

Die Guajakblutprobe und die Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur.

Von

C. E. Carlson, Lund.

(Der Redaktion zugegangen am 12. April 1906.)

Der Nachweis von Blut ist ja eine von mehreren Gesichtspunkten aus besonders wichtige Operation. Unter den Proben, die zur Ermittlung von Blut gang und gäbe sind, dürfte die chemisch-mikroskopische und die spektralanalytische Untersuchungsmethode nichts zu wünschen übrig lassen in bezug auf Zuverlässigkeit. Diese Proben sind jedoch mit der Handhabung besonderer Apparate verknüpft und können ohne Aufwand von Mühe und Zeit nicht vorgenommen werden; auch fordern sie eine gewisse Übung und Gewohnheit.

Man hat unter diesen Umständen als Vorprobe die sogenannte Guajakprobe angewendet, die besonders bequem auszuführen ist und, was Empfindlichkeit betrifft, auch andre Proben hinter sich lassen dürfte.

Die Guajakprobe mit besonderer Rücksicht auf den Nachweis von Blut im Urin wird nach Hammarsten¹⁾ in folgender Weise ausgeführt: «In einem Reagenzrohre mischt man gleiche Volumina Guajaktinktur und alten Terpentinöles, welches an der Luft unter dem Einflusse des Lichtes stark ozonhaltig geworden ist. Zu diesem Gemenge, welches nicht die geringste Blaufärbung zeigen darf, setzt man dann den zu untersuchenden Harn. Bei Gegenwart von Blut oder Blutfarbstoff tritt nun an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten erst ein blaugrüner und dann ein schön blauer Ring auf. Beim Umschütteln wird das Gemenge mehr oder weniger schön blau. Normaler oder eiweiß-

¹⁾ Lehrbuch der Physiologischen Chemie von Olof Hammarsten.

reicher Harn gibt diese Reaktion (bezüglich deren Ursache auf das Kap. 6, S. 169 verwiesen wird) nicht. Bei Gegenwart von Eiter kann der Harn, auch wenn kein Blut zugegen ist, mit dem Reagens eine blaue Farbe geben; in diesem Falle wird aber die Guajaktinktur allein, ohne Terpentinöl, von dem Harne blau gefärbt (Vitali).¹⁾ Dies gilt wenigstens für eine Tinktur, welche einige Zeit der Einwirkung der Luft und des Tageslichtes ausgesetzt gewesen ist. Die bläuende Wirkung des Eiters geht übrigens zum Unterschied von derjenigen des Blutfarbstoffs verloren, wenn man den Harn zum Sieden erhitzt. Einen in Zersetzung begriffenen alkalischen Harn muß man vor Ausführung der Reaktion schwach ansäuern. Das Terpentinöl soll im Tageslichte, die Guajaktinktur dagegen in einer Flasche von dunklem Glase aufbewahrt werden. Die Brauchbarkeit der Reagenzien muß übrigens mit einer bluthaltigen Flüssigkeit kontrolliert werden. Diese Probe ist zwar bei positivem Erfolge nicht absolut entscheidend, weil auch andere Stoffe eine Blaufärbung erzeugen können; dagegen ist sie bei richtigem Arbeiten so außerordentlich empfindlich, daß, wenn sie negativ ausfällt, jede andere Untersuchung auf Blut überflüssig und resultatlos wird.»

Wie aus obiger Beschreibung hervorgeht, ist die Probe mehr für ein negatives als für ein positives Resultat von Bedeutung. Unter diesen Umständen ist es von Wichtigkeit, die Bedingungen zu erfahren, die eine notwendige Voraussetzung für ein richtiges Ergebnis bilden. Das Ergebnis scheint in erster Linie von der Beschaffenheit des Terpentinöles abhängig zu sein; dieses soll, wie oben erwähnt, stark ozonhaltig sein.

Indessen sind keine Proben angeführt (außer gerade der mit Guajaktinktur + Blut), die zeigen, wie stark ozonhaltig das Terpentinöl sein soll, damit es überhaupt für die Probe in Frage kommen kann. Andererseits muß ja auch die Empfindlichkeit der Probe in hohem Maße hierauf beruhen.

Unter diesen Umständen erscheint es äußerst wünschenswert, das Terpentinöl durch einen anderen Stoff zu ersetzen, der stets zugänglich und dessen exakte Zusammensetzung stets

¹⁾ Vgl. Malys Jahresber., Bd. XVIII.

bestimmt werden kann. Einen solchen Stoff habe ich gefunden im Wasserstoffperoxyd, dessen Verwendung als Ersatz für Terpentinöl mir sehr nahe zu liegen scheint. Eigentümlich genug gibt es aber in der Literatur, soweit ich wenigstens finden kann, keinen Hinweis darauf.¹⁾

Die folgenden Untersuchungen mögen zeigen, inwiefern Wasserstoffperoxyd für die genannten Zwecke dienlich ist.

Bei Untersuchung einer Urinprobe auf Blut erhielt ich mittels der Hellerschen Probe (Erhitzung mit Natronlauge) ein positives Resultat. Bei Ausführung der Guajakprobe und bei Anwendung von nach meiner Ansicht hinreichend «ozonhaltigem» Terpentinöle (das rohe Terpentinöl ist in der Regel mehr oder minder stark «ozonhaltig»), trat indessen die erwartete Reaktion nicht ein. Wurde dagegen das Terpentinöl durch einige Kubikzentimeter 3%iger Wasserstoffperoxydlösung ersetzt, so war das Ergebnis eine deutliche Blaufärbung der Mischung. Das Terpentinöl war somit zu wenig ozonhaltig.

Nun kam es darauf an, durch Versuche zu erfahren, inwiefern Wasserstoffperoxyd an und für sich das Vermögen besitzt, allein die Guajaktinktur blau zu färben, und ob das Vorhandensein anderer Stoffe störend einwirken und dieselbe Reaktion wie Blut ergeben kann.

Zunächst wurde festgestellt, daß die Guajaktinktur nicht durch Wasserstoffperoxyd allein blau gefärbt werden kann. So zeigte sowohl Guajaktinktur, die mehrere Jahre alt war, wie auch frisch zubereitete, bei Behandlung mit Wasserstoffperoxydlösung von 3% und ebenso von 30% in der Kälte wie in der Wärme bei allen Konzentrationen nicht die geringste Blaufärbung.

Darauf wurden Versuche angestellt mit Urin von 4 verschiedenen Personen. Die Urinproben wurden mit Wasserstoffperoxyd und Guajaktinktur versetzt. In welchen Proportionen die Zusammenmischung nun auch geschah, eine Blaufärbung fand nicht statt. Auch mit einem stark eiweißhaltigen Urin wurde

¹⁾ Nach Vollendung dieser Arbeit habe ich gesehen, daß die Verwendung von Wasserstoffperoxyd anstatt Terpentinöls keine Neuheit ist. Jedoch glaube ich, daß eine nähere Erörterung trotzdem für weitere Kreise von Interesse sein wird.

ein Versuch angestellt ganz in derselben Weise, aber mit negativem Resultate. Nichts scheint also dem Ersatz des Terpentinöles durch Wasserstoffperoxyd im Wege zu stehen. Aus dem folgenden ergibt sich im Gegenteil, daß die Empfindlichkeit der Probe erheblich gesteigert wird.

Ein halber Kubikzentimeter frischen Ochsenblutes wurde im 1000 ccm aqua destillata aufgelöst. 1 ccm hiervon ergab mit Guajaktinktur + Wasserstoffperoxyd eine deutliche Färbung. Bei Anwendung von Terpentinöl, und zwar von altem, welches einen Monat hindurch der Luft und dem Tageslichte ausgesetzt gewesen war, blieb die Reaktion bei ganz derselben Quantität Blutlösung aus.

Übrigens hängt das Resultat in sehr hohem Grade ab von der Manipulation bei der Mischung der verschiedenen Flüssigkeiten. Ich habe gefunden, daß die Probe bedeutend verschärft wird, wenn man beim Nachweis von Blut in einer Lösung von oben erwähnter starker Verdünnung in folgender Weise verfährt. 3 ccm wurden mit 2 ccm 3%iger Wasserstoffperoxydlösung gemischt. Dieser Mischung wurde 1 ccm der Blutlösung $\frac{1}{2}$ ‰ mittels einer Pipette zugesetzt, wobei die Flüssigkeit in die Lösung hinabrinnen konnte, ohne daß das Probierröhr geschüttelt wurde. Dadurch daß man dem Hinabrinnen der Lösung durch die im Probierröhr befindliche Mischung mit dem Auge folgt, kann man die Blaufärbung sofort und deutlich beobachten. Sie sinkt allmählich zu Boden und bildet dort eine blaugefärbte Schicht. Wird die Mischung dagegen umgeschüttelt, ohne daß die oben erwähnte Beobachtung gemacht wird, so wird die in diesem Falle schwache blaue Farbe von der gelben des Harzes bedeckt und die Reaktion tritt nicht deutlich hervor.

Urin mit $\frac{1}{2}$ ‰ Blut versetzt verhielt sich in oben angegebener Weise.

Während in 1 ccm der Blutlösung ($\frac{1}{2}$ ‰) noch nach Verlauf einer langen Zeit mit derselben Schärfe Blut nachgewiesen werden konnte, war das nicht der Fall mit dem aufbewahrten bluthaltigen Urin. In dem Maße, wie dieser sich zersetzte, nahm die Nachweisbarkeit von Blut darin ab. Schließlich konnte das Blut in dieser Verdünnung nicht mehr nachgewiesen

werden. Säurezusatz unterstützte die Reaktion nicht. Andererseits konnte eingetrocknetes Blut auf verschiedenen Gegenständen von Leinen, Holz oder Metall auch nach langer Zeit mit unverminderter Schärfe in der obenerwähnten Weise mit Hilfe von Wasserstoffperoxyd nachgewiesen werden.

Ich will jetzt mit einigen Worten erwähnen, welches die Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur sind, und die Verhältnisse besprechen, die hiermit zusammenhängen.

Was nun zunächst das Blut betrifft, so ergibt sich die Auffassung über das Wesen dieser Blaufärbung aus folgenden Worten Hammarstens: «Das Oxyhämoglobin wirkt ebensowenig wie die anderen Blutfarbstoffe direkt oxydierend auf Guajaktinktur. Dagegen hat es, wie alle eisenhaltigen¹⁾ Blutfarbstoffe, die Fähigkeit, als sogenannter «Ozonüberträger» bei gleichzeitiger Anwesenheit von ozonhaltigen Reagenzien, wie Terpentinöl, Guajaktinktur, zu bläuen.»²⁾

Im folgenden werde ich zeigen, daß eine andere Auffassung dieses Oxydationsverlaufes berechtigt sein kann. Was besonders das Verhalten des Ozons zur Guajaktinktur betrifft, so findet man allgemein angegeben, daß das Ozon die Guajaktinktur blau färbt. Dies scheint jedoch nicht der Fall zu sein. Gießt man in ein Voltameter, das eine U-förmige Röhre darstellt, deren Schenkel je 25 ccm Rauminhalt haben, und mit Elektroden aus Platina versehen sind, verdünnte (10⁰/oige) Schwefelsäure und setzt man dann das Voltameter in leitende Verbindung mit einer elektrischen Batterie, so bildet sich bekanntlich an der Anode Ozon.³⁾ Schichtet man auf die Schwefelsäure Guajaktinktur der Elektrode der Anode möglichst nahe, so sollte ja eigentlich die Guajaktinktur, wenn sie durch Ozon oxydiert wird, blau gefärbt werden. Aber weder die von der Säure unberührte Tinktur noch die, die bei der Überschichtung teilweise damit vermischt worden ist, nimmt die geringste Farbenänderung an, auch nicht nach lang dauernder Einwirkung durch den elektrischen Strom. Biege ich dagegen über die Anodenschenkel ein Jodkalium-

¹⁾ Im Original nicht gesperrt gedruckt.

²⁾ Hammarsten, Lehrbuch der Physiolog. Chemie, S. 169.

³⁾ Siehe H. Erdmann, Lehrbuch der anorgan. Chemie, S. 99.

stärkepapier, so wird dieses nach kurzer Zeit blau gefärbt, welches zeigt, daß wirklich Ozon gebildet wird.

Man darf somit nicht sagen, daß die Blutfarbstoffe als «Ozonüberträger» wirken, da die Guajaktinktur selbst durch Ozon nicht blau gefärbt werden kann. Durch die folgenden Beobachtungen wird auch die Behauptung widerlegt, daß altes Terpentinöl ein ozonhaltiges Reagens ist.

Diese Behauptung findet eine Stütze in dem Verhalten des Terpentinöls zu den Eisenoxydulsalzen.

Eine bekannte Sache ist, daß Eisenverbindungen die Guajaktinktur blau färben. Doch findet man leicht, daß diese Eigenschaft nur den sogenannten Oxydsalzen zukommt; bei den Oxydulsalzen bleibt die Blaufärbung aus.

Aber wenn man einem Eisenoxydulsalz, das mit Guajaktinktur vermischt ist, Terpentinöl oder Wasserstoffperoxyd zusetzt, so tritt augenblicklich Blaufärbung der Guajaktinktur ein. Terpentinöl und Wasserstoffperoxyd zeigen somit ein völlig gleiches Verhalten zu den Oxydulsalzen gegenüber der Guajaktinktur. Die letztere ist auch ein besonders kräftiges Oxydationsmittel für Eisenoxydulsalze. Wird eine Eisenoxydulsulfatlösung mit Terpentinöl zusammengeschüttelt, sei sie alt oder frisch destilliert, so tritt fast sofort die Gelbbraunfärbung der Ferrosulfatlösung ein unter Bildung von Ferrisalz.

Wenn andererseits eine Ferrosulfatlösung der Elektrolyse unterworfen wird, so tritt keine Gelbbraunfärbung an der Anode ein, wo Ozon und Sauerstoffgas in statu nascendi vorhanden ist. Auch nach mehrstündiger Einwirkung des galvanischen Stromes behielt die Flüssigkeit an der Anode (die Elektrolyse wurde in der obenerwähnten U-förmigen Röhre ausgeführt) ihre lichtgrüne Färbung. Die Verschiedenheit des Oxydationsverlaufes in dem einen und dem andern Falle ist ebenso in die Augen fallend wie die Gleichheit bei der Oxydation mit Wasserstoffperoxyd und Terpentinöl. Da man nun bei der ersteren niemals Ozon im Oxydationsverlaufe hat nachweisen können, so ist anzunehmen, daß Ozon nicht die Ursache der Oxydation der Ferrosulfatlösung ist, wenn Terpentinöl dazu verwendet wird. Ein anderer Schluß, der aus dem Oxydationsverlauf des Eisenoxyd-

sulfats gezogen werden kann, wegen der langsam verlaufenden Oxydation bei der Elektrolyse und der glatt verlaufenden mit Wasserstoffperoxyd und Terpentinöl, soll hier nicht näher erörtert werden, da er außerhalb des Rahmens dieser Arbeit liegt.

Nachdem obige Beobachtungen über den Ozongehalt des Terpentinöls gemacht worden waren, finde ich in einer umfassenden Arbeit von C. Engler und J. Weissberg: «Kritische Studien über die Vorgänge der Autooxydation» meine Ansichten bestärkt. Die Verfasser äußern als Schlußresultat der Untersuchung über «ozonisiertes» Terpentinöl folgendes (Seite 73): «Nach unseren Untersuchungen¹⁾ besteht der aktivierte Sauerstoff des Terpentinöls weder aus Ozon noch aus atomistischem Sauerstoff».

Wie aus obigem also hervorgeht, wird die Guajaktinktur weder durch den Sauerstoff der Luft noch durch Ozon oder Sauerstoff in statu nascendi oxydiert oder blau gefärbt. Man kann hier mit Recht die Frage aufwerfen, welches ist die Ursache der Oxydation?

Eine Antwort hierauf kann nur gefunden werden durch Versuche mit Stoffen bekannter Konstitution, welche die Guajaktinktur blau färben. Diese Reaktion ist ja an und für sich von geringem Interesse, aber in Zusammenhang mit dem Blute, zu dem die Guajaktinktur in einem ganz eigentümlichen Verhältnisse steht, wird die Reaktion in hohem Grade interessant. Es gilt zu entscheiden, inwiefern auf Grund der gewonnenen Resultate eine Aufklärung über die im tierischen Körper verlaufenden Oxydationen erreicht werden kann. Diese wichtigen Vorgänge sind ja noch ganz in Dunkel gehüllt. Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich folgende Untersuchungen angestellt. Auch wenn die von mir aus den Ergebnissen gezogenen Schlüsse sich als nicht haltbar erweisen sollten, dürfte gleichwohl der experimentelle Teil der Untersuchung der Mitteilung wert sein.

Wie oben gesagt, haben die Eisenverbindungen die Fähigkeit, unter gewissen Umständen Guajaktinktur blau zu färben. Da hierzu kommt, daß nur eisenhaltige Blutfarbstoffe die

¹⁾ Vgl. auch Engler und Weissberg, Ber. der Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXXI, S. 3046.

Fähigkeit der Blaufärbung besitzen, so könnte man aus diesem Grunde geneigt sein, anzunehmen, daß das Eisen auf die eine oder andere Weise die Ursache der Blaufärbung sei. Eine solche Vermutung ist auch ausgesprochen worden. Zunächst muß somit entschieden werden, wie es sich hiermit verhält. Die Untersuchung ergab ein negatives Resultat. Da sich gleichwohl gewisse Schlüsse aus der Untersuchung über die Blaufärbung der Guajaktinktur bei Vorhandensein von Eisenoxydsalzen ziehen lassen, so gehe ich hier etwas näher darauf ein.

Bei Behandlung eines Eisenoxydsalzes mit Guajaktinktur findet man, daß die Blaufärbung bei der geringsten Spur von Oxydsalz eintritt. Wenn ein Tropfen einer Eisenchloridlösung, die 10% Eisen enthält, 2500 ccm destilliertem Wasser zugesetzt wird, so erzeugt 1 ccm hiervon zwar eine geringe, aber doch wahrnehmbare Blaufärbung mit Guajaktinktur. Nach einer Berechnung enthielt 1 ccm dieser Lösung 0,00264 mg Fe.

Wäre nun das Eisen allein im Blute die Ursache der Blaufärbung der Tinktur, so müßte das Eisen, wenn man es aus einer gewissen Quantität Blut entfernt und in Oxydsalz überführt, auf die Guajaktinktur mit derselben Schärfe reagieren wie das mit Wasser stark verdünnte Blut. Doch so verhält es sich nicht, wie ich zeigen werde.

100 g Ochsenblut werden zur Trockne verdunstet. Der Rest von 15,7 g Trockensubstanz wurde gegläht, der Rückstand wurde in kleinen Mengen mit warmem Wasser behandelt, das dabei stark alkalisch wurde. Ein rotbrauner Niederschlag war sichtbar, er wurde gesammelt und gewaschen. Das Filtrat war eisenfrei. Das Filter wurde verbrannt und das Eisen wurde durch Behandlung mit $\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ aufgelöst, wobei sich eine vollkommen klare, rotgelbe Lösung von FeCl_3 ergab. Die Salzsäure wurde durch Abdunstung entfernt, worauf der Rückstand im Wasser zu 100 g aufgelöst wurde.

Da ich zuvor gezeigt habe, daß in 1 ccm einer Blutlösung von $\frac{1}{2}$ ‰ das Vorhandensein von Blut durch Guajaktinktur nachgewiesen werden kann, so würde, wenn das Eisen allein die Ursache der Reaktion wäre, in der oben erwähnten Eisenchloridlösung, die aus dem Eisen des Blutes erhalten wurde, bei

einer Verdünnung mit 200 000 Teilen Wasser die Reaktion mit 1 ccm zustande kommen. Wie aber auch verfahren wurde, die Reaktion blieb aus.

Durch Berechnung des Eisengehaltes der verschiedenen Lösungen kann man den Unterschied ersehen. 1000 g Blut (Ochse) enthalten nach den Literaturangaben 0,544 g Eisenoxyd. Wird $\frac{1}{2}$ g Blut in 1000 ccm Wasser gelöst, so findet sich in 1 ccm hiervon 0,00019 mg Fe. Wie oben gezeigt, reagiert jedoch die Guajaktinktur schon mit 0,00264 mg Fe nicht mehr.

Wie empfindlich die Reaktion somit auch für Eisen ist, so kann dieses doch nicht an und für sich die Ursache derjenigen Reaktion sein, welche bei der Behandlung des Blutes mit Wasserstoffperoxyd und Guajaktinktur entsteht.

Ich gehe nun über zu den Schlußsätzen, die man betreffs der Ursachen der Blaufärbung der Guajaktinktur aus ihrem Verhalten zu den Eisenoxydsalzen ziehen kann.

Diese werden im allgemeinen bei ihrer Auflösung im Wasser hydrolysiert, so daß Eisenoxydhydrat, $\text{Fe}(\text{OH})_3$, gebildet wird, das sich bei der Auflösung in kolloidalem Zustande befindet. Die Bildung von Eisenoxydhydrat bedingt auch die gelbe bis braunrote Färbung dieser Salze in Lösung, da die Ferri-Ionen fast farblos sind. Wird der Lösung eines Ferrisalzes eine Säure hinzugesetzt, so wird die Hydrolyse zurückgedrängt, das abgespaltene Eisenoxydhydrat wird teilweise in Ion bzw. Salz übergeführt und die Lösung verliert zum großen Teil ihre rotbraune Färbung. Nun zeigte es sich, daß in sauren Eisenchloridlösungen die Reaktion mit Guajaktinktur wesentlich geschwächt wurde oder völlig ausblieb. Ich kam hierdurch zu der Annahme, daß die Hydroxylgruppen die Veranlassung zur Blaufärbung der Guajaktinktur seien; denn auch eine durch Dialyse bereitete kolloidale Eisenoxydhydratlösung färbte sich stark.

Sind die Hydroxylgruppen des Eisenhydrates die Ursachen der Blaufärbung, so muß Eisenoxydhydrat in Substanz auch die Tinktur blau färben. Dieses bestätigte sich. Frisch bereitet und gut ausgewaschen, ergab es, wenn es der Guajaktinktur zugesetzt wurde, in der Kälte keine Blaufärbung, aber eine auch nur geringe Erwärmung der Lösung hatte starke Blaufärbung

zur Folge. Andererseits ergab sich auch bei lange andauernder Erwärmung bei Behandlung von Guajak-tinktur mit Eisenoxydhydrat, welches zwischen Löschpapier getrocknet und einige Zeit hindurch aufbewahrt war, keine Blaufärbung. Wie bekannt, wird dieses beim Trocknen umgewandelt und man hat dann keinen Stoff mehr, welcher der Formel $\text{Fe}(\text{OH})_3$ entspricht.

Wenn die Hydroxylgruppen weiter die Ursache der Blaufärbung sind, so müssen die anderen Salze, deren wässrige Lösungen denen der Eisenoxydsalze gleichartig beschaffen sind, gleichfalls Blaufärbung verursachen. Eine solche Lösung ist die Aluminiumsubacetatlösung der Pharmakopöen. Diese enthält außer dem normalen Acetat, $\text{Al}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_3$, neben Aluminium- $\frac{2}{3}$ -acetat, $\text{Al}_{\left(\text{CH}_3\text{CO}_2\right)_2}^{\text{OH}}$, und $\frac{1}{3}$ -acetat, $\text{Al}_{\left(\text{CH}_3\text{CO}_2\right)_3}^{\left(\text{OH}\right)_2}$, wahrscheinlich auch Aluminiumoxydhydrat, $\text{Al}(\text{OH})_3$, in kolloidaler Lösung. Wie im voraus angenommen war, färbte diese Lösung die Guajak-tinktur blau. Ebenso verhielt es sich mit Bleiessig, der eine basische Bleiacetatlösung darstellt.

Eine weitere Stütze für die Richtigkeit meiner Behauptungen dürfte folgendes bieten.

Wird eine Magnesiumsulfatlösung elektrolysiert, nachdem sie mit Guajak-tinktur versetzt worden ist, so erhält man, wie oben angegeben, keine Blaufärbung an der Anode, an der Kathode dagegen tritt eine grünblaue Färbung der Mischung hervor.

Die Erklärung würde folgende sein. Nach der Dissoziations-theorie wird das Magnesium-Ion an der Kathode abgetrennt. Elektrolytisch von seiner Salzlösung abgeschieden, zersetzt es indessen Wasser in der Weise, daß $\text{Mg}(\text{OH})_2$ gebildet wird. Aus diesem Grunde stellt der Kathodenraum folgende Mischung dar: $\text{MgSO}_4 + \text{Mg}(\text{OH})_2$, eine Mischung, die demnach vergleichbar ist mit den durch Hydrolyse entstandenen, zuvor erwähnten Verbindungen, die die Fähigkeit besaßen, die Guajak-tinktur blau zu färben. Da man zudem weiß, daß die Hydroxylgruppen hier bei der Bildung von $\text{Mg}(\text{OH})_2$ in statu nascendi vorhanden sind, so ist die Färbung der Guajak-tinktur an der Kathode erklärlich.

Man ist somit auf Grund dieser Untersuchung zu der Annahme berechtigt, daß die Hydroxylgruppen molekular gebunden

(nicht Hydroxyl-Ionen: Kalihydrat färbt nicht blau), durch direkte Addition die Guajaktinktur blaufärben können.

Andere Stoffe, die mit außerordentlicher Schärfe die Guajaktinktur blau färben, sind die Nitrite. Wird z. B. Guajaktinktur mit einer Kaliumnitritlösung gemischt, so entsteht keine Blaufärbung, wird aber eine Säure hinzugesetzt, so tritt die Blaufärbung scharf hervor. Ebenso verhält es sich, wenn anstatt einer Säure Wasserstoffperoxyd hinzugesetzt wird. Diese Verbindungen zeigen demnach insofern eine mit Blut zu vergleichende Wirkung, daß sie erst nach Zusatz von Wasserstoffperoxyd die Tinktur blau färben. Da nun die Schärfe sehr bedeutend ist, 0,001 mg KNO_2 konnte in dieser Weise in 1 ccm Wasser nachgewiesen werden, hielt ich eine Untersuchung auf vielleicht im Blute vorhandene Nitrite nicht für unnötig. Wie zu erwarten war, fielen die Versuche indessen negativ aus.

Auch andere Versuche mit anorganischen Verbindungen schienen zu beweisen, daß ihr Vorhandensein im Blute nicht die Ursache der Blaufärbung sein konnte, sondern man muß annehmen, daß diese auf der Gegenwart einer organischen Verbindung beruht, die nach allem zu urteilen ein wesentlicher Bestandteil des Blutes ist.

In diesem Zusammenhang mag auch erwähnt sein, daß Speichel ebenfalls die Fähigkeit hat, bei Vorhandensein von Wasserstoffperoxyd Guajaktinktur blau zu färben. Bringt man $\frac{1}{2}$ —1 ccm Speichel in einem Reagenzrohre zusammen mit 1 ccm Guajaktinktur, so entsteht keine Blaufärbung, nicht einmal bei Erwärmung, aber nach Zusatz einiger Tropfen Wasserstoffperoxyd wird die Mischung sofort blau gefärbt.

Stellt man zum Schlusse die bei den Untersuchungen gewonnenen Resultate zusammen, so können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Bei Vornahme der Guajakblutprobe ist dem „ozonhaltigen“ Terpentinöl das Wasserstoffperoxyd (3%) vorzuziehen; dieses übt dieselbe Wirkung aus wie Terpentinöl, aber es ergibt eine sicherere und kräftigere und demzufolge schärfere Reaktion.

2. Terpentinöl, auch altes, das der Luft und dem Lichte ausgesetzt gewesen ist, enthält kein Ozon und kann dieses infolge