Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin, Bd. 40, S. 318—325 (1951).

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen (Vorstand: Prof. Dr. Dr. E. Weinig).

Eine Methode zur Alkoholbestimmung im Leichenblut.

Von

E. Weinig.

Unter der Vielzahl der Methoden zur Blutalkoholbestimmung für gerichtliche Zwecke hat sich das Verfahren von E. Widmark[21] wegen seiner Einfachheit und hinreichenden Genauigkeit durchgesetzt und seine allgemeine Anerkennung trotz mancher Angriffe bis heute behauptet. Seine Spezifität ist allerdings an bestimmte, streng einzuhaltende Bedingungen und Voraussetzungen geknüpft, da auch andere flüchtige, reduzierend wirkende Substanzen mitbestimmt werden. Wie jedoch bereits E. Widmark[21], E. Sjoevall und E. Widmark[16] und später u. a. K. Wagner[18], E. Weinig[20], H. Elbel[2], H. E. Lemmer[11] und W. Trute[17] festgestellt haben, ist diese Methode bei der Untersuchung von Blut nicht mehr ganz frischer Leichen unzureichend, da die Gefahr der Miterfassung flüchtiger, reduzierender Fäulnisprodukte besteht, die geeignet sind, einen erhöhten Blutalkoholgehalt vorzutäuschen. Bei der Untersuchung von Leichenblut mußten deshalb spezifischere Verfahren angewandt werden. Ihnen haften jedoch wiederum Nachteile an, durch die sie in der gerichtsmedizinischen Praxis keinen Eingang gefunden haben. Das Verfahren von Th. Friedemann und R. Klaas[3] erscheint trotz mancher Vorteile (K. Hinsberg und E. Breutel[7]) nach den Erfahrungen von H. Elbel und W. Trute wegen seiner Umständlichkeit, Langwierigkeit und Subtilität praktisch ungeeignet. Es ermöglicht, ebenso wie das modifizierte Verfahren von Fl. Kozelka und C. H. Hine[10], jeweils nur die Bestimmung eines Wertes. Die Methode von M. Nicloux[13] ist nach H. Elbel und H. E. Lemmer auch noch zu umständlich. Das ebenfalls als spezifisch geltende, einfachere Verfahren von Liebesny[12] in seiner Modifikation nach A. Heiduschka und Steulmann[6] hält nach eigenen, bisher unveröffentlichten Versuchen die Fäulnisprodukte nicht genügend zurück.

Während somit die Methode von Widmark zur Bestimmung des Alkoholgehaltes im Blut von Lebenden als Methode der Wahl angesehen werden kann, ist für die Alkoholbestimmung im Leichenblut bis heute keine befriedigende Lösung gefunden worden.

Der von mir 1936 angegebene Weg der Alkoholbestimmung im Leichenblut ist zwar relativ einfach, bei leichteren Fäulnisgraden noch

anwendbar, aber, da er nur eine Eliminierung der alkalischen und sauren Fäulnisprodukte vorsieht, bei vorgeschrittener Fäulnis nicht mehr ausreichend. Denn bei der Fäulnis werden, wie zahlreiche Arbeiten auf diesem Gebiete zeigen, auch neutrale, flüchtige, reduzierende Stoffe gebildet. Das Ziel vorliegender Untersuchungen war es daher, diese störenden Produkte durch Maßnahmen zu beseitigen, die bei gleichbleibender Einfachheit der Technik eine höhere Spezifität ergaben. Dabei kamen Zusätze bei der sauren oder der alkalischen Destillation im Widmark-Kölbchen in Betracht, die Ketone, Aldehyde und ungesättigte Kohlenwasserstoffe und ihre Derivate zurückhalten.

Nach zahlreichen Vorversuchen mit den verschiedensten Schwermetallverbindungen wurde unsere Aufmerksamkeit wieder auf das Verfahren von FRIEDEMANN-KLAAS gelenkt, das sich bei den vorbereitenden, reinigenden Destillationen in saurer und alkalischer Lösung unter Quecksilbersalzzusätzen auf die Untersuchungen von u. a. G. DENIGÈS[1], K. A. HOFMANN[8], W. SCHLENK und E. BERGMANN, G. GORR und J. WAGNER[4], über die Affinität des Quecksilbers zum Kohlenstoffatom aufbaut. Hiernach werden primäre Alkohole und gesättigte Kohlenwasserstoffe durch Behandlung mit Quecksilbersalzen im sauren oder alkalischen Milieu (außer bei stundenlangem Kochen) praktisch nicht angegriffen, während Ketone, Aldehyde und Stoffe mit ungesättigten Bindungen der cyclischen und acyclischen Reihe in Form von meist unlöslichen und praktisch nicht flüchtigen Verbindungen gebunden werden. Durch die Destillationen bei saurer und alkalischer Reaktion werden auch Basen und Säuren zurückgehalten.

Zum Verständnis des von uns beschrittenen Weges sei hier die Methode von FRIEDEMANN-KLAAS kurz beschrieben.

0,1—1 cm³ Blut werden mit 5 cm³ 10%iger schwefelsaurer Quecksilbersulfatlösung, 5 cm³ 10%iger Natriumwolframatlösung und einer entsprechenden Menge destilliertem Wasser versetzt und davon etwa 30 cm³ abdestilliert. Das Destillat wird dann wiederum mit 5 cm³ schwefelsaurer Quecksilbersulfatlösung und so viel Calciumhydroxydsuspension gemischt, bis deutlich alkalische Reaktion besteht, und dann werden nochmals etwa 30 cm³ abdestilliert. Das zweite Destillat wird dann mit 25 cm³ n/10 Kaliumpermanganatlösung, 10 cm³ 5n-Natronlauge und so viel destilliertem Wasser versetzt, daß die Gesamtmenge 70 cm³ beträgt. Nach 20 min langem Erhitzen im kochenden Wasserbad, anschließendem Abkühlen und Ansäuern mit 10 cm³ 10n-Schwefelsäure wird schließlich der Permanganatverbrauch jodometrisch bestimmt, woraus sich mit einer Konstanten der Alkoholgehalt errechnen läßt.

Prinzip der Methode.

Die Methode von FRIEDEMANN-KLAAS besteht aus zwei Abschnitten: 1. den beiden vorbereitenden Destillationen, 2. der Endbestimmung mittels Kaliumpermanganat. Nach chemischen Überlegungen beruht die Spezifität des Verfahrens auf der chemischen Vorbehandlung bei den

beiden Destillationen, während es weniger von Bedeutung ist, ob die Endbestimmung mit Permanganat oder Bichromat durchgeführt wird. Wenn der Vorteil der Spezifität der Friedemann-Klaasschen Methode mit einer gleichzeitigen Vereinfachung verbunden werden sollte, so mußte die Wirksamkeit der Destillation beibehalten, die Endbestimmung jedoch nach Widmark durchgeführt werden. Nach den von Friedemann und Klaas angegebenen Destillationsbedingungen war dies wegen der allzu großen Verdünnung im Destillat nicht möglich. Die Destillationsbedingungen mußten deshalb hinsichtlich der Ausgangsmenge des Blutes, der Zusätze und der Destillatmenge so variiert werden, daß ein angemessener, aliquoter Teil des Destillats für eine Bestimmung nach Widmark geeignet war. Zwecks weiterer Vereinfachung mußte außerdem angestrebt werden, die zweite Destillation in das Widmark-Kölbchen zu verlegen, so daß sich das Verfahren nunmehr folgendermaßen gestaltete: Destillation des Leichenblutes im Sauren unter Zusatz von Quecksilbersulfat, Widmark-Bestimmung dieses Destillats unter Zusatz von Alkali und Quecksilberchlorid im Näpfchen des Widmark-Kölbchens.

Ausarbeitung der Methode.

Nach dem vorgenannten Plan wurde, unter der freundlichen Mithilfe von Frl. stud. med. G. Neugebauer, durch Reihenuntersuchungen jede einzelne Phase der Abwandlung und Vereinfachung des Verfahrens von Friedemann-Klaas geprüft. Auch ist die Spezifität der Methode durch Zusätze von nichtalkoholischen, flüchtigen, reduzierenden, organischen Substanzen nachkontrolliert worden. Brauchbarkeit und Grenzen dieses Verfahrens sind von W. Schwerd[15] im Rahmen seiner Inauguraldissertation in weiteren, sorgfältig durchgearbeiteten Versuchsreihen an reinen Lösungen, an faulendem Leichenblut mit und ohne Alkoholzusatz festgelegt worden. Als Test für die Wirksamkeit der Destillationsbedingungen wurden meist Acetonzusätze verwendet.

Im einzelnen ergaben sich folgende Fragestellungen:

1. Wasserdampfdestillation oder gewöhnliche Destillation.

Wie zahlreiche vergleichende Destillationen von Blutlösungen mit Alkoholzusätzen bei gleichem Verhältnis zwischen Ausgangsmenge und Destillatmenge ergeben haben, sind Destillationsverluste bei der Wasserdampfdestillation (selbst bei gleichzeitigem Erwärmen des Destillationskolbens auf dem Wasserbad) stets etwas größer als bei Destillationen durch Erhitzen mit einem Mikrobrenner. Ein Auftreten von Röstprodukten (beim direkten Erhitzen), die geeignet wären, einen erhöhten Blutalkoholgehalt vorzutäuschen, ist nicht beobachtet worden.

2. Destillatmenge, Destillationsdauer.

Wie nach physikalisch-chemischen Untersuchungen von S. WEHRLI[19] bekannt ist, werden über 98% einer zugesetzten Alkoholmenge wiedergefunden, wenn 20% des Volumens der Ausgangslösung sorgfältig überdestilliert werden. Unsere Destillationsbedingungen mußten deshalb so eingerichtet werden, daß das Volumen der Bluteinwaage plus Zusatzlösungen nicht mehr als das 5fache der Destillatmenge betrug. Wenn daher von 5 cm³ Blut ausgegangen und 10 cm³ Destillat erzielt werden sollte, so durfte die Menge der zu destillierenden Flüssigkeit nicht mehr als 50 cm³ betragen. Dementsprechend wurden die Zusätze eingerichtet. Hinsichtlich der Destillationsgeschwindigkeit ergaben sich die besten Bedingungen, wenn die Destillation 15—20 min in Anspruch nimmt.

3. Flüssigkeitsmenge bei der isothermen Destillation im Widmark-Kölbchen.

Die Methode von WIDMARK sieht eine Analyseneinwaage von etwa 100 mg Blut vor. Soll die zweite Destillation nach FRIEDEMANN-KLAAS in das Widmark-Kölbchen verlegt werden, so müssen zu einem aliquoten Teil (am besten 0,100 cm³) des ersten Destillats ein Tropfen (= etwa 0,05 cm³) Natronlauge und ein Tropfen (= etwa 0,05 cm³) gesättigte Sublimatlösung zugesetzt werden. Hierdurch ist im Näpfchen eine fast doppelt so große Flüssigkeitsmenge enthalten als sie bei der Originalmethode von WIDMARK vorgesehen ist. Somit erhebt sich die Frage, ob diese besonders große Wassermenge die Oxydationskraft der Bichromat-Schwefelsäure und damit den Thiosulfatverbrauch beeinträchtigt. Wie zahlreiche Untersuchungen bewiesen haben, spielt die vermehrte Wassermenge bei der Bestimmung von alkoholhaltigen Lösungen der verschiedensten Konzentrationen keine nennenswerte Rolle. Dagegen trat eine Verminderung des Thiosulfatverbrauchs dann auf, wenn statt der Blindproben ohne Zusatz solche im Näpfchen angesetzt wurden, denen 0,1 cm³ doppelt destilliertes Wasser zugesetzt war. Diese Differenz, die sich in wenigen Versuchen kaum sicher nachweisen läßt, die sich aber in über 100 vergleichenden Bestimmungen herausgestellt hat, entsprach auf Alkohol umgerechnet im Durchschnitt einem Wert von 0,04‰, d. h. etwa einem Tropfen n/100 Thiosulfatlösung. Diese Betrachtungen wären überflüssig, wenn sich ein Verhältnis von Blutausgangsmenge zu Destillatmenge wie 1:1 ermöglichen ließe. Da aber zum quantitativen Ablauf der ersten Destillation ein Verhältnis von Blutmenge zu Destillatmenge wie 1:2 erforderlich ist, so verdoppelt sich dieser Fehler bei der Berechnung von alkoholfreiem Blut auf 0,08‰. Bedenkt man, daß der Normalblutalkoholgehalt bis 0,05‰ betragen kann, so kann sich in ungünstig gelagerten Titrationsfällen in einem alkoholfreien Leichenblut ein Wert von 0,13‰ oder im extrem ungünstigen Falle bis 0,2‰ ergeben. Will man den Multiplikationsfehler

möglichst niedrig halten, so empfiehlt es sich, bei der Durchführung der zweiten Destillation im Widmark-Kölbchen die Blindproben mit 0,1 cm³ doppelt destilliertem Wassers zu beschicken. Dies ist sogar früher schon einmal von A. Heiduschka und E. Flotow[5], jedoch ohne nähere Begründung, für die übliche Widmark-Bestimmung vorgeschlagen worden.

4. Destillationszusätze.

Da bei der Abwandlung der Methode von Friedemann-Klaas von 5 g Blut ausgegangen werden sollte und wegen der Vermeidung von Destillations- und Multiplikationsfehlern die zu destillierende Flüssigkeits- und Destillatmenge möglichst klein gehalten werden sollte, mußten die Zusätze im Verhältnis zur Bluteinwaage bei der ersten Destillation wesentlich verringert werden. Dabei zeigte es sich, daß die Destillation noch einwandfrei vor sich geht, wenn die von Friedemann-Klaas für 0,1 bis 1 cm³ Blut angegebene Menge von Wolframatlösung beibehalten und die der schwefelsauren Quecksilbersulfatlösung auf 10 cm³ erhöht wird. Der Zusatz von Wolframatlösung als Eiweißfällungsmittel ist nicht unbedingt erforderlich, jedoch wegen der damit zu erzielenden gleichmäßigeren Eiweißgerinnung zweckmäßig.

Bei der Destillation im Widmark-Kölbchen mußte geprüft werden, ob bei den Zusätzen von einem Tropfen gesättigter Sublimatlösung (statt Quecksilbersulfatlösung) plus einem Tropfen 10%iger Natronlauge (statt Calciumhydroxyd) zu 0,1 cm³ Destillat einerseits zugesetzter Alkohol quantitativ übergeht und andererseits nichtalkoholische Stoffe quantitativ zurückgehalten werden. Die Frage mußte deshalb mehrfach mit Aldehyden und Ketonen verschiedener Konzentrationen geprüft werden, da die Reaktion des Quecksilberoxydes mit dem ersten Destillat sich unter den Widmark-Bedingungen bei 60° vollzieht, während sie bei der Methode von Friedemann-Klaas bei 100° abläuft. Zahlreiche Versuche ergaben, daß die Bedingungen am günstigsten sind, wenn die Widmark-Kölbchen bei 60° für $2^1/_2$ Std im Brutschrank verbleiben.

5. Spezifität und Genauigkeit.

Wenn bei der Methode von Friedemann-Klaas von einer „spezifischen" Methode gesprochen wird, so muß man sich darüber klar sein, daß sie in bezug auf Äthylalkohol als nicht streng spezifisch angesehen werden kann, da mit ihr auch andere primäre Alkohole und gesättigte Kohlenwasserstoffe erfaßt werden. Auch wird, wie eigene Versuche ergeben haben, zugesetzter Äther nur zum Teil zurückgehalten. Wenngleich gesättigte Kohlenwasserstoffe bei Fäulnisprozessen entstehen können, so kann man sie nach unseren bisherigen Erfahrungen bei mikrochemischen Untersuchungen von Destillaten als so niedrig einschätzen,

daß ihnen praktisch keine Bedeutung zukommt. Dagegen ist, wie auch von anderer Seite (M. NICLOUX[13], V. M. PALMIERI[14] u. a.) schon beobachtet worden ist, bei starker Fäulnis mit der Bildung von anderen primären Alkoholen, wie z. B. Butylalkohol, Amylalkohol neben Äthylalkohol, zu rechnen.

Über die Genauigkeit der Methode ist zu sagen, daß zugefügte Alkoholmengen mit einer Fehlerbreite von $\pm$ 5% wiedergefunden wurden.

Analysenvorschrift.

a) Erforderliche Lösungen. 10%iges Quecksilbersulfat in 2n-Schwefelsäure (Herstellung nach FRIEDEMANN-KLAAS: 10 g $HgSO_4$ werden in 5,6 cm³ H_2SO_4 und 50 cm³ H_2O gelöst und auf 100 cm³ mit Wasser aufgefüllt), 10%ige wäßrige Natriumwolframatlösung, heißgesättigte, wäßrige Sublimatlösung, 10%ige Natronlauge.

b) Ausführung. 5 g Blut werden in einem 300—500 cm³ fassenden Rundkolben mit eingeschliffenem Destillationsaufsatz mit 5 cm³ Natriumwolframatlösung und 25 cm³ destilliertem Wasser versetzt. Nach kurzem Umschütteln werden 10 cm³ Quecksilbersulfatlösung zugefügt. Nach abermaligem Umschütteln wird die Verbindung mit einem gut arbeitenden Kühler (am besten Schlangenkühler) hergestellt. Die Destillation wird vorsichtig mit Hilfe eines Mikrobrenners durchgeführt, bis 10 cm³ Destillat übergegangen sind, die in einem graduierten Meßgerät aufgefangen werden.

Nach Umrühren oder Umschütteln des Destillats werden 3 Proben von je 0,1 cm³ (Mikropipette!) in die Näpfchen von 3 Widmark-Kölbchen verbracht und hierzu je 1 Tropfen Sublimatlösung und 1 Tropfen Natronlauge gegeben. In die Näpfchen der Blindproben werden je 0,1 cm³ doppelt destilliertes Wasser zugesetzt. Nach $2^1/_2$stündigem Erhitzen bei 60° wird in der nach WIDMARK üblichen Weise verfahren. Der errechnete Alkoholgehalt des Destillats muß mit 2 multipliziert werden, da 0,1 cm³ Destillat 50 mg Blut entspricht.

Erfahrungen mit der Methode.

Die seit einem Jahr gemachten Erfahrungen bei nicht steril aufbewahrten, alkoholfreien Leichenbluten haben gezeigt, daß mit dieser Methode nicht zu beseitigende, flüchtige, reduzierende Substanzen beobachtet werden, deren Menge gering ist und 0,35‰ (als Alkohol berechnet) im allgemeinen nicht übersteigt. Dieser Anstieg trat manchmal schon nach wenigen Tagen auf. Bei Luftzutritt setzte nach 1—2 Wochen ein Abfall bis zu Normalwerten ein.

Dagegen konnte festgestellt werden, daß bei künstlich stark mit Kot verunreinigten Blutproben ein Anstieg erfolgte, der nach wenigen

Tagen Werte bis 0,68‰ erreichte. Um in diesen *extremen* Fällen die Frage zu prüfen, ob die entwickelte Methode dem Verfahren von Friedemann-Klaas hinsichtlich seiner Spezifität ebenbürtig ist, wurden diese Blutproben vergleichenden Untersuchungen unterworfen. Hierbei haben sich nach Widmark, Friedemann-Klaas und nach der angegebenen Modifikation folgende Werte (in Promille Alkohol ausgedrückt) ergeben:

1. Widmark	2. Friedemann-Klaas	3. Angegebene Modifikation	Differenz zwischen 2. und 3.
0,29	0,23	0,21	0,02
0,32	0,28	0,30	0,02
0,60	0,43	0,38	0,05
0,64	0,21	0,23	0,02
0,73	0,23	0,22	0,01
1,42	0,65	0,63	0,02
1,20	0,63	0,68	0,05
1,63	0,42	0,40	0,02
2,08	0,26	0,28	0,02

Aus den Vergleichsbestimmungen läßt sich schließen, daß hinsichtlich der Spezifität zwischen der Friedemann-Klaasschen Methode und der von mir angegebenen Modifikation kein Unterschied besteht. Weiter läßt sich aus den Ergebnissen ableiten, daß bei mit Kot verunreinigten Blutproben mit einer Bildung von Stoffen gerechnet werden kann, die geeignet sind, einen erhöhten Blutalkoholspiegel vorzutäuschen. Diese Stoffe können neugebildeter Äthylalkohol, andere primäre Alkohole, gesättigte Kohlenwasserstoffe oder Stoffe mit Ätherbindung sein. Vermutlich sind es hauptsächlich Äthylalkohol und andere primäre Alkohole.

Nach unseren Erfahrungen ergibt sich die Forderung, grundsätzlich Leichenblutproben so zu entnehmen, daß eine Verunreinigung mit Darmbakterien ausgeschlossen werden kann. Am geeignetsten ist das Blut aus der Vena femoralis, worauf schon u. a. K. Wagner[18] und O. Huber[9] hingewiesen haben. Dabei empfiehlt es sich, das Blut nicht durch Ausstreichen nach der Bauchhöhle hin, sondern durch Eröffnen dieser Vene im Oberschenkelgebiet zu gewinnen.

Schließlich sei ergänzend darauf hingewiesen, daß die angegebene Methode auch für Alkoholbestimmungen im faulen *Leichenharn* geeignet ist.

Zusammenfassung.

Zur Alkoholbestimmung im *Leichenblut* wird eine Methode angegeben, die das Destillationsprinzip von Th. Friedemann und R. Klaas verwendet und die Endbestimmung nach Widmark vorsieht. Sie ist dem Verfahren von Friedemann-Klaas hinsichtlich ihrer „Spezifität" gleichwertig, ihm jedoch an Einfachheit, Zeitersparnis und Zuverlässigkeit überlegen.

Literatur.

[1] Denigès, G.: C. r. Acad. Sci. Paris **126**, 1886 (1898); **127**, 963 (1898). — [2] Elbel, H.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **30**, 218 (1938). — [3] Friedemann, Th., and R. Klaas: J. of biol. Chem. **117**, 47 (1936). — [4] Gorr, G., u. J. Wagner: Biochem. Z. **161**, 488 (1925). — [5] Heiduschka, A., u. E. Flotow: Pharmaz. Z.halle Dtschld **24**, 329 (1933). — [6] Heiduschka, A., u. Steulmann: Pharmaz. Z.halle Dtschld **77**, 405 (1936). — [7] Hinsberg, K., u. E. Breutel: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **31**, 194 (1939). — [8] Hofmann, K. A.: Ber. dtsch. chem. Ges. **33**, 1328, 1340 (1900). — [9] Huber, O.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **37**, 128 (1943). — [10] Kozelka, Fl., and C. H. Hine: Ind. Engng. Chem. analyt. Edit. **13**, 905 (1941). — [11] Lemmer, H. E.: Inaug.-Diss. Heidelberg 1939. — [12] Liebesny: Klin. Wschr. **1928**. — [13] Nicloux, M.: Ann. Méd. lég. etc. **16**, 113 (1936). — [14] Palmieri, V. M.: Verhandlungsber. Bonn 1938, S. 463. — [15] Schwerd, W.: Experimentelle Studien über die Spezifität von Methoden zur Alkoholbestimmung im Leichenblut und über die Alkoholbildung bei der Fäulnis. Inaug.-Diss. Erlangen 1950. — [16] Sjoevall, E., u. E. Widmark: Lunds Univ. Arsskr., N. F. Avd. 2, **25**, 30 (1929). — [17] Trute, W.: Inaug.-Diss. Düsseldorf 1941. — [18] Wagner, K.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 276 (1936). — [19] Wehrli, S.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **31**, 233 (1939). — [20] Weinig, E.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **26**, 293 (1936). — [21] Widmark, E. M. P.: Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Berlin u. Wien 1932.

Professor Dr. Dr. E. Weinig, (13a) Erlangen,
Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität.