

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität
Erlangen (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. WEINIG).

Über den Nachweis von niederen primären Alkoholen der aliphatischen Reihe und deren Bildung in faulendem Blut*.

Von

W. SCHWERD und C. L. GARHAMMER.

Die Methoden zum Nachweis von niederen primären Alkoholen der aliphatischen Reihe sind in der chemischen und toxikologischen Literatur weit verstreut. In den üblichen Lehr- und Handbüchern findet man häufig Angaben, aus denen die Spezifität oder die Empfindlichkeit nicht eindeutig hervorgeht. Da aber nicht nur Methanol und Aethanol, sondern auch die zunehmend Verwendung findenden niederen Alkohole mit mehr als zwei C-Atomen in der forensischen Toxikologie und sozialmedizinischen Begutachtung an Bedeutung gewinnen und zusammenfassende Darstellungen über geeignete Nachweismethoden fehlen, haben wir es uns zur Aufgabe gemacht, aus der verwirrenden Vielzahl der Methoden systematisch diejenigen herauszuarbeiten, die für die praktische Toxikologie brauchbar sind.

Das Fehlen einer solchen zusammenfassenden Darstellung wurde uns zudem bei Untersuchungen über Art und Ausmaß der Neubildung niederer primärer Alkohole in faulendem Leichenblut besonders deutlich. Der erste Teil der Arbeit ist deshalb rein methodischer Art, während im zweiten Teil auf die Frage der Alkoholneubildung in faulendem Blut eingegangen wird.

Zunächst wurden aus der uns zur Verfügung stehenden chemischen Literatur (Chemisches Zentralblatt von 1894—1944; Chemical Abstracts von 1940—1950; Zeitschrift für analytische Chemie von 1862—1950; Mikrochemie von 1923—1948; Beilsteins Handbuch der organischen Chemie und soweit möglich die einschlägigen Originalarbeiten) die zum mikrochemischen Nachweis geeigneten Methoden ausgewählt und vom Methanol bis n-Amylalkohol in Serienuntersuchungen auf Spezifität und Empfindlichkeit nachgeprüft. Darüber hinaus wurden die Nachweise, soweit erforderlich, überarbeitet und verbessert. Die Untersuchungen wurden mit folgenden Alkoholen der Firma E. Merck-Darmstadt vorgenommen: Alcohol methylicus p. a., Alcohol aethylicus abs. p. a., Alcohol propylicus normal, Alcohol isopropylicus Erg.B. 6, Alcohol

* Die vorliegende Arbeit wurde teilweise mit Unterstützung der „Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft“ durchgeführt, wofür ihr auch an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgesprochen sei.

butylicus normal, Alcohol isobutylicus zur Vitamin B₁-Bestimmung und Alcohol amylicus normal DAB 6.

Im folgenden wird über die wesentlichen Ergebnisse unserer Untersuchungen berichtet. (Die Konzentrationen werden ausschließlich in Volumenprozent angegeben.)

I. Methanolnachweise.

1. Chromotropsäurereaktion.

Von den außerordentlich vielen Verfahren zum Nachweis von Methanol wurde zunächst die Chromotropsäurereaktion (E. EEGRIWE 1937) in der Modifikation von K. AGNER und K. BELFRAGE hinsichtlich ihrer Spezifität überprüft. Bei der Ausführung der Methode wurde nach den Angaben von E. WEINIG und G. NEUGEBAUER verfahren, die die Reaktion im Hinblick auf die Bestimmungsmöglichkeit von Aethanol neben Methanol eingehend untersucht haben:

0,1 ml der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit 0,1 ml einer mit Kaliumpermanganat gesättigten 5%igen Phosphorsäure versetzt. Diese Mischung wird bei konstanter Temperatur (20° C) 20 min verschlossen stehengelassen. Danach wird Schwefeldioxyd bis zur Entfärbung eingeleitet. Nach Zugabe von 4 ml einer stark schwefelsauren Chromotropsäurelösung (20 mg Chromotropsäure in 4 ml 72%iger Schwefelsäure) wird die Probe bei verschlossenem Gefäß 30 min im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wird colorimetriert.

Dabei konnten folgende Ergebnisse gewonnen werden: Sowohl mit wasserfreiem *Methanol* p. a. als auch mit konzentrierten wäßrigen Methanollösungen ergibt sich eine sehr intensive Violettfärbung, vergleichbar mit der einer starken Permanganatlösung. Bei geringerem Methanolgehalt (bis herab zu 1 %) ist mit bloßem Auge nur ein geringfügiges Nachlassen der Farbintensität zu erkennen. Unter 1 % wird die Färbung zunehmend schwächer. Die Grenze der Nachweisbarkeit liegt zwischen 0,01 und 0,001 %, wobei noch eine sehr schwache Rosaviolett-färbung zu erkennen ist. Bei geringen Methanolkonzentrationen (0,1 % und weniger) werden trotz genauer Herstellung der Lösungen und exakter Einhaltung der Arbeitsbedingungen häufig Schwankungen der Farbintensität beobachtet, die jedoch im allgemeinen eine Fehlergrenze von $\pm 0,01$ % nicht überschreiten.

Mit *n-Propanol* tritt bei dieser Reaktion eine deutliche Violettfärbung auf, die jedoch mehr ins Rosa spielt, als die Färbung bei der Reaktion mit Methanol. Die Farbstärke ist wesentlich geringer als die einer gleichkonzentrierten Methanollösung. Sie ist bei einer 20%igen Lösung etwa mit der einer 1%igen Methanollösung zu vergleichen. Die Grenzkonzentration liegt bei etwa 0,05 %. Durch Fraktionieren von reinem Propanol mit Hilfe einer Fraktionierkolonne waren in den ver-

schiedenen Fraktionen keine nennenswerten Farbschwankungen zu erzielen und somit kein Anhalt dafür zu bekommen, daß die Violett-färbung durch Verunreinigung mit Methanol bedingt war.

Bei den anderen Alkoholen (Aethanol, Isopropanol, n-Butanol, Isobutanol und n-Amylalkohol) tritt, wenn die obige Vorschrift eingehalten wird, lediglich eine Farbintensität auf, die schwächer ist als die einer 0,01%igen Methanollösung und auch diese nur in mittleren (1—50%) Konzentrationsbereichen. Vermehrter Wasserzusatz und damit Änderung der Oxydationsbedingungen führt jedoch zu intensiveren Violett-färbungen, insbesondere bei n-Amylalkohol.

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen läßt sich sagen, daß die Reaktion mit Chromotropsäure der empfindlichste aller Methanol-nachweise ist. Die Grenze der Empfindlichkeit wurde in Übereinstimmung mit EEGRIWE zwischen 0,001 und 0,01% gefunden. Außer mit Methanol wird jedoch die Probe auch mit n-Propanol positiv. Bei diesem Alkohol spielt der auftretende Farbton mehr ins Rötliche, während er beim Methanol mehr bläulich ist. Die Empfindlichkeit reicht bei n-Propanol bis 0,05%. Die Farbintensität ist jedoch etwa 20mal geringer als bei entsprechenden Konzentrationen von Methanol. In fraglichen Fällen, bei denen mit dem Vorhandensein von Propanol zu rechnen ist, läßt sich dies durch die Anwendung der später noch zu besprechenden Reaktion mit m-Nitrobenzaldehyd in der von uns gewählten Modifikation klären.

2. Reaktion mit *Kalium sulfoguaiajolicum*.

Originalvorschrift nach L. WINKLER: In einer Proberröhre werden von dem zu untersuchenden Weingeist 2 Tropfen mit 20 Tropfen (1 ml) n/10 Kaliumpermanganatlösung vermischt. Man mengt nun einen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure mit der Flüssigkeit, fügt dann nach Augenmaß noch etwa 1 ml und endlich noch etwa 4 ml konzentrierte Schwefelsäure zu. In die fast farblose Flüssigkeit wird ein Tropfen Oxalsäurelösung (1:20) gegeben. Nach $\frac{1}{2}$ min streut man in die heiße Flüssigkeit einige Milligramm sulfoguaiajolsaures Kalium und schüttelt durch. Nach einer weiteren $\frac{1}{2}$ min wird die Flüssigkeit durch Einstellen der Proberröhre in kaltes Wasser abgekühlt.

Ist kein Methanol zugegen, so entsteht eine farblose, nach längerem Stehen sich gelblich färbende Flüssigkeit. In Gegenwart von Methanol dagegen färbt sich die Flüssigkeit, je nach dem Methanolgehalt, innerhalb von 10 min blasser oder dunkler rötlichblau. Die Grenzkonzentration liegt nach WINKLER bei 5%.

Wie zahlreiche Versuche mit den anderen Alkoholen in verschiedenen Konzentrationen ergaben, ist die *Reaktion für Methanol spezifisch*. Bei den anderen Alkoholen tritt unter Umständen eine leichte Gelbfärbung auf. Zum Unterschied von der Originalvorschrift wurde nicht in Aethanol, sondern in wäßrigen Lösungen gearbeitet und, da es um die Erfassung kleinster Methanolkonzentrationen ging, wurden 10 Tropfen n/10 Kaliumpermanganatlösung und 2,5 ml konzentrierte Schwefelsäure

verwendet und schließlich der heißen Lösung einige Körnchen Kalium sulfogujacolicum zugesetzt. Zur Beseitigung einer eventuell noch vorhandenen Violettfärbung wurde 1 Tropfen Oxalsäurelösung zugegeben. Dabei ergab sich, daß die Reaktion noch bei 10 Tropfen einer 0,05% igen Lösung positiv wurde und damit 100mal empfindlicher war als beim Arbeiten nach der Originalvorschrift. Bei weiteren Versuchen zeigte sich aber, daß die Empfindlichkeit der Reaktion durch Anwesenheit von Aethanol, Isopropanol und n-Butanol in Konzentrationen von 5—10% bereits deutlich beeinträchtigt wird, stärker noch durch n-Propanol und Isobutanol, und daß bereits Spuren von n-Amylalkohol genügen, um das Eintreten der Reaktion bei niederen Methanolkonzentrationen erheblich herabzusetzen bzw. zu verhindern.

Wurde die Oxydation statt mit Kaliumpermanganat mit Kaliumdichromat durchgeführt, so war bei Methanol unter 1% keine positive Reaktion mehr zu erzielen.

3. Reaktion mit Morphin- und Apomorphin-Schwefelsäure.

Diese Reaktionen wurden nach der Vorschrift von K. H. BAUER durchgeführt. Auch sie sind nach unseren Versuchen als spezifisch für Methanol anzusehen. Ihre Empfindlichkeitsgrenze liegt mit Morphin-Schwefelsäure bei 2—3%, mit Apomorphin-Schwefelsäure bei etwa 1,5% Methanol.

4. Reaktion mit Resorcin-Schwefelsäure.

Versuche mit dem Resorcin-Schwefelsäurereagens, das von RABE, MAUE und LYONS zum Nachweis von Formaldehyd, Methanol und anderen organischen Verbindungen, von EKKERT dagegen zum Nachweis von Aethanol angegeben wurde, ergaben mit einigen Tropfen der verschiedenen Alkohole wechselnder Konzentration nach vorsichtigem Erwärmen mehr oder minder rasch eintretende, meist intensive Färbungen. Im allgemeinen trat zuerst ein gelber, dann ein orangefarbener, roter und schließlich ein brauner Farbton auf. Mitunter wurden auch grüne Beutöne beobachtet. Die Farbdifferenzen waren so gering, daß daraus keine Rückschlüsse auf das Vorliegen eines bestimmten Alkohols hätten gezogen werden können.

5. Nachweis des gebildeten Formaldehyds als Dimedon-Kondensationsprodukt.

Diese von O. MOHR angegebene Methode beruht auf dem Nachweis des durch Oxydation mit phosphorsaurem Kaliumpermanganat gebildeten Formaldehyds als Dimedon-Kondensationsprodukt (Arbeitsvorschrift s. K. H. BAUER). Die entstandenen Kristalle wurden mikroskopisch und auf Grund ihres Schmelzpunktes identifiziert. Bei den

Versuchen ergab sich, daß die Reaktion zwar spezifisch ist, daß sie aber bei geringerer Konzentration der Ausgangslösung als 5% unsicher wird.

II. Aethanolnachweise.

1. Indigoreaktion.

F. FEIGL, R. ZAPPERT und S. VASQUEZ beschrieben eine Methode zum Nachweis von Essigsäure, die auf der bekannten Indigosynthese von A. v. BAEYER beruht. Bei dieser Synthese wird o-Nitrobenzaldehyd in alkalischer Lösung mit Aceton kondensiert.

Die Autoren gingen von der Tatsache aus, daß beim trocknen Erhitzen von Calciumacetat Aceton entsteht. Die Empfindlichkeit der Reaktion ließ sich gegenüber älteren Methoden (vgl. L. ROSENTHALER) beträchtlich steigern, wenn nach Eindampfen der Probelösung mit Calciumcarbonat der Trockenrückstand in ein Glühröhrchen gebracht und letzteres mit Filterpapier bedeckt wurde, das mit einer *frisch* bereiteten alkalischen Lösung von o-Nitrobenzaldehyd befeuchtet war. Bei allmählichem Erhitzen färbt sich dann das Filterpapier nach intermediärer Braunfärbung blau bzw. blaugrün. Durch nachfolgendes Antüpfeln mit verdünnter Salzsäure verschwindet die Gelbfärbung des Reagens und die blaue Farbe des Indigos tritt auch bei kleinen Mengen von Acetat deutlich hervor. Die Reaktion ist sehr empfindlich; nach den Autoren beträgt die Erfassungsgrenze 60 γ Essigsäure. Hinsichtlich der Spezifität ist zu sagen, daß zwar die anderen homologen Carbonsäuren nicht reagieren, aber doch auch Methylketone und Acetaldehyd die charakteristische Blaufärbung geben.

Da unter geeigneten Bedingungen *Aethanol* bei der Oxydation zum großen Teil Essigsäure liefert, haben wir versucht, diese zum Nachweis von Essigsäure beschriebene Methode auch zum Nachweis von Aethanol brauchbar zu gestalten. Als optimales Oxydationsverfahren erwies sich die alkalische Oxydation mit Kaliumpermanganat.

Im einzelnen wurde hierbei so verfahren, daß 0,2 ml der jeweils zu prüfenden Flüssigkeit mit 6—12 Tropfen gesättigter wäßriger Kaliumpermanganatlösung (je nach der zu erwartenden Alkoholmenge) und 3 Tropfen 2n-Natronlauge versetzt und die Mischung nach kräftigem Durchschütteln 15—30 min bei Zimmertemperatur verschlossen stehengelassen wurde. Nach Abzentrifugieren wurde die klare überstehende Lösung mit Calciumoxyd und Calciumcarbonat vorsichtig zur Trockene eingedampft und weiterhin wie oben beschrieben verfahren.

Bei Einhaltung dieser Vorschrift stört nur *n-Propanol*, das bis zu einer Konzentration von etwa 10% eine schwachblaue Färbung ergibt, während mit *Aethanol* bis 0,5% eine deutlich positive Reaktion zu erzielen war. Geht man von mehr als 0,2 ml Probelösung aus, so stören auch *Isopropanol* und *Isobutanol* in höheren Konzentrationen.

Bei Beachtung der oben angegebenen Vorschrift ist somit die Indigoreaktion als *spezifisch für das Vorliegen von Aethanol* in der Ausgangslösung anzusehen, wenn zwei Voraussetzungen erfüllt sind: 1. Daß die Reaktionslösung nach dem Verfahren von E. WEINIG (im Säuren und Alkalischen unter Zusatz von Quecksilbersalzen) vorbehandelt und damit das Vorhandensein von Säuren, Aldehyden und Ketonen auszuschließen

ist und 2. daß der Gesamtalkoholgehalt der zu prüfenden Lösung nicht mehr als 10% und nicht weniger als 0,5% beträgt (was sich z. B. durch gleichzeitige Anwendung des Widmark-Verfahrens leicht klären läßt).

2. Jodoformreaktion nach LIEBEN.

Diese Reaktion wurde nach den Angaben von J. M. KORENMANN ausgeführt.

Dabei wurden zu 1 ml des jeweils zu untersuchenden Alkohols 2 ml 1 n-Kalilauge und 2 ml einer Lösung von 1,27 g Jod und 1,65 g Kaliumjodid in 100 ml dest. Wasser zugefügt und die Mischung im Wasserbad bei konstanter Temperatur von 50° C etwa 10 min oder solange erwärmt, bis eine Trübung bzw. ein Niederschlag auftrat. Zur Sicherung wurde der abzentrifugierte Niederschlag mikroskopisch auf das Vorhandensein von Jodoformkristallen untersucht.

Methanol. Geprüft wurde unverdünntes Methanol bis zu einer Verdünnung von 0,1%. Im gesamten Konzentrationsbereich war keine Trübung oder Niederschlagsbildung festzustellen.

Aethanol. Auch hier kamen Lösungen, angefangen von unverdünntem Aethanol bis herab zu 0,1%igen Lösungen zur Untersuchung. Unverdünntes Aethanol gibt rasch einen starken Jodoformniederschlag. Bei geringen Konzentrationen wird der Niederschlag entsprechend schwächer. Die Grenze der Nachweisbarkeit liegt bei 1%.

Mit *Isopropanol* tritt die Reaktion bereits in der Kälte ein und ist stärker als mit entsprechenden Aethanolkonzentrationen. Die Empfindlichkeit reicht bis 0,2%.

n-Propanol. Bei reinem n-Propanol und bei hochkonzentrierten Lösungen desselben in destilliertem Wasser ist nur ein äußerst geringer, praktisch zu vernachlässigender Niederschlag zu beobachten. Dieser wird bei etwa 50%igen Lösungen etwas stärker und erreicht bei Lösungen zwischen 10 und 30% sein Maximum. Unterhalb dieses Konzentrationsbereiches tritt wieder ein schwächerer Niederschlag auf. Die Grenze der Empfindlichkeit für Propanol liegt bei 2%.

n-Butanol, Isobutanol und n-Amylalkohol geben sowohl unverdünnt wie auch in Mischungen mit Wasser keine positive Reaktion. Die durch Emulsionsbildung auftretende Trübung darf natürlich nicht mit einer positiven Reaktion verwechselt werden (Unterscheidung durch Zentrifugieren).

Unter den untersuchten Alkoholen fällt somit die LIEBENSche Jodoformreaktion mit Aethanol, n-Propanol und Isopropanol positiv aus. Die Empfindlichkeit reicht bei Aethanol bis 1%, bei n-Propanol bis 2% und bei Isopropanol bis 0,2%. Zu beachten ist ferner, daß die Niederschlagsbildung bei n-Propanol in höheren Konzentrationen als 30% wieder abnimmt. Die Reaktion tritt bei Isopropanol schon in der Kälte rasch ein, bei Aethanol dagegen in der Kälte viel langsamer, rasch dagegen in der Wärme.

III. Reaktionen zum Nachweis höherer Alkohole als Aethanol.

1. Reaktion mit *m*-Nitrobenzaldehyd-Schwefelsäure.

Diese Reaktion wurde von BOEHM und BODENDORF zur Erkennung von Isopropanol in alkoholischen Zubereitungen des Arzneibuches angegeben.

Einige Tropfen Isopropanol werden mit 2 ml Aethanol vermischt und diese Mischung mit einer Lösung von 0,2 g *m*-Nitrobenzaldehyd in 10 ml konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet und 1 min lang in ein heißes Wasserbad gestellt. Bei Anwesenheit von Isopropanol bildet sich ein carminroter Ring und die Färbung durchdringt allmählich die ganze Schwefelsäureschicht.

Zunächst wurde nach der Originalvorschrift gearbeitet, wobei auffiel, daß bereits Blindproben eine Farbreaktion ergaben. Bei weiteren Untersuchungen stellte sich heraus, daß diese Störung auf das Vorhandensein von Aethanol zurückzuführen ist, das ohne jeden Zusatz von Isopropanol (auch Aethanol p. a.!) bis herab zu einer Konzentration von etwa 10% eine positive Reaktion zeigt, die unter 30% jedoch sehr schwach ist. Zur Vermeidung dieser Störung wurde deshalb folgendermaßen verfahren:

1 ml des jeweils zu prüfenden Alkohols unverdünnt bzw. nach Verdünnung mit Wasser wurde mit 5 ml der konzentriert schwefelsauren *m*-Nitrobenzaldehydlösung vermischt und dann genau eine Minute in siedendes Wasser gebracht. Blindproben (mit dest. Wasser) ergaben dabei keine Reaktion.

Methanol. Die Reaktion bleibt bei Konzentrationen von 0,1–100% negativ.

Aethanol. Reines Aethanol (p. a.) ergibt eine deutlich positive Reaktion (braunrote Ringbildung). Bei geringeren Konzentrationen als 30% ist diese sehr schwach, unter 10% negativ.

n-Propanol. Bei Konzentrationen bis herab zu 1% sind folgende, im ganzen gleichmäßige Beobachtungen zu machen: Bereits in der Kälte ist beim Zusatz der schwefelsauren Reagenslösung eine stark braunrote Ringbildung zu erkennen, die beim Erhitzen im Wasserbad ganz intensiv schwarzbraun wird. Auch die Säureschicht nimmt diese Farbe an. Bei niederen Konzentrationen wird der Farbring schmaler und ist zur Säureschicht hin mehr rot, zur Alkoholschicht hin mehr braun gefärbt. Unter 1% unterbleibt die Ringbildung in der Kälte, ist aber nach dem Erhitzen noch bis 0,001% herab zu beobachten. Darunter wird die Reaktion negativ. Bei den niederen Konzentrationen (etwa 0,1% und darunter) nimmt die Säureschicht eine kirschrote Farbe an.

Isopropanol. Die Verhältnisse sind praktisch die gleichen wie beim *n*-Propanol. Bei Konzentrationen um 0,1% wird die Säureschicht kirschrot mit violetter Beiton. Die Empfindlichkeit reicht bis 0,005%.

n-Butanol. Auch hier sind praktisch die gleichen Ergebnisse wie bei *n*-Propanol und Isopropanol erzielt worden. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 0,002%. Bei schwachen Konzentrationen färbt sich die Säureschicht orange.

Isobutanol. Dieser Alkohol verhält sich wie *n*-Butanol. Die Grenzkonzentration liegt bei 0,0005%.

n-Amylalkohol. Hier ist die im ganzen gleichartige Reaktion am empfindlichsten und noch bei Konzentrationen von 0,0001% deutlich zu erkennen. Die Säureschicht ist bei niedrigen Konzentrationen tiefrot gefärbt.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse, die mehrfach nachgeprüft wurden, läßt sich damit sagen, daß beim Arbeiten nach der Originalvorschrift von BOEHM und BODENDORF zwar eine Verunreinigung mit Isopropanol nachgewiesen werden kann, wenn eine intensive Färbung auftritt. Die Methode verliert jedoch dadurch an Wert, daß Aethanol p.a. allein schon in höheren Konzentrationen (über 10%) eine positive Reaktion ergibt. In der von uns gewählten Abänderung ist dagegen die Reaktion, wenn die alkoholische Flüssigkeit weniger als 10% Gesamtalkohol enthält, eine sichere und außerordentlich empfindliche Probe zum Nachweis von Verunreinigungen bzw. vom Vorhandensein von höheren Homologen des Aethanols (geprüft bis zum *n*-Amylalkohol).

2. Reaktion mit Piperonal.

Diese von G. REIF angegebene Reaktion wurde in der folgenden Weise ausgeführt:

Einige Tropfen Isopropanol werden zuerst mit 5 ml einer 0,5%igen Piperonallösung (0,5 g Piperonal in 100 ml absolutem Aethanol) und dann langsam unter Vermeiden des Siedens mit 20 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und gut durchgeschüttelt. 4–5 ml dieser Mischung werden in ein 50 ml fassendes Becherglas von etwa 4 cm Durchmesser gebracht und genau 5 min auf siedendem Wasserbad erhitzt, dann weggenommen und mit 30 ml 30%iger Essigsäure versetzt. Ist Isopropanol zugegen, dann nimmt die Lösung eine rosa bis rote Färbung an, die $\frac{1}{2}$ Std und länger bestehenbleibt. Bei kleinen Mengen von Isopropanol geht die Färbung nach einigen Minuten in Rotbraun über und schlägt dann wieder nach Rot um. Bei Abwesenheit von Isopropanol bleibt die Lösung entweder farblos oder wird nur ganz schwach rosa gefärbt und die Färbung verschwindet wieder nach einigen Minuten.

In Vorproben wurden zunächst lediglich die oben angegebenen Mengen von Piperonallösung, konzentrierter Schwefelsäure und (nach dem Erhitzen) Essigsäure miteinander vermischt. Dabei ergab sich eine schwache Rotfärbung, die nach wenigen Minuten verschwand.

Hierauf wurden jeweils 7 Tropfen der zu prüfenden Alkohollösung (Methanol bis *n*-Amylalkohol) sowohl unverdünnt als auch in abnehmender Konzentration bis 0,5% zu 5 ml der Piperonallösung gegeben

und dann die Reaktion in der oben beschriebenen Weise durchgeführt. Mit *Methanol* entsteht eine sehr schwache, vorübergehende Rosa-färbung, die nicht wesentlich von der der Blindprobe verschieden ist. Mit *n*- und *Isopropanol*, *n*- und *Isobutanol* und *n*-*Amylalkohol* dagegen tritt nicht nur bei höheren, sondern auch schon bei geringen Konzentrationen eine intensivere Rotfärbung auf. Farbintensitätsgleichheit mit der Blindprobe ist etwa bei 0,1%igen Lösungen von *n*-Propanol bis *n*-Amylalkohol vorhanden. Die Empfindlichkeit bei den verschiedenen Alkoholen ist etwa gleich. Der Ausfall der Farbstärke ist erheblich von Temperatur und Erhitzungsdauer abhängig.

Die ursprünglich zum Isopropanolnachweis angegebene *REIFSche Reaktion* ist somit ebenfalls für die Erkennung der aliphatischen Alkohole von *n*-Propanol bis *n*-Amylalkohol brauchbar. Sie ist dabei wesentlich weniger empfindlich und zeitraubender als die von uns in Anlehnung an das Verfahren von BOEHM und BODENDORF gewählte Methode mit *m*-Nitrobenzaldehyd-Schwefelsäure.

3. Reaktion mit Nitroprussidnatrium nach vorangegangener Oxydation.

Gearbeitet wurde nach dem Verfahren von I. RAE: In einen Siedekolben werden 2 g der zu prüfenden alkoholischen Mischung, 3 g gepulvertes Kaliumdichromat und 35 ml verdünnte Schwefelsäure gegeben, sofort mit dem Siedeaufsatz verschlossen und 2 ml in einen kleinen Meßzylinder abdestilliert. Zu dem Destillat werden 8 ml 10%iges Ammoniak, 2 g Chlorammonium und, nach Lösung desselben, 5 Tropfen einer frisch bereiteten 2,5%igen Lösung von Nitroprussidnatrium zugegeben.

Bei den Versuchen mit dem zum Isopropanolnachweis angegebenen Reagens ergab sich bei den von uns untersuchten Alkoholen folgendes: *Methanol*, *Aethanol* und *n*-*Butanol* verhielten sich in allen Konzentrationen negativ. *n*-*Propanol* und *n*-*Amylalkohol* ergaben je nach ihrer Konzentration sofort oder nach wenigen Minuten eine *schwache* altrosa bis violette Färbung, die sich im Verlauf weiterer Minuten noch etwas intensivierte. *Isopropanol* und *Isobutanol* zeigten dagegen eine sofort einsetzende und innerhalb weniger Minuten *sehr intensiv* werdende positive Reaktion (Violett-färbung). Die Grenze der Nachweisbarkeit lag in unseren Versuchen bei beiden Alkoholen bei etwa 0,2%.

4. Vanillin-Schwefelsäurereaktion.

Die von TEIZO TAKAHASHI (vgl. auch C. L. M. BROWN) zum Nachweis von *n*-Amylalkohol, anderer aliphatischer Alkohole und ihrer Ester angegebene Reaktion wurde nach der folgenden Arbeitsvorschrift ausgeführt:

Man löst 1 g Vanillin in 200 ml Schwefelsäure (*d*: 1,84), vermischt hiervon 2 ml mit 3–4 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit und setzt tropfenweise Wasser zu. Hierbei sollen sich folgende Färbungen (K. H. BAUER) ergeben: *Methanol*: gelbe Färbung, die beim Stehen rosa wird. *Aethanol*: grünblau und

hellgrün, nach längerem Stehen verblassend. *n-Propanol*: gelb, auf Zusatz der ersten Tropfen Wasser dunkler werdend, bei etwa 15 Tropfen und mehr purpurrot. *Iso-propanol*: gelb, die ersten Tropfen Wasser färben dunkler, bei etwa 20 Tropfen tiefblauviolett. *Isobutanol*: gelb, auf Zusatz von Wasser allmählich rotviolett.

Eigene Untersuchungen.

Methanol p.a. Die Gelbfärbung der Vanillin-Schwefelsäure bestimmt die Farbe des Gemisches und verblaßt allmählich bei tropfenweiser Zugabe von destilliertem Wasser. Eine Rosafärbung beim Stehen wurde bei Konzentrationen von 100—0,05% nicht beobachtet.

Aethanol p.a. verhält sich wie Methanol. Die von K. H. BAUER angegebenen Färbungen waren nicht zu beobachten.

n-Propanol. Beim Vermischen der Vanillinschwefelsäure mit der Propanollösung intensiviert sich der gelbe Farbton der Mischung. Nach Zusatz von etwa 4 Tropfen destilliertem Wasser beginnt eine Orangefärbung, die nach dem Zusatz von weiteren 8 Tropfen Wasser allmählich in eine intensive Rotfärbung und auf weiteren Zusatz von Wasser über Rotviolett in eine intensive Violettfärbung übergeht. Diese Verhältnisse gelten bei entsprechender Abnahme der Farbstärke bis herab zu Konzentrationen von 0,8%. Unter 0,8% wird folgendes beobachtet: Bei Zusatz der Vanillin-Schwefelsäure zu der Propanollösung tritt keine Farbänderung auf. Erst nach Zusatz von etwa 15 Tropfen Wasser erfolgt eine Zunahme des Gelbtönen. Bei weiterem tropfenweisen Wasserzusatz wird die Lösung mißfarben und schließlich nach Zusatz von etwa 40 Tropfen Wasser schwach grünblau, bei weiterem Wasserzusatz schwach blau. Unter 0,1% sind keine nennenswerten Farbänderungen mehr zu erkennen.

Isopropanol. Beim Vermischen mit Vanillin-Schwefelsäure tritt bei sämtlichen angewendeten Konzentrationen keine Farbänderung ein. Bei tropfenweisem Zusatz von Wasser ist bis herab zu einer 40%igen wäßrigen Lösung folgendes zu beobachten: Nach etwa 8 Tropfen Rotfärbung, die sich bei weiteren 4 Tropfen verstärkt, nach insgesamt etwa 18 Tropfen Rotviolettfärbung und nach etwa weiteren 7 Tropfen eine tiefe Violettfärbung. Bei geringeren Konzentrationen treten die Farbänderungen erst nach größerem Wasserzusatz ein, so z. B. bei einer 20%igen Lösung, die Rotfärbung erst nach etwa 20 Tropfen und die Violettfärbung erst nach etwa 40 Tropfen. Bei Konzentrationen unter 10% wird die Mischung nach etwa 10 Tropfen mißfarben, in größerer Schichtdicke erscheint sie rötlich, nach 40 Tropfen wird sie violett. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei etwa 2,5%. Bei geringeren Konzentrationen ist das Verhalten wie bei Methanol und Aethanol.

n-Butanol. Auch hier tritt erst nach Zugabe von Wasser eine Farbänderung auf. Bei unverdünntem n-Butanol wird die Mischung nach

etwa 10 Tropfen orange, nach weiteren 5 Tropfen deutlich rot und schließlich nach insgesamt 18 Tropfen zunehmend violett. Bei Konzentrationen unter 50% treten entsprechende Farbänderungen erst nach größerem Wasserzusatz auf. Eine ganz schwache Violettfärbung ist nach genügender Wasserzugabe noch bei 1% n-Butanol zu erkennen.

Isobutanol. Bereits bei der Vermischung der Alkohollösung mit Vanillin-Schwefelsäure tritt eine leicht gelbrote Färbung auf, beim Zusatz von 4—8 Tropfen Wasser eine intensive Rotfärbung, die sich noch weiter verstärkt und schließlich bei 15—20 Tropfen in eine intensive Blauviolettffärbung übergeht. Diese Farbänderungen sind mit einem entsprechenden Nachlassen der Farbintensität von 100 — 0,01% die gleichen. Mit abnehmender Alkoholkonzentration ist zum jeweiligen Farbumschlag zunehmend mehr Wasser erforderlich. In Verdünnungen unter 0,01% wird die Reaktion negativ.

n-Amylalkohol. Schon beim Zusatz der Vanillin-Schwefelsäure tritt Orangefärbung ein. Bei weiterem Wasserzusatz wird die Mischung rot und schließlich rotviolett. Für größere Verdünnungen gilt dasselbe, wie es bei Isobutanol beschrieben wurde. Die Grenze der Empfindlichkeit liegt gleichfalls bei 0,01%.

Bei den Versuchen mit Vanillin-Schwefelsäure ergaben sich somit gewisse Abweichungen von den Originalangaben. Insbesondere konnten bei Methanol und Aethanol keine kennzeichnenden Farbtöne beobachtet werden. Bei n-Propanol wurde außer den Farbänderungen von gelb über orange und rot zu violett noch beobachtet, daß bei Konzentrationen unter 0,8%, ohne daß vorher deutliche Rottöne auftraten, nach dem Zusatz von etwa 40 Tropfen Wasser eine grünblaue bis blaue Färbung zu erkennen war. Die Empfindlichkeit der Reaktion ist bei den verschiedenen Alkoholen nicht einheitlich, am größten bei Isobutanol und n-Amylalkohol (bis 0,01%), am geringsten bei Isopropanol (2,5%). Eine gewisse Verschärfung der Reaktion im Bereich der Grenzkonzentrationen und damit Erhöhung der Empfindlichkeit gelingt dadurch, daß man statt Wasser die zu untersuchende Lösung weiterhin zusetzt.

5. Furfurolreaktion.

Die zuerst von KOMAROWSKY angegebene Furfurol-Schwefelsäurereaktion wird im allgemeinen unter den Nachweismethoden für n-Amylalkohol genannt.

Nach K. H. BAUER versetzt man 1 ml der zu untersuchenden Lösung mit 0,1 ml einer 1%igen weingeistigen Furfurollösung und 1,5 ml konzentrierter Schwefelsäure und erhitzt 3 min im kochenden Wasserbad. Bei Anwesenheit von Amylalkohol tritt eine granatrote Färbung auf.

Bei der Nachprüfung der Reaktion ergab sich, daß es gleichgültig ist, ob das Furfurol in Wasser oder Aethanol gelöst wird. Mit wäßriger

Tabelle I. Zusammenstellung der bei der experimentellen Nachprüfung von Reaktionen auf das Vorhandensein niedriger aliphatischer Alkohole gewonnenen Ergebnisse.

| | Chromotrop-säure-reaktion | Reaktion mit Kalium sulfogalacticum | Reaktion mit Morphin- und Apomorphin-Schwefelsäure | Reaktion mit Resorcin-Schwefelsäure | Formaldehyd-dimeron | Indigo-reaktion | Jodoform-reaktion | m-Nitrobenzaldehyd-reaktion | Reaktion mit Piperonal | Reaktion mit Nitroprussidnatrium | Vanillin-Schwefelsäure-reaktion | Furfurol-Schwefelsäure-reaktion (in Konzentrationsbereichen unter 10%) |
|------------------|---------------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|---------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--|
| Methanol . . . | + | + | + | + | + | + | + | — | — | — | — | — |
| Aethanol . . . | — | — | — | — | — | — | — | (unter 10%) | + | — | — | — |
| n-Propanol . . | + | — | — | + | — | — | + | + | + | [(+)] | + | + |
| Isopropanol . . | — | — | — | + | — | — | + | + | + | + | + | — |
| n-Butanol . . . | — | — | — | + | — | — | — | + | + | + | + | — |
| Isobutanol . . . | — | — | — | + | — | — | — | + | + | + | + | — |
| n-Amylalkohol . | — | — | — | + | — | — | — | + | + | + | + | — |

Lösung scheint sogar die Reaktion etwas empfindlicher zu sein. Außerdem konnte eine gewisse Empfindlichkeitssteigerung mit konzentrierterem Reagens erzielt werden. Am günstigsten erschien uns die Verwendung von 0,1 ml einer 2,5%igen weingeistigen Furfurollösung. Es genügt ferner völlig, die nach Zugabe von Schwefelsäure mehr oder weniger rasch auftretenden Farbänderungen zu beobachten. Durch das Erhitzen im Wasserbad tritt lediglich eine Intensivierung der Farbtöne auf, jedoch ist hierdurch keine weitere Charakterisierung möglich.

Bei der Blindprobe ist ein wechselnd starker Gelbton zu erkennen. Alle untersuchten Alkohole ergaben in konzentrierter Form Farbreaktionen. Mit *Methanol* trat eine intensive Braunfärbung auf, mit *Aethanol* eine Bläuviolett-färbung, mit *n-Propanol* eine intensive Rotfärbung, mit *Isopropanol* eine Rot-orangefärbung, mit *n-Butanol* eine Bläurotfärbung, mit *Isobutanol* und *n-Amylalkohol* eine intensive Rotfärbung. In geringeren Konzentrationen verhielten sich dagegen alle Alkohole außer *n-Propanol*, *Isobutanol* und *n-Amyl-*

alkohol wie Blindproben. In niedrigen Konzentrationen (unter 10%) ergaben sich mit diesen Alkoholen im allgemeinen Violetttöne. Die Empfindlichkeitsgrenze lag für n-Propanol bei 0,1—0,2%, für n-Amylalkohol bei 0,1% und für Isobutanol bei 0,05%. n-Propanol und n-Amylalkohol zeigten in diesen niederen Konzentrationen Braunorangeröte, Isobutanol dagegen noch deutliche Rottöne.

6. Reaktion mit o-Nitrobenzaldehyd nach Oxydation mit Chromsäure.

Nach H. WEBER und W. KOCH eignet sich zur Differenzierung der verschiedenen aliphatischen Alkohole eine Probe, bei der nach Chromsäureoxydation des Alkohols (BECKMANNsche Mischung) o-Nitrobenzaldehyd und Natronlauge zugegeben wird. Nach unseren Untersuchungen sind zwar mit konzentrierten alkoholischen Lösungen die von den Autoren angegebenen Farbreaktionen zu erzielen, jedoch konnten in stärkerer wäßriger Verdünnung keine brauchbaren Ergebnisse mehr erhalten werden.

IV. Spezielle Untersuchungen an faulendem Tierblut.

Bei Reihenuntersuchungen mit faulendem Leichenblut (W. SCHWED), die nach der Methode zur Alkoholbestimmung im Leichenblut von E. WEINIG durchgeführt wurden, traten immer wieder im Anfang der Fäulnis Stoffe auf, die durch die Destillationen mit Quecksilbersalzen im Sauren und Alkalischen nicht zurückzuhalten waren. Auf Grund der chemischen Voraussetzungen des WEINIGschen Verfahrens war anzunehmen, daß es sich bei diesen Stoffen um Alkohole oder flüchtige gesättigte Kohlenwasserstoffe handelte. Auch nach Angaben einiger früherer Untersucher war mit der Bildung von Alkoholen bei der Fäulnis von Blut zu rechnen, wenngleich andere Autoren diese Ansicht in Frage gestellt haben. Auf die Alkoholbildung durch Fäulnis hatten schon J. BÉCHAMP (1879) und G. LANDSBERG (1904) hingewiesen. Die Beweiskräftigkeit seiner Feststellung wurde jedoch später durch E. WIDMARK angezweifelt, weil LANDSBERG seine Untersuchungen mit dem unspezifischen Prinzip der Chromsäurereduktion durchgeführt hatte und es sich herausstellte, daß bei der Fäulnis in größerer Menge flüchtige reduzierende Verbindungen nichtalkoholischer Natur auftreten können. Durch M. NICLOUX, V. M. PALMIERI u. a. wurde aber erneut der Nachweis einer Alkoholbildung durch Fäulnis erbracht. NICLOUX erwähnt auch in einem Falle, daß außer Aethanol auch Butanol bei der Fäulnis gebildet wurde, was er methodisch leider nicht belegt hat. Weitere Hinweise auf die Bildung niederer Alkohole mit mehr als zwei C-Atomen bei Fäulnis von Blut finden sich jedoch nicht in der Literatur (W. SPECHT).

Zur Beantwortung der Frage, ob bei der Fäulnis von Leichenblut wirklich Alkohole gebildet werden und zur Identifizierung der hierbei

entstandenen und durch Destillation mit Quecksilbersalzen nicht zu beseitigenden Stoffe haben wir die bei der experimentellen Nachprüfung als geeignet erscheinenden Methoden zum Nachweis von niederen Alkoholen herangezogen.

Zunächst war es erforderlich, ein genügend konzentriertes Destillat von faulendem Blut zu gewinnen. Es wurden daher etwa 40 Liter Tier- (Kalbs- und Schweine-)Blut in Portionen von 3—5 Litern der Spontanfäulnis überlassen und bei genügendem Anstieg der durch Destillation mit Quecksilbersalzen (entsprechend den Verfahren von FRIEDEMANN-KLAAS und WEINIG) nicht zurückzuhaltenden Stoffe im CaCl_2 -Wasserbad (120°) destilliert. Das Gesamtdestillat wurde dann jeweils unter Zusatz von Quecksilbersalzen im Sauren und Alkalischen auf ein Enddestillat von etwa 150 ml eingeeengt, das berechnet mit dem Widmark-Faktor für Aethanol einen Gehalt an reduzierenden Stoffen von 4,8% aufwies. Die Reaktion des Destillates war neutral, Aldehydreaktionen und Reaktionen auf das Vorhandensein von Ketonen verliefen negativ. Mit der LIEBENSchen Jodoformreaktion war in der Kälte kein nennenswerter, in der Wärme dagegen ein rasch auftretender Niederschlag zu erzielen, der seiner Intensität nach dem einer 4—5%igen Aethanollösung glich. Die Indigoreaktion, die nach unseren Untersuchungen bei einer Gesamtalkoholkonzentration von weniger als 10% als aethanolspezifisch anzusehen ist, war stark positiv; bis zu einer zehnfachen Verdünnung des Destillates konnte eben noch eine positive Reaktion erhalten werden. Mit Aethanoltestlösungen war die Grenze der Empfindlichkeit bei 0,4—0,5% zu erreichen. Auf Grund dieser Befunde konnte kein Zweifel daran bestehen, daß in dem Enddestillat *Aethanol*, und zwar als weit überwiegender Bestandteil, vorhanden war.

Die weiteren Untersuchungen erstreckten sich auf den Nachweis von Methanol und höheren Alkoholen. Mit der Chromotropsäurereaktion ergab sich ein positiver Befund, der seiner Intensität nach dem einer 0,07—0,08%igen Methanol-Testlösung entsprach. Da nun auch n-Propanol unter Umständen eine positive Chromotropsäurereaktion ergibt, wurde zur Klärung der Frage, ob die positive Reaktion in dem Destillat auf das Vorhandensein von Methanol zurückzuführen ist, einerseits die m-Nitrobenzaldehydreaktion angesetzt und andererseits versucht, den Befund mit einer völlig spezifischen Methanolreaktion zu erhärten. Die m-Nitrobenzaldehydreaktion wurde deutlich positiv. Ihrer Stärke nach entsprach sie dem Befund bei einer 0,1—0,2%igen n-Propanollösung. Eine 0,2%ige n-Propanollösung ergab aber mit der Chromotropsäurereaktion nur eine wesentlich schwächere Violettfärbung, als sie im Enddestillat zu erhalten war. Beim colorimetrischen Vergleich mit Methanol-Testlösungen entsprach die Farbintensität der 0,2%igen n-Propanollösung der einer 0,01%igen Methanollösung. Da aber in dem End-

destillat eine wesentlich stärkere Reaktion zu verzeichnen war, konnte somit an dem Vorhandensein von Methanol kein Zweifel bestehen. Auch nach dem Verfahren mit Kalium sulfogujacolicum konnte ein deutlich positives Ergebnis gewonnen werden. Dieses war allerdings wiederum schwächer als mit einer 0,06—0,07%igen Methanollösung, was sich durch das Vorhandensein von höheren Alkoholen im Enddestillat erklären läßt, wodurch, wie wir feststellen konnten, die Empfindlichkeit dieser Reaktion herabgesetzt wird.

Nach dem Ausfall der verschiedenen Alkoholreaktionen ließ sich die quantitative Verteilung der Alkohole in dem Enddestillat grob folgendermaßen angeben: Methanol 1,2—1,5%, Aethanol etwa 95%, höhere Alkohole 3—4% (berechnet auf den Gesamtalkoholgehalt). Für das Vorhandensein von gesättigten Kohlenwasserstoffen, die bei der verwendeten Destillationsmethode allenfalls mit übergehen können, ergaben sich keine Anhaltspunkte.

Es wurde ferner noch versucht, die Art der höheren Alkohole näher zu bestimmen. Infolge der geringen Konzentration konnte aber lediglich auf Grund des Ausfalls der Vanillin- und Furfurol-Schwefelsäurereaktion mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit gesagt werden, daß es sich vor allem um n-Amylalkohol handelte. Die Frage nach der Art der höheren Alkohole wird auch bei stärkerer Konzentration eines Destillates mit diesen Stoffen nicht ohne weiteres möglich sein. Einerseits deswegen, weil sich die Untersuchungen aus technischen Gründen nur auf die Alkohole n-Propanol bis n-Amylalkohol erstrecken konnten, es aber nicht auszuschließen ist, daß auch Isoamylalkohole oder noch höhere Alkohole bei der Fäulnis gebildet werden und andererseits deswegen, weil die uns bekannten Reaktionen zum Nachweis höherer Alkohole jeweils mit mehreren Alkoholen positiv ausfallen. Zur Klärung dieser Frage können bei genügender Konzentration der vorhandenen Alkohole allenfalls physikalische Methoden herangezogen werden. Wir dachten dabei insbesondere auch daran, mit der Drehbandkolonne nach Dr. KOCH, mit der eine Trennung flüchtiger Stoffe zu erreichen sein soll, auch wenn die Siedepunkte nur geringfügig voneinander abweichen, zu arbeiten. Leider stand uns das Gerät bisher noch nicht zur Verfügung. Versuche zur Trennung der aliphatischen Alkohole nach Oxydation als 2,4-Dinitrophenylhydrazone mit der chromatographischen Adsorptionsmethode, die einer von uns (G.) durchgeführt hat, haben bisher noch zu keinem brauchbaren Ergebnis geführt.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Alkoholbildung im menschlichen Leichenblut bei Fäulnis werden in der Arbeit: „Die Beurteilung von Alkoholbefunden im Leichenblut“ in dieser Zeitschrift mitgeteilt.

Zusammenfassung.

1. Mit der zunehmenden Verwendung von niederen primären Alkoholen mit mehr als 2 C-Atomen in der Technik haben diese Stoffe in der gerichtlichen und sozialen Toxikologie an Bedeutung gewonnen. Da zusammenfassende Darstellungen über hinreichend empfindliche Nachweise fehlen, wurden aus der Vielzahl der Methoden, die in der toxikologischen Praxis brauchbaren Verfahren, zum Teil unter Ausarbeitung von Verbesserungsvorschlägen, systematisch überprüft.

2. Unter Anwendung der hierbei gewonnenen Erfahrungen wurden Untersuchungen in dem unter Zusatz von Quecksilbersalzen gewonnenen Enddestillat von 40 Litern faulendem Tierblut durchgeführt, bei denen sich ergab, daß eine Neubildung von Alkoholen bei Fäulnis auftreten kann. Bei den neugebildeten Alkoholen handelte es sich vorwiegend um Aethanol, sowie um geringe Mengen von Methanol und von Alkoholen mit mehr als 2 C-Atomen (wahrscheinlich n-Amylalkohol).

Literatur.

- AGNER, K., u. K. BELFRAGE: Acta physiol. scand. (Stockh.) **13**, 87 (1947). — BAAYER, A. v., u. V. DREWSSEN: Ber. dtsh. chem. Ges. **15**, 2856 (1882). — BAUER, K. H.: Die Organische Analyse. Leipzig 1945. — BÉCHAMP, I.: C. r. Acad. Sci. Paris **89**, 573 (1879). — BOEHM, TH., u. K. BODENDORF: Arch. Pharmaz. **268**, 249 (1930). Ref. Chem. Zbl. **1930** (II), 1106. — BROWN, C. L. M.: Pharmaceut. J. **133**, 560 (1934). — EEGRIWE, E.: Z. analyt. Chem. **110**, 22 (1937). — EKKERT, L.: Ber. ungar. pharmaz. Ges. **4**, 119. Ref. Chem. Zbl. **1928** (I), 2635. — FEIGL, F., R. ZAPPERT u. S. VASQUEZ: Mikrochem. **17** (N. F. **11**), 166 (1935). — FRIEDEMANN, TH., and R. KLAAS: J. of Biol. Chem. **117**, 47 (1936). — GARHAMMER, C. L.: Inaug.-Diss. Erlangen 1952. — KOMAROWSKY, A.: Chemiker-Ztg **27**, 807 (1903). — KORENMANN, I. M.: Z. analyt. Chem. **93**, 335 (1933). — LANDSBERG, G.: Z. physiol. Chem. **41**, 505 (1904). — LIEBEN, A.: Liebigs Ann. Suppl. **7**, 218 (1870). — LYONS, A. B.: J. Amer. Pharmaceut. Assoc. **12**, 323. Ref. Chem. Zbl. **1923** (IV), 81. — MAUE, G.: Pharmaz. Ztg **66**, 72. Ref. Chem. Zbl. **1921** (II), 659. — MOHR, O.: Mikrochem. **8**, 154 (1930). — NICLOUX, M.: C. r. Soc. Biol. Paris **120**, 1304, 1306 (1935); **121**, 975 (1936). — PALMIERI, V. M.: Verh.-Ber. Kongr. gerichtl. Med., Bonn 1938, S. 463. — RABE, F.: Pharmaz. Ztg **66**, 72. Ref. Chem. Zbl. **1921** (II), 659. — RAE, I.: Pharmaceut. J. **116**, 630 (1926). Ref. Chem. Zbl. **1926** (II), 921. — REIF, G.: Z. Unters. Lebensm. **55**, 204 (1928). — ROSENTHALER, L.: Nachweis organischer Verbindungen. 2. Aufl., S. 285. Stuttgart 1923. — SCHWERD, W.: Inaug.-Diss. Erlangen 1950. — Vortr. Tagg Ges. gerichtl. Med. München 1952. — SPECHT, W.: Erg. path. Anat. **33**, 138 (1937). — TEIZO TAKAHASHI: J. Agricult. Tokyo **5**, 167 (1913). Ref. Z. Unters. Nahr.- u. Genußm. **27**, 820 (1914). — WEBER, H., u. W. KOCH: Chemiker-Ztg **57**, 73 (1933). — WEINIG, E.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **40**, 318 (1951). — WEINIG, E., u. G. NEUGEBAUER: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **41**, 30 (1952). — WIDMARK, E. M. P.: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Berlin u. Wien 1932. — WINKLER, L.: Pharmaz. Z.halle, Dtschl. **65**, 489 (1924).

Dr. W. SCHWERD, Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen.