

(Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Halle a. d. S. — Direktor: Prof. Dr. G. Schrader.)

Untersuchungen zur Brauchbarkeit der Sanguicit- und Kaufmannschen Benzidin-Methylalkohol- probe für den forensischen Blutnachweis.

Von
G. Schrader und H. Lohel.

Unter den Vorproben für den Blutnachweis ist die im Jahre 1904 herausgebrachte Benzidinprobe wegen ihrer hohen Empfindlichkeit die bedeutungsvollste. Ihre Wirkung beruht auf der katalytischen Eigenschaft des Blutes. Dadurch wird aus sauerstoffreichen Körpern Sauerstoff abgespalten und auf andere oxydable Substanzen übertragen. Bei Gegenwart von Blut oder seiner eisenhaltigen Derivate entstehen charakteristische Farbänderungen. Diese katalytischen Reaktionen sind aber nicht absolut spezifisch für Blut. Sie beweisen nur die Anwesenheit von Oxydasen. Wie durch vielfältige Untersuchungen festgestellt wurde, geben auch andere organische und anorganische Stoffe, kolloidale Substanzen u. a. m. eine ähnliche Farbreaktion, was beim forensischen Blutnachweis besondere Beachtung erfordert (*Merkel*).

Aus diesem Grunde wurde immer wieder versucht, eine Verbesserung der Probe unter Ausschaltung der im Laufe der Zeit bekannt gewordenen störenden Faktoren herbeizuführen. In neuerer Zeit wurden 2 Modifikationen bekanntgegeben. Bei der einen von *Kaufmann* veröffentlichten handelt es sich um in Methylalkohol gelöstes Benzidin in Verbindung mit Perhydrol (1:10) und Eisessig. Die andere von *Lipp* empfohlene betrifft ein neues Blutreagenspulver „Sanguicit“, welches ein in seinen Einzelheiten nicht näher genanntes Benzidin-Gemisch mit sauerstoffabgebenden Zusätzen darstellt. Beide Modifikationen haben sich offenbar bei klinischen Untersuchungen, besonders beim Blutnachweis im Stuhl, bewährt. Es fehlen aber bisher Erfahrungen darüber, ob auch unter forensischen Gesichtspunkten diese Proben eine Verbesserung unserer Blutdiagnose darstellen.

Wir haben deshalb mit diesen beiden Proben Untersuchungen an Blutspuren unter gerichtsärztlich-kriminalistischen Bedingungen vorgenommen und zum Vergleich die altbewährte Original-Benzidinprobe gegenübergestellt.

Die *Untersuchungsmethodik* hielt sich an die Originalvorschriften. Bei der Benzidinprobe eine Messerspitze Benzidin. puriss. in 2 ccm Eisessig gelöst; zu

10 Tropfen dieser Lösung 30 Tropfen einer 3proz. Wasserstoffsperoxydlösung hinzugefügt. Diese Lösung wurde stets wieder frisch hergestellt, da nach einiger Zeit die zunächst farblose Flüssigkeit sich zunehmend braun verfärbt und unbrauchbar wird.

Bei der *Benzidin-Methylalkoholprobe* wurden nach *Kaufmanns* Angaben die erforderlichen Reagenzien in 3 Flaschen bereitgestellt: 1. Lösung einer reichlichen Messerspitze Benzidinpulver in 100 ccm Methylalkohol. 2. Eisessig mit der gleichen Menge destilliertem Wassers verdünnt. 3. Perhydrollösung verdünnt 1:10. Diese 3 Lösungen sind längere Zeit haltbar.

Bei der *Sanguicilprobe* wurde das zu untersuchende blutverdächtige Material auf einen Streifen Filtrierpapier gebracht, ein paar Körnchen Sanguicotpulver zugesetzt und einige Tropfen Eisessig aufgeträufelt. Der Versuch, auch bei den beiden anderen Proben Filtrierpapier zu verwenden, scheiterte an der Tatsache, daß sämtliche untersuchten Filtrierpapiersorten nach einigen Minuten eine positive Reaktion bei Anwendung der Benzidin- bzw. der *Kaufmannschen* Benzidin-Methylalkoholprobe ergaben. Bei der *Sanguicilprobe* trat eine derartige Störung nicht in Erscheinung. Es wurden deshalb auch nur die Farbreaktionen als positiv gewertet, die innerhalb einer Minute auftraten.

Versuchsanordnung.

In mehreren Versuchsreihen wurde zunächst die Empfindlichkeit der 3 Proben vergleichend untersucht. Hierzu wurden Blutverdünnungsreihen aus frisch entnommenem Normalblut bzw. aus Erythrocytenaufschwemmungen hergestellt, und zwar teils mit Zitratlösung und physiologischer Kochsalzlösung, teils mit destilliertem Wasser. Die progressiven Verdünnungsreihen, beginnend mit den Stufen 1:2, 1:4, 1:8 usw., wurden bis zu einer Verdünnung von 1:524 288 fortgeführt.

In weiteren Versuchsreihen wurden unter Anlehnung an forensisch in Betracht kommende Bedingungen Blutspuren verschiedenartigen Einflüssen ausgesetzt. Die Spuren wurden auf Gegenständen unterschiedlicher Art und mit teils glatter, teils poröser Oberfläche angebracht, wie Tonscherben, Glas, Holz (roh und poliert), Ziegelstein, Woll- und Leinenstoff, Leder, Gummi, Bleiplättchen, Zinkblech, Filterpapier, Pappe, trockenes Laub. Diese Objekte wurden mit den aufgesetzten kleinen Blutspuren verschiedenen störenden Einwirkungen unterworfen, und zwar Witterungseinflüssen, Erdfäulnis, Lichteinwirkung, Hitze, Einwirkung von Chemikalien. Die Witterungseinflüsse betrafen einen Zeitraum von 31 Tagen, wobei in bestimmten Abständen etwas Material entnommen und mit den 3 Proben überprüft wurde. Während dieser Periode, die mit trocknem Wetter und einer Durchschnittstemperatur von + 2° begann, trat wenige Tage später heftiger Schneefall und bald danach Tauwetter mit starker Schneeschmelze ein; es folgte eine Woche mit trockenem Frost von —3 bis —5°; den Schluß bildete eine verstärkte Frostperiode mit Temperaturen bis —15°.

Bei den Fäulnisversuchen wurden die Objekte in der Erde vergraben. Der Erdboden war anfangs verhältnismäßig warm, später stark durch-

nässt; die Versuche gingen schließlich in die vorgenannte Frostperiode über, wobei zum Schluß der Erdboden hart durchgefroren war.

Bei der Lichteinwirkung kam das ungefilterte Licht einer Quecksilberquarzlampe zur Anwendung, die sich in 15 cm Abstand von den Objekten befand. Die Untersuchungen erfolgten nach Bestrahlungsdauer von 1, 3 und 6 Stunden. (1 Stunde Quarzlampenbestrahlung entspricht in ihrer Wirkung etwa 10 Stunden intensiver Sonnenbestrahlung oder einer 10tägigen Einwirkung von diffusem hellem Tageslicht bzw. etwa ebensoviel Wochen einer gedämpften Lichteinwirkung in einem Raum abseits vom Fenster.)

Bei den Versuchen unter Hitzeeinwirkung wurden die Objekte im Brutschrank Temperaturen von 100, 150 und 200° für die Dauer von jeweils einer Stunde ausgesetzt. Nach diesen Zeitabschnitten kamen jedesmal die 3 Proben zur Anwendung.

Bei der Einwirkung von Chemikalien wurden die Objekte, und zwar 20 Tage alte Blutspuren, jeweils 72 Stunden lang mit einer Seifenlösung, verd. Ammoniak-Borax- bzw. Cyankalilösung behandelt.

Daß die bei den einzelnen Versuchen als Träger der Blutspuren benutzten Gegenstände, wie Tonscherben, Glas, Holz u. a., sowie die für die chemischen Einwirkungen benutzten Lösungen einer Überprüfung auf unspezifisch störende Reaktionen für den Blutnachweis unterzogen wurden, sei nur kurz erwähnt.

Schließlich wurden Versuche angestellt zur Frage, wieweit Fremdoxydasen auch auf die Modifikationen der Benzidinprobe (*Kaufmannsche Benzidin-Methylalkoholprobe, Sanguicitprobe*) einen störenden Einfluß haben. Wir gingen dabei unter kriminalistischen Gesichtspunkten von der Arbeitshypothese aus, daß sich an einem Tatort blutverdächtige Spuren auf grünen Blättern bzw. sonstigen Vegetabilien befinden könnten, so daß durch die Einwirkung von Pflanzenoxydasen evtl. ein positiver Ausfall vorgetäuscht würde. Es wurden bei unseren Versuchen verschiedene pflanzliche Objekte gewählt. Die 3 Proben wurden jeweils an der unversehrten Oberfläche und an einer Schnittfläche überprüft. Zur Untersuchung kamen folgende Pflanzen: Kohlrabi, Porree, Petersilienwurzel, Mohrrübe, Zwiebel, Kartoffel, Sellerie. Dazu wurden noch folgende Pflanzenblätter einbezogen: Kohlblatt, Porreeblatt, Sellerieblatt.

Untersuchungsergebnisse.

Die vergleichenden Untersuchungen zur Empfindlichkeit der 3 Proben ergaben, daß die Original-Benzidinprobe unstreitig die empfindlichste ist. Während z. B. bei ihr noch Blutverdünnungen von 1:262144 einen deutlichen, wenn auch etwas schwachen positiven Ausfall ergaben, erreichten die beiden Modifikationen bei weitem nicht diese Werte.

Ihre Grenze lag unter gleichen Versuchsbedingungen bei einer Blutverdünnung von 1:16384. Dabei erwies sich die Sanguicitprobe jeweils als die schwächste von den dreien.

Bei den Untersuchungen im Anschluß an Witterungseinflüsse zeigte es sich, daß die Blutspuren mit der Dauer dieser Einwirkungen erhebliche Veränderungen erlitten, die ein Nachlassen der Empfindlichkeit bei allen 3 Proben bedingten. Trotzdem erwies sich auch hier die Benzidinprobe als die empfindlichste von den dreien. (Als Empfindlichkeitsgrad wurde jeweils die Schnelligkeit der Farbreaktion und ihre Intensität bzw. die Farbschattierungen zwischen dunkelblau, blau, blaugrün und grün gewertet.)

Die Fäulniseinflüsse an blutbefleckten und vergrabenen Gegenständen, die zum Teil durch das Auftreten einer länger dauernden Frostperiode vorzeitig unterbrochen wurden, zeigten keine besonders hochgradigen Unterschiede. Immerhin war am Ende der Beobachtungsperiode ein gewisses Nachlassen in der Empfindlichkeit der *Kaufmannschen* Benzidin-Methylalkohol- und der Sanguicitprobe festzustellen.

Ähnlich waren die Beobachtungen nach Quarzlampenbestrahlung, die an 18 Tage alten Blutspuren vorgenommen wurden. Sämtliche 3 Proben reagierten positiv, wobei die Sanguicitprobe etwas schwächer als die beiden anderen ausfiel.

Bei den Versuchen mit Erhitzung der Blutspuren waren die stärksten Unterschiede im Ausfall der Proben nach einstündiger Einwirkung von 200° zu bemerken. Während die Original-Benzidinprobe noch stark positiv ausfiel, zeigten die beiden Modifikationen eine deutliche Verzögerung und Abschwächung im Auftreten der Farbreaktionen.

Die gleiche Beobachtung wurde nach einigen der vorgenannten chemischen Einwirkungen gemacht, so vor allem bei Ammoniak- und Cyankalilösung. Auslaugung der Blutspuren hierdurch ergab ebenfalls eine deutliche Abschwächung im positiven Ausfall der *Kaufmannschen* Benzidin-Methylalkoholprobe und der Sanguicitprobe.

Die Untersuchungen zum Einfluß anorganischer und organischer Fremdoxydasen ergaben folgendes: Die bekannten anorganischen Stoffe, wie gelbes und rotes Blutlaugensalz, Kal. permang., Cu. sulfur., Kal. chlor., Kal. brom., Mangan. peroxydat. u. ä., führten bei allen 3 Proben trotz Abwesenheit von Blut zu unspezifisch positiven Reaktionen. Am schwächsten war hierbei die Farbreaktion bei der Sanguicitprobe, während die Original-Benzidinprobe und die Benzidin-Methylalkoholprobe sehr starke Pseudoreaktionen zeigten. Besonders hervorgehoben sei nochmals die auffällige Tatsache, daß sämtliche uns zugänglichen Filtrerpapiersorten mit der Original-Benzidinprobe und der Benzidin-Methylalkoholprobe nach einigen Minuten eine sehr deut-

liche unspezifische Reaktion zeigten. Dagegen fiel die Sanguicitprobe trotz längeren Zuwartens auf Filtrierpapier stets negativ aus. Diese Erscheinung, auf die bisher im Schrifttum noch nicht hingewiesen wurde, erscheint uns forensisch sehr bemerkenswert. Denn es ist wohl verschiedentlich üblich, alte Blutspuren für Kontrolluntersuchungen bei der Austestung der Blutreagenzien auf Filtrierpapier angetrocknet aufzubewahren. Auch an Erdproben, die frei von jeder Blutverschmutzung waren, ließen sich ähnliche unspezifische Reaktionen nachweisen. Auf diese Erscheinung stießen wir bei systematischen Kontrolluntersuchungen mittels der drei Benzidinvorproben in einem Mordfall, bei dem uns Erdproben vom Tatort und vom Verscharrungsplatz der Leiche $1\frac{1}{2}$ Jahr nach der Tat zur Untersuchung auf Blutreste übergeben waren. Die Reaktionen fielen besonders an hellem sandigem Erdmaterial außerordentlich stark aus und traten in ihren Anfängen schon nach etwa $1\frac{1}{2}$ bis 2 Minuten in Erscheinung, verstärkten sich bei weiterem Zuwarten noch deutlich. Hierbei war auch die Sanguicitprobe in diese unspezifischen Reaktionen mit einbegriffen, allerdings in verminderter Stärke und weniger regelmäßig bei den verschiedentlichen Kontrollen.

Auch die Untersuchungen über die Einwirkung pflanzlicher Fremdoxydasen führten zu bemerkenswerten Ergebnissen. Es zeigte sich regelmäßig bei den verschiedenen Pflanzenarten, die zur Untersuchung gelangten, daß die unverletzte Oberfläche stets eine negative Reaktion mit den 3 Proben ergab. Im Schnitt dagegen trat bei allen Pflanzenknollen und besonders auch bei grünen Blättern eine stark positive Reaktion auf, wobei wiederum die Sanguicitprobe in mehreren Fällen nur eine schwache Reaktion ergab. Sie erwies sich somit hinsichtlich unspezifischer Reaktionsausfälle weniger empfindlich als die Original-Benzidinprobe und die *Kaufmannsche Benzidin-Methylalkoholprobe*. Die pflanzlichen Oxydasen traten bei diesen Untersuchungen besonders im Bereich der Saftbahnen hervor. Diese Feststellung, die auch schon von *Kaufmann* gemacht wurde, ist von erheblicher forensischer Bedeutung. Denn in praktischen Fällen, wo sich blutverdächtige Spuren auf grünen Pflanzenblättern oder -stengeln (z. B. am Tatort) befinden, kann es bei unsachgemäßer Abnahme dieses Materials zu einer Verletzung der pflanzlichen Oberfläche kommen. Der austretende Gewebe- saft, der sich mit dieser Spur vermischt, würde dann unter Umständen einen positiven Ausfall der Vorproben zur Folge haben. Der im forensischen Spurenachweis erfahrene Untersucher wird hierdurch nicht fehlgeleitet werden. Dagegen sind auf Grund derartiger unspezifischer Reaktionen Fehldiagnosen zu befürchten, wenn Untersuchungsstellen mit mangelhafter Erfahrung ihre Blutdiagnose in forensischen Fällen einzig auf den Ausfall der Benzidinprobe stützen, wie wir das einschlägig erlebt haben.

Zusammenfassung.

In vergleichenden Untersuchungen wurden 2 neuere Modifikationen der Benzidinprobe auf ihre Brauchbarkeit zum forensischen Blutnachweis hin überprüft. Es ergab sich dabei, daß die Sanguicitprobe den störenden Einflüssen von Fremdoxydasen weniger stark ausgesetzt ist als die *Kaufmannsche* Benzidin-Methylalkoholprobe und die Original-Benzidinprobe. Die beiden Modifikationen besitzen aber durchweg nicht die hohe Empfindlichkeit der Benzidinprobe und bedeuten deshalb für den forensischen Blutnachweis keine Verbesserung. Einzig ihre technisch leichtere Handhabung bzw. die bessere Haltbarkeit der Reagenzien könnte für rasche Orientierungszwecke am Tatort gelegentlich von Vorteil sein.

Hinsichtlich der unspezifischen Reaktionen wurde die *Kaufmannsche* Feststellung bestätigt, daß die Pflanzenoxydasen vorwiegend in den Saftbahnen, aber nicht an der unverletzten Oberfläche enthalten sind. Das ist bei der forensischen Spurenuntersuchung besonders bei der Entnahme von blutverdächtigem Material von pflanzlicher Unterlage zu berücksichtigen. Darüber hinaus wurde eine unspezifische Reaktion der Benzidin- und der *Kaufmannschen* Benzidin-Methylalkoholprobe an verschiedenen Filterpapiersorten gefunden.

Literaturverzeichnis.

Kaufmann, Med. Welt **1940**, Nr 30 — Münch. med. Wschr. **1941**, Nr 46. — *Lipp*, Münch. med. Wschr. **1941**, Nr 33. — *Merkel*, Münch. med. Wschr. **1909**, 2358. — *Scheller*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **28**, 217 (1937). — *Schmidt*, Forensische Blutuntersuchung. In Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistik. Berlin 1940. S. 220. — *Schwarzacher*, Dtsch. Z. gerichtl. Med. **15**, 119 (1930). — *Sprandel*, Diss. med. Würzburg 1938. — *Walcher*, Gerichtlich-medizinische und kriminalistische Blutuntersuchung. Berlin 1939. — *Ziemke*, in *Lochte*, Gerichtsärztliche und polizeiärztliche Technik. Wiesbaden 1914 — in *Abderhalden*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. IV, Teil 12.
