

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg  
(Vorstand: Prof. Dr. BERTHOLD MUELLER).

## Beitrag zur Frage der Altersbestimmung von Blutspuren.

Von  
JOACHIM RAUSCHKE.

Eine Blutspur erleidet während des Alterungsprozesses mannigfache Veränderungen, deren Beurteilung vielfach nicht möglich ist. Für den Untersucher wirkt sich erschwerend aus, daß die einzelnen Blutbestandteile sich ganz verschieden verhalten. Für das Auge am deutlichsten sind die Umwandlungen des Hämoglobins: Der frische Blutfleck zeigt die bekannte blutrote Farbe, die nach völligem Eintrocknen bereits eine bräunliche Tönung annimmt. Mit zunehmender Methämoglobinbildung, die nach einigen Tagen einsetzen soll (HAMMERL), dunkelt der Fleck immer mehr, bis er ein schwarzrotes Aussehen erreicht hat. Allmählich geht die Farbe durch Bildung von wasserunlöslichem Hämin ins Graue über. Die corpusculären Bestandteile ändern sich nur im feuchten Medium; vom Augenblick der völligen Austrocknung an liegen sie unveränderlich im eingetrockneten Serum. Nach SCHWARZACHER nimmt die Einwirkung von Licht, und zwar von ultravioletten Strahlen, den wichtigsten Platz unter allen Umweltsfaktoren ein. Von weiteren destruirenden Einflüssen sind zu nennen: Feuchtigkeit, Wärme, chemische und physikalische Besonderheiten der Unterlage — beispielsweise Mörtel, Rost (BUHRTZ) — und pflanzliche Stoffe wie Holz, in dessen Fugen das Blut eingesogen und unter Lichtabschluß gewissermaßen konserviert wird (SCHELLER), dann Bakterien, Schimmelpilze u. a.; schließlich seien Reinigungsversuche und das die Löslichkeit und den Nachweis störende Plätten (SCHECH) erwähnt.

Mit der Aussichtslosigkeit, die vielfach auf eine Blutspur einwirkenden Einflüsse übersehen zu können, mag es zusammenhängen, daß sich nur einzelne Untersucher — in weiter Zeitspanne — mit dem wichtigen Problem befaßt haben und daß das Nutzbarmachen moderner methodischer Untersuchungen das Gebiet der Blutaltersbestimmung vernachlässigt hat. Bei Durchsicht der Literatur über den Blutnachweis und die ihn störenden Einflüsse stößt man mitunter auf Angaben — besonders in zeitlicher Beziehung —, die sich womöglich zur Beleuchtung des Blutaltersproblems heranziehen lassen.

Die vielseitigen und für den praktischen Bedarf oft nicht verwertbaren Untersuchungsverfahren auf ihre Anwendungsbreite zu überprüfen, erschien bedeutsam, und wir haben uns die Aufgabe gestellt, durch Variierung bekannter Methoden geeignete Wege zur Festlegung des Blutalters zu weisen, an die als Anforderung nicht zu schwierige Untersuchungsgänge und möglichst exakte Resultate gestellt werden sollten.

Als Untersuchungsmaterial dienten Blutflecke auf Filtrierpapier — es hatte sich herausgestellt, daß die Art der Unterlage gleichgültig ist —, die aus Nativblut in Abständen von 3—7 Tagen hergestellt und jeweils im geschlossenen Raum,

unter Lichtabschluß, im Eisschrank und im Freien an Schattenstellen und an besonnten Orten aufbewahrt waren. Die letzten waren der Frühjahrswitterung, zum Teil noch dem Winterwetter, ausgesetzt. Aus der Sammlung standen außerdem eine 1½ und eine 3 Jahre alte Blutspur und eine verkorkte Flasche mit 4 Monate altem Blut zur Verfügung.

### I.

Die erste mit spektroskopischen Verfahren feststellbare Veränderung des Blutfarbstoffes, die Umwandlung in Methämoglobin, soll nach einigen Tagen einsetzen (HAMMERL), während Oxyhämoglobin zwischen dem 6. und 10. Tage verschwinde. Über den Zeitpunkt der Entstehung von Hämatin liegen keine verwertbaren Angaben vor. Aus Gründen der Wasserunlöslichkeit des Hämatins sollen bei derartigen Feststellungen Schwierigkeiten entstehen; denn auch geeignete Lösungsmittel, wie Kalilauge, entziehen das Hämatin durch schnelle Überführung in weitere Abbaustufen, beispielsweise Hämochromogen oder gar Bildung neuen Hämatins, dem einwandfreien Nachweis. Mit seinem Auftreten kann nach 2—3 Wochen gerechnet werden. In Hämatoporphyrin kann das Hämoglobin durch Zusatz geeigneter Reagentien, z. B. Schwefelsäure, überführt werden. Im Gegensatz zum Hämoglobin ergibt es im ultravioletten Licht Fluoreszenz. Auf diese Erkenntnis gründet sich die von HELLER angegebene Blutnachweismethode.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die Anwesenheit von Methämoglobin mit einem Standspektroskop (Fabrikat Zeiß) bei einer Schichtdicke der Blutlösung von 7 mm geprüft.

Nachdem in Vorversuchen herausgefunden war, daß zum sicheren Auftreten des Methämoglobinspektrums ein eingetrockneter Fleck, der von mindestens 0,4 cm<sup>3</sup> Blut herrührt (= pfennigstückgroßer Fleck auf Filtrierpapier mit 8 mg Bluttrockensubstanz), in Lösung gehen muß, ließ sich an allen Proben von einem Alter von 19—24 Std an der deutliche Methämoglobinnachweis erbringen. Auf der Dampfheizung entstand es bereits nach 2—3 Std; nur die Eisschrankproben und das Blut in der verschlossenen Flasche enthielten noch nach Wochen und Monaten kein — mit dem einfachen Spektroskop — nachweisbares Methämoglobin (Hämiglobin). Der Zeitpunkt des Verschwindens des Oxyhämoglobins ließ sich nicht beurteilen aus Gründen der Unmöglichkeit, die Streifen des Oxyhämoglobins von den beiden des Methämoglobins im Gelb und Rot sicher zu trennen. Beim Betupfen mit Schwefelsäure schließlich leuchteten Blutflecke aller Altersklassen bis zu 3 Jahren im ultravioletten Licht auf, so daß zusammenfassend wenig Nützliches für die Festlegung des Blutalters hinsichtlich des erfaßbaren Hämoglobinabbaues übrig bleibt, es sei denn, die Beurteilung von wenigen Stunden alten Blutspuren steht an.

### II.

Seit rund 20 Jahren verfügen wir dank der Untersuchungen SCHWARZACHERS über die elegante Methode des künstlichen Alterns der Blutspur durch Lichteinwirkung, der die Erkenntnis zugrunde liegt, daß frische Blutflecke im Gegensatz zu alten durch das Einwirken ultravioletter Strahlen in ihrem Aussehen verändert werden. Nach seinen Versuchen an unter verschiedenen Bedingungen gealterten

Tabelle 1. *Ergebnisse der künstlichen Estrahlungen mit vergleichs-*

	Blut gealtert in	I = II = III		
		S	R	E
1	Sonnenlicht . . . . .	20 Std und mehr	11 Std bis ∞	29 Tage bis ∞
2	Tageslicht bei trockenem Wetter	3 Tage bis ∞	86 Std bis ∞	
3	Tageslicht bei feuchtem Wetter		10 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Tage bis ∞	111 bis ∞ Tage
4	Gedämpftem Zimmerlicht . .	2—3 Wochen und mehr	128 bis ∞ Tage	134 bis ∞ Tage
5	Lichtabschluß . . . . .	Jahre		
6	Eisschrank . . . . .			

S SCHWARZACHER; R RABE;

Blutflecken kommt SCHWARZACHER zu dem Ergebnis, daß 1 Std Quarzlampebestrahlung der intensiven Sonnenbestrahlung von 10 Std, dem 10tägigen Einwirken diffusen Tageslichtes oder 10 Wochen gedämpften Lichtes in einem geschlossenen Raume entspricht, und daß bei Kenntnis der Alterungsbedingungen der Flecke unter günstigen Umständen das Alter einer Spur an Hand seiner Tabelle überschläglich ermittelt werden kann. RABE hat die Quarzlampebestrahlungsmethode nachgeprüft. Im großen und ganzen decken sich die Versuchsergebnisse von beiden.

Unsere Untersuchungen wurden im unfiltrierten Licht einer Analysenquarzlampe bei Abstand von 15 cm unter laufender Prüfung der herrschenden Temperatur in SCHWARZACHERS Anordnung vorgenommen (Einzelheiten, auf die der Kürze halber nicht eingegangen werden kann, siehe bei SCHWARZACHER). Die verwendeten Blutfleckserien hatten ein Alter von 1—142 Tagen. Der Unterschied der Farbnuancen kam auf weißem Untergrund am besten zum Ausdruck. Die einzelnen Ergebnisse sind als „eigene Untersuchungen“ (E) in der Tabelle I niedergelegt und denen von SCHWARZACHER und RABE gegenübergestellt. Beim Vergleich, besonders mit den Ergebnissen des letzteren, fallen manchmal nicht beträchtliche Abweichungen in dem Sinne auf, daß künstliche Farbänderungen uns bei jeweils älteren Proben gelangen als dies bei SCHWARZACHER und RABE der Fall war. Diese Abweichung bezieht sich vor allem auf die im Sonnenlicht und bei feuchtem Wetter gealterten Flecken. Hinsichtlich der anderen Lagerungsverhältnisse, und zwar derjenigen im geschlossenen Raum, bestehen keine größeren Unterschiede. Es fällt also die unterschiedliche Beeinflussung in der freien Witterung auf. Während unser Material bei Frühjahrswetter alterte, ist über die jahreszeitlichen Umstände der Experimente der Voruntersucher nichts bekannt. Verschiedenheiten in der Jahreszeit scheinen — begreiflicherweise — für den Alterungsprozeß wohl nicht gleichgültig zu sein. Liest

*weiser Anführung der Werte SCHWARZACHERS UND RABES.*

I ≠ II = III			I ≠ II ≠ III		
S	R	E	S	R	E
10—20 Std	9—11 Std	11—29 Tage	1—20 Std	1—9 Std	
1—2 Tage	37—86 Std		1 Std bis 2 Tage	1 Std bis 37 Std	
	80 Std bis 10½ Tage	43—111 Tage		1—80 Std	
1—2 Wochen	23—128 Tage	29—134 Tage	höchstens 2 Wochen	1—23 Tage	1—29 Tage
Monate		1—141 Tage	Wochen		

E Eigene Ergebnisse.

man aus der Tabelle I die sich ergebenden Extremwerte für die einzelnen Alterungsstufen ab, so zeigt sich, wie weit die Höchst- und Tiefstgrenzen — besonders bei der Kombination I = II = III — voneinander entfernt liegen können (wodurch die Genauigkeit der Methode immerhin eingeschränkt wird) und welche Bedeutung der Kenntnis vom Lagerungsmilieu einer Spur bei Untersuchungen dieser Art zukommt. Der Anwendungsbereich der künstlichen Alterungsmethode erstreckt sich auf ganz frische und — je nach Lagerungsmilieu — mehr oder weniger junge Blutspuren, während höhere Altersstufen wegen der Unveränderlichkeit des Farbbildes nicht erfaßbar sind.

Ultraschallwellen sollen einer Mitteilung von SIBUYA zufolge Blut in dem Sinne verändern, daß die Viscosität erhöht, das ErythrocytENVOLUMEN vermindert und der Katalasegehalt erniedrigt wird, so daß für unsere Zwecke an Veränderungen des Aussehens je nach Alter zu denken war. Nach 15—30minütiger Einwirkung auf Flecke und Beschallung der Flecklösungen von 7 min, die uns durch die dankenswerte Unterstützung von Frau Prof. HAUSER in der physikalischen Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts in Heidelberg möglich wurden, traten keine sichtbaren Farbänderungen an den Flecken und an den Lösungen nur ungeordnete Trübungen auf, die sich durch scharfes Zentrifugieren nicht beseitigen ließen.

### III.

Die älteste Methode der Blutaltersbestimmung geht auf TOMELLINI zurück, der in gewissen Abständen Leinenstoff mit Blut befleckte und die einzelnen Altersstufen farbenmäßig erfaßte. Er hat empfohlen, sich bei derartigen Untersuchungen der von ihm angegebenen Farbenskala vergleichend zu bedienen. Man soll auch — ein zu zeitraubendes Verfahren — nach LECHA-MARZO ein Stück aus der Unterlage des blutbefleckten Materials mit frischem Blut betropfen und warten können, bis der frische Fleck die Farbtonung des fraglichen erreicht hat. In neuerer Zeit ist MINETT der Anschauung ZIEMKES gefolgt, daß sich frische Blutflecke schnell in Wasser lösen, mehrere Wochen alte sich nur in 2%iger Kalilauge und Monate

alte sich nur noch in 33%iger Kalilauge lösen, und hat den Weg gewählt, Löslichkeitsunterschiede in Wasser, Kochsalz und Glycerin herauszuarbeiten. Die Ergebnisse waren praktisch nicht verwertbar. Die Löslichkeit verzögert sich nach SCHWARZACHER nicht proportional zur Zunahme des Alters. Sie nimmt vielmehr zu Beginn des Alterungsprozesses schnell ab, sodaß mit zunehmendem Alter die Löslichkeitsunterschiede immer geringer werden, wobei Löslichkeit und Zeitdauer der Lichteinwirkung in engem Zusammenhang stehen. Die Löslichkeitsfähigkeit soll nach der Weisung von LEERS in Wasser und 2%iger Kalilauge unter dem Mikroskop beobachtet und die Lösung mikrospektroskopiert werden, wobei der Methämoglobinstreifen im Rot für ein Alter von mehreren Tagen spreche. Zweckmäßiger als diese qualitativen sind nach SCHWARZACHER quantitative Lösungsversuche, bei denen nur mit einem Lösungsmittel — am besten destilliertem Wasser — und unter gleichen Ausgangsbedingungen verfahren wird. Die Farbintensität des in einer bestimmten Zeit gelösten Materials soll color- oder refraktrometrisch ermittelt werden.

Zu unseren Löslichkeitsversuchen wurden aus allen zur Verfügung stehenden Proben auf Filtrierpapier mit verschiedenem Alter gleichgroße Stücke — und zwar jedesmal 2 — ausgestanzt, zerkleinert und im serologischen Reagensglas eine Serie mit je 2 cm<sup>3</sup> Wasser, die andere mit 2 cm<sup>3</sup> 2%iger Kalilauge übergossen. In bestimmten Abständen wurde abgelesen, ob und wieviel Blutfarbstoff in Lösung gegangen war. Bei der Bestimmung der Farbintensität lieferte das Pulferich-Photometer ungeordnete und nach Zusammenstellung in einer Tabelle nicht verwertbare Ergebnisse. Für diese Zwecke scheinen empfindliche Methoden zu genau zu sein. Dagegen wurde die Erfahrung gemacht, daß sich bei wenn auch mehr oder weniger subjektiver Ablesung mit bloßem Auge Farbunterschiede herausstellen lassen, die allerdings mit zunehmendem Alter an den wäßrigen Lösungen mehr oder weniger ineinander übergehen, dafür aber in 2%iger Kalilauge deutlich werden. Bei der Frage nach etwaiger Gleichaltrigkeit zweier Spuren lassen sich auf diese Weise Altersdifferenzen von etwa 2 Wochen deutlich voneinander abgrenzen. Aus diesen Lösungsversuchen hat sich hier unter Zuhilfenahme der selbst angelegten Blutspuren eine sehr einfache Methode entwickelt, die wir auch ohne großen Aufwand weiterhin beibehalten: Bei der Gelegenheit von Blutentnahmen (z. B. für Blutgruppenbestimmungen) werden wöchentlich etwa 1mal Blutflecke auf Filtrierpapier angelegt, mit den Daten versehen und unter verschiedenen Bedingungen, also im Freien, im geschlossenen Raum und unter Lichtabschluß aufbewahrt. Gilt es nun, eine eingesandte Blutspur auf ihr Alter hin zu untersuchen, so wird zunächst versucht, sich an Hand der Erhebungen ungefähr zu orientieren, wann die Spur entstanden sein kann und welche Umwelteinflüsse auf sie eingewirkt haben. Der fragliche Fleck wird daraufhin mit verschiedenen alten Testflecken entsprechender Lagerungsart in der beschriebenen Weise aufbereitet und zur Hälfte mit Wasser und 2%iger KOH angesetzt. Nach mehreren Ablesungen in 10minütlichen Abstän-

den läßt sich ziemlich eindeutig durch Farbvergleich der Lösungen unterscheiden, dem Testfleckchen welchen Datums am ähnlichsten sich die fragliche Spur verhält.

Zur Beurteilung der Farbnuancen muß gewartet werden, bis sämtliches Material gelöst ist. Der Vergleich der Farblösung vom leuchtenden Rot bis rötlichen und grünlichen Braun stellt keine besonders empfindliche Methode dar; die Genauigkeit beträgt etwa  $\pm 4$  Wochen. BRANDTNER hat herausgefunden, daß die Lösungsflüssigkeiten — in Ampullen eingeschmolzen und unter Lichtabschluß aufbewahrt — ihre Farbe durch Monate nicht verändern und die Möglichkeit zur schnell durchführbaren überschläglichen Altersbestimmung bieten.

Während mit der künstlichen Alterungsmethode gewöhnlich niedrigere Altersgrenzen erfaßt werden, sind Löslichkeitsuntersuchungen dazu geeignet, auch höhere Altersstufen festzustellen; das gilt besonders für Versuche mit 2%iger Kalilauge als Lösungsmittel. Doch sind auch die Lösungsversuche — wie alle Blutaltersbestimmungen — abhängig von der Voraussetzung, daß über die äußeren Einflüsse beim Alterungsprozeß hinreichend Klarheit besteht.

Die vergleichende Löslichkeitsmethode hat sich hier mehrfach praktisch bewährt: Zweimal handelte es sich um Schweine- bzw. Hühnerdiebstähle; die in unserem Gutachten festgelegten Zeitverhältnisse wurden während der Hauptverhandlung von der Beweisführung bestätigt. In einem weiteren Fall — schwerer Notzucht an einer Minderjährigen — konnten mit Hilfe des Versuchsausfalls die Angaben der Belastungszeugin widerlegt und damit der Beschuldigte von dieser schweren Anschuldigung befreit werden.

Die Methode von SCHWARZ, welche auf der Abnahme der Katalase und Peroxydase im alternden Blutfleck beruht, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt, weil der Gehalt an diesen Fermenten — von individuellen Schwankungen ganz abgesehen — sich schon in Abhängigkeit von alltäglichen Einflüssen wie Temperatur, Höhenlage, Krankheiten, ja Blutgruppenunterschieden beträchtlich verändern kann und deshalb verwertbare Ergebnisse nicht zu erwarten waren.

#### *Zusammenfassung.*

1. Es wurden die gebräuchlichen Methoden zur Blutaltersbestimmung auf ihre Brauchbarkeit und Anwendungsbreite geprüft.

2. Spektroskopische Untersuchungen an Blutflecklösungen eignen sich für die Altersfestlegung nicht, weil Methämoglobin (Hämiglobin) schon nach einigen Stunden entstehen kann und die weiteren Abbauprodukte des Blutfarbstoffs nicht zu lösen sind, ohne weiter verändert zu werden.

3. Künstliche Alterungsversuche nach der Methode von SCHWARZACHER gestatten — unter der Voraussetzung, daß die auf den Blutfleck zur Einwirkung gekommenen Umweltseinflüsse, auch in jahreszeitlicher Beziehung, bekannt geworden sind — eine ziemlich exakte Altersfestlegung an Blutspuren hauptsächlich niedrigen Alters.

4. Ultraschallwellen führen weder an jungen noch alten Blutflecken oder seinen Lösungen zu Veränderungen, die der Altersbestimmung nutzbar gemacht werden können.

5. Lösungsversuche (mit Wasser und 2%iger Kalilauge) setzen gleichfalls die Kenntnis der Umweltfaktoren voraus. Als am brauchbarsten haben sich vergleichende Löslichkeitsuntersuchungen mit solchen Testflecken erwiesen, die man sich — z. B. anlässlich der laufenden Blutentnahmen zu anderen Zwecken — in bestimmten zeitlichen Abständen laufend selbst herstellt und unter den in Betracht kommenden Umweltsbedingungen aufbewahrt. Diese Methode ermöglicht, besonders bei Verwendung von 2%iger Kalilauge als Lösungsmittel, die Erfassung höherer Altersstufen.

#### Literatur.

BRANDTNER, G.: Beitrag zur Altersbestimmung des Blutes. Inaug.-Diss. Heidelberg 1949. — BUHTZ, G.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 570 (1933). — HAMMERL: Vjschr. gerichtl. Med., 3. F. **4**, 44 (1892). — HELLER: Vjschr. gerichtl. Med., 3. F. **51**, 219 (1916). — LECHA-MARZO: Zit. nach LEERS. — LEERS: Die forensische Blutuntersuchung. Berlin: Springer 1910. — MINETT, E. P.: Trans. roy. Soc. trop. Med. Lond. **21**, 409 (1928). Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **12**, 162 (1928). — RABE: Altersbestimmung von Blutflecken. Inaug.-Diss. Würzburg 1940. — SCHUMM: Spektrochemische Analyse. Jena: Gustav Fischer 1927. — SCHWARZ: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **27**, 1 (1937). — SCHWARZACHER, W.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **15**, 119 (1930). — SIBUYA: Tôhoku J. exper. Med. **30**, 181 (1936). — Ref. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **29**, 162 (1938). — TOMELLINI: Zit. nach LEERS. — WALCHER, K.: Gerichtlich-medizinische und kriminalistische Blutuntersuchung. Berlin: Springer 1939. — ZIEMKE, E.: Handbuch der gerichtsarztlichen und polizeiärztlichen Technik. Wiesbaden: J. F. Bergmann 1914. — ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 12, I/1. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1938.

Dr. JOACHIM RAUSCHKE, Assistenzarzt am Institut  
für gerichtliche Medizin der Universität, (17a) Heidelberg, Voßstr. 2.