

## Erkennung der Blutflecken.

Nach einem Morde ist es bisweilen von höchster Wichtigkeit, zu entscheiden, ob Flecken auf Kleidungsstücken, auf dem Fussboden, auf einem Messer, Beile u. s. w. Blutflecken sind oder nicht, und auch in anderen Fällen kann der Nachweis, Flecken rühren von Blut her, als Indicium dienen <sup>1)</sup>. Dass die Erkennung von Flecken als Blutflecken unter manchen Umständen leicht sein werde, unter anderen Umständen mehr oder weniger schwierig sein müsse, ja unmöglich sein könne, leuchtet ein, wenn man berücksichtigt, wo und wie sich die Flecken vorfinden können. Die Flecken können frisch oder alt sein, es kann versucht sein, sie durch kaltes oder heisses Wasser zu beseitigen, das Zeug kann ungefärbt oder gefärbt sein, der Fussboden kann Holz, Stein oder Erde, das eiserne Instrument blank oder rostig sein.

Früher war man in Bezug auf die Erkennung von Blutflecken fast ausschliesslich auf chemische Reactionsmittel angewiesen, deren Natur und Benutzung sich darauf gründete, dass das Blut einen rothen, eisenhaltigen Farbstoff und Proteinsubstanzen enthält. Man sah zu, ob sich, durch Wasser oder alkalisches Wasser, aus den Flecken ein röthlicher Auszug erhalten liess oder nicht; ob der Auszug die Reactionen einer proteinhaltigen Flüssigkeit gab oder nicht; ob Eisen vorhanden oder nicht; man versuchte die Bildung von Cyankalium, wobei man wohl beachten musste, dass Wolle, Seide, stickstoffhaltige organische Substanzen überhaupt die Bildung von Cyankalium veranlassen. Aus der ganzen Reihe bejahender Reactionen dieser Art zog man nun den Schluss, die Flecken seien Blutflecken. An einem specifischen Erkennungsmittel des Blutes fehlte es, wenn es nicht etwa möglich war, das Vorhandensein von Blutkörperchen durch das Mikroskop nachzuweisen.

Nunmehr haben sich die Verhältnisse sehr zu Gunsten der Sache geändert; wir besitzen jetzt ein Erkennungsmittel des Blutes, das ebenso charakteristisch als empfindlich ist, durch welches also die kleinsten Mengen Blut mit der grössten Sicherheit zu erkennen sind. Es war Teichmann, welcher 1853 die interessante Entdeckung machte,

<sup>1)</sup> Ein solcher Fall ist z. B. der folgende. Es war ein Hammel gestohlen und das Thier an Ort und Stelle abgekehlt worden. An dem Taschenmesser und der Kleidung des des Diebstahls verdächtigen Individuums wurden Flecken als Blutflecken erkannt.

dass durch Behandeln von Blut mit einem Ueberschuss von wasserfreier Essigsäure eigenthümliche rothbraune Krystalle erhalten werden können, welche man Anfangs nach ihrem Entdecker Teichmann'sche Blutkrystalle nannte, jetzt aber ganz allgemein als Häminkrystalle oder Hämin bezeichnet. Nach Hoppe-Seyler, welcher sich am eingehendsten mit dem Studium des Hämins beschäftigt hat, wird dasselbe als eine salzartige Verbindung des Hämatins, eines aus dem rothen Blutfarbstoff, dem Hämatokrystallin (Hämoglobin), unter der Einwirkung verschiedener Agentien, neben Eiweissstoffen und flüchtigen Fettsäuren, entstehenden eisenhaltigen Pigmentes, mit Salzsäure, als salzsaures Hämatin (Chlorhämatin) aufgefasst. Brücke zeigte, dass sich auf dies Verhalten des Blutes die empfindlichste Probe für Blut

Fig. 20.



Fig. 21.



gründen lasse. Erhitzt man nämlich die kleinste Menge Bluts substanz (getrocknetes Blut oder eingedampften Wasserauszug aus trockenem Blut, aus Blutflecken) mit wasserfreier Essigsäure (Eisessig der Officinen), und verdampft man die Lösung, so zeigen sich im Rückstande, unter dem Mikroskope, bei hinreichender (etwa 300 maliger) Vergrößerung, die fraglichen, in Fig. 20 und 21 abgebildeten Krystalle<sup>1)</sup>.

Begreiflich hat man nun mit der grössten Sorgfalt ermittelt, wie operirt werden muss, um die Krystalle sicher zu erhalten. Ehe ich die vorgeschlagenen Verfahren beschreibe, mag das Folgende gesagt werden.

Trocknet Blut auf Zeug ein, so ertheilt es dem Zeuge Steifigkeit. Auf ungefärbtem Zeuge erscheinen Blutflecken hellcarmoisinroth oder mehr oder weniger dunkelrothbraun oder schwarzbraun, um so dunkler, je dicker und älter sie sind; ebenso auf Holz und Stein. Sind die Flecken an wenig oder gar nicht durchlassenden Gegenständen eingetrocknet und nicht mehr sehr frisch, so ist die Oberfläche derselben gewöhnlich rissig; die Risse sind mehr oder weniger tief, verlaufen meistens geradlinig, entweder einander parallel oder häufiger sich in verschiedenen Richtungen durchkreuzend. Dickere Blutflecken zeigen keinen muscheligen, sondern einen zackigen Bruch. Ist der Fleck frisch, und er hat recht trocken gelegen, so erscheint seine Oberfläche mehr oder weniger glänzend, zuweilen sogar spiegelnd (Struve). Trockneten die Flecken rasch an porösen, durchlassenden Gegenständen ein, waren sie ungünstigen, zersetzenden Einflüssen (der Luft, Feuchtigkeit, grellem Lichte u. a. m.) ausgesetzt gewesen, befanden sie sich

<sup>1)</sup> Nach Bojanowsky; Fig. 20 aus frischem Blut; Fig. 21 aus alten Blutflecken.

längere Zeit an getragenen Kleidungsstücken oder an gebrauchten Geräthen, oder versuchte man sie durch Schaben oder Waschen zu entfernen, so bieten sie selbstverständlich ein mehr oder weniger abweichendes Bild dar. Aus Zeug schneidet man die Flecken für die Untersuchung heraus; von Holz nimmt man sie vorsichtig mit einem scharfen Meissel oder Messer ab; von Stein oder Eisen schabt man sie sorgfältig ab.

Bringt man die von Blut durchdrungene Substanz oder das Abgeschabte in ein wenig kaltes Wasser, in einem Porzellanschälchen, leitet zweckmässig Kohlensäure hindurch<sup>1)</sup>, so weicht das Blut auf, wenn es nicht durch heisses Wasser geronnen ist, es entstehen röthliche oder bräunliche Streifen oder Wolken, um so rascher, je frischer das trockene Blut ist. Flecken auf Zeug, Holz verschwinden dabei mehr oder weniger vollständig. Der Auszug, verdunstet, giebt einen rothbraunen oder braunen Rückstand.

Nun zur Darstellung der Häminkristalle. Nach Hoppe-Seyler lässt man den mit einigen Tropfen kalten, kohlensäurehaltigen Wassers bereiteten, von Fasern und dergleichen möglichst freien Auszug aus Flecken u. s. w. in einem Uhrglase eintrocknen, an einem staubfreien Orte. Auf den Rückstand bringt man ein Körnchen Kochsalz, so klein, dass man es kaum sieht, tröpfelt 6 bis 8 Tropfen concentrirteste Essigsäure darauf, reibt nöthigenfalls mit einem dünnen Glasstäbchen etwas zusammen, erhitzt nach erfolgter Lösung schnell einmal über einer kleinen Flamme und lässt dann die Lösung auf einem schwach erwärmten Wasserbade allmählich verdunsten. Den Rückstand, der nicht mehr nach Essigsäure riechen darf, untersucht man unter dem Mikroskope. Resultat ausgezeichnet.

Nach Anderen, z. B. Brücke, werden die Flecken oder das Abgeschabte mit etwas concentrirtester Essigsäure in einem Reagensröhrchen aufgeköcht; von der abgegossenen oder abfiltrirten Lösung werden einige Tropfen auf einem Uhrglase, nachdem eine Spur Kochsalz zugegeben ist, bei 40 bis 80° C. zur Trockne verdampft; der Rückstand wird mikroskopisch untersucht. Es macht bei diesem Verfahren keinen Unterschied, ob das Blut geronnen oder nicht geronnen ist.

Erdmann hat gezeigt, dass sich die ganze Operation der Darstellung der Häminkristalle auf dem Objectglase ausführen lässt, und ich kann versichern, dass, wer einmal auf diese Weise gearbeitet hat, nicht leicht mehr auf andere Weise arbeiten wird. Der Erfolg des Erdmann'schen Verfahrens muss wunderbar genannt werden. Man bringt das zu Untersuchende (was von einem Flecken abgekratzt werden kann, oder die befleckte Faser selbst, oder eingedampften Auszug) auf das Objectglas, fügt eine Spur Kochsalz zu, legt ein Deckglas darüber, lässt mittelst eines Glasstabes einen Tropfen concentrirteste

<sup>1)</sup> Zur leichteren Lösung der Blutkörperchen (s. u.).

Essigsäure zufließen (er zieht sich durch Capillarität zwischen die beiden Gläser), erhitzt über einer sehr kleinen Spiritusflamme oder Gasflamme, so dass die Bluts substanz gelöst wird, und lässt dann, das Glas höher über die Flamme haltend, verdunsten. Von Zeit zu Zeit untersucht man nun mikroskopisch; war auch nur die kleinste, kaum sichtbare Menge Bluts substanz vorhanden, so kommen die kleinen zarten Hämkristalle sicher zum Vorschein. Man wende ein gutes Mikroskop mit mindestens 300maliger Vergrößerung an.

Ich halte es für das Wichtigste bei dem Erdmann'schen Verfahren, dass die Lösung nicht zur Trockne verdampft werde. Sollten die Krystalle nicht sogleich auftreten, so lasse man sich nicht abschrecken, man füge wiederholt einen Tropfen Essigsäure zu und verdampfe. Eine Ursache, dass Krystalle nicht sogleich entstehen, ist grosse Dichtheit, Trockenheit der Bluts substanz und zu rasches Verdunsten der Essigsäure. Man muss dem Lösungsproceß Zeit gönnen, und es ist deshalb rathsam, die Essigsäure erst einige Zeit bei gewöhnlicher Temperatur einwirken zu lassen, damit die Bluts substanz

Fig. 22.



erweiche, und die erhaltene Lösung allmählich verdunsten lassen.

Am leichtesten und schönsten habe ich die Krystalle stets erhalten, wenn sich auf dem Ob-

jectglase ein wenig ungelöste oder unlösliche Substanz befindet, wo dann begreiflich das Deckgläschen klappt, nicht dicht aufliegt<sup>1)</sup>. Es zieht sich dann die Flüssigkeit, während des Verdampfens durch Capillarität, nach der Berührungsstelle der Gläser, hier eine mehr oder weniger gefärbte Schicht bildend. An dieser Stelle entstehen und finden sich dann die Krystalle. Was für Grössen und Gestalten vorkommen, zeigt die obenstehende, von Th. Hartig gezeichnete, Fig. 22 (300malige Vergrößerung). Wie ein Blick auf die Abbildung zeigt, treten die Hämkristalle in sehr mannigfachen Formen und in sehr verschiedener Grösse auf; alle aber gehören, soweit sie bis jetzt untersucht sind, dem rhombischen Systeme an<sup>2)</sup>. Die gewöhnlichsten Formen sind die hanfkornförmigen Krystalle, seltener treten Krystalle auf, deren Form der eines Paragrafenzeichens oder Weberschiffchens ähnelt, und am seltensten werden die rhombischen Plättchen mit deutlich ausgeprägten Winkeln erhalten, welche Fig. 20 u. 21 darstellen. Diese Plättchen liegen häufig kreuzweise über einander; meistens besteht jedes Kreuz aus zwei, seltener aus mehreren Krystallen. Aus geringen Mengen

<sup>1)</sup> Exner empfiehlt, ein Haar zwischen Objectglas und Deckgläschen zu legen.

<sup>2)</sup> Nach Högys sollen sie dem monoklinischen oder triklinischen Systeme angehören, nicht dem rhombischen.

von Blut fallen die Krystalle gewöhnlich sehr klein aus, ebenso beim raschen Verdunsten ihrer Lösung in Essigsäure. Sie sind meistens opak, nur die ganz dünnen lassen das Licht durch und erscheinen, im durchfallenden Lichte betrachtet, braun. In Wasser suspendirt, oder in anderen ungefärbten Flüssigkeiten (z. B. Essigsäure), erscheinen sie violettgrau, metallglänzend und bei der Bewegung stark glitzernd. Sie sind pleochromatisch, bei auffallendem Lichte blauschwarz, wie angelaufener Stahl glänzend, bei durchfallendem mahagonibraun und doppelt-brechend. Betrachtet man einen durchsichtigen Häminkrystall (er muss auf der breiten Seite liegen) unter dem Mikroskope durch ein Nicol'sches Prisma, so erscheint er dunkelbraun oder schwarz, wenn die Schwingungsrichtung des Prismas mit der Makrodiagonale des Rhombus zusammenfällt; hellgelbbraun, wenn seine Schwingungsrichtung mit der Brachydiagonale des Rhombus coincidirt (Rollet). Die Häminkrystalle sind in den gewöhnlichen Lösungsmitteln (z. B. in Wasser, Weingeist, Aether) vollkommen unlöslich, sie lösen sich in concentrirter Schwefelsäure, unter Abspaltung der Chlorwasserstoffsäure, mit violettrother Farbe, auch in Salpetersäure und in Alkalien auf. In kalter Essigsäure sind sie so gut wie unlöslich. Lässt man mittelst eines dünnen Glasstäbchens zu dem mikroskopischen Präparate einen Tropfen mässig concentrirter Kalilauge fließen, so verschwinden die Krystalle, und man erhält eine dichroitische, bei auffallendem Lichte braunroth, bei durchfallendem Lichte in dünner Schicht olivengrün, in dickerer Schicht granatroth erscheinende Lösung (s. u.). Die sauren Lösungen sind monochromatisch, braun.

Die Häminkrystalle können wohl nicht mit anderen Krystallen verwechselt werden; man überzeuge sich indess doch durch das Mikroskop, ehe man das Object mit Essigsäure erhitzt, dass in demselben Krystalle nicht vorhanden sind. Aus mit Indigo gefärbtem Zeuge werden (nach Brücke) durch Behandlung mit Essigsäure auch Krystalle erhalten. Diese sollen sich aber von den Häminkrystallen durch ihre blaue Farbe und abweichende Krystallform unterscheiden.

Der Zusatz von Kochsalz bei der Darstellung der Häminkrystalle ist nicht durchaus nothwendig, wenn das Blut nicht durch Auswaschen von seinen salzartigen Bestandtheilen befreit wurde, aber es ist doch rathsam, weil nie nachtheilig, denselben zu machen. Etwa sich zeigende farblose Kochsalzkrystalle sind leicht zu unterscheiden und durch Wasser zu entfernen.

Die Häminkrystalle geben, wie gesagt, ein specifisches Erkennungsmittel des Blutes ab. Glückt die Darstellung derselben, so kann man mit der grössten Bestimmtheit den fraglichen Fleck als einen Blutfleck ansprechen, auch wenn wegen Mangels an Substanz andere Reactionen mit demselben nicht angestellt werden können. Man muss die Häminkrystalle deshalb vor Allem zu erhalten suchen, wenn man nur über geringe Mengen von Substanz zu verfügen hat. Indessen gelingt

ihre Darstellung aus Blutflecken doch nicht in allen Fällen, so dass man aus dem Nichterhalten derselben nicht mit Bestimmtheit den Schluss ziehen darf, dass der fragliche Fleck kein Blutfleck sei. Ist das Blut einige Zeit mit verwesenden oder faulenden organischen Stoffen in Berührung gewesen und in Folge dessen gründlich zersetzt worden, so ist es nicht immer möglich, aus demselben die Krystalle darzustellen (Preyer<sup>1)</sup>. Ebenso wenig gelingt die Darstellung der Krystalle, wenn das Blut Gegenständen anklebt, die mit dem Hämatin in Wasser unlösliche Verbindungen eingehen, wie Eisenoxyd, wogegen das Alter frisch eingetrockneter Blutflecken für das Gelingen der Probe gleichgültig ist (Gorup-Besanez<sup>2)</sup>.

Sind Häminkrystalle erhalten worden, so kann man durch folgende Reactionen das Vorhandensein von Blut weiter bestätigen.

Giebt man in ein Glasröhrchen etwa einen halben oder ganzen Cubikcentimeter ozonisirtes Terpentinöl<sup>3)</sup> und etwa ebensoviel Guajak-tinctur, und fügt man dann ein wenig Bluts substanz hinzu (getrocknetes Blut oder beflecktes Zeug, Abgeschabtes, oder Auszug), so kommt beim Schütteln eine hellblaue Färbung zum Vorschein, und die sich ausscheidende Tinctur ist tiefblau (Schönbein). Das Guajak zu der Tinctur muss aus dem Innern eines Stückes Harz genommen werden, und die Tinctur muss bis zur bräunlichgelben Färbung durch Weingeist verdünnt sein, sie darf nicht braun erscheinen. Stellen auf Zeug, von denen man Blutflecken durch kaltes Wasser möglichst entfernt hat, werden noch blau, wenn man sie mit ozonisirtem Terpentinöl und Guajaktinctur befeuchtet (van Deen). Die Reaction ist äusserst empfindlich, aber leider wird sie, ausser durch Blutkörperchen, durch andere Substanzen, z. B. durch Eisensalze, Nitrite hervorgebracht, die entweder unmittelbar (Ferrisalze) oder unter Vermittelung des Terpentinöls die Tinctur bläuen<sup>4)</sup>. Vitali empfiehlt, auf folgende Weise zu operiren, um Täuschungen thunlichst auszuschliessen. Der zu untersuchende Fleck wird mit kohlenensäurehaltigem Wasser oder, wenn er sehr alt ist, mit verdünntem, von Stickstoffsäuren freiem Alkali ausgezogen, der Auszug, wenn nöthig, filtrirt und zu einem Theile des Filtrats, eventuell nach Ansäuern mit Essigsäure, eine kleine Menge alkoholischer Guajakharzlösung gefügt. Färbt sich die dadurch milchig gewordene Flüssigkeit im Zeitraume von  $\frac{1}{4}$  Stunde nicht blau, so sind oxydirende

<sup>1)</sup> Die Blutkrystalle. Jena 1871, S. 112 ff.

<sup>2)</sup> H. Schiff konnte aus einer Blutmasse, die einer vor 100 Jahren angelegten Florentiner Sammlung entnommen war, Teichmann'sche Krystalle darstellen, und Vitali gelang es sogar, solche zu erhalten aus dem Inhalte eines 260 Jahre alten Grabes.

<sup>3)</sup> Terpentinöl, welches längere Zeit in einem Glase mit nicht absolut dicht schliessendem Glasstöpsel und dem Sonnenlichte ausgesetzt aufbewahrt wurde, ist ozonisirt.

<sup>4)</sup> Ferriacetat soll sich nach einer gütigen Mittheilung von E. Schaer abnorm verhalten, wenn frei von anorganischem Ferrisalze weder die Tinctur noch das mit Wasser ausgefällte Harz derselben bläuen.

Agentien, welche das Resultat trüben könnten, nicht gegenwärtig. Man setzt jetzt einige Tropfen Terpentinöl zu und schüttelt um. Bei Gegenwart von Blutfarbstoff nimmt die milchige Flüssigkeit, je nach der vorhandenen Menge desselben, entweder sogleich oder in kurzer Zeit eine blaue Farbe an. Die Reaction wird durch Anwendung von gelinder Wärme empfindlicher, so empfindlich, dass sich Blut angeblich noch in der Verdünnung  $\frac{1}{100\,000\,000\,000}$ !! nachweisen lässt. Die Reaction soll auch noch mit gefaultem, zwei Monate altem Blute gelingen. Die gänzliche Abwesenheit von Stickstoffsäuren in den zum Ausziehen der Blutflecken zu benutzenden Alkalien ist deshalb erforderlich, weil die geringste Menge derselben beim Ansäuern eine Bläuung des Guajakharzes hervorruft<sup>1)</sup>.

Hat man aus den Flecken u. s. w. mit kaltem Wasser einen Auszug erhalten (s. o.), und erhitzt man denselben in einem Glasröhrchen, so verschwindet die röthliche oder bräunliche Färbung, er wird opalisirend, und es scheiden sich auch wohl grauweisse Flocken von geronnenem Eiweiss aus<sup>2)</sup>. Setzt man dann einen oder einige Tropfen des Millon'schen Reagens hinzu<sup>3)</sup>, und erwärmt man, so nehmen die Flocken eine mehr oder weniger rein ziegelrothe oder bräunlichrothe Farbe an. Gleich gefärbte Flocken treten auf, wenn man den Auszug ohne weiteres mit dem Reagens versetzt und erwärmt.

Salpetersäure scheidet aus dem Auszuge weissliche Flocken ab, welche beim Erhitzen in der Flüssigkeit eine mehr oder weniger rein gelbe Farbe annehmen.

Chlorwasser färbt den Auszug zuerst grünlich, bald tritt Entfärbung ein, und es entstehen, besonders beim Erwärmen, weisse Flocken.

Macht man den Auszug mit Ammoniak oder Kalilauge schwach alkalisch, fügt dann Gerbstofflösung (Lösung von Tannin, Gerbsäurelösung) und schliesslich Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaction hinzu, so entsteht eine braune Fällung, welche aus einer Verbindung des Hämatins mit Gerbsäure besteht. Die geringsten Spuren von Blutfarbstoff lassen sich auf diese Weise noch leicht und vollständig abscheiden. Diese Gerbsäureverbindung eignet sich vorzüglich zur Darstellung von Häminkristallen (Struve). Zu dem Ende reinigt man den Niederschlag, nachdem er sich vollständig (in einem spitz zu-

<sup>1)</sup> Statt des Terpentinöls ist vor einiger Zeit das Eucalyptusöl von Ladendorf empfohlen worden. Es soll zur Erkennung von Blut brauchbarer als jenes sein.

<sup>2)</sup> Verfügt man nur über sehr geringe Mengen von Flüssigkeit, so stelle man den Versuch (und auch die weiteren Versuche) in einem kleinen Uhrsälchen oder auf einem Objectgläschen an und beobachte die Erscheinungen mittelst der Lupe. Die Reagentien bringe man in angemessener Menge, mittelst eines dünnen Glasstäbchens, in die zu untersuchende Lösung.

<sup>3)</sup> Man erhält dies höchst empfindliche und charakteristische Reagens auf Proteinstoffe durch Auflösen von Quecksilber in kalter, rother, rauchender Salpetersäure und Verdünnen der Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser.

gehenden Gläschen) abgesetzt hat — die Flüssigkeit muss farblos sein — durch Decantiren, bringt ihn dann auf ein Filter, lässt abtropfen, streicht den nunmehr breiigen Niederschlag auf ein Glastäfelchen und trocknet ihn bei gewöhnlicher Temperatur. Selbst geringe Mengen desselben geben, auf die oben beschriebene Weise mit Essigsäure behandelt, eine reichliche Anzahl der schönsten Häminkristalle.

Nicht weniger empfindlich ist das folgende von Gunning und van Geuns empfohlene Verfahren. Fügt man zu dem Auszuge eine Lösung von essigsauerm Zink, so wird der in jener enthaltene Blutfarbstoff rasch und vollständig als Zinkverbindung, in Gestalt eines flockigen, röthlichen Niederschlages ausgefällt. Auch dieser Niederschlag eignet sich vortrefflich zur Darstellung von Häminkristallen. Man behandelt ihn zu diesem Zwecke genau so wie den Gerbsäureniederschlag<sup>1)</sup>.

Giebt man zu dem Auszuge einige Tropfen Essigsäure, und fügt man dann einen Tropfen Blutlaugensalzlösung hinzu, so entsteht eine weisse Trübung oder Fällung.

Die beim Erhitzen des Auszuges ausgeschiedenen Flocken von Eiweiss lösen sich auf Zusatz von einigen Tropfen Natronlauge; Chlorwasser und Salpetersäure fallen aus dieser Lösung wiederum weisse Flocken. Bei nicht zu geringem Gehalte der Lösung an Blutfarbstoff erscheint dieselbe bei durchfallendem Lichte grünlich, bei reflectirtem Lichte röthlich, sie zeigt den Dichroismus einer alkalischen Hämatinlösung (s. o.).

Uebergiesst man den braunen, glänzenden Rückstand, welcher beim Verdampfen des fraglichen Auszuges in einem Porzellanschälchen bleibt, mit Chlorwasser, und verdampft man, so resultirt ein farbloser Rückstand, welcher, wenn nöthig, nach Zusatz von etwas Wasser durch Rhodankalium röthlich gefärbt wird (Eisen des Blutes). Auch blutbeflecktes, mit Wasser ausgezogenes Leinen, mit Chlorwasser auf beschriebene Weise behandelt, giebt mit Rhodankalium die Reaction auf Eisen.

Gaben die Flecken u. s. w. an kaltes Wasser nichts ab, wie es der Fall, wenn versucht wurde, die Flecken durch kochendes Wasser zu entfernen (wodurch die Proteinstoffe derselben in den geronnenen Zustand übergeführt werden), so behandelt man sie mit Wasser, dem ein wenig Natronlauge zugesetzt ist. Es resultirt eine Lösung, welche durch Salpetersäure, Salzsäure und Chlorwasser weiss gefällt wird, und

<sup>1)</sup> 50 ccm einer Lösung von 2 Tropfen Blut in 1000 ccm Wasser gaben auf Zusatz einer Lösung von essigsauerm Zink einen deutlichen Niederschlag, welcher bei der Behandlung mit Essigsäure Tausende von Häminkristallen lieferte. Ebenso gab der aus 50 ccm derselben Blutlösung erhaltene Gerbsäureniederschlag zahlreiche Häminkristalle. Auch durch eine concentrirte wässrige Lösung von Chloralhydrat wird der Blutfarbstoff vollständig niedergeschlagen, nach Ferry de Bellone [Journ. de Pharm. et de Chim. 17, p. 253 (1888)].

in welcher sich überhaupt die Proteïnsubstanzen durch die beschriebenen Reactionen nachweisen lassen. Man berücksichtige dabei, dass die Lösung alkalisch ist. Befinden sich die Flecken auf wollenem Zeuge, so darf man dem Wasser, das zum Ausziehen bestimmt ist, nur sehr wenig Natronlauge zugeben, weil Wolle von Natronlauge gelöst wird. Man kann dann auch ammoniakalisches Wasser anwenden, das auf Wolle nicht wirkt. Dass man die auf die eine oder andere Weise erhaltene alkalische Lösung auch zur Darstellung von Häminkrystallen benutzen kann, liegt auf der Hand. Zu dem Zwecke dampft man dieselbe entweder ein oder versetzt sie nach dem Ansäuern mit Gerbsäure oder mit essigsäurem Zink und verfährt mit dem Verdunstungsrückstande resp. dem Niederschlag, wie angegeben wurde.

Durch die Behandlung mit alkalischem Wasser verlieren die Flecken die Farbe nicht. Lässt man dann auf dieselben Salzsäure einwirken, so löst diese die färbende Substanz auf, und verdampft man die Lösung vorsichtig bis zur Trockne, so bleibt ein Rückstand, der durch Blutlaugensalz blau, durch Rhodankalium roth gefärbt wird (Morin).

Befinden sich Flecken auf gefärbten Zeugen, und lässt bei der Behandlung des Zeuges mit Wasser oder alkalischem Wasser die Farbe ab, so können begreiflich die Reactionen auf Proteïnstoffe, welche man in dem Auszuge hervorruft, undeutlich werden. Ebenso kann es sich mit dem Auszuge aus Erde u. s. w. verhalten.

Behandelt man Blutflecken mit heissem, schwefelsäurehaltigem Weingeiste, so entsteht eine braune Lösung, welche, durch Natronlauge alkalisch gemacht, den mehrfach erwähnten Dichroismus einer alkalischen Hämatinlösung zeigt, bei durchgehendem Lichte grün, bei auffallendem Lichte roth erscheint. Beim Eindunsten und Verkohlen des Auszuges bleibt eine durch Eisenoxyd roth gefärbte Asche, in deren Lösung in Salzsäure sich das Eisenoxyd durch die bekannten Reactionen nachweisen lässt.

Bluthaltiges Eisenoxyd (Rost etwa auf Waffen), welches meistens keine Häminkrystalle mehr liefert, giebt mit verdünnter Natronlauge eine Flüssigkeit, die Dichroismus zeigt und in dünnen Schichten gallengrün, in dicken roth erscheint (H. Rose). Da das Eisenoxyd mit dem Hämatin eine unlösliche Verbindung eingeht, so erwärme man längere Zeit mit der Natronlauge. Wasser wird nur selten die Lösung herbeiführen. — Beim Erhitzen trockener blutbefleckter Objecte in einem Glasröhrchen kommt der Geruch stickstoffhaltiger, verkohlender thierischer Substanzen zum Vorschein (Geruch nach brennenden Federn und Haaren). Selbstverständlich wird dieser Versuch nur angestellt, wenn das befleckte Object nicht schon an und für sich diesen Geruch giebt, wie es z. B. Wolle und Seide thun.

Verdampft man einen mit Wasser oder alkalischem Wasser erhaltenen Auszug aus einem blutbefleckten Objecte, nach Zusatz von

etwas reinem kohlen-saurem Kalium, trocknet man den Rückstand bei 100° C. vollständig aus, und glüht und schmilzt man ihn, bedeckt mit etwas kohlen-saurem Kalium, in einer Glasröhre <sup>1)</sup> mit Hülfe des Löth-rohres oder des Gasgebläses anhaltend und stark, so entsteht in Folge des Gehaltes des Blutes an Stickstoff Cyankalium. Schneidet man, nach dem Erkalten, die Röhre über der geschmolzenen Masse ab und wirft die Masse mit dem Glase in eine Proberöhre in etwas Wasser, worin man einige Körnchen Eisenfeile gebracht hat, so bildet sich bei gelindem Erwärmen Ferrocyankalium (Kaliumeisencyanür, Blutlaugensalz). Die abfiltrirte Flüssigkeit, mit Salzsäure schwach angesäuert, färbt sich dann auf Zusatz von einem Tropfen Eisenchloridlösung grünlich oder bläulich und lässt allmählich einen Niederschlag von Berlinerblau fallen (Löwe, vergl. S. 27). Beflecktes Zeug kann man erhitzen, bis dasselbe so spröde geworden ist, dass es sich mit kohlen-saurem Kalium mengen lässt, das Gemenge glühen etc. (Wiehr). Dass bei diesen Versuchen alle anderen stickstoffhaltigen Substanzen ausgeschlossen sein müssen, versteht sich von selbst. Auch sind stets Gegenversuche mit Stücken nicht befleckten Zeuges anzustellen.

Erhitzt man blüthaltigen Eisenrost mit Kalium oder Natrium in einem Glasröhrchen, behandelt die Schmelze mit Wasser und versetzt die wässrige Lösung mit der Lösung eines Eisenoxyduloxysalzes (man nehme eine durch Stehen an der Luft theilweise oxydirte Lösung von Eisenvitriol), dann mit Salzsäure, so bildet sich allmählich ein Niederschlag von Berlinerblau. Blutfreier Eisenrost, auf dieselbe Weise behandelt, giebt ein negatives Resultat. Da Eisenrost stets Ammoniak enthält, so kann man begreiflich allein aus dem Auftreten von Ammoniak, beim Erhitzen desselben, keinen Schluss auf vorhandenes Blut ziehen.

Die mikroskopische Untersuchung der Blutflecken ist von beschränkter Anwendbarkeit. Sie führt nur dann zum Ziele, wenn die histiologischen Elemente, die Formelemente des Blutes, die Blutkörperchen, noch in dem Flecken unverändert enthalten sind oder wenigstens durch zweckentsprechende Behandlung des Fleckens wieder sichtbar gemacht werden können, was bei alten Flecken nur selten möglich ist <sup>2)</sup>. Die mikroskopische Untersuchung erfordert selbstver-

<sup>1)</sup> Man nehme schwer schmelzbares Glas, wie man es für die Reductionsröhren zum Marsh'schen Versuche nöthig hat.

<sup>2)</sup> Einen sehr empfehlenswerthen Erlass, welcher sich auf die „Einsendung von Objecten für gerichtlich-mikroskopische Untersuchungen durch die Medicinalcomités“ bezieht, hat unter dem 3. Mai 1880 das Königl. Bayerische Justizministerium veröffentlicht. Er möge hier eine Stelle finden:

Es ist von zuständiger sachverständiger Seite darauf aufmerksam gemacht worden, dass die Einsendung der Untersuchungsgegenstände an die Medicinalcomités zum Zwecke gerichtlich-mikroskopischer Prüfung sehr oft verspätet erfolgt, und dass durch eine möglichst beschleunigte Zustellung der Untersuchungsobjecte an den Sachverständigen nicht nur die negativen Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen seltener, sondern auch diese negativen Ergebnisse selbst werthvoller werden würden.

ständig eine genaue Bekanntschaft mit den Formelementen des Blutes, sowie eine gewisse Fertigkeit in der Handhabung des Mikroskops. Wer diese nicht besitzt, überlasse diesen Theil der Untersuchung einem Physiologen oder einem mit mikroskopischen Arbeiten hinreichend vertrauten Arzte. Ich nehme deshalb von einer ausführlichen Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der Blutflecken Abstand und beschränke mich auf einige allgemeine Andeutungen <sup>1)</sup>.

Um die Formelemente eines Blutfleckens zur Wahrnehmung zu bringen, ist es erforderlich, denselben mit Lösungsmitteln zu behandeln.

Zu dem Zwecke legt man ein Splitterchen des Fleckens (eventuell die vom Blute durchdrungene Substanz oder das, was man von dieser abschabte oder abschnitt) auf ein gläsernes Objecttäfelchen, fügt einige Tropfen destillirten Wassers hinzu und beobachtet nun mittelst des Mikroskops, Anfangs bei schwacher Vergrößerung (80- bis 120 fach), später bei stärkerer Vergrößerung (ungefähr 400 fach) unausgesetzt und aufmerksam die Reaction, welche das Lösungsmittel auf das Ob-

Insbesondere wird hervorgehoben, dass bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen von blutverdächtigen Flecken an Messern, Geweben und dergleichen die Sicherheit des Untersuchungsergebnisses eine um so grössere ist, je frischer eine Blutspur zur Untersuchung kommt. Am ungünstigsten und meist negativ gestaltet sich die Untersuchung, wenn ältere Blutflecken auf metallischer Unterlage durch Rost verändert sind, weil der Blutfarbstoff und die Albuminate des Blutes mit dem Eisenoxyd Verbindungen eingehen, in welchen der Blutfarbstoff seine Löslichkeit im Wasser einbüsst, indem dadurch die mikro-chemische Untersuchung nicht nur erschwert, sondern auch die Feststellung des Thatbestandes in den meisten Fällen geradezu unmöglich gemacht wird. Ebendasselbe geschieht dann, wenn Blut auf Geweben längere Zeit eingetrocknet ist.

Es ergibt sich hieraus, dass die mühevollen und sehr zeitraubenden Untersuchungen auf Blutflecken in der Mehrzahl der Fälle deshalb ein negatives Resultat haben, weil die Untersuchungsobjecte viel zu spät, häufig erst nach Monaten, in die Hände des Sachverständigen gelangen.

Andererseits liegt es auf der Hand, dass bei möglichst frischer Untersuchung auch negative Ergebnisse eine viel maassgebendere Verwerthung gestatten, als wenn das negative Ergebniss als Folge chemischer Veränderungen an den veralteten Flecken von vornherein zu erwarten ist.

Das Vorstehende gilt auch für den Nachweis von anderweitigen Flecken, Eiterzellen und sonstigen Formelementen.

Das unterfertigte Königl. Staatsministerium sieht sich demgemäss veranlasst, alle zur Anregung gerichtlich-chemischer und mikroskopischer Untersuchungen zuständigen Beamten und Behörden auf die Wichtigkeit der vorerörterten Gesichtspunkte hinzuweisen und denselben dringlichst anzuempfehlen, dass in allen Fällen, in welchen es sich um den Nachweis von Blut und ähnlichen Dingen handelt, die Untersuchungsobjecte mit möglichster Beschleunigung an die betreffenden Medicinal-comités eingesendet werden, und dass nach Thunlichkeit zugleich angegeben werde, zu welcher Zeit die zu untersuchenden Flecken muthmaasslich entstanden sind.

<sup>1)</sup> Sehr ausführlich ist dieser Gegenstand in dem vortrefflichen Werkchen: „Anleitung zur Untersuchung verdächtiger Flecke für Aerzte und Juristen“, deutsche Ausgabe, nach der vom Medicinal-Departement des Ministerii des Innern zu St. Petersburg im Jahre 1870 veranstalteten russischen Ausgabe, St. Petersburg 1871, behandelt worden.

ject ausübt. Besteht dasselbe aus Blut, so quillt es, je nach seiner Beschaffenheit (seinem Alter, seiner Dichtigkeit u. a. m.), mehr oder weniger rasch und bedeutend auf. Dabei wird das Präparat lockerer, durchsichtiger und blasser und färbt das Wasser röthlich bis roth. Beim Beginn des Durchsichtigwerdens bemerkt man, dass die Substanz des Objectes, welches nunmehr den Anblick eines Netzwerkes darbietet, aus zahlreichen, kleinen, zusammengedrängten, vielfach in einander geschobenen, rundlichen Elementen besteht, welche die meistens mannigfaltig und in verschiedenem Grade veränderten rothen Blutkörperchen darstellen. Ausser diesen nimmt man in dem Netzwerke eine verhältnissmässig geringe Anzahl grösserer, fein granulöser, ziemlich scharf contourirter, rundlicher Gebilde wahr, welche aus den farblosen oder weissen Blutkörperchen bestehen. Wirkt das Wasser längere Zeit ein, so werden sowohl die rothen, als auch die weissen Blutkörperchen zerstört, und es entsteht eine Lösung, in welcher faserige, unregelmässig geformte Theilchen, die aus dem geronnenen Blutfaserstoff, Fibrin, bestehen, sich erkennen lassen, histiologische Elemente jedoch nicht mehr nachgewiesen werden können. Vor der Auflösung verblassen die Contouren der Blutkörperchen mehr und mehr, und zuletzt werden die Körperchen so blass, dass man sie nur noch bei starker Vergrösserung, und wenn man das Gesichtsfeld beschattet, wahrnehmen kann.

Die weissen Blutkörperchen widerstehen der Einwirkung des Wassers länger als die rothen. Oft findet man dieselben noch vollkommen unverändert, wenn die rothen Blutkörperchen schon vollständig in Folge der Einwirkung des Wassers verschwunden sind.

Fig. 3 auf Tafel I stellt ein Körnchen trockenen menschlichen Blutes bei 320facher Vergrösserung dar, welches in Wasser gebracht und in Auflösung begriffen ist. Man sieht das charakteristische Netzwerk und die fein granulösen farblosen Blutkörperchen. Rechts, unten, ist der Auflösungsprocess am weitesten vorgeschritten, das Netzwerk ist verschwunden.

Fig. 4 auf Tafel I stellt dasselbe wie Fig. 3 dar, nur ist die Auflösung eine fast vollständige. An Stelle des Netzwerkes ist eine ausserordentlich feine, aus Pünktchen bestehende Substanz — aus den Residuis der rothen Blutkörperchen bestehend — getreten, in welcher jedoch die weissen Blutkörperchen noch deutlich zu erkennen sind<sup>1)</sup>. Vergrösserung 320 fach.

Wenn man den Blutfleck mit solchen Flüssigkeiten behandelt, welche nicht, wie das Wasser, zersetzend auf die histiologischen Elemente des Blutes einwirken, so gelingt es häufig, vorausgesetzt, dass der Fleck noch frisch ist, dieselben mit grösserer Deutlichkeit zur Wahr-

<sup>1)</sup> Beide Figuren sind der oben erwähnten „Anleitung zur Untersuchung verdächtiger Flecke“ entlehnt.

nehmung zu bringen. Am besten eignen sich hierzu Flüssigkeiten, deren Zusammensetzung sich derjenigen des Blutserums am meisten nähert. Schultze hat vorgeschlagen, sich eine solche Flüssigkeit aus Amniosflüssigkeit (Fruchtwasser) durch Zusatz von so viel Jodtinctur, dass eine weingelbe Farbe entsteht, darzustellen. Vortrefflich eignet sich auch eine Lösung von 30 g Eiweiss, 40 g Kochsalz in 270 g Wasser; auch eine wässrige Lösung von  $\frac{1}{2}$  Proc. Kochsalz oder von 4 bis 6 Proc. Glaubersalz leistet gute Dienste. Landois empfiehlt zu dem Zwecke namentlich die Pacini'sche Flüssigkeit, eine wasserhelle Lösung von 2 g Quecksilberchlorid, 4 g Chlornatrium und 26 g Glycerin in 226 g Wasser, die man vor der Anwendung mit 2 Thln. Wasser verdünnt. Nach Virchow behandelt man die aufgetrockneten Flecken mit concentrirter, nach Malinin mit 30 procentiger Kalilauge; auch schwefelsäurehaltiges Glycerin oder anhaltende Behandlung mit Wasser, unter Durchleiten eines Stromes Kohlensäure (s. o.), sollen häufig gute Dienste leisten. Weicht man den Flecken ohne Reiben mit der einen oder anderen dieser Flüssigkeiten auf, so treten nicht selten die Charaktere der Formelemente und des Fibrins auf das Deutlichste hervor. Im Falle die Blutkörperchen in der Flüssigkeit bereits sehr blass geworden oder gar nur noch als Stroma vorhanden sein sollten, macht ein Zusatz einer weingelben wässrigen Jodjodkaliumlösung zum mikroskopischen Präparate dieselben mitunter um vieles deutlicher. Durch Aufweichen mittelst concentrirter Weinsäurelösung treten die weissen Zellen besonders scharf hervor.

Fig. 1 auf Tafel I liefert ein Bild von normalen menschlichen Blutkörperchen aus geschlagenem (fibrinfreiem) Aderlassblut bei ungefähr 400 maliger Vergrößerung. Die rothen Blutkörperchen erscheinen theils einzeln, theils zu geldrollenartigen Gebilden vereinigt. Die einzelnen liegen theils auf ihren flachen Seiten, theils auf dem Rande; im ersteren Falle erscheinen sie als kreisrunde Scheiben mit scharfen Contouren; die ovalen Körperchen sind solche, die im Rollen begriffen, ihre Fläche schräg nach oben und unten kehren; kehren sie den Rand nach oben, so stellen sie längliche, schwach bisquitförmige Stäbchen dar. Die Geldrollen erscheinen daher aus solchen Stäbchen zusammengesetzt; steht eine solche Rolle aufwärts, so sieht man nur die obere Fläche des obersten Blutkörperchens, die Ränder und Schatten sind aber wegen der darunter liegenden dunkler und markirter. Je mehr Zellen über einander liegen, desto intensiver erscheinen sie gefärbt. Zwischen den rothen Blutkörperchen sind hier und da einzelne farblose Zellen als runde, blasse, auf der Oberfläche mattgranulöse Körperchen sichtbar; dieses sind die weissen Blutkörperchen.

Fig. 2 auf Tafel 1 soll die Veränderungen darstellen, welche die Blutkörperchen beim Verdunsten der Flüssigkeit, in welcher sie suspendirt sind, zeigen. Die Volumverminderung, welche die Folge des bei dem Eintrocknen stattfindenden Wasserverlustes ist, documentirt

sich am häufigsten in einer sägeartigen Kerbung des Randcontours, die Blutkörperchen erscheinen in diesem Falle wie angeätzt. Erreicht die Kerbung eine gewisse Tiefe, so erhalten dieselben ein sternförmiges oder „stechapfelförmiges“ Ansehen. Oft aber tritt durch Schrumpfung eine solche Faltung der Hüllmembran über die ganze Oberfläche ein, dass die Blutkörperchen wie aus Körnchen zusammengesetzt erscheinen. In diesem Falle gewähren sie das Bild von Himbeeren. Trocknen die Blutkörperchen sehr schnell ein, so erscheinen sie in Form scharf contourirter Ringe, wie am unteren rechten Rande der Figur. Vergrößerung etwa 400 malig <sup>1)</sup>.

Ein sicheres Urtheil darüber abzugeben, ob Blutflecken von Menschenblut oder Thierblut herrühren, wird jeder Chemiker ablehnen. Die Blutkörperchen des menschlichen Blutes sind die grössten, die vom Rinde sind etwa  $\frac{3}{4}$ , die vom Schafe etwa  $\frac{1}{2}$  so gross als die vom Menschen <sup>2)</sup>. Die Gestalt der Blutkörperchen des Menschenblutes und des Blutes der Säugethiere — mit Ausnahme der Familie Cameli — ist eine rundliche, platt gedrückte. Die Blutkörperchen der Vögel und der meisten Fische sind elliptisch und flach.

Wer sich im Besitze eines Spectralapparates befindet, kann endlich unter Umständen das Vorhandensein von in Wasser löslicher Blutsubstanz auch spectralanalytisch nachweisen.

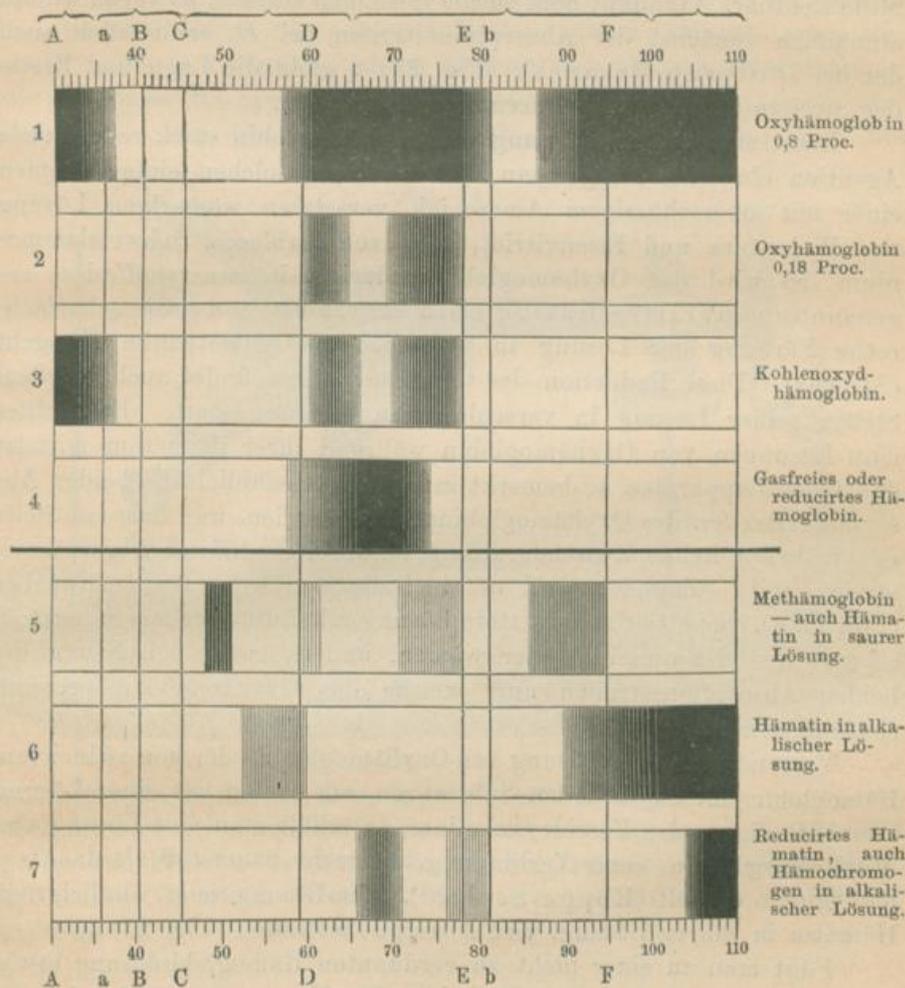
Gefärbte Stoffe haben bekanntlich die Eigenschaft, gewisse gefärbte Strahlen des weissen Sonnenlichtes zu absorbiren, ein und dieselben für ein und dieselbe Substanz. Bringt man eine concentrirte wässerige, unter Luftzutritt bereitete Lösung des Hämoglobins, d. i. des in dem Blute enthaltenen Farbstoffes, oder eine concentrirte Lösung von Blut in Wasser, vor den Spalt eines Spectralapparates, und lässt man durch die Lösung einen mittelst eines Heliostaten reflectirten Strahl directen Sonnenlichtes hindurchfallen, oder beleuchtet man die Lösung möglichst intensiv mittelst einer Gas- oder Petroleumlampe, so zeigt sich, dass das ganze Spectrum mit Ausnahme des zwischen den Fraunhofer'schen Linien *A* und *B* des Sonnenspectrums liegenden Theiles (Roth und Orange) ausgelöscht ist (vergl. die dem Lehrbuch der Physiologie des Menschen von L. Landois, 9. Aufl., entnommene Fig. 23). Wird die Lösung mit Wasser verdünnt, so findet zunächst Aufhellung des Spectrums bis zur Linie *D* im Gelb statt, bei weiterer Verdünnung hellt sich auch der zwischen den Linien *EF* im Grünen liegende Theil des Spectrums auf, und endlich, bei noch weiterer Verdünnung, erscheint das ganze Spectrum bis zum Violett. In diesem kann man nun aber zwischen den Fraunhofer'schen Linien *D* und *E* in der grünen

<sup>1)</sup> Fig. 1 und 2 und Beschreibung nach Funke's Atlas der physiologischen Chemie, 2. Aufl.

<sup>2)</sup> Vergl. Carl Schmidt: Die Diagnostik verdächtiger Flecke in Criminalfällen. Mitau und Leipzig 1848; auch Erdmann, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 85, S. 1.

und gelben Zone zwei dunkle, durch einen hellen Zwischenraum von einander getrennte Streifen (Absorptionsstreifen, Absorptions- oder Spectralbänder genannt) wahrnehmen, welche durch die Anwesenheit des Blutes bedingt sind und das Spectrum des Blutfarbstoffes, des Hämoglobins, charakterisiren. Der der Linie *D* am nächsten liegende Streifen ist schmaler und schärfer begrenzt, als der näher an der Linie

Fig. 23.



Die verschiedenen Absorptionsspectra des Blutfarbstoffes. — In allen Spectren sind die Fraunhofer'schen Linien und ein Maassstab (Scala) nach mm eingezeichnet.

*E* im Grün gelegene. Gewiss ein interessantes Verhalten des Hämoglobins, auf welches Hoppe-Seyler zuerst aufmerksam gemacht hat! Man darf nun annehmen, dass die erwähnten Absorptionsstreifen nicht dem Hämoglobin an sich, sondern einer Verbindung des Hämoglobins mit Sauerstoff, dem Oxyhämoglobin, zukommen. Das Hämoglobin besitzt nämlich die Fähigkeit, sich schon beim Schütteln seiner Lösung

mit Sauerstoff mit diesem zu einer sehr locker zusammengesetzten Verbindung zu vereinigen. Jede unter Zutritt der Luft bereitete oder mit Luft geschüttelte Lösung des Hämoglobins oder des Blutes enthält demnach Oxyhämoglobin. Die Streifen, welche die Gegenwart des Oxyhämoglobins charakterisiren, treten am deutlichsten in Lösungen von 1 cm Dicke und bei einem Gehalte der Lösung von 1 pro Mille an Hämoglobin auf, sind aber auch noch bei einem Gehalte von 0,1 pro Mille sichtbar. Verdünnt man solche Lösungen stärker, so verschwindet allmählich zunächst der Absorptionsstreifen bei *E*, schliesslich auch der bei *D* (Gorup-Besanez). Fig. 23, 2 giebt die Lage und Breite der Streifen in einer 0,18 procentigen Lösung an.

Lässt man auf eine Lösung von Oxyhämoglobin stark reducirende Agentien einwirken, fügt man z. B. zu einer solchen einige Tropfen einer mit überschüssigem Ammoniak versetzten wässrigen Lösung von Weinsäure und Eisenvitriol, oder von farblosem Schwefelammonium, so wird das Oxyhämoglobin reducirt, in sauerstofffreies, sogenanntes reducirtes Hämoglobin verwandelt, wobei die scharlachrothe Färbung der Lösung in eine mehr weinviolettrothe übergeht (Stokes). Diese Reduction des Oxyhämoglobins findet auch bei dem Stehen seiner Lösung in verschlossenen Gefässen statt. Beobachtet man Lösungen von Oxyhämoglobin während ihrer Reduction mittelst des Spectralapparates, so bemerkt man, dass allmählich die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins verschwinden, und dass an Stelle des früheren hellen Zwischenraumes ein breiter diffuser Absorptionsstreifen tritt. Zugleich wird die Lichtabsorption im Blau schwächer (Fig. 23, 4). Schüttelt man letztere Lösung mit Luft oder mit Sauerstoff, so verschwindet dieser Streifen wieder, und es treten von Neuem die beiden Absorptionsstreifen auf, welche das Oxyhämoglobinspectrum charakterisiren.

Versetzt man eine Lösung von Oxyhämoglobin oder von reducirtem Hämoglobin mit oxydirenden Substanzen, am besten mit einer Lösung von Jodkalium oder Ferridcyankalium, so erhält man eine Lösung von Methämoglobin, einer Verbindung, die mehr Sauerstoff als das Oxyhämoglobin enthält (Hoppe-Seyler<sup>1</sup>). Die Lösung zeigt, ähnlich dem Hämatin in saurer Lösung, vier Absorptionsstreifen (Fig. 23, 5).

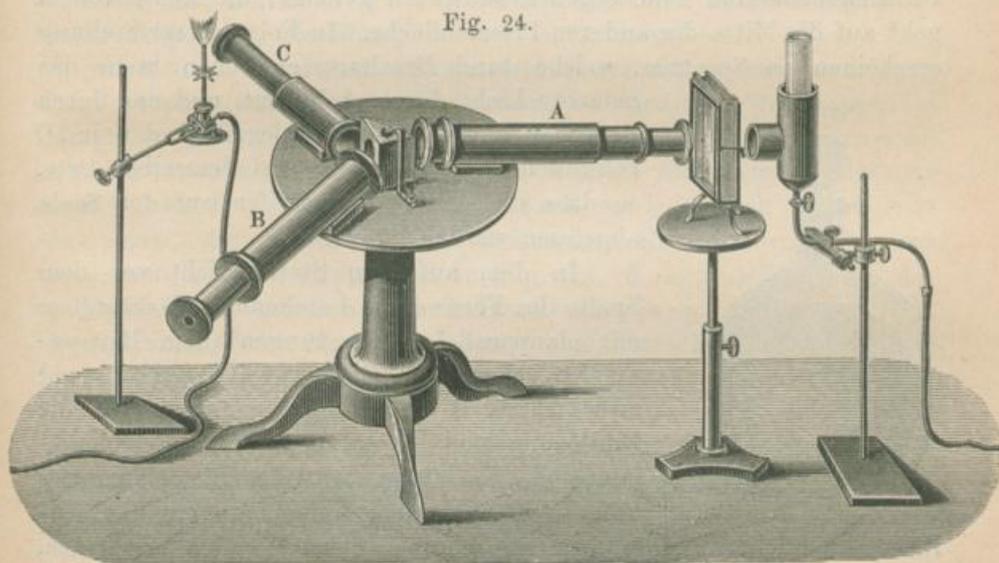
Fügt man zu einer nicht zu verdünnten Hämoglobinlösung etwas Essigsäure, so verschwinden die beiden Streifen, und es färbt sich die Lösung mahagonibraun, indem Hämatin in saurer Lösung entsteht, kenntlich an vier Absorptionsstreifen im Gelb und Grün (Fig. 23, 5). Uebersättigt man diese Lösung mit Ammoniak, so bildet sich Hämatin in alkalischer Lösung, einen Absorptionsstreifen an der Grenze von Roth und Gelb bewirkend (Fig. 23, 6). Ein Zusatz von reduciren-

<sup>1</sup>) Nach neueren Arbeiten, u. A. von J. G. Otto, sollen Oxyhämoglobin und Methämoglobin gleichviel Sauerstoff enthalten.

den Agentien bringt diesen Streifen zum Verlöschen und ruft zwei breite Streifen im Gelb hervor, herrührend von dem somit entstandenen reducirten Hämatin (Hämochromogen) (Fig. 23, 7). Nach Hoppe-Seyler treten die Hämatinstreifen noch deutlich in einer Lösung von 1 g Hämatin in 6667 ccm Lösungsmittel bei 1 cm Dicke der Flüssigkeitsschicht auf.

Handelt es sich nun darum, muthmaasslich aus Blut entstandene Flecken spectroscopisch zu untersuchen, so behandelt man dieselben mit Wasser, bringt die erforderlichenfalls durch Absetzen oder Filtriren geklärte Lösung in einem Gefässe mit planparallelen Wänden vor den Spalt des Spectralapparates, beleuchtet die Lösung durch eine Petroleum- oder Gaslampe oder durch Sonnenlicht (s. o.), und be-

Fig. 24.



trachtet sodann das in dem Apparate gebildete Spectrum, sowie die über demselben befindliche Scala. Zu der Prüfung ist in den meisten Fällen das kleine Steinheil'sche, in den Laboratorien gebräuchliche Spectroskop tauglich. Wie der Versuch angestellt wird, ergibt sich aus Fig. 24<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Vortreflich eignet sich zur spectroscopischen Untersuchung des Blutes das kleine von W. Vogel construirte „Taschenspectroskop“ oder „Universalspectroskop“, welches mit allem Zubehör u. A. bei dem Optiker Krüss in Hamburg zu haben ist. Das mit zwei Prismen versehene Spectroskop gestattet zwei Spectren, eins über dem anderen, gleichzeitig zu besichtigen und somit die Vergleichung der zu untersuchenden, aus dem fraglichen Object erhaltenen Flüssigkeiten mit den entsprechenden aus Blut. Der Apparat ist von Vogel in dessen Buche: „Praktische Spectralanalyse irdischer Stoffe“, Nördlingen 1877, sowie auch in Fresenius' Zeitschr. f. analyt. Chem. XVII, 187 beschrieben worden. Uebrigens liegt jedem bezogenen Exemplare eine genaue Beschreibung des Apparates mit Angabe seiner Handhabung bei.

Auf der Mitte der kreisförmigen Eisenplatte ist ein Prisma befestigt, dessen brechende Flächen gewöhnlich Kreisflächen bilden. Dieselbe Platte trägt auch die drei Röhren *A*, *B*, *C*. *B* ist das astronomische Beobachtungsfernrohr. Das Rohr *A* ist ein Fernrohr, welches statt des Oculars einen zum Einlassen des Lichtes bestimmten senkrechten Spalt besitzt; das Rohr *C* trägt die photographische Abbildung einer Millimeterscala, welche auf einer Glasplatte in der *Camera obscura* in verkleinertem Maassstabe hergestellt ist. Sie ist bis auf den schmalen Streifen, auf welchem sich die Theilstriche und die Zahlen befinden, mit Stanniol gedeckt. Diese Scala wird durch eine dicht dahinter aufgestellte Petroleum- oder Gasflamme erleuchtet.

Die Achsen der Röhren *B* und *C* gehen auf die Mitte der einen Prismenfläche und sind gegen diese gleich geneigt, die Achse von *A* geht auf die Mitte der anderen Prismenfläche. In Folge dieser Stellung erscheinen die Spectren, welche durch Brechung entstehen, wenn das

Fig. 25.



gefärbte Licht durch *A* kommt, und das durch Reflexion sich bildende Spiegelbild der in *C* befindlichen Scala an ein und demselben Orte, so dass die Absorptionsstreifen auf der Scala abgelesen werden können.

In dem auf dem Stativ dicht vor dem Spalte des Fernrohres *A* stehenden Glaskästchen mit planparallelen Wandungen (dem Hoppe-Seyler'schen Hämatinometer), deren Abstand zweckmässig 1 cm beträgt, befindet sich die Blutlösung und hinter dieser eine Petroleumlampe oder Gaslampe. Statt des Hämatinometers kann man nach dem Vorschlage von Gorup-Besanez auch ein Fläschchen mit planparallelen Wänden anwenden, wie ein solches in Fig. 25 in natürlicher Grösse dargestellt ist. Das Fläschchen fasst nur 3 ccm Flüssigkeit. Sehr geringe Mengen von Flüssigkeit bringt man in einem engen Glasröhrchen der Länge nach vor den besonders eng gestellten Spalt des Spectroskopes.

Ist in der Flüssigkeit Blut enthalten, so erscheinen, bei passendem Gehalt derselben an Blutfarbstoff, in dem Spectrum die beiden für die Gegenwart des Oxyhämoglobins charakteristischen Streifen. Lassen sich dieselben nicht erkennen, so prüft man die Flüssigkeit in dickerer Schicht spectroskopisch, indem man sie zu diesem Zwecke in einer weiten Probirröhre vor den Spalt des Apparates bringt. Gelingt es, die charakteristischen Streifen wahrzunehmen, so ist die Gegenwart von Blut bewiesen.

Zur weiteren Bestätigung dessen giebt man zu der die beiden Absorptionsstreifen zeigenden Flüssigkeit einige Tropfen einer ammoniakalischen Lösung von Eisenvitriol und Weinsäure oder von farblosem Schwefelammonium, wodurch die beiden Streifen verschwinden

und das für die Gegenwart von reducirtem Hämoglobin charakteristische breite Band auftritt, welches durch Schütteln der Flüssigkeit mit Luft wieder in die beiden Oxyhämoglobinstreifen übergeht. Erhält man von vornherein das Reductionsband, dann enthält die aus den Flecken dargestellte Lösung reducirtes Hämoglobin. In diesem Falle kann man durch Schütteln mit Luft die beiden Oxyhämoglobinstreifen hervorrufen.

Wenn auch Lösungen von Carmin in Alkalien ähnliche Absorptionsstreifen wie Oxyhämoglobinslösungen geben, so wird dadurch der Werth der Methode doch nicht beeinträchtigt, da jene Absorptionsstreifen eine andere Lage im Spectrum haben, als die des Oxyhämoglobins. Ausserdem kennen wir bislang keine rothe Flüssigkeit, welche bei Entziehung und Zufuhr von Sauerstoff dieselben Erscheinungen im Spectroskop zeigt, wie Blut<sup>1)</sup>.

Giebt man zu der die Oxyhämoglobinstreifen zeigenden Lösung einige Tropfen concentrirter Essigsäure, so wird das Hämoglobin in Hämatin umgewandelt, und die Lösung zeigt dann die für saure Hämatinlösungen charakteristischen Absorptionsstreifen, vorausgesetzt, dass sie in hinreichend dicker Schicht angewandt wird. Durch Zusatz von Ammoniak oder Natronlauge zu der sauren Hämatinlösung bis zur alkalischen Reaction treten die in Fig. 23, 6 dargestellten, für das Spectrum des Hämatins in alkalischer Lösung charakteristischen Streifen auf. Statt die saure Lösung des Hämatins direct vor den Spectralapparat zu bringen, empfiehlt Gorup-Besanez, ihr durch tüchtiges Schütteln mit Aether in einem Stöpselcylinder das Hämatin zu entziehen und die von der wässerigen Lösung getrennte ätherische Lösung, welche charakteristisch bräunlichroth gefärbt erscheint, zur Prüfung im Hämatinometer oder Probir Röhrchen anzuwenden. Es gelingt so oft, aus verdünnten wässerigen Hämatinlösungen, welche die Absorptionsstreifen nicht erkennen lassen, verhältnissmässig concentrirte ätherische Lösungen darzustellen, welche die charakteristischen Streifen zeigen.

Der Nachweis des Blutfarbstoffes mittelst des Spectralapparates ist, obgleich von hohem wissenschaftlichen Interesse, für die Praxis dennoch, wie schon gesagt, nur von eingeschränkter Anwendbarkeit. Meistens werden nur so geringe Blutmengen vorliegen, dass es nicht möglich sein wird, aus ihnen Flüssigkeiten, welche die für Blutfarb-

<sup>1)</sup> Reichardt hat bei Gelegenheit einer Untersuchung von Zeug, welches mit Indigcarmin gefärbt war, zuerst beobachtet, dass eine alkalische Lösung von Purpurinschwefelsäure die für Hämatin in saurer Lösung charakteristischen Absorptionsbänder giebt. Nach Vogel kann man jedoch das Spectroskop trotzdem zum Nachweis von Blut auf mit Indigcarmin gefärbten Zeugen benutzen, da beim Kochen mit Kalilauge die Purpurinschwefelsäure, nicht aber das Hämoglobin zerstört wird, so dass danach nur das für „Hämatin in alkalischer Lösung“ charakteristische Spectrum auftritt.

stoff charakteristischen Absorptionsstreifen zeigen, zu erhalten. Dazu kommt, dass alte Blutflecken Lösungen liefern, welche die Oxyhämoglobinstreifen entweder gar nicht oder nur sehr undeutlich zeigen. Ich konnte aus bei gewöhnlicher Temperatur eingetrocknetem Hühnerblute, welches etwa ein Jahr in einem gut verschlossenen Gefässe aufbewahrt war, keine Lösung erhalten, welche mittelst des Spectralapparates die Hämoglobinstreifen erkennen liess, während sich aus einer minimalen Menge desselben mit der grössten Leichtigkeit Tausende von Häminkrystallen darstellen liessen. Auch Gorup-Besanez giebt an, dass Lösungen von nur einige Wochen alten Flecken die Oxyhämoglobinstreifen nicht mehr zeigen. Gekochtes, nicht lösliches, chemisch zersetztes Blut kann selbstverständlich die Absorptionsstreifen ebenfalls nicht mehr geben, gefrorenes und wieder aufgethautes Blut giebt dieselben. Es ist wohl kaum nöthig zu sagen, dass, wenn man die spectralanalytischen Versuche anstellen will, sie die ersten sind, welche angestellt werden; nach denselben kann man die Lösungen zur Bildung von Häminkrystallen u. s. w. benutzen.

Ganz vortrefflich eignet sich das Spectroskop zum Nachweis von Kohlenoxyd im Blute bei Vergiftungen mit dem Gase. Das Kohlenoxyd geht nämlich mit dem Hämoglobin eine Verbindung ein, Kohlenoxydhämoglobin genannt, welche weit beständiger als die des Blutfarbstoffes mit Sauerstoff ist, kirschroth, nicht dichroitisch erscheint und im Spectrum zwei dem Oxyhämoglobin sehr ähnliche, nur etwas näher an einander und zum Violett hin liegende Absorptionsstreifen zeigt. Sie sind in Fig. 23, 3 dargestellt. Leicht erkennt man das Kohlenoxydhämoglobin jedoch daran, dass reducirende Substanzen (Schwefelammonium u. s. w., s. o.), welche auf das Oxyhämoglobin einwirken, d. h. die für diese Verbindung charakteristischen Streifen auslöschen, auf das Kohlenoxydhämoglobin ohne Wirkung sind, dieses nicht in „reducirtes“ verwandeln (Hoppe-Seyler). Ein ferneres gutes Erkennungsmittel des Kohlenoxydhämoglobins gegenüber dem Oxyhämoglobin besteht in der Natronprobe<sup>1)</sup>. Eine zehnprocentige Aetznatronlösung zu einer Lösung von jenem hinzugefügt, erzeugt nach kurzem Erwärmen eine zinnoberrothe Färbung, während unter denselben Bedingungen eine Lösung von Oxyhämoglobin eine schwarzbraungrünliche Färbung annimmt. Die spectralanalytische Untersuchung und die Natronprobe lassen sogar noch  $\frac{1}{10}$  Proc. Kohlenoxydhämoglobin im Oxyhämoglobin erkennen. Wegen seiner grösseren Beständigkeit widersteht das Kohlenoxydhämoglobin äusseren Einflüssen, so auch der Fäulniss, weit länger als Oxyhämoglobin<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Man wende keinen zu grossen Ueberschuss des Reductionsmittels an, weil dadurch Zersetzungen des Hämoglobins herbeigeführt werden und dann die Streifen, welche die Gegenwart von „reducirtem Hämatin“ charakterisiren, im Spectrum erscheinen.

<sup>2)</sup> L. Landois konnte in dem Blute einer an Kohlenoxydvergiftung gestorbenen Frau, welches in stinkendste Fäulniss übergegangen war, aber trotzdem seine kirsch-

Endlich kann das Spectroskop zur Nachweise von Blausäure im Blute benutzt werden. Es vereinigt sich nämlich der Cyanwasserstoff mit dem Methämoglobin zu einer rothen Verbindung — Cyanmethämoglobin —, welche im Blute von mit Blausäure Vergifteten enthalten ist und sich vom Oxyhämoglobin und dessen Modificationen, soweit diese roth gefärbt sind, dadurch unterscheidet, dass sie im Spectroskop weder das Spectrum des Oxyhämoglobins, noch dasjenige des alkalischen, rothen Methämoglobins, noch sonst ein charakteristisches Absorptionsband zeigt. Diesem Cyanmethämoglobin verdankt das Blut nach Blausäurevergiftung an den Stellen, wo (wie z. B. in den Magenwandungen und in den Leichenflecken) Gelegenheit zur Entstehung von Methämoglobin ist, seine auffallend hellrothe Farbe. Da sich nun der normale Blutfarbstoff, das Oxyhämoglobin, ausserordentlich leicht in Methämoglobin umwandeln lässt, so kann Blausäure sowohl im Blute wie auch mittelst Blut folgendermaassen nachgewiesen werden.

Um Blausäure im Blute nachzuweisen, verdünnt man nach R. Kobert<sup>1)</sup> 1 ccm davon mit 99 ccm destillirtem Wasser und setzt

rothe Farbe bewahrt hatte, durch das Spectroskop und die Natronprobe noch ganz bestimmt, nach Verlauf von 18 Monaten, das Kohlenoxyd erkennen. Ja selbst nach zwei Jahren hat man auf dem angegebenen Wege das Kohlenoxyd in einem Blute noch nachweisen können, welches in einer gefüllten und verschlossenen Flasche, zur Verhütung der Fäulniss, aufbewahrt war.

Eine vortreffliche grössere Arbeit über den oben beregten Gegenstand hat A. Jäderholm veröffentlicht. Sie führt den Titel: „Die gerichtlich-medicinische Diagnose der Kohlenoxydvergiftung“ und ist als deutsche Originalausgabe 1876 im Verlage von J. Springer erschienen. Denselben Gegenstand hat J. v. Fodor in ausführlicher Weise in einer Abhandlung: „Das Kohlenoxyd in seinen Beziehungen zur Gesundheit“ behandelt, welche in der deutschen Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege, Bd. 12, S. 377 erschienen ist.

Begreiflich lässt sich auch umgekehrt Kohlenoxyd in Luft mittelst Blut nachweisen, worauf zuerst Vogel aufmerksam gemacht hat; ja dieser Nachweis ist sogar, was Sicherheit und Einfachheit anbelangt, allen anderen Methoden vorzuziehen. Man verfährt dazu in der Weise, dass man eine mit Wasser gefüllte Flasche in dem das Gas enthaltenden Zimmer entleert, 2 bis 3 ccm eines sehr stark mit Wasser verdünnten Blutes, welches eben nur noch einen Stich ins Rothe, dabei aber die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins im Spectroskope bei Reagensglasdicke noch deutlich zeigt, zusetzt und einige Minuten schüttelt. Bei Kohlenoxydgehalt der Luft tritt sofort eine Farbenänderung in Rosa ein, und auf Zusatz von einigen Tropfen Schwefelammonium verschwinden die beiden Absorptionsstreifen nicht, während dieselben bekanntlich in kohlenoxydfreiem Blute bei dieser Reaction durch ein breites, verwaschenes Band (Fig. 23, 4) ersetzt werden. Auf diese Weise lassen sich nach Vogel's Angabe noch deutlich 0,25 Proc. Kohlenoxyd nachweisen; eine Steigerung der Empfindlichkeit durch Anwendung grösserer Luftvolumen ist nicht erreicht worden. Näheres über den Nachweis von Kohlenoxyd mittelst Blut findet sich u. A. in der Abhandlung von W. Hempel: „Ueber die Grenze der Nachweisbarkeit des Kohlenoxydgases“ (Zeitschr. f. analyt. Chem. XVIII, 399) und in der von C. H. Wolff: „Ueber den Nachweis minimaler Mengen von Kohlenoxyd in der atmosphärischen Luft“ (Pharm. Zeitschr. 1880, S. 268).

<sup>1)</sup> Ueber Cyanhämoglobin und den Nachweis der Blausäure. Stuttgart, Ferd. Enke, 1891.

tropfenweise, unter Umschütteln eine frisch bereitete (0,1 proc.) Ferridcyankaliumlösung zu. Ist das Blut blausäurefrei, so geht die rothe Farbe der Flüssigkeit in Gelb über — Methämoglobin — und man sieht im Spectroskope das Methämoglobinspectrum. Blausäurehaltiges Blut wird nicht entfärbt, sondern nimmt vielmehr eine hellrothe Farbe an und zeigt keinen Absorptionsstreifen im Spectrum — Cyanmethämoglobin.

Will man Blausäure (z. B. in einem Destillate aus Organen und dergleichen, die mit Weinsäure destillirt wurden) mittelst Blut nachweisen, so verdünnt man 1 ccm normales Blut (von Menschen, Säugethieren oder Vögeln) mit 99 ccm Wasser, filtrirt und schüttelt das Filtrat mit einem winzigen Kryställchen Ferridcyankalium eben nur so lange, bis die rothe Farbe in Gelb übergegangen ist — Methämoglobin — und schichtet einige Tropfen der zu prüfenden (neutral reagirenden) Flüssigkeit darüber, so dass zunächst keine Mischung stattfindet. Enthält die zu prüfende Flüssigkeit Blausäure, so tritt Rothfärbung — Cyanmethämoglobinbildung — ein.

Bei allen diesen Proben ist genau darauf zu achten, dass weder die Blutlösungen, noch die zu prüfenden Flüssigkeiten alkalisch, sondern spurenweise sauer reagiren, weil Methämoglobin in alkalischer Lösung ebenfalls roth gefärbt ist. Allerdings unterscheidet es sich dann immer noch vom Cyanmethämoglobin durch den Absorptionsstreifen im Roth, der dem Cyanmethämoglobin fehlt.

Eine andere Methode, um blausäurehaltiges Blut von normalem Blut zu unterscheiden, gründet Kobert auf die Thatsache, dass die Selbstreduction des Blutes schon durch die minimalsten Spuren von Blausäure aufgehoben wird. Mit anderen Worten: normales Blut (in 1 proc. Lösung) wird beim Stehen dunkler und zeigt nach einigen Stunden oder Tagen an Stelle des Oxyhämoglobinspectrums dasjenige des reducirten Hämoglobins — also statt der zwei Streifen in Gelbgrün nur einen solchen. Blausäurehaltiges Blut bleibt unter denselben Umständen unverändert und zeigt nach wie vor das Oxyhämoglobinspectrum.