

(Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Leipzig. — Direktor:
Obermedizinalrat Prof. Dr. *Kockel*.)

Über den Nachweis von Benzol bei Vergiftungen.

Von

Dr. Raestrup,

Assistent.

Mit 2 Textabbildungen.

Die Schwierigkeit des chemischen Nachweises von Vergiftungen beruht bei einer Reihe von Giften darauf, daß einmal die zur Anwendung gekommenen Gifte im Körper leicht und schnell Umwandlungen in Produkte erleiden, die keinen Rückschluß auf die ursprüngliche Beschaffenheit erlauben, und daß andermal solche Gifte zur Anwendung gekommen sind, die eine äußerst träge Reaktionsfähigkeit besitzen. Dazu kommen naturgemäß noch die allgemein erschwerenden Umstände, die in der geringen, zum Todeserfolg notwendigen Giftmenge und in den Bruchteilen derselben in den zur Untersuchung gelangenden Leichenteilen begründet sind. So ist bekannt, daß das Cocain unter anderen in kürzester Zeit nach der Einspritzung unter die Haut so verändert wird, daß es wohl am schlechtesten noch in der Leiche nachgewiesen werden kann. Dieser Gruppe von leichtveränderlichen Giftstoffen kann man die andere gegenüberstellen, die im Körper ihre tödliche Giftwirkung rasch entfaltet, ohne daß eine Umwandlung der Giftstoffe möglich ist. Da sie im Körper tatsächlich unverändert bleiben, könnte man glauben, daß ihr Nachweis auf keine wesentlichen Schwierigkeiten stößt. Das Gegenteil ist jedoch häufig der Fall. Als einer dieser Stoffe ist das Benzol zu betrachten, dessen Nachweis in der Leiche bis vor noch nicht langer Zeit wegen der leichtflüchtigen Natur und der geringen Menge des chemisch wenig angreifbaren Stoffes scheiterte.

Die Vergiftungen dieser Art sind gar nicht selten und bilden hauptsächlich versicherungsrechtlich den Kernpunkt der schwierig zu entscheidenden Streitfrage, ob eine Vergiftung durch diesen Stoff tatsächlich stattgefunden hat oder nicht. Vor kurzem kamen noch drei solche Fälle bei uns zur Beurteilung. Schon hieraus geht die unabwiesbare Notwendigkeit hervor, einen exakten Nachweis des Benzols in den Leichenorganen führen zu können.

Es ist nun das Ziel der chemischen Untersuchung, mit einfachen Mitteln und in kurzer Zeit den sicheren Nachweis einer Vergiftung zu erbringen. Dieser fehlte uns für das Benzol lange Zeit, ja, es gelang uns,

abgesehen vom Geruchsvermögen, auf chemische Weise bisher überhaupt nicht, Benzol in der Leiche zu identifizieren. Erst *Joachimoglu* gab im Jahre 1915 ein Verfahren an, das uns in der Tat ermöglicht, kleinste Mengen von Benzol in der Leiche sicher und deutlich zum Nachweis zu bringen. Unsere Untersuchungen bestätigen den Wert und die Bedeutung dieser Methode *Joachimoglus* völlig, die auch von anderer Seite restlos Zustimmung gefunden hat. So wichtig dieser Erfolg ist, es ermangelt uns noch ein Weg, der uns bequem und in gleich sicherer Weise, aber in viel kürzerer Zeit und in umfassenderem Umfange zum Ziele führt. Wir hatten es uns daher zur Aufgabe gesetzt, eine Methode zu finden, die einmal in orientierender Weise gestattet, kleinste Mengen von Benzol oder benzolähnlichen Stoffen schnell nachzuweisen, in Art eines Gruppenreagenses, und andererseits gleichzeitig von diesen das Benzol für sich bestimmt unterscheiden zu können. Es ist uns gelungen, dieses Ziel zu erreichen, und wir sind in der Lage, innerhalb weniger Minuten schlagend zu beweisen, ob eine Vergiftung durch Benzol vorliegt, und wenn nicht, ob ein anderer ähnlicher Körper für die vermutliche Vergiftung in Frage kommen kann, und zwar mit einer Schärfe, die dem Verfahren *Joachimoglus* zumindest nicht nachsteht.

Im Gang unserer Untersuchung handelte es sich zunächst darum, die bisherigen Methoden zu verwerten und sie auf ihre Empfindlichkeit zu prüfen. Im allgemeinen geschieht der Nachweis des Benzols chemisch lediglich durch Nitrierung, bei der sich Nitrobenzol oder seine Homologen bilden und leicht durch den an bittere Mandeln erinnernden Geruch erkannt werden kann, oder durch die Feststellungen der Verunreinigungen in Gestalt von Thiophen mittels Isatin. Mit diesen Mitteln ist nach unseren Erfahrungen an der Leiche kein Resultat zu erhoffen, abgesehen in den Fällen, wo das Benzol in größerer Menge durch Zufall oder in selbstmörderischer Absicht in den Magen eingeführt worden ist. Meist gelingt der Nachweis der Benzolvergiftung unter diesen besonderen Umständen durch das Geruchsvermögen allein und einwandfrei. Die chemische Untersuchung dient dann lediglich zur Bestätigung der direkten subjektiven Wahrnehmung des Benzols selbst. Viel häufiger veranlaßt das Benzol den Tod dadurch, daß in geschlossenen oder schlecht ventilierten Räumen aufgetretene Dämpfe von Benzol eingeatmet werden. In diesen Fällen kann in kurzer Zeit der Tod erfolgen und es gelangt ein Minimum von Benzol in den Körper, das eben genügt, den unheilvollen Einfluß zu vollenden. Die aufgenommene Menge ist so gering, daß mittels des Geruchs das Benzol nicht entdeckt werden kann. Der bislang anscheinend mit unüberwindlichen Schwierigkeiten verbundene Nachweis geringfügiger Mengen von Benzol gelang *Joachimoglu* durch ein Verfahren, das unbestritten sicher zum Erfolg führt. Dieses beruht auf der Überführung des Benzols mittels Wasser-

dämpfen in Tetrachlorkohlenstoff und Ansammlung in diesem. Dieses erhaltene Gemisch wird mit Nitrierungsflüssigkeit versetzt, worauf dann der Tetrachlorkohlenstoff verdampft wird. Falls Benzol vorhanden ist, macht sich das zurückgebliebene Nitrobenzol durch seinen spezifischen Geruch bemerkbar und wird weiterhin noch optisch nachgewiesen dadurch, daß Lävulose violett gefärbt wird. Im Gang der im allgemeinen schon sehr lange dauernden Untersuchung auf Gifte ist dieses wohl sehr brauchbare Verfahren *Joachimoglus* jedoch recht zeitraubend und umständlich und erlaubt als ledigliches Spezificum für Benzol nicht den Nachweis von ähnlichen Körpern wie Benzin, Petroleum, Xylol, Toluol usw. Aus den bisher dargelegten Gründen sahen wir uns veranlaßt, diesen Schwierigkeiten und Unzulänglichkeiten aus dem Wege zu gehen, und wir sind durch andere Überlegungen und Versuche zu gleichem Ziele gelangt.

Das Benzol ist bekanntlich ein chemischer Stoff von der Formel C_6H_6 , der eine geringe und träge Reaktionsfähigkeit besitzt und in der Kälte nur von Salpetersäure und Schwefelsäure angegriffen und in Nitrobenzol und Benzolsulfonsäure umgewandelt wird. Demnach hat das Suchen nach weiteren chemischen Wegen keine Aussicht auf Erfolg, zumal wir das Benzol in den Leichen hochgradig verunreinigt vor uns haben. Wir waren deswegen gewiesen, auf anderem Wege vorzugehen. Unsere Aufmerksamkeit lenkte sich den physikalischen Eigenschaften des Benzols zu. Es handelte sich für uns darum, die Anwesenheit des Benzols färberisch sichtbar zu machen und es weiterhin so zu charakterisieren, daß es mit den zahlreichen ähnlichen Stoffen nicht zu verwechseln ist, und außerdem den Nachweis so empfindlich zu gestalten, daß selbst die geringsten Mengen, kleinste Bruchteile eines Tropfens zur Darstellung gebracht werden können. Als Richtweg nahmen wir zunächst die von *Kockel* seit langem benutzte Erfahrung, Benzin, Petroleum, Benzol, Äther usw. im allgemeinen dadurch nachzuweisen, daß die von diesen Stoffen durchtränkten Gegenstände, wie es zum Nachweis von Brandstiftungen u. a. bedeutungsvoll ist, mit Sudan bestreut und dann mit der Lupe oder dem Mikroskop beobachtet werden, ob eine Lösung des Sudans sich vollzogen hat. Durch dieses Verhalten gibt sich zu erkennen, ob ein solcher Stoff vorhanden ist oder nicht. Unschwierig gelang es uns mit diesem Farbstoff, Benzol auch dann nachzuweisen, wenn einem Organbrei nur ein Tropfen Benzol zugemischt worden war. Erhitzten wir nämlich diese Masse im Erlenmeyerkolben und hielten dicht über den Organbrei einen mit feinem Sudanstaub behafteten Glasstab, so machte sich nach kurzer Zeit die Verflüchtigung des Benzols dadurch bemerkbar, daß das Sudan am Glasstab gelöst wurde. Dieser Vorgang gestattet selbst den Nachweis von Spuren eines Tropfens Benzol. Diese Tatsache kann man sich leicht dadurch veranschaulichen,

daß man einem Tropfen Benzol im Reagensglas Wasser zufügt und dann eine Spur Sudan zusetzt. Dadurch tritt momentan eine Lösung des Sudans ein, die oben auf dem Wasser schwimmt, und, solange noch Benzol anwesend ist, bleibt das Sudan deutlich erkennbar gelöst. Hält man in gleicher Weise wie oben einen sudanbedeckten Glasstab in das Reagensglas, so tritt an ihm beim Erhitzen des Reagensglasinhaltes sogleich eine Lösung des Sudans ein, bevor man überhaupt erkennen kann, daß von dem Tropfen Benzol im Reagensglase etwas verdunstet ist. Das Benzol ist im Reagensglas dann verschwunden, wenn das Sudan wieder seine ursprüngliche Form angenommen hat. Die Lösung des Sudans am Glasstab bleibt trotz des Verdunstens des Benzols sichtbar. Dieses ruft Verflüssigung des Sudans hervor, die durch rasches Verdunsten des Benzols am Glasstab eigenartige netzartige Lösungsfiguren zurückläßt. Die geringsten Lösungen können hierdurch mikroskopisch nachgewiesen werden, und damit ist auch die Feinheit des Nachweises dargetan. So leicht nun dieses Verfahren im Reagensglas hergestellt werden kann und praktisch da zu verwerten ist, wo das Benzol per os aufgenommen im Magen resp. Darminhalt vorhanden ist, so schwierig ist es zunächst, in ähnlicher Weise einen Tropfen Benzol durch Destillation aufzufangen und nachzuweisen. Das rasche Auftreten von Wasserdämpfen und deren Kondensierung verdecken fast völlig die spärlichen in Dampfform vorhandenen Benzolmengen. Auf jeden Fall lassen sich kleinere Mengen als ein Tropfen Benzol auf 50 g Untersuchungsmaterial nicht mehr durch Destillation auffangen. Außer diesen Unzulänglichkeiten bleibt uns noch die weitere und wichtigste Aufgabe, das Benzol spezifisch von den übrigen im allgemeinen ähnlich sich verhaltenden Körpern zu scheiden. Falls es nicht gelingt, diese unbedingte Notwendigkeit zu bezwingen, so ist der bisherige Weg als ungangbar aufzugeben. Es handelte sich für uns jetzt darum, die physikalischen Eigenschaften des Benzols zu untersuchen, um besonders charakteristische Merkmale zu entdecken, die in Verbindung des bisherigen Untersuchungsganges zu weiteren Erfolgen anspornen könnten. Es zeigte sich als auffallendes und leicht hervorzurufendes Charakteristikum der hochgelegene Erstarrungspunkt des Benzols. Benzol unter $+3,0^{\circ}$ abgekühlt erstarrt momentan in eine weißliche campherartige Masse. Erhöht man die Temperatur, so schmilzt ebenso schnell das Benzol wieder. Kein anderer Stoff, der hier in Frage kommen könnte, verhält sich ähnlich wie dieser. Dieses besondere Verhalten wurde zum Ausgangspunkt für die weiteren Untersuchungen gemacht, und tatsächlich gelang es uns, mit diesem Verhalten ein Verfahren auszubauen, das den gewünschten äußerst feinen Nachweis von Benzol bei so geringen Mengen erlaubt, wie sie nur, durch Vergiftung auf dem Luftwege hervorgerufen, in Organen vorkommen.

Nach unseren Versuchen ergab sich als bestes Verfahren folgendes: Als Untersuchungsmaterial nahmen wir nach genügenden Vorversuchen Mäuse, die mit Benzol durch Einatmung vergiftet worden waren. Sie wurden abgezogen und einzeln zur Untersuchung verwandt. In fein zerkleinertem Zustande überführten wir sie in einen Erlenmeyerkolben und destillierten ab, wobei wir folgende Apparatur als besonders zweckmäßig erkannten (siehe Abbildungen). Das kurze rechtwinklig gebogene Abführungsrohr wurde durch einen kurzen Gummischlauch mit einem U-förmig gebogenen dünnen Glasrohr verbunden, dessen Schenkel etwa 10 cm lang sind. Dieses wurde dann durch einen verschließbaren trichterförmigen Ansatz, durch den auch später eine wiederholte Ergänzung des etwa durch Kondenswasser ausgetriebenen

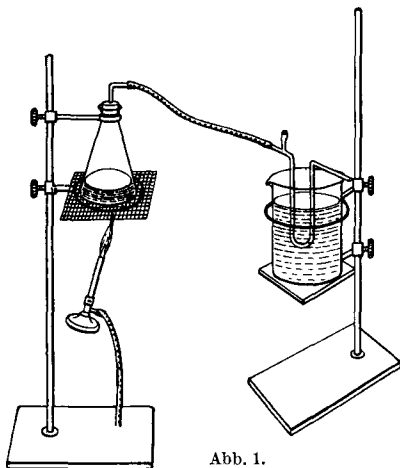


Abb. 1.

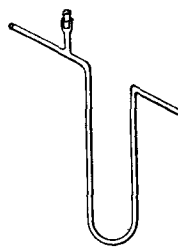


Abb. 2.

Sudans ermöglicht wurde, mit einem feinen Staub von Sudan beschickt und in ein Gefäß getaucht, das eine Kältemischung von Eis und Kochsalz enthielt. Die tiefe Temperatur von etwa -20° durchkühlt momentan das eingetauchte Glasrohr. Wurde die Destillation in Gang gesetzt, so ließ man die zuerst auftretenden Wasserdämpfe frei durch das Rohr hindurchstreichen, damit die Kondenswasserbildung möglichst vermieden wurde. Erst wenn die Überleitungsrohre so heiß wurden, daß sie kaum mehr angefaßt werden konnten, tauchte man das U-Rohr in die Kältemischung ein, und plötzlich konnte man beobachten, daß weißliche Dämpfe vordrangen, die beim Zusammentreffen mit Sudan dieses lösten. Sobald sie die Stelle erreichten, wo die Kältemischung auf das Glasrohr einwirkte, entstanden fein weißliche Stäubchen, die kristallinisch aus orthorhombischen Prismen bestehen oder ein dünner, farnkrautähnlicher, weißlicher Belag, der bei weiterem Erhitzen des Organbreies im Erlenmeyerkolben immer deutlicher in die Erscheinung trat.

Hob man nun das U-Rohr aus der Kältemischung heraus, so entstand überraschend schnell eine allgemeine kirschrote Verflüssigung des Sudans, die sich beim Eintauchen wieder als ein rötlicher Beschlag an die Glaswand anheftete. Durch wechselndes Eintauchen und Herausheben des U-Rohres ließ sich spielend dieses eigenartige Phänomen beliebig wiederholen. Mit anderen Stoffen wurde unter diesen Umständen in keiner Weise ein ähnliches Verhalten erzielt, und damit war der Nachweis einwandfrei gegeben, daß es sich um Benzol handelte.

Diese Methode gestattet nicht nur qualitativ, sondern *auch quantitativ* den Nachweis des Benzols. Es gelingt ohne jegliche Mühe, durch dauerndes Eintauchen des U-Rohres in die Kältemischung das gesamte Benzol, das aus dem Organbrei ausgetrieben wird, in dem Glasrohr zum Erstarren und somit zur Ansammlung zu bringen. Sollte man im Zweifel sein, ob diese Beschläge auch wirklich aus Benzol bestehen, so ist es zweckdienlich, ohne Sudan, aber in sonst gleicher Weise das Benzol aufzufangen. Hat man die Destillation so lange unterhalten, daß ein Übertritt von Benzol nicht mehr zu erwarten ist, so löst man das U-Rohr von der Apparatur los, ohne es jedoch aus der Kältemischung herauszuheben, saugt die Nitrierungsflüssigkeit ein und hält die beiden Öffnungen so lange verschlossen, bis die Umwandlung in Nitrobenzol vollzogen ist. Sogleich tritt der typische, intensive, bitteren Mandeln ähnliche Geruch als untrügliches Zeichen des wirklich vorhandenen Benzols auf.

Es fragt sich noch, in welcher Empfindlichkeit die Reaktion sich gestaltet. Unsere Versuche stellten wir zunächst mit Mäusen an, die durch verdunstetes Benzol vergiftet worden waren und im abgezogenen Zustande mit einem Gewicht von etwa 12 bis 16 g einzeln untersucht wurden. Selbst bei diesem minimalen Untersuchungsmaterial konnten wir mit aller Deutlichkeit und in jedem Falle den Nachweis des Benzols führen. Bei den Organen eines Hundes, der in gleicher Weise getötet worden war, erhielten wir aus etwa 100 g Organbrei dicke Beschläge an der Wand des U-förmigen Glasrohres. Quantitativ ließen sich deutlich Abstufungen in den einzelnen Organen feststellen. Die größten Mengen fanden sich im Hirn und Rückenmark. Diese Tatsache stimmt mit den Befunden von *Joachimoglu*, *Schmitz* und *Stuelp* überein. Eine fast gleich große Menge konnte in der Milz, Leber und in den Nieren festgestellt werden. In den übrigen Organen waren geringere Mengen vorhanden, am wenigsten im Fettgewebe und in der Muskulatur. Mit dem Ausfall dieser quantitativ gefundenen Mengen erhielten wir den Maßstab dafür, welche Organe am wichtigsten für die vorzunehmende physikalische Untersuchung bei dieser Vergiftung sind, und diese Ergebnisse lassen sich auch zwanglos und leicht mit den klinischen Auffassungen über die Vergiftung mit Benzol in Einklang bringen. Und

sie können uns eine Stütze für die physiologische Auffassung der Vergiftung geben, wenn man annehmen will, daß das Benzol als Kontaktgift eine Störung dadurch hervorruft, daß die Fette und fettähnlichen Stoffe nicht allein in den Organen, sondern auch in den einzelnen Zellen so beeinflußt wurden, daß eine zelluläre Funktionsuntüchtigkeit im ganzen Körper schlagartig eintritt.

Zum Schluß sei noch auf die Möglichkeit der *Unterscheidung des Benzols* von den übrigen obengenannten Stoffen eingegangen. Nach den bisherigen Ausführungen liegt das Charakteristische des Nachweises von Benzol in dieser Form einmal in der Lösungsfähigkeit des Sudans und andermal in der leichten Erstarrung und Lösung des Benzols unterhalb und oberhalb der Temperatur von $+3^{\circ}$. Das letztere ist in keiner Weise bei Benzin zu erreichen. Bei der Destillation von Benzin nach obigem Verfahren läßt sich ebenfalls eine Lösung von Sudan erreichen, die aber schnell wieder verschwindet, weil die Benzindämpfe, ohne daß man sie so zum Erstarren bringen kann, durch die aus dem Destillationsapparat nachfolgenden Dämpfe ausgetrieben werden. Aber trotzdem läßt sich in gewisser Beziehung ein Unterschied von der kirschroten Lösung des Sudans mit Benzol dartun, weil nämlich im Gegensatz dazu die Lösung des Sudans mit Benzin einen orangeroten Farbton aufweist.

Aus alledem geht hervor, daß wir neben dem Verfahren von *Joachimoglu* eine Methode zum Nachweis von Benzol in Leichenorganen erlangt haben, die zum mindesten von gleicher Sicherheit und Schärfe ist. Sie unterscheidet sich von jener durch die umfassendere Möglichkeit eines Giftnachweises, nämlich den Nachweis einer ganzen Gruppe von Stoffen, und gleichzeitig erlaubt sie uns, das Benzol unter diesen flüchtigen und chemisch schwer zugänglichen Stoffen allein herauszufassen. Überdies beruht ihre Bedeutung neben der einfachen und schnellen Handhabung auf der Möglichkeit des gleichzeitigen qualitativen und annähernd quantitativen Nachweises.

Literaturverzeichnis.

Joachimoglu, Biochem. Zeitschr. 1915, Nr. 10. S. 93. — *Charassien und Morel*, Compt. rend. de l'Académie des sciences 1906, Nr. 143, S. 966. — *Schmitz, E.*, Zur chemischen Diagnose der akuten Benzolvergiftung. Dtsch. med. Wochenschr. 1915, Nr. 42, S. 1250. — *Stuelp*, Akute Benzolvergiftung mit Obduktionsbefund und chemischem Nachweise von Benzol im Gehirn. Zeitschr. f. Medizinalbeamte **32**, 297. 1919.
