

## Die Anwendung der spektrophotometrischen Blutuntersuchung in der gerichtlichen Medizin.\*)

Von

**Dr. Walther Schwarzacher,**

I. Assistent am Gerichtlich-Medizinischen Institut der Universität in Graz  
(Vorstand: Professor Dr. Fritz Reuter.)

Mit 2 Textabbildungen.

„M. H.! Im folgenden erlaube ich mir, Ihnen über das Prinzip der spektrophotometrischen Blutuntersuchung und über die Anwendung dieser Methode auf einige Fragen der gerichtlichen Medizin, namentlich auch auf die Frage der CO-Gasvergiftung zu berichten. Die Methode der Spektrophotometrie oder — wie wir auch sagen können — der quantitativen Spektralanalyse ist nicht neu, als ihr Begründer kann mit Recht *Vierordt*<sup>1)</sup> angesprochen werden, der als erster, gestützt auf die Untersuchungen, die Physiker und Chemiker angestellt haben, eine Arbeitsweise schuf und geeignete Instrumente konstruierte, die es ermöglichten, quantitative Untersuchungen auf sehr einfache und sichere Art anzustellen. In weiterer Folge war es besonders *Hüfner*<sup>2)</sup> in *Tübingen* und seine Schule, welcher diese Methode vervollkommenet und ausgebaut hat. Heutzutage findet die Spektrophotometrie bei Physiologen, Chemikern und Technikern vielfache Anwendung. Die Fächer der praktischen Medizin benützen diese Methode nur in ganz geringem Ausmaße, obwohl gerade sie geeignet wäre, in vielen Fragen rasch zu genauen Resultaten zu führen. Auch in der gerichtlich-medizinischen Literatur konnte ich nur wenige dahingehende Hinweise finden, daß der eine oder andere Autor die quantitative Spektralanalyse zu seinen Untersuchungen herangezogen hat. So erwähnt insbesondere *Ziemke*<sup>3)</sup> in seiner Arbeit über die Blutspektren aus dem Jahre 1901, daß das spektrophotometrische Verhalten zur qualitativen Diagnose herangezogen werden kann, und *Lewin*<sup>4)</sup> erläutert in seiner Monographie der CO-Vergiftung kurz die spektrophotometrische Methode. Auch *Reuter*<sup>5)</sup>, mein dermaliger Chef, hat in seinem Vortrage über CO-Nachweis im Leichenblute auf der Tagung der Gesellschaft für gerichtliche Medizin in *Meran* auf die Anwendungsmöglichkeit der quantitativen Spektralanalyse hingewiesen.

---

\*) Vorgetragen auf der Versammlung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in *Erlangen*, September 1921.

Ich erachte es deshalb nicht für unangebracht, wenn ich Ihnen nun schon heute über die vorläufigen Ergebnisse meiner spektrophotometrischen Untersuchungen und ihre Anwendungsmöglichkeit berichte.

Bekanntlich besteht das Prinzip der Spektrophotometrie darin, daß man zahlenmäßig feststellt, welche Lichtmenge in den einzelnen Bereichen eines Absorptionsspektrums hindurchgelassen wird. Zum Verständnis meiner weiteren Ausführungen kann ich aber nicht umhin, ein paar grundlegende Begriffe zu erläutern. Geht nämlich ein Lichtstrahl von bestimmter Intensität durch eine Schicht eines absorbierenden Körpers, so erfährt die Intensität dieses Lichtstrahles eine Schwächung. Um nun eine Maßzahl für die Größe dieser Schwächung zu haben, hat nun *Bunsen*<sup>6)</sup> einen neuen Ausdruck, nämlich den des Extinktionskoeffizienten eingeführt. *Bunsen* sieht nämlich diejenige Schichtdicke — ohne Rücksicht auf die Konzentration des absorbierenden Körpers, — welche die Intensität des Lichtstrahles auf ein Zehntel der ursprünglichen Lichtstärke herabmindert, als die Einheit des Absorptionsvermögens an; er zeigt dann weiter, daß für die Schichtdicke „1“ der Extinktionskoeffizient dem negativen Logarithmus der hindurchgelassenen Lichtmenge gleichzusetzen ist. M. H.! Es würde zu weit führen, wenn ich hier die von *Bunsen* herrührende mathematische Ableitung dieses Ausdruckes ausführlich wiedergeben wollte. Es genügt für uns zu wissen, daß wir den Extinktionskoeffizienten dadurch erhalten, daß wir in geeigneten Apparaten messen, wieviel Bruchteile des auffallenden Lichtes durch eine 1 cm dicke Schicht eines Körpers hindurchgelassen werden. Der negative Logarithmus dieses Bruchteiles ist ebendann der absolute Wert des Extinktionskoeffizienten. Der Extinktionskoeffizient stellt immer eine positive Zahl dar, denn der Logarithmus eines Bruches ist eine negative Zahl, und wenn wir dann den negativen Logarithmus nehmen, erhalten wir immer einen positiven Ausdruck. Alle diese Ausführungen gelten aber nur, wie stillschweigend vorausgesetzt wurde, für einfarbiges Licht. Handelt es sich darum, das Absorptionsvermögen eines Körpers oder einer Flüssigkeit in bezug auf weißes Licht zahlenmäßig festzustellen, so muß man derart verfahren, daß man das Lichtbündel, das den absorbierenden Körper durchsetzt hat, durch ein Prisma in ein Spektrum zerlegt. Durch eine im Okular angebrachte Blende schneidet man sich nun gewissermaßen einen schmalen Spektralbereich heraus und mißt dann durch eine gleich zu besprechende Vorrichtung, um wieviel das Licht dieses Spektralbereiches geschwächt wurde; ist nämlich der Okularspalt eng genug gewählt, so kann das herausgeblendete Lichtbündel als monochromatisch angesehen werden. Die zu diesen Untersuchungen verwendeten Apparate werden als Spektrophotometer bezeichnet. Es gibt eine ganze

Anzahl der verschiedensten Konstruktionen; ihr Prinzip beruht im wesentlichen darauf, daß gleichzeitig neben dem Lichtbündel, das den absorbierenden Körper durchsetzt, ein zweites Lichtbündel zur Anwendung gelangt, welches ebenfalls die ganze Optik des Apparates durchläuft, aber die absorbierende Schichte *nicht* zu durchdringen hat. Es sind nun wieder verschiedene Einrichtungen getroffen, die es ermöglichen, dieses zweite „Vergleichslichtbündel“ meßbar so weit zu schwächen, bis die restierende Lichtstärke derjenigen Lichtstärke gleich geworden ist, die bei ihrem Wege durch den absorbierenden Körper eine Minderung erfahren hat. *Vierordt* wandte bekanntlich das Verfahren an, daß er durch meßbare Verengung des Eintrittspaltes die Lichtstärke schwächte. Eine Reihe von Apparaten so insbesondere die von *Hüfner*<sup>7)</sup>, *Glan*<sup>8)</sup>, *König*<sup>9)</sup> und *Martens*<sup>10)</sup> angegebenen sind nun derart konstruiert, daß polarisiertes Licht in Anwendung gebracht wird und eine meßbare Schwächung des zum Vergleiche dienenden polarisierten Lichtbündels durch ein vorgesetztes drehbares *Nikolsches* Prisma erreicht wird. Die Handhabung dieser Apparate erfolgt nun derart, daß man das *Nikolsche* Prisma so lange dreht, bis in beiden beobachteten Feldern gleiche Helligkeit herrscht. Der Sinus des so ermittelten Drehungswinkels ergibt nun ein Maß der Lichtschwächung. Der *Königsche* Apparat, den ich zu meinen Untersuchungen benützen konnte, ist nun durch Anwendung zweier aufeinander senkrecht polarisierter Lichtbündel derart eingerichtet, daß die Absorptionsgröße nicht dem Sinus, sondern dem Tangens des Drehungswinkels des *Nikols* proportional ist; weiter ist auch die Einrichtung getroffen, daß nicht einfach eine 1 cm dicke Schichte des absorbierenden Körpers in den Strahlengang eingeschaltet, sondern daß ein Trog mit *Schulz*schen Körpern vorgeschaltet wird, eine Maßnahme, welche manche Vorteile mit sich bringt. Die Untersuchungen wurden nun derart angestellt, daß die absorbierende Flüssigkeit in den Trog mit *Schulz*schen Würfeln eingefüllt wurde und nun dreimal vier Ablesungen gemacht wurden. Die abgelesenen Zahlen wurden nun nach der *Gauß*schen Methode der kleinsten Quadrate ausgeglichen, und eine einfache Rechnung ergab den Extinktionskoeffizienten des eingestellten, herausgeblendeten Spektralbereiches. Ich möchte nur erwähnen, daß umfangreiche Vorversuche und Kontrollbeobachtungen nötig waren, um eine genaue Justierung des Apparates zu erreichen.

Ausgerüstet mit diesen Hilfsmitteln ist es nun möglich für jeden Spektralbereich rasch und sicher den Extinktionskoeffizienten zu bestimmen. Ich will Ihnen nun an der Hand zweier schematischer Diagramme, die, — etwas modifiziert — einer Arbeit *Dresers*<sup>11)</sup> entnommen sind, zeigen, wie die so gewonnenen Extinktionskoeffizienten ausgewertet werden können. (Abb. 1). Auf der Abszisse sind die Wellenlängen, auf

der Ordinate die Extinktionskoeffizienten aufgetragen. Das eine Schaubild zeigt uns das Absorptionsverhalten einer O-Hb-, das andere das einer CO-Hb-Lösung. Sie erkennen auf den ersten Blick, daß beide Kurven beiläufig bei den Wellenlängen 575 und 538 zwei Gipfel aufweisen, zwischen denen ein Tal der Kurve gelegen ist. Sie erkennen auch weiter, daß beim O-Hb die Einsenkung zwischen beiden Gipfelpunkten viel tiefer ist, das bedeutet in anderen Worten, daß in diesem Spektralbereiche auch mehr Licht, und zwar mehr gelbes Licht hindurchgelassen wird, als dies beim CO-Hb der Fall ist. Daraus erklärt es sich auch, daß eine O-Hb-Lösung einen deutlichen Stich ins Gelbe aufweist, während ja eine CO-Hb-Lösung einen mehr rosaroten Farbenton zeigt. Nun haben insbesondere die schon früher erwähnten Autoren nach-

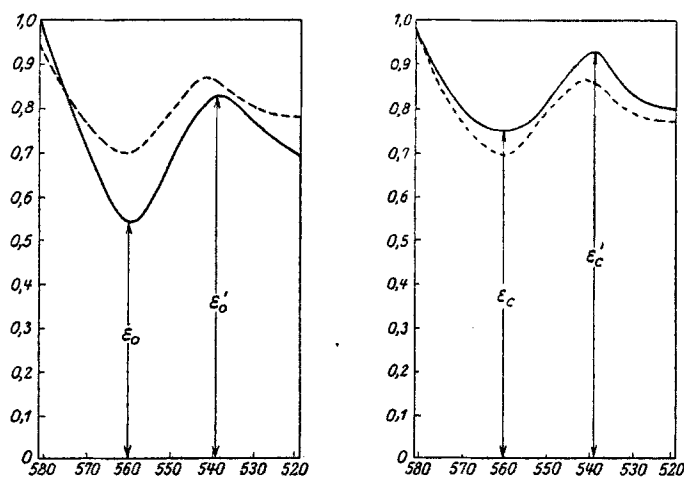


Abb. 1.

gewiesen, daß die Form dieser Kurve der Extinktionskoeffizienten ohne Rücksicht auf die vorhandene Konzentration streng spezifisch für jeden absorbierenden Körper, mithin auch streng spezifisch für reines O-Hb und CO-Hb ist. Da es natürlich nicht angängig ist, bei jeder Untersuchung die Extinktionskoeffizienten aller Spektralbereiche zu messen, so beschränkt man sich darauf, zwei möglichst differente Werte herauszugreifen; am zweckmäßigsten wählt man z. B. bei O-Hb und CO-Hb den Spektralbereich zwischen den beiden Absorptionsstreifen entsprechend den um 560 gelegenen Wellenlängen und die Stelle der stärksten Verdunklung im zweiten Streifen etwa bei den Wellenlängen um 538 herum. Der Quotient dieser Extinktionskoeffizienten stellt eine Konstante dar, die für jeden absorbierenden Körper spezifisch ist. Er beträgt z. B. für O-Hb 1,576 und CO-Hb etwas weniger, nämlich 1,095. Nun ist dieser Quotient auch noch für viele andere Hb-Derivate be-

stimmt worden, so daß es nun möglich ist, falls nur *ein* Hb-Derivat und nicht eine Mischung mehrerer Blutfarbstoffabkömmlinge vorliegt, auf diese Art in qualitativer Hinsicht eine Entscheidung zu treffen.

Man kann aber die durch Messung gefundenen Extinktionskoeffizienten noch zu einer anderen Darstellungsart eines Absorptionsspektrums verwerten. Konstruiert man sich nämlich nach *Weigert*<sup>16)</sup> ein gebogenes Koordinatennetz, und berücksichtigt man dadurch den Umstand, daß der Lichteindruck, den man von einer Stelle eines Spektrums erhält, außer von der Transparenz des absorbierenden Körpers

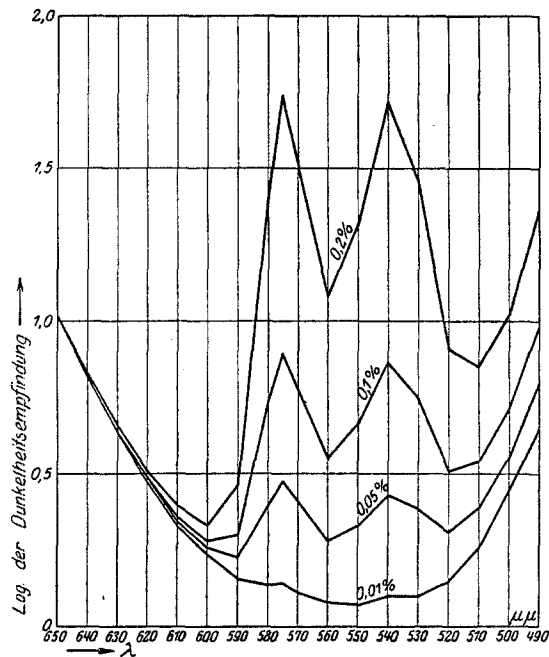


Abb. 2.

auch noch von der ausgesandten Energie der verwendeten Lichtquelle und der physiologischen Farbenempfindlichkeit des Auges abhängig ist, und trägt nun in dieses Netz die absoluten Werte der Extinktionskoeffizienten ein, so erhält man eine Kurve, die in objektiv-richtiger Weise die Verdunklungen so wiedergibt, wie sie ein normales Auge empfinden würde; deshalb nennt man auch ein so dargestelltes Spektrum ein „Empfindungsspektrum“. Als Beispiel einer solchen Kurve sehen Sie auf Tafel II das „Empfindungsspektrum“ des Oxyhämoglobin bei verschiedenen Konzentrationen abgebildet. Auf der Abszisse sind wieder die Wellenlängen aufgetragen und auf der Ordinate, als ein Maßstab der Verdunklung, der Logarithmus der Dunkelheitsempfindung; als

relative Einheit der Lichtempfindung ist ein helles Gelb entsprechend der Wellenlänge  $550 \mu\mu$  gewählt worden. Die Einteilung der Ordinate wurde deshalb logarithmisch angeordnet, um die auftretenden großen Werte bequem vergleichen zu können. Es bedeutet also z. B. das Heranreichen eines Kurvenpunktes bis zur Ordinatenhöhe „1“, „2“ oder „3“ so viel, daß an dieser durch den Punkt eindeutig bestimmten Stelle des Spektrums eine Verdunklung empfunden wird, die 10-, 100- oder 1000 mal so stark ist, wie im hellsten Gelb eines gewöhnlichen Spektrums unter sonst gleichen Umständen. Wie Sie nun aufs deutlichste erkennen, zeigt das „Empfindungsspektrum“ des O-Hb eine Verdunklung im roten und blauviolettten Anteile und zwei scharfe Bänder entsprechend den zwei steilen Gipfeln der Kurve; Sie sehen auch weiter, daß bei abnehmender Konzentration die Absorptionsbänder schließlich verschwinden. M. H.! Sie werden verwundert fragen, wozu dieser komplizierte Umweg? Ein Blick durch ein gewöhnliches Spektroskop zeigt doch diese Verhältnisse hinreichend deutlich. Daß aber die Dinge doch nicht so einfach liegen, will ich Ihnen gleich darlegen. Das menschliche Auge vermag nämlich auf Grund physiologischer Gesetze — ich erinnere nur an das psychophysiologische Gesetz von *Fechner* und an die Erscheinungen des Simultankontrastes — sich ändernde Lichtintensitäten nur bis zu einem gewissen Grade zu erkennen und richtig einzuschätzen. Dadurch ist die Möglichkeit einer richtigen Beurteilung von Intensitätsunterschieden erschwert; es gibt allerdings mancherlei Verfahren, die das Beobachtungsvermögen erweitern; so hat z. B. *Ziemke* gezeigt, wie durch Vorschalten eines blauen Glases die Absorptionsstreifen im violetten Ende sichtbar gemacht werden können. Sind aber die vorhandenen Intensitäten an sich gering, oder treten stärkere Schwankungen auf, so vermag weder das Auge des besten Beobachters noch auch die photographische Platte, die letzten Endes wieder mit dem Auge betrachtet wird, einen völlig richtigen Aufschluß zu geben. Wirklich richtig und auch viel besser sieht — wenn ich mich so ausdrücken darf — das „mathematisch-analytische Auge“. Aus dem geschilderten Verhalten erklärt es sich auch, daß es kaum zwei Darstellungen eines Spektrums gibt, die wirklich identisch wären. Deshalb habe ich auch vor, auf diesem Wege zu einer exakten Auswertung der verschiedenen Blutspektren zu kommen.

Nach dieser Abschweifung auf dieses gewiß sehr interessante Gebiet will ich mich einer weiteren Aufgabe zuwenden; handelt es sich nämlich darum, in einem Gemische mehrerer Hb-Derivate ihr prozentuales Mischungsverhältnis zu bestimmen, so führen folgende Überlegungen zum Ziele: Nehmen wir als den einfachsten und praktisch wichtigsten Fall an, es handle sich um eine Mischung von O-Hb und CO-Hb, so ergibt sich ohne weiteres, daß die Kurve der Extinktionskoeffizienten

dieses Gemisches eine mittlere Lage im Vergleiche zu den Kurven des reinen O-Hb und CO-Hb einnehmen wird. Wie Sie sehen, habe ich nun in beide Diagramme (Abb. 1) eine solche Kurve gestrichelt eingezeichnet. Bestimmt man nun in einem solchen Falle den Quotienten der Extinktionskoeffizienten in den zwei früher erwähnten Spektralbereichen, so wird der Wert dieses Quotienten zwischen den Zahlen 1,576 und 1,095 gelegen sein. Es ist nun auf rechnerische Weise möglich, aus diesem Quotienten die prozentuale Menge der in der Lösung vorhandenen Hb-Derivate festzustellen. *Hüfner*<sup>12)</sup> hat nun Tabellen angegeben, die diese Rechenoperation vereinfachen; ich habe mir nun für meine Zwecke unter Verwendung und Kontrolle der *Hüfner*-schen Zahlen auf Millimeterpapier eine Kurventafel angelegt, die es gestattet, mit einem Blicke das prozentuale Mengenverhältnis abzulesen. In prinzipiell gleicher Weise ist es nun auch möglich, beim Vorhandensein anderer Blutfarbstoffabkömmlinge, wie z. B. bei Met.-Hb, red.-Hb, Hämatin u. a. ihr prozentuales Mischungsverhältnis festzustellen. Ich habe mir nun im besonderen ein Verfahren zurechtgelegt, um gleichzeitig anwesendes O-Hb, red.-Hb und Met.-Hb quantitativ nachzuweisen. Ohne auf alle Einzelheiten eingehen zu wollen, möchte ich nur mitteilen, daß ich im wesentlichen bei dieser Methode ähnlich verfähre wie der Mathematiker und zunächst immer eine der unbekanntenen Größen auszuschalten trachte.

Mit Hilfe der bis jetzt geschilderten Methode ist es zunächst nur möglich, das prozentuale Mischungsverhältnis festzustellen, was ja für die meisten Fälle der Praxis völlig ausreicht. Die spektrophotometrische Methode gestattet aber auch die absolute Menge eines lichtabsorbierenden Körpers in einer Lösung zu bestimmen. Es besteht nämlich, wie auch wiederum hauptsächlich *Vierordt* und *Hüfner* gezeigt haben, ein sehr einfacher Zusammenhang zwischen dem Werte des Extinktionskoeffizienten und der Konzentration der absorbierenden Lösung. Für jeden bestimmten Spektralbereich besteht nämlich die Beziehung, daß die Konzentration ( $c$ ) gebrochen durch den Extinktionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) eine Konstante darstellt, die die Absorptionskonstante ( $A$ ) genannt wird; wir können also schreiben  $\frac{c}{\epsilon} = A$ , wobei z. B. für O-Hb im Spektralbereiche ( $\lambda = 538$ )  $A = 0,001312$  ist. Aus dieser einfachen Gleichung läßt sich dann jederzeit die Konzentration und mithin die wirklich vorhandene Menge des gesuchten Stoffes berechnen. Ich habe Ihnen nun die Methodik ausführlich geschildert und möchte nur noch hinzufügen, daß, wie ich mich durch zahlreiche Kontrolluntersuchungen überzeugen konnte, die Resultate bis auf 2% genau sind. In dieser Hinsicht steht die Spektrophotometrie den gewichts- und gasanalytischen Methoden sicher nach, sie bringt aber den speziell für die Praxis nicht zu unterschätzenden Vorteil mit sich, daß es spektrophotometrisch sehr rasch und

einfach gelingt, mit ganz geringen Mengen des Untersuchungsmateriales, man braucht weniger als einen Kubikzentimeter Blutes, ausreichend genaue Resultate zu erzielen.

M. H.! Es gibt nun in der gerichtlichen Medizin eine Reihe von Fragen, welche dahin abzielen, festzustellen, welche Blutstoffderivate vorliegen, und in welchen Mengenverhältnissen dieselben im Blute Lebender oder im Leichenblute vorhanden sind. Das ganze umfangreiche Kapitel der CO-Vergiftung, die Lehre von den Blutgiften im allgemeinen und im besonderen die der Met.-Hb bildenden Gifte, die Frage nach den Veränderungen des Blutfarbstoffes in der Leiche sowie die der Met.-Hb-Bildung bei manchen pathologischen Prozessen enthalten Probleme, zu deren Lösung wir sicherlich durch exakte quantitative Untersuchungen mit Hilfe der spektrophotometrischen Methode beitragen können. Auch bei dem Studium der Hämolyse des Leichenblutes, der Veränderungen des Herzblutes beim Ertrinkungstode und beim quantitativen Blutnachweis an Blutspuren wird man dieses Verfahren mit Vorteil heranziehen können. Ich erlaube mir nun schon heute über die Resultate meiner bisherigen diesbezüglichen Untersuchungen zu berichten und füge noch hinzu, daß diese spektrophotometrischen Untersuchungen im Grazer Institut für gerichtliche Medizin weiterhin fortgesetzt werden. Ich habe nun zwei Fälle von tödlichen CO-Vergiftungen untersucht, es handelte sich beidemal um eine Leuchtgasvergiftung. Das Blut wurde unter einer Sperrflüssigkeit (Xylol) der Leiche entnommen, mit 0,1 proz. Natr. Bicarb. Lösung etwa 100fach verdünnt und in den Trog vor dem Spektrophotometer gebracht. In dem einen Falle konnte ich durch wiederholte Messungen, die beobachteten Werte schwankten nur ganz wenig, im Blute des Sichelblutleiters 70% CO-Hb nachweisen. Der zweite Fall wurde etwas eingehender untersucht, und Blut aus verschiedenen Körperstellen einer spektralquantitativen Analyse unterzogen. Im Blute des Sichelblutleiters fand ich 76,8% CO-Hb, in der linken Schenkelschlagader 56%, in der rechten 63,6% und im Blute des rechten Herzens 50,4% CO-Hb. Die absoluten Größen dieser Werte stimmen gut mit den schon von anderen Autoren gefundenen Zahlen überein; ich kann es aber nicht unerwähnt lassen, daß, was die Verteilung des CO-Gehaltes im Leichenblute anlangt, ein Widerspruch zwischen den von mir beobachteten Werten und den von *Wachholz*<sup>13)</sup> gemachten Angaben besteht. Während nämlich *Wachholz*, der sich der *Fodorschen* Palladiumchlorürmethode bediente, den größten Prozentgehalt an CO im Blute der Cruralvenen, schon weniger CO im Herzblute und am wenigsten in den Blutleitern der Schädelhöhle fand, konnte ich in dem einen genauer untersuchten Falle gerade ein gegenteiliges Verhalten der CO-Hb-Verteilung feststellen. Es liegt mir ferne, aus dieser *einen* Beobachtung weitgehende Schlüsse abzuleiten,



erst eine größere Reihe genau durchgeführter Untersuchungen wird es ermöglichen, daß wir uns über die Verteilung des CO im Leichenblute eine der Wirklichkeit entsprechende Vorstellung bilden können. In beiden vorher erwähnten Fällen wurde auch die *Kunkelsche* Tanninprobe sowie die *Wachholz-Sieradzki'sche* Probe angestellt, die natürlich bei dem verhältnismäßig großen CO-Gehalte völlig einwandfrei positiv ausfielen. Bemerken möchte ich dazu, daß in dem einem Falle, bei dem spektrophotometrisch 76,8% CO-Hb gefunden wurden, die Gerinnsel bei der *Wachholz'schen* Probe etwas heller rot aussahen als in dem anderen Falle, bei dem nur 70% CO nachweisbar waren. Zu einem Vergleiche der Empfindlichkeitsgrenze der *Wachholz'schen* Fällungsreaktion und der spektrophotometrischen Methode habe ich nun mehrere Versuchsreihen angestellt, die in dieser Hinsicht eine Ergänzung zu den ausgedehnten Untersuchungen *Raschkes*<sup>14)</sup> bilden, die dieser Autor unter der Leitung *Reuters* über die *Wachholz-Sieradzki'sche* Probe angestellt hat. Ich verfuhr dabei derart, daß ich mir mit entsprechend verdünntem, mit CO gesättigtem Blute und gewöhnlichem Leichenblute Mischungen von fallendem Prozentgehalte herstellte. Alle diese Lösungen habe ich dann quantitativ spektroskopisch untersucht und erhielt Werte, die nur um  $1-1\frac{1}{2}\%$  von den tatsächlich vorhandenen Mischungsverhältnissen abwichen; die Fehler blieben also innerhalb einer Grenze, mit der ich billiger Weise rechnen mußte. Um ganz sicher zu gehen und um jedes subjektive Moment auszuschalten, ließ ich mir durch meinen Assistentenkollegen Dr. *Glatz* die Mischungen der O-Hb- und CO-Hb-Lösungen herstellen. Mir war also die Konzentration und das prozentuale Mischungsverhältnis der zu analysierenden Proben unbekannt. Bei allen, etwa 20 derartigen Versuchen gelangte ich zu den richtigen Zahlen, die gemachten Fehler erreichten nicht einmal 2% der wirklichen Werte. Mit denselben Blutlösungen wurde dann genau entsprechend der Originalvorschrift die Fällungsprobe nach *Wachholz* angestellt. Ich erhielt dadurch eine Reihe von Gerinnsel, deren Farbe von einem hellen Karmoisinrot kontinuierlich in ein etwas grünliches Grau übergang. Bis zu einem CO-Hb-Gehalte von etwa 30% herab war noch ein Vorherrschen eines rötlichen Farbentones zu bemerken. Bei einem niedrigeren Prozentgehalte z. B. bei 20, 10, 5 und 2% CO-Hb entstanden nunmehr graugefärbte Gerinnsel mit einem immer schwächer werdenden Stich ins Rötliche. Selbst in dem vorletzten Röhrchen, das 2% CO-Hb enthielt, war noch gegenüber dem letzten Röhrchen, in dem sich kein CO-Hb befand, ein geringer Unterschied in der Nuance der Färbung zu bemerken. M. H.! Es ist nach dieser Beobachtung sicherlich richtig, daß selbst die geringe Menge von 2% CO-Hb bei der *Wachholz'schen* Probe eine kleine Differenz in der Färbung ergibt. Aber wir dürfen hierbei nicht vergessen, daß es

sich um einen Laboratoriumsversuch handelt, bei dem uns die verwendeten Mengen von vorneherein bekannt sind. In der Praxis würde ich mich nicht getrauen, aus der geringen Differenz der Nuance zweier fast graugefärbter Gerinnsel die Diagnose auf das Vorhandensein von CO-Hb zu stellen. Auch bezüglich einer quantitativen Abschätzung würde ich es nie wagen, ein Urteil zu fällen, selbst auch dann nicht, wenn mir eine Vergleichsreihe, die nach den früher gemachten Angaben angefertigt ist, zur Verfügung stünde. Denn ich konnte die Beobachtung machen, daß solche Vergleichsreihen, die mit dem Blute verschiedener Leichen hergestellt wurden, was die Färbung der Gerinnsel anlangt, durchaus inkommensurable Werte ergaben. Da mit peinlicher Genauigkeit immer in gleicher Art und Weise vorgegangen wurde, und die gleichen erprobten Reagenzien Verwendung fanden, muß der Grund des verschiedenen Ausfallens der Färbung in der Zusammensetzung des Leichenblutes gelegen sein. Ich möchte daher vorsichtiger Weise den Schluß ziehen, daß es erst bei einem Prozentgehalte von etwa 5–10% CO-Hb möglich ist, mit voller Sicherheit durch die Differenz der Gerinnsel-farbe bei der Anwendung der *Wachholz-Sieradzki*-schen Probe die Diagnose auf Anwesenheit von CO-Hb zu stellen. Meine Untersuchungen bilden daher auch in dieser Hinsicht eine weitere Bestätigung der Resultate *Raschkes*. Die *Kunkelsche* Tanninprobe, die in ähnlicher Weise in Reihenversuchen ausgewertet wurde, zeigt, was die praktische Verwertung ihrer Empfindlichkeitsgrenze anlangt, ein ähnliches Verhalten. Nur möchte ich bei der *Kunkelschen* Probe erst die bei einem Gehalte von 10–20% CO auftretende Farbdifferenz für sicher beweisend halten. Bei der spektrophotometrischen Methode ist es aber nun möglich, qualitativ und quantitativ CO-Hb bis zu einem Gehalte von 2% sicher nachzuweisen. Der prinzipielle Unterschied zwischen der spektrophotometrischen Untersuchungsart und den Fällungsreaktionen ist, was die Empfindlichkeitsgrenze anlangt, darin gelegen, daß man bei ersterer zahlenmäßige Werte erhält, an denen nicht gerüttelt werden kann, während man bei der Beurteilung des Ausfalles von Fällungsreaktionen auf die Abschätzung von Farbnuancen angewiesen ist, welche Abschätzung ja immer bis zu einem gewissen Grade subjektiv ausfällt. Nach dem Gesagten kann ich diese Methode nur wärmstens für diese Fälle empfehlen, wo es sich darum handelt, auch geringe Mengen CO im Blute qualitativ und quantitativ nachzuweisen. So beabsichtige ich auch mit dieser Methode an Patienten, die eine CO-Vergiftung überlebt haben, den Versuch zu machen, CO-Hb nachzuweisen. Leider war mir bis jetzt ein geeigneter Fall nicht zugänglich. Derartige Untersuchungen wären besonders wichtig, da ja bis heute noch nicht entschieden ist, in welcher Zeit das CO wieder aus dem Blute verschwindet. Es besteht ja kein Zweifel, daß die größte Menge des

eingatmeten CO verhältnismäßig rasch, namentlich bei reichlicher Sauerstoffzufuhr, den Kreislauf verläßt; aber es ist immerhin noch die Möglichkeit vorhanden, das geringe CO-Mengen zurückgehalten werden, welche unter anderen auch für die Ursache der Spätfolgen einer CO-Vergiftung angesehen werden können. Bekanntlich sind solche geringe CO-Mengen zum Teile nur mit der *Wachholz*schen Probe nachgewiesen worden<sup>15</sup>). Da nun von verschiedener Seite die Stichhaltigkeit dieser Probe bezweifelt wurde, so wird es vielleicht gelingen, auch in dieser Hinsicht durch die gleichzeitige Anwendung der spektrophotometrischen Methode eine endgültige Entscheidung über den Wert der modifizierten Tanninprobe zu treffen.

Was die Untersuchung auf Met.-Hb im Blute anlangt, so konnte ich abgesehen von einer Reihe Laboratoriumsversuchen diese Methode des Met.-Hb-Nachweises erst einmal praktisch erproben. Es handelte sich dabei um ein an Enteritis verstorbenes Kind; Herr Professor *Reuter*, der die Obduktion ausführte, glaubte eine etwas von der Norm abweichende, mehr bräunliche Blutfarbe zu bemerken. Bei der gewöhnlichen spektroskopischen Untersuchung war Met.-Hb nicht nachzuweisen. Bei der spektrophotometrischen Untersuchung ergab sich aber bei der Berechnung des Quotienten der Extinktionskoeffizienten, daß Met.-Hb in einer beiläufigen Menge von 5% des Gesamtblutfarbstoffes vorhanden war. Ich bin fest davon überzeugt, daß man in manchem frischem Leichenblute bei einer Reihe von Vergiftungen und namentlich auch bei manchen infektiösen und chronischen Erkrankungen Met.-Hb wird nachweisen können. Vorbedingung für alle derartige Untersuchungen ist es aber, daß zuerst genaue Beobachtungen über die spontane Met.-Hb-Bildung im Kadaver angestellt werden, damit nicht Fehler dadurch geschaffen werden, daß etwa normal vorhandenes, bei der Leichenzersetzung entstandenes Met.-Hb mit pathologisch vorhandenem verwechselt werde. Bei diesen Untersuchungen könnte auch gleichzeitig noch manches über die Sauerstoffwanderung und Sauerstoffzehrung in der Leiche ermittelt werden. Diesbezügliche Untersuchungen und Versuche werden demalen angestellt; sie sind aber noch nicht so weit gediehen, daß ich schon heute über sichere Ergebnisse berichten könnte.

Ich hoffe nun, M. H.!, daß Sie aus meinen Ausführungen ersehen haben, inwieweit die spektrophotometrische Blutuntersuchung dazu dienen kann, bei Problemen der gerichtlichen Medizin Anwendung zu finden. Wenn ich nochmals zusammenfassend wiederhole, so ist diese Methode in der Hand eines geübten Untersuchers vorzüglich dazu geeignet, rasch und sicher mit praktisch hinreichender Genauigkeit über das qualitative und quantitative Verhalten der Blutfarbstoffderivate, so namentlich was das CO-Hb und Met.-Hb anlangt, Aufschluß zu geben.

Der einzige Nachteil der Methode ist es, daß sie einen teureren Apparat erfordert, ein Umstand, der nicht allzuschwer wiegend ist, da doch sicherlich in jeder Universitätsstadt ein Spektrophotometer zu finden sein wird.“

---

#### Literatur.

<sup>1)</sup> Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie und quantitativer Analyse. Laupp, Tübingen 1873. — <sup>2)</sup> Hüfner, Journ. f. prakt. Chemie **28**. 1883; ebenda **30**. 1884; Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1899; Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **48**. — <sup>3)</sup> Ziemke, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1901 Suppl. — <sup>4)</sup> Lewin, Die Kohlenoxydvergiftung. Berlin 1920. — <sup>5)</sup> Reuter, F., Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 3. Folge **31**, 2. — <sup>6)</sup> Bunsen, Poggendorf Annal. **101**. 1857. — <sup>7)</sup> Hüfner, Zeitschr. f. physikal. Chem. **3**. 1889. — <sup>8)</sup> Glan, Wied. Annal. **1**. 1877. — <sup>9)</sup> König, Wied. Annal. **53**. 1894. — <sup>10)</sup> Martens, Annal. d. Physik, 4. Folge **12**. — <sup>11)</sup> Dreser, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **29**. — <sup>12)</sup> Hüfner, Engelmanns Arch. f. Physiol. 1900. — <sup>13)</sup> Wachholz, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 3. Folge **47**. — <sup>14)</sup> Raschkes, Beitr. z. gerichtl. Med. **2**, herausg. von Kolisko, Wien-Leipzig. — <sup>15)</sup> Wachholz, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 3. Folge **23**, 231. — <sup>16)</sup> Weigert, F., Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. **49**. 1916.

Weitere wertvolle Angaben über die Spektrophotometrie der Blutfarbstoffe finden sich bei:

Butterfield, E. E., Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**. 1909 und **79**. 1912. — Hári, P., Biochem. Zeitschr. **82**. 1917 und **95**. 1919. — Ziemke, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. 3. Folge **22**.

---