalytik könnten Arsen-Teststreifen für Urin- oder Serum allerdings von Interesse sein.

Abb. 2. Testkoffer für anorganisches Arsen in Wasser (Macherey-Nagel; Foto T. Arndt, Ingelheim, 2023).

1.3. Der Marsh-Test

Mit dem nach James Marsh benannten Test [2,4] wurde der chemische Nachweis einer Arsenikvergiftung gerichtsfest: Durch Einwirken von Schwefelsäure auf Zink bildet sich naszierender Wasserstoff, der sich mit dem Arsen der Probe, unabhängig von Bindung und Oxidationszahl, zu Arsenwasserstoff AsH_3 (arseniuretted hydrogen, Arsentrihydrid, Arsin, IUPAC: Arsan) verbindet¹. Dieser wird in einer offenen Flamme thermisch zersetzt und elementares Arsen scheidet sich an einer kalten Glasscheibe ab [25]:



Der Test zeichnet sich durch eine einfache Apparatur und Durchführung aus. Modifikationen führten zur Sensitivitätssteigerung: Justus von Liebig (1803-1873) verbrennt das Arsingas nicht direkt in offener Flamme, sondern leitet es durch ein zur Rotglut erhitztes Glasröhrchen, wo sich der Metallspiegel absetzt (Marsh-Liebig-Methode). Jöns Jakob Berzelius (1779-1848) leitet das Arsingas in einem erhitzten Glasröhrchen über Kupfer und erhält gravimetrisch quantifizierbares Kupferarsenid (Marsh-Berzelius-Methode). Weitere Modifikationen siehe [2].

Dem heftig diskutierten Problem der Ko-Abscheidung von Antimon aus Antimonwasserstoff (SbH_3 , Stibin) wurde u. a. versucht, durch Abscheidung der Niederschläge in verschiedenen Wärmezonen oder durch Löslichkeitsversuche zu begegnen (siehe hierzu die ausführliche Gegenüberstellung der optischen und chemischen Eigenschaften der Metallspiegel von Arsen und Antimon in [27]). Nach [25] löst zum Beispiel eine ammoniakalische Wasserstoffperoxid-Lösung Arsen schnell, Antimon dagegen deutlich schwerer.

¹Nach [26] reagierten „Schwefelverbindungen des Arsens“ nur bei Zugabe von Salpetersäure im Marsh-Test.

1.4. Elektrochemische Methoden

Wie oben gezeigt, war auch der Marsh-Test nicht spezifisch. Selektivitätssteigerungen wurden insbesondere mit der Einführung elektrochemischer und spektrometrischer Verfahren erreicht.

Elektrochemische Methoden sind im Vergleich zur Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) und zur Massenspektrometrie (MS) apparativ weniger aufwändig, dadurch kostengünstiger und zudem auch als Vor-Ort-Analysen einsetzbar. Mit dem in [28] vorgestellten „Metallscreening“ mit Differentieller Puls-Voltammetrie (DPV) sind insgesamt 12 Elemente erfassbar. Hierzu sind allerdings vier separate Analysengänge unter Verwendung verschiedener Elektrolytlösungen und zweier Arbeitselektroden erforderlich:

- Elektrolytlösung I / Hg-Tropfelektrode: Antimon, Bismut, Zinn
- Elektrolytlösung II / Hg-Tropfelektrode: Kobalt, Nickel
- Elektrolytlösung III / Hg-Tropfelektrode: Blei, Cadmium, Indium, Kupfer, Thallium, Zink
- Elektrolytlösung IV / Au-Scheibenelektrode: dreiwertiges (!) Arsen

Dabei wird zunächst der Grundstrom aufgezeichnet und anschließend mit Probe der Analysenstrom. Abbildung 3 zeigt den Analysenablauf und die Spannungs-Stromänderungs-Kurven. Die Spitzenpotentiale dienen der Elementidentifizierung, die Spitzenstromhöhe der Quantifizierung.

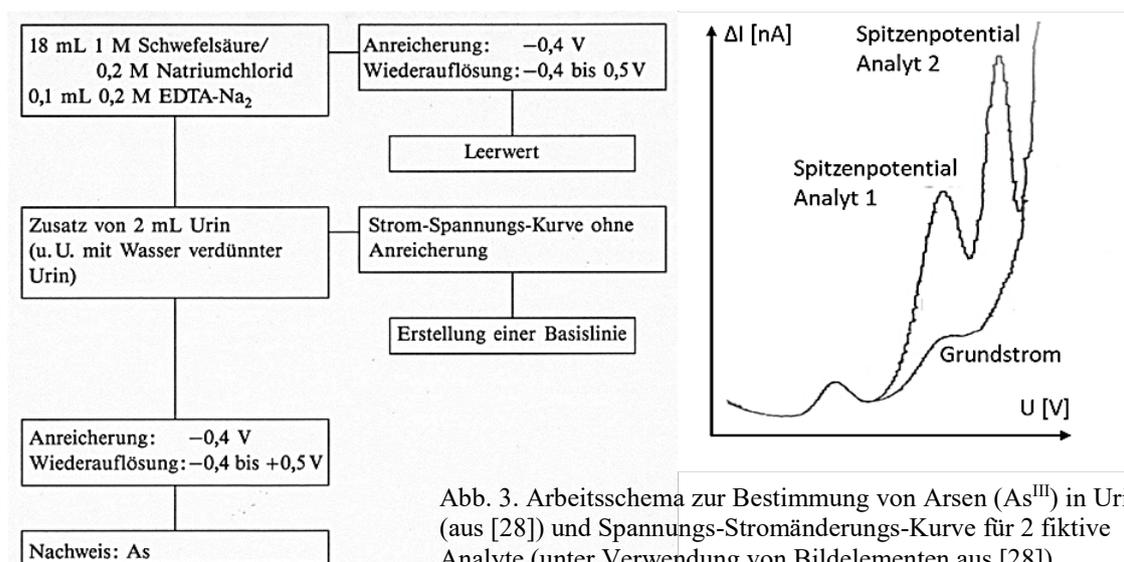


Abb. 3. Arbeitsschema zur Bestimmung von Arsen (As^{III}) in Urin (aus [28]) und Spannungs-Stromänderungs-Kurve für 2 fiktive Analyte (unter Verwendung von Bildelementen aus [28]).

Die Spitzenpotentiale von dreiwertigem Arsen und dreiwertigem Antimon liegen bei Verwendung der Elektrolytlösung IV jeweils bei ca. +0,2 V, weshalb Antimon, wie schon im oben beschriebenen Marsh-Test (!), den Arsennachweis stören kann. In einem separaten Analysengang mit Elektrolytlösung I ist deshalb stets auf die Abwesenheit von Antimon zu prüfen. Unter diesen Bedingungen ergibt Antimon ein Signal bei -0,13 V. Allerdings kann Antimon wiederum nur in Abwesenheit von Bismut bestimmt werden, wobei nach [28] „*Mischintoxikationen von Antimon und Bismut ... aber sehr selten auftreten*“.

Dieses Metallscreening mit Differentieller Puls-Voltammetrie (DPV) wurde vor allem für die klinisch-toxikologische Notfalldiagnostik entwickelt. Es sollte schnelle Analysen ohne jegliche Probenvorbereitung für möglichst viele Metalle bei für diese Zwecke ausreichenden Nachweisgrenzen ermöglichen. Nach [28] soll „...*auf jeden Fall eine Konzentration von 0,1 mg des jeweiligen Metall-Ions pro Liter Patientenurin [=100 ng/mL] zu einem meßbaren ... Signal führen...*“. Dies heißt, die metallspezifischen Nachweisgrenzen liegen bei etwa 0,1 mg/L Urin und sind damit für klinische Zwecke hinreichend niedrig.

Mobile elektrochemische Geräte zur Elementbestimmung in der Wasser-, Boden- und Prozessanalytik beruhen u. a. auf der Voltammetrie und erreichen Nachweisgrenzen im sub-ppb-Bereich (0,5 ppb [29], 1 ppb [30,31]). Sie liegen damit deutlich unter dem derzeit von der WHO für Trinkwasser empfohlenen Grenzwert von 10 ppb (10 µg/L [32]).

Übersichten zu elektroanalytischen Techniken und den dort eingesetzten Elektrodenmaterialien für die Analytik von Arsen in Wasser (ppb- bis sub-ppb-Bereich) geben zum Beispiel [33,34]. Ob diese Techniken für Proben mit hoher Matrixlast wie Blut, Serum, Urin und Gewebshomogenate und damit für klinische oder forensische Fragestellungen geeignet sind, wäre zu prüfen.

1.5. Spektrometrische Methoden

Das Gesamtarsen wird heute zumeist physikochemisch bestimmt, mit Atomabsorptions- oder Atomemissionsspektrometrie (AAS, AES), mit einer Kombination aus induktiv gekoppeltem Plasma (ICP) und AES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, ICP-OES) oder mit einer Verbindung von ICP und Massenspektrometrie (ICP-MS). Die Nachweisgrenzen für diese Techniken lassen sich nach Angaben in [35] wie folgt ordnen:

Hydrid-AAS (1 µg/L) > Quadrupol-ICP-MS (0,5 µg/L) > Sektorfeld-ICP-MS (0,05 µg/L)

Heutige Geräte sollten niedrigere Nachweisgrenzen erreichen. Für die Auswahl eines Analyseverfahrens ist jedoch nicht nur die Sensitivität wichtig, sondern auch die Selektivität und die minimale Auflösung, um spektrale Interferenzen möglichst auszuschließen.

ICP-MS

Zu Aufbau und Funktion eines ICP-MS-Gerätes siehe [35]. Limitierende Faktoren für diese Technik sind spektrale Interferenzen, ausgelöst durch polyatomare Ionen (Bildung von Clusterionen und von Oxiden), durch isobare Isotope unterschiedlicher Elemente, durch mehrfach geladene Ionen und durch Messsignalüberlappung durch Nachbarmassen [35].

Für die Arsenbestimmung in biologischen Proben hat das polyatomare Ion $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ eine besondere Bedeutung: Es interferiert mit dem für den Arsennachweis wesentlichen monoisotopischen $^{75}\text{As}^+$ -Ion. $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ bildet sich im ICP aus den Atomen im Argonhilfsgas und den in biologischen Proben in hohen Konzentrationen vorliegenden Chloridionen. Diese sind in Serum und Urin ca. 300.000fach bis 600.000fach höher konzentriert als das Gesamtarsen unter Normalbedingungen.²

Das $^{75}\text{As}^+$ -Signal kann deshalb vollständig durch das Signal für $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ maskiert werden. Die Bildung von $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ -Ionen muss deshalb durch geeignete experimentelle Bedingungen verhindert oder deren Signal aus dem Analysenergebnis „heraus gerechnet“ werden – was oft nicht vollständig gelingt. Für die Arsenanalytik sind deshalb höher auflösende Sektorfeldgeräte oder Triple-Quadrupol-Geräte (ICP-MS/MS), in denen die Cluster in Q2 zerstört werden, besser geeignet als „einfache“ Quadrupol-ICP-MS-Geräte [35]. Anders bei Elementen, die aus mehreren natürlichen Isotopen bestehen, wie zum Beispiel Blei: In diesen Fällen sind spektrale Interferenzen an Abweichungen vom natürlichen Isotopenverhältnis erkennbar. Hier empfiehlt sich die Auswertung von mindestens zwei Isotopen. Eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse aus den verschiedenen Isotopen steht dann für relativ sicher richtige Ergebnisse, Abweichungen vom natürlichen Isotopenmuster bedürfen der Fehlersuche [35].

²Chlorid-Referenzbereich 3474 bis 3793 mg/L (Serum), 3545 bis 8861 mg/Tag (Urin) [36] bei einem Volumen von 900 bis 1500 mL/Tag [37]. Gesamtarsen-Referenzwert < 12 µg/L (Serum), < 15 µg/L (Urin) [38].

Die Quantifizierung von 73 Elementen im ng/L- bis g/L-Konzentrationsbereich in Serum, Blut, Erythrozyten und Urin mit einer ICP-MS/MS und ICP-OES wird in [39] beschrieben. Für Arsen werden folgende Quantifizierungsgrenzen angegeben (je Matrix $n = 102$): 0,004 $\mu\text{g/L}$ (Serum), 0,03 $\mu\text{g/L}$ (Blut), 0,04 $\mu\text{g/L}$ (Urin) [39]. Informationen zu weiteren ICP-Applikationen für biologische Matrices und Trinkwasser geben zum Beispiel [34,40,41].

HPLC-ICP-MS-Kopplungen für die Speziationsanalytik

Die Speziationsanalytik erfolgt gewöhnlich mit HPLC-ICP-MS [11], HPLC-ICP-MS/MS [42] oder HPLC-Hydrid-AAS [43]. Eine typische HPLC-ICP-MS-Applikation für die Elementbestimmung in Urin beschreiben Heitland und Köster in [11]. Dort werden nach einer 1:10 Verdünnung des Urins in ca. 10 Minuten die aus diagnostischer Sicht derzeit 5 wichtigsten Arsenspezies im Urin erfasst – Arsenobetain, Dimethylarsinsäure (DMA^{V}), anorganisches As^{III} , Monomethylarsonsäure (MMA^{V}) und anorganisches As^{V} (Abb. 4; Strukturen siehe [1]). Ein Injektionsvolumen von 50 μL ergibt Quantifizierungsgrenzen von jeweils 0,1 $\mu\text{g As/L}$ (interner Standard $^{103}\text{Rhodium}$) [11]. Das Gesamtarsen wird separat mit ICP-MS bestimmt [44].

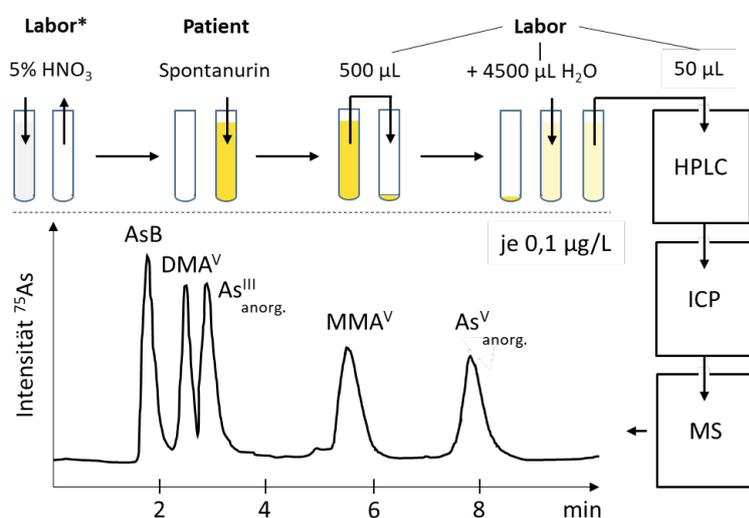


Abb. 4. Bestimmung von 5 Arsenspezies mit HPLC-ICP-MS in Urin nach 1:10 Probenverdünnung [11]: Arsenobetain (AsB), Dimethylarsinsäure (DMA^{V}), anorganisches As^{III} , Monomethylarsonsäure (MMA^{V}) u. anorganisches As^{V} .

*Die Reinigung der Urinröhrchen im Labor mit 5 % HNO_3 ultrapur erwies sich später im Routineeinsatz als nicht nötig [45].

Weitere Techniken der Arsenanalyse sind u. a. die Atomfluoreszenzspektrometrie (AFS) und die Neutronenaktivierungsanalyse (Referenzmethode). Eine zerstörungsfreie Feststoffanalytik ermöglichen die Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) und die Elektronenstrahl-Mikroanalyse (Elektronenstrahl-Mikrosonde). Siehe hierzu die Spezialliteratur.

1.6. Bioassays

Die Freisetzung des gasförmigen, stark nach Knoblauch riechenden Trimethylarsins durch „Arsenpilze“ (siehe [1]) wurde zum Nachweis von Arsen in vielfältigen Matrices und Produkten vorgeschlagen. Nach [46] geben „die arsenige Säure und die übrigen wasserlöslichen Verbindungen schon in so kleinen Quanten wie 0,001 mg einen kurze Zeit nach Anlage der Kultur auftretenden, kräftigen Kakodylgeruch“ [46]. Schwefelverbindungen wie Schweinfurter Grün (siehe [1]) erzeugten dagegen erst bei 0,001 g „eine deutliche Reaktion“ [46].

Im Forschungsstadium sind Bioassays, die zelluläre Reaktionen als Antwort auf erhöhte Arsenkonzentrationen registrieren, zum Beispiel Proteine, die Arsenit aus der Zelle ausschleusen und in Gegenwart von Arsen in erhöhter Konzentration gebildet werden oder Proteine, die mit diesem Mechanismus (un)mittelbar verknüpft sind [34].

1.7. Extraktionsmethoden für Leichenmaterial

Sensitivität und Selektivität der im 19. Jahrhundert verfügbaren Verfahren zum Arsennachweis erforderten eine aufwändige Extraktion und Anreicherung des Arsens aus dem Probenmaterial [14,27]. Dies war insbesondere der Fall, wenn es sich um protein- und fettreiche Matrices handelte, wie zum Beispiel Gewebeproben aus dem Verdauungstrakt und den inneren Organen.

Der gerichtsmedizinische Arsen(ik)nachweis basierte auf stundenlangem Kochen des Probenmaterials in konzentrierten Säuren, Trocknen, erneutem Kochen, Fällungsreaktionen, Filtrieren, Trocknen etc. und Warten auf das für den Nachweis wichtige gelbe As_2S_3 -Präzipitat, was nach [47], „eine geraume Zeit erforderte, in der Regel 8-10 Tage, zuweilen selbst einen vollen Monat“.

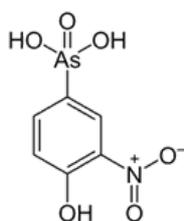
Im Unterschied dazu gelang Heitland und Köster [39] mit ICP-MS/MS sowie ICP-OES die Bestimmung von 73 Elementen in Blut, Serum, Erythrozyten und Urin im ng/L-Bereich bei nur wenigen Stunden Analysenzeit incl. Probenvorbereitung. Für 200 mg Gewebe besteht diese aus:

- 200 mg Gewebe + 1 mL 65 % (v/v) HNO_3 (10 min bei 90 °C, 20 min abkühlen lassen)
- + 250 μL 30 % (v/v) H_2O_2 (45 min bei 90 °C, abkühlen lassen auf Raumtemperatur)
- + 1 mL interner Standard (je 1 mg/L Beryllium und Yttrium)
- + 10 mL deionisiertes Wasser (Deionat)

Die Methode kann leicht an andere Matrices wie Haare und Nägel angepasst und ggf. auch ohne Wasserstoffperoxid-Behandlung durchgeführt werden [45]. Solch knappe Probenvorbereitungsprotokolle kann man als repräsentative Belege für den Fortschritt in der Arsenanalytik seit Hahnemann [13], Orfila [14] und Marsh [4] werten. Dies kann und soll jedoch nicht deren Verdienste um die forensische (Arsen-)Analytik schmälern!

2. Physiologie

Physiologie und Toxikologie des Arsens zeigen für die verschiedenen Lebewesen in vielen Facetten differierende artspezifische Unterschiede. Dies betrifft zum Beispiel schon die Frage nach der Essentialität, das heißt nach der absoluten Lebensnotwendigkeit von Arsen [48-51].



Für einige Tierarten konnte diese wohl nachgewiesen werden. Das sollen Entwicklungsstörungen von Küken und Ratten unter arsenfreiem Futter und eine reduzierte Taurinsynthese von Ratten und Hamstern bei Arsenmangel belegen [51]. Arsenhaltige Futterzusatzstoffe als Wachstumsbeschleuniger in der Geflügel- und Schweinemast könnten Hinweise für die Essentialität von Arsen für diese Tierspezies liefern [52-54].

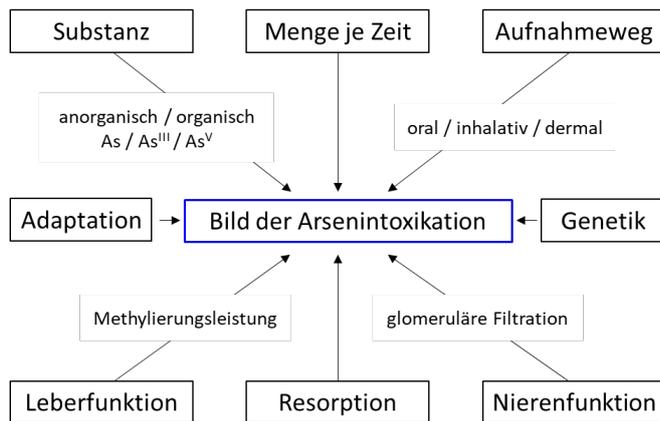
Abb. 5. Roxarsen (4-Hydroxy-3-nitro-benzol-1-arsonsäure) als ein Beispiel für einen arsenhaltigen Futterzusatzstoff in der Geflügel- und Schweinemast (keine Zulassung mehr für Arsenicalia in der Nahrungsmittelerzeugung in der EU, aber zum Beispiel noch immer in den USA) [55].

Ob Arsen für den Menschen essenziell ist, kann vermutlich nicht abschließend geklärt werden. Einerseits, weil Arsen mit der Nahrung und dem Trinkwasser obligat aufgenommen wird und weil Auslassversuche mit arsenfreier Diät am Menschen aus ethischen Gründen nicht möglich sind. Andererseits, weil Befunde aus Tierversuchen oft nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar sind. Derzeit gibt es keinen Anhalt für Gesundheitsstörungen durch Arsenmangel.

Da Arsen(verbindungen) für den Menschen unbestritten toxisch, mutagen und karzinogen sind, werden deren Aufnahme, Resorption, Verteilung und Ausscheidung nachfolgend im Kapitel 3 „Toxikologie“ vorgestellt.

3. Toxikologie

Begriffe wie „Arsentoxikologie“ oder „Toxikologie des Arsens“ und ihre englischen Entsprechungen finden oft noch Anwendung, weil sich die meisten Befunde am Menschen aus der „Vorspeziationszeit“ auf das Gesamtarsen (anorganisch + organisch) beziehen. Dies ist aus heutiger Sicht unbefriedigend, weil sich hinter dem toxikologischen Begriff „Arsen“ eine zunehmende Zahl von Arsenverbindungen verbirgt, für die kaum oder keine toxikologischen Erkenntnisse für den Menschen vorliegen. Deshalb setzt sich (langsam) eine arsenspeziesbezogene Diskussion der „Arsentoxikologie“ durch, wobei es aus ethischen Gründen schwierig ist, adäquate Befunde für den Menschen zu erheben.



Die Toxikologie des „Arsens“ wird von vielen Faktoren geprägt (Abb. 6). Sie betreffen das Gift (Löslichkeit, spezifische Oberfläche, Oxidationsstufe) und den mit dem Gift konfrontierten Organismus (Alter, Genetik Anpassung, Erkrankungen etc.).

Abb. 6. Einflussgrößen auf das klinische Bild einer akuten/chronischen Arsenintoxikation.

3.1. Aufnahme und Resorption

Nahrung und Trinkwasser sind die wichtigsten Quellen für die unvermeidbare Arsenaufnahme [56]. Sie liegt nach [51] bei 12 bis 40 µg/Tag, nach [56] bei 20 bis 300 µg/Tag und nach der vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) durchgeführten BfR MEAL-Studie [57] zum Beispiel für einen Erwachsenen bei 0,39 µg/kg Körpermasse und Tag (Median; 95. Perzentile 1,89 µg/kg x Tag). International betrachtet kann die Arsenaufnahme deutlich höher liegen, zum Beispiel in einigen Gebieten am Golf von Bengalen allein durch das Trinkwasser (bis zu 4.000 µg Arsen je Liter; siehe [1]) bei bis zu mehreren Milligramm je Tag.

Oral

Die orale Arsenaufnahme hängt unter Normalbedingungen nicht nur von der Qualität des Trinkwassers ab (Deutschland < 10 µg/L, siehe [1]), sondern auch von der Zusammensetzung der Nahrung [56,57]. Marine Lebensmittel führen gewöhnlich zu einer höheren Arsenaufnahme als terrestrische Produkte aus nicht mit Arsen belasteten Regionen (siehe [1]). Nach der Aufnahme wird Arsen bevorzugt im Dünndarm und Dickdarm schnell resorbiert [58].

Das **Arsenat** (AsO_4^{3-}) ist dem Phosphat (PO_4^{3-}) strukturell und elektrochemisch ähnlich.³ Es kann deshalb über den membranständigen Phosphat-Transporter in die Zelle gelangen [58]. Dabei konkurriert Arsenat mit dem in großer Konzentration vorliegenden Phosphat.⁴ Intrazellulär wird Arsenat (teilweise?) zu Arsenit reduziert [48-50,58,60].

³Bei physiologischem pH von Blut und Urin sollten Arsenat- und Phosphationen eher als Hydrogenverbindungen vorliegen. Dies wird aber sowohl in der toxikologischen als auch klinisch-chemischen Literatur (Phosphat!) kaum adressiert. Wir verwenden deshalb die Begriffe Arsenat und Phosphat oder zitieren wörtlich aus den Quellen.

⁴Referenzbereiche Erwachsene: Phosphat 26,3 bis 44,9 mg/L (Serum) [59], Arsen < 12 µg/L (Blut) [38]).

Das **Arsenit** (AsO_3^{3-}) liegt, anders als Arsenat, in wässriger Lösung und bei physiologischem pH nicht als Anion vor, sondern überwiegend als undissoziierte (ladungsfreie) Arsenige Säure H_3AsO_3 . Diese kann die für den Austausch von Wasser, Glycerin und kleinen Molekülen genutzten zellmembranständigen Aquaglyceroporin-Kanäle passieren [48-50,60].

Gelöste Arsenate (As^{V}) und Arsenite (As^{III}) werden zu 45 bis 90 % [61], 70 bis 90 % [48], 80 bis 90 % [56] oder mehr als 90 % [50,58] resorbiert. Die Resorptionsrate aus arsenbelastetem Trinkwasser (Gesamtarsen) betrug 95 % [50].

Festes Arsenik (As_2O_3) wird schlechter resorbiert als gelöstes Arsenit und Arsenat [50,58]. Die Resorptionsrate hängt von der Partikelgröße und dem pH-Wert des Magensaftes (Löslichkeit!) ab [50]. Äquimolare Mengen Arsenikpulver sind deshalb per os weniger toxisch als Arseniklösungen [58]. Ungelöstes, nicht resorbiertes Arsenik kann sich korpuskulär/kristallin in die Magen- und Darmschleimhäute einnisten (s. Kapitel Analytik und dort Mikroskopie).

Organoarsenika aus Meeresfrüchten werden gastrointestinal zu 75 bis 85 % resorbiert [50].

Inhalativ

In der Außenluft liegt hauptsächlich partikuläres Arsentrioxid (As_2O_3) vor (siehe [1]), circa 23 % sind nicht resorbierbare Partikel mit einem Durchmesser $> 5,5 \mu\text{m}$ [50]. In Flugasche überwiegt ein Partikeldurchmesser von 1,1 bis $1,2 \mu\text{m}$ [50].

Die inhalative Aufnahme beträgt in ländlichen Regionen um 20 bis 200 ng Arsen pro Tag, in Städten mit Arsenemittenten 400 bis 600 ng/Tag [56]. In Deutschland enthält die Luft unbelasteter Gebiete um $1,0 \text{ ng Arsen/m}^3$, in belasteten Regionen bis 15 ng/m^3 (siehe [1]). Daraus ergibt sich, bei einem Atemminutenvolumen von 8 Litern [62], eine inhalative Arsenaufnahme von circa 12 bis 180 ng/Tag, also etwa 1/1000 der oralen Arsenaufnahme. Für **Raucher** kann die Arseninhalation dagegen im $\mu\text{g/Tag}$ -Bereich liegen [56].

Die pulmonale Resorptionsrate hängt von der Partikelgröße und der Löslichkeit der Arsenverbindung ab [48,50,61]. Sie betrug 40 bis 60 % der berechneten Arsentrioxidinhalation von Arbeitern in Erzhütten [50]. Nach tiefem Rauchen von mit radioaktivem ^{74}As dotierten Zigaretten (Verbindung nicht angegeben) wurden bis zu 11,3 % der Radioaktivität im Ganzkörperzähler registriert [63].

Partikuläres As_2O_3 wird oropharyngeal abgelagert und innerhalb von Tagen, Wochen, auch Jahren resorbiert [58]. Große Partikel werden durch die Zilien aus den Atemwegen abgeführt, geschluckt und im Magen-Darm-Trakt resorbiert [58]. Der Beitrag gastrointestinaler Resorption nach inhalativer Aufnahme kann deshalb bedeutend sein [50].

Dermal

Die dermale Resorption „*of arsenic*“ ist bei intakter Haut(barriere) und kurzer Expositionszeit toxikologisch unbedeutend [58]. Auf eine geringe dermale Aufnahme von „*inorganic arsenic*“ verweist die Tatsache, dass die Nutzung von arsenbelastetem Wasser ($345 \mu\text{g/L}$), lediglich zur Körperpflege durch eine Bevölkerungsgruppe in den USA, nicht zu einer erhöhten renalen Ausscheidung von „*arsenic metabolites*“ führte [48]. Eine auf die Haut von Rhesusaffen applizierte wässrige Arsenatlösung (As^{V}) wurde innerhalb von 24 Stunden zu 2 bis 6 % resorbiert, über Leichenhaut des Menschen zu circa 1 % [48]. Eine gestörte Hautbarriere [48] oder chronischer Hautkontakt [58] können höhere Resorptionsraten bedingen.

Eine Einlagerung von externem Arsen an oder in **Haare** [48,64] und **Nägel** [64] ist nicht ausgeschlossen. So fand man nach Körperpflege mit einem stark arsenhaltigen Wasser ($345 \mu\text{g/L}$) erhöhte Arsengehalte („*arsenic*“) in den Haaren der Versuchsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe ($5,74$ vs. $0,43 \mu\text{g/g}$) - bei unveränderter Arsenausscheidung im Urin [48].

3.2. Verteilung und Speicherung

Nach der Resorption wird Arsenat (As^{V}) zu Arsenit (As^{III}) reduziert; unklar bleibt, in welchem Ausmaß dies erfolgt. Die Verteilung mit dem **Blut** gleicht jener nach Aufnahme von „ As^{III} “ [48]. Dabei ist Arsen („*adsorbed arsenic*“) in starkem Maß an SH-Gruppen von Glutathion, Cystein und Proteinen gebunden [48]. In einer ersten Phase wird Arsen bevorzugt in Leber, Nieren, Muskeln und Haut eingelagert [58,61], später in alle Organe [58] (Tab. 1 und 2).

Im Blut fällt die Arsenkonzentration schnell ab. Nach 24 Stunden waren nur noch ca. 1 % der aufgenommenen Menge im Blut nachweisbar [61]. Der **Blut/Plasma-Quotient** beträgt 1,0 [65], die **Plasmaproteinbindung** von anorganischem Arsen um 6 % [65]. Das **Verteilungsvolumen** von „*anorganischem Arsen*“ (Oxidationsstufe nicht spezifiziert) beträgt nach [65] 8 bis 20 Liter je Kilogramm Körpermasse. Nach [66,67] weist „ As^{III} ... ein großes Verteilungsvolumen ... auf (> 400 L)“, das „mit zunehmendem Körpergewicht an[steigt].“

Arsen kann die **Plazentaschranke** passieren [48,50,58,61]. Hierauf weisen u. a. hin: 2- bis 4-fach erhöhte Arsengehalte in verschiedenen Organen Neugeborener im Vergleich zu 7-Monate alten Feten [50] oder vergleichbare Arsenkonzentrationen in Blut, Nabelschnurblut und Plazenta von Müttern mit Zugang zu arsenbelastetem Trinkwasser (ca. 200 $\mu\text{g/L}$) [48].

Tab. 1. Arsen in Organen Gesunder aus Schottland (Unfallopfer, Analysenmethode Neutronenaktivierungsanalyse, original 1968 publiziert) und aus Japan (fisch- und meeresfruchtreiche Ernährung, Polarographie, original 1960 publiziert). Daten (im Original in mg/kg) aus [50]. TG - Trockengewicht, FG - Feuchtgewicht.

Organ	Schottland [$\mu\text{g/kg}$ TG]		Japan [$\mu\text{g/kg}$ FG]	Organ	Schottland [$\mu\text{g/kg}$ TG]		Japan [$\mu\text{g/kg}$ FG]
	Median	Bereich	-		Median	Bereich	Median
Aorta	31	3-570	-	Muskel	63	12-431	29
Dickdarm	-	-	25	Nagel	300	20-2900	892
Dünndarm	-	-	22	Nebennieren	29	2-293	-
Gehirn	13	1-36	34	Nieren	33	2-363	41
Haar	460	20-8170	174	Ovarien	37	13-260	-
Haut	90	9-590	64	Pankreas	45	5-410	20
Herz	24	2-78	41	Prostata	46	10-90	-
Knochen	57	10-240	118 (Femur)	Schilddrüse	42	1-314	-
Knochen	-	-	74 (Rippe)	Thymus	15	3-332	-
Leber	28	5-246	42	Uterus	31	10-188	36
Lunge	82	6-514	47	Vollblut	38	1-920	-
Magen	37	3-104	22	Zähne	50	3-635	78
Milz	20	1-132	21				

Tab. 2. Arsengehalt in Geweben (50 Unfallopfer, Analysenmethode Colorimetrie, Nachweisgrenze 5 $\mu\text{g/kg}$ [65]).

$\mu\text{g/kg}$	Hirn	Lunge	Leber	Niere	Haare	Nägel
\bar{X} (Bereich)	9 (0-25)	7 (0-85)	33 (0-92)	11 (0-68)	307 (0-1920)	252 (0-1700)

Arsen geht kaum in die **Muttermilch** über [50,61]: Die Milch von Frauen aus drei Regionen in Deutschland, darunter einer mit erhöhtem Arsengehalt in Boden und Trinkwasser infolge einer früheren militärischen Nutzung, hatte einen Gesamtarsengehalt unterhalb der Detektionsgrenze von 0,3 $\mu\text{g/L}$ (Hydrid-AAS) [68]. Die Milch von Frauen in Argentinien enthielt etwa ein Fünftel (um 2 $\mu\text{g/L}$) der Arsenkonzentration im Blut (um 10 $\mu\text{g/L}$) [48]. Arsen kann die **Blut-Hirn-Schranke** passieren [50,58]: Schon eine Stunde nach Gabe einer (nicht näher beschriebenen) radioaktiven ^{74}As -Verbindung war Arsen in Biopsiematerial vom Gehirn nachweisbar [58].

Die **Langzeitspeicherung** erfolgt vorwiegend in keratin- und sulfhydrylreichen Geweben insbesondere in Haaren, Nägeln, Haut [38,48,61], auch in Zähnen und Knochen [38] und Lunge [48] (siehe Tabellen 1 und 2). In den Knochen wird hauptsächlich As^{V} gespeichert [38], in allen anderen Geweben As^{III} [38,48]. Geringe Mengen As^{V} enthalten auch Leber, Nieren, Blut [48].

3.3. Metabolismus

Anorganische Arsenverbindungen

Arsentrioxid liegt in wässriger Lösung, zum Beispiel als Infusionslösung zur Behandlung der Promyelozytenleukämie, in Form von Arseniger Säure (H_3AsO_3) vor. Nach [66,67] ist As^{III} das Wirkprinzip dieses Pharmakons. Dies sollte auch für anorganische Arsenate (As^{V}) gelten, weil diese in wässriger Lösung, zumindest in großem Anteil, zu Arsenit (As^{III}) reduziert werden.

Im Säugerorganismus läuft der Arsenstoffwechsel vor allem, aber nicht nur, in der Leber ab: Anorganisches As^{III} (Arsenit bzw. Arsenige Säure) wird zu Monomethylarsensäure (MMA^{V}) und Dimethylarsinsäure (DMA^{V}) methyliert. Die Oxidationsstufe des Arsens wechselt dabei wiederholt zwischen V und III (Abb. 7). MMA^{V} und insbesondere DMA^{V} gehören zu den quantitativ wichtigsten Ausscheidungsprodukten aus dem Arsenstoffwechsel des Menschen (siehe Tabelle 3). Einige Mikroorganismen bilden auch Trimethylarsenverbindungen, zum Beispiel Trimethylarsinoxid und Trimethylarsin (Strukturen in Abb. 8) [48-50,58,69].

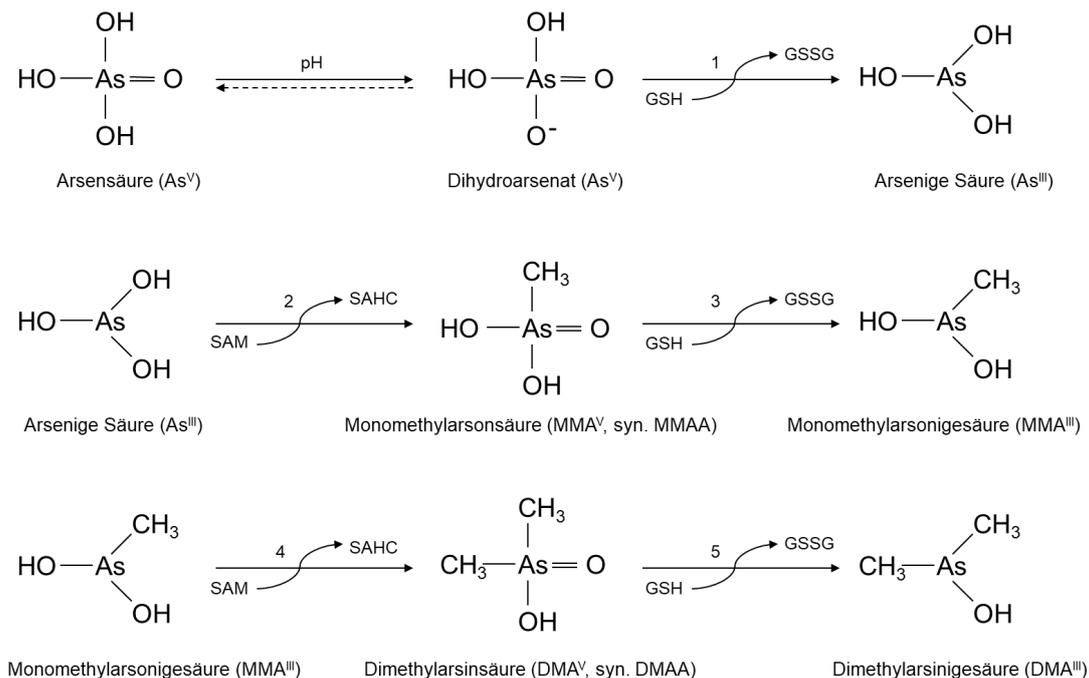


Abb. 7. Biotransformation von anorganischen Arsenverbindungen. Als Elektronen- bzw. Methylgruppenlieferanten sind beteiligt Glutathion (GSH, wird zu Diglutathion GSSG oxidiert) und S-Adenosylmethionin (SAM, wird zu S-Adenosylhomocystein SAHC desmethyliert) und als Enzyme die Glutathion-S-Transferase (Schritte 1, 3, 5) und die Arsen-Methyltransferase (Schritte 2, 4). Literatur siehe Text.

Arsin (AsH_3) wird wie das anorganische Arsen metabolisiert [56].

Genetische Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase und der Arsen-Methyltransferase werden auch als phylogenetische Anpassung an geogen hohe Arsenkonzentrationen in der Umwelt interpretiert, zum Beispiel für einige Populationen in den Anden [50,68,70-73].

Tägliche hohe Arsenmengen zum Beispiel im Trinkwasser wirken dadurch weniger oder nicht gesundheitsschädlich. Solch eine Adaptation liegt am Golf von Bengalen mglw. noch nicht vor. Die erhöhte Arsenexposition besteht dort erst wenige Jahrzehnte seit der Teufung von Brunnen in arsenreiche Sedimente (siehe [1]), zu kurz für eine phylogenetische Anpassung.

Lange wurde die Methylierung von anorganischem As^{III} zu weniger toxischen As^{V} -Organika als ein phylogenetisch erworbener Weg der Arsenentgiftung gesehen [48-50]. Mit der Entdeckung von methylierten As^{III} -Zwischenprodukten wie Monomethylarsinige Säure (MMA^{III}) und Dimethylarsinige Säure (DMA^{III}) sowie von toxischen Thio- und Dithio-Arsenmetaboliten wird dies angezweifelt [48,69,74]. Diese Bedenken werden auch genährt von der Tatsache, dass einige Säugetiere nur in geringem Maße und andere, wie zum Beispiel Meerschweine und einige Affenarten, gar nicht in der Lage sind, anorganisches Arsen zu methylieren [48,49].

Zum Konzept der In-vivo-Arsenmethylierung unter Beibehaltung der (toxischeren!) Oxidationsstufe III in einem durch Sulfidgruppen reduzierend wirkenden Milieu siehe [49,50,58,69].

Die Reduktion von anorganischem As^{V} und/oder die Methylierung anorganischen Arsens durch die **Darm- und Mundflora** könnte (zumindest teilweise) individuell differierende Reaktionen auf gleiche Arsendosen erklären [50,75,76].

Organische Arsenverbindungen

Der Metabolismus der in Seenahrung enthaltenen Arsenverbindungen Arsenobetain (1 bis 70 % des Arsens in Fisch), Arsenozucker (um 80 % in Algen) und Arsenolipide (10 bis 70 % in Weichtieren) ist für den Menschen weitestgehend unklar. **Arsenocholin** wird zu **Arsenobetain** oxidiert (Strukturen siehe [1]), dieses wird vor allem renal ausgeschieden [50,56].

Von den **Arsenolipiden** finden derzeit vor allem die Arsenofettsäuren und die Arsenokohlenwasserstoffe toxikologisches Interesse, weil sie relativ stabil sind und sich in der Nahrungskette anreichern, weil sie aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit natürlichen Fettsäuren und Fetten im Fettgewebe akkumulieren und weil sie, wie anorganisches Arsen, zytotoxisch wirken [77].

Arsenofettsäuren und **Arsenokohlenwasserstoffe** sind im In-vivo-Modell in der Lage, die Darmwand zu passieren. Dabei könnte deren Bioverfügbarkeit und Toxizität vom Speichel- und Magen-Darm-Mikrobiom abhängen [76,77]. Vertreter beider Stoffgruppen wurden in der Milch von Müttern aus Norwegen unter seefischreicher Ernährung gefunden. Sie enthielt 0,3 bis 4,46 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Arsen mit 2 bis 61 % Arsenofettsäuren und Arsenokohlenwasserstoffen [77].

Nach der Aufnahme von 85 g Dorschleber (ca. 120 μg Arsen) bzw. 85 g Dorschleber und 20 g Dorschleberöl (ca. 180 μg Arsen) wurden im Urin zweier Probanden gefunden: DMA^{V} (73 bzw. 41 %), Arsenobetain (15 bzw. 51 %), Oxo-Dimethylarsenopropansäure + Oxo-Dimethylarsenobutansäure + Thio-Dimethylarsenopropansäure + Thio-Dimethylarsenobutansäure (10 bzw. 5 %, Strukturen in Abb. 8) und jeweils Spuren unbekannter Arsenspezies [78,79].

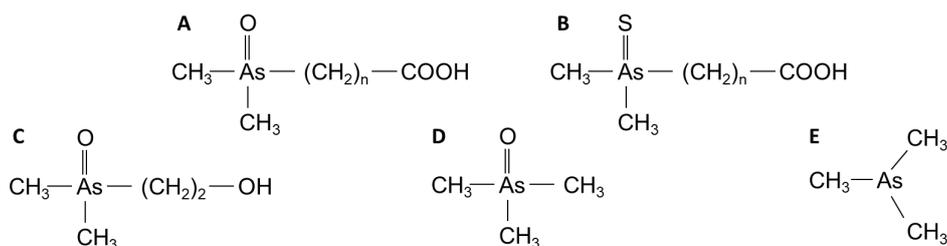


Abb. 8. A: Oxo-Dimethylarsenopropansäure (n = 2), Oxo-Dimethylarsenobutansäure (n = 3), B: Thio-Dimethylarsenopropansäure (n = 2), Thio-Dimethylarsenobutansäure (n = 3) [78], C: Dimethylarsenoylethanol [49], D: Trimethylarsinioxid [49], E: Trimethylarsin [49]. Weitere Oxo- und Thio-Organoarsenspezies siehe [49,80-82].

3.4. Ausscheidung

Im Urin vom Menschen werden hauptsächlich anorganisches Arsen (As^{III} , As^{V}), Monomethylarsonsäure (MMA^{V}), Dimethylarsinsäure (DMA^{V}) und - besonders unter maritim geprägter Ernährung - Arsenobetain gefunden [48-50,58,61,83]. Bei unveränderten Aufnahmemengen und -formen ist deren prozentuale Verteilung zeitlich betrachtet relativ stabil [50].

Unter chronisch erhöhter Arsenexposition stieg im Tierversuch der Arsengehalt der Organe in den ersten Wochen und Monaten an, fiel aber bei fortgesetzter Arsengabe ab. Möglicherweise wird die Ausscheidungskapazität an erhöhte Arsenbelastungen angepasst [50]. Dies könnte eine Ursache für die individuell differierenden Reaktionen auf chronische Arsenbelastungen sein.

Die biologische Halbwertszeit, das heißt die Zeit, in der der menschliche Organismus 50 % des Arsens auf natürlichem Wege ausscheidet, differiert zwischen den Literaturstellen zum Teil deutlich, ebenso Angaben zu den Ausscheidungsraten und dem Profil der Arsenspecies (Tab. 3).

Tab. 3. Ausscheidungsprofil der quantitativ wichtigsten Arsenspecies im Urin des Menschen: anorganisches Arsen As^{III} + As^{V} , Monomethylarsonsäure (MMA^{V}) und Dimethylarsinsäure (DMA^{V}) in Prozent der Gesamtausscheidung sowie Biologische Halbwertszeiten für Arsen(species) im menschlichen Organismus.

Quelle	As^{III} + As^{V} [%]	MMA^{V} [%]	DMA^{V} [%]	Biologische Halbwertszeit
[84]	10	10	80-90	5,7 Tage (Normalbedingungen) 10-30 Stunden (berufliche Exposition)
[61]	10-20	15-25	30-60	-
[48]	10-30	10-20	60-80	etwa 4 Tage (anorganisches Arsen)
[50]	20-25	15-25	40-75	< 20 Stunden (maritimes Organoarsen)
[60]	-	-	-	10 Stunden (ohne Speciesangabe)

Anorganische Arsenverbindungen

Von geringen Dosen „radioaktiver Arsenverbindungen“ (ohne Substanzangabe) wurde „die Hauptmenge innerhalb von 24-48 Std., ein weiterer Teil ... - innerhalb der nächsten 7-10 Tage - über den Urin ausgeschieden. In den Faeces erscheinen nur etwa 10 % der Dosis“ [64].

Einigen Quellen beschreiben eine dreiphasige Ausscheidungskinetik, zum Beispiel für Arsenat: 66 % ($t_{1/2}$ 2,1 Tage), 30 % ($t_{1/2}$ 9,5 Tage), 4 % ($t_{1/2}$ 38 Tage) [48]. Aber auch hier finden sich abweichende Angaben - je nach Experiment. So wurden von einer Dosis eines radioaktiv markierten ^{74}As -Arsenats 38 % (in 2 Tagen) und 58 % (in 5 Tagen) ausgeschieden ($n = 6$) [48], von 500 μg Arsenit (As^{III}) in Wasser 33 % (in 2 Tagen) und 45 % (in 4 Tagen) ($n = 3$) [48].

Bei therapeutischer Gabe von Arsentrioxid, das in wässriger Infusionslösung weitgehend als Arsenige Säure (H_3AsO_4) vorliegt (s. o.), erscheinen MMA^{V} und DMA^{V} etwa 10-24 Stunden nach der ersten Dosis im Blut [66,67]. Bei Arsenvergiftung soll in den ersten Tagen der Anteil anorganischen Arsens dominieren, später der Anteil von Methylverbindungen, außerdem soll der $\text{DMA}^{\text{V}}/\text{MMA}^{\text{V}}$ -Quotient ansteigen [84].

Die **Arsenausscheidung im Stuhl** (wahrscheinlich Gesamtarsen) liegt bei um 6 % [58,84], nach [64] unter 10 %. Schwer lösliche Arsenverbindungen wie Gallium- oder Indiumarsenid werden nach oraler oder inhalativer Aufnahme geringfügig wie anorganisches As^{III} methyliert [50] bzw. hauptsächlich unresorbiert über den Stuhl ausgeschieden [56].

Spuren von Arsen in Schweiß und in Hautzellabschilferungen sind aus quantitativer Sicht unbedeutend [84].

Abbildung 9 fasst wesentliche Aspekte von Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung anorganischen Arsens für den menschlichen Organismus zusammen.

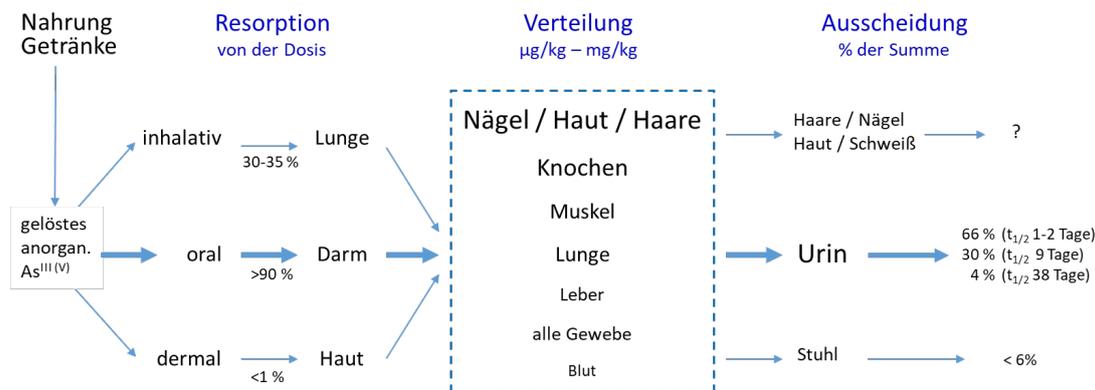


Abb. 9. Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung von anorganischem Arsen bei physiologischer Belastung (nach Angaben in [48-50,58,61]). Zum Ausscheidungsprofil im Urin vom Menschen siehe auch Tabelle 3.

Organische Arsenverbindungen

Nach der Aufnahme von Dorschleber bzw. Dorschleberöl (**Arsenolipide**) wurden circa 70 % der Arsenmenge in 24 Stunden und etwa 90 % innerhalb von 66 Stunden im Urin ausgeschieden. Es dominierten Arsenobetain und DMA^V, gefolgt von Oxo- und Thioderivaten der Arsenopropansäure und der Arsenobutansäure (Strukturen in Abb. 8) [78].

Nach Gabe eines synthetischen **Arsenzuckers** wurden im Urin eines Probanden gefunden: 80 % des aufgenommenen Arsens innerhalb von vier Tagen, mit ersten messbaren Mengen nach 13 Stunden und einer maximalen Ausscheidungsrate zwischen 22 bis 31 Stunden [83].

Organische Arsenverbindungen marinen Ursprungs wie MMA^V und DMA^V, Trimethylarsin-oxid und Arsenobetain werden mit Eliminationshalbwertszeiten von ca. 20 h innerhalb von zwei bis drei Tagen über die Niere ausgeschieden [61], nach [65] unmetabolisiert. In Algen enthaltene Arsenozucker „weisen eine etwas längere Halbwertszeit auf“ [61].

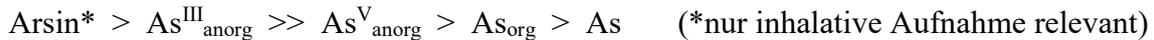
3.5. Giftwirkung - Pathobiochemische Partialreaktionen

Moderne Analysemethoden führen zur Entdeckung bisher unbekannter Oxo- und Thio-Arsenverbindungen, auch in biologischem Material vom Menschen. Die komplexen pathobiochemischen Partial- und Gesamtreaktionen des „Arsens“ werden dadurch noch unübersichtlicher und können mit der Bestimmung des Gesamtarsens nicht adäquat verstanden werden. Zukünftige Studien zur „Toxikologie des Arsens“ bedürfen deshalb verstärkt substanzspezifischer Ansätze.

Arsenik (As₂O₃) hat im Vergleich zu den methylierten Metaboliten eine hohe Toxizität. **LD₅₀** für den Menschen sind: As₂O₃ 1,43 mg/kg, MMA^V 50 mg/kg, DMA^V 500 mg/kg [58,84]. **Toxische Effekte** (As₂O₃) sind ab 10 bis 50 mg [84] zu erwarten. Die **letale Dosis** für nicht-gewöhnliche Erwachsene liegt quellenabhängig bei 60 bis 300 mg [64,85], 120 mg bzw. „eher 300 mg“ [84], 1 bis 3 [48] bzw. 1 bis 4 mg/kg Körpermasse [85], bei Gewöhnung auch höher.⁵ Die LD₅₀ Arsen (oral) für Ratten bzw. Mäuse beträgt um 760 bzw. um 145 mg/kg [87].

⁵Zum Beispiel bei den aus dem 19. Jahrhundert bekannten „Arsenikessern“ in der Steiermark [86]. Diese nahmen zumeist Arsenitoxid (As₂O₃), seltener synthetisches Auripigment (As₂S₃) oder Realgar (As₄S₄), oft mit Brot und Speck, zur Leistungssteigerung bzw. zur Krankheitsvorbeugung ein. Durch Gewöhnung waren Dosissteigerungen von subtoxisch (um 10 mg/Tag) auf für „Arsenunerfahrene“ letale Mengen von 300 bis 400 mg (und mehr) aller zwei bis drei Tage üblich. Die überwachte Einnahme von 950 mg (!) per os verlief ohne sichtbare Reaktionen [86].

Im Allgemeinen gelten anorganische Arsenverbindungen als toxischer als organische und As^{III} als toxischer als As^{V} [48-50,58]. Damit ergibt sich in etwa folgende Toxizitätsreihenfolge (zur Einordnung organischer As^{III} -Verbindungen siehe das Kapitel Metabolismus):



Ob metallisches Arsen ungiftig ist, wie gewöhnlich antizipiert, ist umstritten. Schon Anfang des 19. Jahrhunderts wurden Versuche mit oraler Gabe von „*regulinischem*“ (metallischem) Arsen an Hunde „*ohne daß ihre Gesundheit sich im mindesten verändert habe*“ als Nachweis für dessen Ungiftigkeit interpretiert (Zitate aus [88]). Für Orfila [88] reicht dieser Beweis nicht aus, weil „*die Anwendung dieser Substanz den Tod [mehrerer] Tiere verursachte*“, wahrscheinlich, so Orfila, durch die „*Leichtigkeit*“ der Umwandlung in ein Oxyd.

Tatsächlich bildet Arsen unter Luft spontan eine Schicht aus Arsenoxiden, insbesondere von As_2O_3 (siehe [1]). Metallisches Arsen mit großer Oberfläche (Pulver) oder große Mengen mit „Arsenikpatina“ könnten so, abhängig von der Verweildauer im Gastrointestinaltrakt, zur Aufnahme toxischer As_2O_3 -Mengen und damit zu einer akuten Arsenvergiftung führen.⁶

Fall 1 beschreibt einen Suizid mit metallischem Arsen [87], ein weiterer wird in [89] erwähnt.

Fall 1. 34-jähriger depressiver Student, Suizid mit 30 g Arsen pro analysi (mglw. zu Pulver zermahlen), klagt zunächst über Müdigkeit, in den folgenden Stunden mehrfaches Erbrechen und heftige Durchfälle, nach 15 Stunden stationäre Aufnahme, dort Tachykardie, massive Hypotonie, beginnendes Nierenversagen; Magenspülungen, Infusionen, Noradrenalin, Hämodialyse, Dimercaprol, circa 33 Stunden später Blutdruckabfall, Kreislaufstillstand, Tod. Drogenscreening (EIA) Benzodiazepine positiv (Selbstmedikation 2 x 10 mg Diazepam). Arsen (AAS): Blut bei Einweisung 1,13 $\mu\text{g/g}$, nach 28 Stunden 0,37 $\mu\text{g/g}$; Urin bei Einweisung 85 mg/L, unter Dialyse/Diurese 4 mg/L, Gehirn 1,9 $\mu\text{g/g}$ Frischgewicht, Lunge 2,6 $\mu\text{g/g}$, Leber 105 $\mu\text{g/g}$, Niere 11,4 $\mu\text{g/g}$, Kopfhaar (ungewaschen) 12,8 $\mu\text{g/g}$, Röntgendiffraktometrie: elementares Arsen im Magen, mglw. zusätzlich „*As-Verbindungen höherer Oxidationsstufe*“. Symptomatik/Pathologie: Bild einer akuten Arsenikvergiftung. Todesursache: wahrscheinlich Arsenoxide im Arsen, frühes Erbrechen und dadurch kurze Verweilzeit im Magen-Darm-Trakt reduzieren die Giftdosis, dadurch mglw. 2 Tage bis Todeseintritt [87].

Anmerkungen: Schon 1 % Masseanteil As_2O_3 im metallischen Arsen hätte einer tödlichen Arsenikdosis von etwa 300 mg entsprochen (nicht eingenommene Giftreste waren nicht vorhanden und somit eine Analyse der Originalsubstanz nicht möglich). Normalbereiche fehlen in [87]. Setzt man die Falldaten in Bezug zu den Angaben in Tabelle 1 und 2 dieser Übersicht (s. o.), ergeben sich Normalbefunde für Blut und Organe, aber eine exzessive Arsenausscheidung im Urin. Dies entspricht einer Befundlage bei akuter Arsenintoxikation.

Fall 2 schildert einen von insgesamt acht ähnlich gelagerten Fällen tödlicher Vergiftungen durch großflächige topische Applikation einer Hautsalbe mit Realgar (As_4S_4) [90]⁷.

Fall 2. 35-Jähriger in China, seit 6 Jahren schwere Psoriasis. „*Quack doctor*“: verschreibt Salbe aus Volksmedizin mit 6 % Realgar (As_4S_4), 1,8 % Salicylsäure, 0,5 % Resorcinol und 1,3 % Borsäure. Zwei Tage nach Behandlungsbeginn mit diesem Präparat: Durchfall, Erbrechen, Schmerzen, Hautschwellungen; dennoch fortgesetzte Anwendung: nun gelb-wässrige Durchfälle, schweres Erbrechen, Hautschäden, an Tag 3 stationäre Aufnahme, 4 Tage später Tod durch Multiorganversagen. Autopsie: akute Nekrose der Hepatozyten und Nierentubuli, Ödeme und Blutungen in der Lunge, kleine Hirnödeme, milde Herzhypertrophie. Arsengehalt (ICP-MS): Salbe 60 mg/mL, Herzblut 1,76 mg/L, in den psoriasisgeschädigten Hautpartien 4,23 bis 5,68 $\mu\text{g/g}$; weitere toxikologische Untersuchungen unauffällig. Symptomatik/Pathologie: akute Arsenvergiftung. Mögliche (letztlich ungeklärte) Todesursachen: lösliche Arsenverbindungen im Realgar und/oder verstärkte Arsenresorption durch die gestörte Hautbarriere und/oder durch die Galenik der Salbe [90].

Anmerkung: Arsen-Normbereiche fehlen in [90], siehe zum Vergleich die Tabellen 1 und 2.

⁶So könnten die o. g. LD_{50} für Mäuse und Ratten auch partiell auf Arsenoxidspuren im metallischen Arsen basieren.

⁷Realgar gilt aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Wasser als nicht oder kaum giftig. Er wird in der traditionellen chinesischen Medizin seit mehr als 1500 Jahren eingesetzt [90]. Realgar ist wie Arsentrioxid und Melarsoprol (siehe [1]) von der WHO als essenzielles Medikament gelistet (!) [91].

Zelluläre Partialreaktionen

Die Pathobiochemie des „Arsens“ für den Menschen ist Gegenstand intensiver Forschung. Zunehmend werden hierbei einzelne Arsenspecies betrachtet. Nach derzeitigem Kenntnisstand wird die Giftwirkung auf zellulärer Ebene insbesondere, aber nicht nur, über anorganische Arsen^{III}-Verbindungen vermittelt. Von der Giftwirkung sind alle Gewebe, Organe und Organsysteme direkt oder indirekt betroffen.

Das **Arsenation** AsO_4^{3-} (As^{V}) bewirkt, reduziert zu As^{III} (s. o.), die pathobiochemischen Reaktionen der Arsenigen Säure H_3AsO_3 . Es kann zudem Phosphat in Proteinen und Substraten ersetzen, zum Beispiel in der Glykolysekette, dem zentralen Stoffwechselweg zum Abbau von Kohlenhydraten (Glukose) in allen Eukaryonten. Hier ersetzt Arsenat Phosphationen bei der Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 1,3-Bisphosphoglycerat. Dadurch wird ein instabiles 1-Arseno-3-phosphoglycerat gebildet, das ohne Bildung von ATP (!) zu 3-Phosphoglycerat zerfällt. Die Glykolyse kann zwar weiter zum Pyruvat ablaufen - aber ohne einen Nettogewinn von ATP. Es kommt zum ATP- und damit zu intrazellulärem Energiemangel [58].

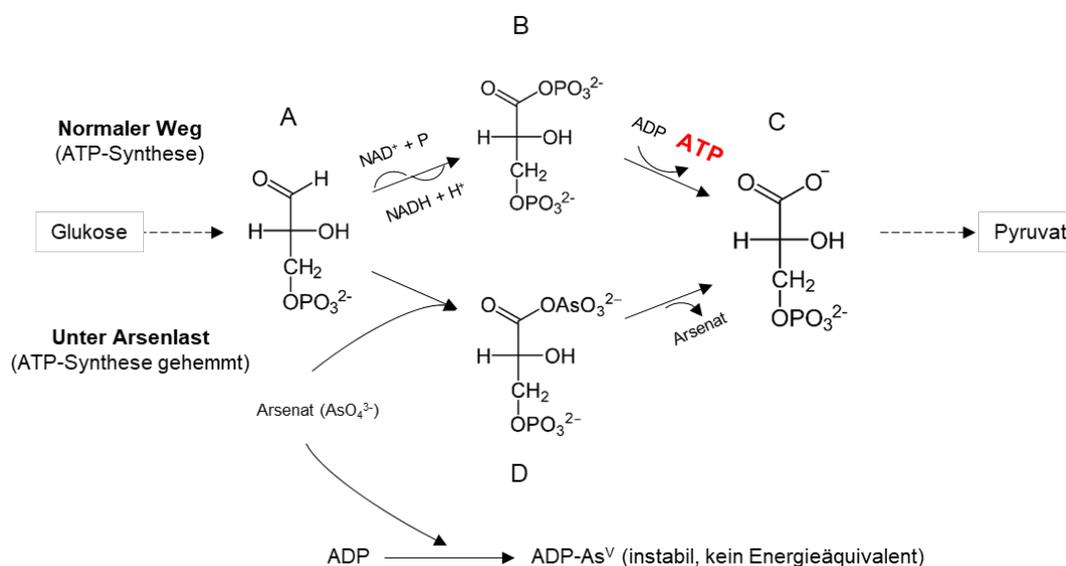


Abb. 10. Inhibition der ATP-Bildung in der Glykolysekette durch Bildung eines instabilen 1-Arseno-3-phosphoglycerats (D) aus Glycerinaldehyd-3-phosphat (A) und Arsenat anstelle der Synthese von 1,3-Bisphosphoglycerat (B) und dessen Umsetzung zu 3-Phosphoglycerat (C) unter Bildung eines Moleküls ATP. Zusätzlich Bildung von instabilem ADP-As^{V} , das als zellulärer Energielieferant ungeeignet ist. Nach Angaben in [58] und [92], Strukturformeln [92]. NAD: Nicotinamidadenindinukleotid (+ - oxidiert, H - reduziert) ADP: Adenosindiphosphat, ATP: Adenosintriphosphat (universeller, sofort verfügbarer zellulärer Energieträger), P: Phosphat.

Der ATP-Mangel wird zusätzlich verschärft durch die Bildung von instabilem ADP-Arsenat anstelle von ATP [58]. Unter physiologischen Bedingungen ist allerdings die intrazelluläre Phosphatkonzentration sehr hoch und jene von Arsenat niedrig. Die Zellen sind deshalb relativ resistent gegenüber Arsenat - außer bei starkem Phosphatmangel [48-50,56,58,61].

Das **Arsenition** AsO_3^{3-} (As^{III}) bindet intrazellulär an Thiolgruppen von (Co-)Enzymen und Substraten, zum Beispiel an die α -Liponsäure, ein Coenzym der Pyruvat-Dehydrogenase- und α -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Multienzym-Komplexe [92]⁸.

⁸Pyruvat-Dehydrogenase-Multienzym-Komplex: katalysiert die Bildung von Acetyl-Coenzym A aus Pyruvat, verbindet über Acetyl-CoA Glykolyse und Citratzyklus (Abbau von Acetyl-CoA mit Bildung von GTP (Energieäquivalent) und NADH und FADH_2 (Reduktionsäquivalente)). NADH und FADH_2 fließen in die Atmungskette (ATP-Bildung). Ketoglutarat-Dehydrogenase-Komplex: Enzyme im Citratzyklus, setzen α -Ketoglutarat zu Succinyl-CoA um, dieses ist Ausgangsprodukt für die Porphyrin-/Hämoglobinsynthese (s. Lehrbücher der Biochemie).

Unter physiologischen Bedingungen bilden α -Liponsäure und die reduzierte Form Dihydroliponsäure (Abb. 11) ein biochemisches Redoxsystem. α -Liponsäure ist ein wichtiger Radikalfänger und starkes Antioxidans [93]. In Gegenwart erhöhter Arsenitkonzentrationen werden die Sulfhydrylgruppen der Dihydroliponsäure durch Arsen besetzt. Dadurch ist die Recyclisierung von Dihydroliponsäure zu α -Liponsäure gestört. Es resultiert ein Liponsäuremangel mit Anhäufung von Radikalen, Ausprägung von oxidativem Stress und in deren Folge Peroxidation der Lipide in der Zellmembran mit Zellschädigung und ggf. Zelltod [58].

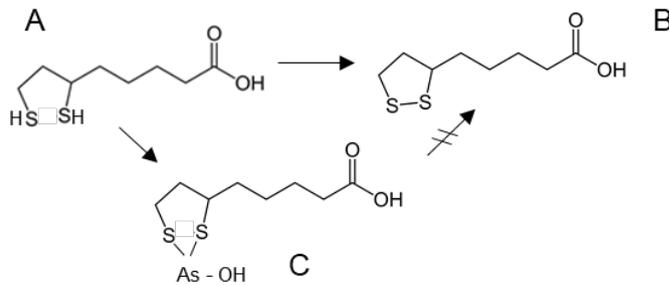


Abb. 11. Hemmung der Rückbildung der α -Liponsäure (B) aus Dihydroliponsäure (A) durch Sulfhydryl-Brückenbildung mit As^{III} (C) (nach einer Grafik in [58]).

Arsen, insbesondere As^{III} , hemmt, wie gezeigt, mehrere essenzielle Stoffwechselwege und damit die Bereitstellung von NADH und FADH_2 als wichtige Reduktionsäquivalente und von ATP als dem wichtigsten Energieträger des Säugerorganismus [58]. Die hierdurch ausgelösten sekundären Effekte betreffen alle Gewebe, Organe und Organsysteme des Menschen. Hinzu kommen vielfältige Störungen im Substratstoffwechsel wie zum Beispiel für Succinyl-CoA, dem Ausgangsstoff für die Porphyrin- und damit die Hämoglobinsynthese [48-50,56,58,61].

Die Literatur enthält hierzu eine Vielzahl an Reaktions- und Signalkaskaden, die die arseninduzierten Zell-, Organ- und DNA-Schäden erklären (sollen). Sie basieren allerdings zumeist auf Ergebnissen aus Zell- und mikrobiologischen Kulturen, in geringerem Maß Tiermodellen (oft mit Nagern), sodass deren Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus unsicher ist.

Da die zellulären Partialreaktionen nach unserer Einschätzung für die klinisch- und forensisch-toxikologische Arbeit eher von untergeordneter Bedeutung sind und da deren adäquate Darstellung den Platzbedarf für unseren Bericht erheblich ausweiten würde, möchten wir an dieser Stelle insbesondere auf die Monographien der International Agency for Research on Cancer (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans) [48,56], das „Handbook of Arsenic Toxicology“ [49] und das „Handbook on the Toxicology of Metals“ [50] verweisen. Interessierte finden dort eine Fülle von (leider auch verwirrenden) Informationen.

Die Gesamtheit der pathobiochemischen Partialreaktionen führt schließlich zu einer ungewöhnlichen Vielzahl an klinischen Symptomen und zu einem komplexen klinischen Verlauf. Dies, die zugehörige Labordiagnostik und die forensische Bewertung von Arsenvergiftungen sind Themen von Teil 3 dieser Übersicht.

4. Danksagung

Wir danken Dr. Herbert Desel (Teltow) und Dr. Michaela Winkler (Ulm) für die kritische Durchsicht und Kommentierung des Manuskriptes. Prof. Dr. Thomas Daldrup (Düsseldorf), Dr. Peter Heitland (Bremen), Dr. Jürgen Kropf (Großauheim), Dr. Enno Logemann (Freiburg im Breisgau) sowie Prof. Dr. Fritz Pragst (Berlin) danken wir für viele wertvolle Hinweise und Anregungen während der Arbeit am Text.

5. Literatur

- [1] Arndt T, Stemmerich K. Arsen - Vom Fliegenteller zur Arseniksuppe - Teil 1. Toxichem Krimtech 2023;90(2):87-109.
- [2] Webster SH. The development of the marsh test for arsenic. J Chem Education 1947;October:487-490.
- [3] Orfila MJB. Ueber Arsenikvergiftung in chemischer, gerichtlicher und therapeutischer Hinsicht, mit Bezugnahme auf den bekannten Laffarge'schen* Rechtsfall. Deutsch von Eduar Hennoch. In: Bibliothek von Vorlesungen der vorzüglichsten und berühmtesten Lehrer des Auslandes über Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe. Bearbeitet und redigiert von Friedrich J. Behrendt. Band XXXI, Christian Ernst Kollmann, Leipzig, 1843: Vorlesung 6, Seiten 56-67.
- *Der Prozess um die vermutliche und später durch die Anwendung des Marsh-Tests durch Mathieu Orfila (1787-1853) überführte Giftmörderin Marie Fortunée Lafarge (1816-1852) hat forensisch-toxikologische Geschichte geschrieben und ist in viele Pitavals eingegangen. Es sei hier darauf hingewiesen, dass die richtige Schreibweise des Namens Lafarge mit einem „f“ ist und nicht wie im o. g. Buchtitel von 1843 Laffarge mit „ff“.
- [4] Marsh J. Separation of arsenic. Transactions of the Society, Instituted at London, for the Encouragement of Arts, Manufactures, and Commerce, 1836-37 Vol. 51, Part I:66-76.
- [5] Sonnenschein FL. Arsenichte Säure AsO³ [originale Schreibweise!]. In: Handbuch der Gerichtlichen Chemie. Nach eigenen Erfahrungen bearbeitet. Verlag von August Hirschfeld, Berlin, 1869:138-139.
- [6] Jander G, Wendt H. Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie. 3. Aufl., S. Hirzel, Leipzig, 1960.
- [7] Claasz Max. Die Prüfungsmethoden des Deutschen Arzneibuches. Zum Gebrauch in Apotheken und bei Apothekenrevisionen sowie für Elevanten und Studierende der Pharmazie. Springer, Heidelberg, 1913.
- [8] Kakodyloxid. In: Falbe J, Regitz M (Hrsg.). Römpf-Chemie-Lexikon, 9. Aufl., Band 3, Thieme, Stuttgart, 1990, 2118.
- [9] Sonnenschein FL. Arsenichte Säure AsO³ [originale Schreibweise!]. In: Handbuch der Gerichtlichen Chemie. Nach eigenen Erfahrungen bearbeitet. Verlag von August Hirschfeld, Berlin, 1869:130-131.
- [10] de.wikipedia.org/wiki/Gran_(Einheit), eingesehen am 28.12.2022.
- [11] Heitland P, Köster HD. Comparison of different medical cases in urinary arsenic speciation by fast HPLC-ICP-MS. Int J Hyg Environ Health 2009;212:432-438.
- [12] www.1902encyclopedia.com/S/SCH/karl-wilhelm-scheele.html, eingesehen am 24.11.2022.
- [13] Hahnemann S. Ueber die Arsenikvergiftung ihre Huelfe und gerichtliche Ausmittelung. Siegfried Leberecht Crusius, Leipzig, 1786, Seiten 215-225.
- [14] Orfila MJB. Ueber Arsenikvergiftung in chemischer, gerichtlicher und therapeutischer Hinsicht, mit Bezugnahme auf den bekannten Laffarge'schen Rechtsfall. Deutsch von Eduar Hennoch. In: Bibliothek von Vorlesungen der vorzüglichsten und berühmtesten Lehrer des Auslandes über Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe. Bearbeitet und redigiert von Friedrich J. Behrendt, Band XXXI, Christian Ernst Kollmann, Leipzig, 1843:1-95.
- [15] Orfila MJB, siehe [14], 2. Vorlesung, Seite 28.
- [16] Orfila MJB, siehe [14], 1. Vorlesung, Seite 15.
- [17] Orfila MJB, siehe [14], 3. Vorlesung, Seite 30.
- [18] Hjern L. Anwendung der Silberäthylthiocarbamatmethode zur Bestimmung von Arsen in Tabak. Beiträge zur Tabakforschung 1961, Heft 3, 75-81.
- [19] de.wikipedia.org/wiki/Zinn(II)-chlorid, eingesehen am 11.04.2023.
- [20] www.chem-page.de/downloads/file/690-arsennachweis-nach-gutzeit.html, eingesehen 10.08.2022.
- [21] Comrie AD, Ward TJ. The Gutzeit-Test. Journal of the Institute of Brewing, 1928;34(5):530-533.
- [22] Machery-Nagel. Arsen-Testpapier (= Quecksilberbromidpapier) zum Nachweis von Arsen in Form von Arsenwasserstoff AsH₃; <https://www.mn-net.com/media/pdf/39/c7/ef/Instruction-90762-Qualitative-Arsenic-mercury-bromide-test-paper-for-Arsenic.pdf>, eingesehen am 21.07.2022.
- [23] Machery-Nagel. Quantofix[®] Arsen Sensitive; <https://www.mn-net.com/de/halbquantitative-teststaebchen-quantofix-arsen-sensitiv-91345>, eingesehen am 21.07.2022.
- [24] Ochs R. Praktikum der Qualitativen Analyse für Chemiker, Pharmazeuten und Mediziner. Springer, Heidelberg, 1926.
- [25] Strähle J, Schweda E. Jander – Blasius Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie. 14. Auflage, S. Hirzel, Stuttgart – Leipzig, 1995.
- [26] Orfila MJB, siehe [14], 1. Vorlesung, Seite 17.
- [27] Sonnenschein FL. Arsenichte Säure AsO³ [originale Schreibweise!]. In: Handbuch der Gerichtlichen Chemie. Nach eigenen Erfahrungen bearbeitet. Verlag von August Hirschfeld, Berlin, 1869:140.
- [28] Daldrup T, Franke JP. Metallscreening aus Urin bei akuten Vergiftungen: schneller Nachweis von Antimon, Arsen, Bismut, Blei, Cadmium, Cobalt, Indium, Kupfer, Nickel, Thallium, Zink und Zinn. DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft. Mitteilung XXII der Senatskommission für Klinisch-toxikologische Analytik.VCH, Weinheim, 1993.
- [29] nordantec.de/downloads/pdf/TEA4000-en.pdf (Polarograph TEA 4000 Ultra Trace Element Analysis), 11.04.2023.
- [30] www.metrohm.com/de_de/produkte/voltammetrie-cvs/portable-va-analyzer.html (Portables voltammetrisches Analysenmessgerät für die Bestimmung von Schwermetallen im Spurenbereich in Wasserproben vor Ort), eingesehen am 11.04.2023.
- [31] www.hach.com/p-ez-series-arsenic-analyzers/EZ6001.XXXXXXXXXX (Voltammetrischer Analysator der Serie EZ6000 für Arsen im Spurenbereich), eingesehen am 11.04.2023.
- [32] www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/arsenic, eingesehen am 11.04.2023.
- [33] Thakkar A, Dumée LF, Gupta M, Singh BR, Yang W. Nano-enabled sensors for detection of arsenic in water. Water Research 2021;188:116538.
- [34] Bhat A, O Hara T, Tian F, Singh B. Review of analytical techniques for arsenic detection and determination in drinking water. Environ Sci Adv 2022, DOI: 10.1039/d2va00218c.

- [35] Schramel P, Begerow J, Emons H. Anwendung der ICP-MS für das Humanbiomonitoring [Biomonitoring Methods in German language, 1999]. Veröffentlicht in der Reihe Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: Analysen in biologischem Material, 13. Lieferung, Ausgabe 1999. In: The MAK-Collection for Occupational Health and Safety, 2012.
- [36] Müller-Plathe O. Chlorid. In: Gressner AM, Arndt T (Hrsg.). Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 3. Aufl., Band 1 A-F, Springer, Heidelberg, 2019, 569-570.
- [37] Guder WG. Visuelle Untersuchung und Geruch des Harns. In: Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3. Aufl., Schattauer, Heidelberg, 1995:742.
- [38] Meißner D, Arndt T. Arsen. In: Gressner AM, Arndt T (Hrsg.). Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 3. Aufl., Band 1 A-F, Springer, Heidelberg, 2019, 207-209.
- [39] Heitland P, Köster HD. Human biomonitoring of 73 elements in blood, serum, erythrocytes and urine. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2021;64:126706.
- [40] Heitland P, Köster HD. Applications of ICP-MS in human biomonitoring studies. In: Caroli S, Záray G (eds.). *Analytical Techniques for Clinical Chemistry: Methods and Applications*. Wiley, 2012:367-394.
- [41] Reid MS, Hoy KS, Schofield JRM, Uppal JS, Lin Y et al. Arsenic speciation analysis: a review with an emphasis on chromatographic separations. *Trends Analytical Chem* 2020;123:115770.
- [42] Zou H, Zhou C, Li Y, Yang X, Wen J et al. Speciation analysis of arsenic in edible mushrooms by high-performance liquid chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chem* 2020;327:127033.
- [43] Sur R, Dunemann L. Method for the determination of five toxicologically relevant arsenic species in human urine by liquid chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004;807(2):169-176.
- [44] Heitland P, Köster HD. Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. *Clin Chim Acta* 2006;365:310-318.
- [45] Heitland P. persönliche Information vom 08.09.2022.
- [46] Huss H. Zur Kenntnis der biologischen Zersetzung von Arsenverbindungen. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 1914;76:361-406.
- [47] Orfila MJB, siehe [14], 3. Vorlesung, Seiten 35-36.
- [48] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs Volume 84: Some Drinking-water Disinfectants and Contaminants, including Arsenic. Lyon (FR) International Agency for Research on Cancer, 2004, 39-267, dort der Abschnitt Arsenic in Drinking Water mit Chapter 4 Other Data Relevant to an Evaluation of Carcinogenicity and its Mechanisms, Seiten 167-267 und 368.
- [49] Flora SJS (ed.) *Handbook of Arsenic Toxicology*. Elsevier-Academic Press, London, San Diego, Waltham etc., 2015.
- [50] Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M (eds.). *Handbook on the Toxicology of Metals*. 4th ed., Academic Press, London, 2015.
- [51] Uthus EO. Evidence for arsenic essentiality. *Environmental Geochemistry and Health* 1992;14:55-58.
- [52] U.S. Food and Drug Administration. Arsenic-based Animal Drugs and Poultry. Content 04/29/2022; public4.pagefreezer.com/browse/FDA/27-04-2023T11:46/https://www.fda.gov/animal-veterinary/product-safety-information/arsenic-based-animal-drugs-and-poultry, eingesehen am 18.08.2022, aktuelle Adresse am 30.05.2023.
- [53] U.S. Food & Drug Administration. Questions and Answers on Arsenic-based Animal Drugs. Content 04/29/2022; public4.pagefreezer.com/browse/FDA/27-04-2023T11:46/https://www.fda.gov/animal-veterinary/product-safety-information/questions-and-answers-arsenic-based-animal-drugs, eingesehen am 18.08.2022, akt. Adresse 30.05.2023.
- [54] Gesellschaft Deutscher Chemiker. Geflügelmast mit Arsen problematischer als angenommen? Neue methylierte Phenylarsen-Metabolite in Hühnerleber identifiziert. Meldung vom 08.05.2017; idw-online.de/de/news675125, eingesehen am 18.08.2022.
- [55] de.wikipedia.org/wiki/Roxarsen, eingesehen am 30.05.2023.
- [56] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs Volume 84100C: Arsenic, Metals, Fibres and Dust. Lyon (FR) International Agency for Research on Cancer, 2012, dort der Abschnitt Arsenic and Arsenic Compounds, 41-93.
- [57] Hackethal C, Pabel U, Jung C, Schwerdtle T, Lindtner O. Chronic dietary exposure to total arsenic, inorganic arsenic and water-soluble organic arsenic species based on results of the first German total diet study. *Sci Total Environm* 2023;859:160261.
- [58] Munday SW. Arsenic. In: Nelson LS, Howland MA, Lewin NA, Smith SW, Goldfrank LR, Hoffman RS (eds.). *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*. 11th ed., New York etc., McGraw-Hill Education, 2019:1237-1250.
- [59] Müller-Plathe. Phosphat. In: Gressner AM, Arndt T (Hrsg.). Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 3. Aufl., Band 3 P-Z, Springer, Heidelberg, 2019, 1867-1869.
- [60] Yang H-C, Fu H-L, Lin Y-F, Rosen BP. Pathways of arsenic uptake and efflux. *Curr Top Membr* 2012;69:325-358.
- [61] Kommission „Human-Biomonitoring“ des Umweltbundesamtes. Stoffmonographie Arsen – Referenzwert für Urin. *Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz* 2003;46:1098-1106.
- [62] de.wikipedia.org/wiki/atemminutenvolumen, eingesehen am 08.05.2023.
- [63] Arnold W, Kohlhaas HH, Niewerth E. Untersuchungen zum Arsen-Stoffwechsel mit As⁷⁴. Beiträge zur Gerichtlichen Medizin Band XXVII, Verlag Franz Deuticke, Wien 1970, 339-351.
- [64] Geldmacher-von Mallinckrodt M. Spezielle Toxikologie – Anorganische Gifte – Metalle und Metalloide – Arsen. In: Mueller B (Hrsg.). *Gerichtliche Medizin - Teil 2*. 2. Aufl., Springer, Heidelberg, 1975, 787-807.
- [65] Baselt RC. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 12th ed., Biomedical Publications, Seal Beach, California, 2020, 150-154.
- [66] Fachinformation. Arsen(III)-oxid Accord 1 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Mai 2022, Accord, FL_EU/1/19/1398/001-003_V.04.

- [67] Fachinformation. TRISENOX 1 mg/ml Konzentrat zur Herstellung einer Infusionslösung. Stand Juli 2018, teva, Version 3.
- [68] Sternowsky H-J, Moser B, Szadkowski D. Arsenic in breast milk during the first 3 months of lactation. *Int J Hyg Environ Health* 2002;205(5):405-409.
- [69] Drobna Z, Styblo M, Thomas DJ. An Overview of arsenic metabolism and toxicology. *Curr Protoc Toxicol* 2009;42(431):4.31.1-4.31.6.
- [70] Thomas DJ, Li J, Waters SB, Xing W, Adair BM et al. Arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase and the methylation of arsenicals. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2007;232(1):3-13.
- [71] Engström KS, Broberg K, Concha G, Nermell B, Warholm M, Vahter M. Genetic polymorphisms influencing arsenic metabolism evidence from Argentina. *Environmental Health Perspectives* 2007;115(4):599-605.
- [72] Agusa T, Fujihara J, Takeshita H, Iwata H. Individual variations in inorganic arsenic metabolism associated with As3MT genetic polymorphisms. *Int J Mol Sci* 2011;12:2351-2382.
- [73] Harari F, Engström K, Concha G, Colque G, Vahter M, Broberg K. N-6-adenine-specific DNA methyltransferase 1 (N6AMT1) polymorphisms and arsenic methylation in Andean women. *Environmental Health Perspectives* 2013;121(7):797-803.
- [74] Bentley R, Chasteen TG. Microbial methylation of metalloids: arsenic, antimony, and bismuth. *Microbiol and Molecular Biology Reviews* 2002;66(2):250-271.
- [75] Schmidt S. Navigating a two-way street: metal toxicity and the human gut microbiome. *Environmental Health Perspectives* 2022;130(3):032001-1 bis 032001-8.
- [76] Calatayud M, Xiong C, du Laing G, Raber G, Francesconi K, van de Wiele T. Salivary and gut microbiomes play a significant role in in vitro oral bioaccessibility, biotransformation, and intestinal absorption of arsenic from food. *Environ Sci Technol* 2018;52:309-319.
- [77] Chávez-Capilla. The need to unravel arsenolipid transformation in humans. *DNA Cell Biology* 2022;41(1):64-70.
- [78] Schmeisser E, Goessler W, Francesconi KA. Human metabolism of arsenolipids present in cod liver. *Anal Bioanal Chem* 2006;385(2):367-376.
- [79] Schmeisser E, Rumpfer A, Kollroser M, Rechberger G, Goessler W, Francesconi KA. Arsenic fatty acids are human urinary metabolites of arsenolipids present in cod liver. *Angew Chem Int Ed Engl* 2005;45(1):150-154.
- [80] Stice S, Liu G, Matulis S, Boise LH, Cai Y. Determination of multiple human arsenic metabolites employing high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016, January 15;1009-1010:55-65.
- [81] Sun Y, Liu G, Cai Y. Thiolated arsenicals in arsenic metabolism: occurrence, formation, and biological implications. *J Environm Sci (China)* 2016;49:59-73.
- [82] Sijko M, Janasik B, Wasowicz W, Kosłowska L. Metabolic changes and their associations with selected nutrients intake in the group of workers exposed to arsenic. *Metabolites* 2023;13,70.
- [83] Francesconi KA, Tanggaard R, McKenzie CJ, Goessler W. Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. *Clin Chem* 2002;4:92-101.
- [84] Iffland R. Arsenic. In: Seiler HG, Sigel A, Sigel H (eds.). *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*. Marcel Dekker, Inc., New York, 1994:237-253.
- [85] Müller RK et al. Forensische Toxikologie - Arsen. In: Madea B, Brinkmann B (Hrsg.). *Handbuch gerichtliche Medizin 2*, Springer, Heidelberg, 2003:200-206.
- [86] Przygoda G, Feldmann J, Cullen WR. The arsenic eaters of Styria: a different picture of people who were croniclly exposed to arsenic. *Appl Organometallic Chem* 2001;15:457-462.
- [87] Logemann E, Krützfeld B, Pollak S. Suizidale Einnahme von elementarem Arsen. *Archiv für Kriminologie* 1990;185:80-88.
- [88] Orfila MP. *Allgemeine Toxicologie oder Giftkunde, worin die Gifte des Mineral- Pflanzen- und Thierreichs aus dem physiologischen, pathologischen und medizinisch – gerichtlichen Gesichtspunkte untersucht werden. Nach dem Französischen des Herrn M. P. Orfila mit Zusätzen und Anmerkungen begleitet von Dr. Sigism. Friedr. Hermbstädt. Erster Theil, Carl Friedrich Amelang, Berlin, 1818, 148-149.*
- [89] Kobylecka K, Sadlik K. Research into arsenic poisoning carried out at the Institute of Forensic Research in Cracow. In: Müller RK (ed.). *Proceedings of the 31st TIAFT Meeting – Leipzig '93*, Molina Press, Leipzig, 1994, 331-333.
- [90] Zheng J, Zhang K, Liu Y, Wang Y. Fatal acute arsenic poisoning by external use of realgar: Case report and 30 years literature retrospective study in China. *Forensic Sci Internat* 2019;300:e24-e30.
- [91] WHO Model List of Essential Medicines – 22nd List (2021), unter <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-MHP-HPS-EML-2021.02>, eingesehen am 15.05.2023.
- [92] <https://de.wikipedia.org/wiki/Glykolyse>, eingesehen am 31.05.2023.
- [93] Solmonson A, DeBerardinis RJ. Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. *J Biol Chem* 2018; 293(20):7522-7530.