

## V.

**Untersuchungen über die Häminprobe.**

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium von Prof. L. Lewin.)

Von L. Lewin und W. Rosenstein  
in Berlin.**I. Einleitung.**

Seit langer Zeit nimmt die Häminprobe auf Blut in der forensischen Medicin eine wichtige Stellung ein. Aus mehreren Gründen hat sie diese erlangt und behauptet. Die Reagentien für die Anstellung derselben sind einfach und leicht erhältlich und ein Mikroskop in den Händen derer, die solche Untersuchungen unternehmen. Die Methode an sich ist ausserdem so leicht, dass selbst Nichtmediciner, Chemiker u. a. m. vor Gericht gutachtliche Aeusserungen auf Grund derselben abgeben. Nun ist, vorausgesetzt, dass die Betreffenden wirklich die Uebung im Erkennen dieser Krystalle besitzen, das Produkt der angewandten Methode zweifellos eindeutig. Aber auf Grund persönlicher Erfahrungen müssen wir behaupten, dass selbst das Postulat des Erkennenkönnens von Krystallen oder krystallähnlichen Massen, die sich bei der sogenannten Häminprobe gebildet haben, nicht immer von Seiten derer erfüllt ist, die diese Reaction für forensische Zwecke anstellen. Was aber viel schwerer in's Gewicht fällt, ist die Thatsache, die nur denen bekannt ist, die sich speciell auf Grundlage chemisch-forensischer Studien mit diesem Gegenstand abgegeben haben, dass es nicht wenige Umstände giebt, die entweder die typischen Krystallformen dieses Produktes so verändern, dass der Nachweis dadurch besonders erschwert ist, oder überhaupt das Entstehen des Hämin verhindern, wenngleich zweifellos, und auf andere Weise nachweisbar, Blut in dem Untersuchungsobjecte sich vorfand.

Nicht um ganz gleichgültige Dinge handelt es sich bei derartigen Untersuchungen, und deswegen ist die Praxis, die

sich hie und da bei Gerichten eingebürgert hat, derartige Untersuchungen nur von Chemikern ausführen zu lassen, unter allen Umständen als unzulässig und vielleicht sogar gefahrvoll anzusehen. Der Chemiker kann nicht alle jene Untersuchungen kennen, die in den medicinischen Zeitschriften der verschiedenen civilisirten Völker über diesen Gegenstand erschienen sind und noch erscheinen, und deswegen fehlt ihm das nothwendige Maass kritischer Beurtheilung, deren Basis ausreichende Kenntniss von Thatsachen sein muss.

So viel bisher auch in mühevollen Untersuchungen an that-sächlichem Material über die eigenthümlichen Gebilde, die man als Häminkristalle bezeichnet, zu Tage gefördert ist, so sehr man auch bemüht war, Einblicke in die Reaction zu gewinnen, die zum Entstehen der Krystalle Anlass giebt, so gähnen doch demjenigen, der sich eingehender mit dem Studium der Frage abgeben will, überall Lücken entgegen. Vielleicht werden die folgenden Zeilen dazu beitragen, die eine oder die andere derselben zu überbrücken.

## II. Die Methoden der Häminderstellung.

Schon vor der Entdeckung der Häminkristalle durch Teichmann war es Funke gelungen, aus Blut Krystalle darzustellen. Er hatte jedoch weder eine gute Methode für ihre Gewinnung angegeben, noch war er über ihre Zusammensetzung im Klaren.

Der Wunsch, die Funke'sche Methode zu vertiefen und gleichzeitig die Entstehung und Zusammensetzung der Krystalle in das rechte Licht zu setzen, war für Teichmann die Veranlassung zu jenen Untersuchungen, die zur Entdeckung der Häminkristalle führten. Es erschien Teichmann von vornherein als zweifellos, dass die organischen Bestandtheile der rothen Blutkörperchen die Bildungsstätte der Krystalle sein müssten. Um zu entscheiden, welcher Bestandtheil der Blutkörperchen den Krystallen den Ursprung gäbe, löste er die getrocknete Blutkörperchenmasse in verschiedenen Lösungsmitteln auf und fand hierbei, dass eine Lösung der Blutkörperchen in Essigsäure, eingetrocknet, unter dem Mikroskop Krystalle zeigte. Er schlug für diese Krystalle den Namen Hämin vor.

Wie so manche Entdeckung auf medicinischem Gebiete, war auch diejenige der Häminkristalle eine zufällige. Es lag Teichmann, als er seine Untersuchungen über die Krystallisationsfähigkeit des Blutes begann, ganz fern, eine neue Krystallform aus dem Blute darzustellen. Auch die Bedeutung, welche die Darstellung von Krystallen für die Erkennung von Blut in der forensischen Medicin erlangen könnte, mag ihm damals noch nicht zum Bewusstsein gekommen sein. Als er freilich nach der Entdeckung der Häminkristalle erkannt hatte, wie geringe Mengen von Blut zur Bildung derselben ausreichten, konnte ihm der hohe praktische Nutzen seiner Entdeckung nicht mehr verborgen bleiben.

Die ursprüngliche, von Teichmann angegebene Methode der Hämidarstellung hat im Lauf der Zeit viele Modificationen erfahren, die zum Theil für klinische und forensische Untersuchungen nicht ohne Bedeutung sind und auch zur Kenntniss vom Wesen und der Entstehung des Hämins manches, wenngleich nur wenig, beigetragen haben. So berichtete Teichmann selbst in einer zweiten Mittheilung die Thatsache, dass ein mit destillirtem Wasser rein ausgewaschener Niederschlag aus dem Blute nur dann Krystalle liefere, wenn man ihm ausser der Essigsäure Chlornatrium oder ein anderes Chlorid oder Chlorür zusetzt. Damit war die Beteiligung der Chlorverbindungen des Blutes

|   | Reines Blut,<br>trocken oder<br>flüssig? | Präparirtes Blut. | Essigsäure.  |
|---|--|-------------------|--|
| Teichmann, Zeitschr.<br>f. rat. Med. N.F. III. Bd.<br>1853. S. 375.               | Trocken.                                 | —                 | Viel.  |
| Büchner und Simon,<br>Dieses Archiv. Bd. 15.<br>1858. S. 50.                      | Trocken oder<br>flüssig.                 | —                 | Kleiner<br>Ueberschuss<br>der Säure.   |
| Virchow, Dieses Ar-<br>chiv. Bd. 12. 1857.<br>S. 334.                             | Trocken.                                 | —                 | So viel, dass<br>der Raum un-<br>ter dem Deck-<br>glas damit er-<br>füllt ist. |
| Eyssautier bei Mo-<br>rache, Ann. d'Hyg.<br>publ. Sér. 3. Tom. V.<br>1881. p. 17. | Flüssig.                                 | —                 | 4 fach ver-<br>dünnnt,<br>3—4 Tropfen.   |

an der Bildung der Häminkristalle erwiesen. Die Methode, Häminkristalle durch Erwärmen von Blut mit Kochsalz und Eisessig zu gewinnen, wird noch heute in der forensischen Medicin zum Nachweis von Blut benutzt.

Die Essigsäure ist, wie schon Teichmann fand, ersetzbar durch Wein-, Oxal-, Citronen- oder Milchsäure. Auch bei der Darstellung der von Bikfalvi zuerst beschriebenen Brom- und Jodhämatinkristalle kann man statt des Eisessigs eine alkoholische (nicht wässrige) Lösung von Oxal- oder Weinsteinsäure benutzen. Ferner zeigen sich unter gewissen Verhältnissen zur Erzeugung von Kristallen geeignet: Pikrinsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Aepfelsäure, Benzoësäure, Salicylsäure, Ameisensäure, Propionsäure, Buttersäure, Gallussäure. Die übrigen Modificationen der Hämiprobe bestehen im Wesentlichen darin, dass das Blut nicht unmittelbar der Einwirkung einer Säure unterworfen wird, sondern dass vorher in ihm ein Niederschlag erzeugt oder eine Extraction vorgenommen, und die Hämiprobe erst mit dem Niederschlag, bzw. dem Extract angestellt wird.

Vereinzelt ersetzte man, was tatsächlich angängig ist, das Kochsalz durch andere Salze, Chlorammonium, Bromkalium u. a. m.

Die folgende tabellarische Uebersicht lässt die verschiedenen Verfahrensweisen leicht erkennen.

| Kochsalz<br>noth-<br>wendig?                 | Menge,<br>fest oder in<br>Lösung? | Temperatur.                                      | Andere Säuren.                                   | Andere Salze. | Ver-<br>grösser-<br>ung. |
|--|-----------------------------------|--|--|---------------|--------------------------|
| Nein.  | —                                 | 20—50° R.  | Oxalsäure, Weinsäure, Citronensäure, Milchsäure. | —             | —                        |
| Nur, wenn d. Blut seines Salzes beraubt ist. | Ein kleinstes Körnchen.           | In der Kälte oder bei 40—60° C.                  | —  | —             | 300                      |
| —  | Etwa die Hälfte des Blutes.       | Abdampfen bei gelindem Kochen über einer Flamme. | —  | —             | —                        |
| —  | 1 Tropfen einer Lösung 0,5 : 100. | Erwärmung, aber nicht bis zum Kochen.            | —  | —             | —                        |

|  | Reines Blut,<br>trocken oder<br>flüssig? | Präparirtes Blut.  | Essigsäure.            |
|--|--|--|------------------------|
| Morache, Ann. d'Hyg.<br>publ. Sér. 3. Tom. V.<br>1881. p. 17.              | —  | —  | +                      |
| Janert, Die Hämin-<br>krystalle. Inaug.-Diss.<br>Greifswald 1875.          | Trocken.                                 | —  | Einige<br>Tropfen.     |
| Mialhe, Lefort, Mayet<br>et Cornil, Répert. de<br>Pharmac. 1873. 10 juill. | Trocken.                                 | —  | —                      |
| Brücke, Wien. med.<br>Wochenschr. 1857. VII.<br>S. 425.                    | Trocken oder<br>flüssig.                 | —  | +                      |
| Axenfeld, Annal. di<br>chim. e farmac. Ser. IV.<br>6. 1887. p. 98.         | —  | —  | —                      |
| Hoppe-Seyler, Hand-<br>buch d. phys. u. patho-<br>chem. Analyse. 1893.     | Flüssig.                                 | —  | 10—20<br>Tropfen.      |
| Bikfalvi, Centralblatt<br>f. d. med. Wissenschaft.<br>1886. No. 17.        | Trockenes,<br>chlorfreies<br>Blut.       | —  | +                      |
| Teichmann, Zeitschr.<br>f. rat. Med. N. F. Bd. 8.<br>1856.                 | —  | Mit destillirtem Wasser rein ausge-<br>waschener Niederschlag aus dem Blut.  | In gehöriger<br>Menge. |
| Derselbe, ebendaselbst.  | —  | Niederschlag im Blut durch $\text{CuSO}_4$ .<br>Extrahirt mit schwefelsäurehaltigem<br>Alkohol.                                | —                      |
| Simon, Dieses Archiv.<br>1859. Bd. 16. S. 170.                             | —  | Darstellung chemisch reinen Hämato-<br>tins.   | +                      |
| Gunning u. v. Geuns,<br>Chem. Centralbl. 1871.<br>35.                      | —  | Eine mit Wasser verdünnte Blut-<br>lösung wird mit essigsaurem Zink ge-<br>mischt; es entsteht ein röthlicher<br>Niederschlag. | +                      |

| nothwendig?                                      | Kochsalz<br>Menge,<br>fest oder in<br>Lösung? | Temperatur.  | Andere Säuren.  | Andere Salze.  | Vergrösserung.    |
|--|---|--|---|--|-------------------|
| Die Salze des Blutes können ausreichen.<br>Nein. | 2—3 Tropfen einer Lösung von 1 : 1000.        | Mässiges Erwärmen oder spontanes Verdampfen lassen.<br>—<br>Erwärmung bis zur Blasenbildung. | —<br>—  | —<br>—   | 800 bis 1200<br>— |
| —  | Ein Körnchen.                                 | Wiederholtes Erwärmen bis zum Kochen.  | —   | —  | 300 bis 400<br>—  |
| —  | Einige Tropfen einer Kochsalzlösung.          | Erwärmung auf dem Wasserbad.   | —   | —  | —                 |
| —  | —   | —  | Salzsäure, Schwefelsäure, Apfelsäure, Benzoësäure, Salicylsäure, Pikrinsäure. | —  | —                 |
| Nur bei eingetrockneten Flecken.                 | —   | Einmaliges Aufkochen auf dem Wasserbade.   | —   | —  | 300               |
| Nur bei chlorfreiem Blut.<br>Ja.                 | —<br>—  | —  | Oxalsäure und Weinsäure in alkoholischer Lösung.                              | Bromnatrium, Bromkalium, Bromammonium, Jodnatrum, Jodkalium.<br>Bariumchlorid, Strontiumchlorid, Kaliumchlorid, Lithiumchlorid, Calciumchlorid, Ammoniumchlorid, Manganchlorid, Zinnchlorid, Eisenchlorid, Quecksilberchlorid. | —<br>—            |
| —  | —   | —  | —   | —  | —                 |
| Ja.  | —   | —  | —   | —  | —                 |
| —  | —   | —  | —   | —  | —                 |

|  | Reines Blut,<br>trocken oder<br>flüssig? | Präparirtes Blut.  | Essigsäure.                    |
|--|--|--|--------------------------------|
| Huenefeld, Die Blutproben vor Gericht. 1875.   | —  | Extraction des Blutes mit Alkohol und Ammoniak.  | in statu nasc. +               |
| Struve, Dieses Archiv. 1880. Bd. 79. S. 524.   | —  | Verdünnten blutfarbstoffhaltigen Lösungen setzt man zu: Ammoniak, Gerbsäure, Essigsäure bis zur sauren Reaction; es bildet sich ein Niederschlag von gerbsaurem Hämatin.   | +                              |
| Gwosdew, Sitzungsberichte d. kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Bd. 53. II. 1866.   | —  | Fällung defibrinirten Blutes mit $K_2CO_3$ , Trocknen des erhaltenen Niederschla- ges bei höchstens $40^{\circ}C$ . und Extraction mit Alkohol.  | +                              |
| Blondlot, Ann. d'Hyg. publ. Sér. II. Tome 29. 1868. p. 130.  | —  | Mit ammoniakalischem Alkohol extrahirtes Blut.   | Ein wenig mit Wasser verdünnt. |
| Janert, a. a. O.   | —  | Defibrinirtes Blut mit Kochsalzlösung geschüttelt, 24 Stdn. stehen gelassen, das rothe Sediment eingetrocknet und gepulvert.   | Ueberschuss von Eisessig.      |
| Nencki und Sieber, Arch. f. exp. Path. und Pharm. Bd. 18 S. 404 und Bd. 20 S. 325, und Arch. des Scienc. biol. St. Petersb. 1893. T. II. p. 120. | —  | Die gesenkten Blutkörperchen werden mit Alkohol behandelt. Der Niederschlag wird bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft getrocknet, zerrieben und mit viel Amylalkohol unter Zusatz wenig starker Salzsäure gekocht, schnell filtrirt, erkalten gelassen. | —                              |
| Hoppe-Seyler, Handbuch d. phys. u. path.-chem. Analyse. 1893.  | —  | Hämatinlösung in schwefelsäurehaltigem Weingeist nach Zusatz von Wasser.   | —                              |
| Derselbe, ebendaselbst.  | —  | Oxyhämoglobin aufgelöst in Eisessig.   | —                              |

### III. Das Nichteintreten der Häminreaction.

Schon bald nach der Entdeckung der Häminkristalle war es mehreren Untersuchern aufgefallen, dass sich aus Objecten, die zweifellos Blut enthielten, nicht immer Krystalle darstellen liessen. Im Wesentlichen handelte es sich in diesen Fällen um

| nothwendig?   | Kochsalz<br>Menge,<br>fest oder in<br>Lösung? | Temperatur.   | Andere Säuren. | Andere Salze.    | Vergrösserung. |
|---|---|---|----------------|------------------|----------------|
| Nicht absolut nöthig, doch in d. Regel vortheilhaft.<br>Nein. | —   | Nicht bis zum Kochen erwärmen.                          | Ameisensäure.  | —                | —              |
| Ja.   | Wenig.  | —   | —              | Ammoniumchlorid. | —              |
| —   | —   | Nicht bis zur Temperatur der Eiweissgerinnung erwärmen. | —              | —                | —              |
| —   | Nicht zu viel.                                | 40 — 50° C.   | —              | —                | —              |
| —   | —   | —   | —              | —                | —              |
| —   | Wenig Kochsalz.                               | —   | —              | —                | 300            |
| —   | Spur Kochsalz.                                | —   | —              | —                | —              |

stark erhitztes, fauliges oder durch chemische Reagentien verändertes Blut.

#### a. Einfluss der Hitze.

Schon Teichmann gab an, dass das Kochen von Blut die Häminbildung nicht hindert. Später haben sich auch andere Ergebnisse vernehmen lassen. So gab z. B. Hoppe-Seyler an,

dass gekochtes, oder lufttrocken erhitztes Blut die Häminprobe entweder unvollständig, unsicher oder gar nicht liefere, und Blondlot erklärte, dass Blut, mit Wasser bis zur Temperatur der Eiweissgerinnung erhitzt, keine Krystalle entstehen lasse. Augenblicklich muss man auf Grund verschiedener, sehr sorgfältiger Untersuchungen Folgendes annehmen: Erwärmst man verdünntes Blut allmählich bis zum Kochpunkte, so lässt sich aus ihm Hämin gewinnen, aber nicht wenn das Blut bis zur Trockne verdampft worden war. Andererseits kann man nach übereinstimmenden Angaben von Katayama<sup>1)</sup> und Hammerl<sup>2)</sup> Blut einige Zeit bis zu etwa 142° C. erhitzten, ohne dass es dadurch die Fähigkeit Häminkrystalle zu liefern, verliert. Nach dem Erwärmen desselben bis 100° C. während einer Stunde erhält man musterhaft schöne, rhombische neben hanfsamenförmigen Häminkrystalle, bei 120° fast ausschliesslich hanfsamenartige, öfter auch Zwillinge und Mehrlinge. Die bei 140° erhitzte Blutmasse lieferte in mehr als  $\frac{2}{3}$  der Versuche keine und in den übrigen kleine hanfsamenartige Krystalle. Längere Zeit fortgesetztes Erhitzen über 142° lässt die Häminprobe negativ ausfallen.

Auch bei dem Anstellen der letzteren soll eine starke Erhitzung schädlich wirken können, da der kochende Eisessig die Krystalle in statu nascendi wieder zerstört.

Aus blutgetränkter Leinwand, die 3 Wochen lang, täglich 7—8 Stunden der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt war, konnte Hammerl keine Krystalle gewinnen.

#### b. Einfluss der Fäulniss auf die Häminbildung.

Auch hierüber besteht in den bisherigen Versuchsergebnissen keine Uebereinstimmung. Sicher scheint nur zu sein, dass mässig fauliges Blut Krystalle liefert. Nach Janert, Büchner und Simon bewahrt auch Monate lang aufbewahrtes, fauliges, stinkendes Blut seine Krystallisationsfähigkeit, doch fallen die Krystalle meist sehr klein aus und sehen oft wie angefressen und zerbröckelt aus. Nach Morache soll man in faulendem Blut noch nach mehreren Monaten Krystalle finden, wenn die

<sup>1)</sup> Katayama, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. N. F. Bd. XLIX. 1888.  
S. 269.

<sup>2)</sup> Hammerl, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 1892. Bd. IV. S. 44.

äussere Temperatur niedrig war, dagegen fiele die Probe negativ aus, wenn die Fäulniss, wie z. B. in den Sommermonaten, bei direkter Einwirkung der Sonnenstrahlen entstand. Die Dauer der Nachweisbarkeit flüssigen, faulig gewordenen Blutes ist nicht constant. Durchschnittlich lässt es sich durch die Häminprobe 4—5 Monate lang, unter bestimmten Verhältnissen aber auch noch nach 6 Monaten und länger nachweisen. Katzenblut scheint die Eigenschaft, Hämin zu bilden, unter solchen Verhältnissen am längsten zu bewahren<sup>1)</sup>.

### c. Chemische Beeinflussung des Blutes.

Nur wenige Angaben liegen darüber vor, wie chemische Agentien Blut verändern müssen, um die Häminprobe negativ ausfallen zu lassen. Reiner Alkohol soll nach Blondlot im Blute die Fähigkeit, Krystalle zu bilden, vernichten. Ferner soll Blut, das sich auf gerbsäurerreichem Eichen- oder Nussbaumholz befindet, keine oder nur wenig Krystalle liefern.

Mit Kali oder Säure behandeltes Methämoglobin liefert angeblich die Häminkrystalle entweder unvollständig, unsicher oder gar nicht. Blut, das sich 4 Wochen an einer Mauer befunden hatte, und solches, dass 8 Tage lang auf den grünen Blättern eines im Freien stehenden Strauches belassen worden war, lieferte nach Hammerl keine Häminkrystalle. Auch bei verschimmeltem Blut, das mit Gartenerde gemischt war und nach 4 Monaten untersucht wurde, gelang es unter 8—9 Präparaten einmal Krystalle zu erhalten.

Seit geraumer Zeit weiss man, dass frisch gefälltes Eisenoxyd und frisch gefällte Thonerde den Blutfarbstoff aus wässrigen Lösungen aufnehmen, und dass die getrockneten Verbindungen dieser Oxyde mit dem Blutroth von Eisessig nicht gelöst werden, und also — so erklärte man es — keine Häminkrystalle liefern. Selbst gepulverter Thon entzieht einer verdünnten Blutlösung, aber nicht einer concentrirten, nach längerer Zeit Blutfarbstoff. Das Verhalten des letzteren zu Eisenoxyd und Thonerde legt die Möglichkeit nahe, in gewissen Fällen aus Rost und blutgeränkter Erde nicht Häminkrystalle darstellen zu können.

<sup>1)</sup> Misuraca, Ann. di Chimica e di Farmacologia. Vol. X. No. 6. 1889.  
p. 321.

Ganz allgemein nimmt man jetzt an, dass Blut mit Eisenrost gemischt, oder besser auf eisernen Geräthen eingetrocknet, die später rosteten, den Nachweis unter allen Umständen sehr erschwert, ihn häufig aber unmöglich macht. Mischt man Blut mit Eisentheile unter Zusatz einer organischen Säure, so erhält man, wie Tamassia<sup>1)</sup> fand, nach 8—10 Tagen keine Krystalle mehr. Auch längere Berührung von Blut mit Oelsäure, Ameisenäsäure, Milchsäure, Citronensäure soll die Häminprobe negativ ausfallen lassen. Das Gleiche behauptete man von Blutflecken, die mit Seifenwasser gewaschen und von Blut, das mit Fett gemischt wurde. Die beiden letzteren Angaben wurden schon widerlegt, finden sich aber trotzdem noch in sonst guten Lehrbüchern der gerichtlichen Medicin. Man kann tatsächlich Blutflecke mit sogar warmen Lösungen von Toiletteseife, ja selbst 20—25 Minuten mit Pottasche kochen und erhält dennoch aus dem blutigen Material Häminkrystalle. Auch die vorgängige Mischung des Blutes mit Fett ändert den positiven Ausfall der Häminprobe nicht.

#### IV. Wesen und Erkennung des Hämins.

Die Häminkrystalle sind im Grossen darstellbar und daher oft ihrer elementaren chemischen Zusammensetzung nach analysirt worden. Man sieht sie ganz allgemein als salzsaures Hämatin an. Die Essigsäure, so schliesst man, bildet aus dem Oxyhämoglobin des Blutes Hämatin und gleichzeitig entsteht durch chemische Wechselwirkung zwischen ihr und dem Kochsalz Salzsäure, die sich in statu nascendi mit dem vorhandenen Hämatin zu Hämin verbindet. Vielleicht bildet sich sogar der grössere Theil des Hämatins schon durch die entstehende Salzsäure. Dass die Bildung von Hämatin aus Oxyhämoglobin, bezw. Methämoglobin eine unbedingte Voraussetzung für das Entstehen der Häminkrystalle ist, wird durch die Möglichkeit, aus chemisch reinem Hämatin mit Chlornatrium und Essigsäure Krystalle darzustellen, mit Sicherheit bewiesen.

Dass ferner das Chlor thatsächlich zum Hämin wesentlich gehört, dass das Hämin eine salzartige Verbindung des Hämatins

<sup>1)</sup> Tamassia, Atti dell' Istituto Veneto. Ser. 7. I. 1889—90. p. 715.

und der Salzsäure darstellt, erhält dadurch eine wesentliche Stütze, dass Häminkrystalle, mit concentrirter Schwefelsäure zusammengerieben, Salzsäure entwickeln, und dass sich, wenn man die Krystalle in verdünnten Alkalilaugen auflöst, das Chlor des Hämins mit dem Alkalimetall verbindet.

Nencki gewann mittelst Amylalkohol und Salzsäure analysenreines Hämin. Später wurde von Küster<sup>1)</sup> dargethan, dass dieses Hämin von Nencki keinen constanten Gehalt an Amylalkohol besitzt. Die Analysen ergaben Werthe, die zu der Formel  $(C_{32}H_{31}ClN_4FeO_3)_x C_5H_{12}O$  stimmten, wo  $x$  zwischen bestimmten Werthen schwankt. Aus krystallisirtem Oxyhämoglobin vom Pferde konnte Küster bromwasserstoffsaures Hämatin von der Formel  $C_{32}H_{31}BrN_4FeO_3 \cdot C_2H_5O$  darstellen.

Die Anschauung, dass Hämin, nach der üblichen Darstellungsmethode gewonnen, salzsaurer Hämatin sei, hat nicht zu allen Zeiten gegolten. Teichmann sprach nach der Entdeckung der Krystalle die Ueberzeugung aus, dass das Hämin nur aus dem Hämatin stamme, „weil nach der Behandlung der getrockneten Blutkörperchen mit concentrirter Essigsäure die eiweissartigen Stoffe aufgelöst bleiben“. Auch war ihm bekannt, dass die Chlorverbindungen des Blutes an der Bildung der Krystalle betheiligt seien, ohne dass er sich über das Verhältniss des Chlors zum Hämatin Rechenschaft geben konnte. Wenn aber auch noch manche wesentliche Lücke in der chemischen Erkenntniss des Hämins vorhanden ist, so lässt sich doch wohl mit Sicherheit die Ansicht von Wessel als unrichtig erweisen, der in dem Hämin eine Verbindung der Essigsäure mit Hämatin erblickt. Abgesehen davon, dass in dieser Erklärung des Hämins die Stellung des Chlors unberücksichtigt gelassen wird, ist diese Ansicht schon deshalb von der Hand zu weisen, weil die Häminkrystalle sich auch bei der Behandlung mit anderen organischen Säuren, als der Essigsäure, z. B. Milchsäure, bilden. Nicht richtig ist auch die Meinung von Morache, dass die Entstehung von Hämin auf der Entwicklung von Chlor aus einem Chlorür durch concentrirte Essigsäure beruhe. Das Chlor solle sich dann in statu nascendi mit dem durch Wirkung der Essigsäure entstandenen Hämatin verbinden.

<sup>1)</sup> Küster, Ber. der d. chem. Ges. 1894. 27. Jahrg. No. 4. S. 572.

Ausser dem rein analytischen Weg, der zu einer besseren Erkenntniss des Wesens des Hämins führen könnte, scheint es uns noch einen anderen aussichtsvollen zu geben. Möglichst zahlreichen chemischen und physikalischen Einflüssen muss Blut ausgesetzt werden, um den Erfolg dieser künstlichen Veränderung auf die Häminbildung kennen zu lernen. Diesen Weg haben wir neben vielfältigen Modificationen in der Anstellung der Häminprobe eingeschlagen und glauben unsererseits, auf Grund so gearteter Versuche die Meinung stützen zu können, dass das in üblicher Weise dargestellte Hämin salzaures Hämatin ist.

Eine nicht geringe praktische Bedeutung besitzt das Studium der einzelnen Krystallformen des Hämins. Für die forensische Untersuchung muss als Forderung der Nachweis ausgebildeter Krystalle gestellt werden. Amorphe körnchenartige Massen, sog. Granulationen, von der Farbe der Häminkrystalle, die vielleicht wirklich aus Hämin bestehen, können keine absolute diagnostische Bedeutung beanspruchen, weil die Möglichkeit der Täuschung gerade bei solcher Gestaltlosigkeit besonders gross ist.

Unmöglich ist es auch, die verschiedenen Krystallformen als Maassstab für die Unterscheidung von Menschen- und Thierblut zu benutzen. So sollten die Krystalle aus Menschenblut lamellar-prismatisch, d. h. dünn, aber relativ breit sein, und die Länge die Breite nur um geringe Werthe, etwa um das  $1\frac{1}{2}$ - bis 3fache übertreffen. Die Krystalle aus Ochsenblut dagegen wurden als langprismatisch, etwa 6—8 und 8—10 mal so lang als breit bezeichnet; sie sollten ein Modell des hexagonalen Axenkreuzes bilden und unter ihnen sollten auch sechsstrahlige aus drei Krystallen gebildete Sternchen vorkommen. Diese Angaben sind durchaus irrtümlich. Man kann aus Menschenblut, bei gleicher Vergrösserung beobachtet, kleine und grosse Krystalle und auch solche darstellen, bei denen das Verhältniss der Breite zur Länge sich nicht wie 1:1,5—3, sondern auch wie 1:5—8 verhält. Unter den Häminkrystallen aus Menschenblut sieht man auch Sternformen, Zwillingsformen u. s. w., wie sie ganz analog aus Thierblut darstellbar sind. Es ist auch nicht richtig, dass die Häminkrystalle aus Menschenblut heller wie die aus Thierblut sind.

Die häufigste Form der Häminkrystalle ist die rhombische

Tafel. Der Rhombus erscheint breit oder schmal, je nachdem der Krystall auf der Fläche oder Kante aufliegt. Nicht selten liegen mehrere Krystalle in Form von Kreuzen oder Sternen über einander. Als Abart des Rhombus sind die weniger häufig vorkommenden Rauten- und Paragraphenformen zu bezeichnen. Auch die Schlüsselbart- und Schwälbenschwanzform lässt sich durch Anlehnung mehrerer Rhomben an einander ungezwungen erklären. Die beiden letzteren Formen haben wir unter Hunderten, unter den verschiedenartigsten Verhältnissen angestellter Versuche nur sehr selten zu Gesicht bekommen. Als häufig vorkommend sind ferner die hanfsamenartigen, die wetzsteinförmigen und die Weberschiffchen-Krystalle zu erwähnen.

Allein aus der Form der Krystalle die Diagnose auf Blut zu stellen, erscheint uns gefährlich; zum mindesten muss außerdem noch die Färbung der Krystalle berücksichtigt werden. Freilich ist die Farbe der Häminkrystalle eine sehr mannichfaltige. Sie schwankt vom Hellgelb bis zum tiefsten Dunkelbraun. Florence giebt an, auch ungefärbte Krystalle beobachtet zu haben. Wir leugnen ganz bestimmt das Vorkommen ungefärbter Häminkrystalle. Die Färbung gehört zur Wesenheit des Hämins. Wäre dies nicht so, dann hätte die Probe keinen Werth. Die Krystalle müssen bei scharfer Einstellung in ihrer ganzen Masse so gefärbt sein, dass sie sich stets von ihrer ebenfalls gefärbten Unterlage, bezw. Umgebung als leicht unterscheidbarer Körper abheben. Es giebt farblose Krystalle, die in einem solchen Medium veränderten Blutes eine leichte Färbung annehmen, oder ihre gefärbte Unterlage durchscheinen lassen. Bei einiger Uebung vermag man diese leicht von Häminkrystallen zu unterscheiden. In zweifelhaften Fällen thut man gut, um sich vor Verwechslungen zu schützen, nach dem Vorschlag von Rollet den Pleochroismus der Krystalle festzustellen.

## V. Eigene Untersuchungen über den Einfluss chemischer Blutveränderung auf den Ausfall der Häminprobe.

Getrocknetes amerikanisches Blut (*Sanguis bovin. exsiccatus*), das der eine von uns zu Vorlesungszwecken im November vorigen Jahres gebrauchte, liess, als die Häminprobe damit

in der üblichen Weise angestellt wurde, keine, oder unter sehr vielen Versuchen nur vereinzelte Krystalle entstehen. Das Nichteintreten der Reaction gab den Anlass, die hierbei in Frage kommenden Gesichtspunkte einer Prüfung zu unterziehen.

Die folgende Arbeitsanordnung giebt ein Bild des Gedankenanges, der uns bei diesen Untersuchungen geleitet hat. Als störende Einflüsse bezüglich der Häminreaction könnten sich geltend machen:

- A. Blutfarbstoff verändernde Stoffe (Blutgifte im engeren Sinne).
- B. Blut-Eiweiss verändernde Substanzen.
- C. Physikalisch und mechanisch wirkende Mittel.

#### **A. Blutfarbstoff verändernde Stoffe.**

Oxyhämoglobin kann sich den bisherigen Erfahrungen nach — wir heben das Wichtigste hervor — verwandeln in Hämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin, Sulfhämoglobin, Methämoglobin, Hämatin, Hämochromogen, Hämatoporphyrin und in Produkte, welche keine, oder keine bisher als charakteristisch beschriebene Spectren liefern. Unseres Wissens ist bisher dieser Gesichtspunkt nicht als Grundlage einer Untersuchung über Hämin genommen worden. Man konnte hoffen, auf diesem Wege neue Ergebnisse zu erhalten. Die erhaltenen Resultate ergeben die nachstehenden Versuche. Die Häminprobe wurde meistens in der üblichen Weise angestellt, d. h. das trockene Blut wurde mit sehr wenig Kochsalz innig verrieben, das Deckglas aufgelegt, Essigsäure herunterfließen gelassen und die Erwärmung bis zum ersten Kochen des Eisessigs vorgenommen. In dem erkalteten Präparate wurden dann die Krystalle gesucht. Beim negativen Ausfall einer Probe bemühten wir uns, durch Modificationen derselben das Resultat zu ändern. Fast immer machten wir jedoch die Erfahrung, dass, wenn das eben geschilderte Vorgehen ein negatives Ergebniss lieferte, auch Abänderungen desselben daran nichts änderten.

##### **1. Kohlenoxydhämoglobin.**

Defibriniertes Ochsenblut, in welches Leuchtgas bis zur vollen Sättigung eingeleitet war, ergab bei Anstellung der Häminprobe jedesmal ein positives Resultat.

## 2. Sulfhämaglobin.

Leitet man etwa 1 Stunde lang Schwefelwasserstoffgas in defibrinirtes Blut ein, so färbt sich dasselbe grünlich, und wird danach missfarbig. Trotzdem gelingt es, aus ihm nach dem Ein-trocknen charakteristische Häminkrystalle darzustellen. Wieder-holt man das Einleiten nach 4, bzw. 6 Tagen, so liefert das Blut nunmehr fast immer negative Resultate. Nur in vereinzelten Präparaten zeigten sich schwarze Körnchen, die event. als Hämin, aber nicht absolut sicher, anzusprechen waren.

Die spectralen Erscheinungen bestehen im Vorhandensein des Sulfhämaglobinstreifens im Roth und dem verwaschenen Bande des Hämoglobins. Bei längerem Stehen des Blutes schwindet das letztere. Damit erlischt auch definitiv die Möglichkeit, Häminkrystalle darzustellen. Ein etwa 8 Monate altes, mit Schwefelwasserstoff gesättigt gewesenes Blut lässt auch den Absorptionsstreifen des Sulfhämaglobins vermissen. Die Ursache dieser Veränderung ist unbekannt. Meistens riecht ein solches Blut auch nicht mehr nach Schwefelwasserstoff, sondern nach anderen fauligen Zersetzungprodukten.

## 3. Methämoglobin.

Lässt man Methämoglobin bildende Stoffe auf Blut einwirken, so dass die spectralen Veränderungen deutlich ausgeprägt sind, d. h. der Absorptionsstreifen im Roth, die beiden Streifen, die mit den Oxyhämoglobinlinien zusammenfallen und das Band im Anfangstheil von Blau erscheinen, so erhält man trotz dieser Veränderungen ausgeprägte Häminkrystalle.

So behandelten wir Blut mit einem Ueberschuss von Ferricyankalium und trockneten es bei 40° C. Die Häminprobe fiel positiv aus. Phenylhydroxylamin-Blut lieferte das gleiche Ergebniss, und ebenso Blut, das mit Nitrobenzol in der Wärme behandelt worden war.

## 4. Methämoglobin und Hämatin.

Manche chemische Stoffe erzeugen im Blut Methämoglobin neben sehr kleinen Mengen von Hämatin, derart, dass der Absorptionsstreifen des ersteren vorhanden ist, die Anwesenheit des

letzteren aber erst durch die nach Zusatz von Reductionsmitteln auftretenden Streifen des reducirten Hämatins oder Hämochromogens erkannt werden kann. Es bedeutet dieses letztere Blutderivat einen weiteren Schritt in der Destruction des Blutes.

Die spectroskopische Untersuchung des eingetrockneten amerikanischen Ochsenblutes, dessen wir Eingangs dieses Capitels Erwähnung thaten, erwies dasselbe als methämoglobin- bzw. hämatinhaltig. Unter 10 Präparaten lieferte etwa 1 ein positives Ergebniss. Wir glauben nicht, dass bei der Bereitung irgend ein Stoff hinzugefügt wurde, der diese Blutveränderung erzeugte. Die Möglichkeit liegt vor, dass dieselbe in Folge des allmählichen Eindampfens des Blutes entstanden sind. Damit würde aber der Prozess des Eindampfens bis zur Trockne als Ursache einer Blutveränderung anzusprechen sein, durch welche die Häminprobe negativ ausfällt. Denn die Anwesenheit von Methämoglobin neben kleinen Mengen von Hämatin an sich beeinflusst die Häminprobe nicht. Dies beweist das Folgende.

Hydroxylaminchlorhydrat zu Blut gesetzt, lässt Methämoglobin neben Hämatin auftreten. Die Häminprobe mit solchem Blute fällt immer positiv aus.

Chlorsaures Kalium ruft in mässigen Mengen nach langerer Einwirkung auf das sich allmählich bräunende, bezw. schwärzende Blut den gleichen spectroskopischen Befund, wie der vorige Stoff hervor. Auch hier versagt die Häminprobe so lange nicht, als noch Methämoglobin nachweisbar ist.

### 5. Hämatin.

Auf eine tiefere Veränderung des Blutes als das Methämoglobin sie darstellt, weist das Hämatin hin. Organische und anorganische Säuren, Aetzalkalien und nach unseren Untersuchungen auch Brom, Jod, Kupfersulfat u. s. w. erzeugen es. Die Umstände, unter denen es entsteht, sind verschieden. Während Säuren im Allgemeinen die Tendenz haben, die Eiweisskörper des Blutes zu fällen, lassen die Aetzalkalien niemals Gerinnung eintreten. Aber schon innerhalb der hämatinbildenden Säuren bestehen Unterschiede, insofern die meisten organischen flüssiges Eiweiss nicht coaguliren, die anorganischen dies thun und dabei

gleichzeitig, falls sie concentrirt angewandt wurden, den Blutfarbstoff weiter als die vorigen zersetzen.

Der Nachweis des Hämatins geschah in der üblichen Weise, entweder durch Constatirung der dem Hämatin in saurer, bezw. alkalischer Lösung zukommenden Absorptionsstreifen im Roth, oder beim Fehlen derselben durch Erzeugung des Spectrums des Hämochromogens mit Hülfe von Schwefelammonium.

Verdünnte Salzsäure zu defibrinirtem Blut gesetzt und bei 40° C. getrocknet, lässt die Häminprobe negativ ausfallen. Weder krystallinische, noch amorphe Bildungen deuten auf ein solches Produkt hin. Dasselbe Resultat erhält man, wenn Blut mit einer solchen Salzsäure spontan an der Luft eintrocknet.

Verdünnte Salpetersäure verhindert wie die vorige die Darstellung von Hämin aus Blut.

Jodsäure, mit Blut verrieben, liefert eine missfarbige Mischung, in der nach Verdünnen mit Wasser Hämatin nachgewiesen werden kann, die aber die Häminprobe nicht gelingen lässt.

Metallisches Jod liefert nach inniger Verreibung mit Blut eine eigenthümliche orangerothe Farbe. Unter 6 Präparaten gelang es nur einmal einige wenige, sehr kleine, schlecht ausgebildete hanfsamenartige Krystalle nachzuweisen.

Brom erzeugt im Augenblicke der Berührung mit Blut ein braungrünes Coagulum, welches auch bei der verschiedenartigsten Modification der Häminprobe keine Krystalle lieferte.

Chlorsaures Kalium, das in einem Ueberschuss mit Blut 5—9 Tage in Berührung ist, bildet aus diesem eine schwarze, durchaus gallertartige Masse, die kaum in Wasser, auch nicht in Eisessig löslich ist, Hämatin in grossen Mengen enthält und keine Häminkrystalle mehr liefert.

Die Aetzalkalien: Natronlauge, Pottasche, Ammoniak liessen die Häminprobe stets positiv ausfallen, selbst wenn das Blut mit ihnen in der Wärme während längerer Zeit eingetrocknet worden und Hämatin in alkalischer Lösung spectroskopisch nachweisbar war.

Ameisensäure, Oxalsäure, Essigsäure, Monochlor-essigsäure, Milchsäure, Caprinsäure, Buttersäure, Oelsäure verhindern selbst bei längerer, wenn nöthig auch durch Erwärmten herstellter, inniger Berührung mit Blut die Hämin-

probe nicht. Manche dieser Säuren, wie z. B. die Milchsäure, macht sogar den Zusatz von Essigsäure bei der Häminprobe entbehrlich. Die erhaltenen Krystalle besitzen nicht immer die typische Gestalt oder die Durchschnittsgrösse. So sicher dieselben z. B. nach Einwirkung von Milchsäure auftreten, so constant fällt ihre Kleinheit, und nach längerer Berührung mit dem Mittel auch ihre relativ geringe Zahl auf.

Pikrinsäure mit Aderlassblut gemischt, verändert die Blutfarbe in olivgrün. Die Häminprobe gelingt alsbald, auch noch nach 30 Tagen, aber nicht mehr nach 5 Wochen.

Gerbsäure verhindert auch nach längerer Berührung mit Blut nicht die Bildung von Häminkrystallen. Aus Blut, das auf Eichenrinde gestrichen war, konnten wir dieselben noch nach 4 Wochen in typischer Form darstellen.

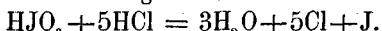
Cyankalium, mit Blut verrieben, lässt in letzterem nach 2 Tagen den verwaschenen Hämoglobinstreifen erkennen. Auf Zusatz von Schwefelammonium erscheinen die Hämochromogenlinien als Beweis der Anwesenheit von Hämatin. Häminkrystalle liessen sich in vollkommenster Gestalt aus solchem Blute auch noch nach 1 Monat darstellen.

Das event. Entstehen von Ameisensäure aus dem Cyankalium ist, nach dem vorher über diesen Stoff Angegebenen, für den Ausfall der Häminprobe belanglos.

Es ist schwer, eine gesetzmässige Abstraction aus den obigen Mittheilungen über hämatinbildende Stoffe, soweit die Möglichkeit des Entstehens von Hämin aus Blut in Frage kommt, zu geben. Zweifellos ist, dass die Hämatinbildung, mithin auch die Zerstörung des rothen Blutfarbstoffs, durch die angeführten anorganischen Säuren und Haloide eine viel energischere ist, als durch Alkalien und organische Säuren. Bis heute fehlt uns dafür eine chemische Erklärung. Vollends ist es räthselhaft, weswegen nach der Behandlung des Blutes mit Salzsäure im Ueberschuss kein Hämin entsteht, da ja die zur Bildung desselben nothwendigen Elemente: Hämatin und Salzsäure, vorhanden sind. Es bleibt nur die Möglichkeit übrig, dass nach längerer Einwirkung der genannten Säuren auf das primär entstehende Hämatin, dieses sich weiter in Produkte umwandelt, die Hämin nicht mehr zu liefern vermögen, und sich in Essigsäure

nicht mehr oder nur wenig lösen oder, dass, wie man behauptete, Hämin in Salzsäure löslich ist. Das letztere kann für unsere Versuchsanordnung nicht zutreffen, weil dann auch unter normalen Verhältnissen die Häminprobe negativ ausfallen müsste.

Bei der Jodsäureeinwirkung könnte man den negativen Ausfall der Häminprobe event. dem Mangel an Salzsäure zuschreiben, da, wenn diese sich aus Kochsalz und Essigsäure bilden wollte, sie nach folgender Gleichung zerfällt:



Indessen mag es sich auch hier, wie bei den übrigen angeführten primären Hämatinbildnern, welche die Probe negativ ausfallen lassen, um eine weitergehende Veränderung des Blutfarbstoffs handeln, die freilich spectroskopisch nicht erkennbar ist. Hervorzuheben ist, dass hierbei immer Eiweiss fällende Stoffe in Frage kommen. Solche, die Eiweiss colliquiren und lösen, geben trotz der sicher nachweisbaren Entstehung von Hämatin, selbst wenn sie in der Wärme mit Blut eintrockneten, regelmässig die Häminkristalle. Die unter der Einwirkung solcher Alkalien entstehenden Blutprodukte sind jedoch in Eisessig löslich.

#### 6. Hämochromogen.

Reducirt man Hämatin, so entsteht Hämochromogen, jenes eigenthümliche Produkt, das sich durch seine ausserordentlich charakteristischen, für den Blutnachweis besonders eignenden<sup>1)</sup> Absorptionsstreifen im Grün zu erkennen giebt.

Der Zufall gab dem einen von uns „Valentine's Meat juice“, ein für Ernährungszwecke angepriesenes, und viel begutachtetes, blutiges Extract in die Hand. Dieser Fleischsaft enthält zersetzes Blut. Er zeigt die Hämochromogenlinien in einer leichten, von Hämoglobin herrührenden Beschattung liegend. Oxyhämoglobin ist darin nicht vorhanden.

Wir wissen nicht, welcher Eingriff zur Herstellung dieses, auch in der Wärme nicht trocken zu machenden, Präparates vorgenommen wird. Keinenfalls kann es sich hier um gleich-

<sup>1)</sup> L. Lewin und Posner, Centralbl. f. med. Wissenschaft. 1887. No. 20.

gültige Mittel handeln. Die nach Trockenversuchen zurückbleibende, fadenziehende, rothe, in Eisessig kaum lösliche Masse gab, wie immer wir auch den Versuch modifirten, niemals Häminkristalle.

Aus anderweitigen Versuchen kannten wir die Eigenschaft des Hydrazins in alkalischer Lösung Hämochromogen zu erzeugen. Der Versuch aus einem so behandelten Blute Häminkristalle zu gewinnen, schlug trotz der Anwesenheit des Aetzalkalis fehl.

Der Schluss ist demnach erlaubt, dass zu Hämochromogen umgewandeltes Blut Häminkristalle nicht liefert.

### 7. Hämatin und Hämatoporphyrin.

Die Jodwasserstoffsäure besitzt eine interessante Einwirkung auf Blut. Versetzt man das letztere mit wenig der Säure, so entsteht ein missfarbiges, graubraunes Magma, während ein Ueberschuss der Säure eine tief rothbraune Lösung liefert, die sich glatt in Alkohol löst, auf Zusatz von Wasser aber trübe wird und Flöckchen abscheidet.

Das mit wenig Jodwasserstoffsäure versetzte Blut liefert bei gehöriger Verdünnung das Spectrum des Methäoglobins, während man nach der Reduction des Blutes durch das Erscheinen der Absorptionsbänder des Hämochromogens auf das Vorhandensein geringer Mengen von Hämatin in saurer Lösung zu schliessen vermag. Solche Blutpräparate geben zahlreiche, wohl ausgebildete Häminkristalle.

Das mit einem Ueberschuss von Jodwasserstoffsäure behandelte Blut lässt spectroskopisch Hämatoporphyrin in saurer Lösung erkennen, mit seinem Absorptionsstreifen im Roth, und dem leichten, sich daran fügenden Schatten, der in die charakteristische Linie im Grün übergeht. Auf genügenden Zusatz von Alkali geht dieses Spectrum in das fünfstreifige des Hämatoporphyrins in alkalischer Lösung über. Aus einem solchen, Hämatoporphyrin enthaltenden Blute kann man keine Häminkristalle darstellen.

Bromwasserstoffsäure verhält sich in seiner Einwirkung auf Blut wie Jodwasserstoffsäure.

Schwefelsäure, 10 pCt. und 30 pCt., erzeugen, mit Blut

verrieben, Hämatin und Hämatoporphyrin und geben keine Häminkristalle.

### 8. Hämatoporphyrin.

Concentrirt Schwefelsäure, in einem Ueberschusse zu Blut gesetzt, lässt Hämatoporphyrin entstehen. Häminkristalle sind aus einem solchen Gemisch nicht mehr darstellbar.

### 9. Unbestimmbare Produkte durch völlige Zerstörung des Blutfarbstoffs.

Leitet man Chlor in Blut ein, so entsteht eine dickflockige Abscheidung von Eiweiss. Der Blutfarbstoff verändert sich hierbei zu einer hellbraunen Masse, die Häminkristalle nicht mehr liefert.

Erdmann gab an, dass wenn man eine alkalische Blutlösung mit Chlorwasser versetzt, weisse Flocken entstehen, aus denen nach dem Trocknen Häminkristalle, oder wenigstens ihnen ähnliche, schwarzrothe, fast undurchsichtige stäbchenförmige Aggregate von prismatischen, an den Enden besenförmig ausgefasernten Krystallen darstellbar sind. Wenn hier nicht eine Bindung des Chlors durch vorhandenes Alkali erfolgt, so ist die Möglichkeit der Darstellung von Hämin unserer Ansicht nach ausgeschlossen. Die von Erdmann gegebene Beschreibung der Häminkristalle entspricht auch nicht deren gewöhnlicher Form. Chlorwasser verändert das Blutroth in ein Grau- oder Grünlichbraun. Absorptionsstreifen liefert eine solche Masse nicht mehr.

Somit kann man als sicher ansehen, dass aus einem, in Hämochromogen oder Hämatoporphyrin umgewandelten Blutfarbstoff Häminkristalle nicht darstellbar sind, dass aber auch schon Stoffe, die zwar primär Hämatin, bei längerer Einwirkung jedoch weitere, unbekannte Derivate des Blutfarbstoffs erzeugen, ebenfalls die Häminprobe verhindern.

### B. Blut-Eiweiss verändernde Substanzen.

In dieser Gruppe, die sich nicht scharf von der vorigen sondern lässt, wollen wir den Einfluss einiger Metallsalze auf Blut, bezw. die Möglichkeit, aus so behandeltem Blute Häminkristalle zu gewinnen, besprechen.

### 1. Eisensalze.

Eine besonders grosse praktische Bedeutung kann die Frage erlangen, ob man Blut, das auf Eisengegenständen mit Rost längere Zeit zusammen war, oder auf nichtrostiges Metall gespritzt in den Prozess des Rostens allmählich miteinbezogen wurde, noch Häminkrystalle zu liefern vermag. Schon Rose gab an, dass mit Eisenrost gemischtes Blut die Probe negativ ausfallen liesse, und nach ihm hat man oft genug in concreten Fällen, wo Blut an rostigen eisernen Gegenständen sich befinden müsste, es vergebens dort nachzuweisen versucht. Man erklärte diese eigenthümliche Thatsache durch die Unlöslichkeit der Verbindung des Blutroths mit dem Eisenoxyd in Eisessig. Nun lässt sich unschwer nachweisen, dass manche Eisenverbindungen, die man mit Blut gemischt hat, das letztere in dem gleichen Sinne verändern und dennoch das Gesammtprodukt in Eisessig löslich ist. Es müssen also wohl noch andere Umstände hierauf bestimmend einwirken können.

Ein solcher könnte, wie wir vermuthen, in der anderweitigen Bindung der aus Kochsalz und Eisessig entstehenden, und für die Bildung der Häminkrystalle erforderlichen Salzsäure liegen. Wir schliessen jedoch hierbei etwaige andere Einflüsse, wie z. B. die Eiweissfällung durch die Metallsalze, oder die directe Veränderung des Blutfarbstoffs nicht aus.

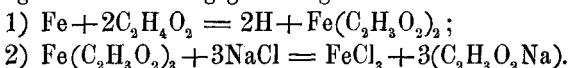
#### a. Metallisches Eisen.

*Ferrum pulveratum* wurde innig mit defibrinirtem Thierblut gemischt. Die vielmals angestellte Häminprobe fiel nach 4 und ebenso nach 17 Tagen negativ aus, obschon bei der spectroskopischen Prüfung des, mit Eisessig bewerkstelligten, Auszuges der Masse Methämoglobin erkennbar war.

*Ferrum reductum*, das wir ganz mit defibrinirtem Thierblut sich vollsaugen liessen, verhielt sich wie das vorige Präparat. Mit keinem Theile der Masse, auch nicht mit denen, die ein blutähnliches Aussehen hatten, gelang die direct angestellte Häminprobe nach 8 Tagen und 4 Wochen, obschon ein wässriger Auszug deutlich die Oxyhämaglobinstreifen erkennen liess.

Es wäre möglich, dass dieser negative Ausfall der Probe

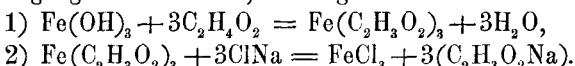
dadurch bedingt würde, dass die nothwendige Salzsäure zur Bildung von Eisenchlorid gebraucht wird. Es würde sich dies durch folgende Umsetzungsgleichungen darstellen lassen:



#### b. Rost.

Ein leicht rostiges Eisenstück wurde in defibrinirtes Thierblut getaucht. Das letztere trocknete bald auf. Nach 5 Tagen liess sich an den Stellen, die sich schon bei oberflächlicher Besichtigung als bluthaltig zu erkennen gaben, durch die Häminprobe kein Blut mehr nachweisen.

Dieser Versuch wurde mehrmals mit dem gleichen Erfolge wiederholt. Liess man das Blut derartig auf dem Eisen austrocknen, dass es eine dicke Kruste darauf bildete, so lieferte die ganz oberflächliche Schicht schöne Krystalle, die am Eisen befindliche keine. Nimmt man auch hier den Mangel an Salzsäure als Ursache des Fehlerfolges, so könnte man den chemischen Vorgang zwischen Rost, Eisessig und Kochsalz so darstellen:



Es würde also auch hier die Salzsäure zur Bildung von Eisenchlorid verbraucht worden sein.

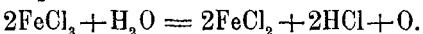
Mischt man Ferrum oxydatum fuscum mit Blut, so fällt, bald und einige Tage nach der Mischung, die Häminprobe positiv, später negativ aus. Nach 24 Stunden lassen sich bei geeigneter Verdünnung nachweisen: Ein Absorptionsstreifen im Roth, der bis zur Lage der Methämoglobinlinie heranreicht, zum Theil aber auch dem Streifen des Hämatins in saurer Lösung entspricht, und ferner Andeutungen der Oxyhämoglobinstreifen. Nach dem Abfiltriren des mit Schwefelammonium erzeugten Niederschlages erkennt man im Filtrate die Streifen des Hämochromogen.

#### c. Ferrum oxydatum saccharatum.

Blut mit Eisenoxydsaccharat gemischt, liess in allen Schichten der Mischung noch nach 5 Wochen typische Krystalle entstehen.

Es ist dies insofern interessant, als bei Gegenwart von Zucker die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass Ferrisalz

zu Ferrosalz reducirt wird, wobei Salzsäure frei werden könnte. Damit wäre der positive Ausfall der Reaction erklärt:



Nach Gladstone's Angabe bildet sich bei längerer Berührung von Eisen mit Zuckerwaaren namentlich bei Gegenwart von Salzen (NaCl u. s. w.)  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\text{FeO}$  (?).

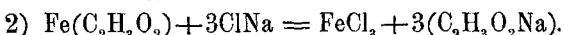
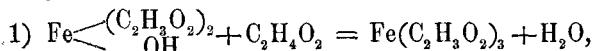
Der spectroskopische Befund einer Mischung von Eisenoxydsaccharat mit Blut ergiebt das Band des Methämoglobins neben den beiden Blutlinien. Schwefelammonium ruft die verwaschene Absorption des Hämoglobin hervor.

#### d. Basisches Eisenacetat.

Dieses Salz wurde mit defibrinirtem Thierblut innig verrieben und stehen gelassen. Nach 5 Tagen waren aus dem Gemisch keine Häminkrystalle mehr darstellbar. Es erscheinen statt dessen auf dem Objectglas, zwar in einer braunen Masse liegend, aber selbst ungefärbt, oder doch nur mit der Farbe ihrer Umgebung versehen, rhombisch-elliptische Krystalle, die aber auch durch gegenseitige Einwirkung von Eisenacetat, Kochsalz und Eisessig ohne Blut erhalten werden.

Unter mehreren zu verschiedenen Zeiten in der gleichen Weise angesetzten Proben fiel nur eine aus uns unbekannten Gründen nicht in Uebereinstimmung mit dem eben angeführten Resultat aus. Für diese eine war frisches Aderlassblut benutzt worden.

Dass die Betrachtungsweise der möglichen Ursache des Nichteintretens der Häminprobe, der wir in dem Vorhergehenden Ausdruck gaben, auch für das Eisenacetat verwendbar erscheint, soll die folgende Formel beweisen:



Somit würde auch die erforderliche Salzsäure zur Bildung von Eisenchlorid verwandt werden und deswegen zur Häminbildung fehlen.

Wir haben gerade bei dieser Verbindung versucht, dem event. Mangel dadurch abzuhelpfen, dass wir einen grossen Ueberschuss von Kochsalz bei der Häminprobe hinzufügten, und dem-

gegenüber Controlpräparate mit wenig Kochsalz herstellten. Der Unterschied war augenfällig, insofern die mit viel Kochsalz hergestellten Präparate wenn auch vereinzelte, so doch typische Häminkristalle aufwiesen.

Spectroskopisch sind in einer Mischung von Ferriacetat und Blut nach den angegebenen Zeiten nicht mehr die Blutlinien erkennbar. Fällt man jedoch mit Schwefelammonium, so zeigt das Filtrat die Absorptionsstreifen des Hämochromogen.

e. *Ferrum oxychloratum.*

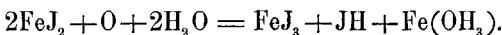
Aderlassblut, das mit Eisenoxychlorid gemischt wurde, verlor schon nach einem Tage die Fähigkeit, typische, und typisch viele Häminkristalle zu liefern. Hier und da erschienen nach dieser Zeit vereinzelte, nicht gut ausgebildete Krystalle. Am 4. Tage fiel der Versuch unter 9 Malen 8 Mal negativ aus. Vom 5. Tage an waren Häminkristalle nicht mehr erzeugbar.

f. *Eisenchlorid.*

Nach 3 Tagen schon liessen sich aus einer Verreibung von Menschen- oder Thierblut mit Eisenchlorid keine Häminkristalle nachweisen. So lange die Darstellung derselben noch gelang, war spectroskopisch das Spectrum des Methämoglobins erkennbar.

g. *Ferrum iodatum.*

Eisenjodür mit Blut gemischt liefert noch nach 4 Wochen gut ausgebildete Häminkristalle, die indessen wohl auch Jod-häminkristalle sein können.



h. *Ferrum carbonicum saccharatum.*

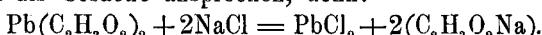
Aus einer Mischung von gezuckertem Eisencarbonat und Blut lassen sich noch nach 4 Wochen typische Häminkristalle gewinnen. Das Spectroskop zeigt innerhalb dieser Zeit das Spectrum des Methämoglobins.

i. *Ferrum citricum fuscum.*

Blut mit diesem Salze behandelt liefert noch nach 4 Wochen Häminkristalle. Trotzdem ist zu dieser Zeit und schon früher der Blutfarbstoff weder durch Wasser, noch durch Eisessig extrahirbar.

## 2. Bleisalze.

Wir mischten *Plumbum aceticum* innig mit Blut. Das entstehende, eigenthümlich gefärbte Magma liefert schon bald nach dem Entstehen keine Häminkrystalle, obschon der essigsäure Auszug desselben ein deutliches Methämoglobinspectrum erkennen lässt. Sind es nicht noch andere Gründe, welche die Hämin-reaction verhindern, so kann man auch hier die Bindung der entstehenden Salzsäure durch das Blei unter Entstehen von Chlorblei als Ursache ansprechen, denn:



## 3. Quecksilbersalze.

Sublimat, mit Blut verrieben, liefert ein orangefarbenes Coagulum, aus dem trotz zahlreich angestellter Versuche typische Häminkrystalle nicht zu erhalten waren. In dem grösseren Theile der Präparate fanden sich jedoch kleine, schwarzbraune Körnchen, die eine zwanglose Deutung als Hämin nicht zuliessen.

Aus der Mischung von Blut mit Sublimat lässt sich der Blutfarbstoff nur theilweis mit Wasser extrahiren. Die erhaltene Lösung lässt spectroskopisch einen Extrastreifen im Roth neben den beiden Bluthlinien erkennen. Die Lösung reagirt stark sauer. Schwefelammonium fällt mit dem Schwefelquecksilber jede Spur von Blutfarbstoff aus, so dass die Bestimmung der Reductionsprodukte des Blutfarbstoffs unmöglich wird.

## 4. Kupfersalze.

Kupfersulfat hindert auch nach langer, durch inniges Verreiben erzeugter, Berührung mit Blut nicht das Entstehen von Häminkrystallen. Dieser positive Ausfall der Probe, trotz der entstehenden Eiweissfällung, könnte durch die Disponibilität der Salzsäure erklärt werden:

- 1)  $\text{CuSO}_4 + 2\text{NaCl} = \text{CuCl}_2 + \text{Na}_2\text{SO}_4,$
- 2)  $\text{CuCl}_2 + 2\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2 = \text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)_2 + 2\text{HCl}.$

## 5. Silbersalze.

Silbernitrat liefert bei der Verreibung mit Blut ein dichtes Coagulum. Die Häminprobe fällt mit dieser Masse alsbald

negativ aus. Die Affinität der, zum Gelingen der Probe erforderlichen, Salzsäure zum Silber könnte auch hier den Grund abgeben:



Blutfarbstoff lässt sich aus dem Coagulum von Silberaluminat nicht mit Wasser, wohl aber mit Eisessig extrahiren. Man erkennt im Spectroskop den Methämoglobin- neben den Oxyhämoglobinstreifen.

## 6. Aetzkalk.

Streicht man auf Aetzkalk Aderlassblut, so wird der Blutfarbstoff grün. Die selbst in dicker Schicht aufgetragene Blutschicht liefert keine Häminkrystalle.

### C. Physikalisch und mechanisch wirkende Mittel.

#### a. Kohle.

Verreibt man frisches Blut mit Thierkohle, so ist es, selbst wenn sehr wenig von dem letzteren für die einzelnen Proben genommen wird, unmöglich, Häminkrystalle so zu gewinnen, dass sie mit Sicherheit diagnostizirt werden können.

Es ist nicht etwa die Schwierigkeit, die dunklen Krystalle zwischen den Kohlesplittern zu erkennen, welche die Probe negativ ausfallen lässt, sondern der Blutfarbstoff muss von der Kohle so festgehalten werden, dass er nicht in Reaction zu treten vermag. Denn wenn man trocknes Blotpulver mit gepulverter Kohle mengt, so ist der Häminnachweis unschwer zu führen. Die beiden Pulver bestehen neben einander und wirken nicht auf einander ein.

#### b. Sand.

Feiner Seesand wird mit Aderlassblut verrieben, und die Mischung mehrere Tage stehen gelassen. Die vielfach mit dieser Mischung angestellte Häminprobe fiel immer negativ aus, während der Auszug der Sand-Blutmasse mit Eisessig nach dem Eindampfen typische Häminkrystalle lieferte.

#### c. Thon.

Streicht man Blut auf eine Thonplatte dünn auf, so liefert das nach dem Einziehen desselben abgekratzte, deutlich rothe

Thonerdepulver keine Häminkrystalle. Erst nach dem Auftragen von viel Blut fällt die Probe positiv aus.

#### d. Olivenöl.

Um die häufig anzutreffende Behauptung, dass dem Blute beigemengte Fette den positiven Ausfall der Häminprobe beeinträchtigen, auf ihren Werth zu prüfen, haben wir in mannichfaltiger Modification Blut mit fetten Oelen gemischt. Niemals sahen wir, selbst bei einem grossen Ueberschuss des Oeles eine Behinderung der Häminprobe dadurch bedingt sein.

#### Schlussbetrachtung.

Die vorstehenden Auseinandersetzungen zeigen, dass es eine Fülle von Umständen giebt, welche die Häminprobe negativ ausfallen lassen. Wir sind sicher, dass sich bei weiteren Forschungen noch viele anderweitige werden auffinden lassen, denen die gleiche Bedeutung zukommt. Die Kenntniss derselben kann unter Umständen eine entscheidende Bedeutung gewinnen. Der Sachverständige, der vor Gericht über eine entsprechende Untersuchung eine Aussage zu machen hat, wird nicht das Vorhandensein von Blut in einem als bluthaltig verdächtigen Objecte leugnen, vielmehr event. die Mängelhaftigkeit der Probe an sich für den negativen Ausfall verantwortlich machen. Thatsächlich gelingt die Darstellung der Häminkrystalle nur, wenn das Blut chemisch wenig verändert ist. Haben, wie unsere Feststellungen erweisen, tiefgreifende Zersetzung des Blutfarbstoffs stattgefunden, so schlägt der Häminnachweis fehl. Das Gleiche trifft für jene Fälle zu, in denen Stoffe dem Blute beigemengt sind, die nicht nur eine Veränderung seines Aggregatzustandes herbeiführen, sondern durch ihre Anwesenheit Veranlassung geben, dass die Grundlagen für den chemischen Ablauf der Reaction, die zur Häminbildung führt, geändert werden.

Mag nun unsere Annahme, dass die für den Häminnachweis erforderliche Salzsäure durch manche solcher fremdartigen Bestandtheile gebunden wird anstatt Hämin bilden zu helfen, richtig sein oder nicht — immer kann es sich im Falle einer Behinderung der Reaction nur um den Eintritt neuer chemischer Bedingungen

handeln, die einen anders gearteten Ablauf der Reaction veranlassen. Wir haben eine sehr einfache und naheliegende chemische Störung — das Fehlen der Salzsäure — als einen muthmaasslich hindernden Eingriff für diejenigen Fälle hervorgehoben, wo gewisse Metalle, deren Affinität zur Salzsäure besonders gross ist, auf Blut einwirkten. Hierbei konnten als Basis der Betrachtung immer nur die einfachsten chemischen Verhältnisse genommen werden. Bedenkt man aber, dass schliesslich auch noch das Blut selbst in die Beurtheilung des Reactionsverlaufes zwischen Kochsalz, Essigsäure und der störenden Substanz x mit einbezogen werden müsste, so ergeben sich so viele weitere Möglichkeiten von abnormalen, nicht im Einzelnen aufzuklärenden reaktiven Störungen für die Häminprobe, dass eine volle Aufklärung aller möglichen Verhältnisse wohl ausgeschlossen ist.

Da nun einmal die Häminreaction unter so manchen Bedingungen fehlschlägt, so hat der forensisches Blutmaterial Untersuchende die Verpflichtung, in zweifelhaften Fällen den Weg der Spectralanalyse einzuschlagen. Hier ist mit Sicherheit dann Aufschluss zu erwarten, wenn der Betreffende sich zum Herrn der entsprechenden Untersuchungsmethoden gemacht hat. Leider ist die Fähigkeit, Blut spectralanalytisch zu untersuchen, nicht gerade weit bei denen verbreitet, die sich mit chemisch-forensischen Untersuchungen abgeben. Darum sollten aber gerade Aerzte, deren eigentliche Domänen solche Untersuchungen sind, sich die nötige praktische Uebung im Spectroskopiren verschaffen, um auch jene Blutzerivate diagnosticiren zu können, die schwerer als Oxyhämoglobin oder Hämoglobin zu erkennen sind.

---