

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. jur. O. SCHMIDT)
und dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Köln
(Direktor: Prof. Dr. med. R. MANZ)

Fehler und Streuungen des Widmark-Verfahrens beim Nachweis von Äthylalkohol*

Von

O. SCHMIDT und R. MANZ

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 1. Februar 1958)

Seit den bekannten Bonner Testversuchen ist die Zuverlässigkeit des Alkoholnachweises immer wieder in Zweifel gezogen worden. Ungeklärte Abweichungen, die auch bei späteren gemeinsamen Untersuchungen aufgetreten sind, bedürfen der Überprüfung. Ihre Abgrenzung in vermeidbare Fehler und unvermeidbare Zufallsstreuungen muß versucht werden.

Derartige Untersuchungen haben sich auf jeden einzelnen Teilvorgang der Analyse zu erstrecken.

Die vom Bundesgesundheitsamt herausgegebenen „Richtlinien für die Technik der Blutalkoholbestimmung nach WIDMARK für forensische Zwecke“ berücksichtigen noch nicht die Streuungseinflüsse jedes einzelnen Teilvorgangs der Analyse und sind ohne systematische Überprüfung der außerhalb des Zufalls liegenden Einflüsse entstanden. Das ursprüngliche Widmarksche Vorgehen hat in den Richtlinien vielfache Änderungen erfahren. Die Sorgfalt, die WIDMARK für die Durchführung seines Verfahrens anwandte, ist von den Arbeitsanweisungen in vielerlei Hinsicht nicht übernommen worden. Ob die Vorschriften bei diesen Änderungen stets zweckmäßig verfahren sind, bedarf des Nachweises. Nur wenn jede einzelne Teilstreuung das unvermeidbare Maß ihrer Abweichung einhält und systematische Fehler vermieden werden, kann von dem Verfahren größte Sicherheit erwartet werden. Nach Kenntnis aller Fehler und Streuungen ist das Verfahren in allen seinen komplizierten Einzelvorgängen so eingehend festzulegen, daß bei gewissenhaftem Vorgehen die Grenze des Zulässigen nicht überschritten wird.

* Auszugsweise vorgetragen und diskutiert in dem Symposium über Blutalkoholfragen in Eberbach a. Neckar im Anschluß an die Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin Juni 1957 in Heidelberg und auf einem Symposium über das gleiche Thema in Frankfurt a. M. im November 1957.

I. Die Normalverteilung als Grundlage für ein gültiges und brauchbares Streuungsmaß

Streuungsuntersuchungen setzen ein brauchbares Streuungsmaß voraus. Die Spannweite, d. h. die Differenz zwischen höchstem und tiefstem Wert einer Meßreihe, die WIDMARK angibt und die seither immer wieder genannt wird, ist für die Beantwortung forensischer Fragen und für die Berechnung von Teilstreuungen ungeeignet; sie ist von der Zahl der untersuchten Fälle abhängig und führt zu keiner verwertbaren Aussage über den generellen Beweiswert einer Meßreihe.

Die Untersuchungen, die unlängst von Professor DETTLING auf der dritten Vortragstagung des Automobilclubs der Schweiz mitgeteilt wurden, geben die Streuungsdifferenzen von 6 Untersuchungsstellen bei 5 verschiedenen Proben eines mittleren Alkoholgehaltes von 1,08 g-⁰/₁₀₀ als Variationsbreite wieder. Die Untersuchung erfolgte titrimetrisch und zusätzlich als Doppelbestimmung mit verschiedenen weiteren Verfahren. Die größte Spannbreite betrug 0,15 g-⁰/₁₀₀, die kleinste 0,09 g-⁰/₁₀₀.

Wenn die Ergebnisse entsprechend der Normalverteilung streuen, so ergeben sich generelle Ableitungen: Für das titrimetrische Vorgehen liegt die mittlere Streuung bei $\pm 0,043$ g-⁰/₁₀₀, für die Summe der Doppelbestimmungen bei $\pm 0,049$ g-⁰/₁₀₀. Die Gauß-Verteilung besagt, daß innerhalb dieses Intervalles 68% der Werte zu erwarten sind. Die als zulässig vereinbarte maximale Abweichung von $\pm 10\%$ wird in 1,2 bzw. 2,8% der Fälle überschritten. Außerhalb des $\pm 5\%$ igen Intervalles kann sogar jeder fünfte (21%) bzw. jeder vierte (26,7%) Wert liegen.

Welche Beweissicherheit die Schweizer Institute vor Gericht gelten lassen wollen, wird nicht angegeben. Der Sicherheitswert der dreifachen mittleren Streuung, die einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,27% entspricht, liegt bei dieser Meßreihe bei einer Abweichung von $\pm 0,13$ g-⁰/₁₀₀ oder $\pm 12\%$ bzw. $\pm 0,146$ g-⁰/₁₀₀ oder $\pm 13,5\%$. Alkoholwerte über 2 g-⁰/₁₀₀ werden allerdings bei der Annahme einer zulässigen Streuung von $\pm 10\%$, ähnlich wie bei den Bonner Versuchen, zu erheblichen Differenzen führen.

Wo immer es angeht, sollte die Normalverteilung für die Beantwortung forensischer Fragen herangezogen werden. Sie ist von der Zahl der untersuchten Fälle unabhängig, gestattet die Berechnung jeder einzelnen Teilstreuung, der Fehlerbreite und der Signifikanz einer Aussage und nennt zu jeder beliebigen Streuungsgrenze den zugehörigen Beweiswert.

Nicht alle Meßreihen sind normalverteilt: Nur zufallsbedingte Abweichungen folgen der Gauß-Verteilung. Methodische Fehler unterliegen nicht dem Zufall. Derartige Fehler haften jedem Analysenverfahren an. Das gilt in besonderem Maße für den komplizierten Aufbau einer Differenzanalyse. Ablesegewohnheiten, Aufmerksamkeit und Geschick,

die das Titrationsergebnis bestimmen, können sich systematisch auswirken. Lokale Temperaturschwankungen der Brutschränke, die Menge der Einwaage und der Alkoholgehalt beeinflussen das Oxydationspotential der Chromschwefelsäure und damit den Mittelwert. Auch durch Lichteinwirkung können systematische Fehler auftreten. Diese Einflüsse unterliegen nicht dem Zufall. Die Berechnung als Normalverteilung bleibt

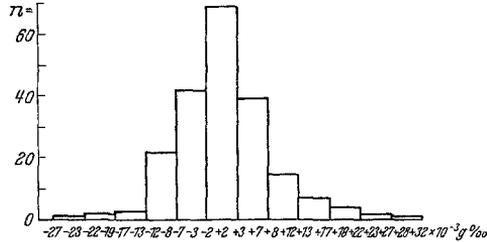


Abb. 1. Verteilung von 207 Einzelbestimmungen eines 1 g-%-Testalkoholwertes auf 12 Klassenbreiten

nur zugänglich, wenn die systematischen Fehler gegenüber den Zufälligkeiten an Bedeutung zu rücktreten oder in den Untersuchungsreihen „zufällig“ ihren Ausgleich finden. Das gilt insbesondere für die zahlreichen kleineren Fehlgriffe, mit denen bei Meßreihen in gleichwertigen Instituten zu rechnen ist; eine Normalverteilung kann aber nicht vorausgesetzt werden. Ihr Vorliegen ist von Fall zu Fall zu überprüfen.

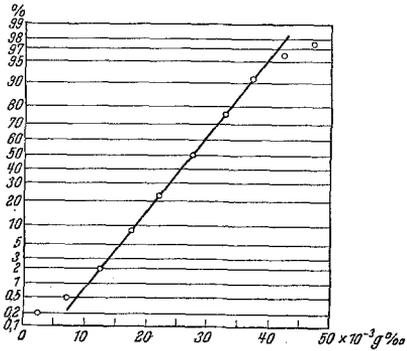


Abb. 2. Die in ein Wahrscheinlichkeitsnetz aufgetragenen summierten Werte der Abb. 1

Nach Ausscheidung aller im folgenden diskutierten systematischen Fehler und nach Eingrenzung der zufallsbedingten Abweichungen ergibt die Untersuchung eines 1 g-%igen Testwertes — 207 Einzelbestimmungen mit n/200 Thiosulfat titriert — auf 12 Klassenbreiten verteilt, das in Abb. 1 dargestellte Säulenpolygon. In ein Wahrscheinlichkeitsnetz übertragen, ergeben die

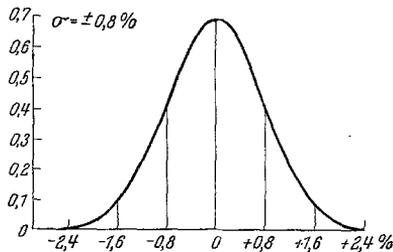


Abb. 3. Normalverteilung der Streuung des 1 g-%-Testwertes. Mittlere Streuung: $\pm 0,8\%$. Die Flächenwerte des einfachen, zweifachen und dreifachen Sigmas sind angegeben

summierten Werte der prozentualen Verteilung den geradlinigen Verlauf der Abb. 2, der das Vorliegen einer Normalverteilung beweist. Die mittlere Streuung beträgt $\pm 0,008 \text{ g.}\%$ oder $\pm 0,8\%$. Ihr Flächenwert ist in Abb. 3 dargestellt. Für die Berechnung der Widmark-Streuungen ist

der hiermit geführte Nachweis einer vorliegenden Normalverteilung eine grundlegend wichtige Feststellung, die dazu berechtigt, die Vorteile dieses Streuungsmaßes auf forensische Gegebenheiten anzuwenden.

II. Die Streuung der Titration

Über die Streuung der Titration liegen Zahlenangaben nicht vor; sie sind jedoch leicht zu gewinnen: In saubere Widmark-Kölbchen wurden je 25 ml n/600 Bichromatlösung eingefüllt. Ihr Chromgehalt entspricht annähernd dem der Leerwerte. Das Einmessen erfolgte mit sorgfältig gereinigter Vollpipette. Der Einmeßfehler ist nach Literaturangaben hierbei nicht größer als 0,003%. Er ist zu vernachlässigen. Die Abweichungen innerhalb einer Meßreihe sind sonach allein der Titration zuzuschreiben. Bei 150 Einzelwerten ergab sich eine mittlere Streuung von $\pm 0,006$ ml n/100 Thiosulfatlösung.

Das Widmark-Verfahren beruht auf 3 Titrationsvorgängen: der Titerstellung der Thiosulfatlösung, der Titration der Leerwerte und der Bestimmung der Alkoholproben. Bei dreifacher Sicherung der Streuung, die forensisch zu fordern ist, ist die Gesamtabweichung $3\sqrt{3}\sigma^2 = \pm 0,031$ ml n/100 Thiosulfat. Auf 100 mg Einwaage bezogen, ergibt sich eine Abweichung von $\pm 0,035$ g-% Alkohol. Für den Einzelwert einer 1,0 g-%igen Lösung bedeutet dies $\pm 3,5\%$. Diese Unsicherheit ist für das Gesamtergebnis von bestimmendem Einfluß. Um Verbesserungen der Titration, die bisher als der einfachste und sicherste Teil der Analyse angesehen wurde, muß das Verfahren bemüht sein.

Die Abweichungen können ihre Ursache im Ablauf der chemischen Reaktion oder in Ablesefehlern haben. Streuungen im chemischen Ablauf werden durch eine Verdünnung der Thiosulfatlösung entsprechend anwachsen; Ablesefehler dagegen werden unverändert bleiben: Die Verwendung einer n/200 Thiosulfatlösung ergab an 150 Einzelwerten gleichbleibend eine Abweichung von $\pm 0,006$ ml. Die Streuung der Titration beruht sonach im wesentlichen auf Ablesefehlern. Mit noch weiter verdünnten Normallösungen zu arbeiten, verbieten der zur Verfügung stehende Inhalt der Büretten und das in den Leerproben notwendigerweise vorzuliegende Bichromat. Rechnerisch bedeutet die Verwendung von n/200 Thiosulfat die Hälfte der bisherigen Streuung.

Eine weitere wesentliche Verbesserung der Ablesegenauigkeit ist durch eine Umgestaltung des in den Vorschriften angegebenen Titrationsaufbaus zu erzielen: Die Titration ist in der Weise durchzuführen, daß die Leerwerte am Bürettenende, die maximalen Alkoholwerte, mit denen forensisch zu rechnen ist, im oberen Teil der Bürette ihren Endwert haben. Die nach Vorschrift eingegebene Chromschwefelsäure (250 mg auf 100 ml Schwefelsäure) erfordert 5,1 ml n/100 Thiosulfat. Sämtliche

Alkoholproben liegen unterhalb dieses Wertes. Die untere Hälfte der 10 ml-Bürette bleibt also völlig unbenutzt. Alle täglichen Werte fallen auf $\frac{1}{4}$ der Bürettenlänge. Der Ablesefehler wird hierdurch in unzuweckmäßiger Weise erhöht. Der Bichromatgehalt der Leerwerte, die Konzentration der Thiosulfatlösung und die Größe der Einwaage sind entsprechend gegeneinander abzustimmen. Das gilt in gleicher Weise für den Gebrauch einer 5 ml-Bürette.

Wir verwenden $n/200$ Thiosulfatlösung, die bereits WIDMARK in Vorschlag brachte, etwa 120 mg Einwaage und 10 ml-Büretten. Sie sind im Gebrauch leichter zu handhaben als die meist sehr engrohrigen, 5 ml fassenden Mikrobüretten. Der Faktor 1,13 wird bei diesem Vorgehen um die Hälfte reduziert. Bei 3 Einzelwerten, mit denen das forensische Verfahren rechnet, beträgt der dreifache mittlere Fehler eines Analysenwertes $\pm 0,008 \text{ g-}^0/_{00}$. Das bedeutet eine erhebliche Verbesserung der Genauigkeit der Titration, ist aber immer noch mehr als die Hälfte der Streuung, die wir bei mittleren Werten gefunden haben. Diese Betrachtung zeigt, welche ausschlaggebende Bedeutung den Unsicherheiten der Titration für das Gesamtergebnis zukommt. Jedes Vorgehen, das das Verfahren an dieser Stelle sicherer gestaltet, muß als ein Erfolg gewertet werden.

Unsere Bemühungen, die Streuungen durch die Einführung der vollautomatischen potentiometrischen Jod-Titration zu verbessern, schlugen fehl: 207 potentiometrisch durchgeführte Einzelbestimmungen ergaben für den Einzelwert eine Streuung von $\pm 0,007 \text{ ml } n/200$ Thiosulfat. Der Unterschied zur Handtitration ist selbst bei der großen Zahl der einander gegenüberstehenden Einzelwerte nicht signifikant. Eine Änderung der Streuung bedeutet dieses Verfahren nicht. Eine Verbesserung wäre nur durch stärker verdünnte Normallösungen, die die Ablesefehler weitgehend verringern würden, zu erreichen. Die vollautomatische Potentiometrie befreit jedoch von allen subjektiven Einflüssen, von Aufmerksamkeit, Geschick und Übung, von denen die Handtitration weitgehend abhängt. Aus diesem Grunde ist sie für alle täglichen Untersuchungen und insbesondere Streuungsmessungen geeignet. Über alle technischen Daten dieses Verfahrens soll in einer späteren Arbeit berichtet werden.

III. Das Einmessen der Bichromatschwefelsäure

Dem Einmeßfehler der Bichromatschwefelsäure wird für die Unsicherheit des Verfahrens große Bedeutung beigemessen. An Vorschlägen und Bemühungen, die Methode an dieser Stelle zu verbessern, hat es nicht gefehlt. Die Arbeitsvorschriften nennen das Einfüllen mit Stellspritze, die bereits WIDMARK eingeführt hat, empfehlen ein besonderes Pipettiergerät und beschreiben das Einfüllen einer wäßrigen Bichromatlösung, der die Schwefelsäure nach Abdampfen der Flüssigkeit

zugegeben wird. Zu überprüfen ist, wie groß die durch das Einfüllen gegebenen Abweichungen sind und ob es bei dem Ausmaß dieser Streuungen überhaupt sinnvoll ist, das von WIDMARK beschriebene Vorgehen zu ändern.

Bei Kenntnis der auf den Titrationsvorgang entfallenden Streuung war die Lösung der Aufgabe leicht: saubere Widmark-Kolben wurden zunächst mit 25 ml destilliertem Wasser und anschließend mit 1 ml Bichromatschwefelsäure — der Vorschrift entsprechend 0,5 g Kaliumbichromat auf 200 ml konzentrierte Schwefelsäure — gefüllt. Das Einfüllen geschah mit Stellspritze. Untersucht wurden 150 Kölbchen in Serien zu je 50 Einzelwerten. Die Serien ergaben Werte von $\pm 0,005$ bis $\pm 0,01$ ml $n/200$ Thiosulfat. Die mittlere Streuung lag bei $\pm 0,007$ ml. Diese Streuung weicht gegenüber den Titrationswerten einer praktisch fehlerfrei eingemessenen Bichromatlösung nur unerheblich ab. Der Unterschied erweist sich auch bei der großen Zahl der vorliegenden Einzelwerte nicht als signifikant.

Damit ist erwiesen, daß das Einfüllen der Bichromatschwefelsäure mit Hilfe einer Stellspritze praktisch fehlerfrei geschieht. Alle Vermutungen über unzulässig hohe Abweichungen und alle Bemühungen, das Verfahren an dieser Stelle zu bessern, sind unbegründet. Die Richtlinien über die Technik der Blutalkoholbestimmung sollten sich für das Einfüllen der Chromschwefelsäure mit der Verwendung einer Stellspritze begnügen.

IV. Der Einfluß der Verunreinigungen auf die Streuung der Einzelwerte

In den Blindproben wird die eingegebene Chromschwefelsäure um den Verbrauch an Bichromat vermindert, der sich aus dem zweistündigen Aufenthalt der Gefäße bei 60° ergibt. Der Verlust ist auf den oxydativen Abbau von Verunreinigungen zurückzuführen, die selbst nach peinlichster Reinigung stets in den Gefäßen zurückbleiben. Ob in den Alkoholgefäßen ein gleicher Abbau anzunehmen ist, bedarf einer eingehenden Untersuchung. Unterschiedliche Verunreinigungen und Abweichungen des oxydativen Zerfalls können sich auf die Einzelwerte, unter Umständen aber auch auf den Mittelwert auswirken. Mit zunehmender Unsauberkeit steigt die Unsicherheit der Werte.

Nach den Angaben der Arbeitsanweisung soll die Streuung der Blindproben bei exakter Arbeitsweise die Spannweite von 0,04 ml $n/100$ Thiosulfat nicht überschreiten. Für den Einzelwert einer Alkoholbestimmung, die aus 2 Titrationswerten resultiert, bedeutet dies — ganz abgesehen von allen zusätzlichen Fehlern und Abweichungen — eine Streubreite von etwa 0,08 ml $n/100$ Thiosulfat, bei 100 mg Einwaage eine Abweichung von $\pm 0,045$ g-%. Sie liegt an der oberen Grenze des für das Gesamtergebnis noch als zulässig angegebenen Streuungsbereiches.

Aus diesen erheblichen Abweichungen, mit denen die Arbeitsanweisungen rechnen, läßt sich von vornherein entnehmen, daß die größten Unsicherheiten des Verfahrens an dieser Stelle zu suchen sind.

Bei Reinigung der Gefäße mit Wasser sowie destilliertem Wasser und Trocknen bei 120°, wie die Vorschriften es angeben, zeigen sich in den Versuchsreihen recht unterschiedliche und ihrer Größe nach erhebliche Streuungen: 173 Leerwerte nach zweistündigem Aufenthalt bei 60° in Serien von 10—23 Einzelwerten untersucht, ergaben, auf das jeweilige arithmetische Mittel bezogen, Abweichungen von $\pm 0,03$ bis $\pm 0,07$, im Mittel $\pm 0,05$ ml n/200 Thiosulfat. 0,07 ml n/200 Thiosulfat entsprechen bei dreifachem Sigma und 100 mg Einwaage einer Streuung von $\pm 0,12$ g-‰ Alkohol. Die als Mittel gefundene Abweichung von $\pm 0,05$ ml n/200 Thiosulfatlösung ergibt bei gleicher Berechnung eine Streuung von $\pm 0,085$ g-‰. Selbst wenn man in Rechnung stellt, daß die forensisch durchgeführte Blutalkoholbestimmung das Mittel aus 3 Leerwerten und 3 Einzelbestimmungen darstellt, beträgt die Streuung immer noch $\pm 0,1$ bzw. $\pm 0,07$ g-‰. Den zugesicherten Streuungsbereich von $\pm 0,1$ bzw. $\pm 0,05$ g-‰ vermag eine Analyse gemäß den Arbeitsvorschriften nicht einzuhalten.

Nicht ohne Grund hält WIDMARK die Reinigung mit Chromschwefelsäure, das Spülen mit Wasser, destilliertem Wasser, das Durchströmen mit Wasserdampf und die schnelle Trocknung der Gefäße im Vakuum bei niedriger Temperatur für erforderlich. Die Arbeitsvorschriften entfernen sich von der Sorgfalt der Widmarkschen Arbeitsweise. Die Reinigung mit Dichromschwefelsäure wird nur bei erstmaligem Gebrauch, nach längerem Stehen oder bei stärkerer Verunreinigung, aber nicht regelmäßig für notwendig gehalten. Als ausreichend angesehen wird ein gründliches Spülen mit Wasser sowie destilliertem Wasser und ein schnelles Trocknen bei 120°.

Kölbchen, die über Nacht mit Chromschwefelsäure gefüllt und anschließend durch reichliches Spülen mit Leitungswasser sowie destilliertem Wasser gereinigt und in einem Trockenschrank, um nachträgliche Verunreinigungen durch Staubverbrennungen zu vermeiden, bei nur 80° getrocknet wurden, ergaben — 155 Leerwerte in Serien von 10 bis 23 Einzelwerten untersucht — Schwankungen von $\pm 0,01$ bis $\pm 0,027$ ml n/200 Thiosulfat. Diese Werte entsprechen bei 100 mg Einwaage einer Abweichung von $\pm 0,005$ bzw. $\pm 0,015$ g-‰ Alkohol. Das Mittel dieser Untersuchungsreihe lag bei $\pm 0,015$ ml n/200 Thiosulfat bzw. $\pm 0,0085$ g-‰ Alkohol.

Durch die jedesmalige Reinigung mit Chromschwefelsäure wird die Streuung sonach um mehr als das Dreifache verringert. Das Verfahren gewinnt hierdurch erheblich an Sicherheit. Bei zusätzlichem Durchströmen mit Wasserdampf ist eine statistisch gesicherte Verminderung

der Streuung nicht zu erzielen: 114 Kölbchen ergaben im Mittel eine Abweichung von $\pm 0,018$ ml n/200 Thiosulfat. Die zusätzliche Reinigung mit Wasserdampf erübrigt sich also. Das von uns benutzte destillierte Wasser hat einen Reinheitsgrad, der einer Leitfähigkeit von 6×10^{-6} Siemens entspricht.

Tabelle 1. *Einfluß der Reinigung der Gefäße auf Oxydationsverlust und Streuung*

Art der Reinigung	Zahl der Leerwerte	Oxydationszahl in n/200 Thiosulfat	Streuung der Leerwerte in g-% σ_1	Zahl der Alkoholbestimmungen	1 g-% Wert Mittelwert	Streuung der Einzelwerte g-% σ_2	Dreifacher mittlerer Fehler des Mittelwertes $3\sigma_M$	Dreifacher mittlerer Fehler des Mittelwertes aus 3 Alkoholproben und 3 Leerwerten in g-%
1. Heißes Wasser und Aqua. dest.	10	0,27	$\pm 0,040$	12	1,036	$\pm 0,046$	$\pm 0,040$	$\pm 0,106$
2. Heißes Wasser und Aqua. dest.	11	0,14	$\pm 0,028$	12	0,995	$\pm 0,022$	$\pm 0,019$	$\pm 0,062$
3. Oft gebrauchte Chromschwefelsäure, 20 Std, Zimmer-temperatur	10	0,12	$\pm 0,020$	12	0,998	$\pm 0,020$	$\pm 0,006$	$\pm 0,049$
4. Konzentrierte Chromschwefelsäure, 20 Std, Zimmer-temperatur	10	0,09	$\pm 0,015$	12	1,005	$\pm 0,011$	$\pm 0,009$	$\pm 0,032$
5. Konzentrierte Chromschwefelsäure, 20 Std, Zimmer-temperatur	10	0,05	$\pm 0,012$	10	1,008	$\pm 0,009$	$\pm 0,008$	$\pm 0,026$
6. Oft gebrauchte Chromschwefelsäure, 20 Std, 80°	11	0,08	$\pm 0,008$	12	1,000	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$	$\pm 0,016$
7. Oft gebrauchte Chromschwefelsäure, 20 Std, 80°	10	0,06	$\pm 0,006$	11	1,002	$\pm 0,010$	$\pm 0,009$	$\pm 0,020$

Ein brauchbares Maß für die in den Gefäßen zurückgebliebene Verunreinigung ist der Oxydationsverlust der Chromschwefelsäure. Er ergibt sich aus der Titrationsdifferenz des eingegebenen Bichromats vor und nach dem zweistündigen Aufenthalt der Gefäße bei 60°. Je stärker die Verschmutzung, um so größer der Oxydationsverlust. Er ist in

ml $n/200$ Thiosulfat anzugeben. Von dieser „Oxydationszahl“ ist die Streuung der Werte abhängig. Sie läßt sich mit gewisser Annäherung voraussagen und ist eine wertvolle Kontrolle der erreichten Sauberkeit. Bei allen forensischen Untersuchungen ist ein Mindestmaß von Sauberkeit, definiert durch den Oxydationsverlust der Chromschwefelsäure, zu fordern.

Über Versuchsreihen unterschiedlich vorgenommener Reinigung orientiert Tabelle 1. Die Untersuchungen erfolgten im Wasserbad. Die Testlösungen — etwa 100 mg eines $1\text{ g}^{\cdot}0/100$ -igen Wertes — wurden eingewogen. Der in den Blindproben nach zweistündigem Aufenthalt bei 60° eingetretene Oxydationsverlust ist als $n/200$ Thiosulfat angegeben. Er ist, wie die Zahlenreihe zeigt, von der Art der Reinigung abhängig. Bei den mit Wasser und destilliertem Wasser nach Vorschrift gereinigten Gefäßen beträgt der durchschnittliche Bichromatverlust maximal 0,27 ml $n/200$ Thiosulfat. Die Streuungen der Leerwerte und Alkoholproben sind in dieser Reihe erheblich. Der Mittelwert aus

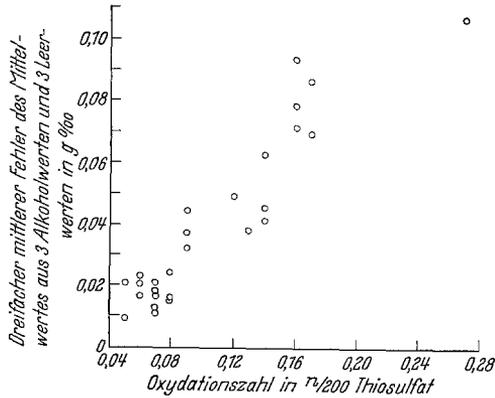


Abb. 4. Abhängigkeit des Mittelwertes von der Oxydationszahl

3 Leerproben und 3 Alkoholbestimmungen ergibt eine dreifache mittlere Streuung von mehr als $\pm 0,1\text{ g}^{\cdot}0/100$. Die Streuung überschreitet die für den $1\text{ g}^{\cdot}0/100$ -igen Wert gültige Zulässigkeitsgrenze von $\pm 0,05\text{ g}^{\cdot}0/100$ um das Doppelte. Sorgfältiger gereinigte Gefäße verringern die Oxydationszahl und damit die Streuung der Blindproben und Alkoholwerte. Bei Anwendung frisch mit konzentrierter Schwefelsäure hergestellter Chromschwefelsäure wird die Oxydationszahl kleiner als 0,1 ml $n/200$ Thiosulfat. Die Streuungen halten sich in zulässigen Grenzen. Oft in Gebrauch genommene Säure verliert durch Wasseraufnahme an Wirksamkeit. Wir verwenden sie, wie die Untersuchungen zeigen, mit gutem Erfolg bei $70\text{--}80^{\circ}$. Die Chromschwefelsäure darf in ihrer Konzentration jedoch die Dichte von 1,7 nicht wesentlich unterschreiten.

Die Abhängigkeit der Streuung von der Oxydationszahl ist in Abb. 4 dargestellt, deren Meßpunkte durch weitere Untersuchungen (s. auch Tabelle 2) vermehrt sind. Aus den hier gezeigten Abhängigkeiten läßt sich die Streuung in gewisser Annäherung voraussagen. Die Reinigung

hat eine Sauberkeit von weniger als 0,1 ml n/200 Thiosulfat anzustreben. Oxydationszahlen über 0,12 ml können bereits zu unzulässig hohen Abweichungen führen.

Der durch die Unsauberkeit bedingte unterschiedliche Abbau der Chromschwefelsäure wirkt sich auf die Differenz der Blindproben zu den Alkoholwerten aus. Bei der Berechnung der Widmark-Werte ist dieser Differenzbetrag bekanntlich durch die Einwaage zu dividieren: Bei höheren Einwaagen fallen die Streuungen demnach weniger ins Gewicht als bei geringeren Substratmengen. Aus diesem Grunde sind die Einwaagen möglichst groß zu wählen. Wir verwenden etwa 120 mg.

V. Der Einfluß der Verunreinigungen auf den Mittelwert

Der oxydative Zerfall der in den Gefäßen zurückgebliebenen Verunreinigungen ist nach zweistündigem Aufenthalt bei 60° noch keineswegs abgeschlossen. Ein stündlicher Vergleich der Abbauwerte folgt dem Kurvenverlauf der Abb. 5.

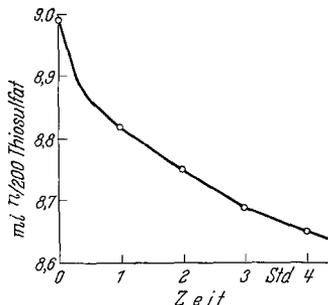


Abb. 5. Oxydativer Abbau der Verunreinigungen in Abhängigkeit von der Zeit

Aus diesem Verhalten ergibt sich die interessante und wichtige Frage, ob das Ausmaß des oxydativen Zerfalls in den Leergefäßen und Alkoholproben wirklich gleichzusetzen ist. Die Differenzanalyse des Verfahrens beruht auf der Voraussetzung eines gleichen Abbaues.

Ein verminderter Abbau in den Alkoholgefäßen würde den Differenzbetrag zu den Leerwerten um diesen unterschiedlichen Abbauwert verringern. Der Alkoholwert würde hierdurch fälschlich zu niedrig bestimmt. Ist der Oxydationsverlust in den Alkoholproben dagegen der höhere, dann würde die Differenz zu Unrecht dem Alkoholabbau zugerechnet werden. Die Werte wären um diesen Betrag zu hoch.

Der Fehler kann unter Umständen bedeutend sein: wollte man in den Blindproben einen Abbauwert von 0,15 ml n/200 Thiosulfat, in den Alkoholgefäßen dagegen eine weit tiefere Zerstörung, von 0,25 ml, annehmen — die Differenz von 0,1 ml n/200 Thiosulfat würde fälschlicherweise als Alkoholabbau gewertet werden. Bei 120 mg Einwaage entspricht dies einem Alkoholwert von 0,044 g-%. Für den 1 g-%igen Wert ergäbe sich ein Fehler von 4,4%, für die 1,5 g-%ige Lösung ein Fehler von 3%.

Über die tatsächlichen Gegebenheiten orientieren die in Tabelle 2 aufgeführten Versuchsreihen, bei denen mit unterschiedlich sauberen

Gefäßen, deren Oxydationszahl angegeben ist, der Ampulleninhalt einer Merckschen 1,5 g-%igen Testlösung in Serien zu je 6 Einzelwerten mehrfach untersucht wurde.

Bei größerer Unsauberkeit wird der 1,5 g-%ige Wert im Durchschnitt um 0,014 g-% oder 1% zu hoch bestimmt. Um diesen Unterschied statistisch zu sichern, hätte es bei der großen Streubreite der verunreinigten Gefäße einer größeren Zahl von Einzelwerten bedurft. Sie sind aus dem Inhalt der Merckschen Ampullen nicht zu gewinnen. Dennoch muß bei der unterschiedlichen Lage der Mittelwerte angenommen werden, daß die Verschmutzungen in den Alkoholgefäßen mehr abgebaut werden als in den Leerproben. Das Widmark-Verfahren erfüllt, wie man vermuten muß, nicht korrekt die Anforderungen, die an eine Differenzanalyse zu stellen sind. Diese überraschende Feststellung ist wohl damit zu erklären, daß der Alkoholabbau auf den oxydativen

Tabelle 2. *Abhängigkeit des Mittelwertes von der Reinigung der Gefäße*

Reinigung der Gefäße	Oxydationszahl (n/200 Thio-sulfat)	Zahl der Einzelwerte	Mittelwert	Streuung des Einzelwertes g-%
Chromschwefelsäure, 20 Std, 80°	0,08	6	1,502	± 0,0045
	0,08	6	1,499	± 0,0032
	0,07	6	1,498	± 0,0076
	0,07	6	1,499	± 0,0072
Mittelwerte	0,075	6	1,500	± 0,0056
Heißes Wasser und Aqua dest.	0,14	6	1,503	± 0,015
	0,14	6	1,513	± 0,018
	0,16	6	1,510	± 0,029
	0,16	6	1,531	± 0,022
	0,17	6	1,522	± 0,039
	0,17	6	1,503	± 0,025
Mittelwerte	0,16	6	1,514	± 0,025

Zerfall der Verunreinigungen übergreift und daß eine saubere Trennung dieser beiden chemisch gleichlaufenden Prozesse nicht stattfindet. Je stärker die Verunreinigung, um so größer die Fehlbestimmung.

Der Fehler ist durch entsprechende Vorbereitung der Kölbchen zu korrigieren. Durch größere Einwaagen ist er klein zu halten. Für die mittleren Werte wird er durch den Widmark-Faktor ausgeglichen, den wir für saubere Gefäße mit entsprechend niedrigen Oxydationszahlen neu bestimmt haben. Hierauf wird noch einzugehen sein.

VI. Fehler und Streuungen beim Einmessen und Einwägen des Substrates

Das Abmessen der Testlösung, der Blut- oder Serummengende durch Pipettieren ist dem Einwägen gegenüber das bequemere und übliche Vorgehen. Es enthält Fehler und eine Vielzahl von Ungenauigkeiten. Von Bedeutung sind die Zuverlässigkeit der Pipetten, ihre Sauberkeit, ihre Auslaufgeschwindigkeit, das individuelle Geschick ihrer Handhabung, die unterschiedlichen spezifischen Gewichte der Seren und die Verschiedenheit der Viscosität der Seren.

Für die Untersuchung standen uns 75 0,1 ml-Pipetten zur Verfügung. Ihr abgemessener Inhalt wurde auf einer Torsionswaage mit einer Empfindlichkeit von 0,01 mg gewogen. 195 verschiedene Seren wurden ausgewertet. Die Menge des Serums, die nach dem Auslaufen in der Pipette zurückbleibt, ist beträchtlich. Das durchschnittliche Gewicht des Pipetteninhaltes beträgt 97 mg. Das bedeutet einen systematischen Fehler von -3% , der sich auf den Mittelwert auswirkt. Die Streuung der Einzelwerte ist demgegenüber geringer. Sie beträgt ± 1 mg, bei dreifachem Sigma ± 3 mg oder $\pm 3\%$. Bei 0,1 ml-Pipetten ist demnach mit einer Gewichtsspanne von 94–100 mg zu rechnen. Die eingemessenen Werte können also um 6% zu tief liegen. Mit den bisher geltenden Zusicherungen über die Verlässlichkeit des Verfahrens sind diese Abweichungen im Hinblick auf alle sonstigen zusätzlichen Fehler und Streuungen nicht zu vereinbaren.

Die Streuungen beim *Einwägen* überprüften wir an dem von WEYRICH angegebenen Vorgehen mit Näpfcheneinsätzen aus Aluminiumfolie, das die Arbeitsanweisung als vorteilhaft empfiehlt. Die Meßgenauigkeit ist von der Gewichtskonstanz der Näpfchen, dem Verdampfungsverlust beim Wägen und der Empfindlichkeit der Waage abhängig.

Das Gewicht der Näpfchen ergab bei 218 Einzelwerten eine mittlere Streuung von $\pm 0,25$ mg. Der Drei-Sigma-Wert liegt bei $\pm 0,75$ mg. Bei 100 mg Einwaage ist sonach mit einer Streuung von annähernd $\pm 1\%$ zu rechnen. Diese Unsicherheit ist durch die Bestimmung des jeweiligen Leergewichtes auszuschalten.

Das Wägen in offenen Schälchen führt bei empfindlichen Waagen zu einem merklichen Verdampfungsverlust. Er beträgt für Serum bei Zimmertemperatur etwa 0,15 mg/min. Bei annähernd gleichen Wägezeiten wird dieser Fehler bedeutungslos.

Für die Genauigkeit der Wägung ausschlaggebend ist die Empfindlichkeit der Waage. Die Richtlinien fordern eine Genauigkeit von 0,5 mg. Bei Differenzwägungen bedeutet dies eine Streubreite von 1%. Um diesen Fehler klein zu halten, sollten die Vorschriften auf größere Empfindlichkeit der Waagen, die mit neueren Modellen bequem und ohne zusätzlichen Zeitverlust zu erreichen ist, bedacht sein. Die von uns benutzte Torsionswaage, Typ 11 der Firma Sartorius, Göttingen, hat eine Empfindlichkeit von 0,01 mg. Bei 100 mg Einwaage bedeutet dies bei zweimaligem Wägen eine Abweichung von etwa 0,02%, die außer Betracht bleiben kann. Bei Beachtung dieser Gegebenheiten ist das Einwägen praktisch fehlerfrei: das Einmessen ist durch Einwägen zu ersetzen.

VII. Methodische Fehler durch Belichtung

WIDMARK gibt die Anweisung, die Kölbchen nach Beschicken mit Chromschwefelsäure im Dunkeln aufzubewahren. Die Arbeitsvorschriften

begnügen sich mit der Forderung, die Kölbchen, vor hellem Tageslicht geschützt, nicht länger als 1 Std stehenzulassen.

Unter der Einwirkung von Licht wird Chromschwefelsäure erheblich und schnell reduziert. Direktes Sonnenlicht — 2 Std Herbstsonne, Zimmertemperatur — verändert das nach Vorschrift eingegebene Bichromat um $2,4 \pm 0,28$ ml n/200 Thiosulfat. Bei 100 mg Einwaage entspricht dies einem Blutalkoholwert von $1,35 \pm 0,16$ g-% (!).

Zweistündiges diffuses Zimmerlicht bewirkt einen Verlust von $0,14 \pm 0,013$ ml n/200 Thiosulfat oder $0,08 \pm 0,007$ g-% Alkohol. Bei völligem Lichtabschluß wird das Bichromat in der gleichen Zeit — der Verunreinigungen wegen — um $0,024 \pm 0,007$ ml n/200 Thiosulfat oder einen Alkoholwert von $0,013 \pm 0,007$ g-% reduziert. Die Einwirkung einer zweistündigen gedämpften Tagesbeleuchtung bewirkt sonach einen Verlust an 6wertigem Chrom, der einem Alkoholwert von etwa $0,07$ g-% entspricht. Für den 1 g-%igen Testwert bedeutet die unterschiedlich lange Verweildauer von 1 Std, mit der nach den Arbeitsvorschriften zu rechnen ist, einen Fehler von 3—4%. Das Verfahren ist an dieser Stelle vorsichtiger zu handhaben, als es die Richtlinien zulassen.

Wir stellen die Gefäße nach Einfüllen der Chromschwefelsäure sofort unter einen entsprechend großen, kastenartigen Holzverschlag, dessen Frontseite durch einen mehrgeteilten schwarzen Vorhang abgeschlossen ist. Aus diesem Lichtschutz werden die Kölbchen, bis sie in den Brutschrank gestellt werden, nur kurzzeitig zum Einfüllen des Substrats herausgenommen.

Nach Zusatz von 25 ml Aqua dest. ist auch bei ungedämpftem Tageslicht der Photoeffekt nicht mehr ins Gewicht fallend. Titrationsen können nunmehr auch bei hellem Licht unbesorgt durchgeführt werden.

VIII. Die Abhängigkeit des Alkoholabbaus vom herrschenden Potential

Die Erfahrung lehrt, daß die Sicherheit der Werte vom Alkoholgehalt abhängt. Niedrigere Werte werden zuverlässiger bestimmt als die höheren. Für niedrige Werte wird eine Streubreite von $\pm 0,05$ g-%, für höhere eine Schwankungsbreite von $\pm 0,1$ g-% angegeben. Diese Abhängigkeit auf Einmeßfehler zurückzuführen, ist nicht angängig: Bei fehlerfreier Einwaage ergab die Testreihe eines 1 g-%igen Wertes — 207mal untersucht — eine mittlere Abweichung von $\pm 0,008$ g-%. Eine 4 g-%ige Testlösung — 71mal in Serien von 14—19 Einzelwerten bestimmt — hatte im Mittel ein Sigma von $\pm 0,028$ g-%. Das ist, dem Alkoholwert entsprechend, etwa das 4fache der Abweichung der 1 g-%-Lösung. Hinter diesen Abhängigkeiten verbergen sich systematische Fehler. Die Kenntnis ihrer Ursachen verschafft einen wichtigen Einblick in das Wesen und die Leistungsfähigkeit des Verfahrens.

Das Widmark-Verfahren beruht auf Gleichgewichtsvorgängen, die sich zwischen dem Alkoholabbau und der Chromschwefelsäure einstellen. Der Endwert ist von der Oxydationsstärke der Chromschwefelsäure abhängig.

Für die Umsetzung der Chromschwefelsäure gilt die folgende Redox-Gleichung:



Das Normalpotential wird mit +1,36 Volt angegeben. Es erfährt durch die Konzentrationen der beteiligten Reaktionspartner eine berechenbare Änderung:

$$E = 1,36 + \frac{0,06}{3} \cdot \log \frac{[\text{HCrO}_4'] \cdot [\text{H}]^7}{[\text{Cr}^{\text{III}}]}$$

für das herrschende Potential sind sonach die Wasserstoffionenkonzentration und das Mischungsverhältnis von 6wertigem zu 3wertigem Chrom maßgebend. Abhängigkeiten bestehen ferner zur Temperatur.

Die Chromschwefelsäure reißt die verdampfende Flüssigkeit an sich und wird dadurch verdünnt. Die Auswirkung auf den Alkoholabbau bedarf der Überprüfung.

Das Chrom^{VI}-Chrom^{III}-Verhältnis wird durch den Alkoholgehalt verändert. Die hierdurch bedingte Potentialeinstellung ist berechenbar. Ihre Auswirkung auf den Alkoholabbau ist dem Experiment zugänglich.

Eingehender Untersuchungen bedarf der Einfluß der Temperatur. Diese Frage ist für die Durchführung des Verfahrens von größtem praktischem Wert. Zu überprüfen ist ferner der zeitliche Ablauf des oxydativen Zerfalls.

VIIIa. Der Einfluß der Einwaage auf den Alkoholabbau

Durch den Wassergehalt der Einwaage erfährt die Chromschwefelsäure eine merkliche Verdünnung. Das p_{H} konzentrierter wäßriger Schwefelsäurelösungen entzieht sich der Berechnung. Welchen Einfluß die Änderung der Konzentration der Chromschwefelsäure auf den Alkoholabbau hat, kann nur experimentell ermittelt werden. Bei Durchführung dieser Untersuchungen ist auf einen stets gleichen Alkoholgehalt der angesetzten Versuchsreihen zu achten. Eingefüllt wurden etwa 9,4 ml nach Vorschrift angesetzter Chromschwefelsäure. Für 100 und 200 mg sowie 100 und 120 mg Einwaage ergaben die Untersuchungen die in Tabelle 3 aufgeführten Differenzen.

Die bei unterschiedlichen Einwaagen erhaltenen Abweichungen liegen außerhalb des Zufalles. Zwischen 99 und 198 mg und 98 und 121 mg Einwaage ergibt sich ein Fehler von 4% bzw. 2%. Um zu reproduzierbaren Werten zu gelangen, sind die Einwaagen auf enge Grenzen festzulegen. Die Arbeitsvorschriften sind entsprechend zu ändern. Wir verwenden vorpipettierte Einwaagen von 120 ± 3 mg.

VIIIb. Der Einfluß des Alkoholgehalts auf Potential und Abbau

Die Menge der Chromschwefelsäure und der zur Untersuchung vorliegende Alkoholgehalt bestimmen das Verhältnis von 6wertigem zu 3wertigem Chrom, um dessen logarithmischen Wert das Potential additiv oder subtraktiv verändert wird. Die Berechnung des $\text{Cr}^{\text{VI}}/\text{Cr}^{\text{III}}$ -Quotienten ergibt sich aus dem Leerwert und dem jeweiligen Endwert der Alkoholtitration. Bei höherem Alkoholgehalt wird mehr Bichromat verbraucht als bei niedrigen Werten. Das Potential ist dementsprechend bei höheren Werten negativer als bei geringeren Eingaben. Die Abhängigkeit des Potentials vom eingegebenen Wert zeigt Abb. 6. Die Abszisse entspricht in Einteilung und Länge einer 10 ml-Bürette. Die vorgegebene Chromschwefelsäure hat einen Titrationswert von 9,5 ml n/200 Thiosulfat. Die Leerwerte liegen bei 9,4 ml. Das den einzelnen Titrationswerten zukommende Potential ist der Kurve zu entnehmen. Im mittleren Teil sind die Abweichungen gering. An den beiderseitigen Enden wachsen die Differenzen steil an.

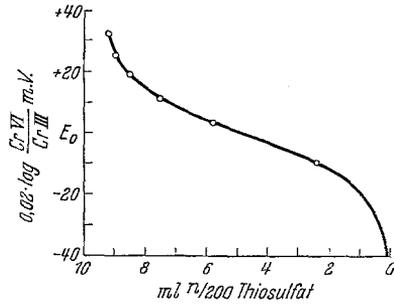


Abb. 6. Die Abhängigkeit des Chromschwefelsäure-Potentials vom Alkoholgehalt

Tabelle 3. Die Abhängigkeit des Alkoholwertes von der Größe der Einwaage

Mittelwert der Einwaage in mg	Testlösung g-‰	Zahl der Einzelwerte	Mittelwert g-‰	Mittlerer Fehler des Mittelwertes σ_M in g-‰	Differenz in g-‰
99,20	1,0	15	1,008	$\pm 0,002$	
198,00	0,5	16	0,968	$\pm 0,001$	0,040
97,92	1,0	15	1,027	$\pm 0,002$	
120,85	1,0	15	1,007	$\pm 0,002$	0,020

Tabelle 4. Änderung des Widmark-Faktors bei einer geometrischen Alkoholverdünnungsreihe

Testlösung g-‰	Zahl der Einzelwerte n	Mittelwert M	Mittlerer Fehler des Mittelwertes σ_M ‰	Potentialdifferenz zu E_0 mV	Widmark-Faktor bei n/100 Thiosulfat	Abweichung vom Faktor 1,13 in %
4	40	3,960	$\pm 0,0022$	- 9,5	1,142	- 0,92
2	27	2,012	$\pm 0,0023$	+ 4	1,124	+ 0,53
1	22	1,007	$\pm 0,002$	+ 12	1,122	+ 0,7
0,5	18	0,512	$\pm 0,002$	+ 18,5	1,104	+ 2,3
0,25	24	0,270	$\pm 0,0025$	+ 23,8	1,046	+ 7,4
0,125	22	0,152	$\pm 0,0016$	+ 31,6	0,930	$\pm 17,7$

Der Einfluß des Potentials auf den Alkoholabbau ist aus der Tabelle 4 ersichtlich, deren Zahlenwerte in Abb. 7 kurvenmäßig als

Abhängigkeit des Widmark-Faktors vom herrschenden Potential dargestellt sind. Untersucht wurde die geometrische Verdünnungsreihe eines 4 g-%igen Wertes. Die Verdünnung erfolgte unter Benutzung einer größeren eichfähigen Pipette. Verdünnungsfehler fallen hierbei nicht ins Gewicht. Die Abweichungen von der eingegebenen Reihe liegen außerhalb des Zufalls.

Die Kurve zeigt den bestimmenden Einfluß des Potentials auf den Abbau. Bei den auftretenden Zerfallsprodukten handelt es sich um chemisch nicht näher definierbare Substanzen. Ihr Mischungsverhältnis bestimmt das potentiometrische Gleichgewicht. Die Vorstellung, daß der Alkohol bis zur Essigsäure abgebaut wird, ist nicht zutreffend.

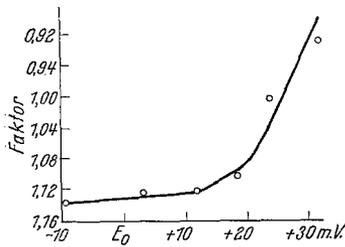


Abb. 7. Abhängigkeit des Widmark-Faktors vom Potential der Chromschwefelsäure

Geradlinige Beziehung zu Art und Menge der Abbauprodukte wird man nicht erwarten dürfen. Mit anwachsendem Potential steigt der Alkoholabbau steil an.

Die vorliegenden Beziehungen rechnerisch zu definieren, verlangt eine größere Untersuchungsreihe, als sie hier vorgenommen wurde. Die Untersuchungen wären von Wert, wenn man sich entschließen wollte, für jeden Alkoholwert den ihm zustehenden Faktor ein-

zusetzen. Dieses Vorgehen würde allerdings das Verfahren in erheblichem Maße komplizieren. Der Fehlerbereich der im mittleren, flachen Teil der Potentialkurve liegenden Werte ist verhältnismäßig klein. In diesen Meßbereich sind die forensisch bedeutsamen Werte zu legen. Eine höhere Einwaage, die auch aus anderen, bereits genannten Gründen anzuraten ist, würde diesem Bestreben entgegenkommen. Zwischen den 1- und 2 g-%igen Werten ist die Fehlerbreite, wenn man von den durch die Zeichnung ausgeglichenen Werten der Kurvenbilder ausgeht, kaum 1%. Dieser Fehler ist hinzunehmen. Bei allen wissenschaftlichen Fragen, insbesondere dem Vergleich von Widmark-Analysen mit anderen Verfahren, wird man sich jedoch dieser konzipierten systematischen Fehler, die bei den beiderseitigen Endwerten erheblich sind, erinnern müssen.

VIIIc. Die Abhängigkeit des Alkoholabbaues von der Zeit

Die Geschwindigkeit des oxydativen Abbaues wird durch die Temperatur und das herrschende Potential bestimmt. Bei tieferer Temperatur und höheren Werten stellt sich das endgültige Gleichgewicht, der Potentiallage entsprechend, erheblich verzögert ein. Über diese Gegebenheiten orientiert Abb. 8, die den zeitlichen Verlauf des Abbaues einer 4- und 2 g-%igen Testlösung nach 1½-, 2- und 3stündigem Ver-

bleib im Wasserbad bei 55, 60 und 65° wiedergibt. Die angegebenen Meßpunkte sind Mittelwerte.

Die 4 g.^{0/100}ige Testlösung erreicht, der niedrigen Potentiallage entsprechend, den Endwert verzögert, bei 65 und 60° schneller als bei niedrigen Temperaturen. Der 2 g.^{0/100}ige Wert hat nach 2 Std in allen Temperaturbereichen sein Maximum erreicht.

Man hat demnach nur bei höheren Werten mit einem nach 2 Std noch nicht voll abgeschlossenen Abbau zu rechnen. Auf die hierdurch möglichen Fehler Rücksicht zu nehmen und das Verfahren allgemein auf längere Versuchszeiten umzustellen, erscheint überflüssig: Für alle forensisch bedeutsamen Alkoholwerte ist das endgültige Gleichgewicht des Alkoholabbaues nach 2 Std bei 60° erreicht.

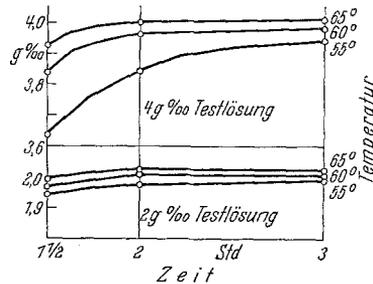


Abb. 8. Einstellung des Gleichgewichtes in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur

VIII d. Die Abhängigkeit des Alkoholabbaues von der Temperatur

Die Einhaltung einer ausreichenden Temperaturkonstanz ist eine technische Frage. WIDMARK hat mit Wasserbädern gearbeitet. Die Arbeitsvorschriften verwenden Brutschränke. Welchem Vorgehen der Vorzug zu geben ist, ist von der Leistungsfähigkeit der einzelnen Modelle und dem Einfluß abhängig, den eine unterschiedliche Erwärmung auf den Alkoholabbau ausübt.

Bei 55 und 65° ergeben sich nach 2stündiger Versuchsdauer signifikante Unterschiede, die Tabelle 5 wiedergibt. Höhere Alkoholwerte verschieben das Cr^{VI}-Cr^{III}-Verhältnis zugunsten von Cr^{III}. Die dadurch bedingte niedrigere Potentiallage erfordert längere Zeiten als die niedrigen Werte, von

denen der 2 g.^{0/100}ige Testwert ein Beispiel ist. Der 4 g.^{0/100}ige Alkohol wird je Grad um 0,4 % seines Wertes, die 2 g.^{0/100}-Lösung um 0,2 % verändert.

Mit welchen Temperaturdifferenzen in Brutschränken und Wasserbädern zu rechnen ist, ist von der Güte der Modelle abhängig. Von

Tabelle 5. Abhängigkeit des Alkoholwertes von der Temperatur

Testlösung	Temperatur	Zahl der Einzelwerte	Mittelwert in g. ^{0/100}	Dreifacher mittlerer Fehler des Mittelwertes 3 σ _M	Differenz	
					in g. ^{0/100}	in %
4	65°	48	4,000	± 0,009	0,156	4
	55°	46	3,844	± 0,01		
2	65°	58	2,015	± 0,007	0,04	2
	55°	46	1,975	± 0,005		

Interesse sind hierbei weniger die Schwankungen der Anzeige- oder Regeltthermometer, die den Anforderungen im allgemeinen gut entsprechen, als die Temperaturunterschiede der einzelnen Standorte. Sie ergeben systematische Fehler, die sich auf die Einzelwerte auswirken. Bei größeren Meßreihen können die Differenzen sich gegenseitig ausgleichen und als zufallsbedingte Streuungen in Erscheinung treten. Das erschwert ihren Nachweis.

In trocken beheizten Schränken muß mit erheblichen Standortdifferenzen gerechnet werden. Die unteren Fächer, die den Heizflächen

Tabelle 6. *Abhängigkeit der Streuung von den lokalen Temperaturdifferenzen bei Brutschrank und Wasserbad*

Alkoholwert in g-%	Thermostat	Zahl der Einzelwerte <i>n</i>	Mittlere Streuung σ	Mittlere Fehler der mittleren Streuung $\sigma\sigma = \frac{\sigma}{\sqrt{2n}}$
4	Turbinenschrank	71	$\pm 0,028$	$\pm 0,0023$
	Wasserbad	40	$\pm 0,014$	$\pm 0,0015$
2	Turbinenschrank	82	$\pm 0,010$	$\pm 0,0007$
	Wasserbad	88	$\pm 0,007$	$\pm 0,0005$

am nächsten stehen, sind wärmer als die oberen. Die hinteren Standreihen und Eckplätze werden mehr beheizt als die vorderen. Neuere Umwälzschränke variieren in ihren Standorttemperaturen bis 3,5°. Modelle ohne Turbinenantrieb arbeiten zuverlässiger. Die maximalen Temperaturdifferenzen sind nicht größer als 2,25°. Wassermantelbeheizte Schränke, deren

Heizflächen 60° nicht überschreiten, halten die Standorttemperaturen innerhalb eines Grades konstant. Die Untersuchungen wurden mit justierten Maximalthermometern durchgeführt, die den einzelnen Gefäßen an unterschiedlichen Standorten während der 2stündigen Versuchsdauer beigegeben wurden.

Bei Wasserbädern ist auf einen flotten Wasserumlauf zu achten; bei Modellen dieser Art sind die Temperaturen praktisch konstant.

In Brutschränken, auch solchen neuerer Konstruktion, wird man sonach mit zusätzlichen Streuungen, die von den lokalen Temperaturdifferenzen abhängen, zu rechnen haben. Ob der Vorteil der Wasserbäder gewichtig genug ist, die Brutschränke für die täglichen Untersuchungen auszuschalten, bedarf einer sorgfältigen Überprüfung. Die uns zur Verfügung stehenden Zahlenwerte eines 4- und 2 g-%igen Wertes — in einem Turbinenschrank und Wasserbad untersucht — sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Bei höheren Werten wirken sich die Temperaturschwankungen stärker aus als bei mittlerem Alkoholgehalt. Die Differenzwerte der 4 g-%igen Lösung sind statistisch gesichert. Die Irrbesserung des 2 g-%igen Wertes ist im Rahmen eines 5%igen Irrtums signifikant. Die durch das Wasserbad erreichten Vorteile sind nicht unerheblich. Bei Verwendung von Brutschränken sind die lokalen

Temperaturdifferenzen zu überprüfen. Die hier mitgeteilten Untersuchungsreihen beziehen sich auf Untersuchungen in einem Umwälschrank, dessen Standorttemperaturen bis $3,5^{\circ}$ differierten. Temperaturdifferenzen von $\pm 1^{\circ}$ dürften unbedenklich sein. In den Turbinenschränken lagen die Untersuchungsreihen in so niedrigen Streuungsgrenzen, daß wir uns bisher nicht haben entschließen können, das Verfahren in seiner täglichen Anwendung auf Wasserbäder umzustellen.

IX. Die Herstellung und Titration der wäßrigen Bichromatlösung

Die Sicherheit der Blutalkoholbestimmung ist von der Zuverlässigkeit des Urtiters abhängig. Fehler bei seiner Herstellung betreffen das gesamte System. Streuungen seiner Titration ergeben Abweichungen der täglichen Reihen.

Die Vorschriften verwenden für die Einstellung des Titors 10 ml $n/100$ Bichromatlösung. Diese Vorlage mit gleichvolumigen Büretten zu titrieren, führt bei allen Werten, die mehr als 10 ml Thiosulfat erfordern, zu Unsicherheiten: Wir verwenden 5 ml $n/200$ Kaliumbichromat, $n/200$ Thiosulfat und 10 ml-Büretten.

Bei der Herstellung der Kaliumbichromatlösung sind die Vorschriften von übertriebener Ängstlichkeit: Die Lösungen sind eigenhändig herzustellen. Die Einwaage des Bichromats wird auf $1/100$ mg angegeben. Die Lösungen sind auch nach sorgfältiger Aufbewahrung grundsätzlich nach 4 Wochen zu erneuern.

Die Verlässlichkeit des Titors wird weniger durch die Genauigkeit der Einwaage als durch die Abweichungen der Titration bestimmt. Selbst bei fehlerfreiem Einmessen ist mit Abweichungen der Titration von durchschnittlich $\pm 0,006$ ml $n/200$ Thiosulfat zu rechnen. Bei 5 ml bedeutet dies eine Streuung von $\pm 0,12\%$. Die Extremwerte eines dreifachen Sigmas liegen bei $\pm 0,36\%$. Bei 3 Mittelwerten beträgt die Sicherheit der Titration $\pm 0,2\%$. Die Vorschriften rechnen, wenn sie das Höchstmaß der Abweichung mit 0,04 ml angeben, mit gleichen Streubreiten. Im Hinblick auf diese unvermeidbaren Unsicherheiten erscheint es wenig sinnvoll, die Einwaage des Bichromats auf eine mehr als 1000fach größere Genauigkeit einzustellen. Wir verwenden Handelspräparate. Sie sind von ausreichender Verlässlichkeit und langer Haltbarkeit. Der Vergleich mit nach Vorschrift hergestellten Bichromatlösungen, die wegen der Schwierigkeit einer genauen Einwaage zweckmäßig mit einem Korrekturfaktor zu versehen sind, ergab keine außerhalb der Streuung liegende Differenz. Um ihre Haltbarkeit zu kontrollieren, wurde jede neuangesetzte Lösung mit dem Rest der alten verglichen. Bei diesem Vorgehen haben wir eine Änderung der Ausgangslösungen über Jahre hinweg nicht feststellen können.

X. Die Haltbarkeit der Thiosulfatlösung

Nach Angaben von TREADWELL (Analytische Chemie, Bd. II, 1946, S. 571) unterliegt eine frisch hergestellte Natriumthiosulfatlösung wegen der im destillierten Wasser enthaltenen Kohlensäure einer schnellen Veränderung. Durch die Bildung von schwefliger Säure soll ihr Titer rasch anwachsen. Nach Verbrauch der Kohlensäure ist das Thiosulfat von unverändert langer Haltbarkeit.

Diese Angaben, die den sofortigen Gebrauch einer frisch hergestellten Natriumthiosulfatlösung verbieten würden, können wir nicht bestätigen: einen Titeranstieg der frisch hergestellten $n/200$ -Lösung haben wir nie feststellen können. Es zeigt sich ein kontinuierlicher

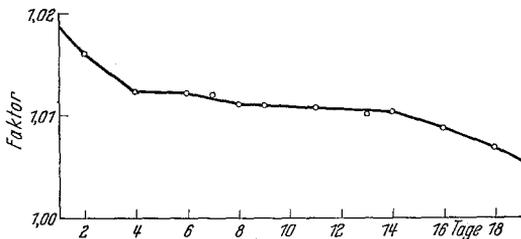


Abb. 9. Abfall des Thiosulfattiters eines größeren Vorrats einer $n/200$ -Lösung

Abfall, dessen Tagesintervalle so minimal sind, daß die Titerstellung am Untersuchungstage, die von den Vorschriften gefordert wird, als ausreichende Sicherheit anzusehen ist.

Bei größerem Ansatz fällt der Titer nur langsam ab. Abb. 9 zeigt

die täglichen Kontrollen einer $n/200$ -Lösung, die jeweils einem größeren, 15 Liter betragenden Vorrat bis zu seinem endgültigen Verbrauch entnommen wurde. Der tägliche Titer läßt sich voraussagen. Der Ansatz einer größeren Menge gebrauchsfertiger Thiosulfatlösung ist ein zweckmäßiges Vorgehen und bequeme Kontrolle der täglichen Werte.

XI. Die Gültigkeit des Widmark-Faktors

Das Verhältnis des Thiosulfatverbrauchs zum Alkoholgehalt der Probe durch einen einzigen Faktor zu erfassen, ist, ohne die Einflüsse auf den Mittelwert im einzelnen genauer festzulegen, nicht möglich. Das gilt insbesondere für die Menge der vorgelegten Chromschwefelsäure, für die Größe der Einwaage und den Alkoholgehalt, die das Potential bestimmen, für die Sauberkeit der Gefäße, die die Differenzanalyse in Frage stellt, und für die Abhängigkeiten von Zeit und Temperatur.

Der Faktor 1,13 hat keine allgemeine Geltung. Er bezieht sich bei 100 mg Einwaage auf einen Alkoholgehalt von 2,26 $g\text{-}^0/_{100}$. Dieser Wert entspricht nicht den forensischen Gegebenheiten. Er ist auf den mittleren Bereich von 1,5 $g\text{-}^0/_{100}$, 120 mg Einwaage, $n/200$ Thiosulfat und definiert saubere Gefäße festzulegen. Wir wählten den Durchschnitt der Werte: 1,4, 1,5 und 1,6 $g\text{-}^0/_{100}$. Als Testlösungen wurden die Kontroll-

lösungen der Firma Merck verwendet. Jeder Ampulleninhalt wurde an verschiedenen Tagen 6mal bestimmt. In der Summe liegen 72 Einzelwerte vor. Untersucht wurde in einem Wasserbad bei 60°.

Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse: Für Werte um 1,5 g-%₀₀ gilt der Faktor 0,555, der deutlich niedriger ist als der von WIDMARK mit 0,565 für n/200 Thiosulfat angegebene Wert. Aus Gründen der Zweckmäßigkeit ist dieser Faktor als konstant anzusehen. Streuungen und Fehler der Methode sind ihm nicht zuzurechnen; sie sind vielmehr auf übliche Weise anzugeben.

Bei Anwendung eines einzigen Faktors werden die höheren Werte, die das Potential erniedrigen, zu tief, die niedrigen Werte dagegen zu hoch bestimmt. Innerhalb der mittleren und forensisch bedeutsamen Werte ist der Fehler gering. Als Beleg diene die Untersuchungsreihe der 0,8- und 1,8 g-%₀₀igen Lösung. Verwendet wurden

Tabelle 7. *Widmark-Faktor bei Alkoholwerten um 1,5 g-%₀₀*

Testlösung g-% ₀₀	Oxydationszahl	Mittelwert aus 6 Einzelwerten	Faktor bei n/100 Thiosulfat	Faktor bei n/200 Thiosulfat
1,6	0,09	1,632	1,108	0,554
	0,09	1,633	1,107	0,553
	0,08	1,615	1,120	0,560
1,5	0,08	1,624	1,113	0,556
	0,06	1,534	1,104	0,552
	0,06	1,523	1,113	0,556
1,4	0,07	1,525	1,112	0,556
	0,07	1,525	1,112	0,556
	0,07	1,416	1,117	0,558
	0,07	1,425	1,110	0,555
Mittelwerte	0,07	1,426	1,109	0,554
		1,422	1,112	0,556

bei sonst gleichem Vorgehen die Testlösungen der Firma Merck. Der Faktor 0,555 bestimmt den 0,8 g-%₀₀igen Wert um 0,7% zu hoch, die 1,8 g-%₀₀ige Lösung um 0,5% zu tief. Die Differenz ist im Rahmen eines 5%igen Irrtums gesichert. Zwischen beiden Werten liegt eine Fehlerbreite von 1,2% (Tabelle 8). Bei Untersuchungsreihen unterschiedlicher Alkoholwerte darf dieser Fehler nicht als eine Zufallsstreuung gewertet werden.

XII. Die Gesamtstreuung des Verfahrens

Einflüsse auf den Mittelwert sind berechenbar, die Lage des Einzelwertes dagegen wird durch Zufälligkeiten bestimmt, deren Streuung durch entsprechendes Vorgehen eingeeengt, aber nicht vermieden werden kann. Das gilt für jede der zahlreichen Teilstreuungen, deren Summe die Gesamtabweichung ausmacht. Ihre Einschränkung setzt ein Vorgehen voraus, das den Abhängigkeiten jedes einzelnen Vorganges angepaßt ist.

Zur Titration verwenden wir n/200 Thiosulfat und 10 ml-Büretten. Die Chromschwefelsäure enthält, der Vorschrift entsprechend, 250 mg Kaliumbichromat in 100 ml konzentrierter Schwefelsäure. Sie wird

mit Stellspritze in einer Menge, die etwa 9,5 ml n/200 Thiosulfat ausmacht, eingegeben. Das Substrat wird eingewogen. Die von uns be-

Tabelle 8. Fehler des Mittelwertes bei unterschiedlichem Alkoholgehalt

Testlösung g-% ₀₀	Zahl der Einzelwerte	Mittelwert	Fehler des Mittelwertes	Differenz zur Testlösung in %
0,8	6	0,805	± 0,005	+ 0,62
	6	0,806	± 0,005	+ 0,75
Mittelwerte	6	0,805	± 0,005	+ 0,7
1,8	6	1,793	± 0,005	- 0,4
	6	1,788	± 0,008	- 0,6
Mittelwerte	6	1,790	± 0,006	- 0,5

Tabelle 9. 1,5 g-%₀₀ Testlösung. Angabe des dreifachen mittleren Fehlers des Mittelwertes bei 6 und 3 Einzelbestimmungen

Oxydationszahl n/200 Thiosulfat	Mittelwert (6 Einzelwerte)	Streuung des Einzelwertes g-% ₀₀	Dreifacher mittlerer Fehler des Mittelwertes g-% ₀₀	Dreifacher mittlerer Fehler des Mittelwertes aus 3 Alkoholproben und 3 Leerproben g-% ₀₀
				g-% ₀₀
0,08	1,502	± 0,004	± 0,005	± 0,007
0,08	1,499	± 0,003	± 0,004	± 0,005
0,07	1,498	± 0,007	± 0,009	± 0,013
0,07	1,499	± 0,007	± 0,009	± 0,012
0,09	1,504	± 0,016	± 0,019	± 0,027
0,09	1,504	± 0,008	± 0,011	± 0,015
0,08	1,489	± 0,004	± 0,005	± 0,005
0,08	1,500	± 0,011	± 0,013	± 0,019
0,06	1,507	± 0,009	± 0,012	± 0,016
0,06	1,498	± 0,011	± 0,013	± 0,019
0,07	1,499	± 0,007	± 0,009	± 0,013
0,07	1,499	± 0,006	± 0,007	± 0,011
0,07	1,492	± 0,011	± 0,013	± 0,019
0,07	1,499	± 0,004	± 0,005	± 0,007
0,07	1,502	± 0,006	± 0,007	± 0,011
0,07	1,496	± 0,011	± 0,013	± 0,019
Mittelwerte	1,499	± 0,008	± 0,010	± 0,014

nutzte Waage ist eine Torsionswaage mit einer Genauigkeit von 0,01 mg. Wir wählten das von WEYRICH angegebene Verfahren. Die Differenz zu dem Leergewicht der Aluminiumnäpfchen wurde jeweils bestimmt. Bei diesem Vorgehen ist die Einwaage praktisch fehlerfrei. Eingegeben wurden 120 ± 3 mg. Für die mittleren und forensisch bedeutsamen Werte um $1,5 \text{ g} \cdot \%_{00}$ gilt der Faktor 0,555. Vor jeder Analyse erfolgt die Reinigung der Gefäße mit konzentrierter Chromschwefelsäure. Oft gebrauchte Chromschwefelsäure verliert durch Wasseraufnahme an Wirksamkeit. Sie kann bis zu einer Dichte von 1,7 während 20 Std bei $70-80^\circ$ benutzt werden. Das Trocknen der Gefäße erfolgt nach gründlicher Reinigung mit Wasser sowie destilliertem Wasser bei Temperaturen unter 100° .

Die erreichte Sauberkeit wird durch den Bichromatverbrauch der Leerwerte kontrolliert. Der Oxydationsverlust ist kleiner als 0,1 ml n/200 Thiosulfat zu halten. Als Lichtschutz ver-

wenden wir einen kastenartigen Holzverschlag, dessen Frontseite durch einen mehrgeteilten Vorhang abgeschlossen ist. Aus diesem werden die Gefäße nur kurzzeitig zum Einfüllen des Substrats herausgenommen.

Benutzt wurden Wasserbäder mit Pumpvorrichtung und flottem Umlauf. Der Urtitler der wäßrigen Bichromatlösung wurde aus n/10 Normallösung der Firma Merck hergestellt.

Die Leistungsfähigkeit des Verfahrens wurde an den Merckschen Testlösungen verschiedenen Alkoholgehaltes, bei denen nach Angabe der Firma mit einer Fehlerbreite von $\pm 0,5\%$ zu rechnen ist, und Seren unbekannter Konzentration, auf die die Praxis oft zurückgreifen muß, überprüft. Tabelle 9 zeigt die Untersuchungsreihe des $1,5 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ igen Wertes. Der dreifache mittlere Fehler des Mittelwertes aus je 6 Alkoholwerten und 6 Leerproben beträgt im Durchschnitt $\pm 0,01 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$. Die an den einzelnen Untersuchungstagen erhaltenen Werte liegen innerhalb dieser Fehlerbreite. Bei 3 Einzelbestimmungen, von denen die forensische Analyse ausgeht, ist mit einem dreifachen mittleren Fehler von $\pm 0,014 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ zu rechnen.

Für den $15 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ igen Wert bedeutet dies eine Abweichung von $\pm 1\%$. Außerhalb dieser Spannbreite sind unter 10000 Untersuchungen nur 27 zu erwarten. Das bedeutet eine überaus große Beweissicherheit. Eine gleiche Zuverlässigkeit hat bisher kein anderes Verfahren aufzuweisen.

Die Auswertung der Untersuchungsreihe eines $1 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ igen Wertes — in Serien von 15—25 Einzelwerten mit je 10 Blindproben 207mal bestimmt — ergab eine Streuung von $\pm 0,008 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$. Bei 3 Einzelwerten ist mit einem dreifachen mittleren Fehler von $\pm 0,014 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 1,4\%$ zu rechnen. Benutzt wurde ein Turbinenschrank.

Eine $4 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ ige Testlösung — 71mal in Serien von 14—19 Einzelwerten mit je 15 Blindproben untersucht — ergab im Mittel eine Streuung von $\pm 0,028 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 0,7\%$. Der dreifache Fehler des Mittels aus je 3 Einzelwerten ergibt $\pm 0,05 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 1,2\%$. Im Wasserbad untersucht — 40 Einzelwerte —, ergibt sich bei je 3 Einzelwerten ein dreifacher mittlerer Fehler von $\pm 0,024 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 0,6\%$.

Vier Serumproben eines Alkoholgehaltes von $1,9\text{—}2,1 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ — je 20—25mal bestimmt, in der Summe 82 Einzelwerte — zeigten, auf das jeweilige arithmetische Mittel bezogen, eine Streuung von durchschnittlich $\pm 0,01 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 0,5\%$. Das Mittel aus je 3 Einzelwerten läßt bei dreifachem Sigma eine Fehlerbreite von $\pm 0,017 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\text{g}^{-1}$ oder $\pm 0,9\%$ erwarten.

Die Fehler und Abweichungen dieser Untersuchungsreihen liegen weit unterhalb des Zulässigen. Sie zeigen die Grenzen des Erreichbaren. Nach Kenntnis der Fehler und zahlreichen Einzelstreuungen, ihrer Einschränkung und Beseitigung erlangt das Verfahren ein Maß von Sicherheit, das den Ansprüchen der Praxis und der Forderung nach wissenschaftlicher Exaktheit in gleicher Weise genügt.