

(Aus dem Institut für Gerichtliche und Soziale Medizin der Universität Halle.  
Direktor: Prof. Dr. K. Walcher.)

## Die Bewertung der Bernsteinsäure bei toxikologischen Analysen.

Von

Dr. phil. nat. **Hans Klauer** und Dr. phil. nat. **W. Specht**.

Des öfteren wurde bei toxikologischen Analysen nach dem Gang von *Stas-Otto* im sauren Ätherauszug ein krystalliner Stoff in ganz geringer Menge gefunden, der bei etwa 80—90° sublimierte. Die erhaltene Menge war immer so gering, daß eine Schmelzpunktbestimmung mit den zur Verfügung stehenden Mitteln nicht möglich war. Nur einmal bei der Untersuchung von Leichenteilen (etwa 8 Tage alt) einer wahrscheinlich an Kleesalzvergiftung verstorbenen männlichen Person (bei der aber Oxalsäure nicht nachgewiesen werden konnte) wurden aus 435 g Mischprobe 51 mg erhalten (d. s. 11,7 mg/100 g), deren Schmelzpunkt bestimmt werden konnte.

Das Sublimat, das zwischen 80—90° entstand, war zunächst schlecht krystallin. Beim Umsublimieren wurden gut ausgebildete rhombische sechseitige Blättchen, teils mit, teils ohne gitterförmige Verwachsung (rechtwinkliges Kreuz in der Mitte) der Krystalle erhalten. Sie zeigten lebhaft polarisationsfarbene, schiefe Auslöschung und waren doppelbrechend. Die Substanz schmolz bei 181—182°, löste sich in warmem Wasser, enthielt keinen Stickstoff, Schwefel und Halogen und reagierte stark sauer. Die Elementaranalyse ergab:

C . . . . .	40,68%
H . . . . .	5,25%
O . . . . .	54,07%

Hieraus berechnete sich das Atomverhältnis C:H:O wie 2:3:2 bzw. ein Vielfaches hiervon.

Bei Bernsteinsäure ist das Verhältnis 4:6:4. Sie enthält

C . . . . .	40,66%
H . . . . .	5,12%
O . . . . .	54,22%

Der Schmelzpunkt wird in der Literatur zwischen 180 und 183° angegeben.

Da die Substanz den selben Schmelzpunkt und innerhalb der Fehlergrenze die gleiche prozentuale Zusammensetzung wie Bernsteinsäure hat und auch beim Behandeln mit Bleiacetat, die für Bleisuccinat charakteristischen rhombischen Blättchen gab, konnte der Nachweis,

daß es sich bei der fraglichen Substanz um Bernsteinsäure handelt, als erbracht angesehen werden.

*Gadamer* weist in seinem Lehrbuch der chemischen Toxikologie auf eine Arbeit von *Behre* hin, der in einem Fall chronischer Kleesalzvergiftung nur Spuren Oxalsäure und größere Mengen Bernsteinsäure fand und an Tierversuchen diese Befunde bestätigte.

Es wurde daher zunächst die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß es sich in dem oben erwähnten Fall um einen ähnlichen handelt, wie ihn *Behre* veröffentlichte, zudem uns *R. M. Mayer*, Königsberg, mitteilte, daß ihm seinerzeit der Nachweis von Oxalsäure bei einer offensichtlichen Kleesalzvergiftung ebenfalls nicht gelungen sei.

Zu jener Zeit stellten wir Untersuchungen an faulenden Lebern an und beobachteten bei der Aufarbeitung des Materials nach dem Analysengang von *Stas-Otto* ebenfalls im sauren Ätherauszug einen kristallinen Stoff von saurer Reaktion, der zwischen 80 und 90° sublimierte und mikrochemisch mittels Bleiacetat und Silbernitrat als Bernsteinsäure identifiziert werden konnte. Die Mengen, die wir fanden, betragen:

	Leber, CO-Vergiftung	Muskel, CO-Vergiftung	Leber, Verkehrsunfall
2 Tage p. m. . . . .	5,1 mg/100 g	10,1 mg/100 g	5,4 mg/100 g
11 „ „ „ . . . . .	8,2 mg/100 g	—	—
20 „ „ „ . . . . .	—	0,0 mg/100 g	9,4 mg/100 g
30 „ „ „ . . . . .	—	—	0,0 mg/100 g

Bei einem späteren Fäulnisversuch wurden aus einer normalen Leber nach 14tägiger Fäulnis 13 mg/100 g analysenreine Bernsteinsäure erhalten, die bei der Elementaranalyse folgende Werte lieferte:

C . . . . .	40,65%
H . . . . .	5,25%
O . . . . .	54,10%

Wir gingen dabei so vor, daß wir die Lebern im ganzen in einem großen verschlossenen Glagefäß, das von der Leber nur zum Teil ausgefüllt wurde, faulen ließen und von Zeit zu Zeit Stücke abschnitten, diese zerkleinerten und nach *Stas-Otto* aufarbeiteten. Der aus saurer Lösung gewonnene Ätherauszug wurde auf einem gewogenen Uhrglas verdunstet und der regelmäßig alsbald in strahligen bzw. sternförmigen Krystallaggregaten erstarrende Rückstand gewogen.

Aus diesen Feststellungen ging zunächst hervor, daß Bernsteinsäure bei der Fäulnis von eiweißhaltigem Material auftritt und der qualitative Befund an Bernsteinsäure keine Schlüsse auf eine stattgehabte Vergiftung mit Oxalsäure bzw. Kleesalz zuläßt.

Nun war die Art der quantitativen Bestimmung, wie sie von uns angewandt wurde, sicher nicht einwandfrei und es wurde daher nach einer besseren Methode gesucht und eine solche in der von *Gadamer* angegebenen Arbeitsweise gefunden. Dort nimmt letzterer auch ausführlich Stellung zu der Arbeit von *Behre* (loc. cit.) und kommt ebenfalls zu dem Ergebnis, daß das Auftreten von Bernsteinsäure kein Beweis für eine stattgehabte Oxalatvergiftung darstellt. Er machte Vergiftungsversuche mit Kleesalz an Hunden und fand in der Niere vom nichtvergifteten Tier 6,6 mg Bernsteinsäure, in den Nieren der vergifteten Tiere 1,9—27 mg/100 g.

Aus der Arbeit *Gadamers* geht nicht hervor, wann nach dem Tod die Untersuchung begonnen wurde und ob inzwischen Fäulnis eingetreten war.

Da die von *Gadamer* in der Niere vergifteter Hunde gefundenen Bernsteinsäuremengen immerhin dreimal größer waren als die von uns im faulen Material beobachteten, wurde abschließend nochmals ein Fäulnisversuch mit Leber angesetzt und die Bernsteinsäure nach der von *Gadamer* angegebenen Methode mit kleinen Abänderungen bestimmt.

Die Leber wurde zunächst im Fleischwolf zermahlen, der Brei gut gemischt, in ein Weckglas von entsprechender Größe gegeben und dieses mit einem Glasdeckel verschlossen.

Für die einzelnen Bestimmungen wurden etwa 100 g des vorher gemischten Breies mit 10 ccm Salzsäure von 35% und 300 ccm Alkohol versetzt und auf dem Wasserbad in einem Kolben mit Steigrohr einige Stunden erwärmt. Dann wurde kolliert, filtriert und das Filtrat unter vermindertem Druck destilliert. Öfters war es erforderlich, den Destillationsrückstand zu zentrifugieren und zu filtrieren.

Das stark saure Filtrat wurde dann im Perforator mehrere Stunden mit Äther ausgezogen, der Äther abdestilliert, der Verdunstungsrückstand mit Sodalösung im Überschuß versetzt und einige Zeit auf dem Wasserbad erwärmt. Dann wurde filtriert, mit Essigsäure schwach angesäuert, mit einem Tropfen Calciumchlorid versetzt und beim Ausbleiben einer Trübung (die bei keinem Versuch auftrat) mit Salzsäure stark angesäuert und abermals im Perforator mit Äther extrahiert.

Der nach dem Abdestillieren des Äthers erhaltene Rückstand wurde durch Erwärmen auf dem Wasserbad von Essigsäure befreit, in Wasser gelöst, mit Kalkwasser neutralisiert und die Lösung auf wenige Kubikzentimeter eingedampft. Zu der noch heißen Flüssigkeit wurde etwa das 9fache Volumen 96proz. Alkohols zunächst in kleinen Portionen, gegeben, wodurch der entstehende Niederschlag gleich krystallin wurde. Nach einigen Stunden wurde abfiltriert, der Rückstand in salzsäurehaltigem Wasser gelöst und mit Äther extrahiert. Der nach dem

Abdestillieren des Äthers verbleibende Rückstand wurde bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen, mit Bleiacetat geprüft oder der Schmelzpunkt bestimmt.

Mit dieser Methode erhielten wir

2 Tage p. m.	. 13 mg/100 g	Bernsteinsäure,
14 Tage p. m.	. 68 mg/100 g	Bernsteinsäure, Schmelzp. 180°
4 Wochen p. m.	68 mg/100 g	Bernsteinsäure,
8 Wochen p. m.	57 mg/100 g	Bernsteinsäure,
6 Monate . . .	198 mg/100 g	Bernsteinsäure, Schmelzp. 183°

Die nach 6 Monaten gewonnene Bernsteinsäure war zum geringen Teil durch eine flüssige Säure, die bei 50—60° flüchtig ist, verunreinigt. Der Schmelzpunkt wurde nach 2maliger Sublimation bestimmt.

Wie zu erwarten war, fielen die Bernsteinsäurewerte nach dieser Methode wesentlich höher aus, da durch die relativ schwere Löslichkeit der Bernsteinsäure in Äther letztere nur durch öfteres Ausschütteln mit größeren Mengen Äther als es im Analysengang nach *Stas-Otto* üblich ist und beim Arbeiten in stark saurer Lösung quantitativ erfaßt werden kann.

Daß wir bei den ersten Versuchen nach 20—30 Tagen Fäulnisdauer keine Bernsteinsäure mehr fanden, während wir bei den späteren Versuchen bei einer Fäulnisdauer von 6 Monaten erhebliche Mengen bestimmen konnten, hängt offenbar mit der Art der Fäulnis, der Art der Probenahme und der Untersuchungsmethode zusammen.

Nach Abschluß der Untersuchungen fanden wir noch die Arbeit von *Verdino*, der mit einer dort näher angegebenen Bestimmungsmethode in angefaultem Leichenmaterial folgende Bernsteinsäurewerte fand:

Mischprobe . . . . .	12,8 mg/100 g
Mischprobe . . . . .	7,5 mg/100 g
Magen, Darm . . . . .	9,5 mg/100 g
Leber . . . . .	8,7 mg/100 g
Niere . . . . .	6,0 mg/100 g
Lunge . . . . .	13,9 mg/100 g
Hirn . . . . .	3,7 mg/100 g

Aus den Befunden ist zu ersehen, daß Bernsteinsäure *regelmäßig* bei faulendem eiweißhaltigen Material in wechselnden Mengen entsteht und daß auch beim Auftreten größerer Bernsteinsäuremengen keine Rückschlüsse auf eine vorangegangene Vergiftung, insbesondere mit Oxalsäure gezogen werden können.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Abderhalden*, Biochemisches Handlexikon. **1**, 2. Hälfte. 1928. — <sup>2</sup> *Behre*, Chemik.-Ztg **36**, 933 — Beitr. path. Anat. **71**, 711 — Sammlung von Vergiftungen von Fühner. **2**, 61 (A 114). — <sup>3</sup> *Behrens-Kley*, Organ. mikrochem. Analyse.

Leipzig 1922. — <sup>4</sup> *Einbeck*, Z. physiol. Chem. **87**, 150; **90**, 301. — <sup>5</sup> *Flaschenträger* u. *Lohr*, Z. physiol. Chem. **174**, 302. — <sup>6</sup> *Gadamer*, Lehrbuch der chemischen Toxikologie. Göttingen 1924 — Sammlung von Vergiftungen von Fühner. **2**, 37 (B. 23). — <sup>7</sup> *de Graaf* u. *le Fevre*, Biochem. Z. **155**, 313. — <sup>8</sup> *Heubner* u. *Hüchel*, Arch. f. exper. Path. **178**, 749. — <sup>9</sup> *v. Ittalie* u. *Steenhauer*, Pharma Weekbl. **66**, 14. — <sup>10</sup> *Moul*, Biochemic. J. **18**, 351. Zit. nach Chem. Zbl. **1924** II, 1218. — <sup>11</sup> *Orzechowski*, *Gömöri*, *Hundrieser*, Arch. f. exper. Path. **178**, 739. — <sup>12</sup> *Verdino*, Z. gerichtl. Med. **22**, 384. — <sup>13</sup> *Weiss*, Pharmaz. Zentr.-H. **72**, 433.

(Aus der Abteilung für gerichtliche Chemie und Kriminaltechnik der Chemischen Landesanstalt in Stuttgart.)

## Ist das Chlorid- und Sulfatbild eine zuverlässige Unterlage für die Altersbestimmung von Tintenschriften?

Von

Reg.-Rat Dr. Ing. **Walter Heess**, Stuttgart.

Mit 16 Textabbildungen.

Mit der Erkenntnis, daß bei der Alterung einer Tintenschrift eine allmähliche, unsichtbare Auswanderung von Salz- und Schwefelsäure aus den Schriftzügen in das umgebende Papier erfolgt, hat sich in der Auffassung über den Alterungsvorgang einer Tintenschrift eine vollständige Wandlung vollzogen. Wir wissen heute, daß die bei der Umsetzung der neutralen Eisensalze mit der Gerb- und Gallussäure entstehende freie Salz- und Schwefelsäure nicht, wie man bisher glaubte, im Papier neutralisiert wird, sondern daß die Säuren, abgesehen von einer geringen Pufferung durch die Papierfüllstoffe, in freiem Zustande in den Schriftzügen vorhanden sind. In der Tatsache, daß diese Säuren dann den Schriftzug allmählich verlassen und sich im Papier verbreitern, haben wir aber nichts anderes zu erblicken, als einen Vorgang, wie er sich in ähnlicher Weise in der Natur tausendfältig vollzieht, nämlich einen Substanzausgleich zwischen Tinte und Papier.

Wollen wir diesen Naturvorgang zur Feststellung des Alters einer Tintenschrift heranziehen, so muß es unsere Aufgabe sein, alle die Bedingungen zu erforschen, welche diesen Säureausgleich zu verlangsamen bzw. zu beschleunigen vermögen. Hierbei mag uns die wichtige Feststellung als Wegweiser dienen, daß die Wanderung der Salz- und Schwefelsäure auf dem Wege der Diffusion in der den Papierfasern und -füllstoffen anhängenden Wasserhaut erfolgt. Außer den Gesetzen der Diffusion sind aber für die Wanderung zweifellos auch noch andere, insbesondere Oberflächenkräfte maßgebend, die von den Papierbestandteilen und den übrigen Beimengungen der Tinte ausgehen. Zur Besprechung dieser Fragen teilen wir das Gebiet in drei Teile, je nach-