

*Wechselrede.* Herr R. M. Mayer empfiehlt Darstellung von Hämatoporphyrin und Isolierung unter Zugrundelegen der Willstaedterschen Salzsäurezahl.

Herr Fraenckel: Der Blutnachweis zwischen Rost auf Klingen durch den Opakilluminator sollte nicht vergessen werden. Die recht einfache Technik gibt doch ausgezeichnete Formbilder des angetrockneten Blutes, die von Rost gut zu unterscheiden sind.

Herr Ziemke bemerkt, daß die Versuche des Vortragenden sehr interessant und verdienstvoll sind. Den Opakilluminator in der alten Form hält er nicht für leistungsfähig und benutzt ihn in vorkommenden Fällen überhaupt nicht mehr.

---

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität  
Königsberg i. Pr. — Direktor: Prof. Dr. Nippe.)

## Über den Verbleib von Blutfarbstoff auf grünen Blättern.

Von

Dr. R. M. Mayer, Königsberg i. Pr.

Mit 2 Textabbildungen.

Handelt es sich um Blutflecken auf Blättern, so wird der Gerichtsmediziner am Tatort eines Verbrechens nur selten noch frisches Blut zur Untersuchung vorfinden. Häufig bekommt er in solchen Fällen den Tatort selbst gar nicht oder verspätet zu sehen und muß sich mit asservierten längst *gealterten* fraglichen Blutflecken auf Blättern begnügen und darf froh sein, den Nachweis von Blutfarbstoff allein führen zu können.

Man greift dann wohl, wenn definierte Farbstoffkristalle oder wohlbekannte Absorptionspektra nicht mehr zu bekommen sind, zur konzentrierten Schwefelsäure, um Hämatoporphyrin darzustellen. Die in dieser Methode begründeten Schwierigkeiten, deren Bekämpfung wiederholt Gegenstand der Bearbeitung war, brauchen hier nicht näher auseinandergesetzt zu werden. Es genügt der Hinweis darauf, daß die konzentrierte Schwefelsäure zwar eines der besten Lösungsmittel für Blutfarbstoff in alten Blutflecken ist und daß sie gleichzeitig sehr schnell den Eintritt von zwei Mol. Wasser in die ungesättigten Seitenketten und den Austritt von Eisen aus dem Blutfarbstoffmolekül und damit seine Umwandlung zum Hämatoporphyrin bewirkt. Andererseits unterliegen organische, vor allem pflanzliche Träger von Blutfarbstoff sehr leicht ihrer veraschenden Wirkung.

Den Vorzügen anderer Darstellungsmethoden von Hämatoporphyrin — vor allem die Bromwasserstoff-Eisessigmethode von Nencki gehört hierzu — stehen andere Nachteile gegenüber. Sunke und Weermann<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ziemke, Abderhaldens Handbuch. Abt. 4, Teil 12, S. 177.

benutzten den verminderten Abbau von Blutfarbstoff durch Eisessig-bromwasserstoff zur Darstellung des sauren Hämatinspektrums und Erkennung von Blutfarbstoff neben gefärbten organischen Substanzen.

Deshalb bevorzuge ich bei den hier in Frage stehenden Untersuchungen den Blutfarbstoffabbau zu Protoporphyrin ( $C_{36}H_{34}N_4O_4$ ) seiner natürlichen eisenfreien Komponente mit Eisessig-Hydrazinhydrat nach Papendieck und Bonath<sup>1</sup>. Eisessig erweist sich auch hier als brauchbares Lösungsmittel, dem etwas Alkohol zugesetzt werden kann. Ein Hydrazinhydratgehalt von 2—10% bewirkt relativ schnelle Enteisenung, so daß schon nach längstens einer Stunde zur Reinigung der Lösung von dem reichlich mit in Lösung gegangenen Chlorophyll geschritten werden kann. Dieses geschieht durch Ausäthern, und diesem schwach essigsauren Äther entzieht verdünnte Salzsäure (3%) nach Willstätter schon bei einmaligem Ausschütteln die Hauptmenge des Protoporphyrins, während das gesamte Chlorophyll zurückbleibt (Willstätttersche Salzsäurezahl).

Die Trennung des Lösungsgemisches ist unumgänglich notwendig, da Chlorophyll schon bei mäßigem Überschuß sowohl das Proto- wie das Hämatoporphyrinspektrum überlagert.

Die Identifizierung hat in jedem Falle spektralanalytisch zu erfolgen, in den meisten Fällen wohl fluoreszenzspektroskopisch.

In der geschilderten Weise gelingt der Nachweis von Blutfarbstoff auf grünenden Blättern noch nach vielen Wochen auch unter ungünstigsten Witterungseinflüssen. Gerade deshalb erschien es mir wenig wahrscheinlich, daß die Schwierigkeiten, gealterten Blutfarbstoff auf Blättern nachzuweisen, auf seiner schweren Löslichkeit allein beruhen sollten, und ich dachte in erster Linie an Einwanderung des Blutfarbstoffes in das Innere grünender Blätter.

Die Voraussetzungen hierfür erschienen nach der Literatur und eigenen früheren Versuchen gegeben. Es finden sich allgemeine Angaben über die Aufnahme gelöster Kohlenstoffverbindungen bei Blütenpflanzen dort, wo infolge Chlorophyllmangel eine Kohlensäureassimilation nicht möglich ist. Nach einem Sammelreferat von E. Pringsheim<sup>2</sup> ist über die Aufnahme derartiger hochmolekularer Verbindungen in der pflanzlichen Lebewelt nichts bekannt. Über die Fähigkeit hierzu kann nur durch Versuche entschieden werden.

Ich verweise ferner auf eigene Versuche am Institut von Hans Fischer, München, im Zusammenhang mit meinen biologischen Studien über das Wesen der Koprohefe<sup>3</sup>. Damals konnte der Nachweis erbracht werden,

<sup>1</sup> Z. physiol. Chem. **144**, 60 (1925).

<sup>2</sup> Naturwiss. **1931**, H. 15, 329.

<sup>3</sup> Z. physiol. Chem. **177**, 47 (1928).

daß bei spontaner partieller Autolyse bei Bierhefe an primär häminfreier Nährlösung die gesamte Menge von Hämin in dem scharf abgepréßten Hefekuchen dieselbe bleibt, die sie vor der Autolyse bei 10fach größerer Hefemenge war. Der von mir schon damals gezogene Schluß, daß sämtliches, durch partielle Hefeautolyse zunächst in das umgebende Medium gelangte Hämin zum Unterschied von dem ebenfalls in Lösung gegangenen, aber höchstens oberflächlich adsorbierten Koproporphyrin von den überlebenden Hefezellen aufgenommen wird, bleibt bestehen und stützt die zunächst hypothetische Annahme gleichartigen Verhaltens grünender Blätter.

Die experimentellen Untersuchungen wurden an verschiedensten unter natürlichen Bedingungen stehenden Blättern im Frühjahr bis zum Herbstbeginn, vor allem solchen mit dicker Cuticula, ausgeführt, darunter am Maiglöckchenblatt, Holunder- und Tulpenblatt. Bei diesen mühsamen Untersuchungen wurde ich durch Fräulein cand. med. *Schröder* unterstützt. Wir fanden an Gefrierschnitten von Blättern, die mit Blut bespritzt waren, *Pigmente* verschiedenster Form, Färbung und Lage. Form und Färbung allein genügte nicht zur Identifizierung als spezifische Blutfarbstoffelemente; kommen doch bereits in jugendlichen, noch mehr aber in älteren grünen Blättern gelbe chemisch indifferente Pigmente vor, die schon *Willstätter* und *Stoll*<sup>1</sup> bei der Ausarbeitung einer colorimetrischen Bestimmungsmethode zur Trennung des grünen Blattfarbstoffes von diesen gelben Pigmenten veranlaßt haben.

Ihre Lage macht es allerdings in hohem Grade wahrscheinlich, daß jene Pigmente, welche frühestens einen Tag, nachdem Blut auf das Blatt gebracht worden war, zur Beobachtung kamen, nichts mit den autochthonen gelben Blattpigmenten zu tun haben. Charakteristisch für solche exogene Pigmente ist ihre Lage zwischen und an der Basalseite der Blattdeckzellen, ferner in der Umgebung der Gefäßzellen im Siebteil und in den chlorophyllarmen Zellen der Blattrippen. Es ist lediglich eine Frage der Zeit, welche zwischen Aufbringen von Blut auf die Blattoberseite und Untersuchung verstrichen ist, ob wir sie mehr peripher oder mehr zentral gelegen vorfinden. Als wichtige Eintrittsstellen erscheinen die Stomata, soweit solche auf der Blattoberseite vorhanden sind, bzw. die Intercellularspalten. Ein typisches Bild derartiger Pigmentablagerungen zeigt die folgende Mikroaufnahme vom Querschnitt eines Tulpenblattes am 11. Versuchstage. Ein unbehandeltes Blatt bildet das Gegenstück.

<sup>1</sup> Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin: Julius Springer 1913. — *Willstätter*, Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. I, Teil 11, S. 1.



Abb. 1. Tulpenblatt am 11. Versuchstage. Gefrierschnitt mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  vorbehandelt. 320fache mikroskopische Vergrößerung.



Abb. 2. Querschnitt durch ein normales Tulpenblatt. Sonst wie oben.

Zur weiteren Charakterisierung dieser Pigmente wurde ihre Löslichkeit in Eisessig, Alkohol und konzentrierter Schwefelsäure herangezogen. Aceton erwies sich als nichtlösend und sehr geeignet, die grüne Chlorophyllkomponente bei den weiteren histologischen und histochemischen Untersuchungen zu eliminieren.

Schwefelammonium ließ diese Pigmente tief schwarzbraun nachdunkeln, wodurch sie als schwermetallhaltig gekennzeichnet wurden. Die Turnbull-Reaktion ergab ferner den einwandfreien Nachweis von Eisen.

In der Histologie tierischer Gewebe gilt diese Reaktion als typisch für Blutpigmente. Eine Voraussetzung, die dort zutreffen mag.

Die Verifizierung als Blutfarbstoffpigmente bleibt jedoch schon im tierischen Gewebe wünschenswert und wurde von mir vor Jahren durch Darstellung des Hämatoporphyrins und Beobachtung seines Emissionspektrums in hämosiderotischen Lebern und Milzen erbracht<sup>1</sup>. In pflanzlichen Substraten genügt der Eisennachweis in einem Pigment noch viel weniger zu seiner Definierung, da in jedem Schnittpräparat unbehandelter Blätter ebenso wie bei Veraschung ganzer Blätter beträchtliche Eisensalzmengen mit der Turnbull-Reaktion darstellbar waren, so daß sich hier der spektralanalytische Nachweis als Blutfarbstoffpigment als unerlässlich erwies.

Dieser Nachweis wurde fluorescenzspektroskopisch mit der Haitinger-Reichert-UV-Lichtquelle<sup>2</sup> geführt.

Mit Hilfe dieser energiereichen UV.-Lichtquelle war es auch dort, wo die Hanauer Quecksilberdampfquarzlampe versagte, noch möglich, Blutfarbstoffporphyrine fluorescenzspektroskopisch messend zu verfolgen. Dabei hat sich die Darstellung des Hämatoporphyrins wieder der des Protoporphyrins als überlegen erwiesen. In dünnen mikroskopischen Schnitten fallen die unerwünschten Schwefelsäurewirkungen vor allem dann weg, wenn man ihr Glycerin zusetzt. Man erreicht dabei außerdem ein längeres Andauern der spektralen Leuchterscheinungen. Wiederholt konnte festgestellt werden, daß die Fluoreszenzbande bei 611  $\mu\mu$  auch dort noch angedeutet war, wo eine rote Porphyrinfluoreszenz nicht mehr beobachtet werden konnte.

Die längste Zeit, nach welcher wir einen vom grünenden Blatt aufgenommenen Blutfarbstoff bis jetzt nachzuweisen imstande waren, betrug 10 Wochen.

Es ist damit zu rechnen, daß der Blutfarbstoff hier mit der Zeit weitere Umwandlung erfährt. Das wiederholte Ausbleiben der sekundären Porphyrinfluoreszenz bei solchen Pigmenten spricht sehr in diesem Sinne.

Als Schlußfolgerung möchte ich nicht etwa derartige histochemische Untersuchungen bei allen gealterten Blutflecken auf grünen Blättern propagieren. Darstellung und Isolierung als Protoporphyrin in 3 proz. salzsaurer Lösung erscheint mir vielmehr im allgemeinen das Gegebene.

<sup>1</sup> Krkh.forsch. 6, 48 (1927).

<sup>2</sup> Hersteller: Optische Werke C. Reichert, Wien.

Bei Materialmangel allerdings gewinnt auch die histochemische Untersuchung — die von mir bisher aus erkenntnistheoretischen Erwägungen vorgenommen wurde — Bedeutung.

Es wird weiterhin zu untersuchen sein, in welcher Art eine allmähliche Umwandlung von Blutfarbstoff im Blatt erfolgt.

In der *Wechselrede* beantwortet der Vortragende die Frage des Herrn *Schwarzacher*, in welcher Form Hg vorliege, dahin, daß es sich um Hg-Sulfid handle.

---

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

## Neues zum Giftnachweis im Gewebe.

Von  
Priv.-Doz. Dr. med et phil. Timm.

Mit 4 Textabbildungen.

Erfahrung und Theorie haben bisher gelehrt, auf die eigentliche Hauptaufgabe der Histochemie, den lokalisierten Nachweis chemischer Verbindungen im Gewebe und in der Zelle zu verzichten, und so hat sich die Histochemie immer mehr zu einer speziellen Mikrochemie des Gewebes entwickelt, die nach bestimmten Stoffen fahndet, ohne auf das Gewebe selbst Rücksicht zu nehmen. Hiermit soll nicht in Abrede gestellt werden, daß der Histochemie Erkenntnisse über den Ablauf von Stoffwechselvorgängen zu verdanken sind, die auf makroanalytischem Wege nur schwer oder gar nicht zu erbringen waren. In vielen Fällen mag der Nachweis eines Stoffes in einem Organ für die Lösung mancher Probleme schon vollauf genügen, und dann ist es lediglich eine Frage der zweckmäßigsten Technik, ob man sich makro- oder mikrochemischer Verfahren oder auch physikalisch-chemischer Methoden, z. B. der Funkenspektrophotographie u. dgl. bedient. Erreichbar ist aber mit allen diesen Verfahren — darüber muß man sich klar sein — immer nur ein ganz grober Überblick über die Verteilung eines Stoffes im Körper und Gewebe. Subtilere Einzelheiten, insbesondere Fragen nach der Lokalisation, dem Ort der Entstehung von Stoffwechselprodukten, der Angriffsstelle von Giften u. dgl. lassen sich hierdurch nicht sicher beantworten.

Bei den *Giften* im besonderen sucht die Pharmakologie den Angriffs-ort aus der Wirkung auf den lebenden Organismus zu ermitteln, während die Pathologie hierbei von der Formänderung der Organe und ihrer Zellen ausgeht. Ob aber in jedem Falle zwischen der Störung der