

Philipps-Universität Marburg

Fachbereich Chemie

Wintersemester 1999/2000

SE 15561: Übungen im Experimentalvortrag

Seminarleitung: Dr. J. Butenuth; Dr. E. Gerstner; Prof. U. Müller; Prof. H. Perst

Forensische Chemie

Referentin:

Andrea Groß

Ockershäuser Str. 78

35037 Marburg

Vortrag vom 19. Januar 2000

Inhaltsverzeichnis

I.	Die Geschichte der Forensischen Chemie	Seite 1
	Versuch 1: Mitscherlich-Probe	Seite 3
II.	Arsen und Spitzenhäubchen - Toxikologie	Seite 6
	Demonstration 1: Drogen-Screening	Seite 6
	Versuch 2: Photometrische Bestimmung des Cyanid-Gehaltes in Blut	Seite 9
III.	Kein Verbrechen ohne Spuren...	Seite 14
	• Daktyloskopie	Seite 14
	Versuch 3: Fingerabdrücke - Eine chemische Methode	Seite 16
	Demonstration 2: Fingerabdrücke - Eine physikalische Methode	Seite 17
	• Serodiagnostik	Seite 18
	Versuch 4: Blut als leuchtendes Indiz	Seite 19
	• Der Genetische Fingerabdruck	Seite 21
	Versuch 5: Der Genetische Fingerabdruck	Seite 22
IV.	Fatale Fehlinterpretationen - Justizirrtümer	Seite 28
	• Der Fall John Priss	Seite 28
	• Die Birmingham Six - Kein Spiel mit offenen Karten	Seite 28
	Versuch 6: Die Birmingham Six - Ein Justizirrtum	Seite 29
V.	Literatur- und Bildverzeichnis	Seite 32

Die Nomenklatur ‚Forensik‘ leitet sich ab vom lateinischen Wort ‚forensis‘, das übersetzt ‚zum Forum, zum Gericht gehörend‘ bedeutet. Dies rührt daher, daß im alten Rom auf dem Marktplatz, also dem Forum, Recht gesprochen wurde.

Die Forensische Wissenschaft besteht aus verschiedenen Teilgebieten:

- Medizin mit der Pathologie oder der Histologie
- Biologie mit Aspekten der Immunologie oder Serologie
- Physik mit den Bereichen der Ballistik, Werkstoff- und Elektrotechnik
- Chemie mit Toxikologie, Daktyloskopie und Sprengstoffanalytik

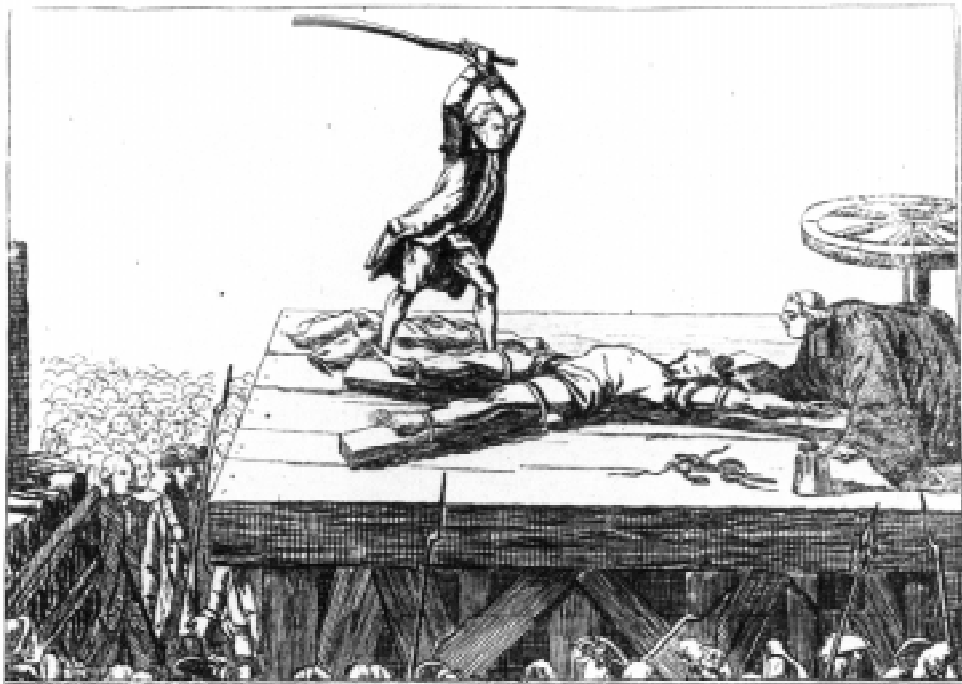
Diese genannten Einteilungen sind natürlich nicht eindeutig, denn Überschneidungen finden sich zwischen allen genannten Gebieten, hauptsächlich jedoch zwischen der Chemie und der Physik. Aus diesem Grunde besteht zum Beispiel auch im Kriminaltechnischen Institut des Bundeskriminalamtes (BKA) die Arbeitsgruppe Chemie/Physik.

I. Historischer Überblick

Die Anfänge der Forensik

Bereits 2000 v.Chr. war der individualisierende Wert von Fingerabdrücken eines jeden Menschen in China bekannt, so daß dort sogar Verträge mit Fingerabdrücken unterzeichnet wurden. In der Antike wurde die toxische Wirkung von Schierlingsaft zur Vollstreckung von Todesstrafen oder auch zum Verüben von Morden ausgenutzt; die Toxine im Schierlingsaft sind Cicutoxin und das Alkaloid Coniin. Die erste gerichtliche Obduktion zur Klärung einer Vergiftung erfolgte 1302 in Bologna. Dies ist besonders erwähnenswert, da zu jener Zeit jegliche Obduktionen von kirchlicher Seite untersagt waren. Durch Paracelsus folgte im 16. Jahrhundert die Eingliederung der Giftlehre in die Medizin; er prägte auch das Wort „Dosis sola facit venenum.“ (zu Deutsch: „Die Dosis allein macht das Gift“). Im 17. Jahrhundert war die Entwicklung schließlich soweit fortgeschritten, daß es zu systematischen Giftmorden in Italien und Frankreich v.a. durch „Aqua della Tofnina“ (Toxin: Arsen) kam.

Trotz hoher Strafandrohungen -die Todesstrafe stand bereits auf dem Aufbahren, den Kauf und den Verkauf von Giftstoffen sowie auf nicht angezeigte Giftmorde- gab es kaum Möglichkeiten diese Delikte einzugrenzen, da keine zuverlässigen chemischen Nachweise zur Aufklärung von Giftmorden bekannt waren.



Hinrichtung des Giftmischers Derues in Frankreich 1777

Die ‚chemische‘ Wende

Im 19. Jahrhundert kam es endlich zur Etablierung erster chemischer Nachweismethoden. 1814 gab Orfila das erste toxikologische Lehrbuch ‚Traité des Poisons‘ heraus, das schnell Grundlage systematischer, toxikologischer Untersuchungen wurde. Die Entwicklung der Marsh’schen Probe durch den Engländer James Marsh im Jahre 1836 stellte die erste Möglichkeit zum Nachweis von Arsen-Morden dar (Noch um 1840 waren 90 bis 95% aller Morde auf Arsen-Vergiftungen zurückzuführen!). 1850 gelang dem Chemiker Stas die Abtrennung von Alkaloiden von körpereigenen, hydrophilen Stoffen durch Etherextraktion. Eine genaue Charakterisierung der Alkaloide erfolgte schließlich durch Geschmacks- oder Geruchsproben, physiologische Tests, Farbreaktionen, Kristalluntersuchungen oder Schmelzpunktbestimmungen. Zur Überführung von möglichen Tatverdächtigen machte im Jahre 1880 der

Engländer Henry Faulds erstmals den Vorschlag, vom Täter hinterlassene Fingerabdrücke auszunutzen (Daktyloskopie).

Versuch 1: Mitscherlich-Probe

An dieser Stelle wird die Mitscherlich-Probe, der toxikologische Nachweis von Phosphor, aus der Zeit der ‚Chemischen Wende‘ vorgestellt.

Versuchsbeschreibung:

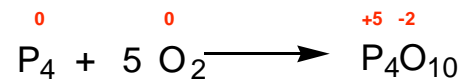
- Materialien:
Heizpilz
500mL Dreihalskolben NS 29 mit zwei Glasstopfen und Keck-Klemmen
Siedesteine
Steigrohr
Stativmaterial
Sicherheitsschüssel
- Verwendete Chemikalien:
Weißer Phosphor (1/4 Erbsengroß)
Ca. 250mL Wasser
Gesättigte CuSO_4 -Lösung (Sicherheitsaspekt!)
- Durchführung:
Bereits vor Zugabe des weißen Phosphors wird das Wasser im Rundkolben fast bis zum Sieden erhitzt. Schließlich gibt man ein Stück weißen Phosphor in das Wasser und verschließt den Kolben umgehend mit einem Glasstopfen. Die Lösung wird wiederum bis zum Sieden erhitzt.

Versuchsauswertung:

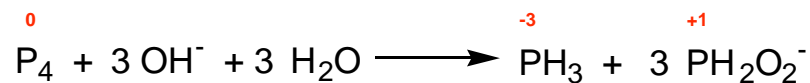
Die Mitscherlich-Probe ist ein Beispiel für eine Chemolumineszenz, die in der Gerichtsmedizin genutzt wurde, um Phosphor-Vergiftungen nachzuweisen. Man kann z.B. wenig Gehirnschubstanz oder auch Mageninhalt des Opfers bei Verdacht auf eine

Phosphorvergiftung wie beschrieben in Wasser aufkochen. Mögliche Phosphorreste werden durch den Wasserdampf ausgetrieben und reagieren mit dem Sauerstoff der Luft im Steigrohr, so daß es zur Erscheinung eines im Dunkeln leuchtenden Ringes kommt, der am oberen Ende des Steigrohres als kalte Phosphorflamme austritt.

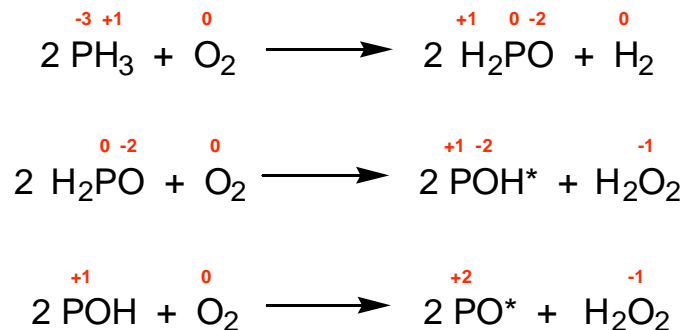
Reaktionsmechanismus:



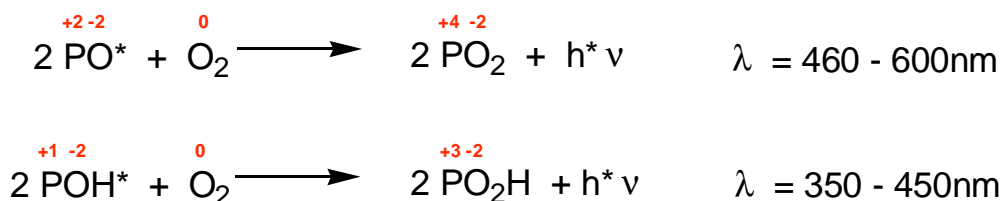
Bildung von Phosphorwasserstoff:



Bildung der lichtemittierenden Teilchen:



Lichtemittierende Prozesse:



Die Reaktionen zur Bildung der lichtemittierenden Teilchen wie auch die der lichtemittierenden Prozesse selbst sind bis heute nicht genau geklärt. Die

beschriebenen Reaktionen sind daher lediglich als Möglichkeiten anzusehen, die ablaufenden, komplexen Vorgänge zu erklären.

Physiologische Wirkung von elementarem weißem Phosphor:

Die tödliche Dosis des Phosphors liegt bei 60 – 100 mg. Es tritt zuerst eine lokale Reizwirkung des Magens auf, die durch Übelkeit und Erbrechen erkennbar wird. Nach zwei bis drei Tagen sind bereits schwere Leberschädigungen, blutiges Erbrechen, hypoglykämische Krämpfe sowie Blutungen an Schleimhäuten zu beobachten. Nach fünf bis zehn Tagen tritt schließlich der Tod unter Schwäche und Benommenheit ein. Im 19. Jahrhundert fand Phosphor aufgrund des Auslösens von Blutungen an Schleimhäuten vielfache Verwendung als Abtreibungsmittel. Heute besitzt weißer Phosphor jedoch keine toxikologische Bedeutung mehr. Falls es jedoch trotzdem zur einer Kontamination mit weißem Phosphor kommen sollte, sind folgende Therapiemaßnahmen einzuhalten:

- Auslösen von Erbrechen bzw. Magenspülung mit KMnO_4
- Einnahme von Aktivkohle zur Adsorption des Phosphors
- Verbrennungen: Behandlung mit CuSO_4 , das zur Bildung von Kupferphosphid führt.

II. Arsen und Spitzenhäubchen – Toxikologie

Die Toxikologie ist ein Teilgebiet der Pharmakologie, das sich mit Giften und ihren Wirkungsweisen beschäftigt. Die Nomenklatur stammt aus dem Griechischen: ‚toxikon‘ Pfeilgift. Toxine selbst sind physiologisch wirksame Stoffe, die entweder körperfremd sind oder in unphysiologisch hohen Konzentrationen vorliegen (Wiederum der Verweis auf Paracelsus: ‚Dosis sola facit venenum‘!). Außerdem bewirken Toxine Funktionsstörungen im lebenden Organismus.

Moderne Nachweisverfahren müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllen, um als Analyseverfahren für eine ‚Screening-Untersuchung‘ eingesetzt zu werden:

- Universalität
Toxikologisch relevante Substanzen unterschiedlichster Struktur sollten in einem Analysenverlauf erfaßt werden.
- Empfindlichkeit
Quantitative Bestimmungen sollten bis in den unteren Nanogramm pro Milliliter-Bereich gehen.
- Hohes Auflösungsvermögen der chromatographischen Methoden

Demonstration 1: Drogen-Screening

Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
250mL Becherglas
Drug-Screen-Card Multi 5 der Firma ‚Von Minden GmbH‘
- Verwendete Chemikalien:
Testurin mit nachweisbaren Substanzen

- Durchführung:

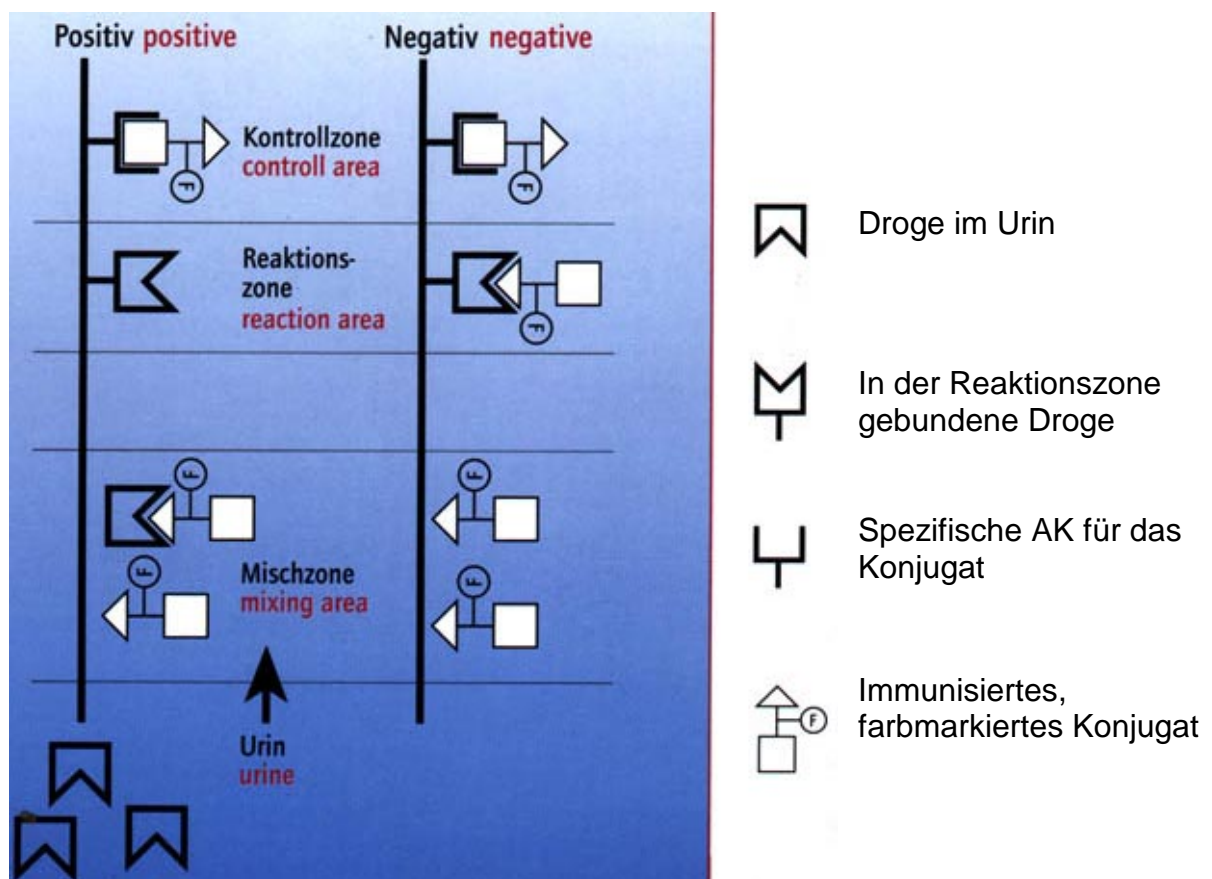
Man taucht die Streifen der Testkarte für ca. zehn bis fünfzehn Sekunden in den Testurin; dabei darf der Plastikrand den Urin nicht berühren. Nach drei bis acht Minuten ist das Ergebnis ablesbar.

Versuchsauswertung:

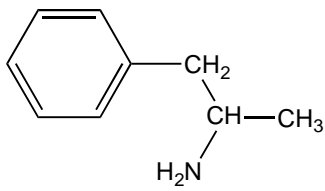
Durchgeführt wird ein immunchemischer Test auf Grundlage von Antigen-Antikörper-Reaktionen, der dem qualitativen Nachweis verschiedener Drogen im menschlichen Urin dient. Die Vorteile dieses Analysenverfahrens sind die hohe Empfindlichkeit und die schnelle sowie einfache Handhabung.

In den Sichtfenstern der Testkarte befinden sich Testzonen (T) der nachweisbaren Substanzen sowie eine Kontrollzone (C). Bei einem negativen Test sind ein pinkfarbener Streifen in der Testzone (T) wie auch einer in der Kontrollzone (C) erkennbar. Ein positiver Test besitzt dagegen nur einen pinkfarbenen Streifen in der Kontrollzone (C).

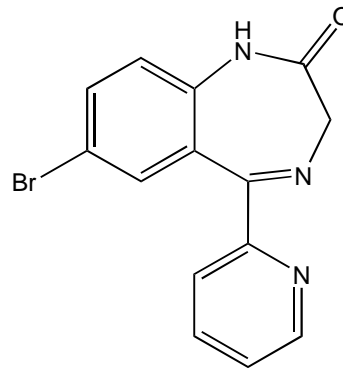
Zur Funktionsweise des immunchemischen Schnelltests:



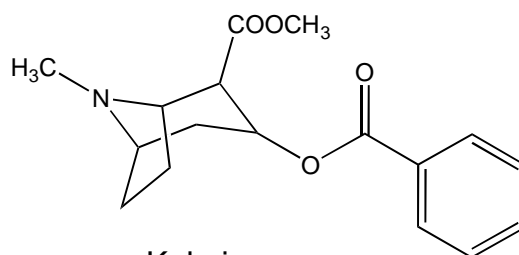
Mögliche Strukturen der nachweisbaren Drogengruppen:



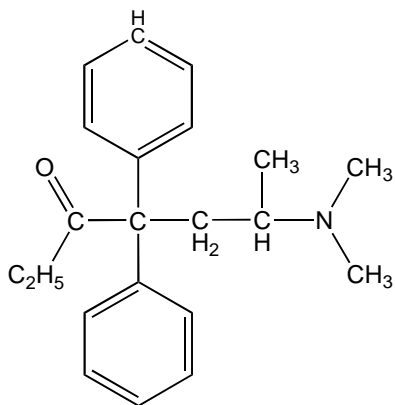
2-Amino-1-phenyl-propan
(Amphetamin)



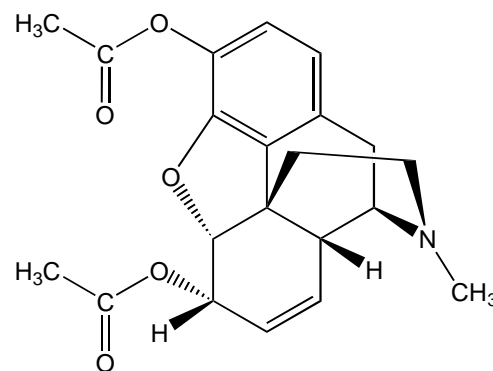
Bromazepam (Benzodiazepin)



Kokain



Methadon



Heroin (Opiat)

Schwellwert-Konzentrationen der nachweisbaren Drogen:

- Amphetamin 1000 ng/mL
- Benzodiazepine 300 ng/mL
- Kokain 300 ng/mL
- Methadon 300 ng/mL
- Opiate/Morphin 300 ng/mL

Die Nachweiszeit von Drogen im Urin liegt bei circa zwei bis vier Tagen.

Versuch 2: Photometrische Bestimmung des Cyanid-Gehaltes in Blut

Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
Fünf Widmark-Kolben (100mL)
Eppendorf-Pipetten
Fünf 100mL Meßkolben
50mL Meßkolben
100mL Meßzylinder
Photometer mit Küvetten
- Verwendete Chemikalien:
Schwefelsäure (100g/L)
Natronlauge (0,1mol/L)
Natriumdihydrogenphosphat-Lösung (1mol/L)
Chloramin-T-Lösung (250mg/100mL)
Pyridin-Barbitursäure-Reagenz (3g Barbitursäure, 3mL Salzsäure und 15mL Pyridin mit H₂O auf 50mL auffüllen)
Kaliumcyanid-Stammlösung (50mg/L)
- Durchführung:
Man befüllt die Widmarkkolben nach folgendem Pipettierschema:

	1	2	3	4	5
Wasser	4000µL	4000µL	4000µL	4000µL	4000µL
Zink-Granalien	3	3	3	3	3
Natronlauge	20µL	15µL	10µL	5µL	-
KCN-Lösung	-	5µL	10µL	15µL	20µL
Im Näpfchen des Stopfens:					
Natronlauge	500µL	500µL	500µL	500µL	500µL
Im Kolben:					
Schwefelsäure	500µL	500µL	500µL	500µL	500µL

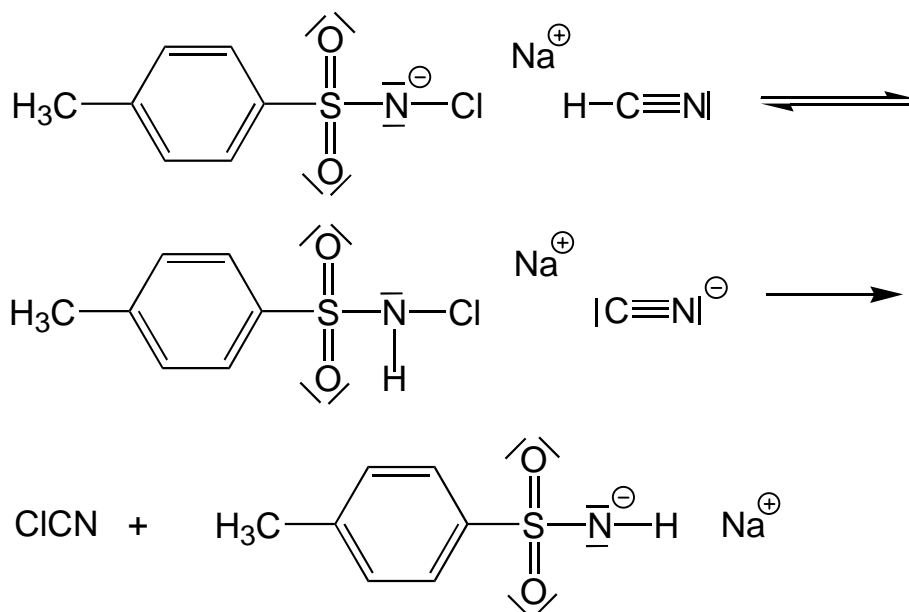
Die Kolben werden sofort nach Zugabe der Schwefelsäure fest verschlossen; man schwenkt vorsichtig und läßt die Kolben drei Stunden bei Raumtemperatur stehen. Im Anschluß daran pipettiert man jeweils 400µL des Inhalts des Näpfchens, 800 µL Natriumdihydrogenphosphatlösung und 400µL Chloramin-T-Lösung in eine Küvette und wartet zwei bis drei Minuten. Nach Zugabe von 1200µL Pyridin-Barbitursäure-Reagenz in jede Küvette und einer weiteren Wartezeit von zehn Minuten kann man die Extinktionen der Lösungen gegen den Reagenzienleerwert messen.

Versuchsauswertung:

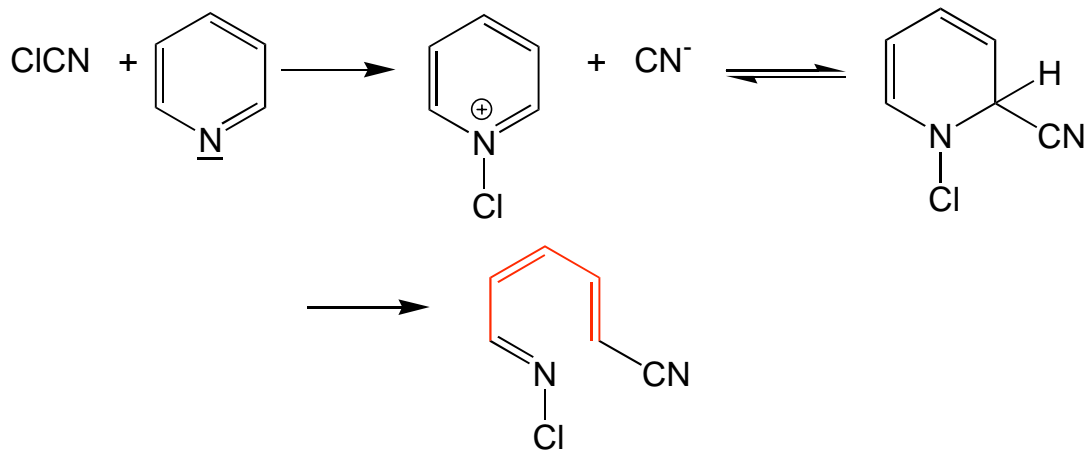
Die beschriebene Vorgehensweise beruht auf dem Prinzip der Mikrodiffusion. Die aus der Probe durch Zusatz von Schwefelsäure freigesetzte Blausäure wird nach Mikrodiffusion in Natronlauge adsorbiert. Um die Diffusion zu beschleunigen, werden dem Analysenansatz Zinkgranalien zur Wasserstoffentwicklung hinzugefügt. Nach Reaktion eines Aliquots der Natronlauge mit Chloramin-T und der Pyridin-Barbitursäure-Lösung kommt es zur Bildung eines violetten Polymethinfarbstoffes. Anhand der mit Hilfe des Photometers gemessenen Extinktionen sind Rückschlüsse auf die Cyanid- Konzentrationen möglich.

Reaktionsmechanismus:

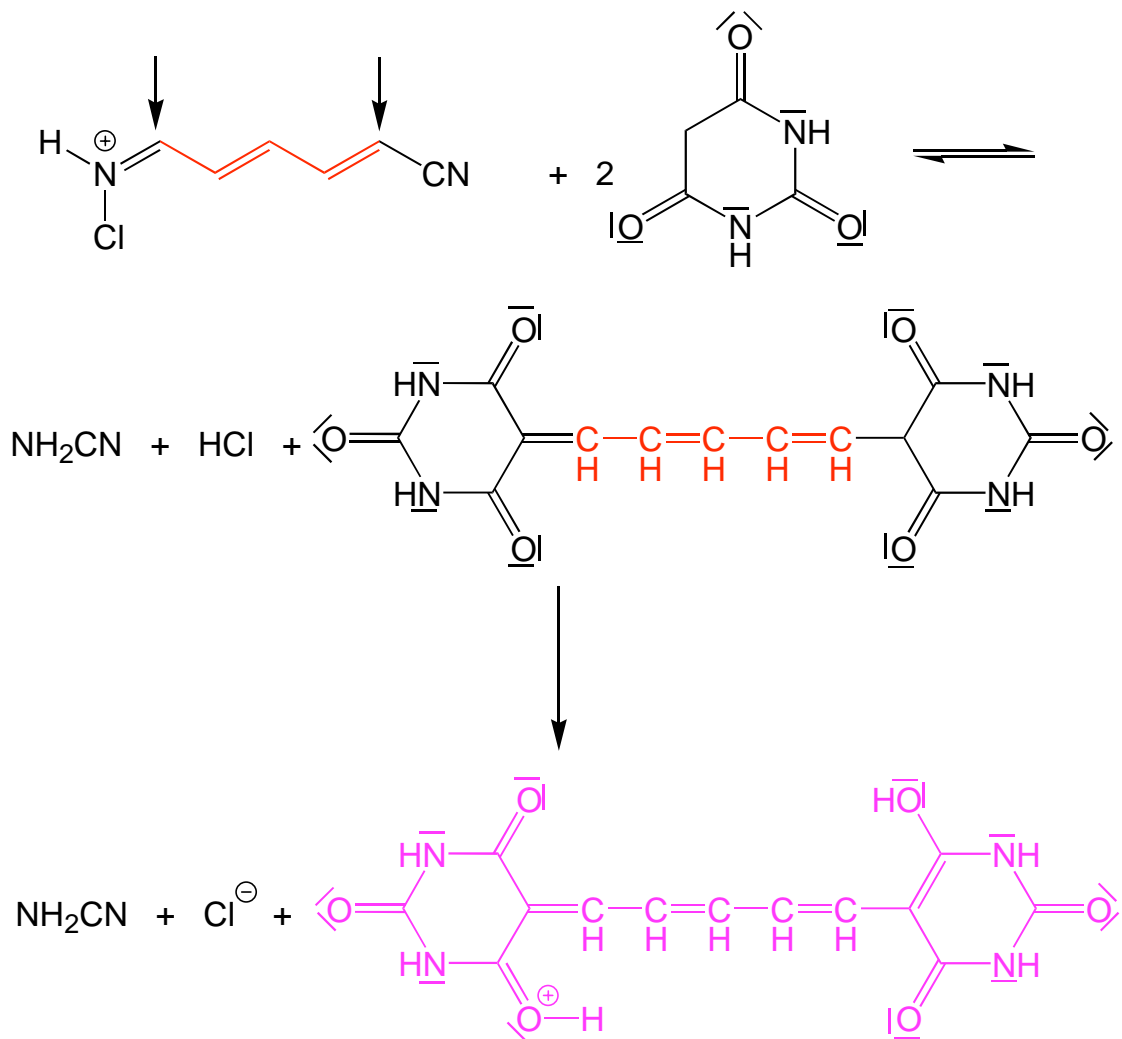
1. Reaktionsschritt: Reaktion mit Chloramin-T



2. Reaktionsschritt: Öffnung des Pyridin-Rings

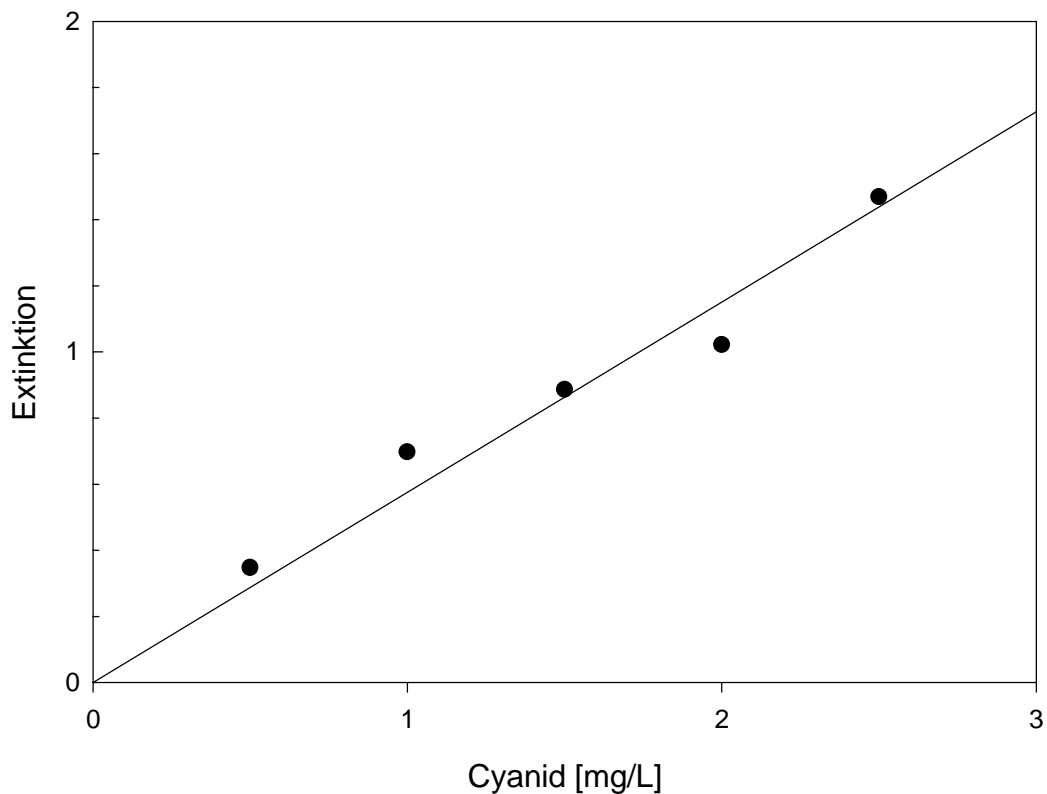


3. Reaktionsschritt: Bildung des Polymethin-Farbstoffs



Die Absorptionsmessung erfolgt bei einer Wellenlänge von 585nm. Eine Probe einer Cyanid-haltigen Lösung wird photometriert und eine Extinktion von 0,774 ermittelt. Mit Hilfe der aufgenommenen Kalibriergerade läßt sich nun die Konzentration an Milligramm Cyanid pro Liter Lösung (bzw. Blut) bestimmen.

Kalibriergerade Cyanid-Bestimmung



Nach Auftragen des erhaltenen Extinktionswertes ist ein Cyanid-Gehalt von ca. 1,3mg pro Milliliter Blut ablesbar.

Im Vergleich dazu die entsprechenden Literaturwerte:

Leichte Blausäurevergiftung	< 2,0 mg/L
Mittelschwere Blausäurevergiftung	2-3 mg/L
Schwere Blausäurevergiftung	> 3-4 mg/L

Physiologische Wirkung von Cyaniden:

Die tödliche Dosis von Blausäure bzw. Cyaniden liegt bei 200 – 300 ppm bzw. ca. 60mg. Die hohe Toxizität der Cyanide ist auf ihre starke Affinität an das Fe^{3+} des Cytochroms und der Cytochromoxidase in der Atmungskette zurückzuführen. Es kommt zur Hemmung des Elektronentransports der Atmungskette und somit zu einer

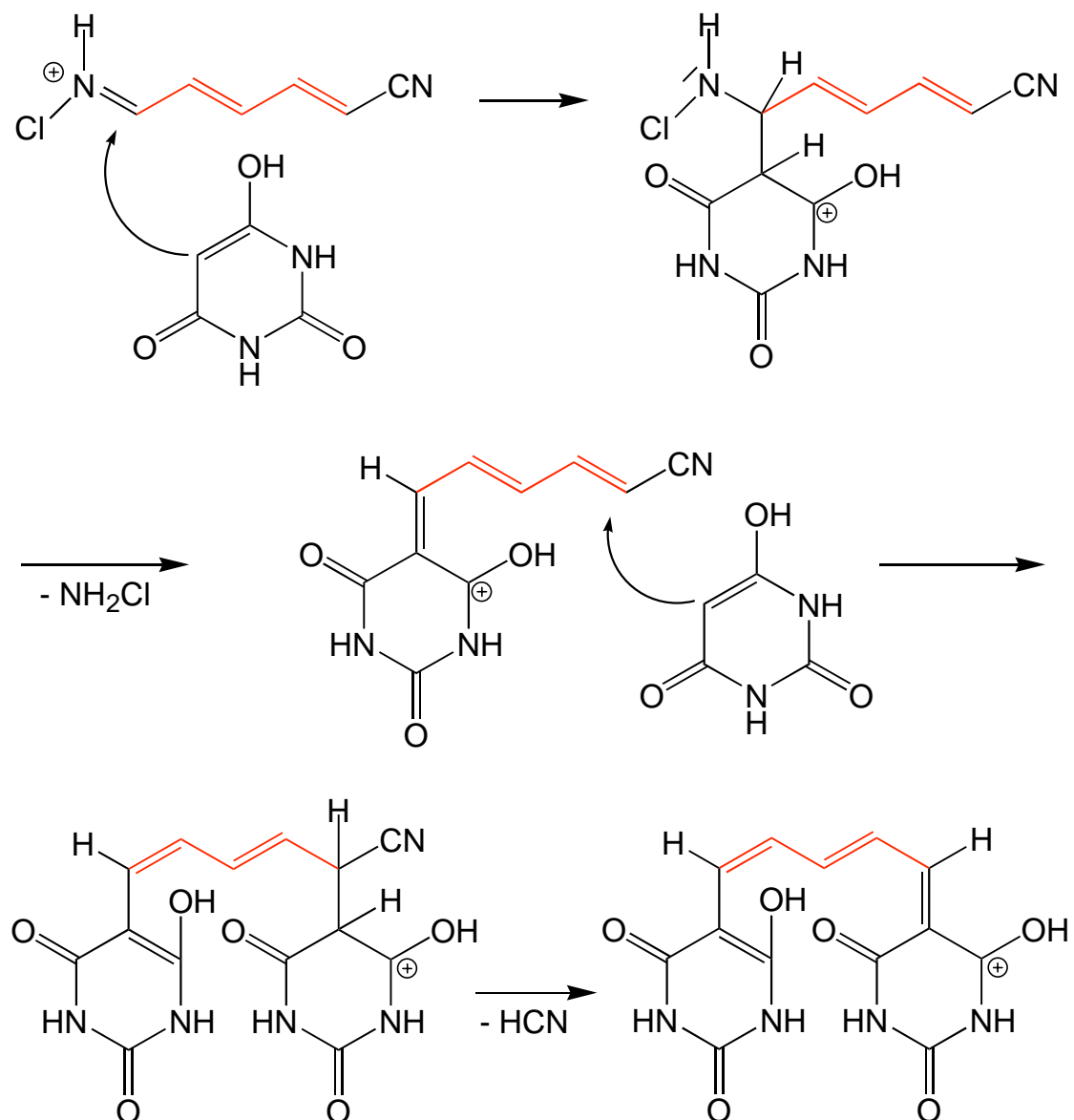
„Inneren Erstickung“. Akute Symptome sind Brechreiz, Atemnot und Krämpfe; der Tod tritt schließlich durch Erregungsleitungsstörungen am Herz und Atemlähmung ein. Bei Auftreten einer Cyanidvergiftung müssen folgende Therapiemaßnahmen getroffen werden:

Intravenöse Gabe von

- Natriumnitrit, Amylnitrit oder Dimethylaminophenol, was zur Bildung von Methämoglobin und schließlich Cyan-Methämoglobin führt. Es kommt so zur Entfernung des Cyanids aus der Atmungskette.
- Natriumthiosulfat, das das Cyanid in Thiocyanat umwandelt.

Auf diese Weise ist es möglich, die 20-fache tödliche CN^- -Dosis zu entgiften.

Ergänzungen zum beschriebenen Reaktionsmechanismus:



III. Kein Verbrechen ohne Spuren...

1. Daktyloskopie

In der Daktyloskopie (Fingerabdrucknahme) verwendet man Verfahren zur Auswertung von Papillarlinienbildern der Finger zur Identifizierung von Personen. Die Nomenklatur stammt aus dem Griechischen: Daktylos-skopein; dies bedeutet übersetzt ‚Fingerschau‘. Die Verfahren wurden in Deutschland erstmals am 1. April 1903 in Dresden eingeführt (in Gesamtdeutschland jedoch erst 1914; in England und Wales bereits 1901).



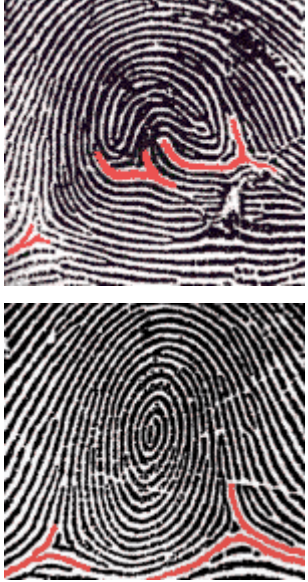
Aufgaben der Daktyloskopie sind:

- die erkennungsdienstliche Behandlung von Straftätern sowie Spurensuche und Spurensicherung
- das Führen von Fingerabdruckblatt-Sammlungen und Spurensammlungen (Das BKA besitzt ca. 4,1 Millionen Fingerabdruckblätter von ca. 2,2 Millionen Personen)
- die Identifizierung von Spurenverursachern

Die Daktyloskopie beruht auf folgenden Kriterien:

- Einmaligkeit
Papillarleistengebilde sind individuell und nicht vererbbar.
- Unveränderlichkeit
Papillarleistengebilde sind vom Zeitpunkt der Ausbildung im Embryonalstadium bis zur Auflösung nach dem Tod relativ unveränderlich.
- Klassifizierbarkeit der Papillarleistenstrukturen
Fingerabdrücke sind nach bestimmten Grundprinzipien klassifizierbar und daher auch registrierbar.

Grundmusterarten der Papillarlinien:

<p>Bogenmuster (ca. 5%)</p> <p>keine Deltabildung</p>	
<p>Schleifenmuster (ca. 60%)</p> <p>ein Deltabereich gegenüber dem Schleifenauslauf</p>	
<p>Wirbelmuster (ca. 35%)</p> <p>mindestens zwei Deltabereiche</p>	

Ein Identitätsnachweis gilt als erbracht, wenn acht Minutien (d.h. anatomische Merkmale) beim Merkmalsvergleich übereinstimmen. Der Beweiswert dieser Methode wurde durch den Bundesgerichtshof 1952 uneingeschränkt anerkannt.

Versuch 3:

Fingerabdrücke – Eine chemische Methode

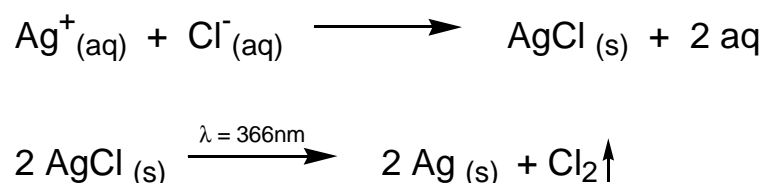
Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
Papier mit nachzuweisenden Fingerabdrücken
100mL Sprühflasche mit Gummigebläse
Fön
UV-Lampe
- Verwendete Chemikalien:
Silbernitrat
Methanol
- Durchführung:
Man löst 1g Silbernitrat in 50mL Methanol und besprüht das Papier mit dieser Lösung. Nach Trocknen des Papiers mit einem Fön wird dieses mit einer UV-Lampe bei 366nm bestrahlt. Nach einigen Minuten werden mögliche Fingerabdrücke sichtbar.

Versuchsauswertung:

Grundlage für die Detektion von Fingerabdrücken mittels chemischer Methoden ist die Abgabe bestimmter Stoffe über die Haut. So ist es möglich, Aminosäuren (10-100 µg pro mm² Haut) mit Hilfe von Ninhydrin oder Chlorid-Ionen (im menschlichen Schweiß vorhanden; 10 µg pro mm² Haut) durch AgNO₃-Lösung und anschließender Reduktion der Silber-Ionen zu Silber nachzuweisen.

Reaktionsmechanismus:



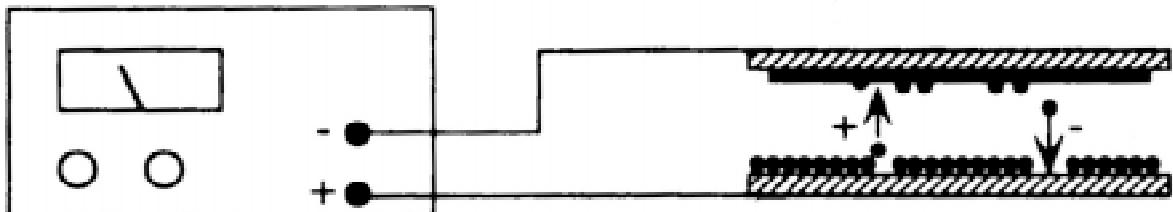
Demonstration 2:

Fingerabdrücke – Eine physikalische Methode

Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
Papier (4 x 6cm) mit nachzuweisenden Fingerabdrücken
Zwei Messing-Elektroden (5x 10cm); isoliert durch Plexiglas-Kasten
Gleichspannungsgerät mit entsprechender Anschlußbuchse
- Verwendete Chemikalien:
Feines Graphit-Pulver
- Durchführung:
Ein auf Fingerabdrücke zu untersuchendes Papier wird an der oberen Elektrode befestigt, während die untere Elektrode mit feinem Graphit-Pulver bedeckt ist. Beide Elektroden sind mit einer Gleichspannungsquelle (ca. 8kV) verbunden. Durch Anlegen von Spannung an das System können latente Fingerabdrücke entwickelt werden.

Schaltskizze:



Versuchsauswertung:

Es ist das Prinzip der Elektrostatik zu Grunde gelegt. Durch Anlegen der Hochspannung kommt es zur Aufladung des Graphits und zur Bewegung zwischen den Elektroden mit sehr hoher Geschwindigkeit. Aufgrund von Feuchtigkeit und von Fettbestandteilen eines Fingerabdrucks bleiben die Graphit-Partikel an den Linien des Fingerabdrucks haften. Auf diese Weise lassen sich qualitativ besonders hochwertige Fingerabdrücke entwickeln.

2. Serodiagnostik

„Die Stimme des Blutes deines Bruders schreit zu mir von der Erde“

Erstes Buch Mose, Kapitel 4, Vers 10

Welche Informationen schreit nun dieses Blut einem Kriminalisten der polizeilichen Spurensicherung entgegen?

Mit Hilfe der Blutspuren ist es möglich Aussagen über beteiligte Personen, Tatort und Tathergang eines Verbrechens zu treffen.

Die Vorgehensweise der Spurensicherung kann man daher folgendermaßen beschreiben:

- a) Der prinzipielle Nachweis einer Blutspur
- b) Klärung der möglichen Herkunft einer Blutspur
Stammt die Spur an einem Mensch oder einem Tier?
Verfahrenstechniken:
Antigen-Antikörper-Reaktionen (Immunoassays)
- c) Zuordnung zu den an der Tat beteiligten Personen
Verfahrenstechniken:
 - Anwendung des ABO-Blutgruppensystems
 - Genetischer Fingerabdruck
- d) Sicherung von Informationen aus dem am Tatort vorgefundenen Blutmuster, v.a. zum Tathergang

Versuch 4:

Blut als leuchtendes Indiz

Versuchsbeschreibung:

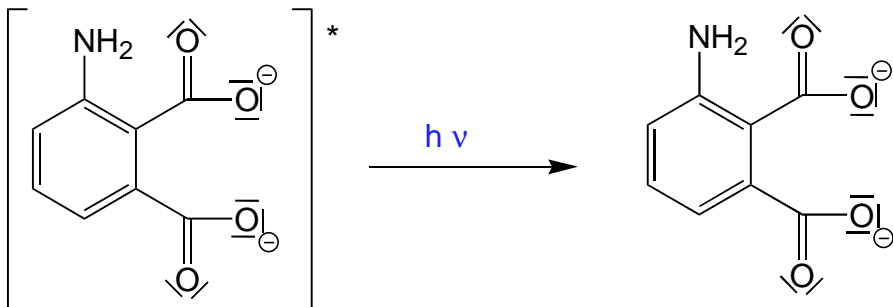
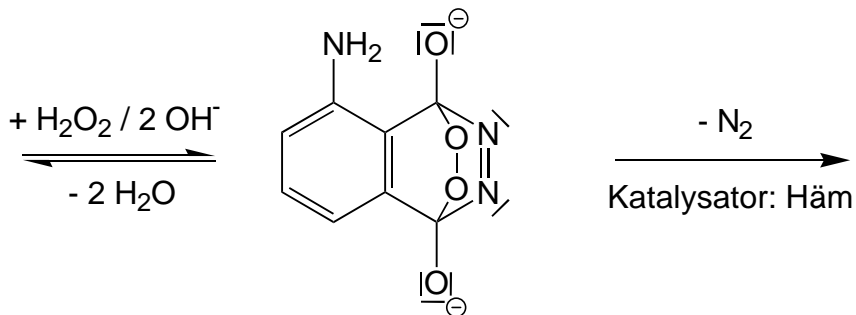
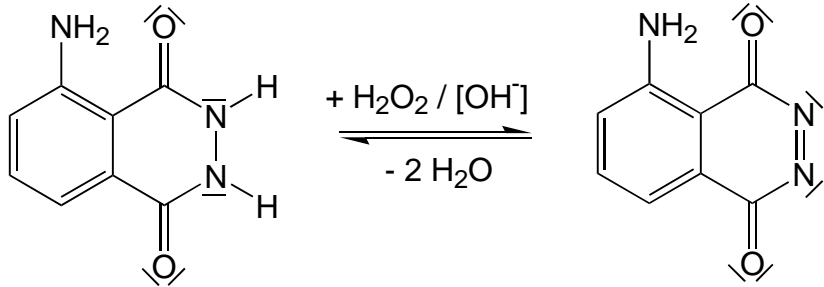
- Materialien:
100mL Sprühflasche mit Gummigebläse
z.B. mit Blut kontaminierter Stoff oder mögliche Tatwaffe
- Verwendete Chemikalien:
Natriumperoxid (100mL 1%ige Lösung)
Luminol (0,2g)
- Durchführung:
Man löst in der Natriumperoxid-Lösung (1%ig) 0,2g Luminol. Mit der Sprühflasche verteilt man diese Lösung auf den zu untersuchenden Objekten. Nach Abdunkeln des Raumes ist eine blau-weiße Lumineszenz zu beobachten.

Versuchsauswertung:

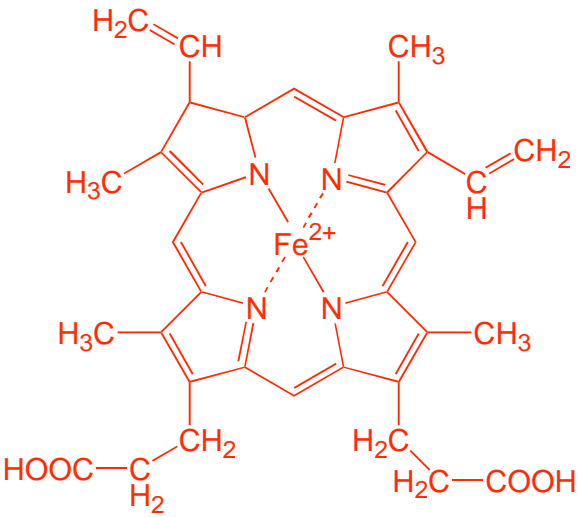
Luminol (β -Aminophthalsäure-hydrazid) wird unter Einwirkung von Wasserstoffperoxid in alkalischer Lösung zum Diazachinon oxidiert. Im weiteren Verlauf kommt es zur Oxidation zu einem Peroxodianion. Nach Abspaltung eines Stickstoff-Moleküls aufgrund der katalysierenden Wirkung des im Blut enthaltenen Protohäms bildet sich das Aminophthalsäuredianion in einem angeregten Zustand. Durch Abgabe von Lichtenergie wird der energetische Grundzustand wieder erreicht.

Bereits sehr geringe Mengen von Blut katalysieren die beschriebene Luminol-Nachweisreaktion. Hierbei ist für die Spurensicherung vor allem wichtig, daß diese Lumineszenz charakteristisch für Blut ist, da andere Körperflüssigkeiten nicht das im Blutfarbstoff Hämoglobin enthaltene Protohäm besitzen (Hämoglobin: bestehend aus Protein-Molekül und Protohäm) .

Reaktionsmechanismus:

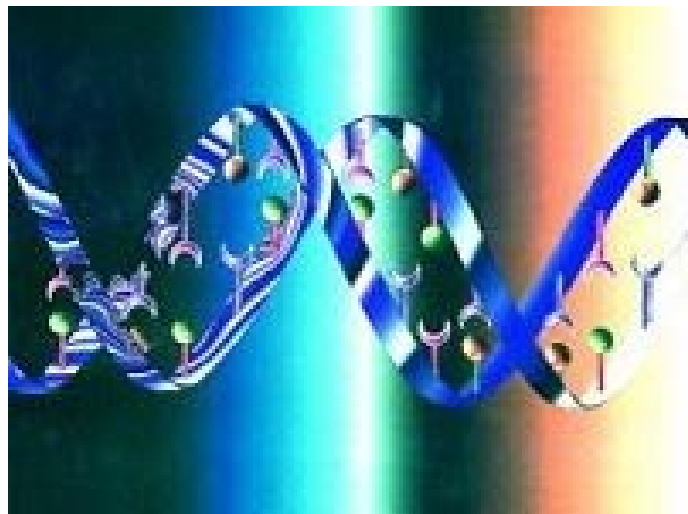


Struktur des katalysierenden Häms



3. Der Genetische Fingerabdruck

Entwickelt wurde die Methode des Genetischen Fingerabdrucks durch Alec Jeffries und Karry Mullis Mitte der 80er Jahre. Als Grundlage dient die charakteristische und unverwechselbare Sequenz der DNA -der Erbanlagen- eines jeden Menschen. Die Abbildung zeigt das Watson-Crick-Modell einer DNA-Doppelhelix; dieses Strukturmodell wurde 1953 aufgestellt.



Zur Erstellung des Genetischen Fingerabdrucks analysiert man zumeist Abschnitte ohne Erbinformationen im DNA-Molekül, sog. Introns. Die Anzahl, die Länge und die Position dieser DNA-Sequenzen sind bei jedem Menschen verschieden; so kann man die Wahrscheinlichkeit, daß zwei Menschen komplett gleiche Introns besitzen, auf 1 : 50 Mrd. beziffern.

Die Anwendungsmöglichkeiten des Genetischen Fingerabdrucks sind z.B. die Überführung von Mördern und Sexualstraftätern oder auch der Nachweis von Vaterschaften (Vaterschaftstests).

Versuch 5:

Der Genetische Fingerabdruck

Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
 - Thermocycler
 - Spannungsgerät
 - Gelelektrophorese-Apparatur
 - Eppendorf-Zentrifuge
 - Hettich-Tischzentrifuge
 - Eppendorf-Pipetten
 - Eppendorf-Gefäße (1,5mL und 0,5mL)
 - 50mL Falcon-Röhrchen
 - Färbeschalen
- Verwendete Chemikalien:
 - PCR-Mastermix (bestehend aus PCR-Puffer (20mM Tris/HCl [pH 8,4], 50mM KCl); 1,5mM MgCl₂; je 200µM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP); 25 pM Primer D1S80 und 1,5 units Taq-Polymerase in 50µL Reaktionsvolumen)
 - Laufpuffer TBE (89mM Tris; 89mM Borsäure; 2,5mM EDTA)
 - Auftragspuffer (0,2mL 0,5M EDTA; eine Mikrospatelspitze Bromphenolblau; eine Mikrospatelspitze Xylenyanol ad 10mL Formamid)
 - Lysepuffer (50mM Tris/HCl [pH 8,0]; 10mM EDTA; 2% SDS)
 - Fällungspuffer (8M Kaliumacetat)
 - 70% Ethanol
 - Isopropanol
 - Denaturierendes Nukleinsäure-Gel (10% Polyacrylamid aus 40% Acrylamid-Bisacrylamid 19:1)
 - Gelfixierer (100mL 10% Ethanol; 5mL 0,5% Eisessig ad 1000mL H₂O)
 - Färbelösung (0,19g Silbernitrat/L H₂O)
 - Entwickler (15g NaOH; 4mL 37% Formaldehyd ad 1000mL H₂O)
 - Färbefixierer (7,5g Natriumcarbonat/L H₂O)

- Durchführung:

1. Präparation von DNA aus Mundschleimhaut

Man spült den Mund mit 50mL Mineralwasser gründlich aus und überführt dieses Wasser in ein 50mL Falcon-Röhrchen. Anschließend wird bei 4.000rpm fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Pellet weiter aufgearbeitet. Dazu gibt man nun 500µL Lysepuffer und überführt die erhaltene Lösung in ein Eppendorf-Gefäß (1,5mL). Nach Zugabe von 100µL Fällungspuffer schüttelt man das Gefäß und legt es für fünf Minuten auf Eis. Nun wird fünf Minuten bei 10.000rpm in der Eppendorf-Zentrifuge zentrifugiert. 500µL der klaren Lösung werden vorsichtig abgenommen und in ein neues Eppendorf-Gefäß (1,5mL) überführt. Man gibt 300µL Isopropanol hinzu, schüttelt gut durch und zentrifugiert für fünf Minuten bei 10.000rpm in der Eppendorf-Zentrifuge. Der Überstand wird abdekantiert, zum Pellet 1mL 70% Ethanol gegeben, gründlich gemischt und bei 10.000rpm für drei Minuten zentrifugiert. Das Ethanol wird wieder abdekantiert, das Pellet gründlich getrocknet (ca. 15 Minuten) und schließlich wieder in 50µL Wasser gelöst. Bis zum Beginn der PCR wird das Eppendorf-Gefäß mit der präparierten DNA eingefroren.

2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Jeweils 10µL der DNA-Proben werden in ein Eppendorf-Cup (0,5mL) gegeben. 40µL des PCR-Mastermix pipettiert man zu den DNA-Proben, mischt gründlich und startet die PCR im Thermocycler. Die Schritte der PCR sind wie folgt:

- 1. Schritt

5 min	95°C	Denaturieren
40 sec	65°C	Primerhybridisierung („Annealing“)
80 sec	72°C	Elongation

→ insgesamt 10 Zyklen

- 2. Schritt

60 sec	95°C	Denaturieren
40 sec	65°C	Primerhybridisierung („Annealing“)
80 sec	72°C	Elongation

→ insgesamt 20 Zyklen

- 3. Schritt

60 sec	95°C	Denaturieren
--------	------	--------------

40 sec	65°C	Primerhybridisierung („Annealing“)
5 min	72°C	„Final-Elongation“

3. Gelelektrophoretische Auftrennung der DNA

Nach Abschluß der PCR werden die Eppendorf-Gefäße aus der Apparatur entnommen und die Proben mit 100µL Denaturierungs-Auftragspuffer versetzt. Die Gefäße werden nun wieder für fünf Minuten bei 95°C in den Thermocycler gegeben. Bis zum Auftragen auf das Gel werden die Proben auf Eis gestellt. Die Elektrophorese erfolgt bei ca. 1.000 Volt für ca. 30 bis 60 Minuten bis der zum Auftragspuffer gegebene Farbstoff am Ende des Gels angelangt ist. Zum Sichtbarmachen der DNA erfolgt nun eine Silberfärbung. Nach Platzierung in einer Färbeschale wird das Gel 15 Minuten in der Fixierlösung geschüttelt. Diese wird abgegossen und das Gel nun 20 Minuten in der Silberlösung geschüttelt. Mit frisch angesetztem Entwickler wird schließlich gefärbt und in 0,75% Natriumcarbonat-Lösung neutralisiert.

Versuchsauswertung:

1. Präparation von DNA

Für die Präparation von DNA können Speichelreste (sogar von Zigarettenfiltern!), Blut- und Spermaspuren oder auch Haare Verwendung finden. Im Verlauf der Präparation müssen bestimmte Kriterien erfüllt werden: die Verhinderung des DNA-Abbaus durch Nukleasen, die Vermeidung von DNA-brechenden Scherkräften sowie die Abtrennung von Proteinen.

Kurz beschrieben entspricht die Reihenfolge der DNA-Präparation den folgenden Schritten:

- Aufbrechen der Zellstrukturen durch Lysepuffer
- Abtrennung von Proteinen mittels Fällungspuffer
- Fällung der Nukleinsäuren mit Isopropanol

2. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die PCR kann man als eine sehr schlagkräftige Methode zur Vermehrung von DNA in vitro bezeichnen: Von bestimmten DNA-Abschnitten kann auf diese Weise innerhalb weniger Stunden eine sehr hohe Anzahl von Kopien gemacht werden,

die durch elektrophoretische Auftrennung in Gelen sichtbar gemacht werden können.

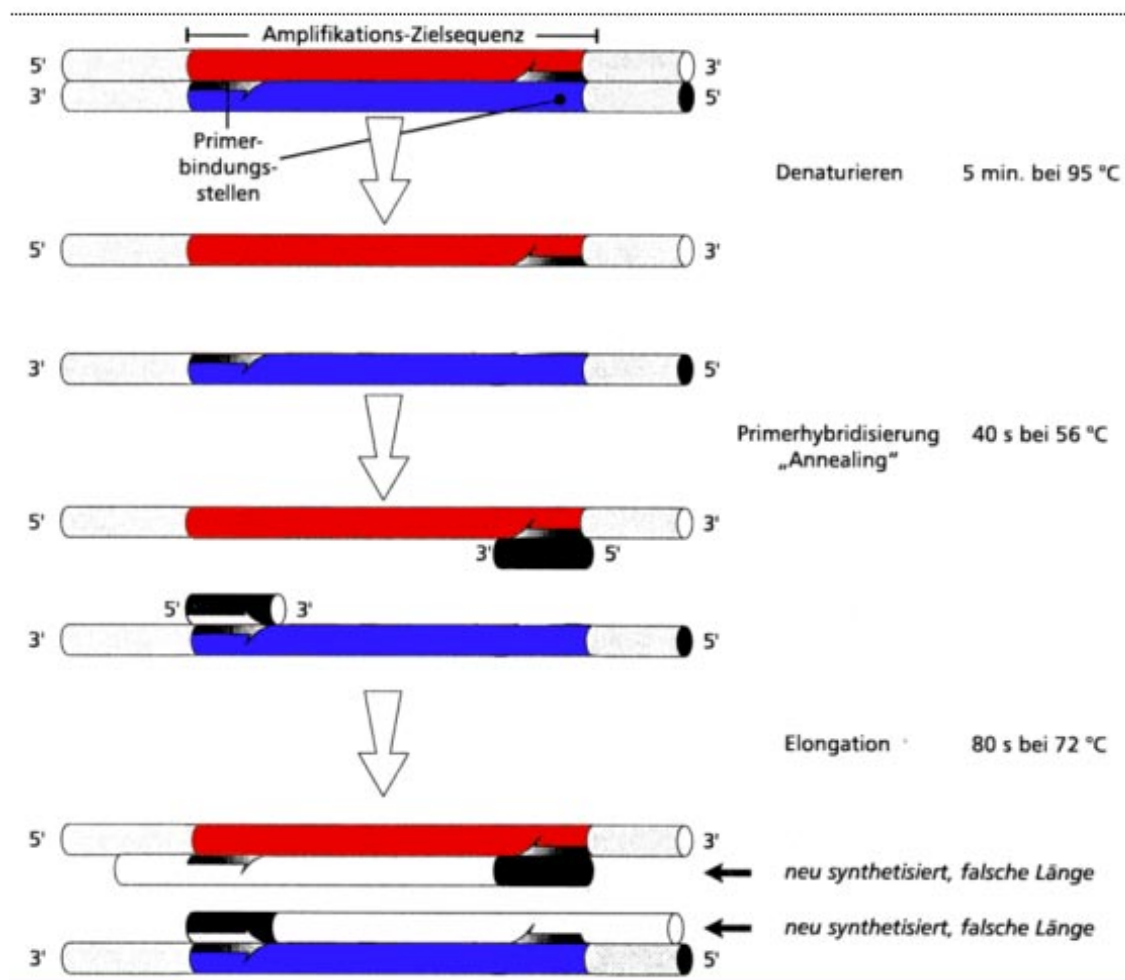
Prinzipien der Polymerase-Kettenreaktion sind:

- Relativ kurze einzelsträngige Oligonukleotide (Primer) hybridisieren mit komplementären Sequenzen des Genoms. Voraussetzungen sind: eine einzelsträngige Zielsequenz, geeignete Temperatur sowie Pufferbedingungen.
- Eine freie DNA-Polymerase (Startpunkt ist die freie OH-Gruppe des Primers (3'-Ende)) synthetisiert den komplementären Strang.

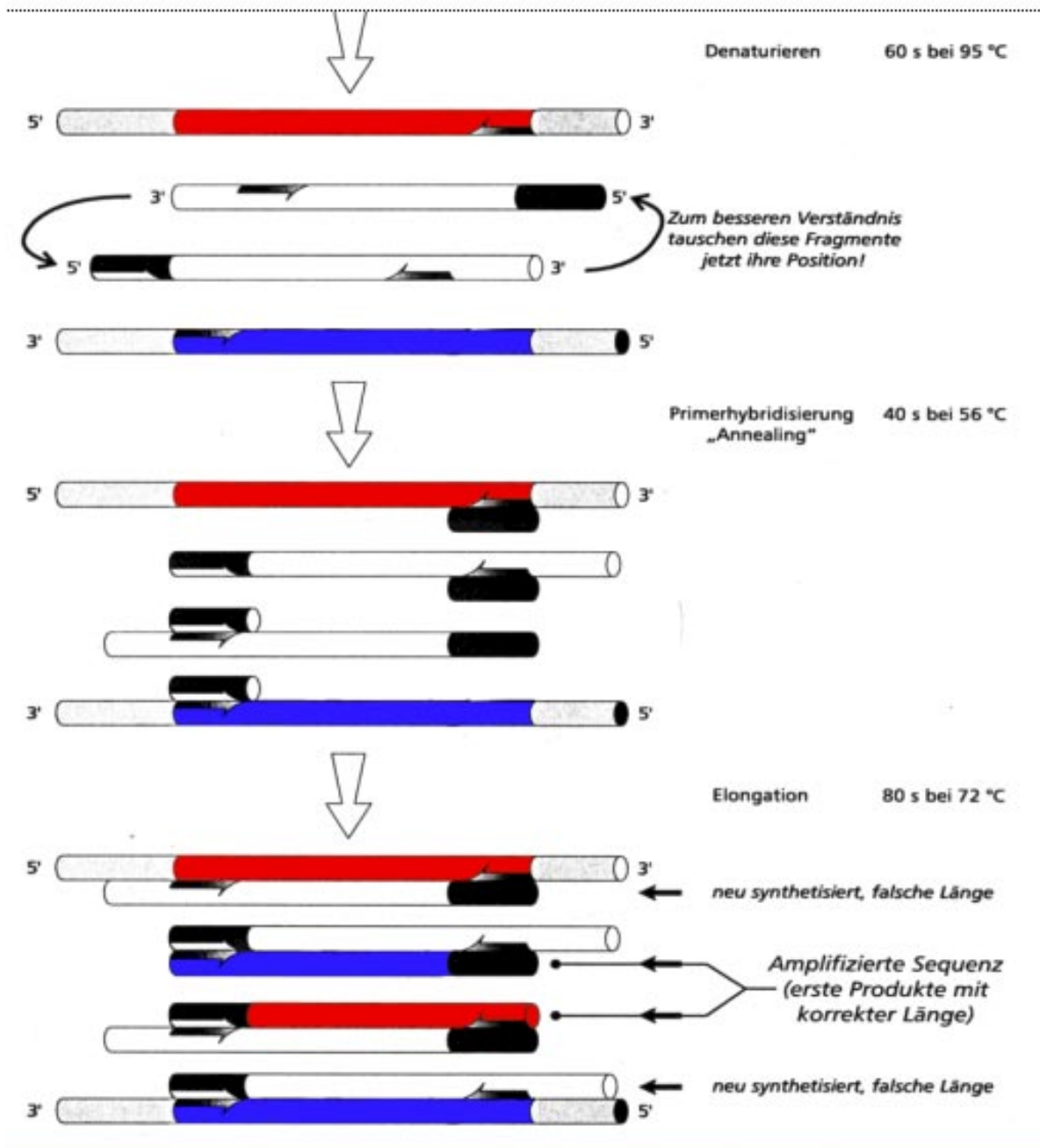
Zur Erfüllung dieser beschriebenen Prinzipien verwendet man einen PCR-Mastermix mit Primer (D1S80), Taq-Polymerase (Polymerase des thermophilen Bakteriums *Thermus aquaticus*) und Desoxynukleotid-Triphosphaten (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)

Schematische Darstellung der PCR:

1. Zyklus:



2. Zyklus:



Informationen zum Primer D1S80

Primer Name: D1S80.PCR1.1

Länge: 28 bp Orientierung: 5'-3'

Sequenz: GAACTGGCCTCCAAACTGCCCGCCG

Primer Name: D1S80.PCR1.2

Länge: 29 bp Orientierung: 3'-5'

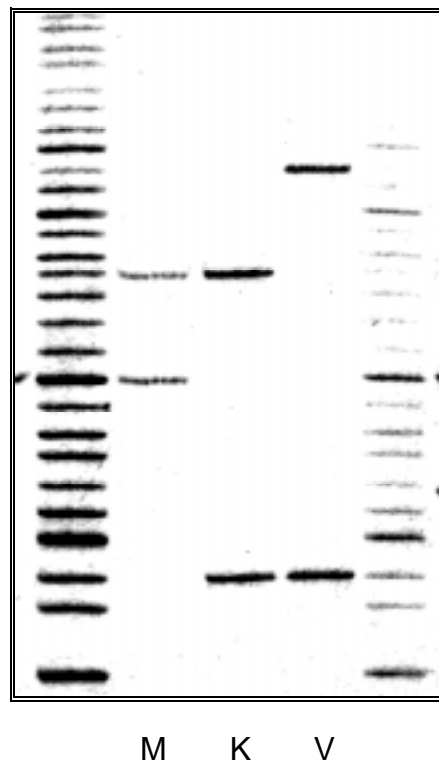
Sequenz: GTCTTGTTGGAGATGCACGTGCCCTTGC

Größe der amplifizierten Sequenzen: 0,430 – 0,750 kb

3. Gelelektrophoretische Auftrennung der DNA

Verwendet wird ein 7,5%iges denaturierendes Polyacrylamid-Gel mit Elektrolyt-Puffer, da dieses Gel aufgrund seiner großen Vernetzung als besonders gutes ‚Molekularsieb‘ wirken kann. Die präparierte DNA liegt unter den herrschenden pH-Bedingungen als Polyanion vor, so daß es im elektrischen Feld zur Anode (Plus-Pol) wandert. Die Auftrennung der amplifizierten Sequenzen erfolgt anhand der Fragment-Länge (Die Wanderungsstrecke der DNA-Fragmente ist umgekehrt proportional zum Logarithmus ihrer Größe bzw. ihres Molekulargewichts). Da DNA nicht im sichtbaren Wellenlängenbereich absorbiert, werden die Fragmente mittels Silbernitrat angefärbt.

Ergebnis eines Vaterschaftstests anhand des Genetischen Fingerabdrucks:



Aufgrund des Fragment-Musters des Kindes ist zu erkennen, daß das obere Fragment von der Mutter vererbt wurde, während das untere nur der Vater aufweist, dies weitergegeben hat und so die Vaterschaft nachgewiesen ist.

IV. Fatale Fehlinterpretationen – Justizirrtümer

Ein Zitat eines Kriminalisten:

„Anwälte geben häufig zu, daß sie bei forensischen Beweisen in einem Gerichtsverfahren geistig abschalten und keine detaillierten Fragen an forensische Zeugen richten, aus Angst eine Frage zuviel zu stellen.“

M. Hamer, 1991

1. Der Fall John Priss

Im Jahre 1973 wurde der Engländer John Priss wegen Vergewaltigung und Ermordung einer Frau zu einer langjährigen Haftstrafe verurteilt. Im Verlauf des Prozesses stammte schließlich der wichtigste ‚Beweis‘ aus forensischen Untersuchungen: Blutzellen der Blutgruppe A wurden in einem Samenfleck auf der Hose der Ermordeten gefunden. Dies war die Blutgruppe des Verdächtigen; was jedoch von der Rechtswissenschaftlern verschwiegen wurde: dies war auch die Blutgruppe des Opfers. Da es nun keinerlei Beweise gegen John Priss mehr gab, wurde er im Berufungsverfahren freigesprochen.

2. Die Birmingham Six – Kein Spiel mit offenen Karten

Mitte der 70er Jahre kam es in Großbritannien zur Verurteilung von sechs Iren, die im November 1974 durch einen Bombenschlag der IRA 21 Personen getötet haben sollten. Neben Geständnissen, die wie die Beschuldigten behaupteten, unter Schlägen herausgepreßt wurden, führte folgender chemischer Nachweis zur Verurteilung:

Versuch 6:

Die Birmingham Six – Ein Justizirrtum

Versuchsbeschreibung:

- Materialien:
 - Großer Reagenzglasständer
 - Vier Demo-Reagenzgläser mit Stopfen
 - 20mL Vollpipette
 - 10mL Vollpipette
 - Zehn PE-Flaschen
- Verwendete Chemikalien:
 - 1mL Nitroglycerin (1mg/mL)
 - Nitrocellulose
 - Natronlauge (2mol/L)
 - Lunges Reagenz I (1g Sulfanilsäure in 100mL 30%iger Essigsäure)
 - Lunges Reagenz II (0,3g α -Naphthylamin in 100mL 30%iger Essigsäure)
 - Nitrat- und Nitrit-Lösungen als Blindproben
- Durchführung:

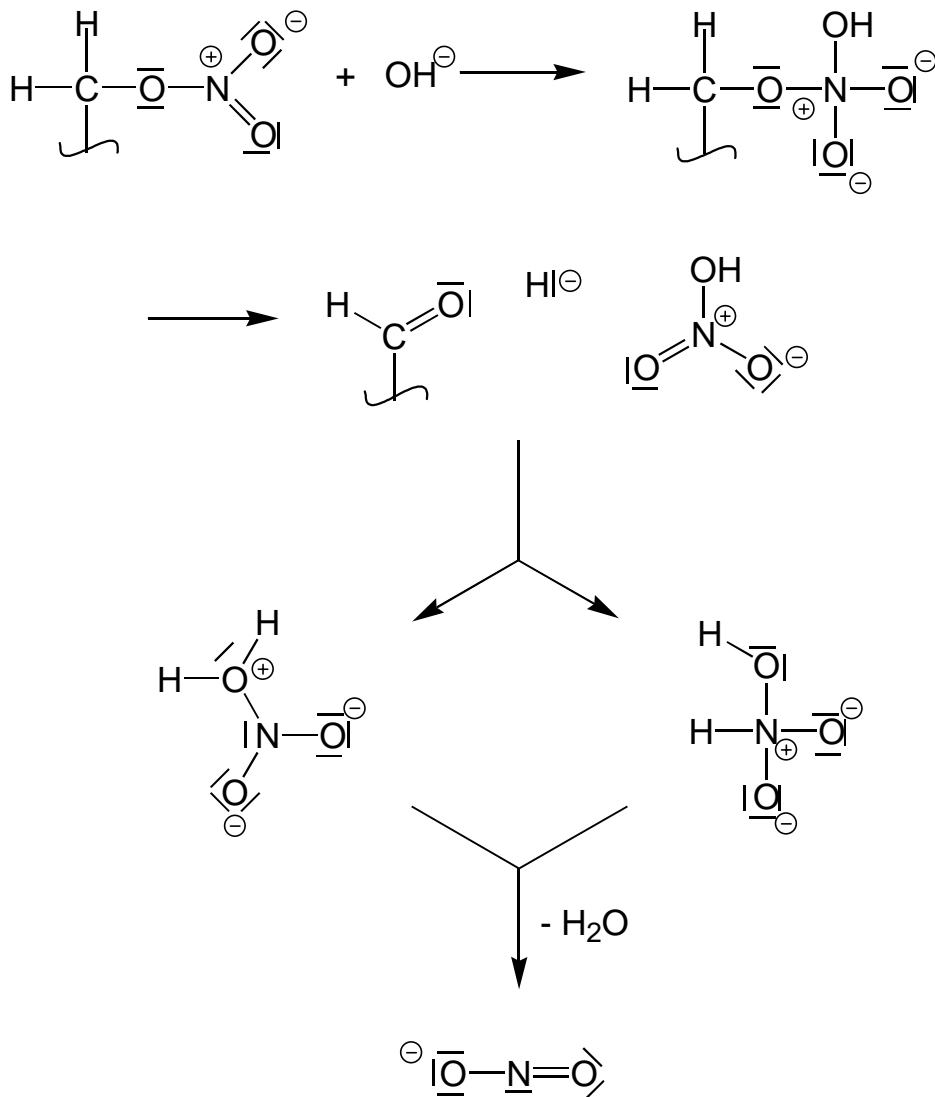
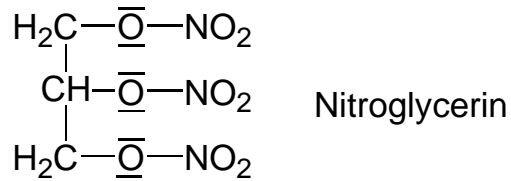
Zur Nitroglycerin-Lösung (in einem Demo-Reagenzglas) gibt man 20mL Natronlauge, vermischt und fügt schließlich nacheinander aus den PE-Flaschen Lunges Reagenz I sowie Lunges Reagenz II hinzu. Zur Bestätigung des vermuteten Reaktionsmechanismus behandelt man die Blindproben der Nitrit- und Nitrat-Lösungen (jeweils 10mL, stark verdünnt) ebenfalls mit Lunges Reagenz. Zuletzt vergleicht man die Reaktionen von Nitroglycerin und der Nitrocellulose, indem man die Nitrocellulose entsprechend der Nitroglycerin-Lösung behandelt.

Versuchsauswertung:

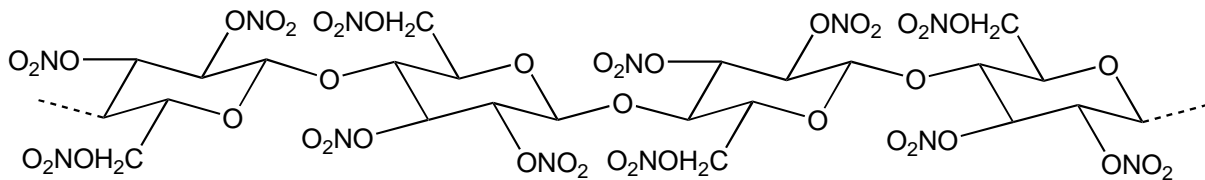
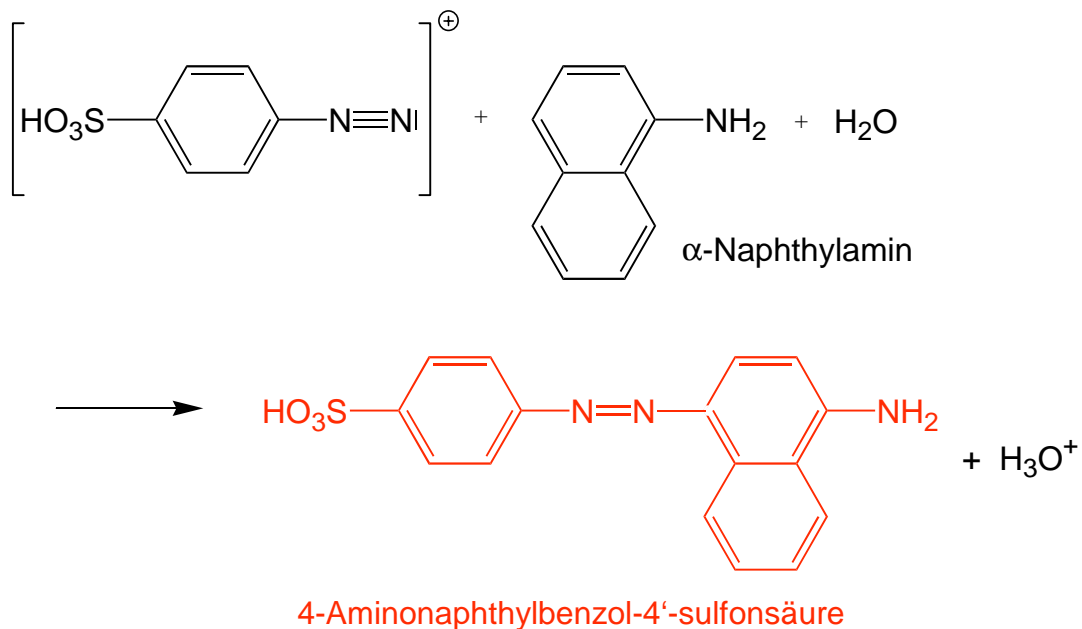
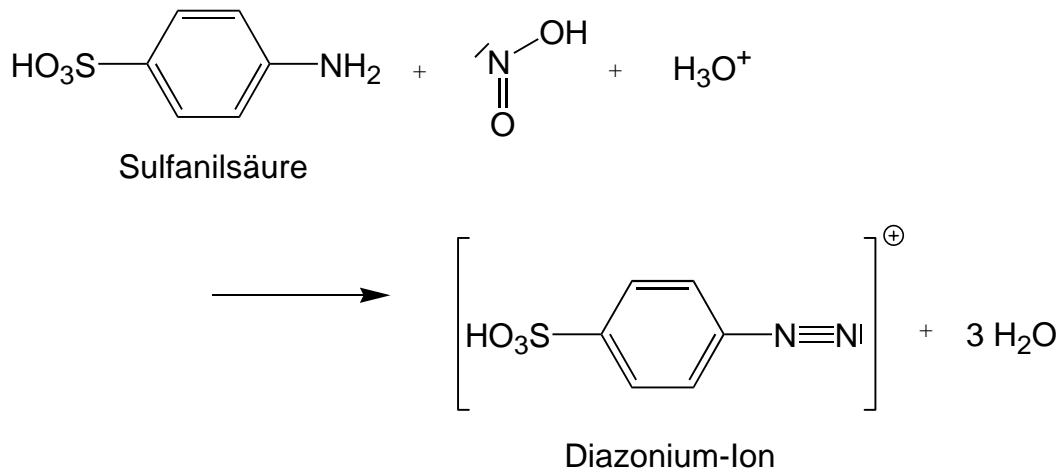
Die Spurensicherung von Scotland Yard nahm Proben von den Händen der Birmingham Six und untersuchte diese wie oben erläutert auf Nitroglycerin. Im alkalischen Milieu sind jedoch nicht die möglicherweise erwarteten Produkte der alkalischen Esterverseifung des Nitroglycerins bzw. der Nitrocellulose zu

beobachten, denn die Nitrat-Ionen werden durch die folgend beschriebene Hydrid-Übertragung über zwei mögliche Zwischenstufen zu Nitrit reduziert. Die Nitrit-Ionen sind durch die Bildung eines charakteristischen roten Azofarbstoffes mit Hilfe von Lunges Reagenz nachzuweisen.

Reaktionsmechanismus:



Nachweis der Nitrit-Ionen (Nachweisgrenze: 0,01µg Nitrit):



Nitrocellulose zeigt die gleiche Farbreaktion wie Nitroglycerin. Da Nitrocellulose zur Beschichtung von Schallplattenhüllen und Spielkarten genutzt wird, ist anhand der Aussage der Verdächtigen -sie hatten am Abend vor ihrer Verhaftung Karten gespielt- auch der positive Nachweis von NO_2^- erklärbar. Da nun jedoch jeglicher Beweis für die Schuld der Birmingham Six fehlte, mußten sie im Berufungsverfahren freigesprochen werden.

V. Literatur- und Bildverzeichnis

Literaturverzeichnis:

ChiuZ = Chemie in unserer Zeit

PdN = Praxis der Naturwissenschaften - Chemie

- Bauer, Karl Hugo / Moll, Heinrich: Die organische Analyse. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Pertig KG, Leipzig ³ 1954
- Beyer, Hans-Dieter / Walter, Wolfgang: Lehrbuch der organischen Chemie. S. Hirzel-Verlag, Stuttgart - Leipzig ²³ 1998
- BKA: Das Bundeskriminalamt. Informationsbroschüre 1995
- BKA: Das BKA in Zahlen. Informationsbroschüre 1995
- Brandl, Herbert: Über die vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten der Luminolreaktion im naturwissenschaftlichen Unterricht. PdN 1/29. Jg. 1980. Seite 7-11
- Daldrup, Thomas: Forensische Toxikologie. ChiuZ 4/19. Jg. 1985. Seite 125-136
- Fluck, Ekkehard / Mahr, Carl: Anorganisches Grundpraktikum. VCH, Weinheim - Deerfield Beach - Basel ⁶ 1985
- Gibitz, Hans Jörg / Schütz, Harald: Einfache toxikologische Laboratoriumsuntersuchungen bei akuten Vergiftungen. VCH, Weinheim 1995
- Gloxhuber, Christian (Hrsg.): Toxikologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York ⁵ 1994
- Gundermann, Karl-Dietrich: Chemilumineszenz. ChiuZ 1/4. Jg. 1970. Seite 55-59
- Hollemann, Arnold Frederik / Wiberg, Nils: Lehrbuch der Anorganischen Chemie. Walter de Gruyter-Verlag, Berlin - New York ¹⁰¹ 1995
- Kaye, Brian H.: Mit der Wissenschaft auf Verbrecherjagd. Wiley-VCH, Weinheim - New York - Chichester - Brisbane - Singapore - Toronto 1997
- Krauch, Helmut / Kunz, Werner: Reaktionen der organischen Chemie. Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg ⁴ 1969
- Landeskriminalamt Thüringen: Die Daktyloskopie. Quelle: Internet
- Lipscher, Juraj: Chemie und Verbrechen. ChiuZ 3/32. Jg. 1998. Seite 143-149

- Nellen, Wolfgang: Skriptum zum Grundpraktikum Genetik der Universität Kassel. 1999
- Päch, Susanne: Detektiv im weißen Kittel - Aus den Akten der Gerichtsmedizin. Ullstein Verlag, Frankfurt/Main - Berlin 1986
- Peter, K. / Vollhardt, C. / Schore, Neil E.: Organische Chemie. VCH, Weinheim - New York - Basel - Cambridge - Tokyo ² 1995
- Reichl, Franz-Xaver: Taschenatlas der Toxikologie - Substanzen, Wirkungen, Umwelt. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York 1997
- Riedel, Erwin: Anorganische Chemie. Walter de Gruyter-Verlag, Berlin - New York ³ 1994
- Römpp Lexikon Chemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York ¹⁰ 1996 –1999
- Schleenbecker, Uwe / Schmitter, Hermann: DNA-Analyse in der forensischen Spurenuntersuchung. ChiuZ 2/28. Jg. 1994. Seite 58-63
- Schmidt, Robert F. / Thews, Gerhard (Hrsg.): Physiologie des Menschen. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York ²⁷ 1997
- Von Minden GmbH: Drug-Screen. Informationsbroschüre 1999

Bildverzeichnis:

- Päch, Susanne: Detektiv im weißen Kittel - Aus den Akten der Gerichtsmedizin. Ullstein Verlag, Frankfurt/Main - Berlin 1986
- Von Minden GmbH: Drug-Screen. Informationsbroschüre 1999
- Landeskriminalamt Thüringen: Die Daktyloskopie. Quelle: Internet
- Kaye, Brian H.: Mit der Wissenschaft auf Verbrecherjagd. Wiley-VCH, Weinheim - New York - Chichester - Brisbane - Singapore - Toronto 1997
- Landeskriminalamt Thüringen: Fingerprint - Der genetische Fingerabdruck. Quelle: Internet
- Nellen, Wolfgang: Skriptum zum Grundpraktikum Genetik der Universität Kassel. 1999