

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Freien Universität Berlin
(Direktor: Prof. Dr. W. KRAULAND)

Apparative Einrichtungen für die Blutalkoholbestimmung

Von

ERNST VIDIC

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 18. Dezember 1958)

Die für die Durchführung von routinemäßigen Blutalkoholbestimmungen nach WIDMARK und nach dem ADH-Fermentverfahren (BÜCHER und REDETZKI bzw. BÖNNICHSEN und THEORELL) notwendige große Zahl von Volumsabmessungen und Wägungen erfordert einen gleichbleibenden hohen Grad von Sorgfalt und Aufmerksamkeit um die Streuung jeder Teiloperation auf ein Minimum herabzudrücken.

Zur Einhaltung einer Streubreite der Einzelbestimmung nach dem Widmark-Verfahren mit 3σ -Werten von $0,05$ — $0,07$ ^{0/00} entsprechend einer Streubreite des Mittelwertes aus 3 Einzelbestimmungen mit 3σ -Werten von $0,035$ — $0,05$ ist eine verhältnismäßig lange Einarbeitungszeit und eine peinlich genaue und rhythmisch gleichmäßige Durchführung der Bestimmungen Voraussetzung.

Es ist nun begreiflich, wenn sich, besonders bei den rein mechanischen Volumsabmessungen, zeitweise Ermüdung und ein Nachlassen der Aufmerksamkeit bemerkbar machen, was schließlich zu einer Vergrößerung der Streubreite führt.

Auf Grund einer Anregung von Herrn Prof. KRAULAND war der Verfasser bestrebt, bei beiden Verfahren vorkommende Volumsabmessungen so weit wie möglich zu mechanisieren, um sie von den Schwankungen in der Sorgfalt und Konzentration des Untersuchers weitgehend unabhängig zu machen. Gleichzeitig war damit auch die Zielsetzung verbunden zu einer zeitlichen Abkürzung der entsprechenden Teiloperation zu gelangen.

Beim Widmark-Verfahren kam eine mechanische Einrichtung bei der Abmessung der Bichromat-Schwefelsäure in Betracht. Für den Wasserzusatz von 25 ml vor der Titration mit Thiosulfat, für welchen keine besondere Genauigkeit zu fordern ist, sind wohl in allen Laboratorien bereits entsprechende Abfüllapparaturen vorhanden.

Da bei hohen Anforderungen an die Genauigkeit der Methode nur die Wägung des Blutes in Frage kommt, verwenden wir für die Bluteinwaage Näpfchen aus Aluminiumfolie nach WEYRICH. Um mit nur einer Wägung auszukommen, werden mit Hilfe einer Stanzmaschine Näpfchen von gleichem Gewicht hergestellt.

Bei der Durchführung des ADH-Verfahrens war es naheliegend, die Abmessungen der Perchlorsäurelösung und der Pufferlösung mechanisch zu gestalten.

1. Apparatur für das Abmessen von Bichromat-Schwefelsäure

Die Schwierigkeit der mechanisch-exakten Abmessung der für das Widmark-Verfahren vorgeschriebenen konz. Schwefelsäure (1,84) mit 0,25 g Kaliumbichromat pro 100 ml Säure lag in der hohen Viskosität der Säure begründet.

Die Umgehung dieser Schwierigkeit durch das Einmessen größerer Volumina wässriger, verdünnter Bichromatlösungen in das Kölbchen, mit nachfolgendem Eintrocknen der Lösungen im Trockenschrank und nachträglichem Zusatz von konz. Schwefelsäure hat den Nachteil, daß die Zahl der Volumensmessungen verdoppelt und ein zusätzlicher Trockenprozeß notwendig wird. Wieweit die Streubreite der Bichromatvorlage durch das letztgenannte Vorgehen verringert wird, ist unseres Wissens noch nicht durch vergleichende Untersuchungen belegt.

Für die Abmessung der fertigen Bichromat-Schwefelsäure werden sowohl Pipetten als auch Glasspritzen besonderer Konstruktion verwendet. Wir benutzten zuletzt eine 2 ml Mikrobürette mit kommunizierendem Gefäß für die Nachfüllung, wobei jedesmal 1 ml der Säure mit möglichst gleicher Geschwindigkeit abgelassen wurde, um den Viskositätsfaktor tunlichst auszuschalten.

Um zu einer vollautomatischen Abmessung zu gelangen, wurden Versuche mit einer Ampullen-Abfüllmaschine durchgeführt. Hierbei zeigte es sich, daß die einer exakten Dosierung entgegenstehende Zähigkeit der

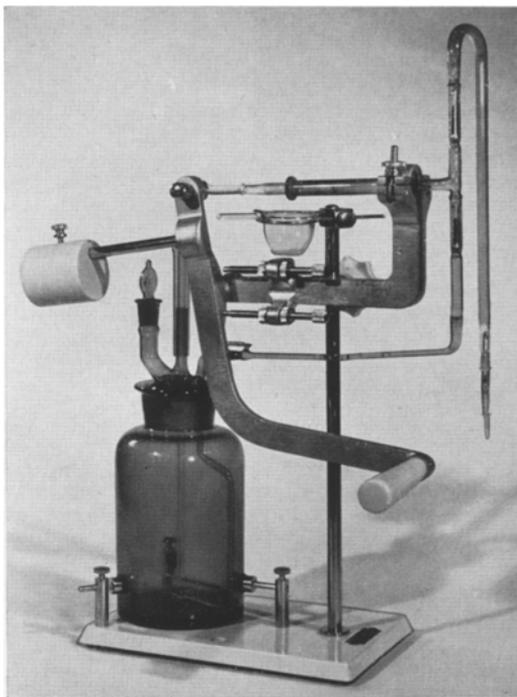


Abb. 1. Apparat für das Abmessen von Bichromat-Schwefelsäure.

Säure durch den Einbau entsprechend schwerer mit Quecksilber gefüllter Glasventile überwunden werden kann. Auf Grund umfangreicher Versuche wurde die in der Abb. 1 abgebildete, durchweg aus braunem Glas konstruierte Apparatur für geeignet befunden, die bisherigen manuellen und halbautomatischen Vorrichtungen zu ersetzen. Die Apparatur wird von der Fa. Theodor Karow, Berlin-Steglitz, Bergstraße 92, hergestellt.

Beschreibung der Apparatur und Arbeitsanweisung

In einer braunen Flasche mit einem Inhalt von 750 ml, welche mit einem Einfüllstutzen und einem einfachen, staubdicht angebrachten Rührer versehen ist, befindet sich der Vorrat an Bichromatschwefelsäure. Mit einem Steigrohr ist der Flascheninhalt über eine Schlißverbindung und das Einlaßventil mit der 2 ml-Glasspritze verbunden. Aus der Glasspritze strömt die Säure durch Betätigung eines mit dem Kolben starr verbundenen Hebelwerkes über das Auslaßventil durch ein nach unten gebogenes Rohr zu einer sehr feinen, abnehm- und auswechselbaren Glasrohrspitze, wo die Säure in dünnem Strahl ausläuft. Nach Gebrauch wird die Glasrohrspitze mit einem aufgeschliffenen Glashütchen verschlossen.

Vor jeder Reihenuntersuchung wird die eingefüllte Bichromatschwefelsäure in der Flasche durch kurze Betätigung des Rührwerkes von Hand aus gut durchgerührt, um für die ganze Dauer der Beschickung der Widmark-Kölbchen eine konstante Zusammensetzung der Säure zu gewährleisten. Sodann wird die Glasrohrspitze abgenommen und das Glasrohrsystem durch etwa 15faches Pumpen mit der Säure des Vorratsgefäßes durchgespült, um Reste der darin vom Vortag verbliebenen veränderten Säure sicher zu entfernen. Bei diesem Spülen wird die Säure nur so rasch durchgedrückt, daß im oberen Bogen des Auslaufrohres noch eine kleine Luftblase verbleibt. Diese Blase bewirkt, indem sie abwechselnd zusammengedrückt wird und sich wieder ausdehnt, ein elastisches Auslaufen der Säure und verhindert beim Zurückgehen des Hebels während des Ansaugens der Säure aus dem Vorratsgefäß das sonst gewöhnlich eintretende leichte Anheben der Säure in der Auslaufspitze. Es ist immer darauf zu achten, daß vor und nach jedem Abfüllvorgang die Auslaufspitze bis an den Rand vollgefüllt ist. Auch geringste Niveauunterschiede erhöhen deutlich die Streuung.

Durch die am Hebelwerk angebrachten Stellschrauben wird das Hebelspiel so eingestellt, daß die auslaufende Säuremenge etwa 1 ml beträgt bzw. dem Volumen der Thiosulfatbürette angepaßt ist.

Das Beschicken der Widmark-Kölbchen geschieht dann in rascher Aufeinanderfolge durch ganz leichtes Niederdrücken des Hebels. Das Gegengewicht am anderen Hebelarm wird so eingestellt, daß der Hebel von selbst langsam wieder in die Ausgangsstellung zurückgeht. Die Auslaufspitze ragt beim Abfüllen in den Widmark-Kolben und wird nach dem Rückgang des Hebels an der Wandung des Kolbens abgestreift. Das Abstreifen kann dadurch erleichtert werden, daß die Spitze von außen hauchdünn eingefettet wird.

Die beschriebene Apparatur wird seit 11 Monaten täglich benützt. Insgesamt wurden seither rund 12000 Einzelbestimmungen und 1500 Leerwerte bestimmt. Die Streuung der Leerwerte, die erfahrungsgemäß hauptsächlich auf die Abweichungen bei der Abmessung der Bichromatschwefelsäure zurückgeht, wurde aus einer Reihe von 40 aufeinanderfolgenden Bestimmungen errechnet und ergab einen 3σ -Wert von 0,033 ml n/100 Thiosulfatlösung oder 0,037 ‰ Alkohol. Die neue Appa-

ratur ermöglichte somit die Abmessung der Säure mit der gleichen Streubreite, wie sie bei sorgfältiger Arbeit mit der Mikrobürette erzielbar ist.

Der Vorteil der mechanischen Vorlage liegt darin, daß stets eine gleichmäßig gute Leistung bei einem Minimum an Zeit und Aufwand von Arbeit und Sorgfalt gewährleistet ist. Die Beschickung von 100 Widmark-Kolben erfordert eine Zeit von nur 35—40 min.

2. Herstellung der Weyrich-Näpfcchen

Für die Fertigung der Näpfcchen wurden Aluminiumfolien $8,5 \times 8,5$ cm der Fa. Merck, Darmstadt verwendet¹. Um eine möglichst gute Gewichtskonstanz der Näpfcchen zu erreichen, erfolgt eine Vorsortierung der völlig flächengleichen Folien durch Gewichtskontrolle. Die Folien werden durch Auswägen in der Weise sortiert und in Stapel aufgeteilt, daß innerhalb eines jeden Stapels Höchstabweichungen von 4 mg vorkommen. Da aus einer Rolle 10 Näpfcchen gestanzt werden, wobei rund die Hälfte der Folie als Abfall zurückbleibt, belaufen sich die Abweichungen zwischen den einzelnen Näpfcchen auf maximal 0,2 mg. Die Streuung der Gewichte weist einen 3σ -Wert von $\pm 0,12$ mg auf, entsprechend 0,12% gerechnet auf 100 mg Bluteinwaage.

Die Stanzmaschine wurde von der Fa. Hamsch & Söhne, Berlin-Schöneberg, Merseburger Str. 3 angefertigt. Sie gestattet die Herstellung eines Näpfcchens mit 14 mm Durchmesser (davon 2 mm Rand) und 5 mm Tiefe mit einer einzigen kurzen Hebelbewegung.

3. Abmessung der Perchlorsäurelösung und der Pufferlösung für das ADH-Verfahren

Für das Abmessen der genannten Lösungen sind bei uns ebenfalls seit 11 Monaten ähnliche Vorrichtungen in Gebrauch wie die beschriebene Apparatur für Bichromatschwefelsäure. Hier genügen jedoch einfachere, nicht in allen Teilen säurefeste Vorrichtungen mit gewöhnlichen Glasventilen. Entsprechend den größeren Flüssigkeitsmengen sind in diese Apparaturen 5 ml-Glasspritzen eingebaut.

Der Zusatz der vorgeschriebenen Menge Perchlorsäurelösung (4,0 ml) sowie auch der Pufferlösung (4,8 ml) wird durch Auswägen der mit der Abfüllmaschine dosierten Flüssigkeiten einreguliert. Entsprechend den spezifischen Gewichten der Lösungen werden die Apparaturen so eingestellt, daß bei jedem Kolbenhub 4,066 g Perchlorsäure bzw. 4,904 g Pufferlösung ablaufen. Die Streuung der Einzelabfüllungen wurde aus Reihen zu 20 Abfüllungen bestimmt. Dabei ergaben sich Streuungen

¹ Die für die Herstellung der Weyrich-Näpfcchen verwendeten Aluminiumfolien sind seit kurzer Zeit bei der Fa. Merck nicht mehr erhältlich. Sie können aber bei der Fa. Willi Fischer, Frankfurt a. M., Kiesstr. 36, bezogen werden.

mit 3 σ -Werten von 0,0294 bzw. 0,0399 g entsprechend 0,72 bzw. 0,81% der gemessenen Menge. Bei dieser für forensische Zwecke genügend hohen Sicherheit von 99,73% ist die festgestellte Streuung als recht günstig zu bezeichnen. Sie ist nur unwesentlich höher als die Streuung bei sorgfältigem Pipettieren, welche ein 3 σ von rund 0,60% besitzt.

Zusammenfassung

Für die Blutalkoholbestimmung nach WIDMARK wird eine vollautomatische Einrichtung zur Abmessung der Bichromatschwefelsäure beschrieben und über die Herstellung praktisch gewichtskonstanter Weyrich-Näpfchen berichtet.

Zur Abmessung der für das Fermentverfahren (ADH) vorgeschriebenen Perchlorsäure- und Pufferlösung werden Ampullenabfüllapparate einfacher Konstruktion vorgeschlagen.

Literatur

BONNICHSEN, R., and H. THEORELL: Enzymatic method for mikrodetermination of ethanol. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **3**, 58 (1951). — BÜCHER, TH., u. H. REDETZKI: Eine spezifische photometrische Bestimmung von Äthylalkohol auf fermentativem Wege. *Klin. Wschr.* **29**, 615 (1951). — DOTZAUER, G., H. REDETZKI, K. JOHANNSMELER u. TH. BÜCHER: Erprobung einer spezifischen Fermentmethode zur Mikrobestimmung von Äthylalkohol. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **41**, 15 (1952). — REDETZKI, H., u. K. JOHANNSMELER: Grundlagen und Ergebnisse der enzymatischen Äthylalkoholbestimmung. *Arch. Toxikol.* **16**, 73 (1956). — WIDMARK, E.: Die theoretischen Grundlagen der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1932. — WEYRICH, G.: Ein vereinfachtes Wägeverfahren für die quantitative Alkoholbestimmung im Blut nach WIDMARK. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **28**, 35 (1937). — Eine automatische Pipette für die Blutalkoholbestimmung nach WIDMARK. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **30**, 1 (1938).

Prof. Dr. ERNST VIDIC, Institut für gerichtliche und soziale Medizin
der Freien Universität, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18