

(Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Frankfurt a. M.
Dir.: Prof. Dr. *Vorkastner*.)

Über den Nachweis eingetrockneten Speichels in Tüchern.

Von
Dr. B. Mueller,
Assistent am Institut.

Mit 2 Textabbildungen.

Der Möglichkeit des Nachweises von Speichelflecken ist bisher in der gerichtlich-medizinischen Literatur, soweit sie mir zugänglich war, keine Beachtung geschenkt worden. Dies ist ohne weiteres dadurch erklärlich, daß der Nachweis eingetrockneten Speichels in Stoffen praktisch ohne sonderlichen Wert zu sein scheint. Daß mitunter aber doch eine derartige Aufgabe an den Gerichtsarzt herantreten kann, beweist folgender Fall:

Zwei 18 und 19 Jahre alte junge Leute hatten einen schweren Raub ausgeführt. Sie waren in die Wohnung einer alten 60jährigen Dame eingedrungen, hatten sie überwältigt, gefesselt, geknebelt und in ein Bett gepackt, um sich in Ruhe nach den von ihnen gesuchten Wertsachen umsehen zu können. Die Täter entkamen unbemerkt. Die alte Dame wurde nach einigen Tagen tot im Bett gefesselt aufgefunden. Das Federbett verdeckte das Gesicht. Der Mund, in dem ein Knebel bei Eintreffen der Polizei nicht mehr gefunden wurde, stand auffällig weit offen.

Nach längerer Zeit gelang es, die Täter zu ermitteln und zu verhaften. Sie waren im großen ganzen geständig.

Von großer Wichtigkeit für die Beurteilung des Verbrechens war die Frage, ob der Tod der Beraubten lediglich als Folge des Raubes oder etwa als Totschlag oder gar als Mord angesehen werden mußte. War den Tätern nachzuweisen, daß sie die alte Dame in dem Zustand, in dem sie aufgefunden worden war, nämlich gefesselt und mit dem Deckbett zugedeckt, ohne die Möglichkeit, sich Hilfe herbeizuholen, in dem Bewußtsein, daß sie noch lebte, hatten liegen lassen, so hätte man darin einen bedingten Vorsatz (*dolus eventualis*) zur Tötung der Beraubten, also einen Totschlag bzw. Mord sehen können.

Nun war auf einem Stuhl neben der Leiche ein zum Knebel gedrehtes Handtuch gefunden worden, und es konnte zunächst nicht ausgeschlossen werden, daß einer von den Personen, die vor Eintreffen der Polizei bei der Leiche gewesen waren, den Knebel entfernt hatte. Die Täter machten über diesen Punkt verschiedene Angaben. Der eine behauptete, er habe den ursprünglichen Knebel, sein Taschentuch, aus dem Munde der bewußtlosen alten Dame entfernt, weil es sein Monogramm enthalten habe. Er habe dann einen neuen Knebel einstecken wollen, aber davon Abstand genommen, weil er die Dame für tot bzw. für sterbend

gehalten habe; der andere erklärte, sein Gefährte habe zwar den alten Knebel entfernt, aber vor dem Fortgehen das erwähnte Handtuch als Knebel in den Mund gesteckt und liegen gelassen.

Ließ sich also beweisen, daß der Knebel tatsächlich im Munde der Leiche gesteckt hatte, so mußte man annehmen, daß die Täter die Beraubte bei ihrem Weggange für lebend gehalten, aber sie trotzdem in dem beschriebenen hilflosen Zustande beim Fortgange hatten liegen lassen. In diesem Falle wäre Anklage wegen Totschlages oder sogar Mordes in Frage gekommen.

An den Gerichtsarzt trat nun die Aufgabe heran zu untersuchen, ob der Knebel sich im Munde der Leiche befunden hatte. Es mußte also versucht werden, an ihm Speichel nachzuweisen.

Noch bevor die eigentliche Untersuchung begonnen hatte, stellte sich durch Zeugenaussagen und andere Beweismomente doch noch heraus, daß der Knebel nicht im Munde der Leiche gewesen sein konnte.

Die begonnene Untersuchung wurde damit für diesen Fall praktisch gegenstandslos; jedoch gab sie den Anlaß, sich mit der Möglichkeit eines Nachweises von Speichelspuren eingehend zu befassen.

Bevor der Nachweis eingetrockneten Speichels selbst versucht wurde, mußte zunächst Klarheit über die einzelnen Bestandteile des frischen flüssigen Speichels und die Möglichkeit ihres Nachweises bestehen.

Der menschliche Speichel enthält von morphologischen Bestandteilen Plattenepithelien, von der Mundschleimhaut herstammend, und die sogenannten Speichelkörperchen, bei denen es sich wahrscheinlich um aus den Balgdrüsen der Zunge stammende Lymphocyten handelt. Chemisch besteht der Speichel nach den Analysen von *Bidder* und *Schmidt* (*Hermann*, Lehrbuch der Physiologie) aus 99,82% Wasser, aus 0,48% festen Bestandteilen.

In 100 Teilen festen Bestandteilen sind nach den gleichen Autoren enthalten:

Epithel und Mucin	37,985
Ptyalin und Albumin	23,978
Anorganische Salze	38,037
Rhodankalium	0,707.

Zum Nachweis kommen demnach allgemein in Frage die Feststellung von *morphologischen* Bestandteilen, der *serologische* Nachweis von Eiweiß, der *chemische* Nachweis von *Schleim* und *Rhodankalium* und schließlich die Darstellung der *Ptyalin*-Wirkung. Praktische Bedeutung wird natürlich nur die Feststellung derjenigen Bestandteile haben können, deren Vorhandensein gerade für Speichel beweisend oder zum mindesten in sehr hohem Maße verdächtig ist.

Im einzelnen wurde so vorgegangen, daß zunächst die Untersuchung an frischem Speichel ausgeführt wurde. Bei der Untersuchung auf chemische Bestandteile wurde festgestellt, bis zu welcher Verdünnung der Nachweis noch möglich war. Sodann wurden dieselben Reaktionen

an Speichelflecken nach völliger Eintrocknung des Speichels vorgenommen.

Als Versuchsspeichel diente meist der zusammengegossene Speichel von 4—5 Personen, jedoch wurde auch der Speichel der einzelnen Person allein untersucht. Die Speichelflecke wurden so hergestellt, daß wir weißes, dünnes Baumwolltuch in Speichel tauchten, es ausdrückten und es, um die überflüssige Flüssigkeit zu entfernen, auf einigen Filtrierpapierlagen trocknen ließen. Daneben wurden auch Versuche angestellt mit kleineren Speichelflecken auf Filtrierpapier und auf allen möglichen hellen und dunklen Tuchen.

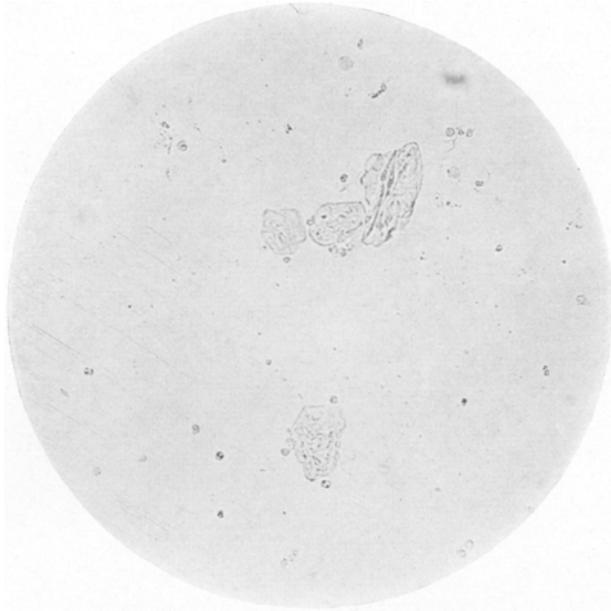


Abb. 1. Speichel frisch.

Das mikroskopische Bild, das man bei der Betrachtung der *morphologischen Bestandteile* des frischen Speichels erhält, ist nicht sonderlich charakteristisch. Man sieht bei starker Vergrößerung (Abb. 1) ziemlich reichliche Pflasterepithelien und die sog. Speichelkörperchen, rundliche körnige Zellen mit zentralen Kernen, die im polarisierten Licht aufleuchten. Im Färbepreparat (*May-Grünwald*) treten die Speichelkörperchen sehr deutlich als intensiv blaugefärbte Scheiben hervor, während die Epithelien den Farbstoff nur sehr schwach annehmen.

Nunmehr wurden in Speichel getränkte, nachher getrocknete, etwa 8 qcm große Stoffstückchen 4 Stunden in physiologischer Kochsalz-

lösung ausgezogen, und der Extrakt sowohl frisch (Abb. 2) als auch nach Antrocknen auf dem Objektträger und nach Färbung (nach *May-Grünwald*) mikroskopiert; außer Stoffteilchen waren deutlich die etwas geschrumpften Epithelien zu erkennen, jedoch konnten die Speichelkörperchen sowohl im Färbepreparat als auch bei frischer Untersuchung auch im polarisierten Licht nicht mehr mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Die Untersuchung der morphologischen Speichelbestandteile hat somit keine, gerade auf Speichel hinweisende Merkmale ergeben und dürfte somit praktisch ohne sonderliche Bedeutung sein.

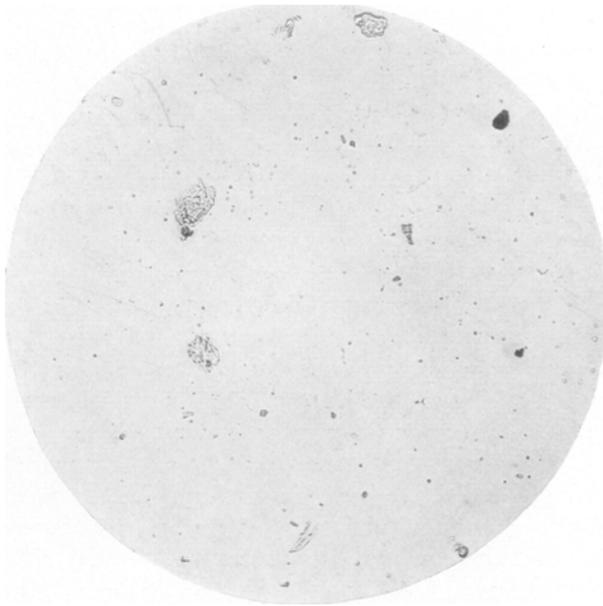


Abb. 2. Wasserauszug eines Speichelfleckes.

Von den übrigen Bestandteilen interessierte uns zunächst das *Eiweiß*.

Über die Möglichkeit des Eiweißnachweises im Speichel liegen Angaben von *Souza Diniz*, Sao Paulo, Brasilien vor, der aus dem Vorhandensein von Speichel im Magensaft der Leiche eines Neugeborenen auf vorausgegangenes Leben schließen zu können glaubt. *Diniz* hat nach seiner Angabe das Speichелеiweiß nachgewiesen durch die Methode der Komplementablenkung, durch Hervorrufung eines anaphylaktischen Schocks und schließlich durch die Präzipitinreaktion von *Uhlenhuth*.

Wenn ich *Diniz* recht verstehe, ist es ihm gelungen, durch die angeführten Methoden nicht etwa das Eiweiß des Speichels überhaupt, sondern allein für Speichel spezifische Globuline nachzuweisen. Die entsprechenden Sätze lauten:

„La séro-réaction précipitante de Uhlenhuth, ayant comme cause déterminante la présence de globulines dans le plasma, qui permet, ainsi que je l'ai vérifié, d'identifier la salive par ses globulines spécifiques.

La déviation du complément m'a permis également de reconnaître la salive. L'injection de ce corps détermine, par ses albuminoïdes (antigène) l'apparition de la méthode de Bordet-Gengou.

Mais le procédé, qui retint le plus mon attention, fut le choc anaphylactique de Richet, qui me donna de beaux résultats. Comme il s'agissait d'une substance septique, j'employai dans ce cas une technique spéciale.“

Eine Nachprüfung dieser Methoden wurde dadurch sehr erschwert, daß *Diviz* keine Angaben über die Technik macht; er stellt vielmehr die Schilderung seiner Technik in einer weiteren Arbeit in Aussicht. Durch briefliche Anfrage konnte nicht festgestellt werden, wann und wo die Angaben über die Technik erscheinen werden.

Die Methode der *Komplementablenkung* konnte in diesem Institut aus technischen Gründen nicht nachgeprüft werden. Sie würde wohl für die Praxis auch zu umständlich sein.

Der Möglichkeit des Speichelnachweises durch Hervorrufen eines *anaphylaktischen Shocks* wurde derart nachgegangen, daß Versuchstieren (Meerschweinchen) zunächst 0,3 ccm menschliches Blutserum bzw. 5 ccm menschlicher Speichel unter die Haut injiziert wurde. Die Einspritzungen, insbesondere auch die Speichелеinspritzung, wurden gut vertragen; nach etwa 5 Wochen wurden demselben Tiere nochmals 20 ccm Speichel injiziert; die mit Speichel vorbehandelten Tiere zeigten keinerlei Erscheinungen, während die mit Blutserum vorbehandelten Tiere etwas zitterten und unruhig waren, jedoch traten die für den anaphylaktischen Shock charakteristischen Erscheinungen nicht auf, wie sie bei Kontrolltieren, die auch das zweitemal mit Menschenserum gespritzt wurden, beobachtet werden konnten (Jucken an der Nase, Unruhe, Zittern, Krämpfe usw.). Selbstverständlich muß es dahingestellt bleiben, ob bei einer Änderung der Technik die Erfolge nicht besser gewesen wären. Die Versuche wurden abgebrochen, weil das Verfahren für gerichtliche Zwecke keine genügende Sicherheit und Zuverlässigkeit zu versprechen schien.

Die *Uhlenhuthsche Reaktion* auf Menschenserum fiel bei frischem Speichel noch bei einer Verdünnung von 1:20 bis 1:30 positiv aus. Auch bei Speichelflecken ließ sich nach der üblichen gerichtsarztlichen Methode ein positives Resultat erzielen. Es war jedoch notwendig, größere Stoffpartien von etwa 4 qem zu verwenden.

Selbstverständlich wird durch die Uhlenhuthsche Reaktion, wie wir sie ausführten, lediglich menschliches Eiweiß überhaupt nachgewiesen, demnach dürfte die Beweiskraft dieser Probe gerade für Speichel eine sehr geringe sein. Zur Kontrolle wurde die Reaktion noch mit anderen Körperse- und exkreten bzw. den Extrakten der eingetrockneten Flüssigkeiten in Wasser nach derselben Technik ausgeführt, sie war

positiv beim Magensaft des Lebenden (Benzidinprobe auf Blut negativ), Vaginalschleim, Sperma und flüssigem Urin, der schon längere Zeit gestanden hatte. Negativ waren sie bei ganz frischem Urin und im allgemeinen auch bei Kotflecken.

Unerörtert ist bisher die Frage geblieben, ob es nicht möglich ist, irgendwie gerade für Speichel spezifische Globuline nachzuweisen, wie es *Diniz* nach seinen Angaben gelungen ist.

Wir mußten daher versuchen, bei Kaninchen durch fortgesetzte Speichelinjektionen Präzipitine gerade gegen menschliches Speichelweiß zu erzielen. Die Versuche sind in Anbetracht der Tatsache, daß es doch gelungen ist, ein spezifisches Präzipitin für die Krystalline des Auges zu erzielen (*Flügge*), nicht ganz aussichtslos; sie sind noch im Gange, über das Ergebnis wird später kurz berichtet werden.

Demnach ist ein Urteil über den Wert oder Unwert der von *Diniz* angegebenen serologischen Speichelproben zur Zeit noch nicht möglich.

Zum *chemischen* Nachweis kommen von Speichelbestandteilen Schleim und Rhodankalium in Betracht. Der Schleim ist natürlich keineswegs für Speichel beweisend, es kann sich außer um Speichel auch um jedes andere schleimhaltige Körperse- und Exkret handeln.

Ausgeprobt wurde die *Schleimreaktion* durch Fällung des Mucins durch Essigsäure und durch das Hervorrufen einer Metachromasie durch gewisse Farbstoffe, wie Thionin, Kresylechtviolett, Toluidinblau und polychromes Methylenblau. Bei verdünntem Speichel trat die Metachromasie lediglich bei Verwendung von Kresylechtviolett ein. Die Reaktion wurde derart vorgenommen, daß wir zu 5 ccm unfiltrierten Speichels 2 ccm einer 0,02proz. wässrigen Kresylechtviolettlösung setzten. Die Metachromasie in Rot ist bei einer Speichelverdünnung von 1:30 beim Vergleich mit entsprechenden Kontrollösungen noch deutlich sichtbar. Bei stärkeren Verdünnungen wird die Reaktion schnell undeutlich, doch bestehen hier individuelle Unterschiede.

Die Untersuchung des eingetrockneten Speichelfleckes auf Schleim wurde so ausgeführt, daß die Stoffstückchen in 0,5 ccm destilliertem Wasser in einem dünnen Reagensglas, wie es zur Anstellung der makroskopischen Blutgruppenreaktion benutzt wird, 6 Stunden ausgezogen wurden. Nach Entfernung der Stoffteilchen setzten wir 0,2 ccm der bereits erwähnten Kresylechtviolettlösung hinzu und beobachteten das Eintreten einer Metachromasie durch den Vergleich mit einer Kontrollösung; die Reaktion war positiv bei Benutzung eines Stoffstückchens von 1 qcm an. Sie ist demnach für die Praxis durchaus brauchbar, wenn man sich damit begnügen kann, lediglich den Schleim nachzuweisen, z. B. wenn außer Speichel alle anderen schleimhaltigen Körperflüssigkeiten (Nasenschleim, Vaginalschleim) ausgeschlossen werden können. Freilich wird dies nur selten der Fall sein.

Das *Rhodankalium* kommt nach mehrfachen Angaben der Literatur (*Herman, Hammarsten*) nicht ganz konstant im Speichel vor; außer im Speichel ist es nach dem Handbuch von *Hoppe-Seyler-Thierfelder* auch gelegentlich im Harn und Nasenschleim gefunden worden. Von den zum Nachweis empfohlenen Reaktionen (nach *Solera* mit Jodsäure und Stärke, *Colasanti* mit Kupfersulfat, die Eisenchloridreaktion) wurde die Eisenchloridreaktion bevorzugt, weil sie bei hoher Empfindlichkeit am einfachsten auszuführen ist. Sie fiel im allgemeinen noch bei einer Speichelverdünnung von 1:10 bis 1:15 positiv aus, jedoch bestanden erhebliche individuelle Verschiedenheiten. Von den 10 untersuchten Personen waren bereits bei zweien Rhodankalium auch im konzentrierten Speichel nicht mehr mit Sicherheit nachzuweisen. Bei einer Versuchsperson war diese Substanz auch im Nasenschleim vorhanden.

An Speichelflecken war die Reaktion nur positiv, wenn große Partien des Stoffes (10 qcm und mehr) in destilliertem Wasser einige Stunden ausgezogen wurden. Ein praktischer Wert ist demnach dieser Methode nicht zuzumessen.

Dagegen ist es von praktischer Bedeutung, daß beim Betupfen von Speichelflecken mit einer Eisenchloridlösung (es wurde die officinelle Eisenchloridlösung nach Verdünnung im Verhältnis 1:3 benutzt) eine dunklere, etwas rötlichere Färbung entstand, als beim Betupfen von speichelfreien Kontrolltüchern. Diese Reaktion dürfte in der Praxis als schnell auszuführende Vorprobe von Wichtigkeit sein. Negativer Ausfall ist natürlich belanglos, da das Vorkommen von Rhodankalium im Speichel, wie schon erwähnt, nicht konstant ist. Andererseits kann die Reaktion auch nicht als beweisend für Speichel angesehen werden, weil außer Speichel noch Nasenschleim und Urin Rhodankalium enthalten können.

Die bisher erzielten Ergebnisse seien zur kurzen Orientierung noch in folgender Tabelle zusammengestellt (s. S. 218).

Es haben sich also, wie aus der letzten Spalte der Tab. I zu ersehen, durch die bisherigen Untersuchungen keinerlei Möglichkeiten ergeben, allein für Speichel charakteristische Bestandteile nachzuweisen.

So blieb noch der Ptyalinnachweis übrig:

Die Wirkung dieses Fermentes ist von den physiologischen Chemikern genau studiert worden (*Michaelis* und *Pechstein, Rona, Ernström, Pringsheim* und *Gorodiski, Ringer* und *van Trigt* sowie *Hahn* und *Michalik*).

Die Untersuchungen erstreckten sich insbesondere auf das Wirkungsoptimum des Fermentes. Sie ergaben, daß die Intensität der Wirkung durch die Anwesenheit von Cl-Ionen begünstigt wird; das Optimum wird bereits nach den Untersuchungen von *Ernström* bei einem NaCl-Gehalt von 1—1,6 prom. erreicht; durch eine weitere Vermehrung der Chlor-Ionen wird die Intensität der Wirkung weder

Tabelle 1.

Speichelbestandteil	Art des Nachweises	Empfindlichkeit der Probe: Nachweis noch bei folgenden Speichelverdünnungen möglich	Nachweis am <i>Speichelfleck</i> noch bei Verwendung von Stoffstückchen folgender Größe möglich	Reaktion fällt außerdem positiv aus bei
Morpholog. Bestandteile	Mikroskop	nicht prüfbar	etwa 8 qcm	nicht geprüft, da mikr. Bild im ganzen zu wenig charakteristisch
Eiweiß	Uhlenhuth	1:20 bis 1:30	4 qcm	Mageninhalt, Urin, Vaginalsekret, Sperma
Schleim	Metachromasie durch Chresylechtviolett	1:30	1 qcm	Vaginalsekret, Nasenschleim
Rhodankal. (nicht konst.)	Eisenchlorid	1:10 bis 1:15	10 qcm	Nasensekret, Urin

vermehrt noch vermindert. Als für die Fermentwirkung am besten geeignete Temperaturen werden von demselben Untersucher 37—40° angegeben. Am genauesten ist wohl das Verhältnis der Ptyalinwirkung zur Reaktion der Flüssigkeit studiert worden. Das Optimum liegt hier bei einer p_H von 6,1—6,9. Innerhalb dieser Grenzen schwanken die Angaben.

Als Versuchsflüssigkeiten stellten die Untersucher eine Lösung von wasserlöslicher Stärke (*Kahlbaum*) in einer Kochsalzlösung her, die gewünschte Reaktion wurde durch Zusatz eines geeigneten Phosphatpuffers hergestellt (*Michaelis*, *Pringsheim* und *Gorodiski*)¹.

Wir benutzten nach dem Vorbild von *Pringsheim* und *Gorodiski* eine 2proz. Stärkelösung in 2proz. Kochsalzlösung. Die Versuche

¹ Regulatoren oder Puffer oder nach *Spiro* besser Moderatoren sind Gemische von schwachen Säuren mit ihren Alkalisalzen oder auch wie hier Gemische von primären und sekundären sauren Salzen. Diese Flüssigkeiten haben die Eigenschaft, bei Verdünnung mit Wasser ihre Reaktion (Wasserstoffionenkonzentration) nicht zu ändern. Man erklärt sich das wie folgt: Das Alkalisalz drückt den an und für sich schon schwachen Dissoziationsgrad der Säure naturgemäß noch weiter herab. Wird nun die Flüssigkeit verdünnt, so wird zwar an und für sich der Dissoziationsgrad der Säure größer, aber gleichzeitig auch die Fähigkeit des Salzes, den Dissoziationsgrad der Säure herabzusetzen; auf diese Weise findet ein Ausgleich statt. Setzt man zu diesen Lösungen freie OH- oder H-Ionen in nicht zu hoher Anzahl, so werden sie durch die H-Ionen der Säure bzw. durch die OH-Ionen des Salzes neutralisiert. Dabei ändert sich aber die [H], wie es experimentell bewiesen ist und rechnerisch aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleitet werden kann (*Höber*), nur sehr unerheblich, in der Gegend des Neutralpunktes so gut wie gar nicht. Demnach eignen sich die Puffer dazu, neutralen Flüssigkeiten die gewünschte Reaktion zu erteilen und diese Reaktion auch gegen etwa neu hinzutretende H- oder OH-Ionen, die hier also aus dem verdünnten Speichel stammen würden, annähernd aufrecht zu erhalten. Allerdings muß man, wie es auch hier geschehen ist, nachher nachmessen, inwieweit das Halten der [H] gelungen ist.

wurden zuerst bei optimaler Reaktion ausgeführt, und zwar wählten wir eine p_{H} von 6,4 (Mittelwert). Als zur Herstellung der gewünschten Reaktion geeigneter Puffer wurden nach den Vorschriften von *Sörensen* (zitiert nach *Schade* und *Michealis*) eine $\frac{1}{3}$ molare primäre Natriumphosphatlösung und eine $\frac{1}{3}$ molare sekundäre Natriumphosphatlösung benutzt (von Kahlbaum fertig bezogen, nachkontrolliert mit Indicatoren von *Sörensen*, unter Natronkalk aufbewahrt). Die p_{H} von 6,4 wurde hergestellt durch Zusammengießen von $2 \times 2,8$ sekundärem Natriumphosphat und $2 \times 7,2$ primärem Natriumphosphat.

Zunächst wurde festgestellt, bis zu welcher Verdünnung von Speichel die in der Versuchsflüssigkeit vorhandene Stärke noch abgebaut wurde. Die Versuchsanordnung war so, daß zu 5 ccm der oben angegebenen Versuchslösung im Reagensglas 2 ccm der Speichelverdünnung gesetzt wurden. Dazu kamen zwecks Herstellung der gewünschten Reaktion 2 ccm Phosphatpuffer. Nach der Indicatorenmethode von *Sörensen* wurde vor Ansetzen der Versuchsreihe noch einmal nachkontrolliert, ob die p_{H} von 6,4 tatsächlich vorhanden war. Da die Flüssigkeit trotz des Zusatzes der Speichelverdünnung klar blieb, machte die Untersuchung keine Schwierigkeiten. Die Reagensgläser kamen dann für 8 Stunden in den Brutschrank bei 37° . Danach wurde die Hälfte der Flüssigkeit mit Fehlingscher Lösung auf Traubenzucker untersucht. Zu der anderen Hälfte gaben wir 10 Tropfen einer im Verhältnis 1:3 verdünnten officinellen Lugolschen Lösung und beobachteten an Hand einer Vergleichslösung, ob und inwieweit sich die Farbe änderte.

Da aber das Umgehen mit den Pufferlösungen unbequem ist, wurde auch nachgesehen, ob die Nachweisbarkeit des Ptyalins erheblich geringer wurde, wenn man ohne Puffer arbeitete. Es wurden daher dieselben Versuchsreihen ohne Pufferzusatz bei etwa lackmusneutraler Reaktion angesetzt. Ganz geringe Umschläge des Lackmuspapiers in blau oder rot wurden absichtlich nicht beachtet. Um die gleiche Flüssigkeitsmenge wie bei der ersten Versuchsreihe im Reagensglase zu haben (7 ccm), wurden 2 ccm abgekochten destillierten Wassers zugesetzt.

Natürlich wurde streng darauf geachtet, daß der Durchmesser der Lichtung der Reagensgläser genau gleich war.

Das Ergebnis der 5mal angesetzten Versuchsreihe veranschaulicht folgende Tabelle (s. S. 220).

Aus der Tabelle läßt sich ablesen, daß der Ptyalinnachweis im frischen Speichel durch Spaltung einer Stärkelösung mit Pufferzusatz bis zu einer Verdünnung von 1:4000, ohne Zusatz der Pufferlösung bis zu einer Verdünnung von 1:1000 möglich ist. Als positiv wurde die Reaktion nur angesehen, wenn die zugegossene Lugolsche Lösung Kontrollösungen gegenüber in der Farbe unverändert blieb, wenn

Tabelle 2.

5 cem einer 2proz. Stärkelösung in einer 2proz. NaCl-Lösung + 2 cem Speichel in folgender Verdünnung.	Ergebnis nach 8stünd. Stehen im Brutschrank bei 37° ohne Pufferzusatz bei Prüfung mit		Ergebnis nach 8stünd. Stehen im Brutschrank bei 37° mit Zusatz von 2 cem Phosphatpufferlösung bei Prüfung mit	
	Lugol (10 Tropfen)	Fehling	Lugol	Fehling
1:100	keine Farbänderung	+	keine Farbänderung	+
1:200	„ „	+	„ „	+
1:400	„ „	+	„ „	+
1:1000	„ „	+	„ „	+
1:2000	Rotfärbung	+	„ „	+
1:3000	„	schwach +	„ „	+
1:4000	„	—	„ „	schwach +
1:5000	Blaufärbung	—	Dunkelrotfärbung	schwach +

also die gesamte Stärke restlos abgebaut war. Die Traubenzuckerprobe mit Fehlingscher Lösung erwies sich als Indicator insofern nicht sonderlich geeignet, als sie im Gegensatz zur Lugolschen Lösung ohne umständliche Titration einen Rückschluß über die Menge der abgebauten Stärke nicht gestattet.

Nach diesen Ergebnissen ist die Ptyalinreaktion unstreitig die empfindlichste Methode zum Speichelnachweis. Der Zusatz der Pufferlösung erhöht zwar die Empfindlichkeit der Probe, jedoch ist sie auch ohne Pufferzusatz bereits bei solch hoher Verdünnung (1:1000) positiv, daß die Weglassung der Pufferlösung für die Praxis vielleicht in Frage kommt.

Nunmehr schien es von besonderer Wichtigkeit zu sein, zu prüfen, bis zu welchem Grade diese Ptyalinreaktion für Speichel spezifisch ist. Einmal war zu bedenken, daß auch im Darmkanal diastatische Fermente vorhanden sind und vielleicht mit dem Kot ausgeschieden werden, so daß auch Kotflecke dieselbe Reaktion geben könnten, sodann — und dieses schien besonders bedenklich — mußte auch daran gedacht werden, daß ein Stärkeabbau durch Bakterienwirkung erfolgen könnte. Diese Befürchtung bewahrheitete sich auch. Wenn man zu frischen Kotflecken und abgestandenem Urin eine Stärkelösung gibt, so ist nach achtstündigem Aufenthalt des Reagensglases im Brutschrank eine Stärkereaktion mit Lugolscher Lösung nicht mehr zu erzielen. Auch die Fehlingsche Probe ergibt das Vorhandensein von reichlich Traubenzucker. Wenn man jedoch trockene Kot- und Urinflecke zur Stärkelösung gibt, läßt sich zwar in der Lösung etwas Traubenzucker nachweisen, jedoch war bei unseren Versuchen die Stärke niemals völlig abgebaut. Der Zusatz der Lugolschen Lösung ergab vielmehr eine intensiv dunkelrote bis violette Färbung. Diese Änderung mußte darauf zurückgeführt werden, daß der größte Teil der Bakterien

beim Eintrocknen vernichtet war, so daß die noch vorhandenen bzw. die im Brutschrank sich noch entwickelnden zum völligen Stärkeabbau nicht ausreichten.

Es mußte nun versucht werden, die Bakterienentwicklung noch mehr einzuschränken, natürlich ohne die Wirkung des Fermentes zu behindern. Zu diesem Zwecke erschien das Toluol geeignet, das im Rufe steht, die Fermentwirkung nicht zu beeinträchtigen. Die zu untersuchenden Stoffteilchen wurden daher 4 Stunden in einem Reagensglase zu Toluol getan, dann erst wurde die Stärkelösung teils mit, teils ohne Pufferlösung zugegeben, ohne das Toluol zu entfernen. Diese Versuche wurden ausgeführt mit trockenen Kotflecken, Urinflecken und Spermaflecken, ferner wurden untersucht Stoffteilchen mit eingetrocknetem Nasensekret, wobei das Sekret, um eine Speichelbeimengung mit Sicherheit auszuschalten, nicht durch Schnauben, sondern durch Austupfen der Nase gewonnen wurde, ferner Stoffteilchen mit eingetrocknetem Vaginalsekret, gewonnen durch Auswischen der Vagina, sodann Tücher, mit denen vorher ein mit Schweiß bedecktes Gesicht abgewischt war, und schließlich beliebige Schmutzflecke von Laboratoriumstüchern. Zum Vergleich wurden diese Versuchsanordnungen auch ohne Vorbehandlung mit Toluol durchgeführt.

Das Ergebnis veranschaulicht folgende Tabelle:

Tabelle 3.

Untersuchtes Material	Ergebnis ohne vorheriges Einlegen in Toluol				Ergebnis bei vorherigem Einlegen in Toluol			
	nach Stärkezusatz ohne Puffer		nach Stärkezusatz mit Puffer		nach Stärkezusatz ohne Puffer		nach Stärkezusatz mit Puffer	
	Lugol	Fehling	Lugol	Fehling	Lugol	Fehling	Lugol	Fehling
1. Kotfleck	Rotfärbung	+	Rotfärbung	+	Dunkelrotfärbung	schwach +	Dunkelrotfärbung	schwach +
2. Spermafleck	Blaufärbung	—	Blaufärbung	—	Blaufärbung	—	Blaufärbung	—
3. Eintrockn. Nasensekret	Dunkelrotfärbung	schwach +	Dunkelrotfärbung	schwach +	Violett-färbung	wech-selnd	Violett-färbung	wech-selnd
4. Urinfleck	Violett-färbung	—	Violett-färbung	—	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
5. Eintrockn. Vaginalsekret	Keine Farb-änderung	—	Keine Farb-änderung	—	Blaufärbung	—	Blaufärbung	—
6. Stückchen v. Schweißtüch.	desgl.	—	desgl.	—	desgl.	—	desgl.	—
7. Schmutzflecke	desgl.	—	desgl.	—	desgl.	—	desgl.	—

Diese Versuchsreihen wurden zu wiederholtem Male (5 mal) durchgeführt. In der Tabelle wurden lediglich die für den Untersuchungszweck am wenigsten günstig ausgefallenen Resultate verwendet.

Aus dem Ausfall dieser Untersuchungen ergab sich, daß Flecke von Sperma, Vaginalsekret und Schweiß sowie Schmutzflecke beliebiger Art nach 8stündigem Aufenthalt im Brutschrank keinerlei Stärkeabbau hervorriefen, daß es aber bei Nasensekret, bei Urin- und Kotflecken trotz vorherigen Einlegens in Toluol zu einem *geringen Stärkeabbau kommen konnte, der aber niemals so vollständig wurde, daß die zugegossene Lugolsche Lösung unverändert blieb.* Ist es daher möglich, in der gleichen Versuchszeit unter genau den gleichen Verhältnissen durch speichelhaltige Stoffteilchen einen *völligen* Stärkeabbau zu erreichen, derart, daß die zugesetzte Lugolsche Lösung sich nicht ändert, so wäre eine für die Praxis brauchbare, genügend spezifische Reaktion für Speichel gefunden.

Um diese Möglichkeiten zu prüfen, wurden in Speichel getränkte Stoffstückchen von $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3 und 4 qcm Größe unter derselben Versuchsanordnung mit und ohne Vorbehandlung mit Toluol mit Stärkelösung teils mit¹, teils ohne Pufferzusatz versetzt. Das Ergebnis nach 8stündigem Stehenlassen im Brutschrank bei 37° zeigt Tab. 4.

Tabelle 4.

Größe der Tuch- stückchen	Ergebnis <i>ohne</i> vorheriges Einlegen in Toluol				Ergebnis <i>bei</i> vorherigem Einlegen in Toluol			
	nach Stärkezusatz <i>ohne</i> Puffer		nach Stärkezusatz mit Puffer		nach Stärkezusatz <i>ohne</i> Puffer		nach Stärkezusatz mit Puffer	
	<i>Lugol</i>	<i>Fehling</i>	<i>Lugol</i>	<i>Fehling</i>	<i>Lugol</i>	<i>Fehling</i>	<i>Lugol</i>	<i>Fehling</i>
4 qcm	k. Farbbänder.	+	k. Farbbänder.	+	k. Farbbänder.	+	k. Farbbänder.	+
3 qcm	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+
2 qcm	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+
1 qcm	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+
$\frac{1}{2}$ qcm	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+
$\frac{1}{4}$ qcm	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+	desgl.	+

Nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen genügt also zum Nachweis der Ptyalinwirkung ein in Speichel getränktes Stoffstückchen von $\frac{1}{4}$ qcm. Vorheriges Einlegen des Stoffes in Toluol beeinträchtigt die Wirkung des Fermentes nicht, der Zusatz des Puffers ruft eine wahrnehmbare Erhöhung der Empfindlichkeit der Probe nicht hervor. Die Pufferlösung kann also in der Praxis fortgelassen werden, jedoch wird es nötig sein, darauf zu achten, daß die Lösungen ungefähr neutral sind, daß vor allem eine stärkere alkalische Reaktion verhindert wird.

¹ Auch hier wurde vor Ansetzen der Versuchsreihe nachgeprüft, ob die gewünschte p_{H} wirklich vorhanden war.

Ist sie vorhanden, so ist der Zusatz des Puffers und Prüfung der p_{H} zu empfehlen.

Als letztes blieb noch übrig, die Speichelflecke unter der *analytischen Quarzlampe (Hanau)* zu untersuchen. Bei dunklen Tüchern war die Untersuchung ergebnislos. Bei hellen Tüchern und hellem Papier war ebenso wie bei wieder trocken gewordenen Wasserflecken mit Deutlichkeit ein heller Rand zu erkennen. Diese Umrandung gibt wenigstens einen Anhalt dafür, an welcher Stelle des Tuches man mit der Untersuchung auf Speichel beginnen muß. Als Nebebefund stellte sich noch heraus, daß der Speichelfleck und Wasserfleck vom Urinfleck ohne weiteres dadurch zu unterscheiden ist, daß der Urinfleck hellblau aufleuchtet.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde nunmehr folgende Methode zum Speichelnachweis angewendet:

Der Stoff wird zunächst unter der analytischen Quarzlampe besichtigt. Hier wird, falls es sich um einen hellen Stoff handelt, die helle Umrandung des Fleckes ohne weiteres zu erkennen sein. Sodann wird innerhalb der hell umrandeten Zone auf das Tuch ein Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung (ein Teil der officinellen Sol. Ferri sesquichlorati + 2 Teile Wasser) getan; färbt sich die benetzte Stelle dunkler als eine mit derselben Lösung benetzte Partie in einer anderen Gegend desselben Stoffes, so ist das Vorhandensein von Rhodankalium bewiesen. Es besteht dann ein Verdacht auf Speichel. Negativer Ausfall der Probe ist belanglos, weil ja, wie bereits erwähnt, nicht jeder Speichel Rhodankalium enthält, aber ebensowenig kann der positive Ausfall infolge des gelegentlichen Vorkommens von Rhodankalium im Harn und Nasenschleim als für Speichel beweisend angesehen werden.

Nunmehr wird zum Ptyalinnachweis aus der verdächtigen Stelle ein 1—4 qcm großes Stück herausgeschnitten und im Reagensglase mit Toluol versetzt, so daß der Stoff von der Flüssigkeit völlig bedeckt wird. Nach 4 Stunden werden 5 ccm einer 2proz. Lösung von Stärke (*Kahlbaum*) in 2proz. Kochsalzlösung zugesetzt, das Stoffteilchen schwimmt dann meist zwischen den beiden Flüssigkeitsschichten; die Reaktion der Lösung ist nach einiger Zeit mit Lackmuspapier zu prüfen: ist sie alkalisch oder stark sauer, so empfiehlt sich der Zusatz eines Phosphatpuffers, der eine p_{H} von 6,2—6,8 herstellt (Herstellung siehe S. 219). Nunmehr wird das Reagensglas für 8 Stunden in den Brutschrank bei 37° gestellt, das Ablesen erfolgt dann derart, daß zu der Hälfte der in ein anderes Glas abgegossenen Stärkelösung 10 Tropfen einer im Verhältnis 1:3 verdünnten Lugolschen Lösung gesetzt werden. Ändert sich die Farbe der Lösung nicht wesentlich, während die Farbe einer Kontrollösung, die gleichfalls 8 Stunden

im Brutschrank gestanden hat, eine blaue Färbung annimmt, so ist die Reaktion als positiv anzusehen. Erfolgt aber ein Farbumschlag ins Dunkelrot, so kann die Reaktion nicht als positiv bezeichnet werden, auch wenn nachher in der anderen Hälfte der Stärkelösung Traubenzucker nachgewiesen wird. Ein einwandfrei positiver Ausfall der Reaktion muß nach dem bisherigen Ergebnis der Voruntersuchungen als beweisend für Speichel gelten, oder aber, wenn man den Ergebnissen dieser Untersuchungen noch mit der für die Anwendung in gerichtlichen Fällen berechtigten Skepsis gegenüberstehen will, doch im höchsten Maße für verdächtig gelten.

Die angegebene Methode wurde nunmehr wahllos bei allen möglichen Flecken, unter die Speichelflecke eingestreut waren, mit sicherem Erfolge ausprobt. Besonders interessierte hierbei, ob sich das durch Schnauben entleerte Nasensekret auch sicher vom Speichel unterscheiden läßt. Dies war immer der Fall. Niemals wurde ein Stärkeabbau beobachtet. Nur einmal versagte die Probe bei einem völlig von Sekret durchnäßt gewesenen Taschentuch eines Mannes, der gerade an Schnupfen und Bronchialkatarrh litt. Er gab jedoch ohne weiteres zu, auch in das Taschentuch hineingespien zu haben.

So war eine Methode ausgearbeitet worden, die es ermöglicht, auf Tüchern eingetrockneten Speichel nachzuweisen. Daß dieser Nachweis mitunter vom Gerichtsarzt verlangt werden kann, hat der eingangs geschilderte Fall gezeigt, in dem es sich darum handelte festzustellen, ob ein aufgefundener Knebel sich wirklich im Munde befunden hatte.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Diniz*, Annales de Médecine légale **5**, 502. 1925. — ² *Flügge*, Grundriß der Hygiene. — ³ *Ernström*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **119**, 198. — ⁴ *Hahn* und *Michalik*, Zeitschr. f. Biol. **73**, 10. — ⁵ *Hammarsten*, Lehrbuch der physiologischen Chemie. — ⁶ *Hermann*, Lehrbuch der Physiologie. — ⁷ *Höber*, Die physikalische Chemie der Zelle. — ⁸ *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse. — ⁹ *Schade*, Die physikalische Chemie in der inneren Medizin. — ¹⁰ *Michaelis*, Praktikum der physikalischen Chemie. — ¹¹ *Michaelis* und *Pechstein*, Biochem. Zeitschr. **59**, 7. — ¹² *Pringsheim* und *Gorodiski*, Biochem. Zeitschr. **140**, 175. — ¹³ *Rona*, Praktikum der physiologischen Chemie. — ¹⁴ *Ringer* und *van Trigt*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **82**, 484.
-