

Aus der Universitäts-Unterrichtsanstalt für Staatsarznei-
kunde in Berlin.

(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. F. Strassmann.)

Die Ausschaltung organischer Farbstoff- beimengungen beim spektroskopischen Blutnachweis.

Von Dr. Otto Leers, Assistent der Unterrichtsanstalt.

Es ist nichts Seltenes, daß mit Farbstoffen imprägnierte Gewebe, welche auf die Anwesenheit von Blutspuren untersucht werden sollen, bei Verwendung der gebräuchlichen Blutextraktionsmittel soviel von dem Farbstoff an die Lösung abgeben, daß das Spektrum des eventuell in der Lösung vorhandenen Blutfarbstoffes mehr oder weniger vollständig verdeckt wird von dem Spektrum des Gewebefarbstoffes.

Dieses auszuschalten, haben sich zuerst Kratter²⁾, Ipsen³⁾ und Ziemke⁴⁾ bemüht, und sie empfahlen zu diesem Zweck die Darstellung des sauren bzw. alkalischen Hämatoporphyrins.

Weiterhin beschäftigten sich Takayama⁵⁾ und Giese⁶⁾ mit dieser Frage.

Takayama, dem es hauptsächlich darum zu tun war, das Spektrum des zum Färben von Baumwollgeweben in Japan sehr verbreiteten Indigo auszuschalten, suchte die Hämatoporphyrinprobe durch folgende Modifikation zu vereinfachen:

Er mazeriert ein 1 qcm großes Zugstück mit 1 ccm konzentrierter Schwefelsäure 5—7 Tage lang; nach dieser Zeit erhitzt er die Lösung 10—12 Sekunden lang unter Schütteln, läßt sie abkühlen, fügt

2) Kratter, Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin. 3. F. Bd. 4, S. 72. — 3) Ipsen, ebenda, Bd. 20, S. 1. — 4) Ziemke, ebenda, Bd. 2, S. 231. — 5) Takayama, ebenda, 3. F. Bd. 29, Suppl. S. 232. — 6) Giese, ebenda, Bd. 30, S. 225.

2 ccm Wasser vorsichtig unter beständigem Schütteln zu und filtriert die Lösung durch Papierfilter. Die verkohlten Substanzen und der Indigofarbstoff — leider allerdings auch ein beträchtlicher Teil des Blutfarbstoffes — bleiben auf dem Filter; das Filtrat zeigt das Spektrum des sauren Hämatoporphyrins.

Takayama rechnet es der Probe selbst zum Nachteil an, daß sie solange Zeit braucht, daß ein Teil des Hämatoporphyrins von der sich abscheidenden Kohle mitgerissen wird, und glaubt, daß, wenn die Beimengung verkohlter Substanzen im Verhältnis zum Blut sehr groß, etwa 20 und mehr zu 1 ist, die Probe sich nicht eignet.

Giese prüfte 21 gefärbte und mit Blut getränkte Gewebsstoffe durch und fand 16 mal den Gewebsfarbstoff durch das Extraktionsmittel (10% NaOH, 10% CyNK, Eisessig, konzentrierte Karbolsäure) in einer Konzentration gelöst, daß sein spezifisches Spektrum sichtbar wurde und mehr oder weniger das Blutspektrum (Hämochromogen) verdeckte.

Giese kommt zu dem Schluß, daß es sich zur Vermeidung dieses Uebelstandes empfehle, entweder gleichzeitig ein basisches und ein saures Extraktionsmittel zu verwenden oder stets ein Gewebsstück ohne Blut vorher mit dem gewählten Extraktionsmittel zu behandeln, um dessen Farbstoffspektrum kennen zu lernen und ausschließen zu können. Am sichersten gelinge allerdings die Ausschließung durch die Anwendung der Hämatoporphyrinprobe in der Modifikation von Takayama.

Ich kann mich diesem Urteil über die Takayamasche Probe im allgemeinen anschließen. Sie ist allerdings in der Form, wie Takayama sie angibt, recht zeitraubend, und ich sehe keinen Grund ein, weshalb die Mazeration nicht durch vorsichtiges, nicht zu starkes Erwärmen der Lösung über der Flamme beschleunigt werden sollte. Ich habe dies in vielen Fällen mit Vorteil getan und die Zeitdauer der Untersuchung dadurch auf einige Stunden beschränkt. Ein größerer Nachteil ist, daß ein Teil des gelösten Indigofarbstoffes doch noch durch das Filter, auch durch mehrfaches geht und daß das Filtrat keineswegs durchaus klar und gut spektroskopierbar ist; endlich daß der Verlust an Blutfarbstoff durch die Filtration um so schwerer wiegt, als die Probe ohnehin nur in Betracht kommt, wenn das Blut in nur geringer Menge oder sehr fein verteilt, verdünnt an dem Gewebe haftet.

Wo es noch gelingt, ein minimales Blutpartikelchen von dem Stoff abzukratzen, wird kein anderer Nachweis zu empfehlen sein als der mikrospektroskopische des Hämochromogens oder — bei verkohltem Blut — des Hämatoporphyrins.

Wo dies nicht möglich ist, hat sich mir eine Modifikation der gebräuchlichen Hämochromogenprobe bewährt, die den Vorzug hat, den vorhandenen Blutfarbstoff schnell und möglichst vollständig zu extrahieren, ihn auf einen engen Raum zu konzentrieren und störende Beimengungen auszuschalten, sodaß die zu spektroskopierende Lösung durchaus klar ist.

Ich mazeriere das blutverdächtige Gewebe nach sorgfältiger Zerkleinerung bzw. Zerzupfung mit 33% KOH und absolutem Alkohol zu gleichen Teilen unter Erhitzung über der Bunsenflamme (auf 1 qcm Gewebe 1 ccm der Lösung). Es entsteht eine gefärbte, mehr oder weniger trübe Lösung. Nach dem Erkalten und Absetzen derselben wird der Extrakt vorsichtig in ein anderes Probierröhrchen abgegossen und nochmals mit ebenso viel Kalilauge gemischt. Nach Zusatz von etwa 5—10 Tropfen Pyridin und Schütteln entsteht eine Emulsion, aus der sich das Pyridin nach kurzer Zeit nach oben steigend absetzt. Die Absetzung kann durch leichtes Erwärmen beschleunigt werden. Die Pyridinschicht ist gewöhnlich etwas milchig getrübt und hat auch von dem Gewebsfarbstoff an sich genommen. Aber sie enthält, wie ich an anderer Stelle¹⁾ gezeigt habe, allen Blutfarbstoff der Lösung auf engem Raum vereinigt. Auf Zusatz weniger Tropfen frischen Schwefelammons klärt sich das Pyridin und zeigt, besonders an der Berührungsstelle mit der KOH, ein klares Hämochromogenspektrum.

Der Hauptvorteil liegt in der Konzentration des Blutfarbstoffes und in der Klärung ohne Filtration. Daß eine weitere Einengung auf dem Objektträger und Mikrospektroskopie des Fleckens noch möglich ist, habe ich ebenfalls an anderer Stelle gezeigt.

Hier möchte ich nunmehr über eine Reihe von Versuchen berichten, die ich mit der Probe an gefärbten Geweben anstellte. Dank dem lebenswürdigen Entgegenkommen von

Herrn Prof. Sachs am hiesigen Chemischen Institut der Universität war es mir möglich, eine große Zahl der heute in der Industrie gebräuchlichen Farbgewebe durchzuprüfen. In die Gewebe wurde eine dünne Blutlösung eingerieben, das überschüssige Blut durch Pressen zwischen Fließpapier entfernt und die Prüfung nach dem Trocknen angestellt.

Auch bei uns kommen vielfach mit Indigo gefärbte wolene und baumwollene Stoffe vor; sie werden besonders zu Arbeiterhosen, -Blusen und Schürzen, zu Militär- und Eisenbahnertuchen verarbeitet. Thionfarben, Thioindigorot, Solid-druckgrün finden sich in bunten Hemden, in wollenen und halb wollenen Stoffen eine Reihe von Alizarin, Säureanthrazen-, Diamantbordeaux- und Chromgelbfarbstoffen, einzeln und gemischt, mit essigsauerm Chrom, Nickel oder Kobalt gebeizt. Wolle, Baumwolle und Kunstwolle ist weiterhin mit Benzo-, Benzidin-, Sulfon-, Toluylen-, Chloramin-, Diazo- etc. Farbstoffen gefärbt. Im ganzen wurden etwa 140 derartiger moderner Stoffproben durchgeprüft.

Schwierigkeiten bereiteten nur Säureanthrazenrot und Indigo. Der erstere Farbstoff zeigt eine so intensive Verdunkelung vom Gelb-grün ab des kurzwelligen Teiles des Spektrums, daß dadurch das Hämochromogenspektrum verdeckt werden kann. Mittels Filtration durch mehrfaches Papierfilter gelingt es zwar, einen großen Teil des Farbstoffes auf dem Filter zurückzuhalten, aber es besteht die Gefahr, daß dabei auch ein Teil des Blutfarbstoffes verloren geht und das Hämochromogenspektrum in der Probe zu schwach wird, um deutlich genug zu erscheinen.

Der Indigofarbstoff hat in dichter alkalischer Lösung ein spezifisches Spektrum, das dem des sauren Hämatoporphyrins in der Lage fast genau entspricht. Bei stärkeren Verdünnungen verschwindet allerdings das linke, schwächere Band; dagegen bleibt der rechte, stärkere Absorptionsstreifen, wenn auch etwas verschmälert, ziemlich intensiv bestehen und nimmt die Lage des linken intensiven Hämochromogenstreifens in grün ein, diesen unter Umständen völlig verdeckend. Erscheint rechts daneben das schwächere Band des Hämochromogens, so ist die Anwesenheit dieses Spektrums dadurch sichergestellt, aber in dünnen Blutlösungen fällt dieser Streifen bekanntlich häufig aus, ohne die Sicherheit des Hämochromogen-nachweises im allgemeinen zu beeinträchtigen. Anders hier, wo das spezifische Spektrum des Indigos störend wirkt. Es bedarf auch hier, wie bei der Takayamaschen Probe, mehrfacher Filtration der Indigoblutlösung vor Anstellung der Probe, um das Indigospektrum so abzuschwächen, daß das Blutspektrum deutlich wird. Und das hat, wie gesagt, seine Nachteile.

Für Indigogewebe eignet sich also besser die Takayamasche Probe; der breite Streifen des Indigos in schwefelsaurer Lösung (zwischen C und D) stört das Hämatoporphyrinspektrum immer noch weniger als der Indigostreifen der alkalischen Lösung (zwischen D und E) das Hämochromogenspektrum. Ob ein Gewebe Indigo enthält, läßt sich durch eine einfache Probe erweisen. Auf einem Porzellanschälchen verbrannt, hinterläßt der indigogetränkte Gewebsfaden einen blauen Flecken; kein anderer Blaufarbstoff tut dies (Sachs).

Bei allen anderen Farbgeweben habe ich niemals Schwierigkeiten gehabt, mit der Pyridinprobe ein deutliches Hämochromogenspektrum zu erhalten, und habe auch in forensischen Fällen ihren Nutzen erprobt.

Im übrigen kann ich mich durchaus der Mahnung Gieses anschließen, stets ein blutfreies Stückchen des Gewebes in derselben Weise zu behandeln, um das spezifische Spektrum des Gewebsfarbstoffes kennen zu lernen. Diese Vorsicht wird vor unliebsamen Täuschungen bewahren.

Zusammenfassung. Um organische Farbstoffbeimengungen beim spektroskopischen Blutnachweis auszuschalten, empfiehlt sich die Mazeration des blutverdächtigen Objektes mittels Kalilauge-Alkohol aa und die Einengung des gelösten Blutfarbstoffes durch Pyridin. Nach Zutügung des Reduktionsmittels (Schwefelammonium) zeigt die klare Pyridinschicht Hämochromogenspektrum. Nur für Indigo enthaltende Gewebe eignet sich besser die von Takayama angegebene Darstellung des sauren Hämatoporphyrinspektrums.

1) Vierteljahrsschrift für gerichtliche Medizin 1908, Suppl.