

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin der Universität Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. med. H. ELBEL).

## Eperimentelle Untersuchungen zur Frage der Brauchbarkeit der pyrogenen Blutalkoholbestimmungsmethode.

Von

W. PAULUS und H. J. MALLACH.

(Eingegangen am 10. März 1955.)

Über das Bedürfnis nach einer spezifischen Alkoholbestimmungsmethode für Routinezwecke kann unbeschadet der hervorragenden forensischen Brauchbarkeit unspezifischer Methoden kein Zweifel bestehen. Ein Verfahren, welches neben seiner Spezifität auch die anderen Bedingungen einer Routinemethode weitgehend erfüllt, ist die fermentchemische Reaktion nach THEORELL und BONNICHSEN (ADH-Methode), über deren Brauchbarkeit wir kürzlich berichtet haben<sup>1</sup>. SCHIFFERLI beschreibt 1951 eine andere Methode, welche auf dem Wege der *pyrogenen* Alkoholdehydratisierung arbeitet. Der Äthylalkohol wird auf katalytischem Wege in Äthylen überführt und dieses durch seine Bromzahl bestimmt. Es handelt sich dabei also um eine zweimal indirekte Bestimmung des Alkohols. Das Verfahren, das bereits 1901 von IPATEW<sup>2</sup> beschrieben und 1923 von MOSER und LINDINGER<sup>3</sup> weiterentwickelt wurde, hat SCHIFFERLI<sup>4</sup> modifiziert und zu einer Blutalkoholbestimmungsmethode ausgebaut.

Auf dem Wasserbade wird aus der alkoholhaltigen Probe Alkohol und Wasser verdampft und mittels Stickstoff als Trägergas über den auf 280—300° C erhitzten Katalysator (mit Pyrophosphorsäure getränkte Bimssteinstückchen) geleitet, wobei die Dehydratisierung zu Äthylen erfolgt. In einem anschließenden Kondensator soll aus dem Äthylen-Wasserdampfgemisch Wasser abgetrennt werden. Schließlich erfolgt in einem mit Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung beschickten Kaliapparat die Überführung in Äthylenbromid. Die Versuchsdauer je Einzelversuch beträgt 1—1½ Std. Bei der Alkoholbestimmung, zu der 10 ml Blut benötigt werden, soll nach SCHIFFERLI eine 95—100%ige Ausbeute an Äthylen erzielt werden.

Nach längerer Einübung in die Methode glaubten wir sie zu beherrschen und führten Reihenuntersuchungen mit wäßrigen Alkohollösungen und mit Bluten bekannten Alkoholgehalts durch. Wir fanden erhebliche Abweichungen der ermittelten Promillewerte von den zu erwartenden; die größten Streuwerte lagen bei + 0,86 und — 0,49 ‰.

Legten wir nach sorgfältiger Vorbereitung des Katalysators Alkoholstandardlösungen verschiedener Konzentrationen in steigenden Mengen von 1—10 ml vor, so fanden wir bei höheren absoluten Alkoholgehalten stets zu geringe Äthylenausbeuten, wie aus Tabelle 1 hervorgeht.

Die Ausbeute wird mit steigender absoluter Größe der Vorlage geringer. Danach müßte man also um so stärker nach unten fehlerhafte Resultate erhalten, je höher die Alkoholkonzentration und je größer die Vorlage einer Blutprobe ist. Im übrigen

stimmt unsere Ausbeute an Äthylen von 70—90% mit den Angaben des Schrifttums über den Äthylenanfall aus Äthylalkohol überein; es handelt sich hierbei nicht um eine ausgesprochen rechtsläufige Gleichgewichtsreaktion.

Es war notwendig, den Fehlerquellen nachzugehen. Zunächst stellten wir fest, daß beim Verdampfen auf dem Wasserbade im Verdampfer kein Restalkohol bleibt. Da wir bei kleinen Vorlagen zu hohe Werte, bei großen Vorlagen aber zu niedrige Resultate erhielten, standen für den einzuschlagenden Weg 2 Fragen im Vordergrund: zu niedrige Resultate durch unvollständige Überführung des Äthylalkohols in Äthylen oder durch Entweichen von Äthylen aus der Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung, zu hohe Werte durch Bromverluste.

Daß nicht der gesamte Äthylalkohol in Äthylen überführt wird, geht bereits aus Tabelle 1 hervor. Wir konnten im Kondensator, also unmittelbar hinter dem Kontakt, besonders bei größeren Alkoholvorlagen Äthylalkohol qualitativ

und quantitativ mit Hilfe des Widmark-Verfahrens und der ADH-Methode nachweisen und somit die Ergebnisse der Tabelle 1 erhärten.

Wir bekamen bei diesen Untersuchungen verschiedentlich auch positive WIDMARK-Werte, gleichzeitig aber negative ADH-Werte. Im Kondensator war also Äthylen zu vermuten, und wir konnten es auch qualitativ nach ORLOW<sup>5</sup> nachweisen.

Da nach WINKLER<sup>6</sup> Äthylen an Wasser adsorbiert wird, entspräche der Maximalsättigung von 2,832 mg/ml Wasser eine Alkoholkonzentration — bezogen auf das vorliegende Verfahren — in Höhe von 0,47<sup>0/100</sup>. Wir gingen an Hand von Modellversuchen der Frage nach, ob in der von SCHIFFERLI beschriebenen Versuchsanordnung nennenswerte Mengen Äthylen an Wasser adsorbiert werden können. Wir entwickelten reines

Äthylen nach MOSER und LINDINGER, jedoch in einer Abänderung nach GATTERMANN<sup>7</sup> und leiteten den Gasstrom durch die in Betrieb befindliche Apparatur, wobei wir statt einer alkoholischen Probe 20 ml bidestilliertes Wasser je Versuch verdampften. Das erhaltene Kondensat wurde mit 10 ml einer Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung im Scheidetrichter gut geschüttelt und zur Vermeidung etwaiger Verluste darin titriert. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

Zu den unterschiedlichen Sättigungswerten, die 10—50% der maximalen theoretischen Sättigung betragen, ist zu bemerken, daß die beiden ersten Ergebnisse erst nach 48stündigem Stehen der Proben im Eisschrank, das letzte aber unmittelbar nach Versuchsende ermittelt wurden. Es kommt also im Kondensator durch Adsorption von Äthylen an Wasser zu gewissen Verlusten, die sich bei der endgültigen Alkoholbestimmung bemerkbar machen müssen.

Es wäre auch die Möglichkeit der Bindung von Alkohol an Tetrachlorkohlenstoff zu erwägen. Natürlich kommt man hier weder mit der Widmark- noch mit der ADH-Bestimmung weiter, da Tetrachlorkohlenstoff und Brom die Reaktionen stören. Übrigens konnten wir ausschließen, daß Äthylalkohol aus dem System, d. h. aus dem Kaliapparat entweicht, indem wir eine oder mehrere Waschflaschen mit saurer Kaliumpermanganatlösung nach FRIEDEMANN-KLAAS<sup>8</sup> anschlossen, dabei aber keine wesentlichen Abweichungen von den Leerwerten erhielten.

Tabelle 1.

Standardlösung	Vorgelegte Menge	Alkoholgehalt	Experimentell gefundene Ausbeute
‰	ml	mg	%
1,5	5	7,5	88,2
2,8	5	14,0	75,7
1,5	10	15,0	71,3

Tabelle 2.

Kondensat	Bromverlust	Äthylengehalt
ml	ml	mg/10 ml Kondensat
11,0	0,19	0,244
10,5	0,20	0,305
14,0	0,43	0,610

Zur Klärung der Frage, ob im Arbeitsgang Bromverluste entstehen, gingen wir so vor, daß wir den Kaliapparat in der 1. Abteilung mit Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung, sowie in der 2. und 3. Abteilung mit reinem Tetrachlorkohlenstoff beschickten. Der Faktor der Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung wurde regelmäßig mittels Thiosulfatlösung bekannter Konzentration (Urtitrierlösung: eigens hergestellte  $n/10$  Kaliumdichromat- sowie Kaliumjodatlösung) bestimmt. Sodann wurde nach einstündigen Leerversuchen, wobei wir an Stelle von alkoholhaltigen Proben nur bidestilliertes Wasser verdampften, die Füllung des Kaliapparates durch mehrmaliges Nachwaschen mit reinem Tetrachlorkohlenstoff annähernd quantitativ in einen entsprechenden Titrierkolben überführt und unmittelbar danach titriert. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 3.

Es handelt sich dabei um nahezu konstante Verluste, die sich bei der regulären Alkoholbestimmung je nach vorgelegter Alkoholmenge entsprechend auswirken müssen. Der Verlust von 1 ml Bromlösung würde bei Vorlage von 1 ml alkoholhaltiger Flüssigkeit einem scheinbaren Alkoholgehalt von  $2,3\text{‰}$ , bei Vorlage von 10 ml dem 10fach kleineren Wert von  $0,23\text{‰}$  entsprechen.

Wir fanden an Hand weiterer Modellversuche, daß geringe Brommengen vom Tetrachlorkohlenstoff verbraucht werden, so daß sie bei der anschließenden Titration der Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung nicht mehr erfaßt werden können. Wir neigen im übrigen zu der Meinung, daß die beschriebenen Bromverluste — auch der oben geschilderten Versuche — nicht durch Entweichen aus dem Kaliapparat entstehen. Wir haben nämlich durch Anschluß von Jodkaliumflaschen keinen Bromnachweis erhalten. Hierfürsprach auch die Änderung des Faktors der Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung mit der Temperatur und der Zeit, wie aus Tabelle 4 hervorgeht.

Im Endeffekt können auch auf diesem Wege Blutalkoholwerte bis zu  $0,35\text{‰}$  und möglicherweise auch noch höhere Alkoholkonzentrationen vorgetauscht werden. Abschließend sei zu diesen bisher beschriebenen Bromverlusten noch gesagt, daß beim Entleeren des Kaliapparates auch bei sorgfältigster Handhabung geringfügige Reste der Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung zurückbleiben. Bei der großen Empfindlichkeit der Methode gegenüber Brom kann auch hieraus ein Fehler im Sinne einer Alkoholvortauschung entstehen. Eine annähernd exakte Erfassung des vorgelegten Broms scheint uns demnach nicht gewährleistet zu sein.

Schließlich sind wir noch der Frage nachgegangen, ob reines Äthylen dem System entweichen kann. Hierzu hätte die einzige Möglichkeit im Kaliapparat vorgelegen. Wir schalteten daher hinter den regulär beschickten Kaliapparat einen zweiten mit Brom-Tetrachlorkohlenstofflösung beschickten Apparat. Unter Berücksichtigung der oben eingehend beschriebenen Bromverluste waren die Ergebnisse unauffällig. Nennenswerte Äthylenmengen dürften auf diese Weise wohl kaum verlorengehen.

Tabelle 3.

Gesamtverlust an Brom	Vorgetauschter Alkoholgehalt in ‰ bei vorgelegter Analysenmenge von	
	1 ml	10 ml
ml		
1,08	2,49	0,25
1,18	2,72	0,27
0,95	2,19	0,22

Tabelle 4.

Zeit min	Faktor der Br-CCl <sub>4</sub> -lösung		Vorgetauschter Alkoholgehalt in ‰/ml	
	Eis-kühlung	ohne Kühlung	Eis-kühlung	ohne Kühlung
1	1,247	1,247	0,00	0,00
30	1,247	1,242	0,00	0,12
60	1,241	1,238	0,14	0,21
90	1,236	1,232	0,25	0,35

Nach Kenntnis der auftretenden Fehler haben wir an Hand einer größeren Versuchsreihe eine Fehlerrechnung an regulären Alkoholbestimmungen vorgenommen. Hiernach betrug die mittlere quadratische Abweichung  $\sigma$  für eine 2,8%ige Alkoholstandardlösung  $2,12 \pm 0,19$  ‰. Werden diese Ergebnisse auf die Ausbeute an Äthylen in der von SCHIFFERLI angegebenen Versuchsanordnung umgerechnet, so erhält daraus eine Ausbeute von  $75,9 \pm 6,9\%$ .

Unsere experimentellen Untersuchungen haben unseres Erachtens die im System ruhenden Fehlermöglichkeiten gezeigt. Wenn bei den Routineuntersuchungen gelegentlich zutreffende Alkoholkonzentrationen ermittelt werden, so scheinen sie nach unseren Untersuchungen auf dem zufälligen Ausgleich von Äthylen- und Bromverlusten zu beruhen. Abschließend wäre noch zu bemerken, daß es sich um einen zeitraubenden Untersuchungsgang handelt. Im Höchsthalle könnten mit einer Apparatur je Tag 6—8 Einzeluntersuchungen ausgeführt werden. Weiterhin müßten, um die Fehlerbreite (s. Tabelle 3) möglichst klein zu halten, mindestens 10 ml Blut zur Einzelbestimmung verwendet werden. Für eine exakte Blutalkoholbestimmung, also mindestens 3fache Bestimmung, müßten dem Probanden 30 ml Blut und mehr entnommen werden, was sicherlich kaum zu verantworten wäre.

#### *Zusammenfassung.*

Die von SCHIFFERLI beschriebene, auf dem Prinzip der pyrogenen katalytischen Dehydratisierung beruhende Blutalkoholbestimmungsmethode wurde auf ihre Brauchbarkeit untersucht. Nach Einarbeitung in die Methodik fanden wir bei der Verwendung von Alkoholstandardlösungen und alkoholhaltigen Blutproben bekannter Konzentrationen eine erhebliche Streubreite. Auf Grund eingehender experimenteller Untersuchungen stellten sich folgende Fehlermöglichkeiten heraus:

1. Der Alkohol wird nur zu 75—90% in Äthylen überführt.
2. Im Kondenswasser kann Äthylen adsorbiert werden.
3. Unveränderter Äthylalkohol läßt sich ebenfalls im Kondensat nachweisen.
4. Brom wird in kleineren Mengen von Tetrachlorkohlenstoff verbraucht.
5. Bei einer durchschnittlichen Ausbeute an Äthylen von 75% beträgt die mittlere quadratische Abweichung  $\sigma$  für eine 2,8%ige Alkoholstandardlösung  $2,12 \pm 0,19$  ‰.
6. Durch zufälligen Ausgleich von Äthylen- und Bromverlusten können gelegentlich zutreffende Ergebnisse erzielt werden.
7. Da die Methode zeitraubend und an größere Blutmengen gebunden ist, scheint sie für Routineuntersuchungen nicht geeignet zu sein.

#### **Literatur.**

<sup>1</sup> PAULUS, W., u. H.-J. MALLACH: Untersuchungen von Diabetikern nach WIDMARK und nach der ADH-Methode. Dtsch. med. Wschr. 1954, 1045. — <sup>2</sup> IPATIEW, W.: Über pyrogenetische Reaktionen organischer Substanzen. Ber. dtsh. chem. Ges. 34 (I), 596 (1901). — Pyrogenetische Kontaktreaktionen organischer Verbindungen. Ber. dtsh. chem. Ges. 34 (III), 3579 (1901). — Pyrogenetische

Kontaktreaktionen organischer Verbindungen. 2. Mitt. Ber. dtsh. chem. Ges. **35** (I), 1047 (1902). — Pyrogenetische Kontaktreaktionen organischer Verbindungen. 4. Mitt. Ber. dtsh. chem. Ges. **36** (II), 1996 (1903). — Pyrogenetische Kontaktreaktionen organischer Verbindungen. 5. Mitt. Ber. dtsh. chem. Ges. **36** (II), 2003 (1903). — Pyrogenetische Kontaktreaktionen organischer Verbindungen. 6. Mitt. Ber. dtsh. chem. Ges. **36** (II), 2014 (1903). — <sup>3</sup>MOSER, L., u. F. LINDINGER: Die Reindarstellung von Äthylen. Mh. Chem. **44**, 141 (1923). — <sup>4</sup>SCHIFFERLI, E.: Die Technik des quantitativen Alkoholnachweises im menschlichen Blut durch pyrogene Zersetzung des Äthanols. Schweiz. Rdsch. Med. **1951**, 691. — <sup>5</sup>ORLOW, G.: Die Darstellung des Äthylens aus Kohlenoxyd und Wasserstoff. Ber. dtsh. chem. Ges. **42**, 893 (1909). — <sup>6</sup>WINKLER, L. W.: Gesetzmäßigkeit bei der Absorption der Gase in Flüssigkeiten. 2. Abh. Z. Physiko-Chem. **55**, 353 (1906). — <sup>7</sup>GATTERMANN, L.: Die Praxis des organischen Chemikers. Berlin: W. de Gruyter 1947. — <sup>8</sup>FRIEDEMANN, T. H. E., and R. KLAAS: The Determination of Ethyl Alcohol. J. of Biol. Chem. **115**, 47 (1936).

Prof. Dr. phil. W. PAULUS, Bonn a. Rh., Wilhelmsplatz 7.