

VII. Hauptthema: Toxikologie

W. ARNOLD (Hamburg): Soforttodesfälle bei Vergiftungen — Erfahrungen, Ursachen und Problematik.

M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT (Erlangen): Zur Technik des emissionspektrographischen Nachweises von Schwermetallen in biologischem Material.

Die Prüfung auf *Metallgifte* macht auch heute noch einen wesentlichen Anteil der Untersuchungen in einem forensisch-toxikologischen Laboratorium aus. Das emissionspektrographische Verfahren ist hier die Methode der Wahl. Während für die Analyse von Materialproben und metallhaltigen Spuren häufig gut ausgearbeitete Verfahren zur Verfügung stehen, stellt die Untersuchung von biologischem Material noch immer ein besonderes Problem dar.

Bisher sind zur spektrographischen Untersuchung von Körperflüssigkeiten und Organen die folgenden Wege vorgeschlagen worden:

1. *Direktes Abfunken* eines kleinen Organteiles oder Gewebsschnittes (BENOIT; GERLACH; VAN CALKER 1935/37; GERLACH, ROLLWAGEN und INTONTI).

Hiermit sind gute Erfolge z. B. bei der Untersuchung von Gingiva-Stückchen auf Schwermetalle oder auch von Haut auf Schmauchspuren erzielt worden. Liegen *Körperflüssigkeiten* vor, so wurde empfohlen, eine kleine Menge, z. B. 0,1 ml, auf Elektroden einzutrocknen und abzufunken, oder die Flüssigkeit vorher auf einem schmalen Filtrierpapierstreifen einzutrocknen (GERLACH, RIEDL und ROLLWAGEN; VAN CALKER 1935/37, 1937; VAN CALKER und WISCHGOLL).

Dieses Vorgehen führt dann zum Erfolg, wenn die Menge des nachzuweisenden Metalls relativ groß ist, wie man dies bei einer Ein- bzw. Ablagerung auf Haut oder Schleimhaut annehmen kann, wenn die Nachweisempfindlichkeit für das zu prüfende Element günstig liegt, wie z. B. beim Kupfer, oder wenn eine sehr empfindliche Technik wie z. B. der Hochfrequenzfunke nach GERLACH-SCHWEITZER angewandt wird (BENOIT).

Treffen diese Voraussetzungen nicht zu, so muß von größeren Mengen an Organ oder Körperflüssigkeit ausgegangen werden, die nicht mehr direkt abgefunkt werden können. Dies macht

2. die *Zerstörung des organischen Ballastes* notwendig, was durch trockene oder nasse *Veraschung* erfolgen kann. Wegen der Flüchtigkeit vieler Metalle beim Erhitzen auf Temperaturen über 400° ist hier das nasse *Aufschlußverfahren* vorzuziehen. MACHATA und NEUNINGER empfehlen besonders den Aufschluß mit Salpetersäure und Perhydrol unter Rückfluß zur Vermeidung von Metallverlusten. So gelang es ihnen, foren-

sisch wichtige Elemente, wie z. B. Blei, Thallium, Chrom, Kupfer, Mangan, Silber, Titan, Zink usw. bei Vergiftungen nachzuweisen. Der Nachweis von Arsen und Quecksilber war spektrographisch bei diesem Vorgehen nicht möglich.

Bei der Untersuchung von Organen mit relativ hohem Aschegehalt und besonders bei der Untersuchung von Urin erweist sich häufig der große Salzurückstand — beim Harn hauptsächlich Natrium-, Kalium-, Calcium- und Magnesiumsalze — als störend, da er die abfunktionsfähige Menge durch Ballastwirkung stark herabsetzt und damit die Empfindlichkeit des Metallnachweises ungünstig beeinflusst. MACHATA und NEUNINGER und auch VAN CALKER (1935/37) verzichten aber ganz bewußt auf weitere Anreicherungsverfahren, da sie eine pathologische Vermehrung der von ihnen geprüften Metalle mit ihrem Verfahren feststellen wollen und auf die Erfassung der physiologischen Spurenmetalle keinen Wert legen.

Bei der Untersuchung von Organen und Körperflüssigkeiten erschien es uns wünschenswert, nicht nur möglichst in einem Arbeitsgang aus einer Organprobe neben den genannten Schwermetallen auch Arsen und Quecksilber spektrographisch zu erfassen, sondern grundsätzlich ein Verfahren zu entwickeln, das es erlaubt, auf möglichst viele Metalle gleichzeitig zu prüfen, wobei die Nachweisgrenze, wo irgend möglich, auf den physiologischen Bereich erweitert werden sollte. Für die Erreichung dieses Zieles war eine weitergehende Anreicherung als die durch einfache Veraschung mögliche erforderlich. Beim Harn leuchtet dies aufgrund des hohen Salzurückstandes ohne weiteres ein. Aber auch PFEILSTICKER hat diese Schwierigkeit bei der spektrographischen Untersuchung von Blut nach Veraschung aufgezeigt. Er wandelt deshalb die ihn interessierenden Schwermetalle (Mangan, Kupfer, Zink, Cadmium, Chrom und Blei) in schwerlösliche Verbindungen um und entfernt die störenden Elemente Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium durch Extraktion mit 8-Hydroxychinolin und Anthranilsäure. Auf diese Weise werden die Schwermetalle in der Asche angereichert. PFEILSTICKER hat mit diesem Verfahren bei der quantitativen Bestimmung des Bleis im Blut ausgezeichnete Resultate erzielt. Ein Nachteil des Verfahrens für Übersichtsanalysen ist aber die Notwendigkeit, mehrfach zu veraschen und zu extrahieren. Außerdem ist es schwierig, die schließlich zurückbleibende, an Schwermetallen angereicherte Asche, die nur in geringer Menge anfällt, quantitativ auf die Elektroden zu überführen.

Wir versuchten deshalb zusammen mit POOTH, den anderen möglichen Weg einzuschlagen und die nachzuweisenden Schwermetalle durch ein spezifisches Reagenz unter Zurücklassung der störenden Mineralstoffe zu extrahieren. Zur Extraktion von Schwermetallen sind in den letzten 10 Jahren eine große Anzahl von organischen Reagenzien genannt worden (KOCH und KOCH-DEDIC). Hierzu gehören z. B. das in der Analytik

schon lange bekannte Dithizon, außerdem 8-Hydroxychinolin, Cupferron, Thenoyltrifluoraceton und Carbamatderivate. Vergleicht man den Erfassungsbereich der einzelnen Reagenzien, so ergibt sich, daß dieser bei

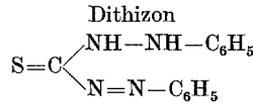


Abb. 1

Extraktion mit Dz und organischen Lösungsmitteln

Li	Be																		B	C	N	O	F
Na	Mg																		Al	Si	P	S	Cl
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br							
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I							
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At							
Fr	Ra	Ac																					
						Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu				
						Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No					

———— = vollständige Extraktion

Abb. 2. (Aus KOCH und KOCH-DEDIC) Dz = Dithizon

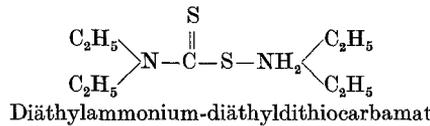


Abb. 3

Extraktion mit DÄ-DDTC und organischen Lösungsmitteln

Li	Be																		B	C	N	O	F
Na	Mg																		Al	Si	P	S	Cl
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br							
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I							
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At							
Fr	Ra	Ac																					
						Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu				
						Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No					

———— = vollständige Extraktion

----- = teilweise Extraktion

Abb. 4 (aus KOCH und KOCH-DEDIC)

Dithizon (Abb. 1) bereits relativ günstig liegt (Abb. 2): es werden eine ganze Reihe toxikologisch wichtiger Metalle erfaßt, nicht jedoch Arsen, Antimon und Barium.

Den für toxikologische Fragestellungen wohl günstigsten Wirkungsbereich besitzen Carbamatderivate, wie z. B. *Diäthylammonium-Diäthyl-dithiocarbamat* (DÄ-DDTC, Abb. 3).

Die in Abb. 4 durch eine starke schwarze Linie eingegrenzten Anteile des periodischen Systems sind fast alle quantitativ aus schwefelsaurer Lösung in einen pH-Bereich von etwa 4–11 mit Chloroform und DÄ-DDTC extrahierbar. Bei den durch eine gepunktete Linie gekennzeichneten Elementen ist die Extraktion bei einmaligem Ausschütteln nicht ganz vollständig, was aber durch Erhöhung der Reagenzkonzentration oder mehrmaliges Ausschütteln verbessert werden kann (KOCH und KOCH-DEDIC; BODE und NEUMANN).

Mit DÄ-DDTC werden auch *Arsen* und *Antimon* erfaßt, während neben Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium von den forensisch wichtigen Metallen praktisch nur Strontium, Barium und Titan außerhalb des Erfassungsbereichs liegen.

Zur möglichst vollständigen Extraktion aller in einer Organprobe oder Körperflüssigkeit enthaltenen Schwermetalle ist es wichtig, daß keine Komplexbildner vorliegen. Auch deshalb ist es notwendig, die Probe zu mineralisieren. Dies erfolgt nach unseren Erfahrungen am zweckmäßigsten mit Schwefel-Salpetersäure unter Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd (Leber) bzw. Perchlorsäure (Urin) unter Rückfluß.

Bei der Extraktion eines Metallsalzgemisches mit organischen Reagenzien ist zum Teil die Wertigkeit zu beachten. Weiter ist daran zu denken, daß eine „Verdrängungsreihe“ (THORN und LUDWIG) besteht, so daß u. U. bei Anwesenheit eines leicht extrahierbaren Metalles größere Mengen eines schwerer extrahierbaren in der wäßrigen Phase verbleiben könnten. Dies dürfte für die geringen Konzentrationen, die nach Veraschung biologischen Materials vorliegen, kaum eine Rolle spielen. Die Schwierigkeit kann umgangen werden durch mehrfache Extraktion der schwefelsauren Metallsalzlösung mit einem Überschuß an DÄ-DDTC. Es erscheint aber doch notwendig, für jede Metallkombination zu prüfen, ob die Bestimmung eines Elementes nicht durch Begleitelemente gestört wird.

Bei unseren Untersuchungen zur Bestimmung der durch DÄ-DDTC erfaßbaren Schwermetalle in einer Organprobe durch eine einmalige spektrographische Untersuchung beschränkten wir uns zunächst auf die uns am wichtigsten erscheinenden Elemente *Blei*, *Thallium*, *Quecksilber* und *Arsen*. Wir gingen von 5–10 g Organ, z. B. Leber, oder 50 bis 100 ml Harn aus, die mineralisiert wurden. Die zum Schluß anfallende schwefelsaure Lösung wurde auf pH 5 gebracht. Bei dieser Säurekonzentration sind Blei, Thallium und Quecksilber, das nach der Veraschung zweiwertig vorliegt, sofort mit DÄ-DDTC extrahierbar. Es wurde dreimal mit der 1%igen Lösung des Reagenz in Chloroform ausgeschüttelt. Zur

völligen Erfassung des zum Teil fünfwertig vorliegenden Arsens mußte in der wäßrigen Phase mit Ascorbinsäure, Thioglykolsäure und Kaliumjodid (TÖLG) reduziert und noch einmal ausgeschüttelt werden. Die abgetrennten organischen Phasen wurden in einem Schälchen auf dem Wasserbad zur Trockene gebracht. Die Überführung der extrahierten Organometallkomplexe auf die Elektroden ist nach Untersuchungen zusammen mit BLANZ und OPITZ außerordentlich einfach, wenn man den Verdampfungsrückstand mit wenig Chloroform anfeuchtet und eine kleine Menge Spekttralkohlepulver dazu gibt. Aufgrund der großen Absorptionskraft der Kohle wird die hochkonzentrierte Metallkomplexlösung in Chloroform völlig aufgenommen. Nach Verdunsten des Chloroforms bleibt ein trockenes Kohlepulver zurück, das alle Metallverbindungen absorbiert hat und nun sehr einfach und quantitativ in die Bohrung einer Kohleelektrode gebracht werden kann (SCHMIDT und RAUSCHKE gehen ähnlich vor). Wir arbeiteten mit dem Bogenspektrum ($1/2$ min 4,5 Amp.) eines 1,5 m Jarrell-Ash-Spektrographen unter Verwendung einer Schutzgascuvette (Argon) Spaltbreite 10 μ ; Elektroden: RW 0078 und 0085 (Ringsdorff-Werke); Film: Kodak Spectral-Analysis Nr. 1).

Es gelang uns auf diese Weise, noch 1 γ Blei, Quecksilber und Thallium sowie 5 γ Arsen in den veraschten Proben nachzuweisen. Bei Einsatz von 100 ml Urin oder 10 g Leber wird damit noch der physiologische Blei- und Quecksilbergehalt erfaßt. Bei Vergiftungen wurden alle vier Metalle in Harn und Leber gefunden. In Einzelfällen haben wir mit dem genannten Verfahren bei entsprechenden Vergiftungen auch z. B. Silber und Kupfer sehr einfach nachweisen können.

Bei der Aufarbeitung von Leber erwies es sich als störend, daß bei pH 5 auch Eisen, das ein so linienreiches Spektrum liefert, mitextrahiert wird. Wir trennten es z. T. nach der Veraschung aus 4 n HBr-Lösung mit Diäthyläther ab (KOCH). Thallium, das nach der Veraschung einwertig vorliegt, geht hierbei z. T. mit, ebenso wie Blei, Quecksilber und Arsen bleiben in der wäßrigen Phase.

Die emissionsspektrographische Bestimmung von Blei, Quecksilber, Thallium und Arsen nach Extraktion mit DÄ-DDTC erscheint uns so einfach und sicher, daß wir z. Z. versuchen, die Anzahl der nachzuweisenden Metalle zu erweitern und auch eine halbquantitative Bestimmung zu erarbeiten.

Soll in Einzelfällen bei toxikologischen Untersuchungen die Analyse eines bestimmten Metalles möglichst ungestört von Begleitstoffen erfolgen, so stehen bereits sehr gut ausgearbeitete Trennungsgänge für Metalle durch spezifische organische Extraktion zur Verfügung, wie sie z. B. von TÖLG angegeben worden sind.

Zusammenfassung

Zum Nachweis der forensisch wichtigen Schwermetalle in Organen und Körperflüssigkeiten wird empfohlen, diese nach der Veraschung mit Diäthylammonium-Diäthylthiocarbamat in Chloroform zu extrahieren und den mit Spektralkohle aufgenommenen Rückstand der organischen Phase spektrographisch zu untersuchen. Auf diese Weise ist es z. B. möglich, noch 1γ Blei, Quecksilber und Thallium sowie 5γ Arsen in 100 ml Urin oder 10 g Leber in einem Arbeitsgang zu erfassen.

Summary

For the detection of heavy metals of forensic importance in organs and body fluids it is useful to extract them with diethylammonia-diethylthiocarbamate in chloroform after mineralisation and to analyse the residue of the organic phase after absorption to carbon powder spectrographically. Thus it is possible to detect even such small amounts as $1 \mu\text{g}$ of lead, mercury and thallium and $5 \mu\text{g}$ of arsenic in 100 ml of urine or 10 g of liver e.g.

Literatur

- BENOIT, W.: Über spektrographische Untersuchungen an Gewebsschnitten menschlicher Organe unter Verwendung des Hochfrequenzfunkens nach GERLACH-SCHWEITZER. *Z. exp. Path. Ther.* **90**, 421 (1933).
- BLANZ, W., u. O. OPTIZ: Der spektrographische Thalliumnachweis in Harn und Leber. In Vorbereitung.
- BODE, H., u. F. NEUMANN: Untersuchungen über disubstituierte Dithiocarbamate, VIII. Mitt. Extraktionen mit Lösungen von Diäthylammoniumdiäthylthiocarbamat in organischen Lösungsmitteln. *Z. analyt. Chem.* **172**, 1 (1960).
- CALKER, J. VAN: Über den quantitativen spektralanalytischen Nachweis von Metallen bei Vergiftungen. *Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg.* **67**, 685 (1935/37).
- Über einige Erfahrungen bei spektralanalytischen Untersuchungen mit einem Abreißbogen begrenzter Bogenlänge. *Z. anorg. u. allg. Chem.* **234**, 179 (1937).
- , u. B. WISCHGOLL: Quantitative spektrochemische Untersuchungen mit Lichtbogenanregung an biologischen Analysenmaterialien. Vortrag auf der gemeinsamen Tagg. der Fachgruppe Analytische Chemie der GDCh mit dem Dtsch. Ausschuß für Spektrochemie und der Arbeitsgruppe Massenspektroskopie im Verband Dtsch. Physikalischer Ges. vom 24.—27. 4. 1963 in Erlangen.
- GERLACH, W.: Methoden und Anwendungen der Emissions-Spektralanalyse in der medizinischen Praxis und der medizinisch-biologischen Forschung. *Zeiss-Nachrichten* **3**, 176 (1939).
- E. RIEDL u. W. ROLLWAGEN: Die chemische Spektralanalyse 1860—1935. *Metallwirtschaft* **14**, 125 (1935).
- W. ROLLWAGEN u. R. INTONTI: Fortschritte in der spektralanalytischen Untersuchungstechnik medizinischer Präparate. *Virchows Arch. path. Anat.* **301**, 588 (1938).
- KOCH, O. G., u. G. A. KOCH-DEDIC: *Handbuch der Spurenanalyse*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1964.

- MACHATA, G., u. H. NEUNINGER: Schnellverfahren zur Ermittlung von Metallgiften. Arch. Toxikol. **17**, 41 (1958).
- PFELSTICKER, K.: Eine spektrochemische Mikrobestimmung des Bleis in biologischem Material. Mikrochim. Acta **1956**, 319.
- POOTH, M.: Der spektrographische Nachweis von Thallium, Blei, Quecksilber und Arsen in der Leber. Diss. Erlangen (in Vorbereitung).
- SCHMIDT, R., u. R. RAUTSCHKE: Schwermetallkationen im tierischen Organismus; spektrographische Untersuchungen an Organen normaler und alloxanbehandelter weißer Ratten. Acta histochem. (Jena) **17**, 302 (1964).
- THORN, G.D., and R. A. LUDWIG: The dithiocarbamates and related compounds. Amsterdam and New York: Elsevier Publ. Co. 1962.
- TÖLG, G.: Qualitativer Trennungsgang für Kationen durch Ausschütteln. Z. analyt. Chem. **190**, 161 (1962).

Priv.-Doz. Dr. Dr. M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT
 Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
 der Universität Erlangen-Nürnberg,
 852 Erlangen, Universitätsstraße 22

H. H. WIECK und G. DOTZAUER* (Köln): Aussagewert der Ergebnisse quantitativer Barbituratbestimmungen im Serum**.

Einleitung

Nicht selten wird im Laufe eines gerichtlichen Verfahrens — oft erst kurz vor der Hauptverhandlung — die Einlassung vorgetragen, der Angeklagte sei beim Fahrantritt oder bei der Fahrerflucht „bewußtseinsverändert“ gewesen, weil er vorher barbiturathaltige Mittel eingenommen habe. Der Gutachter befindet sich meist in einer schwierigen Situation, wenn er die *Fahrtüchtigkeit* oder die *Zurechnungsfähigkeit* beurteilen soll. Die hiermit zusammenhängenden Fragen führen tief in das weite Feld toxikologischer, psychiatrischer, forensischer und soziologischer Probleme hinein. Wir können hier nur einen kurzen Überblick vermitteln, wie er sich aufgrund der eigenen Erfahrungen und Forschungen ergibt.

Schwierigkeiten des chemischen Nachweises. Da in der soeben dargestellten forensischen Situation bereits schon Untersuchungen nach WIDMARK und ADH durchgeführt wurden, verbleibt meist nur noch ein geringer Rest für die weiteren chemischen Analysen. Im günstigsten Falle stehen nach der Blutalkoholbestimmung nur noch 4—5 ml Blut zur Verfügung. Wenn der Serumspiegel recht hoch mit 1 mg-% angenommen wird, läßt sich bei vollständiger Extraktion eine Substanzmenge von 40—50 µg für die Analyse gewinnen. Im Bereich der therapeutischen Dosis sind die extrahierenden Mengen wesentlich geringer; gewöhnlich darf nur mit etwa 5—20 µg gerechnet werden. Bei der geringen zur Verfügung stehenden Untersuchungsmenge bleibt als eine der günstigsten Möglichkeiten die Messung der UV-Absorption. Diese an und für sich rasch durchzuführende und empfindliche Methode hat jedoch den Nachteil einer geringen Spezifität und großen Störanfälligkeit infolge

* Für fruchtbare Mithilfe möchten wir Herrn Dr. RÜMMELT und Frau NEUBAUER herzlich danken.

** Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.