

ANALYSIS OF ETHYL ALCOHOL CONCENTRATION CHANGES DEPENDING ON THE LEVEL TO WHICH A VIAL IS FILLED WITH BLOOD – PART II

Jarosław BERENT, Maciej BARZDO, Stefan SZRAM

Chair and Department of Forensic Medicine, Medical University, Łódź, Poland

ABSTRACT: The results of studies on how the amount of blood sample in a vial (% fullness) influences changes in ethyl alcohol concentration (in the blood sample) are presented in this paper. Moreover, the decrease in the ethyl alcohol concentration in blood stored in non-airtight (open) vials was analysed. It was shown that the decrease in ethyl alcohol concentration in blood stored in an incompletely filled vial depends on the level to which the vial is filled with blood and the initial alcohol concentration in the tested blood sample. The observed changes in concentration are greater than would be expected on the basis of theoretical calculations. However, in vials filled to the extent that could be realistically encountered in routine practice, these changes are too small – in relation to the initial concentration – to significantly affect forensic medical opinions. However, the decrease in alcohol concentration in blood stored in a non-airtight vial is significant and thus is of great practical significance.

KEY WORDS: Ethyl alcohol; Blood sample volume; Non-airtight vial.

Problems of Forensic Sciences, vol. LVI, 2003, 38–45

Received 11 July 2003; accepted 30 October 2003

INTRODUCTION

This paper refers to earlier theoretical deliberations concerning the influence of the degree to which a vial is filled with blood on changes in ethyl alcohol concentration in a tested sample, published in this journal [1]. In the previous paper, it was assumed that alcohol vapour located above its diluted solution behaves like an ideal gas and Henry's law for alcohol/water systems was used to calculate the final alcohol concentration in the sample. The following formula, obtained after transformations, was applied:

$$C_{final} = \frac{C_{initial} \times V_{sample}}{V_{sample} + k \cdot (V_{vial} - V_{sample})} \quad \{1\}$$

where $k = 1/K$, and K is Henry's coefficient for alcohol/water systems at temperature T (at 40°C, $K = 1355$ [1/1]) [1, 3].

While the deliberations presented in the previous paper concerned only cases where the vial was hermetically sealed, this paper also includes cases where the vial was non-airtight, which can happen in forensic medical practice.

AIM OF THE STUDY

The aim of the study was:

1. To analyse ethyl alcohol concentration changes in blood samples depending on the degree to which a vial is filled with blood and to compare the obtained results with theoretical calculations;
2. To define ethyl alcohol concentration changes in blood samples stored in non-airtight vials.

MATERIAL AND METHODS

Blood collected during forensic medical autopsies was used in the study. Samples with ethyl alcohol concentration of about 4.0‰ (P1, P3) and 1.5‰ (P2, P4) were selected.

1. The collected blood, after determination of ethyl alcohol concentration, was poured into five vials (blood with higher (P1) and lower (P2) alcohol content separately). The vials were filled with different volumes of blood: the first with 100% (vial volume – 10 ml, blood volume – 10 ml); the second with 20% (vial volume – 10 ml, blood volume – 2 ml); the third with 10% (vial volume – 10 ml, blood volume – 1 ml); the fourth with 2% (vial volume – 100 ml, blood volume – 2 ml); the fifth with 1% (vial volume – 100 ml, blood volume – 1 ml). The vials were tightly closed and placed in a thermostat at 40°C, because this temperature was selected for the earlier theoretical calculations. After 24 hours, the vials were opened and determinations of ethyl alcohol concentrations in blood were performed.
2. The collected blood, after determination of the initial ethyl alcohol concentration, was placed in 10 ml vials (blood samples with higher (P3) and lower (P4) alcohol content, separately) which were left open at room temperature (23–25°C). At 24-hour intervals, small amounts of blood were collected from each vial and determinations of ethyl alcohol concentrations were performed.

All determinations of alcohol concentrations in blood were carried out by means of gas chromatography with the use of the headspace technique. The determinations were repeated three times for each blood sample and the

obtained values were averaged. Theoretical calculations were performed on the basis of Henry's law for alcohol/water systems [1, 3].

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the first part of the experiment, i.e. concerning changes in ethyl alcohol concentration depending on the extent to which the vial was filled with blood and comparison with results of theoretical calculations are presented in Table I.

TABLE I. CHANGES IN BLOOD ALCOHOL CONCENTRATION DEPENDING ON THE DEGREE TO WHICH VIALS ARE FILLED WITH BLOOD

The extent to which vial is filled with blood [%]	Decrease in ethyl alcohol concentration [‰]			
	Initial concentration of 4.35‰ (<i>SD</i> = 0.05)		Initial concentration of 1.74‰ (<i>SD</i> = 0.04)	
	Results of experimental determinations (P1)	Results of theoretical calculations (T1)	Results of experimental determinations (P2)	Results of theoretical calculations (T2)
100	0.00 (<i>SD</i> = 0.04)	–	0.00 (<i>SD</i> = 0.08)	–
20	0.12 (<i>SD</i> = 0.06)	0.01	0.05 (<i>SD</i> = 0.04)	0.01
10	0.22 (<i>SD</i> = 0.03)	0.03	0.09 (<i>SD</i> = 0.05)	0.01
2	0.38 (<i>SD</i> = 0.07)	0.06	0.17 (<i>SD</i> = 0.02)	0.02
1	0.57 (<i>SD</i> = 0.06)	0.30	0.25 (<i>SD</i> = 0.06)	0.12

SD – standard deviation.

After filling a vial to the top no changes in ethyl alcohol concentration in the blood sample were observed. When the vial was filled to 20% of its volume, for the sample with an initial alcohol concentration of 4.35‰ (P1) a decrease in alcohol concentration of 0.12‰ occurred, and for the sample with initial concentration of 1.74‰ (P2) the decrease amounted to 0.05‰. The theoretically calculated decrease in alcohol concentration, both for an initial concentration of 4.35‰ (T1) and 1.74‰ (T2) was 0.01‰. When the vial was filled to 10, 2 and 1% of its volume, the decreases in ethyl alcohol concentrations in the tested blood samples with an initial concentration P1 were 0.22, 0.38 and 0.57‰ respectively. According to the theoretical calculations, the decreases of these concentrations were 0.03, 0.06 and 0.30‰, respectively. Analogously, for initial concentration P2, the decreases in alcohol concentrations at successive degrees of vial fullness with tested blood were 0.09, 0.17 and 0.25‰, and according to theoretical calculations – 0.01, 0.02 and 0.12‰. The observed changes in ethyl alcohol concentration were not statistically significant.

Summarising, when the vials were filled with blood to the top, changes in ethyl alcohol concentration in blood were not observed. However, it was shown that when the vial was not completely filled with blood, the decrease in ethyl alcohol concentration was greater than expected from the theoretical calculations. The absolute value of the decrease in alcohol concentration is bigger, the higher is the initial concentration. A decrease in alcohol concentration exceeding the level of error permitted by “Criteria and principles of opinion formulation in cases involving alcohol” [2] – 0.06‰ – was observed when the vial was filled to 20% of its volume with blood containing the higher initial alcohol concentration (4.35‰) – the decrease amounted to 0.12‰. For the blood sample containing ethyl alcohol at the lower initial concentration (1.74‰), a decrease in concentration exceeding the permissible level occurred only when the vial was filled to 10% of its volume and it amounted to 0.09‰.

Although the above changes in ethyl alcohol concentrations exceeded the permissible value of 0.06‰, they are too small to have a significant influence on forensic medical opinions.

The results of the second part of the experiment, encompassing assessment of the changes in ethyl alcohol concentration in blood stored in non-air-tight vials are presented in Table II.

TABLE II. THE DECREASE OF ALCOHOL CONCENTRATION IN BLOOD STORED IN VIALS THAT HAVE NOT BEEN HERMETICALLY SEALED

Day	Decrease in ethyl alcohol concentration for initial concentration of 3.88‰ (P3); (<i>SD</i> = 0.06) [‰]	Decrease in ethyl alcohol concentration for initial concentration of 1.70‰ (P4); (<i>SD</i> = 0.05) [‰]
0	–	–
1	1.30 (<i>SD</i> = 0.09)	0.34 (<i>SD</i> = 0.06)
2	1.98 (<i>SD</i> = 0.04)	0.48 (<i>SD</i> = 0.03)
3	2.31 (<i>SD</i> = 0.03)	0.59 (<i>SD</i> = 0.04)
4	2.61 (<i>SD</i> = 0.07)	0.66 (<i>SD</i> = 0.07)

SD – standard deviation.

At an initial ethyl alcohol concentration of 3.88‰ (P3), a fall of 1.30‰ was ascertained during the first 24 hours. During successive 24 hour periods, the decrease amounted to 1.98, 2.31 and 2.61‰, respectively. For an initial ethyl alcohol concentration of 1.70‰, the decrease in concentration amounted to 0.34, 0.48, 0.59 and 0.66‰, respectively. The determined changes of ethyl alcohol concentration were not statistically significant.

Summarising, the decrease in alcohol concentration in blood stored in non-airtight (open) vials was significant and already after 1 (24 hour) day, it

significantly exceeded the permissible value of 0.06 ‰. This observation is of importance from the practical point of view.

Unfortunately, the authors did not find any papers by other authors touching on the above subject.

CONCLUSIONS

1. The extent to which vials are filled with blood influences changes in ethyl alcohol concentrations in tested blood samples. The decreases in ethyl alcohol concentrations for vial “fullnesses” encountered in everyday practice exceeded the permissible value of 0.06 ‰, but the decreases were too small in relation to the initial concentration to significantly affect forensic medical opinions.
2. When the vial was filled to the top, changes in blood alcohol concentration were not observed.
3. If a vial is non-airtight, this causes a significant decrease in blood ethyl alcohol concentration, which may be of significance for forensic medical practice.

References:

1. Berent J., Kosicki M., Szram S. [et al.], Analysis of changes in ethanol levels in examined blood samples, depending on the amount of blood in the sample vial, *Problems of Forensic Sciences* 2002, vol. 49, pp. 51–58.
2. Głazek A., Zmiany kryteriów i zasad opiniowania w sprawach alkoholowych, *Prokuratura i Prawo* 1995, nr 2, s. 99–108.
3. <http://www.restecorp.com/headspace/headspace2.htm>.

ANALIZA ZMIAN STĘŻEŃ ALKOHOLU ETYLOWEGO W ZALEŻNOŚCI OD STOPNIA WYPEŁNIENIA FIOŁKI KRWIĄ – CZEŚĆ II

Jarosław BERENT, Maciej BARZDO, Stefan SZRAM

WPROWADZENIE

Niniejsza praca nawiązuje do wcześniejszych teoretycznych rozważań nad wpływem stopnia wypełnienia fiołki krwią na zmiany stężenia alkoholu etylowego w badanej próbce, opublikowanych na łamach tego czasopisma [1]. W poprzedniej pracy założono, że pary alkoholu znajdujące się ponad jego rozcieńczonym roztworem zachowują się jak gaz doskonały i wykorzystano prawo Henry'ego dla układu alkohol-woda w celu obliczenia końcowego stężenia alkoholu w próbce. Do obliczeń zastosowano otrzymany po przekształceniach wzór:

$$C_{końcowe} = \frac{C_{początkowe} \times V_{próbki}}{V_{próbki} + k \cdot (V_{naczynia} - V_{próbki})} \quad \{1\}$$

gdzie $k = 1/K$, przy czym K = współczynnik Henry'ego dla układu alkohol-woda w temperaturze T (w temperaturze 40°C , $K = 1355$ [1/1]) [1, 3].

O ile rozważania przedstawione w poprzednim artykule dotyczyły wyłącznie przypadków, w których fiołka jest szczelnie zamknięta, o tyle w niniejszej pracy uwzględniono również przypadki, kiedy fiołka jest nieszczelna, co może się zdarzyć w praktyce sądowo-lekarskiej.

CEL PRACY

Celem pracy była:

1. analiza zmian stężenia alkoholu etylowego w próbce krwi w zależności od stopnia wypełnienia fiołki krwią i porównanie otrzymanych wyników z wyliczeniami teoretycznymi;
2. określenie zmian stężenia alkoholu etylowego w próbce krwi zabezpieczonej w nieszczelnie zamkniętej fiołce.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wykorzystano krew pobraną podczas sądowo-lekarskich sekcji zwłok, wybierając takie próbki, w których stężenie alkoholu etylowego wynosiło około 4 (P1, P3) i 1,5 (P2, P4) promile.

1. Pobraną krew, po oznaczeniu w niej stężenia alkoholu etylowego, rozlano do pięciu fiołek (oddzielnie krew z wyższą (P1) i niższą (P2) zawartością alkoholu). Fiołki zostały wypełnione krwią w różnym stopniu: pierwsza w 100% (objętość fiołki 10 ml, objętość krwi 10 ml); druga w 20% (objętość fiołki 10 ml, objętość krwi 2 ml); trzecia w 10% (objętość fiołki 10 ml, objętość krwi 1 ml);

czwarta w 2% (objętość fiolki 100 ml, objętość krwi 2 ml); piąta w 1% (objętość fiolki 100 ml, objętość krwi 1 ml). Fiolki szczelnie zamknięto i umieszczono w cieplarni w temperaturze 40°C z uwagi na to, że do wcześniejszych wyliczeń teoretycznych przyjęto taką właśnie temperaturę. Po upływie 24 godzin fiolki otwarto i dokonano oznaczeń stężeń alkoholu etylowego we krwi.

2. Pobraną krew, po oznaczeniu w niej wyjściowego stężenia alkoholu etylowego, umieszczono w dziesięciomilitrowych fiolkach (oddzielnie krew z wyższą – P3 i niższą – P4 zawartością alkoholu), które pozostawiono otwarte w temperaturze pokojowej (23–25°C). W odstępach 24-godzinnych z każdej fiolki pobierano niewielką ilość krwi i dokonywano oznaczeń stężeń alkoholu etylowego.

Wszystkie oznaczenia stężeń alkoholu we krwi wykonywano metodą chromatografii gazowej, techniką *headspace*. Oznaczenia powtarzano trzykrotnie dla każdej próbki krwi, a uzyskane wartości uśredniono. Obliczenia teoretyczne zostały przeprowadzone w oparciu o prawo Henry'ego dla układu alkohol-woda [1, 3].

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki pierwszej części doświadczenia, tj. dotyczącej zmian stężenia alkoholu etylowego w zależności od stopnia wypełnienia fiolki krwią oraz ich porównanie z wynikami wyliczeń teoretycznych przedstawiono w tabeli I.

Przy wypełnieniu fiolki „pod korek” nie zaobserwowano żadnych zmian stężenia alkoholu etylowego w próbce krwi. Gdy fiolka była wypełniona w 20% jej objętości, przy stężeniu początkowym alkoholu 4,35‰ (P1), wystąpił spadek tego stężenia o 0,12‰, zaś przy stężeniu początkowym 1,74‰ (P2) spadek wynosił 0,05‰. Teoretycznie wyliczony spadek stężenia alkoholu dla stężenia początkowego 4,35‰ (T1) i 1,74‰ (T2) wynosił 0,01‰. Przy wypełnieniu fiolki w 10, 2 i 1% jej objętości, spadki stężeń alkoholu etylowego w badanych próbkach krwi dla stężenia początkowego P1 wynosiły odpowiednio 0,22, 0,38 i 0,57‰. Według wyliczeń teoretycznych, spadki tych stężeń wynosiły odpowiednio 0,03, 0,06 i 0,30‰. Analogicznie dla stężenia początkowego P2 spadki stężeń alkoholu przy kolejnych stopniach wypełnienia fiolek badaną krwią wynosiły 0,09, 0,17 i 0,25‰, zaś według obliczeń teoretycznych 0,01, 0,02 i 0,12‰. Obserwowane zmiany stężenia alkoholu etylowego nie były istotne statystycznie.

Przy wypełnieniu fiolki krwią „pod korek” nie zaobserwowano zmian stężenia alkoholu we krwi. Natomiast wykazano, iż spadek stężenia alkoholu etylowego przy niecałkowitym wypełnieniu fiolki krwią jest większy, niż wynikałoby to z wyliczeń teoretycznych. Bezwzględna wartość spadku stężenia alkoholu jest tym większa, im stężenie początkowe jest wyższe. Spadek stężenia alkoholu przekraczający poziom błędu dopuszczalnego przez „Kryteria i zasady opiniowania w sprawach alkoholowych” (0,06‰) [2] zaobserwowano przy wypełnieniu fiolki w 20% jej objętości krwią zawierającą alkohol w wyższym stężeniu początkowym (4,35‰); spadek stężenia alkoholu wynosił tu 0,12‰. W przypadku krwi zawierającej alkohol etylowy w niższym stężeniu początkowym (1,74‰) spadek stężenia przekraczający dopuszczalny poziom wystąpił dopiero przy wypełnieniu fiolki w 10% jej objętości i wynosił 0,09‰.

Powyższe zmiany stężeń alkoholu etylowego przy wypełnieniach fiolek przekraczają co prawda dopuszczalną wartość 0,06‰, ale i tak są zbyt małe, aby wpłynąć na treść opinii sądowo-lekarskiej.

Wyniki drugiej części doświadczenia obejmującej ocenę zmian stężenia alkoholu etylowego we krwi zabezpieczonej w nieszczelnej fiołce przedstawiono w tabeli II.

Przy początkowym stężeniu alkoholu etylowego wynoszącym 3,88‰ (P3) w pierwszej dobie doświadczenia stwierdzono spadek tego stężenia o 1,30‰. W kolejnych dobach spadki te wynosiły odpowiednio 1,98, 2,31 i 2,61‰. Natomiast przy stężeniu początkowym 1,70‰ spadki stężeń wynosiły odpowiednio 0,34, 0,48, 0,59 i 0,66‰. Stwierdzone zmiany stężenia alkoholu etylowego nie były istotne statystycznie.

Reasumując, spadek stężenia alkoholu we krwi zabezpieczonej w nieszczelnych (otwartych) fiolkach był znaczny i już po 1 dobie wyraźnie przekraczał dopuszczalną wartość 0,06‰, co ma istotne znaczenie z praktycznego punktu widzenia.

Autorzy niestety nie znaleźli żadnych innych prac poruszających powyższą tematykę.

WNIOSKI

1. Stopień wypełnienia fiołki krwią wpływa na zmiany stężenia alkoholu etylowego w badanej próbce krwi. Spadek stężenia alkoholu etylowego przy wypełnieniach fiolek w stopniach możliwych do spotkania w codziennej praktyce przekraczał dopuszczalną wartość 0,06‰, był jednak zbyt mały w stosunku do stężenia wyjściowego, aby istotnie wpłynąć na treść opinii sądowo-lekarskiej.
2. Przy wypełnieniu fiołki krwią „pod korek” nie zaobserwowano zmian stężenia alkoholu we krwi.
3. Nieszczelność fiołki powoduje znaczny spadek stężenia alkoholu etylowego we krwi zabezpieczonej w tej fiołce, co może mieć istotne znaczenie w praktyce sądowo-lekarskiej.