

Untersuchungen an experimentellen Stromverletzungen mit Elektronenstrahlen

E. BÖHM *

Institut für Gerichtliche und Versicherungsmedizin der Universität München

Eingegangen am 5. Februar 1970

Electronic-Ray Investigation of Electrical Injuries

Summary. Cutaneous injuries produced in human cadavers by 220 volt alternating current were examined using a scanning electron microscope and a microprobe analyzer.

Changes of the skin surface and of the hair, in particular the shape and structure of metallic particles at points of contact following use of various electrodes are described. Significant differences of impulse intensity were noted in these areas. These were attributed to changes in density of the metallic deposits. The distribution of the metallic deposits and their breakdown products originating from the electrodes was determined and correlated. Moreover, it was possible to determine the elements of the alloys and of their protective covers (for example chromium layers on brass) on the skin surface and to correlate these with points of contact of the electrodes. It was thereby possible to show a complex electrical metallization. The latter cannot be carried out with the use of fluorescent X-ray or spectrum analysis.

The results obtained indicate the necessity for the combined use of the scanning electron microscope and the microprobe analyzer in the evaluation of electrical injuries. The development of the instruments and their applicability in forensic trace analysis are discussed.

Key-Words: Stromdurchtrittsstellen—Strommarken, Untersuchung mit Elektronenstrahlen—Stromverletzungen.

Zusammenfassung. Es wird über die Untersuchung von experimentell mit Wechselstrom von 220 V auf Leichenhaut erzeugten Stromverletzungen mit dem Rasterelektronenmikroskop und der Elektronenstrahlmikrosonde berichtet. Mit dem Rasterelektronenmikroskop konnten Oberflächenveränderungen an Haut und Haaren nach Stromeinwirkung analysiert werden, insbesondere die Gestalt der Metallabscheidungen an Stromdurchtrittsstellen bzw. deren Oberflächengliederung aufgezeigt werden. Mit der Elektronenstrahlmikrosonde fanden sich an diesen Stellen deutliche Unterschiede der Impulsraten, die wahrscheinlich auf Dichteunterschiede in der aufgelagerten Metallisationsschicht zurückzuführen sind. Neben der topischen Verteilung des Elektrodenmetalls und dessen Oxydationsprodukten auf der Hautoberfläche und der Zuordnung von Bezirken vermehrter Emission metallspezifischer Röntgenstrahlung zur geometrischen Gliederung, die im rasterelektronenmikroskopischen Bild besonders gut zum Ausdruck kommt, konnten auch Fremdmetallbeimengungen, Legierungen und oberflächenveredelte Metalle (z. B. verchromtes Messing) als Elektrodenmetalle mit der Röntgenmikrosonde auf der Hautoberfläche erfaßt und Stromdurchtrittsstellen zugeordnet werden. Auf diese Weise erscheint der Nachweis einer komplexen elektrischen Metallisation möglich, während die physikalische Metallbestimmung in einem excidierten Hautstück z. B. mittels der Röntgenfluoreszenzanalyse oder Spektralanalyse keine Auskunft über die Herkunft und Oberflächenverteilung des Metalls gibt. Auf die Notwendigkeit der Kombination von Rasterelektronen- und Elektronenstrahlmikrosondenuntersuchung zur Befundung wird hingewiesen, die Frage der Weiterentwicklung der Geräte und ihre Anwendungsmöglichkeiten für Probleme der forensischen Spurenanalyse angesprochen.

* Dem Herausgeberkollegium der Münchner Medizinischen Wochenschrift, der Fa. Cernica — insbesondere Herrn J. Astruc und Herrn J. Ransch —, der Fraunhofer-Gesellschaft — insbesondere Herrn Dr. I. E. Richter — sowie dem Allianz-Zentrum für Technik Ismaning und allen, die zum Gelingen der Untersuchungen beigetragen haben, sei an dieser Stelle mein besonders herzlicher Dank ausgesprochen.

Die konventionelle Epimikroskopie mit gebündeltem Licht bringt bei der Untersuchung von experimentell gesetzten Strommarken auf dünner Leichenhaut nach Meinung des Verfassers bedeutsame Vorteile gegenüber der Untersuchung histologischer Schnittpräparate. So lassen sich schon aufgrund der Anordnung des Leitermetalls auf der Hautoberfläche wertvolle Informationen erhalten. Ein weiterer Informationsgewinn stellt der Farbwert und gegebenenfalls der Nachweis metallischer Reflexionserscheinungen an nichtoxidierten metallischen Oberflächen und die Feststellung verschiedenartiger Oxidationsstufen in charakteristischer Verteilung dar.

So wertvoll diese Befunde sind, besonders im Zusammenhang mit mikrochemischen Metallnachweisen, so zeigen sich doch auch deutliche Schwierigkeiten.

Zum einen ist die Schärfentiefe von epimikroskopischen lichtoptischen Untersuchungsmethoden gering. Von einer Vergrößerung von ca. 100fach ab konnten wir keine befriedigenden Ergebnisse mehr erzielen, so daß insbesondere die nähere Strukturaufklärung der punktförmigen Stromdurchtrittsstellen nicht mehr weiter getrieben werden konnte. Der Gedanke lag nahe, das Verfahren der Rasterelektronenmikroskopie mit dem Vorteil des hohen Auflösungsvermögens bei großer Tiefenschärfe für die Darstellung der geometrischen Oberflächenstruktur der elektrischen Primäreffloreszenzen heranzuziehen. Zum anderen darf nicht vergessen werden, daß bei allen naßchemischen Verfahren durch Diffusionserscheinungen Artefaktbildungen vorkommen können. Sofern mikrochemische Reaktionen im Sinne von naßchemischen Verfahren für die topographische Verteilung der Leitermetalle auf der Hautoberfläche benutzt werden, muß nämlich vielfach eine Überführung des betreffenden Metalls in die ionisierte Form erfolgen, wodurch sich zwangsläufig infolge lokaler Mobilisierung von mehr oder weniger in Flüssigkeit befindlichen Ionen eine Ausbreitung sowohl auf der Hautoberfläche als auch in den eröffneten Gewebslücken und -spalten ergibt. Es ist direkt ersichtlich, daß derartige Verfahren zwar für die Erkennung von Stromverletzungen, besonders solcher, die latent oder uncharakteristisch auf der Hautoberfläche vorliegen, von wesentlicher Bedeutung sind. Pioch führt für praktische Untersuchungen von Strommarken die Ausfällung der Metallionen mittels Sulfidbildung und nachherige Verdeutlichung der Metallspuren im histologischen Gewebsschnitt durch Silberanlagerung durch (Sulfid-Silber-Verfahren nach Timm). Die Bestimmung des Leitermetalls wird (neben der Anwendung spezifischer Metallreagentien in Form histochemischer Reaktionen) spektrographisch vorgeschlagen. (Auch die Anwendung der Röntgenfluoreszenzanalyse ist möglich.)

Bei strengen Anforderungen an die Beweisführung einer Stromeinwirkung und für Probleme der Grundlagenforschung sind physikalische Verfahren zur lokalen Verteilung der abgeschiedenen Leitermetalle zweifelsohne bedeutsam.

Ein besonders wichtiger Gesichtspunkt hierbei ist auch der Nachweis von metallischen Leitern mit industrieller Fremdmetallbeimengung. Es handelt sich dabei teilweise um Verunreinigungen, die sozusagen zufällig in der Metallschmelze vorhanden waren, und um echte Legierungen, bei denen ein bestimmtes Mengenverhältnis der einzelnen Metalle angestrebt und zum Großteil durch DIN-Vorschriften vorgegeben ist. Nicht zuletzt sind Gebrauchsgegenstände teilweise so beschaffen, daß ein Metall oder eine Legierung zur Oberflächenveredelung mit einem anderen Metall überzogen wird — es sei hier an sanitäre Installationen erinnert, bei denen in der Regel Chrom als korrosionsbeständige Oberfläche einen Messingkern, also eine Legierung bedeckt.

Mit naßchemischen Verfahren wären gerade beim Vorliegen verschiedener Metalle selbstverständlich keine zuverlässigen Ergebnisse zu erzielen. Weiter ist zu berücksichtigen, daß beim physikalischen Nachweis eines bestimmten Elementes (Metalls) in einer Hautprobe auch bei Mitführung von Kontrollproben von Haut derselben Person nicht gesichert ist, daß nicht z. B. ein Metall als übliche Hautverunreinigung im Sinne einer zufälligen Metallisation vorhanden ist, während das eigentliche Elektrodenmetall bei Stromfluß ein anderes war und eine Legierung zwischen den beiden Metallen als Elektrodenfläche überhaupt nicht in Betracht kommt. Ziel unserer diesbezüglichen Untersuchungen, für die wir eine Elektronenstrahlmikrosonde benutzten, war auch, herauszufinden, ob die Legierungen entsprechend ihrer Komposition an den punktförmigen Stromdurchtrittsstellen „in Lösung“ gehen und auf der

Haut nachgewiesen werden können, oder ob hier gegebenenfalls besondere Verhältnisse vorliegen.

Beide Verfahren, die Rasterelektronenmikroskopie und die Analyse mit der Mikrosonde, besitzen den Vorteil einer relativ einfachen Probenvorbereitung, die gegebenenfalls für beide Verfahren nur einmal durchgeführt zu werden braucht. Methodisch wurde so vorgegangen, daß mit Elektroden von ca. 2:3 cm Größe auf Leichenhaut (Oberschenkelhaut) durch 2—5sekundigen Stromfluß (220 V Wechselstrom) Strommarken gesetzt wurden. Die durch Flachschnitte entnommenen Hautläppchen wurden auf eine tiefgekühlte Aluminiumfolie mit der „Schichtseite“ nach unten aufgelegt und in der Kleingefriertrocknungsanlage GT 001 der Fa. Leybold-Heraeus bei einer Temperatur von -50° völlig getrocknet. Auch die von Scharpff (zit. nach Romeis) angegebene Hautpräparation ist sehr zu empfehlen. Hierbei wird ein Hartgummiblock mit Nickelnadeln in die Körperhaut im Bereich der Stromverletzung eingedrückt, diese in Blockgröße umschnitten und vom Fettgewebe sorgfältig abpräpariert. Schrumpfungs- und Einrollungserscheinungen können so vermieden werden. Ein Verbringen des Präparates in mit flüssigem Stickstoff gekühltes Isopentan oder Butan ist vor der Gefrier-trocknung zu empfehlen. Die trockenen Stückchen wurden mit Uhu hart oder Leitsilber auf die Probenträger aus Aluminium aufgeklebt, mit etwas Duron zur Verhinderung der elektro-statischen Aufladung besprüht und nach dem Trocknen zuerst mit einer Kohle-, danach mit einer Goldschicht in üblicher Weise im Hochvakuum bedampft und im Rasterelektronen-mikroskop untersucht. Die Untersuchung mit der Röntgenmikrosonde sollte stets *danach* angeschlossen werden, da die Strahlstromstärke im Rasterelektronenmikroskop wesentlich niedriger gehalten werden kann, als dies in der Mikrosonde der Fall ist (ca. Faktor 1000). Probenschädigungen durch mangelhafte Hitzeableitung können unseren Beobachtungen nach in der Mikrosonde vorkommen. Die Probe wäre dann an den mit dem Mikrosondenelektronen-strahl abgerasterten Präparatstellen für eine Weiteruntersuchung im Rasterelektronenmikroskop nicht mehr geeignet und Irrtumsmöglichkeiten bzw. Befundverfälschungen könnten auftreten. Allerdings wäre das thermisch geschädigte Gebiet (abgerastertes Quadrat) wohl leicht zu erkennen. Man muß jedenfalls mit der Möglichkeit einer thermischen Probenschädigung rechnen und in praktischen Fällen ausreichend Material für andere, z.B. histologische Untersuchungsmethoden zurückbehalten, wenn solche Untersuchungen noch anschließend für zweckmäßig und notwendig erachtet werden. In praktischen Fällen empfiehlt es sich, die epimikroskopische lichtoptische Untersuchung und Befunddokumentation vor der Gefrier-trocknung durchzuführen.

Wenn eine Untersuchung der Probe auf Metallisationseffekte durchgeführt werden soll, ist zweifelsohne die Gefrier-trocknung die Präparationsmethode der Wahl, da bei Kontakt mit den üblichen Fixierungsflüssigkeiten Diffusionsartefakte und vor allem eine Ablösung bzw. Auflösung der zu untersuchenden Metallisationen eintritt. Sollen nun aber die unter der Metallisationsschicht liegenden Hautstrukturen untersucht werden, so ist ein Fixierungs-verfahren erforderlich, das die optimale Erhaltung der Hautoberflächenstrukturen gewähr-leistet. Wir benutzten Glutaraldehyd, das mit Phosphatpuffer auf ein pH von 7,2 eingestellt ist. Die Lösung wird (entsprechend einer persönlichen Mitteilung von Frost) folgendermaßen angesetzt: 72,6 ml einer $\frac{1}{15}$ M Natriumdihydrogenphosphat-Lösung (Merck) werden mit $\frac{1}{15}$ M Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung (Merck) ad 100 ml aufgefüllt und danach 16 ml Glutaraldehydlösung (Schuchardt) hinzugefügt. Die Proben werden nach Entnahme in diese Lösung für 5—10 Std (je nach Dicke) eingelegt und dann nach Waschen in Sucroslösung über die Alkoholreihe langsam entwässert, der absolute Alkohol bei geringem Vakuum abgedampft. Schwierig ist die Ablösung der Kohle-Gold-Schicht, wenn die Probe nach der Untersuchung der Metallisation mit dem Rasterelektronenmikroskop noch auf die Struktur der unterliegenden Haut an der Beobachtungsstelle nachuntersucht werden soll. Dieses Problem konnten wir noch nicht befriedigend lösen. Dagegen ist die vollständige chemische Ablösung der elektrischen Metallisationsschicht nach Anwendung flüssiger Fixantien, z.B. durch verdünnte Salzsäure oder Salmiakgeist, leicht durchführbar.

Eine weitere Besonderheit ist mit dem Aufsuchen einer bestimmten Objektstelle, besonders in der Mikrosonde verbunden. Zwar besitzen die Sonden in der Regel ein zusätzliches optisches System (Spiegelsystem), mit dem die Probenoberfläche im Auflicht betrachtet werden kann. Trotzdem empfiehlt sich eine Markierung der interessierenden Stelle, z.B. mit

einem hinführenden Leitsilberstrich oder eine Einrandung mit einem Lochseisen durch leichten Aufdruck vor der Bedampfung, sowie die Wahl kleiner, mit einer Lochzange, Stanze oder scharfem Skalpell ausgeschnittener Präparatstellen, da man sonst gegebenenfalls stundenlang suchen muß, bis man die erwünschte Objektstelle findet.

Man kann mit der Elektronenstrahlmikrosonde auch histologische Schnittpräparate untersuchen. Hierzu ist entweder eine Sulfidfällung der Metallisationen (Fixierung der Probe in H_2S -Alkohol) oder eine Gefriersubstitution (Paraffineinbettung oder für Dünn- und Ultradünnschnitte Kunstharzeinbettung im Vakuum, z.B. in der Gefriertrocknungsanlage von Leybold) zur Vermeidung von Diffusionserscheinungen erforderlich (Einzelheiten bei Boyde, Cosslett und Reimer).

Funktionsprinzip des Rasterelektronenmikroskops

Die Untersuchungen wurden mit einem Rasterelektronenmikroskop der Fa. Cambridge Instruments vom Typ Stereoscan Mark II und Mark IIa durchgeführt. Anhand des Funktionsschemas (Abb. 1) sei die Wirkungsweise näher beschrieben. Aus der Kathode tritt ein Elektronenstrahl aus, der von 3 elektromagnetischen Linsen (Kondensor 1, Kondensor 2 und Objektiv in der Schemazeichnung) auf einen Fleck von etwa 100 \AA gebündelt wird. Mittels der Ablenkspulen wird der Strahl elektronisch in rascher Folge rasterförmig über einen quadratischen Flächenabschnitt des Objekts geführt. Die aus der Probe austretenden sekundären Elektronen werden von dem Elektronenempfänger beschleunigt und gelangen auf einen Szintillationskristall, der sie in Lichtblitze umwandelt. Über einen Photomultiplier (= Signalverstärker) werden die Lichtsignale verstärkt und in Spannungsimpulse umgewandelt. Letztere steuern die Helligkeit des Strahls einer Kathodenstrahlröhre. Rasterförmige Probenabtastung mit dem Elektronenstrahl und Raster der Kathodenstrahlröhre (Bildaufzeichnung) werden von einem Rastergenerator synchronisiert. Das auf diese Weise erzeugte Schirmbild entspricht Punkt für Punkt und Zeile für Zeile den von der Probenoberfläche ausgesandten Elektronen. Durch Veränderung des abgerasterten Objektschnittes kann die Vergrößerung variiert werden. Bei der schwächsten Vergrößerung (20:1) beträgt die abgerasterte Objektfläche 25 mm^2 . Maximal erzielbare Vergrößerung: 200000:1. Höchste bei den vorliegenden Untersuchungen durchgeführte Vergrößerung: 20000:1.

Funktionsprinzip der Elektronenstrahl-Mikrosonde

Auch in der Mikrosonde wird ein von einer Kathode ausgehender Elektronenstrahl gebündelt auf die zu untersuchende Probenoberfläche fokussiert (Abb. 2 wie beim Rasterelektronenmikroskop). Der „Brennfleck“ ist hier jedoch wesentlich größer ($< 1 \text{ \mu m}$) und die Stromstärke des Elektronenstrahls muß auch höher gehalten werden (bei unseren Untersuchungen 10–50 nA). Mit geeigneten Detektoren können auch die rückgestreuten bzw. Sekundärelektronen aufgenommen werden und durch Anwendung eines Detektorenpaares wertvolle Informationen über Oberflächengeometrie und Materialverteilung in der abgerasterten Oberfläche erhalten werden. Die hier jedoch im Vordergrund des Interesses stehende Strahlungsart ist die von der jeweiligen angeregten Probenoberfläche ausgehende Röntgenstrahlung. Die Probe ist hier also sozusagen in dem jeweils *angeregten* ca. $2\text{--}3 \text{ \mu m}^3$ (angeregter Bezirk größer als Brennfleck!) großem Bezirk Antikathode einer Röntgenröhre. Die ausgesandte Röntgenstrahlung besteht aus dem unspezifischen Anteil (Röntgenbremskontinuum) und der charakteristischen, mit diskreten Wellenlängen in Erscheinung tretenden Strahlung (Linienpektrum). Zum qualitativen Elementnachweis muß nun aus dem von der Probe ausgesandten Gemisch an Röntgenstrahlung der jeweils für das Element spezifische Anteil „entnommen“ werden, d.h., es dürfen nur die spezifischen Wellenlängenanteile allein einer Messung zugänglich gemacht werden. Zu diesem Zweck werden Röntgenspektrometer eingesetzt, mit denen die Röntgenstrahlen spektral zerlegt werden. Die physikalische Funktionsgrundlage dieser Geräte besteht darin, daß beim Auftreffen von Röntgenstrahlen auf eine Kristalloberfläche nur die dem Reflexionsgesetz nach Bragg genügenden Wellenlängen reflektiert werden. Dieses Gesetz lautet $n \cdot \lambda = 2d \cdot \sin \theta$, wobei n die Ordnung des Spektrums, λ die Wellenlänge der Strahlung in Å , d den Abstand zweier benachbarter Netzebenen des zur Beugung verwendeten Kristalls in Å , θ den Winkel zwischen dem auftreffenden Röntgen-

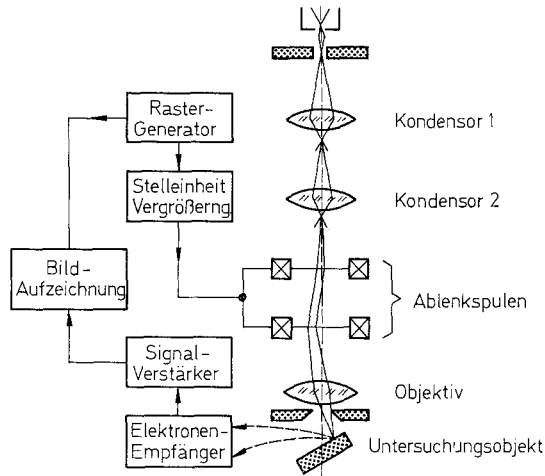


Abb. 1. Funktionsschema des Rasterelektronenmikroskops. Kondensator 1 und 2 sowie Objektiv bestehen aus elektromagnetischen Linsen

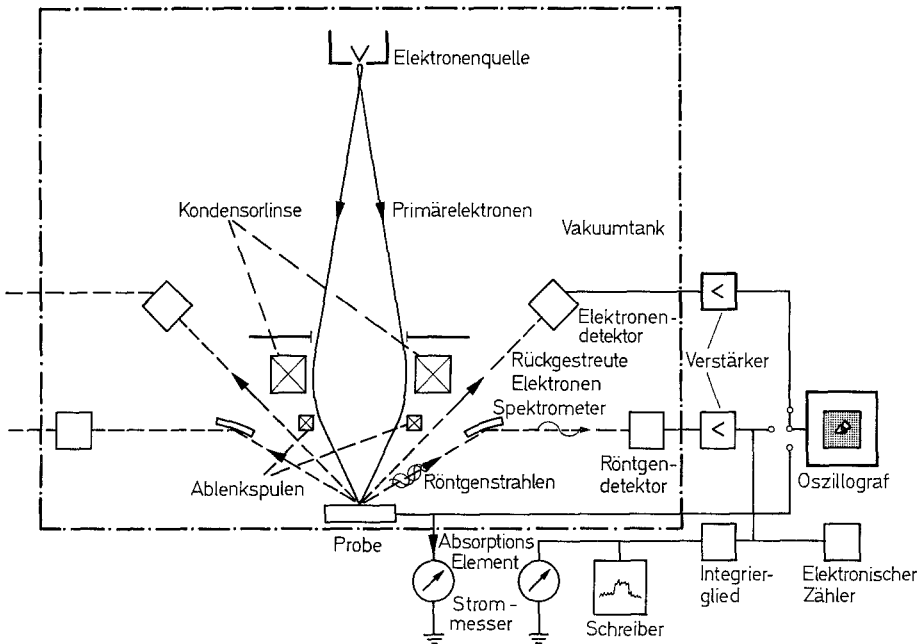


Abb. 2. Funktionsprinzip der Elektronenstrahlmikrosonde

strahl und der reflektierenden Netzebene bedeutet (zit. nach Malissa). Die Trennung der einzelnen Wellenlängen wird also durch die Winkeleinstellung des „Analysator“-Kristalls erzielt (Drehkristallmethode nach Bragg). Auf nähere Einzelheiten sei hier jedoch nicht eingegangen, lediglich noch vermerkt, daß verschiedene Röntgenspektrallinien ($K\alpha_1$, $L\alpha_1$ etc.) bei leichten Elementen, z. B. meist die $K\alpha_1$, bei schweren die $L\alpha_1$ -Linie bevorzugt werden und entsprechend den unterschiedlichen Wellenlängen auch unterschiedliche Kristalle Anwendung

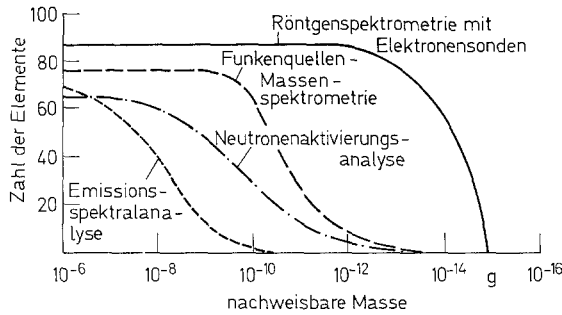


Abb. 3. Nachweisgrenze und Anzahl der nachweisbaren Elemente bei einigen mikroanalytischen Methoden

finden. Mit der Mikrosonde können alle Elemente im Periodischen System mit einer Ordnungszahl größer als 4 (Beryllium) nachgewiesen werden. Mit der von uns benutzten Mikrosonde der Fa. Cameca MS 46 DLC können bis zu 4 Elemente gleichzeitig analysiert werden, wobei man bis zu 8 Analysatorkristalle zur Auswahl hat (gewöhnlich benutzte: LiF, Quarz [4 verschiedene], PET, KAP, LSD). Die vom Kristall reflektierte spezifische Strahlung muß nun noch gemessen werden bzw. in elektrische Impulse umgewandelt werden. Dies erfolgt mittels einer gasgefüllten Kammer (Zählrohr), die zur Meßseite hin (wo die Spannung einfällt) durch ein Fenster (Mylar, Beryllium u.a.) verschlossen ist. Dabei macht man sich die ionisierende Wirkung der Röntgenstrahlung zunutze (Prinzip des Geigerzählers). Die vom Zählrohr gelieferten Impulse können mit Hilfe einer entsprechenden Elektronik entweder digital oder analog erfaßt oder entsprechend der abgerasterten Fläche auf dem Oszillographenschirm als Lichtpunkte ausgewertet werden. Alle weiteren elektronischen Auswertungsmöglichkeiten sollen hier nicht weiter erörtert werden. Die zu Anfang erwähnten Möglichkeiten der Aufzeichnung eines Bildes der rückgestreuten Elektronen lassen eine Aussagemöglichkeit über die Oberflächengeometrie der Probe zu. Auch die absorbierten Elektronen je abgerasterte Fläche lassen sich im Bild erfassen, und zwar durch Aufzeichnung des „Probenstromes“.

Die Mikrosonde als Analysegerät wurde ursprünglich konzipiert für die Untersuchung planer Oberflächen. Die von uns untersuchten Proben zeigen dagegen eine raue Oberflächenstruktur, wie man auf den rasterelektronenmikroskopischen Bildaufzeichnungen erkennt. Für streng quantitative Messungen ergeben sich nun durch Absorption der zunächst in der Materialprobe erzeugten Röntgenstrahlen Ungenauigkeiten, allerdings als „spezifischer Materialeffekt“ gerade eben unserer Proben. Ein weiteres Problem ist die Homogenität der Probenzusammensetzung. Hierüber läßt sich derzeit nur sagen, daß eine Homogenität sicher nicht gewährleistet ist. Auch die Schichtdicke des aufgelagerten Metalls spielt naturgemäß eine große Rolle, wenn man quantitative Vergleiche zu Probenstandards herstellen will, da bei einer Eindringtiefe des Elektronenstrahls in die Probe von ca. 2–5 μm (abhängig vom Probenmaterial und der Elektronenstrahl-Beschleunigungsspannung) eben diese oberflächenschicht untersucht wird. Man wird in etwa den gleichen Effekt hinsichtlich der Menge der emittierten Röntgenquanta pro Flächeneinheit erwarten dürfen, wenn einerseits die Schichtdicke der Metallauflagerung geringer als die Eindringtiefe des Elektronenstrahls ist oder andererseits die Metallisationsschicht dicker als die Eindringtiefe des Elektronenstrahls ist, aber die Metaldichte pro Rauminhalt niedriger ist. Bei hohen lokalen Elementkonzentrationen (und Metallen hoher Ordnungszahl) führt eine Querdiffusion der Elektronen in den oberflächenschichten der Probe zu einer Verschlechterung des Auflösungsvermögens.

Ein gewisser Ausgleich der Oberflächenrauigkeit und der dadurch bedingten Absorption von Röntgenstrahlung durch die Probe selbst kann dadurch erfolgen, daß man mit 2 gegenüberliegenden („stereoskopisch“ angeordneten) Spektrometern nacheinander oder gleichzeitig mißt bzw. aufzeichnet. Die unterschiedliche Empfindlichkeit der beiden Meßsysteme (ver-

schieden empfindliche Detektoren) kann bei der Cameca-Sonde mit Hilfe serienmäßig eingebauter Messerblenden ausgeglichen werden.

Es sei aber die Frage angesprochen, ob es für die hier interessierende Fragestellung überhaupt von wesentlicher Bedeutung ist, wie die gemessenen Dichtenunterschiede zustande gekommen sind. Andererseits steht uns in der Mikroradiographie der Probe eine Methode zur Verfügung, mit der weitere Informationen über Metaldichte und Verteilung in der Probe dargestellt werden können. Hierzu ist eine Entwässerung und Fettextraktion der Probe empfehlenswert. Aufnahmematerial: Spezialfilm zur Mikroradiographie, evtl. Graphik-Film. Eine für die Grundlagenforschung vorgesehene weitere Überprüfung und Ergänzung der mit den dargestellten Methoden erhaltenen Informationen ist durch die Anwendung der sog. Ionenprobe (Sekundär-Ionen-Mikroanalysator Cameca-Sima) vorgesehen.

Besprechung der erhobenen Befunde

Von den Metallen wurden hier Zink, Eisen und Kupfer untersucht. Die Auswahl der Stromdurchtrittsstellen erfolgte dahingehend, daß möglichst gering geschädigte Hautbezirke ausgesucht wurden. Im Rasterelektronenmikroskop zeigte sich bei Zink als Elektrodenmetall eine kelchförmige Auftreibung der Hautoberfläche mit ziemlich abruptem Abbruch der aufgewölbten Epidermis (Abb. 4). In der so entstandenen, durch die ausgefransten Epidermisränder begrenzten Mulde finden sich auf dem Grund korallenstockartige, fladenförmig zusammengelagerte Veränderungen. Diese manchmal wärzchenförmigen Einzelherdchen zeigen bei starker Vergrößerung ($5000\times$) einen Aufbau aus einem sehr feinkörnigen Material. Bei Kupfer als Elektrodenmetall (Abb. 5) finden sich in den Anfangsstadien über das Hautniveau vorgebuckelte halbkugelige Effloreszenzen, deren Oberfläche angedeutete baumrinden- bis blumenkohlartige, loch- bis furchenartig zerklüftete Struktur erkennen läßt. Wurstförmige, oft gewundene und geschlängelte, stellenweise septiert erscheinende oder wie von Löchern durchsetzte Formationen einer bei niedriger Vergrößerung ziemlich homogen erscheinenden Masse zeigen bei 10000facher Vergrößerung eine weitere deutliche noppenartige, ebenfalls durch zahlreiche Vorwölbungen (ähnlich wie bei Kupfer) gekennzeichnete Gliederung der Oberfläche. In beiden Fällen finden sich zumindest seitens der Oberfläche ungleichförmige Materialabscheidungen, die den Schluß nahelegen, innerhalb der Einzeldurchbruchstellen lägen umschriebene Metallanhäufungen vor.

Die Untersuchungen mit der Elektronenstrahlmikrosonde (Abb. 6 und 7) zeigen im Bild der absorbierten Elektronen eigenartig wabige Strukturen. Das Bild (Abb. 6) ist allerdings etwas undeutlich und besitzt wenig Aussagekraft. Im Röntgenstrukturbild über die flächenhafte Metallverteilung (Abb. 7) scheint ebenfalls keine gleichmäßige Metallansammlung über die rundliche Stromdurchtrittsstelle vorzuliegen, vielmehr sind eindeutig Ballungszentren auszumachen, die allerdings meist konfluierenden Charakter besitzen. Auch wenn man berücksichtigt, daß durch die Oberflächengliederung der Probe Ungenauigkeiten im Sinne einer quantitativen Auswertung der Ergebnisse vorhanden sind, Ungenauigkeiten, die durch gleichzeitige Aufnahme der ausgesandten spezifischen Röntgenstrahlung über zwei Spektrometer, wie bereits beschrieben, zum Großteil ausgeglichen werden konnten, wird man doch sagen können, daß innerhalb der elektrischen Primäreffloreszenz die hier am Beispiel des Zinks demonstriert wurde, Unterschiede in der Metallkonzentration vorliegen. Für die Beurteilung

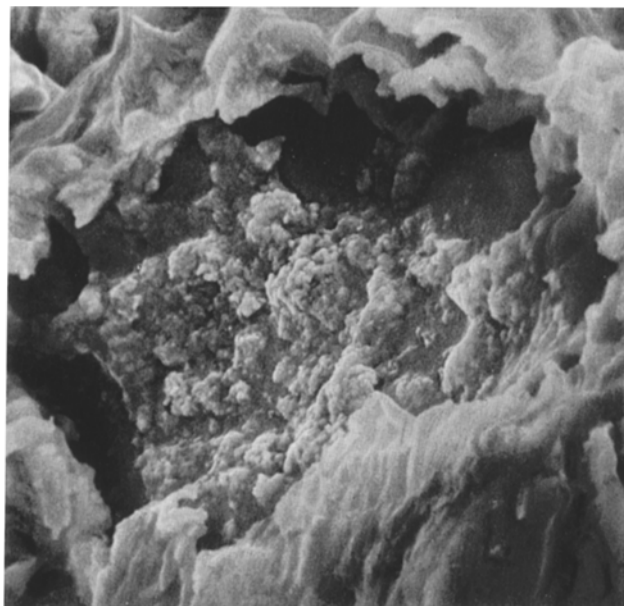


Abb. 4. Massives Zink als Leitermetall: Völliger Abbruch der kelchförmig aufgewulsteten Epidermis am Rand der Metallabscheidung. Metallisation stufenförmig abgesenkt, aus häufchenförmigen, zu einem Fladen zusammengelagerten Formationen bestehend. Bei hohen Vergrößerungen feinkörnige Struktur innerhalb einer homogen erscheinenden Masse

der Mikrosonden-Röntgenbilder erscheint auch noch die wertvolle Beobachtung von Pioch über Metallisationserscheinungen in der Epidermis von Bedeutung. Die Eindringtiefe des Elektronenstrahls in organisches Material ist naturgemäß tiefer, als in den metallischen Oberflächenschichten. Es ist damit zu rechnen, daß die tiefer in der Epidermis gelegenen Metallisationen von dem Elektronenstrahl noch miterfaßt und zur Emission von Röntgenstrahlung angeregt werden können, sodaß also tatsächlich durch den Elektronenstrahl ein größerer Bereich angeregt wird und im Röntgenbild also kein reiner Oberflächeneffekt vorliegen würde.

Abb. 8 zeigt im Gegensatz zu Abb. 6 und 7 eine Mikrosondenaufnahme (absorbierte Elektronen) im Elektrodenrandgebiet nach längerem Stromfluß. Man erkennt hier eine mehr bandförmige Verteilung, die in Abb. 9 (Röntgenbild) besonders deutlich wird. Auch in Abb. 9 finden sich wieder Ballungszentren innerhalb der bandförmigen Metallabscheidung, wie in Abb. 7 beschrieben.

Abb. 10 zeigt ein Bild der rückgestreuten Elektronen von einer Strommarke mit Eisen als Kontaktmetall. In der rechten unteren und in der linken oberen Bildhälfte finden sich rundliche bis ovale hellere Stellen, entsprechend Metallauflagerungen, die Elektronen sekundär aussenden. Die in Licht umgewandelten Elektronen sind nun auf dem Bildschirm als Materialeffekt der Probenoberfläche erkennbar.

Mit den weiteren Analysen wurde versucht, die Bedeutung der Oberflächengeometrie (Probenrauigkeit) für die Aufzeichnung der Röntgenbilder zu

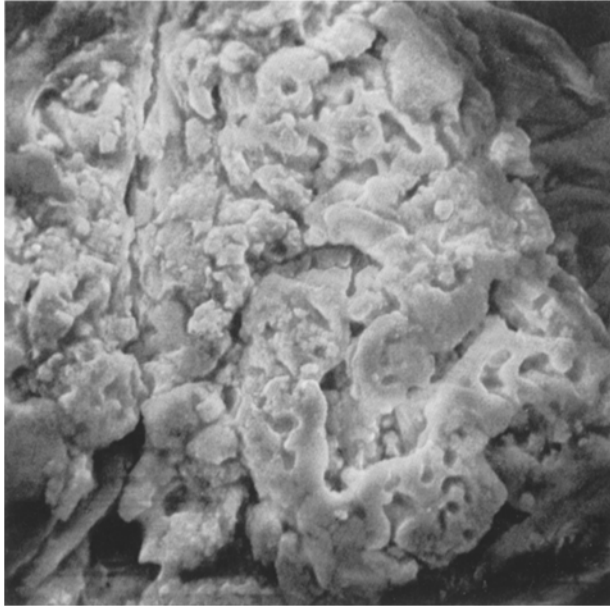


Abb. 5. Kupfer als Leitermetall (Elektrode): Halbkugelige Aufwölbung der Metallisationszone wie bei einer Blase. Labyrinthartige Furchung des Oberflächenreliefs, blumenkohllartige Strukturanteile. Bei starker Vergrößerung knopfartiges Vorspringen kugelartiger Gebilde auch an hier glatt erscheinenden Stellen

ermitteln. Zunächst wurde ein Reinst Eisenstandard (Probenstandards der Reinstmetalle sind jeder Mikrosonde beigelegt, polierte Probenoberfläche) mit einem Spektrometersystem für kurze Zeit ausgemessen und die Impulsrate pro Zeiteinheit bestimmt. Nun wurde mit dem zweiten, gegenüberliegenden justierten System ein Probelauf innerhalb der gleichen Zeitspanne angestellt. Danach wurde solange mit der gleichen Laufzeit die Blendeneinstellung korrigiert, bis die Impulsrate pro Zeiteinheit seitengleich war. Die eigentliche Abrasterung der Probenoberfläche erfolgte nun auf eine vorgegebene Impulsrate von 100000 pro Bild (aus soviel Einzelhelligkeitspunkten setzt sich also ein derartiges „Röntgenbild“ zusammen). Wurde nur mit dem rechten oder nur dem linken Spektrometer registriert, so betrug die Laufzeit jeweils 200 sec. Wurden beide Spektrometer zusammen auf das gleiche Zählwerk geschaltet, entsprechend die Hälfte, also 100 sec. Gemäß den Erwartungen zeigt die exakte Auswertung der einzelnen Bilder bzw. der Bildvergleich Unterschiede, was sich am besten in den mittleren, von weniger Bildpunkten besetzten Partien der rundlichen Gebilde sowie auch in den Randstrukturen zeigt. Insgesamt gesehen erscheinen uns die Unterschiede jedoch nicht sehr bedeutsam und die Anfertigung von Aufzeichnungen mit zwei Spektrometern nicht wesentlich aufschlußreicher.

Eine weitere Besonderheit möchten wir nicht unerwähnt lassen. Wie aus den Röntgenrasterbildern mit verschiedenen Spektrometern hervorgeht, zeigen die Metallisationen keine stärkeren Abweichungen. Diese Messungen wurden bei einer

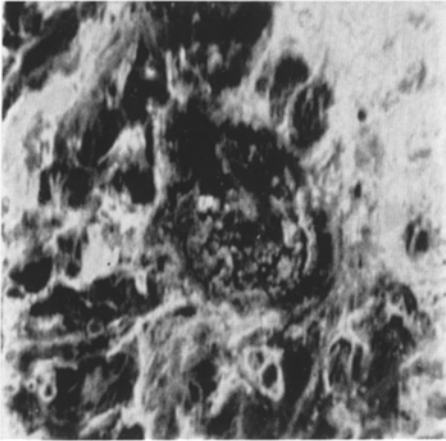


Abb. 6

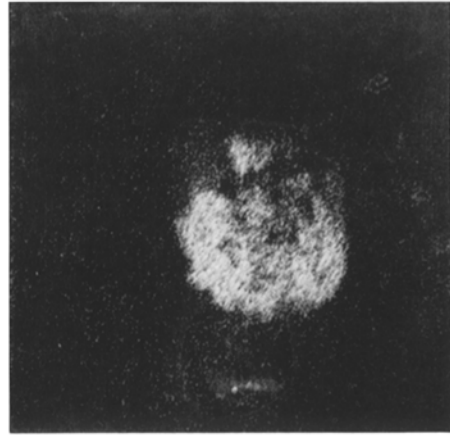


Abb. 7

Abb. 6. Aufnahme der Metallverteilung mit der Elektronenstrahlmikrosonde: Bild der absorbierten Elektronen. Elektrodenmetall: Zink, Stromdurchtrittsstelle wie bei den übrigen Aufnahmen. Vergr. 250fach

Abb. 7. Stromdurchtrittsstelle. Aufnahme mit der Röntgenmikrosonde: Charakteristische Röntgenstrahlung, Rasterbild. Punktdichte entspricht der Elementverteilung. Elektrode Zink. Vergr. 250 \times . (Zn $K\alpha_1$ -Strahlung Anregungsspannung 20 kV)

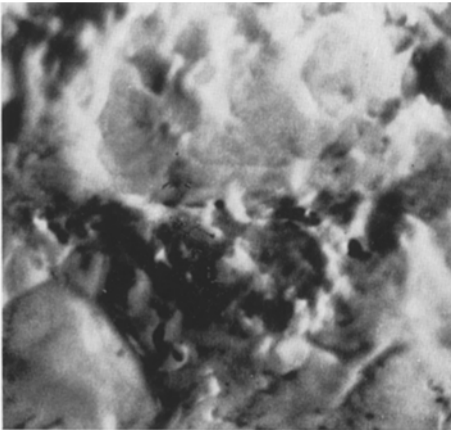


Abb. 8

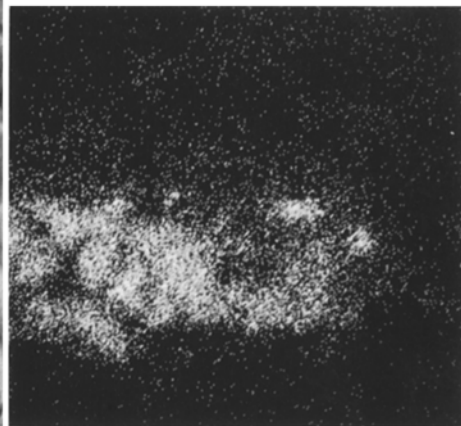


Abb. 9

Abb. 8. Elektrodenrandgebiet. Absorbierte Elektronen. Elektrodenmetall: Kupfer. Vergr. 300 \times . Stromdurchtrittsstelle, möglicherweise Funkenbildung

Abb. 9. Stromdurchtrittsstelle. Aufnahme mit der Röntgenmikrosonde wie Abb. 13 (gleiche Stelle), charakteristische Kupfer-Röntgen-Strahlung. Bildpunktdichte wie bei Abb. 12, entsprechend der Elementverteilung hier von Kupfer (Cu $K\alpha_1$ -Strahlung)

Beschleunigungsspannung der Elektronen von 30 kV durchgeführt. Bei diesen Spannungen erfolgt die Elektronenverteilung in einer organischen Probe mehr birnenförmig (größte Breite in der Gewebstiefe), während die Ausbreitung in den

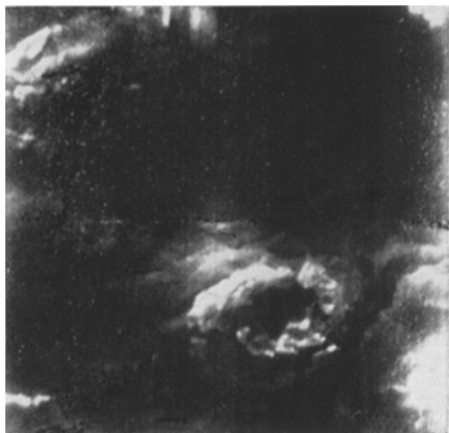


Abb. 10

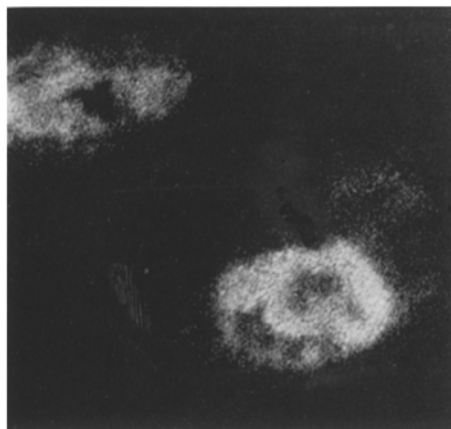


Abb. 11

Abb. 10. Bild der rückgestreuten (bzw. sekundären) Elektronen. Elektrodenmetall Eisen (technisch). Vergr. ca. 350×

Abb. 11. Spezifische Eisen- $K\alpha_1$ -Röntgenstrahlung. Rechtes Spektrometersystem der Elektronenstrahlmikrosonde. Analysatorkristall PET. Gesamtimpulszahl wie in den übrigen „Röntgenbildern“: 100000. Analysezeit 200 sec. Anregungsspannung wie übrige: 30 kV

oberflächennahen Bezirken nur gering vom Elektronenstrahldurchmesser abweicht. Bei niedrigeren Anregungsspannungen dagegen, die also nicht zu empfehlen sind, außerdem bei den schweren Elementen (z. B. U) verbreitert sich der Strahl schon nach wenigen Å Eindringtiefe, sodaß die Flächenauflösung geringer wird.

Ein kleiner Nachtrag erscheint noch hinsichtlich anderer Bedingungen, die zu einer Verfälschung der Meßergebnisse führen können, nötig. Zum einen sei hier auf die Röntgenfluoreszenz verwiesen, die durch sekundäre Anregung von der erzeugten Röntgenstrahlung hervorgerufen werden kann.

Ein Vorteil der von uns benutzten Mikrosonde besteht darin, daß die Ab-rasterung der Probe durch ein mechanisches Rastersystem erfolgt, wobei die Probe unter dem Elektronenstrahl und nicht der Strahl über der stationären Probe bewegt wird. Dadurch ist gerade in dem niederen Vergrößerungsbereich, der uns interessiert, eine wesentlich größere Meßgenauigkeit gegeben, da die jeweils vom Elektronenstrahl angeregte Probenstelle immer im Focus des Röntgenspektrometers liegt, wodurch z. B. die Impulsrate bei einer homogenen Probe über die ganze abgerasterte Fläche gerade bei dieser Elektronenstrahl-mikrosonde völlig gleich bleibt. Allgemein sollte noch betont werden, daß die Erfassungsgrenzen von Elementen mit der Mikrosonde größenordnungsmäßig bei 10^{-14} g liegen, also um mehrere Zehnerpotenzen über der vergleichbarer Analysenmethoden, die in der forensischen Spurenuntersuchung Anwendung finden. Einen Vergleich mehrerer mikroanalytischer Methoden hinsichtlich der Nachweisgrenze bringt Abb. 3.

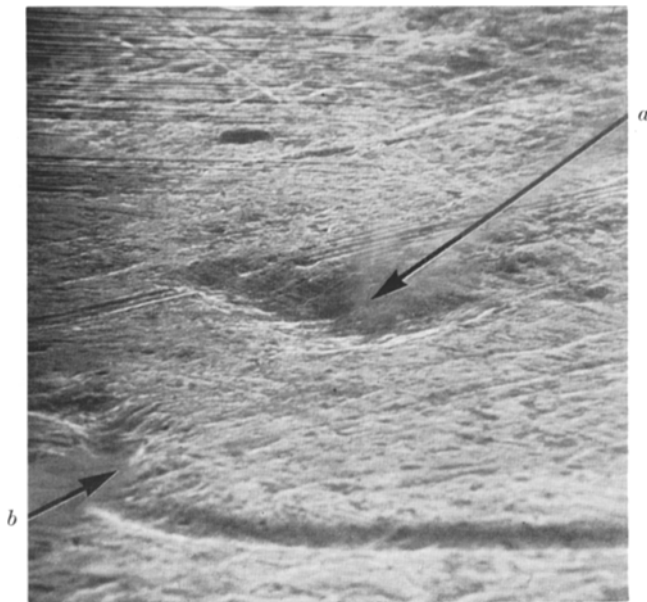
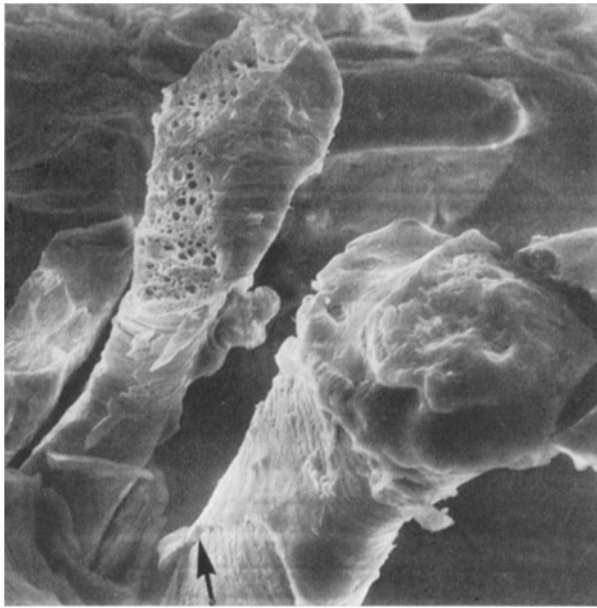


Abb. 12. Metalloberfläche Kupfer nach Stromfluß. Oxydationsprodukte chemisch abgelöst, bei *a* rundliche bis ovale Ausfressung der Metalloberfläche, Abbruch der oberflächlichen Schmirgelspur mit Ausfressung der Abbruchstelle. Bei *b* s-förmige Struktur, bedingt durch ein Haar, muldenförmige Vertiefung über längere Wegstrecke (Enden außerhalb des Bildes)

Kehren wir zurück zu den Untersuchungsmöglichkeiten mit dem Raster-elektronenmikroskop. Abb. 12 zeigt die Oberfläche einer abgeschmirgelten Kupfer-elektrode. Neben einer muldenförmigen Vertiefung, die nach Ablösung der metallischen Oxydationsprodukte sichtbar wird und einer Stromdurchtrittsstelle durch die Haut entspricht, findet sich eine weitere, s-förmige Spur im unteren Bildteil, die wir auf die Wirkung eines Körperhaares zurückführen. Abb. 13 zeigt derartige Haare, die am plump aufgetriebenen Ende sogar Abschmelzungs-erscheinungen zeigen. Diese Haarbefunde treten aber erst nach längerer bzw. intensiverer Stromeinwirkung auf. In Abb. 13 und 14 finden sich jeweils bei *a*) eigenartige, ziemlich glatte Auflagerungen auf der Cuticula. Möglicherweise handelt es sich hierbei um metallhaltige Deckschichten. Neben der ziemlich grobwabigen Struktur des kolbenartig aufgetriebenen Haarendes der Abb. 14 (linke Bildhälfte) zeigt der Haarstumpf der unteren mittleren Bildhälfte (2 Pfeile) eine feinwabige Oberflächengliederung unter Verlust der Cuticula-Struktur. Neben diesen feinen Waben kommen auch gröbere vor, wobei die am linken Haarrand gelegenen sich innerhalb einer nabelförmigen Oberflächenerhebung befinden (*b*). Bei 14a) findet sich außerdem eine weitere auffällige Oberflächen-aufwölbung, die bei höherer Vergrößerung als teilweise bläschenförmige bis kugelartige, in einer basalen Masse eingebettete Formation erscheint (Abb. 14 und 15). Die Kugeloberfläche ist völlig glatt, die anschließenden flacheren, zur



a

Abb. 13. Kolbig aufgetriebene bis plump verdickte Haarenden, teilweise schmelzflußartig glasige Oberflächenbeschaffenheit, teilweise wabige Struktur (links, keulenartige Formation). Eigenartige Bruchfiguren — wie gesplittert erscheinend am Haarschaft. Vergr.: 525×. Bei *a* Abbruch einer flächenhaften, der Cuticula aufgelagerten, oberflächlich glatten Schicht

linken oberen Bildecke hin gelegenen, mehr fladenförmigen Auftreibungen weisen dagegen eine feinkörnige Struktur auf. Wie besonders in Abb. 15 deutlich wird, sind die Haarschuppen zu der Bläschengruppe hin zunehmend an den Rändern eingeebnet, von einem feintropfigen, zu Krusten zusammengefügtten Belag bedeckt, wobei teilweise feinste perlschnurartige, manchmal girlandenförmige Gruppierungen vorkommen. Es war uns leider bisher nicht möglich festzustellen, ob die an den Haaren beschriebenen Auflagerungen metallischer Natur sind.

Wir konnten mittels Rasterelektronenmikroskopie und Elektronenstrahlmikrosonde bisher eine außerordentliche Fülle von Befunden an elektrischen Verletzungen erheben und halten diese Methoden für wertvoll zur Untersuchung von Stromverletzungen. Wir sind uns jedoch bewußt, daß auch diese Methoden nur im Zusammenhang mit lichtmikroskopischer Auswahl, Präparation und Vorbefundung sinnvolle Anwendung finden können.

Es sei an dieser Stelle nochmals betont, daß die mitgeteilten Befunde hinsichtlich der Metallisation nur die Initialstadien von Stromverletzungen bei mittelgroßen Elektroden umfassen. Die Entwicklung einer Strommarke in Abhängigkeit von Stromfließzeit, Elektrodengröße, Kontaktbedingungen und anderen Faktoren, die Morphologie und Metallisation einer Strommarke wesentlich bestimmen, konnten hier nicht weiter behandelt werden.



Abb. 14. Mehrere elektrisch geschädigte Haare. Bei *a* kugelförmige Formation (s. auch Abb. 10 und 11), bei *c* kelchförmige Abschmelzung mit glasflußähnlichen Oberflächen, bei *b* Oberflächenstruktur des Haares fein- bis grobkörnig, durchsiebt mit 2 größeren mulden- bis halbkugelförmigen konkaven Kratern mit charakteristischer Struktur bei Erhaltung der Grundform des Haares

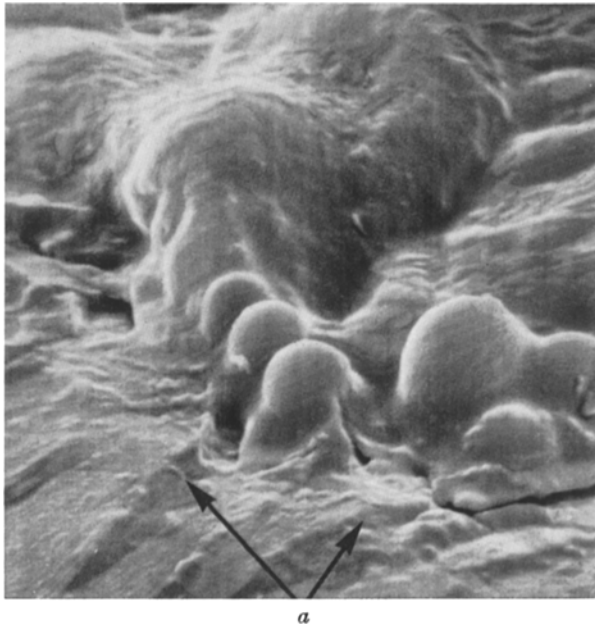


Abb. 15. Detail aus Abb. 14, *a*. Neben den glatten kugelförmigen Auswüchsen feintropfiger Oberflächenbelag sowie Abschmelzung der cuticularen Schuppenränder erkennbar (*a*). Vergr. 5500×

Schlußbemerkungen

Aufgrund unserer umfangreichen Untersuchungen, von denen hier nur ein kleiner Ausschnitt vorgelegt wurde, erscheint die Anwendung von Rasterelektronenmikroskop und Elektronenstrahlmikrosonde für die Befunderhebung an Stromverletzungen der menschlichen Haut ausgesprochen gut geeignet. Mit dem Rasterelektronenmikroskop konnten feinste Veränderungen im Oberflächenrelief von Haut und Haaren und die Oberflächengeometrie abgeschiedener Metallisationen erfaßt werden, auch die Beziehungen von Metallisationsorten und darunter gelegenen Hautveränderungen herausgearbeitet werden. Mit der Elektronenstrahlmikrosonde war der spezifische Nachweis eines Leitermetalls an Stromdurchtrittsstellen, auch die Verteilung von mehreren Legierungsbestandteilen und die topische Metallverteilung der oberflächlichen Metallisationen gut möglich. Die erhobenen Befunde haben unsere ursprünglichen Erwartungen bei weitem übertroffen.

In der für die Stromverletzungen charakteristischen geometrischen Gliederung der Oberfläche bevorzugter Metallisationsorte (Stromdurchtrittsstellen) sehen wir bei Anwendung der Mikrosonde hinsichtlich einer Verfälschung der Messungsergebnisse keine grundsätzlichen Bedenken. Auch Malissa weist darauf hin, daß derartige Oberflächenrauhigkeiten geradezu ein Charakteristicum der betreffenden Probe sein können. Die Aufnahme von Verteilungsbildern mit 2 Spektrometersystemen bestätigt unseres Erachtens nach, daß die Oberflächenrauhigkeit von sekundärer Bedeutung ist.

Wünschenswert wäre die Vereinigung der Vorzüge beider Geräte in einem, ein Weg, der teilweise schon beschritten wurde. Ob letztlich das Rasterelektronenmikroskop mit Mikrosondenzusatz oder die Mikrosonde mit Rasterelektronenmikroskopzusatz für derartige Untersuchungen günstiger ist, werden weitere laufende Versuche ergeben, wobei Informationswert und Informationsmenge der zu erhebenden Befunde entscheidend sind. Hierbei dürfte auch die technische Weiterentwicklung der Geräte ein noch nicht übersehbares Moment darstellen. Rasterelektronenmikroskope, die zur Analyse der Röntgenstrahlung nur ein nicht-dispersives Analysen-System besitzen, sind unserer Meinung nach für besondere Fragestellungen nicht ausreichend, da das Trennungsvermögen für bestimmte Elemente nicht scharf genug ist¹ (Impulshöhendiskrimination, keine Analysatorkristalle). Der besondere Vorteil der zuletzt aufgeführten Gerätetypen kann u. a. darin gesehen werden, daß auch relativ große Flächenareale abgerastert werden können und die Oberflächenrauhigkeit keine entscheidende Rolle spielt.

Literatur

- Böhm, E.: Untersuchungen über die Gestalt oberflächlicher Metallisationen der Haut. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **59**, 26—34 (1967).
 Boyde, A., Switsur, V. R.: Problems associated with the preparation of biological specimens for microanalysis. Proc. 3rd Intern. Symp. X-Ray Optics and X-Ray Microanalysis, Stanford, USA, 1962. New York: Academic Press 1963.

¹ Da in letzter Zeit das Auflösungsvermögen der Röntgendetektoren für die einfallende Röntgenstrahlung bei der Impulshöhenanalyse (Energiespektrometrie) erheblich verbessert wurde und die Rasterelektronenmikroskopie auch in der Regel nunmehr Analysen mit einer Beschleunigungsspannung bis zu 50 kV ermöglichen, gilt diese Bemerkung nur mehr für die sehr leichten Elemente.

- Cosslett, V. E., Switsur, V. R.: In: Archard, G. D., u. T. Mulvey, Proc. 3rd, Intern. Symp. X-Ray Optics and X-Ray Microanalysis, Stanford, USA 1962. New York-London: Academic Press. 1963
- Frost, H., Hess, H.: Untersuchungen zur Pathogenese der arteriellen Verschlusskrankheiten. Klin. Wschr. **47**, 245—249 (1969).
- Graumann, W., Neumann, K.: Handbuch der Histochemie. Stuttgart: G. Fischer 1958.
- Malissa, H.: In: Handbuch der mikrochemischen Methoden, herausgeg. v. F. Hecht und K. Zacherl, Bd. IV Elektronenstrahlmikroanalyse. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966.
- Pioch, W.: Zur gerichtsmedizinischen Untersuchung von Tötungsdelikten durch elektrischen Strom. In: Forschungsergebnisse der gerichtlichen Medizin. Festschrift zum 60. Geburtstag von Prof. Dr. H. Elbel, S. 31. Lübeck: Schmidt-Römheld-Verlag 1967.
- L'image histologique des lésions vitales et post-mortem causées par brûlures. Acta Med. leg. soc. (Liège) **19**, 327—333 (1966).
- Reimer, L.: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
- Romeis, B.: Mikroskopische Technik. München-Wien: R. Oldenbourg 1968.
- Timm, F.: Zur Histochemie der Schwermetalle. Das Sulfid-Silberverfahren. Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **46**, 709 (1958).

Dr. med. E. Böhm
Institut für gerichtliche und Versicherungs-Medizin
D-8000 München 15, Frauenlobstr. 7