

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. W. HALLERMANN)

Systematische Untersuchungen mit dem ADH-Verfahren*

Ein Beitrag zur Spezifität der Methode

Von

J. BERNHEIM, V. SACHS und E. STEIGLEDER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 1. Februar 1962)

Auf die ausgesprochene Gruppenspezifität der für die fermentative Alkoholbestimmung im Blut verwendeten Enzymsysteme ist bereits früher von REDETZKI u. JOHANNISMEIER hingewiesen worden. Obwohl es sich also nicht um einen streng spezifischen Äthylalkoholnachweis handelt, rechtfertigten die experimentellen Untersuchungen verschiedener Autoren (DOTZAUER, REDETZKI, JOHANNISMEIER u. BÜCHER; BARRON u. LEVINE, THEORELL u. BONNICHSEN; BLISS; HOLZER; KLEIN; REDETZKI, JOHANNISMEIER u. DOTZAUER; BONNICHSEN, HALSTRØM, MØLLER u. THEORELL sowie PAULUS u. JANITZKI) mit anderen Alkoholen und faulen Blutproben die Annahme, daß die Fermente die weitaus größte Affinität zum Äthylalkohol haben, wodurch das Verfahren praktisch als äthylalkoholspezifisch gelten dürfte. Etwas skeptischer wird die Äthylalkoholspezifität der Fermentmethode von WEINIG und seinen Mitarbeitern beurteilt, welche die Neubildung von Äthanol und anderen Alkoholen im Leichenblut untersuchten.

Ein eigener Fall, bei dem eine Blutprobe durch Unachtsamkeit mit dem Desinfektionsmittel Sagrotan verunreinigt worden war und bei welcher nach WIDMARK und nach der Fermentmethode extrem hohe Alkoholwerte nachgewiesen wurden, veranlaßte uns, der Frage nach der Spezifität der enzymatischen Alkoholbestimmung noch einmal nachzugehen.

Da uns die Herstellerfirma mitteilte, daß das Sagrotan Methylglykol in erheblichen Mengen enthielte, haben wir, um eine Vergleichsübersicht zu gewinnen, nicht nur Methylglykol, sondern insgesamt 14 verschiedene, in der Technik und Industrie Verwendung findende Alkohole nach der von DOTZAUER u. Mitarb. angegebenen Methode zunächst nur mit dem Ziel untersucht, festzustellen, in welcher Größenordnung diese Stoffe Äthylalkohol vorzutäuschen vermögen.

* Die vorliegende Mitteilung wurde auszugsweise als Vortrag auf dem 5. Internationalen Kongreß für Gerichts- und Sozialmedizin 22.—27. 5. 1961 in Wien gehalten.

Tabelle 1. Übersicht über die Charakteristiken von 14 verschiedenen nach der auf Äthylalkohol geeichten Fermentmethode untersuchten Alkoholen

Name (Synonyma)	Chemische Formel	Vorkommen, besondere Eigenschaften, Verwendungszweck
1. tert. Butylalkohol (tert. Butanol, 2-Methyl-2-propanol, Trimethylcarbinol)	$(\text{CH}_3)_3 \cdot \text{C} \cdot \text{OH}$	Einwertiger, gesättigter, tertiärer Alkohol, Lösungsmittel
2. n-Amylalkohol (1-Pentanol, Butylcarbinol)	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_3 \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Einwertiger, gesättigter, primärer Alkohol, Lösungsmittel
3. Benzylalkohol (Phenylmethanol, Phenylcarbinol)	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Einkernige, aromatische Oxyverbindung, Lokalanästhetikum
4. Methylalkohol (Methanol, Carbinol, „Holzgeist“)	$\text{CH}_3 \cdot \text{OH}$	Einwertiger, gesättigter, primärer Alkohol, Lösungsmittel, <i>giftig!</i>
5. Monoäthanolamin (Äthanolamin, Colamin)	$\text{H}_2\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Biogenes Amin, Alkanolamin indifferent, in Phosphatiden, frei im Gehirn, Dämpfe ätzend!
6. Isobutylalkohol (Isobutanol, 2-Methyl-propanol)	$(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Einwertiger, gesättigter, primärer Alkohol, Lösungsmittel
7. Äthylglykol (Äthylenglykolmonoäthyläther, 2-Äthoxy-Äthanol)	$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Äther der „Cellosolve“-Reihe, Lacklösungsmittel, Reinigungsmittel, Emulsionsstabilisator
8. Sek. Butylalkohol (2-Butanol, Methyläthylcarbinol)	$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_3$	Einwertiger, gesättigter, sekundärer Alkohol. Lösungsmittel für natürliche Harze, Lein- und Ricinusöl, zur Synthese von Netz- und Flotationsmitteln, Reinigungsmittel
9. Methylglykol (Äthylenglykolmonomethyläther, 2-Methoxyläthanol, Methylcellosolve)	$\text{CH}_3 \cdot \text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Äther der „Cellosolve“-Reihe, Lösungsmittel für natürliche und synthetische Harze
10. Glykol (Äthylenglykol, Äthandiol-(1, 2), α , β -Dioxyäthan)	$\text{HO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Zweiwertiger Alkohol, Lösungsmittel für Wachse und Harze, Frostschutzmittel, <i>giftig!</i>

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Name (Synonyma)	Chemische Formel	Vorkommen, besondere Eigenschaften, Verwendungszweck
11. Isopropylalkohol (2-Propanol, sek. Propylalkohol, Iso- propanol, Dimethyl- carbinol)	$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_3$	Einwertiger, gesättig- ter, sekundärer Alko- hol. Gefrierschutz- mittel, Lösungsmit- tel, Extraktions- mittel, Gleitmittel, lokales Antisepticum
12. n-Butylalkohol (1-Butanol, prim. Butylalkohol, Propylcarbinol)	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$	Einwertiger, gesättig- ter, primärer Alko- hol, Lösungsmittel
13. n-Propylalkohol (1-Propanol, Äthyl- carbinol)	$\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$	Einwertiger, gesättig- ter, primärer Alko- hol, Lösungsmittel
14. Allylalkohol (2-Propen-1-ol, Vinylcarbinol)	$\text{CH}_2\text{:CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{OH}$	Einfach ungesättigter primärer Alkohol, schleimhautreizend, unphysiologisch, <i>giftig!</i>

Die verschiedenen Alkohole, die in abgestuften Konzentrationen (100%, 10%, 1%, 0,5% und 0,1%) der enzymatischen Analyse unterworfen wurden, sind in der Tabelle 1 mit ihren wesentlichen Charakteristiken in der Reihenfolge aufgeführt, in welcher sie bei der späteren Untersuchung in zunehmendem Maße Äthylalkohol vorzutauschen vermochten.

Die der Tabelle 2 zu entnehmenden Ergebnisse unserer Untersuchungen lassen sich in bezug auf ihre forensische Bedeutung in vier Gruppen einteilen. Die erste Gruppe (Nr. 1—4 der Tabelle 1) spielt forensisch sicher keine Rolle. Das Fermentsystem spricht auf diese Alkohole kaum an. Nur der etwa 1800ste bis maximal 300ste Teil wird scheinbar als Äthylalkohol nachgewiesen. Auch die zweite Gruppe (Nr. 5—7 der Tabelle 1), bei welcher etwa $\frac{1}{150}$ bis $\frac{1}{130}$ der Ausgangskonzentration als Äthanol vorgetauscht werden, ist für die forensische Praxis noch ohne nennenswerte Bedeutung. Bedenklicher ist es schon bei der dritten Gruppe (Nr. 8—10 der Tabelle 1). Hier wird die Ausgangsmenge zu $\frac{1}{45}$ bis $\frac{1}{30}$ als Äthylalkohol mitbestimmt. Verunreinigungen, die etwa 10% der Gesamtblutprobe ausmachen, können doch schon zu erheblichen, scheinbaren Erhöhungen der Alkoholkonzentration führen. Zu schwerwiegenden Irrtümern muß die Verunreinigung einer Blutprobe mit Stoffen der vierten Gruppe (Nr. 11—14 der Tabelle 1) führen. Sie werden zu etwa $\frac{1}{7}$ bis zur Hälfte als Äthanol nachgewiesen. Schon eine geringfügige Beimengung von 0,1—0,5% zu einer Blutprobe verursacht erhebliche, scheinbare Äthylalkoholspiegelerhöhungen.

Um diese Verhältnisse noch anschaulicher wiederzugeben, haben wir die Ergebnisse graphisch dargestellt (Abb. 1). Dabei wurden den Konzentrationen der untersuchten Alkohole in Prozenten auf der Abszisse die bestimmten scheinbaren Äthylalkoholkonzentrationen in Promille auf der Ordinate zugeordnet. Man erkennt auch hier die durch die Anstiegstendenz der Kurven gegebene Gruppenbildung. Während die gering ansteigenden Kurven der Gruppen 1 und 2 forensisch keine Bedeutung haben, sind die stärker Äthylalkohol vortäuschenden, forensisch relevanten Gruppen 3 und 4 durch einen steilen Anstieg gekennzeichnet.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen lassen keinen Zweifel daran, daß, worauf insbesondere WEINIG und seine Mitarbeiter hingewiesen haben, bei der Untersuchung von Blutproben auf Alkohol auch mit der als spezifisch geltenden Ferment-(ADH-)Methode Äthanol durch andere Alkohole in z.T. forensisch nicht unbedenklichem Maße vorgetäuscht werden kann.

Tabelle 2. *Untersuchung von 14 verschiedenen Alkoholen in 5 verschiedenen Konzentrationen (100%, 10%, 1%, 0,5%, 0,1%) nach der Fermentmethode*

Die Ergebnisse sind in Promille scheinbaren Äthylalkohols angegeben.

Alkohole	Konzentrationen				
	100 %	10 %	1 %	0,5 %	0,1 %
tert. Butylalkohol .	0,63	0,05	—	—	—
n-Amylalkohol . .	0,83	0,18	—	—	—
Benzylalkohol . .	1,33	0,22	—	—	—
Methylalkohol . .	3,06	0,34	—	—	—
Äthylglykol . . .	—	0,76	—	—	—
Monoäthanolamin .	—	0,79	—	—	—
Isobutylalkohol . .	—	0,83	—	—	—
Methylglykol . . .	—	1,31	0,25	0,17	—
sek. Butylalkohol .	—	2,12	0,23	0,13	—
Äthylenglykol . .	—	2,59	0,38	0,22	—
Isopropylalkohol .	—	—	1,35	0,82	0,17
prim. Butylalkohol	—	—	3,36	2,15	0,58
n-Propylalkohol .	—	—	4,40	2,54	0,60
Allylalkohol . . .	—	—	5,40	2,98	0,63

Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte von 3—6 Einzelbestimmungen, deren Streuung bei maximal $\pm 10\%$ lag

Auf die naheliegende Frage, warum und auf welche Weise dies geschieht, vermögen unsere Untersuchungen keine Antwort zu geben. Sie wurden ja auch nicht mit diesem Ziel durchgeführt. Die Annahme REDETZKIS und JOHANNISMEIERS, daß Methylalkohol gar nicht, die gradkettigen, primären Alkohole mit 2—4 C-Atomen mit zunehmender Kettenlänge in abnehmendem Maße und einzelne sekundäre Alkohole sowie diejenigen mit Seitenketten erst bei hohem Fermenteinsatz eben meßbar reagierten, ist nicht befriedigend. Sie trifft auch nur für unsere „Gruppen“ 1 und 4 zu. Warum das zweiwertige Äthylenglykol und der sekundäre Butylalkohol stärker als der animierte Äthylalkohol bzw. das Isobutanol ansprechen und warum die Äther der „Cellosolve“-Reihe deutlich reagieren, läßt sich damit kaum erklären. Wir sind auch nicht

davon überzeugt, daß die Gruppenbildung ein reeller Befund ist. Es ist durchaus denkbar, daß die „Gruppen“ einer kontinuierlichen Reihe weichen, wenn man die Untersuchungen auf mehr Alkohole ausdehnt.

Obwohl es reizvoll wäre, diesen Fragen nachzugehen, scheint uns doch die Aufgabe, Verfahren zur spezifischen Trennung und Bestimmung derartiger Alkohole zu entwickeln, vordringlicher zu sein. Wir haben in dieser Richtung Untersuchungen eingeleitet. Über die Ergebnisse

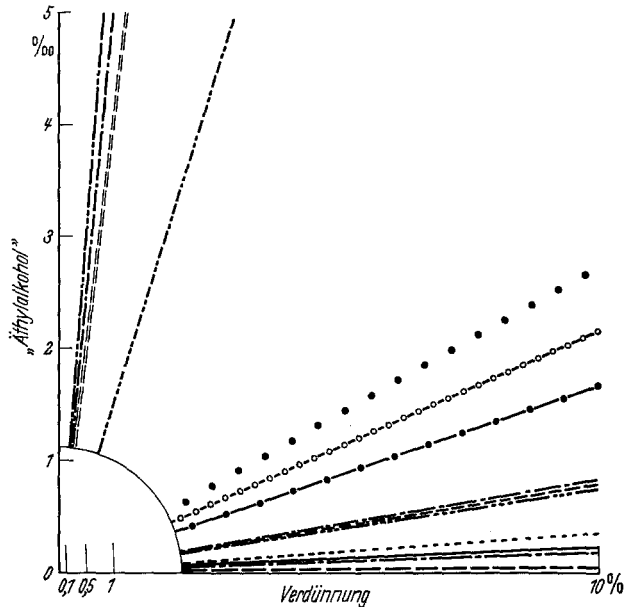


Abb. 1. Graphische Darstellung der Ergebnisse der Tabelle 2. Abszisse: Konzentration der Alkohole in Prozent. Ordinate: vorgetäuschter Äthylalkohol in Promille

unserer Bemühungen, eine auf dem Prinzip der Gaschromatographie aufgebaute, jedoch mit einfachen, in jedem Laboratorium vorhandenen Mitteln auszuführende Trennmethode auszuarbeiten, werden wir zu gegebener Zeit berichten.

Solange jedoch eine solche spezifische Unterscheidung von verschiedenen Alkoholen nicht ohne weiteres möglich ist, wird man trotz der praktischen Äthylalkoholspezifität der Fermentmethode bei vermuteter oder nachgewiesener Verunreinigung der Blutprobe mit bestimmten anderen Alkoholen das Bestimmungsergebnis mit besonderer Vorsicht bewerten müssen.

Zusammenfassung

Die Spezifität des ADH-Verfahrens zum Nachweis von Äthylalkohol wird durch Untersuchung von 14 verschiedenen Alkoholen geprüft und auf die sich daraus ergebenden forensischen Gesichtspunkte hingewiesen.

Literatur

- BARRON, E. S., and S. LEVINE: Oxydation of alcohols by yeast alcohol dehydrogenase and by the living cell. The thiol group of the enzyme. *Arch. Biochem.* **41**, 175 (1952).
- BLISS, A.: Reversible enzymatic reduction of retinene to vitamin A. *Biol. Bull.* **97**, 221 (1949).
- BONNICHSEN, R. K., E. HALSTRØM, K. MØLLER and H. THEORELL: Development of ethanol in Blood samples and human organs during forensic chemical practise. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **9**, 352 (1953).
- — — — Alkohol in post-mortem specimens; comparative determinations by Widmark's and Zeisel-Fanto's methods and by A.D.H. method. *Acta pharmacol. (Kbh.)* **10**, 101 (1954).
- , and H. THEORELL: An enzymatic method for the micro-determination of ethanol. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **3**, 58 (1951).
- DOTZAUER, G., H. REDETZKI, K. JOHANNMEIER u. TH. BÜCHER: Erprobung einer spezifischen Fermentmethode zur Mikrobestimmung von Äthylalkohol. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **41**, 15 (1952).
- HOLZER, H., u. S. SCHNEIDER: Zum Mechanismus der Beeinflussung der Alkohol-oxydation in der Leber durch Fructose. *Klin. Wschr.* **33**, 1006 (1955).
- KLEIN, H.: Zum spezifischen Nachweis des Alkoholgehalts: Essigsäureäthylester und Alkoholgehalt im Blut. *Klin. Wschr.* **33**, 590 (1955).
- PAULUS, W., u. U. JANITZKI: Untersuchungen am Leichenblut nach WIDMARK und nach der ADH-Methode. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **48**, 403 (1959).
- REDETZKI, H., u. K. JOHANNMEIER: Grundlagen und Ergebnisse der enzymatischen Äthylalkoholbestimmung. *Arch. Toxikol.* **16**, 73 (1956).
- u. G. DOTZAUER: Fäulnis und Äthylalkohol. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **41**, 425 (1952).
- THEORELL, H., and R. BONNICHSEN: The mechanism of alcohol dehydrogenase action. *Acta chem. scand.* **5**, 329 (1951).
- — Studies on liver alcohol dehydrogenase. *Acta chem. scand.* **5**, 1105 (1951).
- WEINIG, E., W. SCHWERD u. L. LAUTENBACH: Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen im Leichenblut und ihre forensische Bedeutung. *Beitr. gerichtl. Med.* **21**, 114 (1961).

Dr. J. BERNHEIM,

jetzt: Institut für gerichtliche Medizin der Universität Genf (Schweiz)

Dr. V. SACHS, jetzt: Hygiene-Institut der Universität Kiel

Dr. E. STEIGLEDER,

Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Universität Kiel