

JERZY PFEIFFER

O ENZYMATYCZNYM SPOSOBIE BADANIA
TAK ZWANEGO ALKOHOLU NORMALNEGO W KRWI
I O JEGO ZACHOWANIU SIĘ W KRWI *IN VITRO*

Z Zakładu Medycyny Sądowej A. M. w Poznaniu
Kierownik: doc. dr E. Chróścielewski

Tak zwany „normalny” alkohol etylowy występujący w drobnych ilościach w krwi i narządach bez uprzedniego spożycia alkoholu, a którego źródłem w organizmie jest głównie przemiana produktów odżywiania, był przedmiotem licznych badań od chwili wykazania obecności tego alkoholu w tkankach zwierzęcych przez *W. Hutsona Forda* [5] w 1859 roku. Badaniu poddawano: krew, narządy, wydzieliny oraz wydaliny zwierząt i ludzi.

W krwi ludzkiej normalny alkohol został wykazany i oznaczony po raz pierwszy przez *Schweisheimera* [12] w 1913 roku.

Poziom alkoholu normalnego w krwi ludzkiej według niektórych autorów (przeważnie nie podano warunków badania) przedstawia się następująco:

Schweisheimer [12] (1913 r.) 0,02955—0,03686‰

Gettler, Niederl, Benedetti-Pichler [7] (1932 r.)

I	0,045‰	III	0,038‰
II	0,047‰	IV	0,032‰

Harger i Goss [8] (1935 r.) 0,0—0,00027‰

Friedmann i Klaas [6] (1936 r.)

A I	0,0010‰	B I	0,0017‰
A II	0,0015‰	B II	0,0040‰

Hinsberg i Breutel [9] 1939 r.)

(według metody *Friedmanna i Klaas*, u osób na czczo)

A	0,014‰
B	0,014‰

Bücher i Redetzki [3] (1951 r.)

Redetzki i Johannsmeier [11] (1956 r.) 0,0024‰

Lester i Greenberg [10] (1958 r.) 0,0015‰

0,0—0,02‰

Przy tak drobnych ilościach alkoholu metodyka odgrywa zasadniczą rolę, dlatego należy szczególnie podkreślić, że spośród wymienionych autorów

tylko pojedyncze przytoczone tutaj wyniki, podane przez *Büchera* i *Redetzkiego* [3] oraz *Redetzkiego* i *Johannsmeiera* [11] stwierdzone były przy pomocy metody specyficznej dla alkoholu etylowego — „metody ADH”.

Nie tylko metodyka ma znaczenie w omawianych badaniach. Badając dwu lub trzykrotnie poziom alkoholu normalnego w tej samej próbie krwi, w miarę upływu czasu stwierdzałem różne wyniki. Mogło to wskazywać, że alkohol normalny w krwi *in vitro* ulega przemianie.

Wpływ okresu przechowywania próby na wynik oznaczania stwierdzili *Harger* i *Goss* [8] w przypadku badania destylatu z wątroby. Otrzymywali oni rozmaite wyniki w zależności od czasu jaki upływał od pobrania materiału do chwili dokonania destylacji.

Fleischmann i *Trevani* [4] w 1931 roku zaobserwowali, że w krwi *in vitro* zachodzi oksydacyjna przemiana alkoholu etylowego. Autorzy ci stwierdzili, że w miarę upływu czasu, w krwi zawierającej alkohol, następuje stopniowy przyrost aldehydu octowego. Tłumaczyli to zjawisko tym, że elementy upostaciowane krwi utleniają alkohol. Według obserwacji *Trilata* i *Santona* [13], to utlenianie alkoholu ma być następstwem działania powierzchniowego krwinek. W podobny sposób węgiel drzewny, jako substancja kontaktowa, utlenia alkohol etylowy do aldehydu octowego.

Fleischmann i *Trevani* [4] przyjmowali zgodnie z *Warburgiem* [14], że owe procesy spalania, katalizowane są przez te części komórek, które zawierają żelazo. Autorzy ci podają, że w krwi zachodzi zjawisko absorpcji wypierającej, kiedy nawet ślady silnie absorbujących się na powierzchni komórkowej substancji, wypierają inne. Według nich należało przyjąć, że alkohol na powierzchni komórki wypiera inne substancje, w miejsce których jest spalany. KCN w stężeniu 0,005 M ma hamować proces utleniania alkoholu etylowego przez krwinki.

W przeprowadzonych badaniach, opisanych poniżej sprawdzono: a) zachowanie się poziomu alkoholu normalnego w krwi *in vitro*, w miarę upływu czasu, oraz b) starano się wykazać poziom alkoholu normalnego w krwi ludzkiej poddanej badaniu natychmiast po jej pobraniu.

W badaniach posługiwano się zmodyfikowanym przez autora, enzymatycznym sposobem oznaczania alkoholu etylowego, który opracowany był przez *Büchera* i *Redetzkiego* [3] oraz równocześnie przez *Bonnichsena* i *Theorella* [1] w 1951 roku.

Podstawą tej metody (zwanej metodą ADH) jest reakcja przenoszenia wodoru zachodząca pomiędzy specyficznym substratem tj. alkoholem etylowym a koenzymem — dwufosfopirydynonukleotydem (DPN) w środowisku buforu, według schematu:



w warunkach badania, obecny w buforze semikarbazyd wiążący aldehyd octowy, powoduje że reakcja przebiega praktycznie całkowicie w stronę prawą.

Powstający w reakcji DPNH, różni się od DPN właściwością absorbowania światła w ultrafiolecie w paśmie 340 m μ (optyczny test Warburga [15]), co pozwala zmierzyć jego ilość. Przez dokonanie pomiaru ilości DPNH, przy pomocy fotometru, można obliczyć ilość alkoholu obecnego w badanej próbce, na podstawie wykreślenia krzywej wzorcowej.

Drobne ilości alkoholu normalnego w krwi stanowią o tym, że celem wykazania tego alkoholu, należy poddać badaniu stosunkowo dużą ilość krwi.

METODYKA

1. *Sposób badania alkoholu normalnego.* Destylacji poddaje się 7—10 g krwi po zważeniu w zamkniętej probówce, przeniesieniu jej do 250 ml kolby destylacyjnej i po uzupełnieniu 20 ml wody destylowanej gotowanej w otwartym naczyniu. Odbieralnik połączony jest z kolbą destylacyjną ze szlifem za pośrednictwem rurki szklanej długości 45 cm, wewnętrznej średnicy 4 mm, chłodzonej przez chłodnicę wodną długości 30 cm. Kolba destylacyjna ogrzewana jest przez gorące powietrze w ten sposób, że jest ona zawieszona (około 1,5—2 cm) ponad siatką azbestową ogrzewaną palnikiem. W czasie powolnej destylacji trwającej około 45 minut zbiera się 9—12 ml destylatu.

Do naczynka reakcyjnego o pojemności nieco ponad 5 ml z doszlifowaną szklaną zatyczką, zawierającego 2,5 ml buforu * dodaje się 2 ml destylatu, następnie 0,1 ml roztworu DPN ** uzupełnia buforem do 5 ml i zapoczątkowuje się reakcję przez dodanie 0,02 ml roztworu ADH ***. Zawartość parokrotnie miesza się i po 70-cio minutowym czasie reakcji, w ciągu którego próby pozostawia się w cieplarni w temperaturze 21—26°C, dokonuje się pomiaru ekstynkcji w warstwie grubości 1 cm w paśmie 366 m μ ****.

* Skład buforu: 10 g Na₄P₂O₇ · 10H₂O, 2,5 g hydrochlorku semikarbazydu, 0,5 g glikokolu wg Sørensen, rozpuszcza się w aqua bidest. do ogólnej objętości 170 ml i dodaje się 10 ml 2 N NaOH. Roztwór 3 ml tego buforu po uzupełnieniu 2 ml destylatu wykazuje pH około 8,6. Bufor przyrządza się na krótko przed badaniem.

Bufor wg Büchera i Redetzkiego [3] stosowany w metodzie tych autorów, sporządzony jest z wymienionych składników w podanych powyżej ilościach, rozpuszczonych i uzupełnionych wodą podwójnie destylowaną do ilości 300 ml.

** i *** DPN i ADH — preparaty f-my C. F. Boehringer (Mannheim-Waldhof). Roztwór DPN zawiera 13 mg/ml czystego DPN. Zawiesina ADH zawiera do 3000 jednostek enzymu mg proteiny.

**** W tutejszym Zakładzie posługujemy się absorpcjometrem fotoelektrycznym [fotometr Pulfricha z przystawką fotoelektryczną „Wepho” (Zeiss)], przy zastosowaniu lampy rtęciowej HQE 40 i filtrów optycznych UG 2 i WG 2, grubości 2 mm. Z tych powodów pomiarów dokonuje się nie w paśmie 340 m μ , a w paśmie 366 m μ . Wartości ekstynkcji zmierzone w paśmie 366 m μ są o 43,5% niższe niż w paśmie 340 m μ .

Ilość alkoholu oblicza się przez porównanie wartości ekstynkcji badanych prób z wartościami ekstynkcji roztworów wzorcowych.

2. *Materiał.* a) W badaniach, które miały na celu sprawdzenie zachowania się alkoholu normalnego w krwi *in vitro*, w miarę upływu czasu, posługiwano się krwią cielecą, pobraną z przeciętej tętnicy. Krew pobrana od jednego zwierzęcia, była w chwili pobrania rozdzielona do 5 szeregów próbek:

I krew bez dodatków

II krew (około 8 g) + 0,35 ml 0,1 M KCN

III krew (około 8 g) + 0,2 ml 10% szczawianu sodu

IV krew (około 8 g) + 0,2 ml 10% szczawianu sodu
i 0,35 ml 0,1 M KCN

V krew (około 8 g) + 0,2 ml 10% szczawianu sodu

Probówki były wypełnione do 1—2 mm poniżej korka. Dodatek podanych ilości roztworu KCN lub szczawianu w żadnym przypadku nie wywołał widocznej hemolizy.

Szeregi próbek I—IV przechowywane były przez cały czas w lodówce w temperaturze około +5°C. Szereg próbek z krwią oznaczony nr V przechowywany był w temp. 18—20°C. Kolejno poddawano destylacji próby krwi oznaczone: I₁, II₁, III₁ itd. jak podano na tab. 1. Destylaty krwi badano przy pomocy opisanego sposobu.

b) Krew pobraną od ludzi z żyły łokciowej natychmiast wazono i poddawano destylacji. Krew pobierano od ludzi, którzy ostatni posiłek spożyli przed więcej niż 10-ciu godzinami.

3. *Czułość metody ADH.* Redetzki i *Johannsmeier* [11] podają, że przy ustaleniu, że $\lg \frac{I_0}{I} = 0,030$ stanowi dolną granicę zakresu pomiaru ekstynkcji ($d = 1$ cm), w próbie muszą się znajdować następujące ilości alkoholu:

w badaniu według *Bonnichsena* i *Theorella* [1]

2,42 μg alkoholu — 0,746 μg/ml próby

w badaniu według *Büchera* i *Redetzkiego* [3]

1,33 μg alkoholu — 0,264 μg/ml próby

w badaniu według modyfikacji *Brinka*, *Bonnichsena* i *Theorella* [2]

0,91 μg alkoholu — 0,299 μg/ml próby

4. *Zakres błędu metody ADH* — obliczony z kwadratu średniego wychylenia, dla wartości około 10 μg alkoholu w próbie przy posługiwaniu się ADH drożdżową, wynosi około 1%.

WYNIKI

I. 1. Stwierdzono, że przy dodaniu 2 ml destylatu lub wody destylowanej do 3 ml buforu o składzie jak podano poprzednio, pH roztworu wynosi około 8,6.

2. Mimo możliwości przejścia do destylatu oprócz alkoholu również innych ciał, między innymi ciał tłuszczopodobnych (Harger i Goss [8]), badane destylaty bez dodatku enzymów, wykazują minimalną absorpcję światła podobnie jak woda.

3. Stwierdzono na podstawie doświadczeń, że teoretycznie uzasadnione przez Wehrliego [16] prawa, występujące przy destylacji roztworów alkoholu sprawdzają się również w warunkach opisanego badania. Przy oddestylowaniu około 1/3 zawartości kolby destylacyjnej, alkohol ilościowo przechodzi do destylatu.

Destylacji i badaniu poddawano wodne roztwory alkoholu o stężeniu alkoholu od 0,00125‰ do 0,0075‰. Wyniki badania wykazywały zgodność z wynikami badań takich samych ilości roztworów o takim samym stężeniu, nie poddanych destylacji.

Również dodanie określonej ilości alkoholu do odważonej ilości krwi, oddestylowanie i porównanie z odpowiednimi wartościami roztworu wzorcowego i destylatu z tej samej krwi bez dodatku alkoholu świadczy również o całkowitym przechodzeniu alkoholu do destylatu w warunkach podanego badania.

II. Wyniki badania przedstawione na tab. 1 wykazują, że:

1. Poziom alkoholu normalnego w krwi zwierzęcej w wszystkich próbach, tj. w krwi bez jakichkolwiek dodatków oraz w krwi z dodatkiem 0,005 M KCN i szczawianu sodu, w miarę upływu czasu od chwili pobrania, ulega wzrostowi, niekiedy znacznemu, a następnie maleje.

2. Z poprzedniej obserwacji wynika, że dodatek KCN w stężeniu 0,005 M nie wywiera hamującego wpływu na przebieg tego procesu.

3. W krwi przechowywanej w temperaturze około +5°C, po upływie kilkunastu godzin, przyrost alkoholu normalnego bsiąga poziom 2—3 razy wyższy od poziomu wyjściowego.

4. Temperatura w jakiej krew jest przechowywana ma wyraźny wpływ na wysokość przyrostu alkoholu normalnego w badanych próbach krwi. W temperaturze -18—20°C, po upływie około 23 godzin widoczny jest 6-ciokrotny przyrost poziomu w porównaniu z poziomem wyjściowym.

III. Badanie krwi ludzkiej w podany sposób wskazuje, że:

1. Alkohol normalny znajduje się w krwi u osób będących na czczo. Poziom jego, w krwi poddanej badaniu natychmiast po pobraniu wynosił u badanych osób od 0,0013—0,0057‰ (tabl. 2).

2. Dwukrotne i trzykrotne badanie krwi pobranej od jednej osoby, wskazuje że zwykle w miarę upływu czasu od chwili pobrania krwi do czasu przeprowadzonej destylacji, następuje wzrost poziomu normalnego alkoholu podobnie jak stwierdzono to w przypadku badania większej ilości prób krwi od jednego zwierzęcia.

Tabela 1. Zachowanie się alkoholu normalnego, w krwi *in vitro*, w miarę upływu czasu od chwili pobrania krwi a. μg alkoholu w badanej próbie, w przeliczeniu 2 g krwi — 2 ml destylatu. b. Poziom alkoholu w krwi w promilach. c. Odstęp czasu od pobrania do chwili przeprowadzenia destylacji (podany w godzinach).

Table 1. The behaviour of normal alcohol in blood *in vitro* with passage of time since sampling. a. Alcohol, in μg , in the sample, computed on the basis 2 g. blood — 2 ml. distillate. b. Blood alcohol level in pro mille. c. Interval between sampling and distillation, in hours.

	I krew skrzepła przecho- wywana w temp. +5°C. 1)			II krew skrzepła + KCN temp. +5°C. 2)			III krew + szczawian temp. +5°C. 3)			IV krew + szczawian + KCN temp. +5°C. 4)			V krew + szczawian temp. 18—20°C. 3)		
	a.	b.	c.	a.	b.	c.	a.	b.	c.	a.	b.	c.	a.	b.	c.
1	12,29	0,00615	1 ⁰⁰	17,09	0,00855	3 ¹⁰	14,25	0,00713	4 ¹⁰	21,27	0,01064	7 ⁰⁰	26,01	0,0130	8 ⁰⁰
2	21,41	0,0107	8 ⁵⁰	20,50	0,0103	9 ⁵⁰	24,27	0,01213	10 ⁵⁰	28,11	0,01406	11 ⁴⁰	34,78	0,01739	12 ³⁵
3	22,08	0,01104	13 ³⁵	31,45	0,01573	23 ⁰⁰	26,66	0,0133	23 ⁵⁰	33,53	0,01677	24 ⁴⁰	60,00	0,030	25 ³⁰
4	22,79	0,01139	26 ³⁰	29,15	0,01458	27 ³⁰	17,73	0,00887	28 ⁵⁰	32,00	0,0160	30 ⁵⁰	52,40	0,0262	31 ¹⁰
5	11,76	0,00588	32 ⁰⁰	20,73	0,01036	32 ¹⁵	10,17	0,00509	33 ⁵⁰	28,60	0,0143	34 ²⁰	46,55	0,02328	35 ¹⁰
6							8,40	0,00420	49 ⁵⁰	12,40	0,0062	47 ⁰⁰			
7										6,60	0,0033	80 ⁵⁰			

I clotted blood, blood stored at a temperature of 5°C. 1); II - blood + KCN 2); III — blood + oxalate 3); IV — blood + oxalate + KCN 4).

1. Oprócz zestawionych na tabl. 2 wyników badań, przeprowadzono badanie poziomu alkoholu normalnego w krwi u 40 osób będących na czczo, przy czym destylacja przeprowadzona była w rozmaitych odstępach czasu od chwili pobrania krwi. Poziom alkoholu normalnego stwierdzony w tych próbach krwi wynosił od 0,0014—0,0730‰, średnio 0,0084‰.

Tabla 2. a. Poziomy alkoholu normalnego w krwi u ludzi będących na czczo. Krew po pobraniu poddawana była natychmiast destylacji. b. Poziomy alkoholu normalnego w krwi ludzkiej, badanej po upływie czasu od chwili pobrania, przechowywanej w rozmaitych warunkach.

Table 2. a. Blood normal alcohol levels on fasting. The blood was distilled immediately on sampling. b. Human-blood normal alcohol levels as determined in samples after storage varying in duration and conditions.

a.				b.					
		godz. pobrania krwi 1)	destylacja 2)	% alkoholu norm. w krwi 3)		godz. pobrania krwi 1)	destylacja 2)	% alkoholu norm. w krwi 3)	
1	Dmc. ♂	8 ³⁰	natychmiast	0,0016	1	Slg. ♀	9 ³⁰	natychmiast	0,0057
2	Brs. ♀	8 ⁴⁵	„	0,0013	2	„	10 ³⁰	0,0084	
3	Skp. ♀	8 ²⁰	„	0,0015	3	„	15 ³⁰	0,0097	
4	Ptr. ♂	8 ¹⁰	„	0,0019	4	Krp. ♀	10 ³⁰	natychmiast	0,0027
5	Ptc. ♀	8 ²⁰	„	0,0018	5	„	11 ³⁰	0,0033	
6	Brc. ♂	8 ³⁰	„	0,0018	6	„	16 ³⁰	0,0097	
7	Wśn. ♀	8 ³⁰	„	0,0028	7	Wrb. ♀	9 ⁰⁰	natychmiast	0,0025
8	„	10 ⁴⁵	„	0,0026	8	„	17 ³⁰	0,0039	
9	Nzn. ♂	8 ³⁰	„	0,0018	9	„	20 ⁴⁰	0,0024	
10	„	10 ²⁰	„	0,0015	10	Nwc. ♂	7 ¹⁰	12 ⁰⁰	0,0046
11	Skc. ♂	8 ⁰⁵	„	0,0031	11	„	17 ¹⁰	0,0104	
12	„	10 ⁴⁰	„	0,0015	12	Swr. ♂	6 ⁵⁰	12 ⁵⁰	0,0027
13	Słg. ♀	9 ³⁰	„	0,0057	13	„	18 ¹⁵	0,0038	
14	Krp. ♀	10 ³⁰	„	0,0027	14	Pwl. ♂	7 ⁰⁰	13 ⁵⁰	0,0041
15	Wrb. ♀	9 ³⁰	„	0,0025	15	„	19 ¹⁰	0,0150	

Hour of sampling 1); Distillation 2); Blood normal alcohol in ‰ 3).

DYSKUSJA

Powyżej przedstawione dane świadczą, że poziom alkoholu normalnego, obecnego zwykle w krwi ludzi i zwierząt, może ulegać nawet dużym zmianom w miarę upływu czasu od chwili pobrania krwi.

Niski poziom alkoholu normalnego w krwi powoduje, że badaniu musi być poddana odpowiednio duża ilość krwi względnie — jak w przeprowadzonych badaniach, destylat odpowiadający proporcjonalnie dużej ilości krwi.

Sposób podany przez *Büchera* i *Redetzkiego* [3], w którym bada się przy pomocy enzymów 0,1 ml pozostałości krwi odbiałzonej kwasem nadchlorowym (0,5 ml krwi i 2 lub 4 ml 3,4%-owego kwasu nadchlorowego) nie może mieć zastosowania do omawianego celu z powodu zbyt małej ilości krwi poddanej badaniu ($\frac{1}{50}$ do $\frac{1}{90}$ ml), natomiast zwiększenie ilości badanego roztworu: odbiałzona krew — kwas nadchlorowy, powoduje zmianę pH buforu, uniemożliwiając przeprowadzenie badania.

Ilości — 2 ml badanych destylatów. odpowiadają ilości około 1,5—2 g krwi, tj. około 75—180 razy więcej niż w metodzie podanej przez *Büchera* i *Redetzkiego* [3].

Dodanie surowicy bezpośrednio do buforu w proporcjach 0,4 ml surowicy i 4,5 ml buforu — jak to próbowali robić *Bücher* i *Redetzki* [3] — przy badaniu w warstwie grubości 1 cm, powoduje absorpcję różnego stopnia monochromatycznego światła długości 366 m μ . Ilość alkoholu, jaka znajduje się w 0,4 ml surowicy jest często mniejsza od zakresu czułości metody.

Redetzki i *Johannsmeier* [11] w swojej pracy o metodzie ADH wspominają o poziomie alkoholu normalnego w krwi, nie podając szczegółowego sposobu jego badania*.

Oryginalny sposób *Bonnichsena* i *Theorella* [1], w którym poddaje się destylacji drobne ilości krwi z 2 ml kolbki destylacyjnej w termostacie w temperaturze 150°C, mógłby być stosowany w celu wykazania i ilościowego oznaczenia normalnego alkoholu, jeśli destylacji podda się odpowiednio dużą ilość krwi.

Sposoby badania, podane przez wymienionych autorów, opracowane były dla celów sądowo-lekarskiego badania krwi, a więc do wykazania większej ilości alkoholu.

Dla uzasadnienia sposobu badania i ilości badanego destylatu przypomnę, że krzywa wzorcowa ekstynkcji prób zawierających wzorcowe ilości alkoholu, ma przebieg prostoliniowy dla ilości do 45 μ g alkoholu obecnego w badanej próbce. Średnie wartości znajdują się w optimum warunków pomiaru.

Podane poziomy normalnego alkoholu w krwi ludzkiej zawarte w gra-

* *H. Redetzki, K. Johannsmeier*; Arch. f. Toxikologie, 16. str. 76. 1956 r.: „Mit einer variierten Methodik, die eine etwa hundertfache Erhöhung des Substrateinsatzes gegenüber der Routinemethode gestattet, finden wir einen Nüchternalkoholgehalt von etwa 0,0015‰”.

nicach od 0,0013—0,0057‰ (w przytoczonych przypadkach) — odpowiadają ilości od około 2 µg do 10 µg alkoholu w 2 ml destylatu.

Zachowanie się alkoholu normalnego *in vitro*, szczególnie przyrost jego poziomu jest, wydaje się, wyraźnym dowodem jego endogennego charakteru, tj. dowodem jego powstawania w procesie przemiany materii.

Wyniki systematycznego sprawdzenia zachowania się poziomu alkoholu normalnego poza ustrojem, w krwi zwierzęcej, są zgodne z obserwacjami dotyczącymi krwi ludzkiej.

Ю. Пфейффер

О ЭНЗИМАТИЧЕСКОМ СПОСОБЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ТАК НАЗЫВАЕМОГО
НОРМАЛЬНОГО АЛКОГОЛЯ В КРОВИ И О ЕГО СОСТОЯНИИ
В КРОВИ *IN VITRO*

Резюме

Представлен способ исследования нормального алкоголя в крови, основанный на „методе АДН“ по Бюхеру и Редетскому, при соответственно измененном образе действия именно, кровь подвергается дистилляции и исследуется количество дистиллятов, соответствующее примерно 1,5—2 г крови.

Установлено, что уровень нормального алкоголя в крови *in vitro*, с течением времени повышается, а затем снижается, и что 0,005 м KCN не влияет тормозяще на этот процесс. Температура, в какой кровь хранится, имеет отчетливо выступающее влияние на повышение уровня нормального алкоголя *in vitro* по мере истечения времени.

Уровень нормального алкоголя в крови у людей, которые были натощак, если кровь исследовалась немедленно после взятия ее, в приведенной сводке пятнадцати случаев равнялся от 0,0013 до 0,0057‰. В сорока других пробах крови, тоже взятой у людей натощак, когда кровь исследовалась в разные промежутки времени после взятия ее, уровень нормального алкоголя составлял от 0,0014 до 0,0730‰, в среднем 0,0084‰.

Характер состояния нормального алкоголя в крови вне организма может свидетельствовать о том, что он эндогенного происхождения.

J. Pfeiffer

ENZYMATIC DETERMINATION IN BLOOD OF THE SO-CALLED
NORMAL ALCOHOL. AND ITS BEHAVIOUR IN BLOOD IN VITRO

Summary

The paper describes determination of normal alcohol in blood on the basis of the Bucher and Redetzki „ADH method“ with a modified procedure, in which the blood is distilled and volumes of the distillate corresponding to roughly 1.5—2 g. of blood, analyzed.

In vitro, the level of normal alcohol in blood was found first to rise and then to fall with the passage of time. This process was not inhibited by 0.005 M KCN. Blood storage temperature clearly affected the rise of the level of normal alcohol.

The level of normal alcohol was in blood, taken on fasting and immediately investigated, between 0.0013 and 0.0057‰ in the fifteen cases tabulated. In 40 other cases, where the blood also was taken on fasting but investigated after varying intervals, the level of normal alcohol was between 0.0014 and 0.0730‰ average 0.0084‰.

The blood normal alcohol's behaviour in vitro suggests for it endogenic origin.

PIŚMIENICTWO

1. *Bonnichsen R., Theorell H.*: Scand. J. of Clin. a. Lab. Investig. 1951, 3, 58.
2. *Brink W., Bonnichsen R., Theorell H.*: Acta Pharmacol. et Toxicol. 1954, 10, 223.
3. *Bücher Th., Redetzki H.*: Klin. Wschr. 1951, 29, 615.
4. *Fleischmann W., Trevani E.*: Biochem. Z. 1931, 332, 123.
5. *Ford H. W.*: J. of the Society 1859 r. cytowane według Ford H. W. 1906. 34. 430.
6. *Friedmann Th., Klaas R.*: J. Biol. Chem. 1936, 115, 47.
1936, 115, 47.
7. *Gettler A. O., Niederl J. B., Benedetti-Pichler A. A.*: J. Amer. Chem. Soc. 1932, 54, 1476.
8. *Harger R. N., Goss A. J.*: Am. J. Physiol. 1935, 112, 374.
9. *Hinsberg K., Breutel E.*: Deutsch. Z. gerichtl. Med. 1939, 31, 194.
10. *Lester D., Greenberg L.*: Quart. J. Stud. Alc. 1956, 19, 331.
11. *Redetzki H., Johannsmeier K.*: Arch. f. Toxikologie 1956, 16, 73.
12. *Schweisheimer W.*: Deutsch. Arch. Klin. Med. 1913, 109, 271.
13. *Trilat i Santon*: cytowane według Fleischmanna.
14. *Warburg O.*: Biochem. Ztschr. 1929, 214, 1.
15. *Warburg O., Christian W.*: Biochem. Ztschr. 1936, 267, 291.
16. *Wehrli S.*: Mitteil. aus Gebiete d. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg. (Bern) 1954, 45, 123.

Otrzymano: 21. 5. 1959.

Adres autora: Zakład Medycyny Sądowej Akademii Medycznej, Poznań, ul. Święcickiego 6.