

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Basel. — Vorsteher: Professor Dr. W. Gerlach.)

Der Elementnachweis im Gewebe.

VI. Mitteilung.

Grundsätzliches über die Anwendung der Emissionsspektrographie zur Elementdiagnose.

Von

Prof. Dr. W. Gerlach und Dr. phil. K. Ruthardt.

Die Veröffentlichungen von *Kunowski* und *Timm* über den Nachweis von Barium im Menschenknochen in dieser Zeitschrift geben uns Veranlassung, ganz kurz die wesentlichsten Grundlagen der chemischen Emissionsspektrographie darzulegen, sowie auf die wichtigsten Punkte der Deutung spektroskopischer Aufnahmen einzugehen. Es erscheint uns das an dieser Stelle von besonderer Bedeutung, da die Methode gerade für die gerichtliche Medizin sehr bedeutungsvoll ist und weil allzu leicht Mißerfolge der *Methode* zugeschrieben werden, die auf unrichtiger Anwendung derselben oder fehlerhafter Deutung der gewonnenen Resultate beruhen und somit dem Untersucher zur Last fallen.

Die chemische Emissionsspektralanalyse beruht bekanntlich auf der Tatsache, daß im Dampfzustand befindliche Atome, wenn sie zum Leuchten angeregt werden, ein Linienspektrum emittieren, das für die betreffende Atomart charakteristisch ist. Dabei hat man zu unterscheiden zwischen dem Bogenspektrum und dem Funkenspektrum. Ersteres wird hervorgerufen durch Vorgänge im neutralen Atom und entsteht hauptsächlich im Lichtbogen, während die Funkenspektren den ionisierten Atomen angehören und im kondensierten Funken auftreten. Die empfindlichsten Linien eines Atoms oder Ions sind nun seine *Grundlinien*, d. h. die Linien, die dem Übergang eines Elektrons aus dem ersten angeregten Zustand in den Grundzustand entsprechen. Sie sind für die Spektralanalyse die sog. letzten Linien. Solange nun bei Spektralaufnahmen diese letzten Linien irgendeines Elementes gefunden werden, kann mit absoluter Sicherheit auf die Anwesenheit dieses Elementes in der Funkenbahn geschlossen werden. Im umgekehrten Fall: vermutet man die Anwesenheit eines Elementes, so müssen unter allen Umständen seine letzten Linien gefunden werden, es sei denn, daß sekundäre Ein-

flüsse das Auftreten der betreffenden Linien verhindern. So ist z. B. die an sich empfindlichste Linie des Quecksilbers bei 1849,6 ÅE bei gewöhnlichen Spektralaufnahmen durch Absorption in der Luft, im (meist nicht ganz reinen) Quarz und der Gelatine der photographischen Platte nicht brauchbar. Zu warnen ist auf jeden Fall davor, aus dem Vorhandensein von Linien, deren gemessene Wellenlängen nach den Tabellen mit Linien eines unbekannten Elementes übereinstimmen, die aber in Wirklichkeit anderer Herkunft (atmosphärischen Ursprunges, eines anderen sonst vorhandenen Elementes) sind, auf die Anwesenheit eines unbekannten Elementes zu schließen. Für einen einwandfreien Nachweis müssen die *Grundlinien gefunden werden.*

Ob nun die Grundlinien des neutralen Atoms oder des Ions empfindlicher sind, hängt vor allem von der Art der elektrischen Anregung ab. Will man den Nachweis bis auf möglichst kleine Konzentrationen ausdehnen, so müssen nach dem eben Gesagten ebenfalls die Grundlinien verwendet werden. Diese Bedingung wird häufig nicht eingehalten. So verwendet *Kunowski* für die Bestimmung von Barium im Knochen die Funkenlinien bei 2300 ÅE, die höheren Anregungszuständen entsprechen, nicht aber die Grundlinie bei 4554,0 ÅE, die weit empfindlicher ist und eine Steigerung der Empfindlichkeit um mehrere Zehnerpotenzen ermöglichen würde. Es besteht also auch nach seiner Veröffentlichung durchaus die Möglichkeit, daß im menschlichen Knochen Barium vorhanden ist, nur in erheblich geringerer Menge, als sie durch die Funkenlinien bei 2300 ÅE angegeben wird. Erst bei Berücksichtigung dieser Tatsache wäre die Art des Nachweises so, daß man die Methode als „Methode der Wahl“ bezeichnen könnte.

Was die Methode der Lichtanregung betrifft, so wollen wir uns im folgenden auf medizinische Fragen beschränken, auf die technisch wichtige Untersuchung von festen Metallproben, die das Hauptanwendungsgebiet des kondensierten Funkens bilden, sei hier nicht eingegangen.

Für die Untersuchung von Organstücken und Schnitten hat sich weitaus am besten bewährt der *Hochfrequenzfunke* nach der Anordnung von *Walther Gerlach und Schweitzer*, von *Walther und Werner Gerlach*¹. Hierbei wird die betreffende Organprobe von 0,1—0,5 g Feuchtgewicht im Funken vollständig verbrannt, so daß also alle etwa vorhandenen Metalle oder deren Salze in die Funkenbahn gelangen und somit die Empfindlichkeit voll ausgenutzt wird. Für die Untersuchung von Lösungen hat sich bis jetzt am besten bewährt der *Flammenbogen* oder besser gesagt *Hochspannungsbogen*. Das ist die Entladung, die man erhält, wenn die Sekundärspule eines Induktors direkt mit der Lösungs-

¹ Eine Verbrennung von Organmaterial im Kupferlichtbogen lieferte in einigen Fällen (Hg, Au) ebenfalls gute Ergebnisse. Über den Ausbau der Methode wird an anderer Stelle berichtet.

elektrode verbunden wird. Er ist in bezug auf Empfindlichkeit dem kondensierten Funken entschieden vorzuziehen, ersterer liefert ein sehr reines Bogenspektrum, und zwar vorzugsweise die Grundlinien der Atome letzterer Funken- und Bogenspektrum gemischt und außerdem die Linien der festen Gegenelektrode in sehr starker Intensität. Dabei ist besonders zu betonen, daß sowohl bei dem Hochfrequenzfunken wie bei dem Flammenbogen die Reinheit der Gegenelektrode ziemlich gleichgültig ist, da von ihr nur die stärksten Linien, mithin schwache Verunreinigungen nicht in Erscheinung treten. Zur Erzielung einer hohen Empfindlichkeit ist aber eine möglichst reine Entladung wünschenswert. Noch übertroffen wird in einigen bis jetzt untersuchten Fällen der Flammenbogen vom Abreißbogen (vgl. hierzu eine im Druck befindliche Arbeit von *Wa. Gerlach und K. Ruthardt*).

Bei der Untersuchung von Lösungen spielt ferner die Art der Lösungselektrode eine Rolle. Wir bevorzugen Metallelektroden von etwa 4 cm oberem Durchmesser; sie sind meist aus Messing und auf der Oberfläche mit einem Platinblech versehen, damit ein Ausfall von edlen Metallen auf Grund der Spannungsreihe vermieden wird. Gegen die Verwendung von Kohleelektroden sprechen verschiedene Umstände. Einmal ist sehr reine Kohle schwer herzustellen, und auch die reinsten Kohlen sind meist nur an der Oberfläche wirklich rein, es kann also bei der Inhomogenität der Kohle ein einmaliges Abfunken als Kontrollaufnahme nicht genügen, denn bei längerem Abfunken kommen Verunreinigungen zum Vorschein, und zwar die verschiedensten Elemente. Aber auch ohne daß ein Teil abgepunktet wird, diffundieren diese inneren Verunreinigungen an die Oberfläche, sobald die Kohle, wie etwa beim Flammenbogen, erhitzt wird.

Bei der bisher üblich gewesenen Methode, das zu untersuchende Material in eine ausgehöhlte Kohleelektrode zu bringen, erwächst dazu der Nachteil, daß gewöhnlich nur der mittlere Teil des Funkens benutzt wird. Das ist ganz unzulässig, denn bei gleicher Metallmenge erhält man durch geringfügige Änderung der Entladungsbedingungen ganz starke Intensitätsvariationen. Man muß immer die *ganze* Lichtquelle verwenden, was aber wegen der ausgehöhlten Elektrode prinzipiell nicht geht. Bei Anwendung des Hochfrequenzfunkens läßt sich aber die ganze Lichtquelle abbilden, ebenso bei dem Flammenbogen, bei dem die zu untersuchende Flüssigkeit eine ausgesprochene Kuppe haben muß.

Weiter spricht gegen die Verwendung der Kohle die Tatsache, daß an ihr Ionen adsorbiert werden können, ein Umstand, der ganz falsche Bilder von den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen liefert. Ergebnisse, die mit Kohleelektroden gewonnen sind, können daher, wie aus den vorhergehenden Darlegungen hervorgeht, besonders auch, wenn es sich um den Nachweis von geringen Substanzmengen in Lösungen

handelt — für Metallpulver u. dgl. treten diese Faktoren in den Hintergrund — nicht so einwandfrei genannt werden, wie solche mit Metallelektroden. Daß die Empfindlichkeit bei Verwendung von Metallelektroden geringer ist, wurde von uns nicht gefunden und würde auch bei richtiger elektrischer Anregung nicht der Fall sein.

Neben dem Abreißbogen (der sich vielfach besser bewährt hat) kann eine Steigerung der Empfindlichkeit auch durch vorherige elektrolytische Abscheidung erreicht werden, wie das z. B. Bayle und Amy getan haben. Beim nachherigen Abfunken, wofür man z. B. einen durch einen im Sekundärkreis vorgeschalteten Elektrolyt-Widerstand gedämpften kondensierten Funken verwendet, wird einmalig die ganze Substanzmenge im Funken verdampft. Allerdings erfordert die vorherige elektrolytische Abscheidung einen Mehraufwand von Zeit, außerdem kann sie durch die Anwesenheit fremder Ionen sehr beeinträchtigt werden, ein Umstand, der beim direkten Funken ohne Vorbehandlung wegfällt.

Es sei noch einiges über die Wahl des Spektrographen gesagt. Da oft nur geringe Mengen der zu untersuchenden Proben zur Verfügung stehen, ist man in der Länge der Belichtungszeit beschränkt. Aber selbst wenn genügend Material vorliegt, kann man nicht durch andauernde Steigerung der Belichtungszeit eine entsprechende Vergrößerung der Empfindlichkeit erreichen. Hier sind Grenzen gesetzt, durch die mit der Belichtungszeit stark zunehmende Untergrundschwärzung, die durch Banden und kontinuierliches Spektrum verursacht ist. Es kommt daher bei dem Spektrographen auf zwei Punkte an, auf die Lichtstärke und die Dispersion. Die Lichtstärke muß eine große sein, wenn man nur wenig Substanz zur Untersuchung besitzt, die Dispersion muß eine große sein, wenn man sehr lange belichten will. Es ist unter allen Umständen erwünscht, diese beiden Faktoren bei der Wahl des Spektrographen zu berücksichtigen. Bei der Untersuchung mancher Organe finden sich allerdings nur wenige Elemente und vor allem Metalle, in geringer Konzentration, so daß sie als Grundsubstanz nur wenig Linien liefern. Bei anderen aber, beispielsweise bei der Milz, sind die Metalllinien des Eisens in großer Zahl in der „Grundsubstanz“ vorhanden; in solchen Fällen ist es dringend notwendig, mit nicht zu geringer Dispersion zu arbeiten, besonders wenn es sich um den Nachweis von Metallen handelt, deren letzte Linien im langwelligen Ultraviolet (Pb, Cr, Al) oder im sichtbaren Spektralgebiet (Ba, Ca, Sr, Tl, Zn) liegen.

Wir arbeiten im hiesigen Institut mit folgenden Spektrographen:

1. einem Fuess-Quarzspektrograph, der das ganze Spektrum von 2350—4050 Å in einer Länge von 55 mm in einer einzelnen Einstellung scharf liefert. Seine Dispersion beträgt bei 4000 Å = 69 Å pro Millimeter, bei 3500 Å = 48 Å pro Millimeter, bei 3000 Å = 32 Å pro mm, bei 2500 Å = 17 Å pro Millimeter.

2. einem Quarzspektrograph der Firma Steinheil mit zwei 30°- und einem 60°-Prisma. Für das ganze Spektralgebiet von 2400 bis etwa 5000 ÅE erfordert er zwei verschiedene Einstellungen: die eine liefert das Gebiet von 2400—3000 ÅE, scharf bei einer Länge von 6,5 cm, die andere das Gebiet von 3000—5000 ÅE, ebenfalls in einer Länge von 6,5 cm. Seine Dispersion ist die folgende: bei 4000 ÅE = 42 ÅE pro Millimeter, bei 3500 ÅE = 29 ÅE pro Millimeter, bei 3000 ÅE = 17 ÅE pro Millimeter, bei 2500 ÅE = 8 ÅE pro Millimeter.

Beide Spektrographen besitzen ein Öffnungsverhältnis von 1 : 5.

Für Untersuchungen im sichtbaren Spektralgebiet steht uns noch ein dritter Glasspektrograph der Firma Fuess mit sehr großer Dispersion, aber etwas geringerer Lichtstärke zur Verfügung.

Als Hauptvorteile der spektralanalytischen Methode und speziell mit dem Hochfrequenzfunk ergeben sich in erster Linie die folgenden: Raschheit der Ausführung, Wegfall jeder chemischen Behandlung, Wegfall der stets nicht einwandfreien Kohleelektroden, hohe Empfindlichkeit und die Verwendung der photographischen Platte.

Die Belichtungszeit liegt in den meisten Fällen unter 5 Minuten. Dabei können hintereinander auf dieselbe photographische Platte mehrere Aufnahmen gemacht werden. Beim Hochfrequenzfunk werden die Organe ohne jede Vorbehandlung frisch oder fixiert verwendet, so daß die Gefahr einer Verunreinigung durch eine vorhergehende chemische Behandlung ausgeschlossen ist. Beispielsweise bei der Veraschung im Muffelofen ist diese Gefahr eine sehr große. Gegenüber den chemischen Methoden sticht noch ganz besonders der Vorteil ins Auge, daß bei der Spektrographie *alle Metalle gleichzeitig nebeneinander* nachgewiesen werden können, so daß langwierige Trennungen und Isolermethoden wegfallen. Was die Empfindlichkeit betrifft, so muß man unterscheiden zwischen der absoluten Größe der zu erfassenden Mengen und der prozentischen Konzentration. Die erste liegt nach vielen Untersuchungen bei $10^{-1} \gamma$ bis $10^{-3} \gamma$. Die letztere bei Lösungen z. B. bei $10^{-4}\%$ (bei Verwendung des Abreißbogens in günstigen Fällen sogar bei $10^{-6}\%$). Wenn also zur Füllung der Elektrode 5 ccm benötigt werden, so können darin noch 5 γ bis 5 mal $10^{-2} \gamma$ nachgewiesen werden. Die Empfindlichkeit ist bei den einzelnen Stoffen verschieden, doch gehören gerade eine Anzahl der medizinisch wichtigsten Metalle wie Gold, Silber, Kupfer, Mangan, Blei, Thallium, Quecksilber zu den empfindlichsten Stoffen.

Durch die Verwendung der spektrographischen Methode wird das Analysenergebnis auf einer photographischen Platte erhalten, die ein objektives Bild der Untersuchung liefert. Die Platte stellt weiterhin ein Dokument für lange Zeiten dar, ein Punkt, der für gerichtlich-medizinische Zwecke von großer Bedeutung ist.

Die vorstehenden Ausführungen geben allgemeine Gesichtspunkte

wieder und erstrecken sich in erster Linie auf *qualitative* Untersuchungen. Damit ist jedoch der Anwendungsbereich der Spektralanalyse keineswegs erschöpft. Auch in *quantitativer* Hinsicht lassen sich bei richtiger Anwendung Resultate erzielen, die alle die erwähnten Vorzüge vereinigen, an Raschheit der Ausführung alle anderen Methoden übertreffen und bei der Untersuchung geringer Mengen an Genauigkeit allen übrigen Methoden gewachsen sind.

Bei der Veröffentlichung von *Walther* und *Werner Gerlach* über den Gold- und Silbernachweis im Gewebe konnten sie approximativ errechnen, innerhalb welcher Größenordnung sich Gold im Gewebe noch nachweisen lässt. Während es sich dort nur darum handelte, etwa die Größenordnung der gefundenen Goldmenge festzulegen und nicht ein quantitatives Verfahren zu geben, wie *Timm* meint, lässt sich eine sichere quantitative Spektralanalyse auf ganz anderem Weg erreichen. Ihre Möglichkeit beruht auf der einfachen Tatsache, daß unter gleichen äußeren Bedingungen bei abnehmender Konzentration eines Elementes die Intensität seiner Spektrallinien ebenfalls abnimmt. Je größer die Änderung der Intensität mit der Änderung der Konzentration ist, d. h.

je größer $\frac{dJ}{dC}$ (J = Intensität, C = Konzentration) ist, desto geeigneter ist die Linie für quantitative Untersuchungen und desto genauere Resultate liefert sie. Die Absolutintensität einer Spektrallinie hängt nun nicht allein von der Menge des Elementes, sondern daneben in sehr hohem Maß von äußeren Bedingungen ab. Hier sind in erster Linie die elektrische und optische Anordnung, die photographische Platte, die Substanz, in der das Metall nachgewiesen werden soll, bei Lösungen endlich die sonst noch anwesenden Ionen, ferner die Form, in der das Metall in Lösung vorliegt, zu nennen. Aus der Absolutintensität lassen sich daher, abgesehen von besonders günstigen Fällen, nur rohe und meist unsichere quantitative Angaben machen. Um genaue Resultate zu erhalten, greift man in der Regel zu folgendem Hilfsmittel: man vergleicht die Intensität der Spektrallinie mit einer solchen der Grundsubstanz, falls das unbekannte Element in einer solchen vorliegt oder, z. B. bei Lösungen, mit der Linie einer in bekannter Menge zugegebenen Hilfssubstanz. Das relative Intensitätsverhältnis dieser Linien zueinander muß nun von allen äußeren Veränderungen möglichst unabhängig sein, was vorher genau zu prüfen ist. Die Absolutintensität kann dann ruhig variieren. Durch Vergleich des Intensitätsverhältnisses in der Aufnahme der unbekannten Proben mit dem Intensitätsverhältnis des gleichen Linienpaars auf Aufnahmen von Standardproben kann der genaue Gehalt ermittelt werden.

Ist die Methode einmal ausprobiert, so geht sie mit derselben Raschheit wie eine qualitative Analyse. Auf weitere Einzelheiten einzugehen

ist hier nicht der Ort. Es genügt, darauf hinzuweisen, daß diese Art der Untersuchung sich bei vielen physikalisch-chemischen und technischen Problemen bereits bewährt hat. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung in Organen durch die Spektralanalyse auf der gleichen eben dargestellten Grundlage wird zur Zeit im hiesigen Institut ausgearbeitet.

Literaturverzeichnis.

Kunowski, S., Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 265 (1932). — *Timm, Fr.*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **19**, 279 (1932). — *Gerlach, Walther u. Schweitzer*, Z. anorg. u. allg. Chem. **195**, 255 (1931). — *Gerlach, Walther u. Werner Gerlach*, Der Elementnachweis im Gewebe II. Virchows Arch. **282**, 209 (1931). — *Bayle u. Amy*, Ann. Méd. lég. etc. **8** (1928). — *Timm, Fr.*, Zellmikrochemie der Schwermetallgifte. Hab.-Schrift Leipzig 1932.
