

Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität Basel  
(Direktor: Prof. Dr. J. IM OBERSTEG)

## Dünnschichtchromatographie der forensisch wichtigen Metalle

Von

P. KÜNZI, J. BÄUMLER und J. IM OBERSTEG

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. Januar 1962)

Der Nachweis von Schwermetallen bei fraglichen Vergiftungsfällen mittels der üblichen Mikrobestimmungsmethoden erfordert einen großen Zeit- und Arbeitsaufwand. Daher ist eine qualitative Vorprobe erwünscht, welche es erlaubt, die in Frage kommenden Metallionen in einem Arbeitsgang zu erfassen und zu trennen, worauf sich eine gezielte quantitative Analyse anschließen kann.

Von den bisher zur Verfügung stehenden Methoden ist in erster Linie die Papierchromatographie zu nennen, wie sie PFEIL und GOLDBACH (1956) beschrieben haben. Im weiteren seien das Dithizonreagens (FISCHER 1925, IWANTSCHIEFF 1958) und die Polarographie (unter anderem WEINIG 1955) erwähnt. Alle diese Verfahren benötigen einen beachtlichen Aufwand an Zeit oder doch an apparativen Einrichtungen. Als rasche und einfache Methode hat sich in der organischen Analyse, vor allem auch für forensisch-medizinische Zwecke, die Dünnschichtchromatographie bewährt (MACHATA 1959 und 1960, BÄUMLER 1961). Wir haben uns daher in der vorliegenden Arbeit die Aufgabe gestellt, die Verwendbarkeit der Dünnschichtchromatographie für Nachweis, Bestimmung und Trennung der forensisch wichtigen Metalle: Arsen, Quecksilber, Thallium, Blei, Kupfer, Antimon, Cadmium und Wismut, zu prüfen.

### *Schichtmaterial*

Über die Trennung von anorganischen Kationen und Anionen mittels der Dünnschichtchromatographie haben bis jetzt einzig H. und M. SEILER (1960 und 1961) berichtet. — Ihre Versuche mit dem käuflichen Kieselgel G (Merck) stießen vorerst auf Schwierigkeiten: In sauren Fließmittelsystemen, wie sie für die Trennung anorganischer Ionen benötigt werden, löst sich das Schichtmaterial infolge des hohen Eisen- und Zinkgehaltes von der Glasplatte ab. Das Kieselgel muß daher vor Gebrauch nach der von SEILER angegebenen Methode von Eisen und Zink befreit werden.

a) Reinigung des Kieselgels. Das Kieselgel wird mit der doppelten Menge Salzsäure (18%ig) versetzt und 12 Std stehengelassen. Die überstehende gelbe, eisen- und zinkhaltige Lösung wird soweit als möglich dekantiert und der Rest abgenutscht. Ist das Gel nach 3—4maliger Zugabe von destilliertem Wasser und jeweiligem scharfem Nutschen neutral gewaschen (wozu etwa 2 Liter Wasser benötigt werden), wird es mit Benzol vorgetrocknet und für 1—2 Tage in den Trockenschrank (etwa 140°) gestellt.

b) Herstellung der Dünnschichtplatten. In einer Reibschale werden 28 g gereinigtes Kieselgel und 2 g analysenreiner Gips gemischt und mit 60 ml Wasser zu einer homogenen, dünnflüssigen Suspension verrührt. Diese Masse wird in die Dünnschichtapparatur gegossen und rasch über die Glasplatten verteilt. Das obige Quantum reicht für etwa 6 Platten vom Format 20:20 cm. Durch anschließendes Trocknen der Platten über Calciumchlorid während 12 Std wird der Wassergehalt der stabilen Phase vereinheitlicht.

### *Fließmittelsystem*

Bei der Ermittlung eines geeigneten Fließmittelsystems ist für die in Betracht gezogenen Elemente Arsen, Quecksilber, Thallium, Blei, Kupfer, Antimon, Cadmium und Wismut — neben spezifischer Anfärbbarkeit — eine möglichst eindeutige Unterscheidung an Hand des Laufwertes anzustreben. Bei hohem Wassergehalt der Fließmittelsysteme löst sich das Schichtmaterial von der Glasplatte ab; man ist daher gezwungen, vorwiegend organische Lösungsmittel zu verwenden. In diesen unpolaren Fließmitteln lösen sich jedoch Schwermetallionen nur in beschränktem Maße und bleiben z. T. am Startpunkt sitzen. Durch Verwendung von Komplexbildnern kann die Löslichkeit erhöht werden.

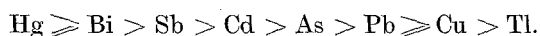
Mit reinen Fließmitteln (Butanol, Dioxan, Methanol, Aceton oder Benzol) läßt sich eine klare Verteilung der forensisch wichtigen Metallionen ebenfalls nicht erzielen: Auch hier bleiben gewisse Ionen am Startpunkt sitzen (meist Blei), oder aber sie wandern unter Bildung langer Schwänze mit der Fließmittelfront. Lösungsmittelgemische hingegen ergeben bessere Resultate.

Als Komplexbildner prüften wir (KÜENZI 1961) Veronal, Komplexon II, Antipyrin, Sulfosalicylsäure und Weinsäure, wobei letztere sich am besten bewährt hat.

Als Fließmittelgemisch erwies sich Aceton-Benzol, gesättigt mit Weinsäure und 6% Salpetersäure, am günstigsten (s. Abb. 1). Einzig beim Cadmium erscheinen mehrere Flecken, ein Phänomen, das als sog. „Multispots“ im Rahmen der anorganisch-chemischen Papierchromatographie von ERDEM und ERLÉNMEYER (1954) beschrieben worden ist.

Sollen mehrere Metallsalze gleichzeitig dünnschicht-chromatographisch erfaßt werden, so können durch gegenseitige Beeinflussung die Rf-Werte verändert werden. Für Metallionengemische lassen sich daher nicht genau definierte Laufwerte angeben, wohl aber eine gleichbleibende Reihenfolge der Steighöhen, die für jedes Fließmittelsystem

typisch ist. Für das von uns gewählte Fließmittel Aceton-Benzol (75:25), gesättigt mit Weinsäure und 6% Salpetersäure (10%ig) lautet sie:



Da jedoch im konkreten Fall kaum mehrere Metallgifte vorliegen werden, ist für forensisch-toxikologische Zwecke mit der Dünnschichtchromatographie an Hand von *Steighöhen* und *spezifischer Anfärbbarkeit* der Kationen eine rasche Orientierung in einem Arbeitsgang möglich.

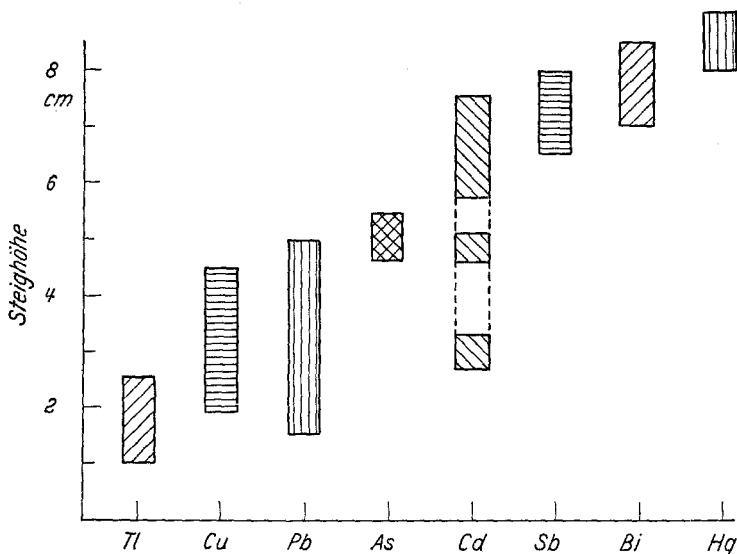


Abb. 1. Dünnschichtchromatogramm der forensisch wichtigen Metalle

Fließmittel: Aceton/Benzol im Verhältnis 75:25 gesättigt mit Weinsäure und 6% Salpetersäure (10%).

Schichtmaterial: Gereinigtes Kieselgel G (Merck).

Laufzeit: 20 min.

#### *Sichtbarmachung und Empfindlichkeit*

Der Nachweis der einzelnen Metallionen erfolgt durch Besprühen der luftgetrockneten Chromatogramme mit verschiedenen farbgebenden Entwicklerlösungen, so mit Dithizon (*Diphenylthiocarbazon*, FISCHER 1925, IWANTSCHJEFF 1956) oder mit Ammoniumsulfid.

Mit diesen Farbreagentien lassen sich alle untersuchten Metallionen noch in einer Menge von  $2 \gamma$  mit Sicherheit nachweisen.

Die Dünnschichtchromatographie ist also ebenso empfindlich wie die Papierchromatographie anorganischer Verbindungen.

### Quantitative Auswertung

Eine quantitative Analyse ist näherungsweise schon durch Vergleich der Fleckengröße mit Begleitversuchen von bekanntem Substanzgehalt möglich. Zudem kann das einmal bekannte Metallgift entweder aus der Fleckensubstanz oder im noch nicht verwendeten Untersuchungsmaterial quantitativ bestimmt werden (Polarographie, Spektralphotometrie, extractive Titration mit Dithizon u. a.).

Tabelle.

Metall	Sprühmittel		
	Dithizon		(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S
	sauer	ammonia- kalisch	
Cu	gelbgrün	graubraun	braun
As	gelb	—	gelb
Cd	lila	orange	gelb
Sb	rötlich	hellbraun	orange
Hg	rosa	orangerot	schwarz
Tl	—	rosa	schwarz
Pb	—	rosa	braun
Bi	purpur	rotorange	braun

### Anwendung im praktischen Untersuchungsfall

Bei der Untersuchung von biologischem Material (Blut, Urin, Organproben) wird wegen der Eiweißbindung der Schwermetalle eine Mineralisation nicht zu umgehen sein. Günstiger liegen die Verhältnisse bei gewissen Lebensmitteln, bei denen der Nachweis direkt gelingt.

*Nachweis von Arsen im Mehl.* In einem Modellversuch wurde eine Mehlprobe mit einem Arsenikgehalt von 20 mg-% mit verdünnter Salpetersäure ausgezogen. In dem auf 1 ml eingeeengten Filtrat konnte das Arsen mittels der Dünnschichtchromatographie ohne weiteres mengenmäßig bestimmt werden.

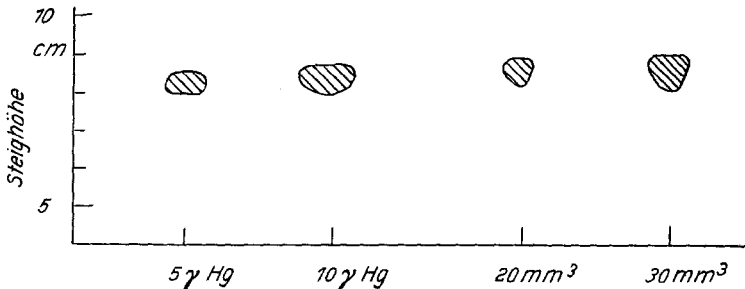


Abb. 2. Bestimmung von Quecksilber im Urin

In einem weiteren Versuch mit normal gezuckertem Tee ließen sich Arsen (4 mg-%) und Cadmium (6 mg-%) im Dünnschichtchromatogramm getrennt nachweisen.

*Bestimmung von Quecksilber im Urin.* Bei einem Suicidversuch mit der klinischen Verdachtsdiagnose auf Sublimatvergiftung erfolgte Nachweis und Bestimmung von Quecksilber aus dem Urin der Patientin H. H. wie folgt:

50 ml Urin wurden mit 5 ml konzentrierter Schwefelsäure und 8 g festem Kaliumpermanganat als Oxydationsmittel versetzt und auf dem Wasserbad unter Rückfluß während 1 Std erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 20%iger Hydroxylaminlösung entfärbt und der entstandene Braunstein aufgelöst, anschließend bei saurem pH mit Dithizonlösung (2–5 mg Dithizon in 100 ml Chloroform) im

Scheidetrichter erschöpfend extrahiert. Unter Zusatz von Kaliumpermanganatlösung und verdünnter Salpetersäure wurde das Quecksilberdithizonat in der Folge zerstört und die quecksilberhaltige salpetrige Lösung auf ein Endvolumen von 1 ml im Rotationsverdampfer konzentriert. In 20 mm<sup>3</sup> aufgetragener Lösung wurde im Vergleich mit parallel laufenden Standardversuchen eine Quicksilbermenge von etwa 5  $\gamma$  ermittelt und, davon ausgehend, ein Quecksilbergehalt des Urins von 0,5 mg-% bestimmt.

Zeitdauer: 3 Std.

Die quantitative Mikrobestimmung des Quecksilbers nach der Methode von STOCK durch elektrolytische Abscheidung an einem Kupferdraht und anschließende Destillation ergab übereinstimmend mit obigem Resultat einen Quecksilbergehalt von 0,4–0,5 mg-%.

Zeitdauer: 12 Std.

### Zusammenfassung

Es wird über die Verwendbarkeit der Dünnschichtchromatographie für Nachweis, Bestimmung und Trennung der forensisch wichtigen Metalle Thallium, Quecksilber, Blei, Arsen, Cadmium, Kupfer, Wismut und Antimon berichtet. Als Fließmittelsystem wurde ein salpetersaures Aceton-Benzolgemisch, unter Verwendung von Weinsäure als Komplexbildner gewählt. Der Nachweis der Kationen erfolgte an Hand der Steighöhen und der Anfärbbarkeit mit Dithizon und Ammoniumsulfidlösung.

Die Methode erlaubt eine qualitative Analyse auf Schwermetallionen in einem Arbeitsgang und ermöglicht eine quantitative Auswertung im Chromatogramm durch Vergleich der Fleckengröße mit Begleitversuchen von bekanntem Metallgehalt.

### Literatur

- BÄUMLER, J.: Neuere Analysenmethoden der chemischen Toxikologie. Praxis **50**, 841 (1961).
- , u. S. RIPPSTEIN: Die Dünnschichtchromatographie als Schnellmethode zur Analyse von Arzneimitteln. Pharm. Acta Helv. **36**, 382 (1961).
- ERDEM, B., u. H. ERLLENMEYER: Über das Verhalten von komplexen Ionen bei der Papierchromatographie. Helv. chim. Acta **37**, 2220 (1954).
- FISCHER, H.: Die Metallverbindungen des Diphenylthiocarbazon und ihre Verwendbarkeit für die chemische Analyse. Wiss. Veröff. Siemens-Werke **4**, 158 (1925).
- IWANTSCHIEFF, G.: Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse. Weinheim: Verlag Chemie 1958.
- KÜNZI, P.: Med. Diss. Basel 1961.
- MACHATA, G.: Dünnschichtchromatographie als klinische Untersuchungsmethode. Wien. klin. Wschr. **71**, 301 (1959).
- Dünnschichtchromatographie in der Toxikologie. Mikrochim. Acta **1960**, 79.
- PFEIL, E., u. H. J. GOLDBACH: Nachweis und quantitative Bestimmung der forensisch wichtigen Metalle mit Hilfe der Papierchromatographie. Arch. Toxikol. **16**, 134 (1956).
- SELLER, H. u. M.: Anorganische Dünnschichtchromatographie. Helv. chim. Acta **43**, 1939 (1960); **44**, 939, 941, 1282, 1753 (1961).
- WEINIG, E., E. NEUGEBAUER u. I. NEUGEBAUER: Polarographische Bleibestimmung in Blut und Harn. Arch. Hyg. (Berl.) **139**, 351 (1955).

Dr. P. KÜNZI, Dr. J. BÄUMLER, Gerichtlich-medizinisches Institut der Universität,  
Basel, Pestalozzistr. 22