

Entwicklung und Validierung einer Methode zur Bestimmung von Begleitstoffen in Serum und Anwendung in einem Trinkversuch zur endogenen Bildung von 1-Propanol

Verena Angerer und Volker Auwärter

Institut für Rechtsmedizin, Forensische Toxikologie, Uniklinik Freiburg

Institut für Rechtsmedizin
Forensische Toxikologie

Einleitung

Die Begleitstoffanalyse ist ein wichtiges Instrument zur Beurteilung der Plausibilität von Nachtrunkbehauptungen. Die wichtigsten Analyten, für die kinetische Berechnungen durchgeführt werden können, sind neben Methanol die beiden Begleitalkohole 1-Propanol und 2-Methyl-1-Propanol (Isobutanol). Dabei spielen sowohl die absoluten Konzentrationen als auch der aus beiden gebildete Quotient eine wichtige Rolle bei der Beurteilung. Somit kann es in entsprechend gelagerten Fällen von großer Bedeutung sein, gegebenenfalls in Anwesenheit von Ethanol endogen gebildetes 1-Propanol zu berücksichtigen. Um der Frage nachzugehen, ob es zu einer endogenen Bildung dieses Begleitalkohols kommen kann, wurde ein Trinkversuch durchgeführt, bei dem ausschließlich begleitstofffreie Getränke konsumiert wurden.

Material und Methoden

Die Methodvalidierung der Headspace-GC-Methode erfolgte an einem Perkin Elmer Gaschromatographen (GC) unter Verwendung einer Kapillarsäule (Restek RTX®-502.2, 60 m, 0,53 mm ID, 3 µm Filmdicke) und einem FID-Detektor. Folgende Analyten werden mit der Methode quantitativ bestimmt: 1-Butanol, 1-Propanol, 2-Methyl-1-butanol, 3-Methyl-1-butanol, Aceton, Isobutanol, 2-Propanol (Isopropanol), 2-Butanon (Methylethylketon) und Methanol. Für die Probenvorbereitung wurde 1 g Natriumsulfat in ein Headspace-Vial vorgelegt und 0,5 ml Serum zugesetzt. Als interner Standard diente tert-Butanol (100 µl, c = 5 mg/l). Die Methodvalidierung erfolgte nach den Richtlinien der GTFCh (Anhang E).

Trinkversuch

Für den Trinkversuch konsumierte ein männlicher Freiwilliger (42 Jahre alt, 75 kg) über einen Zeitraum von ca. 3,5 h insgesamt 400 ml Wodka (Grasovka, 40 Vol%), der mit 400 ml Bitter Lemon vermischt wurde. Im Abstand von ca. 1,5 h wurden über einen Zeitraum von insgesamt 10 h Blutproben entnommen. Um die Begleitstofffreiheit der Getränke zu überprüfen, wurden sowohl der Wodka als auch das Bitter Lemon mittels HS-GC-FID auf Begleitstoffe untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Die Methodvalidierung ergab eine ausreichende Selektivität und Spezifität der Methode. Ebenso zeigten sich bei Testung der Kalibration auf Linearität keine Ausreißer und der Mandel-F-Test (99 % Signifikanz) wurde bestanden. Eine Wichtung der Kalibration war nicht nötig, da die Varianzhomogenität für alle Analyten gegeben war. Die Labor- und die Wiederholpräzision sowie die Richtigkeit lagen für alle Analyten im Bereich von $\pm 15\%$. Ebenso die Genauigkeit, die für alle Analyten innerhalb des Akzeptanzintervalls von $\pm 30\%$ (bzw. $\pm 40\%$ nahe LOD) lag. Die Nachweisgrenze (limit of detection, LOD), die untere Bestimmungsgrenze (lower limit of quantification, LOQ), sowie die obere Bestimmungsgrenze (upper limit of quantification, ULOQ) sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: LOD, LLOQ und ULOQ

	1-Butanol	1-Propanol	2-Butanol	2-Methyl-1-butanol	3-Methyl-1-butanol
LOD [mg/l]	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02
LLOQ [mg/l]	0,05	0,04	0,03	0,05	0,05
ULOQ [mg/l]	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
	Aceton	Isobutanol	Isopropanol	Methyl-ethylketon	Methanol
LOD [mg/l]	0,07	0,01	0,02	0,02	0,06
LLOQ [mg/l]	0,24	0,05	0,05	0,05	0,25
ULOQ [mg/l]	10	2,0	2,0	2,0	20

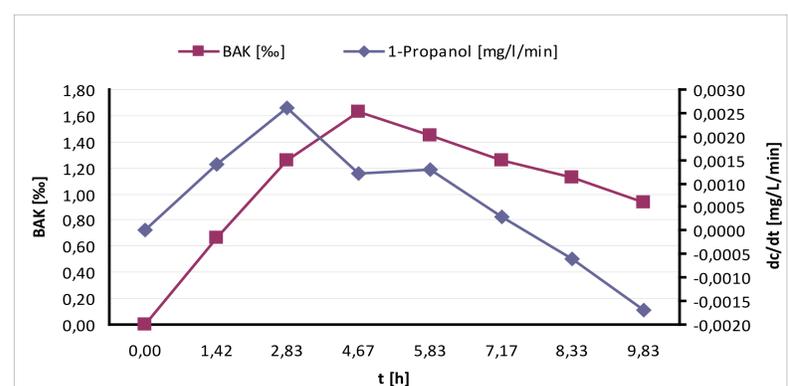


Abb. 1: Zusammenhang BAK-Verlauf und Aufbaugeschwindigkeit (dc/dt) von 1-Propanol (Trinkbeginn: t = 0)

Sowohl Bitter Lemon, als auch Wodka wiesen keine detektierbaren Mengen an 1-Propanol oder Isobutanol auf. Die maximale Blutalkoholkonzentration (BAK) lag während des Experimentes bei 1,63‰ und wurde etwa 4,5 h nach Trinkbeginn erreicht. Die maximale 1-Propanol Serumkonzentration hingegen wurde erst ca. 7 Stunden nach Trinkbeginn erreicht und betrug 0,58 mg/l (BAK zu diesem Zeitpunkt: 1,26‰). Die Aufbaugeschwindigkeit von 1-Propanol im Verlauf des Trinkversuches nahm während der Anflutungsphase von Ethanol rasant zu und erreichte kurz vor dem BAK-Maximum ihr Maximum. Anschließend nahm die Geschwindigkeit wieder ab (s. Abbildung 1).

Schlussfolgerung

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Begleitstoffen in Serum wurde erfolgreich entwickelt, validiert und in einem Trinkversuch zur endogenen Bildung von 1-Propanol angewendet. Das Pilotexperiment zeigte, dass bei einer länger andauernden und hohen Alkoholisierung mit einer relevanten Akkumulation von endogen gebildetem 1-Propanol gerechnet werden muss. Der endogene Aufbau von 1-Propanol wurde bisher in der forensischen Literatur noch nicht beschrieben und könnte je nach Fallkonstellation von erheblicher forensischer Bedeutung sein. Für eine Berücksichtigung bei der Berechnung der Erwartungswertbereiche unter Verwendung der Bonte'schen Abbaukinetiken sind allerdings noch genauere Untersuchungen zur Aufbaukinetik erforderlich. Entsprechende Beiträge müssten dann zumindest bei einer bereits vor der Tat anzunehmenden Alkoholisierung berücksichtigt werden.

Literatur

- GTFCh (2009) Toxichem Krimtech, Band 76, Heft 3, 2009, S. 185-208
- GTFCh (2010), Toxichem Krimtech, Band 78, Heft 1, 2010, S. 16-22
- Bonte, W. (1987), Begleitstoffe alkoholischer Getränke – Biogenese, Vorkommen, Pharmakologie, Physiologie und Begutachtung, Verlag Max Schmidt-Römhild, Lübeck

Kontakt

Verena Angerer
Institut für Rechtsmedizin
Albertstraße 9
79104 Freiburg

verena.angerer@uniklinik-freiburg.de
Telefon: 0176/203-6849

