

(Aus dem Universitätsinstitut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik Breslau.
Direktor: Prof. Dr. G. Buhtz.)

Experimentelle Untersuchungen zum Nachweis des Sulfhämoglobins.

1. Teil.

Von

Doz. Dr. habil. W. Specht und G. Schirm, Breslau.

Mit 1 Textabbildung.

Gemeinhin bietet der sichere pathologisch-anatomische Nachweis einer Schwefelwasserstoffvergiftung einige Schwierigkeiten; denn der anatomische Befund einer tödlichen Schwefelwasserstoffvergiftung ist nicht als charakteristisch zu bezeichnen. Als entsprechende Vergiftungshinweise werden rasches Auftreten der Leichenfäulnis, grünliche Verfärbung der Haut und der inneren Organe sowie allenthalben Zeichen der Erstickung beobachtet. Handelt es sich um die Untersuchung *einer noch ganz frischen Leiche*, so kann die spektroskopische Untersuchung des Blutes auf Sulfhämoglobin¹ von diagnostischem Wert für die Beurteilung des Falles sein.

Die Stellung der Diagnose ist jedoch unter weitgehender Berücksichtigung der anamnestischen Daten dann möglich, wenn sich Anhaltspunkte für einen natürlichen Tod oder für einen Tod durch irgendeine gewaltsame mechanische Ursache nicht finden lassen.

Da indessen die Bestätigung einer Schwefelwasserstoffvergiftung durch die spektroskopische Untersuchung des Blutfarbstoffes selbst für solche Fälle, bei denen es sich um eine ganz frische Intoxikation handelt, nur selten gelingt, sollten die Nachweismöglichkeiten des Sulfhämoglobins im Rahmen eines chemisch-toxikologischen Erfordernisses in Modellversuchen überprüft werden.

Theoretischer Teil.

1. Das von F. Haurowitz zuerst krystallisiert hergestellte Sulfhämoglobin weist in der Absorptionskurve bei 617 $\mu\mu$ ein scharf ausgeprägtes Maximum auf. Während die restlose Umwandlung der von Haurowitz zur Darstellung des Sulfhämoglobins benutzten 20proz. Lösung von reinem Pferdehämoglobin erst nach einer Woche vollzogen war, geht die Sulfhämoglobinbildung in verdünnter Blutfarbstofflösung schneller

¹ Beim Sulfhämoglobin handelt es sich ebenso wie bei dem Kohlenoxydhämoglobin um eine Verbindung des Hämoglobins mit dem jeweiligen Giftstoff.

vor sich. Bei Gegenwart von Sauerstoff entstehen unter Zugrundelegung der Ausführungen *Heilmeyers* leicht kleine Mengen Methämoglobin, die die Vorschlagbande des Sulfhämoglobins im Rot gegen das rote Ende des Spektrums hin bis zu $625 \mu\mu$ verschieben.

Die in den Modellversuchen durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in Blutverdünnungen erhaltene Sulfhämoglobinbande wurde bei der spektroskopischen Prüfung mit bemerkenswerter Regelmäßigkeit in ihrem Maximum, gemittelt aus $622,8$ — $622,0 \mu\mu$ bei $622,4 \mu\mu$ festgestellt. Der Grad der je nach der Schichtdicke schmutziggrün bis schmutzigbraun erscheinenden Verfärbung der Blutverdünnungen kann als Anhaltspunkt für die fortschreitende Sulfhämoglobinbildung angesehen werden. Je nach der Menge des eingeleiteten Schwefelwasserstoffs tritt die Sulfhämoglobinbande in Übereinstimmung mit den Angaben im Schrifttum beschleunigt oder verzögert und in varianter Stärke auf.

Zur Sulfhämoglobinbande wurden vorübergehend noch die Banden des Oxyhämoglobins beobachtet, dann trat alsbald Reduktion zum Hämoglobin ein. In wenigen Versuchen fand nach längerer Einwirkung des Luftsauerstoffes unbeschadet der Erkennung der Sulfhämoglobinbande eine Oxydation des Hämoglobins statt. Kurzfristige, auf die Rückbildung des Oxyhämoglobins beschränkt bleibende Einleitung von Sauerstoff in die Sulfhämoglobin enthaltende Blutverdünnung beeinflusste während der ersten 5 Beobachtungsstunden im Spektroskop die Lage der Vorschlagbande ($623 \mu\mu$) nur unwesentlich.

Heilmeyer weist darauf hin, daß das Sulfhämoglobinspektrum sowohl bei saurer als auch alkalischer Reaktion unverändert bleibt, u. a. soll auch durch Zusatz von Natriumhydrosulfit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) keine Änderung des Spektrums bewirkt werden.

In Bestätigung dieser Angaben, aber über deren Inhalt hinaus, wurde bei Zusatz von Natriumhydrosulfit zu neutral reagierendem, Sulfhämoglobin-haltigem Blut die anfänglich schwach, oft nur angedeutet und verwaschen in Erscheinung tretende Bande im Rot bei erwartungsgemäß alsbaldiger Reduktion des Oxyhämoglobins mit schärferer Begrenzung sinnfällig verstärkt. Die spektroskopische Ausmessung der Bande konnte nunmehr exakter erfolgen ($\lambda = 618,6$ bis $622,7 \mu\mu$).

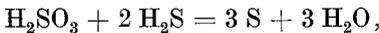
Nach Ablauf von 20 Stunden war indessen in den entsprechenden Versuchsansätzen die Sulfhämoglobinbande nicht mehr nachweisbar. Es fand sich vielmehr eine verbreiterte, unscharf begrenzte Absorptionsbande bei $630 \mu\mu$ bzw. nahe $630 \mu\mu$, die unter Berücksichtigung des durch Natriumhydrosulfit bedingten sauren Milieus als dem Methämoglobin zugehörig anzusprechen ist; denn im Verlauf der Absorptionskurve einer Methämoglobinlösung, die bei $p_{\text{H}} = 5,0$ — $6,0$ aufgenommen

wurde, fand sich bei 630 $\mu\mu$ ein allerdings wenig prägnant ausgebildetes Maximum.

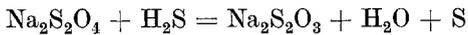
In Kontrollversuchen wurde bestätigt, daß mit Natriumhydrosulfit versetzte Sulfhämoglobin-freie Blutverdünnung nach 20—24 Stunden spektroskopisch die Vorschlagbande des Methämoglobins bei 630 bis 635 $\mu\mu$ aufwies.

Bei der Reduktion des Oxyhämoglobins mittels gelbem Schwefelammon (alkalische Reaktion) wurde nach Ablauf von 24 Stunden die Sulfhämoglobinbande bei 618,8 $\mu\mu$ erhalten. Das Spektrum konnte infolge Abscheidung kolloiden Schwefels nicht weiter verfolgt werden.

War bei der Herstellung der Sulfhämoglobin-haltigen Blutverdünnungen mit einem Überschuß an Schwefelwasserstoff gearbeitet worden, trat bei Zugabe von Natriumhydrosulfit nach kurzer Zeit SO_2 -Geruch und nach

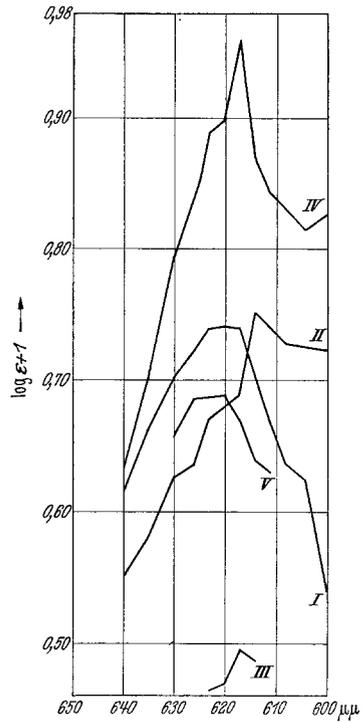


möglichenfalls aber auch aus direkter Reaktion zwischen Natriumhydrosulfit und Schwefelwasserstoff nach



Abscheidung von Schwefel ein, wodurch die spektroskopischen und spektrophotometrischen Messungen erschwert, wenn nicht verhindert wurden.

2. Das Ergebnis der spektrophotometrischen Untersuchung in Modellversuchen hergestellter, Sulfhämoglobin enthaltender Blutverdünnungen ist aus den Kurvenbildern zu ersehen, in denen die Abhängigkeit der $\log \epsilon + 1$ -Werte der Versuchslösungen von den Wellenlängen in $\mu\mu$ dargestellt ist. In den Meßreihen wurde der Wellenlängenbereich erfaßt, in dem das charakteristische Absorptionsmaximum des Sulfhämoglobins liegt. In weitgehender Übereinstimmung mit den spektroskopischen Meßergebnissen wurde das Maximum der Sulfhämoglobinbande bei 620 $\mu\mu$ spektrophotometriert (Kurve I). In einem weiteren Versuch, bei dem mit Schwefelwasserstoffüberschuß gearbeitet worden war (Kurve IV), gelang es, ein scharfes Maximum der Absorption für die Sulfhämoglobin-haltige Blutverdünnung bei 617 $\mu\mu$ zu erhalten, ein Wert, der dem für kristallisiertes Sulfhämoglobin ermittelten gleicht.



Absorptionskurven des Sulfhämoglobins.

Der Unterschied in der sich aus den Kurven I und IV ergebenden Lage und Prägnanz der Absorptionsmaxima dürfte auf Methämoglobinbeeinflussung des Sulfhämoglobinspektrums zurückzuführen sein.

Wie unter 1. bereits dargelegt, verhinderte bei Anwesenheit überschüssigen Schwefelwasserstoffs durch Natriumhydrosulfit bedingte Schwefelabscheidung in der Blutverdünnung die Durchführung der Messungen. Sorgte man für eine alsbaldige Eliminierung des Schwefels auf mechanischem Wege, so ergab die Absorptionskurve ein für die Sulfhämoglobinbande zwar ausgeprägtes, aber nach $614 \mu\mu$ verlagertes Maximum (Kurve II). Diese Verlagerung berechtigt zu der Annahme, daß infolge Anwesenheit nicht erfaßten kolloiden Schwefels die optischen Verhältnisse in der Versuchsflüssigkeit zunächst noch unkontrollierbar möglichenfalls durch Streulicht und Beugungserscheinungen an kolloiden Schwefelpartikeln verändert waren. Denn wählte man nunmehr die Versuchsbedingungen derart, daß sich die Schwefelabscheidung innerhalb 48 Stunden quantitativ vollzogen hatte, wurde das Maximum der Sulfhämoglobinbande in Übereinstimmung mit dem Kurvenverlauf zu IV bei $617 \mu\mu$ (Kurve III) erhalten.

Wurde die Sulfhämoglobin-haltige Blutverdünnung, deren Absorptionsmaximum bei $617 \mu\mu$ spektrophotometriert worden war (Kurve IV), erst nach Ablauf von 24 Stunden mit Natriumhydrosulfit versetzt, so schwächte sich das Maximum ab und lag geringgradig rotwärts verschoben in Übereinstimmung mit Kurve I bei $620 \mu\mu$ (Kurve V).

Diese Tatsache würde im Widerspruch zu *Heilmeyer* stehen, nach dessen Darlegungen keine Änderung des Spektrums durch Natriumhydrosulfit eintritt. Es ist dort aber leider nicht gesagt, ob sich diese Messungen über längere Zeiträume (24 Stunden und mehr) erstrecken oder ob diese Konstanz nur während kurzer Zeit vorhanden ist. Die die-seits beobachtete Verschiebung des Maximums nach Rot wäre unter Berücksichtigung der Zeitspanne bis zur Messung durch eventuelle Methämoglobinbildung zu deuten.

3. Nach den Angaben im Schrifttum (*Gadamer*) liefert die spektroskopische Prüfung auf Sulfhämoglobin nur dann ein sicheres Resultat, wenn der Tod während des längeren Einatmens von schwefelwasserstoffreicher Luft erfolgt ist und die Untersuchung erst einige Stunden nach dem Tode vorgenommen wird. Beim Tode nach Einatmen von verhältnismäßig schwach schwefelwasserstoffhaltiger Luft oder bei Blutuntersuchung unmittelbar nach dem Tode fällt die Probe negativ aus.

In einem der biologischen Versuche (Versuch 6) wurde nach Schwefelwasserstoffvergiftung eines Meerschweinchens die gewonnene Durchschnittsblutprobe zur Untersuchung dreifach unterteilt.

In der ersten Probe, die ohne weitere Behandlung spektroskopiert

wurde, war Sulfhämoglobin erst 48 Stunden nach dem Tode des Versuchstieres festzustellen.

Die zweite, mit Natriumhydrosulfit versetzte Blutprobe¹ ließ die Sulfhämoglobinbande um 24 Stunden früher und definierter bei 622,2 $\mu\mu$ erkennen, etwa an der Stelle des Spektrums, wo sie auch von *Balthazard* nachgewiesen wurde (624 $\mu\mu$).

Behandelte man die dritte Probe der Meerschweinchenblutverdünung mit Sauerstoff, so trat die Sulfhämoglobinbande während einer Beobachtungsdauer von 72 Stunden nicht in Erscheinung. Demgegenüber war die bereits nach 48 Stunden zu beobachtende Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin bemerkenswert. Möglichenfalls ist die Reduktionswirkung des Schwefelwasserstoffs, die anfänglich durch den Sauerstoff zurückgedrängt sein mochte, für die Hämoglobinbildung verantwortlich zu machen; denn es fällt auf, daß die in der dritten Probe nach 48 Stunden zu beobachtende Hämoglobinbildung zeitlich mit dem Auftreten des Sulfhämoglobins in der ersten Probe zusammenfällt.

In der aus einem weiteren Tierversuch (Versuch 9) stammenden, mit Natriumhydrosulfit vorbehandelten Durchschnittsblutprobe erkannte man bereits nach 6 Stunden eine Bande, angedeutet bei 620,6 $\mu\mu$. Im zeitlichen Ablauf der Reaktion wurde jedoch Inkonstanz der Lage dieser Absorptionsbande beobachtet. Unter Verbreiterung wanderte sie rotwärts (nach 8 Stunden bereits 628 $\mu\mu$) und wurde nach 32 Stunden bei 632,9 $\mu\mu$ gemessen. Die spektrophotometrische Absorptionsanalyse dieser Blutprobe ergab für die Lage des Maximums dieser Bande 630 $\mu\mu$. Somit zeigt die Blutprobe, die anfänglich einen Sulfhämoglobingehalt vermuten läßt, in diesem Versuchsstadium das Spektrum des Methämoglobins.

Demgegenüber blieb der Nachweis des Sulfhämoglobins in Durchschnittsblutproben, die aus zwei weiteren Schwefelwasserstoffvergiftungsversuchen (Versuche 7 und 8) stammten, auch nach Zusatz von Natriumhydrosulfit aus. Die in diesen Versuchen spektroskopisch nach 24 bzw. 48 Stunden auftretende Absorptionsbande im Rot ist dem Spektrum des Methämoglobins zuzuschreiben. Die Untersuchungen in dieser Richtung werden fortgesetzt.

Im Gegensatz zu den in den Modellversuchen erzielten, jeweils positiven Ergebnissen gelang der Sulfhämoglobinnachweis durch die spektroskopische Untersuchung des Blutfarbstoffes selbst bei frischen Intoxikationen nicht regelmäßig. Die Versuche haben aber erkennen lassen, daß durch Natriumhydrosulfitzusatz, also im sauren Milieu,

¹ In den aus den biologischen Versuchen erhaltenen Bluten trat mangels Schwefelwasserstoffüberschusses bei Zusatz von Natriumhydrosulfit keine Schwefelabscheidung ein.

in bisher noch nicht eindeutig erklärbarer Weise das Hervortreten der Sulfhämoglobinbande wesentlich beschleunigt zu werden scheint. Spekulativ könnte man daran denken, daß der Schwefelwasserstoff, der normalerweise vorwiegend zunächst die Reduktion des Oxyhämoglobins bewirken dürfte, durch die ungleich stärkere Reduktionskraft des Natriumhydrosulfits für die Reaktion mit dem Blutfarbstoff unter Sulfhämoglobinbildung freigestellt bleibt.

Zusammenfassung.

1. In Bestätigung der Angaben im Schrifttum wurde durch spektroskopische und spektrophotometrische Untersuchungen in der Absorptionskurve Sulfhämoglobin-haltigen Blutfarbstoffes teils ein scharfes Maximum bei $617 \mu\mu$, teils — bedingt durch Beimengung von Methämoglobin — ein weniger prägnant ausgebildetes Maximum im Bereich von $622 \mu\mu$ festgestellt.

2. In Sulfhämoglobin enthaltenden Blutproben, die sowohl aus Modell- als auch aus Tierversuchen stammten, wird nach den bisherigen Beobachtungen durch Zusatz von Natriumhydrosulfit einmal die Verzögerung im Auftreten der Sulfhämoglobinbande wesentlich abgekürzt (im biologischen Versuch) und zum anderen das Hervortreten der zunächst in der Regel nur angedeutet und unscharf festzustellenden Bande (im Modellversuch) derart verstärkt, daß eine auch spektroskopisch exakt durchführbare Ausmessung und Differenzierung gegen die Vorschlagbande des Methämoglobins erfolgen kann.

3. In zu untersuchenden Schwefelwasserstoff-Vergiftungsfällen empfiehlt es sich, neben der chemischen Prüfung der Atmosphäre am Unfallort auf Schwefelwasserstoff

a) ohne Verzögerung möglichst bereits vom Werkarzt eine größere Blutprobe zur spektroskopischen und spektrophotometrischen Untersuchung auf Sulfhämoglobin asservieren zu lassen,

b) diese Blutprobe zu unterteilen und

c) mit und ohne Zusatz von Natriumhydrosulfit hinsichtlich des Absorptionsverhaltens zu untersuchen.

Experimenteller Teil.

I. Spektroskopische Untersuchung mit Schwefelwasserstoff behandelten Blutes.

Zu den Untersuchungen wurde das Gitterspektroskop nach Löwe-Schumm mit Wellenlängentrommel benutzt.

Versuch 1. Blutproben, im Eisschrank während 2—4 Tagen aufbewahrt. Blutverdünnung: 1:10 (dest. Wasser). Spektroskopische Vorprüfung: Oxyhämoglobinspektrum. Einleiten von 15 ccm Schwefelwasserstoff. Reaktion: neutral. Schichtdicke der Versuchslösung: 1 cm.

Ergebnis.

Ableseung	Sulfhämoglobin	Oxyhämoglobin	Hämoglobin
Sofort	622,1 $\mu\mu$ (sehr schwach)	576,9 $\mu\mu$ 540,3 $\mu\mu$	—
Nach 1/2 Stunde . .	622,1 $\mu\mu$ (deutlich)	—	+
Nach 1 Stunde . . .	622,1 $\mu\mu$ (deutlich)	—	+

Nach Einleiten von Sauerstoff in die Versuchslösungen wird Oxyhämoglobin erwartungsgemäß zurückgebildet, während die Sulfhämoglobinbande unverändert bleibt.

Versuch 2. Blutproben, im Eisschrank während 3 Tagen aufbewahrt. Blutverdünnung: 1:10 (dest. Wasser). Einleiten von Schwefelwasserstoff bis die Sulfhämoglobinbande gerade schwach sichtbar wird. Dann Zugabe von etwa 0,1 g Natriumhydrosulfit. Reaktion: sauer gegen Lackmus. Schichtdicke der Versuchslösung: 1 cm.

Ergebnis.

Ableseung	Sulfhämoglobin	Oxyhämoglobin	Hämoglobin
Sofort	Angedeuteter Vorschlagschatten im Rot	576,9 $\mu\mu$ 540 $\mu\mu$	—
<i>Zugabe von Natriumhydrosulfit.</i>			
Nach 5 Minuten . .	622,3 $\mu\mu$ (deutlich)	—	+
Nach 24 Stunden . .	622,3 $\mu\mu$ (deutlich)	—	+

Versuch 3. Versuchsanordnung wie im Versuch 2. Verwendet wurde frisches Blut. Schichtdicke der Versuchslösung: 1 cm.

Ergebnis.

Ableseung	Sulfhämoglobin	Oxyhämoglobin	Hämoglobin
Sofort	622,3 $\mu\mu$ (sehr schwach)	575 $\mu\mu$ 544 $\mu\mu$	nachweisbar Kombinationspektr.
<i>Zugabe von Natriumhydrosulfit.</i>			
Nach 5 Minuten . .	622,7 $\mu\mu$	—	+
Nach 20 Minuten . .	622,7 $\mu\mu$	—	+
Nach 1 Stunde . . .	622,7 $\mu\mu$ (deutlich)	—	nachweisbar Kombinationspektr.
Nach 4 Stunden . .	621,5 $\mu\mu$ (deutlich)	576,9 $\mu\mu$ 541 $\mu\mu$	—
Nach 12 Stunden . .	619,8 $\mu\mu$ (deutlich)	576,5 $\mu\mu$ 541 $\mu\mu$	—

Die Versuchsergebnisse zu 1—3 waren reproduzierbar.

Versuch 4. a) Blutproben, im Eisschrank während 3—8 Tagen aufbewahrt.

Blutverdünnung 1:10 (dest. Wasser). Nach spektroskopischer Vor-

prüfung Zugabe von Natriumhydrosulfit. Reaktion: sauer gegen Lackmus. Schichtdicke: 1 cm.

Ergebnis. Die beiden deutlich bei 578 $\mu\mu$ und 540,9 $\mu\mu$ hervortretenden Banden des Oxyhämoglobins werden durch das Reduktionsmittel alsbald in die verwaschene Bande des Hämoglobins übergeführt. Nach 24 Stunden ist die Farbe der Blutlösung in braungelb umgeschlagen. Zu der nunmehr stark abgeschwächten und unscharfen Hämoglobinbande tritt ein relativ unscharfer Absorptionsstreifen bei 633,8 $\mu\mu$, dessen Schwärzung sich nach 48 Stunden deutlich verstärkt.

Analoges Ergebnis (Bande bei 635,5 $\mu\mu$) wird bei Anwendung frischen Blutes erzielt. Die Vorschlagbande 633,8 $\mu\mu$ entspricht dem Maximum, das in der Absorptionskurve des Methämoglobins in saurem Milieu (p_H 5—6) bei 630 $\mu\mu$ in Erscheinung tritt.

b) Blutverdünnung wie unter a.

Nach spektroskopischer Vorprüfung Zugabe von gelbem Schwefelammon. Reaktion: alkalisch.

Ergebnis. Sofortige Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin. Nach 24 Stunden wird eine schwache, aber mit relativ scharfer Begrenzung hervortretende Absorptionsbande bei 618,8 $\mu\mu$ gemessen. Nach weiteren 24 Stunden war infolge Abscheidung kolloiden Schwefels jede Messung unmöglich geworden. Es handelt sich um die Absorptionsbande des Sulfhämoglobins.

Versuch 5. Blutprobe, im Eisschrank 1 Tag aufbewahrt. Blutverdünnung: 1:10 (dest. Wasser). Spektroskopische Vorprüfung: Oxyhämoglobinbanden bei 576,4 $\mu\mu$ und 540,8 $\mu\mu$. Einleiten von Schwefelwasserstoff (70 Blasen) bis neben dem Oxyhämoglobin die Sulfhämoglobinbande gerade schwach sichtbar wird. Nach 3 Minuten tritt Reduktion zum Hämoglobin ein, während die Sulfhämoglobinbande gerade meßbar hervortritt. Schichtdicke 1 cm: 620,9 $\mu\mu$. Schichtdicke 2 cm: 622 $\mu\mu$.

Die Sulfhämoglobin enthaltende Blutlösung wurde in *Lösung a* und *b* unterteilt:

Lösung a. Einleiten von Sauerstoff (70 Blasen). In Bestätigung der Versuchsergebnisse zu 1 wird das Hämoglobin alsbald oxydiert. Die Sulfhämoglobinbande bleibt unverändert und während 5 Stunden deutlich nachweisbar, schwächt dann aber allmählich ab.

Lösung b. Zugabe von Natriumhydrosulfit. Sofort stärkeres Hervortreten des Sulfhämoglobinstreifens (619,6 $\mu\mu$) und Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin. Die Sulfhämoglobinbande verstärkt sich allmählich, sie ist nach 5 Stunden exakt meßbar bei 620 $\mu\mu$ und schwächt anschließend wieder ab.

Die Blutfarbe schlägt (saure Reaktion) langsam in braungelb um.

Nach Ablauf von 16 Stunden ist die Sulfhämoglobinbande nicht mehr nachweisbar, man erkennt vielmehr eine schwache und stark verwaschene Bande bei 630,9 $\mu\mu$, die der Vorschlagbande des Methämoglobins entsprechen könnte.

Durch Luftoxydation geht das anfangs gebildete Hämoglobin bereits nach 30 Minuten über das Kombinationsspektrum in das Oxyhämoglobin (575,5 $\mu\mu$ und 540,2 $\mu\mu$) über.

Versuch 6. Tierversuch.

Schwefelwasserstoff wurde in ein geschlossenes, lufthaltiges Glasgefäß geleitet, in dem sich ein Meerschweinchen (männliches Tier, 2800 g) befand.

Nach Einleiten von 300 ccm Schwefelwasserstoff bäumte sich das bis dahin in Ruhelage verharrende Tier nach etwa 3 Minuten auf und fiel zur Seite. Nach einigen krampfartigen Zuckungen der Extremitäten blieb es bewegungslos liegen. Die Herztätigkeit hielt noch 2 Minuten an. Bei der sofort vorgenommenen Sektion konnte noch das Vorhofflimmern und eine erhöhte Peristaltik wahrgenommen werden. Für die spektroskopische Untersuchung wurde aus dem Gehirn, der Carotis, der Aorta und der Femoralis Blut entnommen.

Spektroskopische Untersuchung des Blutes des mit Schwefelwasserstoff vergifteten Meerschweinchens.
Blutverdünnung: 1:10 (dest. Wasser).

Zeit	I. Probe	II. Probe	III. Probe
Sofortige Untersuchung	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$ 540,5 $\mu\mu$	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$ 540,5 $\mu\mu$ + eine Messerspitze <i>Natriumhydrogensulfid:</i> Hämoglobin	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$ 540 $\mu\mu$ + <i>Sauerstoff:</i> Oxyhämoglobin
Nach 1 Stunde	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$	Hämoglobin	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$
Nach 24 Stunden	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$	schwach und verwaschen <i>Sulfhämoglobin</i> 622,1 $\mu\mu$	Oxyhämoglobin 576,8 $\mu\mu$
Nach 48 Stunden	Oxyhämoglobin schwach und verwaschen <i>Sulfhämoglobin</i> 622,2 $\mu\mu$	schwach, aber deutlich <i>Sulfhämoglobin</i> 622,2 $\mu\mu$	Hämoglobin
Nach 72 Stunden	Hämoglobin, sehr deutlich <i>Sulfhämoglobin</i> 622,1 $\mu\mu$	sehr deutlich <i>Sulfhämoglobin</i> 622,3 $\mu\mu$	Hämoglobin

Versuch 7. Tierversuch.

Versuchstier: Meerschweinchen, weiblich, 3500 g. Vergiftungsverlauf nach Einleiten von 300 ccm Schwefelwasserstoff wie im Versuch 6.

Spektroskopische Untersuchung des Blutes.

Blutverdünnung: 1:10 (dest. Wasser).

a) *Ohne Zusatz von Natriumhydrosulfit.* Das Oxyhämoglobin wird nach Ablauf von 6 Stunden allmählich reduziert; es bildet sich das Kombinationsspektrum aus. Nach 48 Stunden ist die Reduktion zum Hämoglobin beendet. Der gleiche Untersuchungsbefund ist nach 72 Stunden zu erheben; zu dieser Zeit ist der violette Teil des Spektrums merklich eingeengt. Die Sulfhämoglobinbande wurde nicht festgestellt.

b) *Mit Zusatz von Natriumhydrosulfit.* Sofortige Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin. Nach Ablauf von 12 Stunden wird der violette Teil des Spektrums stark eingeengt. Eine nach 48 Stunden zu beobachtende, allerdings nur angedeutete Absorptionsbande liegt angenähert bei 630 $\mu\mu$. Nach 72 Stunden tritt diese Bande, die jetzt bei 628 $\mu\mu$ gemessen wird, deutlich hervor.

Versuch 8. Tierversuch.

Versuchstier: Meerschweinchen, weiblich, 4000 g. Das Versuchstier wurde innerhalb 24 Stunden durch sukzessives Einleiten von 300 ccm Schwefelwasserstoff vergiftet.

Spektroskopische Untersuchung des Blutes.

a) *Ohne Zusatz von Natriumhydrosulfit.* Oxyhämoglobinspektrum. Nach 24 Stunden ausgeprägtes Kombinationsspektrum. Nach 48 Stunden ist Reduktion zum Hämoglobin bei starker Einengung des violetten Teiles des Spektrums vollzogen. Nach 72 Stunden weiterhin Hämoglobin; zur Verschattung des Violetts tritt eine merkliche Einengung im roten Teil des Spektrums. Sulfhämoglobin war nicht nachweisbar.

b) *Mit Zusatz von Natriumhydrosulfit.* Sofortige Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin. Nach 24 Stunden ist bei größerer Schichtdicke eine verwaschene, undeutliche Bande im Rot zu spektroskopieren. Nach 72 Stunden Abschwächung der Hämoglobinbande; der Absorptionsstreifen im Rot tritt stärker und meßbar bei 631,5 $\mu\mu$ hervor.

Versuch 9. Tierversuch.

Versuchstier: Meerschweinchen, weiblich, 4320 g. Vergiftungsbedingungen und -verlauf wie im Versuch 6.

Spektroskopische Untersuchung einer Durchschnittsblutprobe: Oxyhämoglobin, kein Sulfhämoglobin. Nach Zusatz von Natriumhydrosulfit sofortige Reduktion des Oxyhämoglobins zum Hämoglobin. Die Sulfhämoglobinbande ist nicht festzustellen.

Spektroskopische Prüfung nach Zusatz von Natriumhydrosulfit.

Nach 6 Stunden: Einengung des violetten Teiles des Spektrums. Angedeutete Absorptionsbande bei 620,6 $\mu\mu$.

Nach 8 Stunden: Absorptionsbande bei 628 $\mu\mu$ (verbreitert).

Nach 32 Stunden: Absorptionsbande bei 632,9 $\mu\mu$ (deutlich hervortretend).

Die spektrophotometrische Kurve ergibt ein Maximum bei 630 $\mu\mu$ (vgl. II, Versuch 6).

II. Die absorptionsspektrophotometrischen Untersuchungen der mit Schwefelwasserstoff behandelten Blutlösungen wurden mit dem Spektralphotometer von König und Martens¹ durchgeführt.

Ausgemessen wurde der Wellenlängenbereich von 600—640 $\mu\mu$. An Hand einer Eichkurve des Apparates entnimmt man aus den Trommelteilen der Meßeinrichtung die zugehörigen Wellenlängen. Die zu untersuchende Blutlösung und die Vergleichsflüssigkeit (dest. Wasser) wurden nebeneinander in gleicher Schichtdicke (2 cm) in den Lichtstrahlengang des Beleuchtungsapparates eingesetzt. Durch Drehung des Teilkreises stellt man im I. Quadranten (zwischen 0° und 90°) das Gesichtsfeld auf gleiche Helligkeit ein und liest den Winkel des Teilkreises ab (Mittelwert aus 3 Ablesungen). Daraufhin nimmt man die analoge Messung im IV. Quadranten vor (zwischen 270° und 360°). Notiert wird zweckmäßigerweise die an 360° fehlende Winkeldifferenz (Mittelwert aus 3 Ablesungen). Nach Vertauschung der beiden Absorptionsröhren werden zwecks Fehlerkorrektur die beiden Meßreihen im I. und IV. Quadranten im selben Sinne nochmals vorgenommen und gemittelt.

Die Extinktion ergibt sich unmittelbar aus der Gleichung (*Martens-Grünbaum*):

$$\frac{J_0}{J} = \frac{\text{tg } \alpha_1}{\text{tg } \alpha_2} \quad \text{oder}$$

$$E = \log \text{tg } \alpha_1 - \log \text{tg } \alpha_2,$$

wobei α_1 immer dem größeren der beiden mittleren Winkelablesungen entspricht.

Der Extinktionskoeffizient ist dann

$$\varepsilon = \frac{E}{d},$$

wobei d die Schichtdicke der Absorptionsröhren in Zentimeter bedeutet. ε bezieht sich also auf die Einheit der Schichtdicke (1 cm).

In den Kurvenbildern ist die Abhängigkeit des $\log \varepsilon$ von den Wellenlängen in $\mu\mu$ dargestellt.

¹ Die Konstruktion des Photometers sowie der Arbeitsgang sind in *Heilmeyer, Medizinische Spektrophotometrie*, Jena: G. Fischer 1933. S. 19ff., nachzulesen.

Versuch 1. Frisches Blut.

In die mit dest. Wasser hergestellte Blutverdünnung wird solange Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis die Blutflüssigkeit im Auflicht grünbraun erscheint und Schwefelwasserstoffgeruch aufweist. Abfiltrieren von einer dunkelgrün erscheinenden Ausflockung. Reaktion neutral.

a) *Spektroskopische Prüfung.* Sulfhämoglobinbande bei $623 \mu\mu$ und Hämoglobin. Nach Zusatz von Natriumhydrosulfit tritt die Sulfhämoglobinbande alsbald stark hervor ($\lambda = 623 \mu\mu$). Nach kurzer Zeit tritt Geruch nach schwefliger Säure auf und es kommt zur Abscheidung von elementarem Schwefel.

b) *Spektrophotometrische Prüfung.* Untersucht wurde die nicht mit Natriumhydrosulfit behandelte, Sulfhämoglobin enthaltende Blutflüssigkeit (Kurve I).

Versuch 2. Frisches Blut.

Sulfhämoglobinherstellung und spektroskopische Nachprüfung wie im Versuch 1.

Nach Natriumhydrosulfitzusatz tritt wiederum Abscheidung kolloiden Schwefels ein. Die Flüssigkeit wurde durch Erhitzen mit Fließpapierschnitzeln und Abfiltrieren klar erhalten und nach dieser Vorbehandlung der spektrophotometrischen Prüfung unterzogen.

$p_{\text{H}} (18^\circ) = 7,45$ (die p_{H} -Bestimmung wurde mit dem Ionometer nach *Trenel* durchgeführt). Kurve II.

Versuch 3.

Der spektrophotometrischen Untersuchung wurde die mit Schwefelwasserstoff und Natriumhydrosulfit vorbehandelte Blutverdünnung aus Versuch 2 zugrunde gelegt. Die Versuchsflüssigkeit blieb in geschlossenem Gefäß 48 Stunden sich selbst überlassen. Zu ihrer Prüfung im Spektrophotometer wurde vom ausgeschiedenen Schwefel abfiltriert. $p_{\text{H}} (18^\circ) = 7,65$ (Kurve III).

Versuch 4. Frisches Blut.

Versuchsbedingungen wie im Versuch 1. $p_{\text{H}} (18^\circ) = 7,3$.

a) *Spektroskopische Prüfung.* Sulfhämoglobinbande und Oxyhämoglobin, das alsbald reduziert wird. Auf Zusatz von Natriumhydrosulfit Verstärkung der Sulfhämoglobinbande $\lambda = 622 \mu\mu$.

b) *Spektrophotometrische Prüfung.* Zur Untersuchung: Sulfhämoglobinhaltige Blutflüssigkeit ohne Zusatz von Natriumhydrosulfit (Kurve IV).

Versuch 5.

Sulfhämoglobin enthaltende Blutflüssigkeit aus Versuch 4, nach 24 Stunden mit Natriumhydrosulfit versetzt und spektrophotometriert (Kurve V).

Versuch 6.

Durchschnittsblutprobe aus Tierversuch I, 9. Zusatz von Natriumhydrosulfit, Analyse nach 32 Stunden. Maximum bei $\lambda = 630 \mu\mu$.

Literaturverzeichnis.

Balthazard et Valentin, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **12**, 540 (1927). — *Dragendorff, G.*, Die gerichtlich-chemische Ermittlung von Giften. Göttingen: Vandenhoeck u. Rupprecht 1895. S. 62. — *Gadamer, J.*, Lehrbuch der chemischen Toxikologie. Göttingen: Vandenhoeck u. Rupprecht 1909. — *Heilmeyer, L.*, Medizinische Spektrophotometrie. Jena: G. Fischer 1933. — *Jaensch, P. A.*, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **16**, **31**, 166. — *v. Jaksch, R.*, Die Vergiftungen. Wien: Alfred Holder 1897. S. 164. — *Kappe*, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **17** (1931). — *Kobert, R.*, Lehrbuch der Intoxikationen. Stuttgart: Ferd. Enke 1893. S. 378. — *Kunkel, A. J.*, Handbuch der Toxikologie. Jena: G. Fischer. S. 378. — *Mita, H.*, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **15**, 137 (1930). — *v. Neureiter, F. Pietrusky, F.*, u. *E. Schütt*, Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik. Berlin: Springer 1940. — *Reuter, Thiel* u. *Weyrich*, Gifte und Vergiftungen in der gerichtlichen Medizin. Berlin-Wien: Urban u. Schwarzenberg 1938. — *Rodenacker*, Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **10**, 540 (1927) u. **11** (1928).
