



UNCERTAINTY OF BREATH ALCOHOL MEASUREMENT

Juliusz ADAMSKI, Dariusz ZUBA

Institute of Forensic Research, Kraków, Poland

Abstract

Although the analysis of ethyl alcohol (ethanol) concentration in exhaled air (breath alcohol content, BrAC) is a method that is widely used for estimation of the alcohol content in the body and assessment of the state of sobriety, the results of measurements are often a source of controversy both during an investigation and during the subsequent trial. One of the most important elements of this controversy is the uncertainty of the measurements and, as a consequence, the reliability of the results. Analysis of data gathered at the Institute of Forensic Research (IFR), which consisted of duplicated measurements performed using both portable and stationary evidential breath analysers (Alcomat V5.4, Alkometr A2.0, Alcometer SD-400P, AlcoQuant 3020, AlcoSensor IV, Alcotest 7110, 7410, 7410+), together with a literature review, allowed us to conclude that the measurement uncertainty connected with duplicated BrAC tests conducted at short intervals for ethanol concentrations up to 0.5 mg/l was equal to 0.03 mg/l. It was also demonstrated that the measurement uncertainty was independent of the analyser, i.e., it was not connected with the type of detector used – electrochemical (fuel cell) or spectrophotometric (infrared detector). However, besides taking into account the measurement uncertainty, the interpretation of a BrAC test result performed in real conditions should be carried out very carefully due to the fact that there are many additional factors which can impact the result obtained.

Key words

Ethyl alcohol; Exhaled air; Measurement uncertainty; Spectrophotometric detection; Electrochemical detection.

Received 2 June 2015; accepted 17 June 2015

1. Introduction

The observation that ethyl alcohol (hereinafter referred to as “ethanol” or simply “alcohol”) when introduced into the body is eliminated unchanged through exhaled air aroused researchers’ interest as far back as the 19th century (Jones, 2000). The first reports dealing with usage of information connected with the presence of ethanol in breath for blood alcohol content estimation were published in the 1920’s (Bogen, 1927; Liljestrang, Linde, 1930). Since then, many devices and measurement procedures have been developed and validated (Emerson et al., 1980; Hlastala, 1998).

Breath alcohol analysis is a widely used method of assessment of sobriety due to its undeniable advantages over blood analysis, such as: short analysis

time, non-invasiveness, lack of the necessity of using highly-trained laboratory and medical staff and expensive laboratory equipment. Another advantage is the possibility of determining the alcohol concentration in the body almost at the exact moment at which the offence was committed/accident occurred. So retrograde calculations – which are also connected with their own intrinsic uncertainty, and the need for estimation of the alcohol concentration at the time of the offence/occurrence – are not necessary.

BrAC analysis is possible due to the fact that ethyl alcohol is partially (2–5% of the total amount introduced into the body, depending on the final concentration of this substance in the blood) eliminated unchanged from the body with exhaled air. During the exchange of gases in the lungs, ethanol is transported

together with carbon dioxide from the blood to the alveoli, and then removed from the body with the breath. The quantity measured in the BrAC test is the mass concentration of alcohol in exhaled air, usually expressed as [mg/l] or [mg/dm³]; in the USA, the result of breath testing is expressed differently, as mass [mg] of ethanol per 210 l of air, which gives the same numerical values as for alcohol concentrations in blood when the latter are expressed as [mg/dl].

The first BrAC testing device routinely used and applied to drivers was constructed in the USA in 1954 by Robert F. Borkenstein (Borkenstein, Smith, 1961; Jones, 2000). The so-called “Breathanalyzer” was an improved version of a device proposed in the 1930s by R.N. Hager from Indiana University and named a “Drunkometer” (Hager, 1931).

All the devices constructed and used in this early stage of the long history of BrAC testing were based on the usage of chemical reactions – reduction of coloured solutions of oxidants: potassium manganate(VIII) in the Drunkometer, potassium dichromate(VI) in the Breathanalyzer or iodine(V) oxide in the Alcometer (Greenberg, Keator, 1941). Ethanol, which was present in exhaled air that was passed through a known volume of solution, acted as a reducing agent and was responsible for the colour change of the solution. This change was the basis for estimation of the alcohol concentration in breath.

In the 1970s, a significant change in BrAC analysers could be observed. This was partly connected with the need (expressed by police officers) for a portable, automatic, simple-to-use device not requiring the use of toxic, reactive chemicals. The devices constructed at that time were based on a wide range of different physicochemical principles, including gas chromatography together with flame ionisation detection (FID), infrared spectrophotometry (IR), fuel cell technology (FC) or n-type semiconductor detectors (Taguchi gas sensor). The next step was the introduction of multi wavelength IR spectrophotometry, i.e. performing absorbance measurement at different wavelengths rather than probing a single wavelength at about 3.4 μm , as was typical in earlier constructions. This allowed for an increase in device selectivity and for the elimination of interferences caused by the presence of acetone and common organic solvents (Gubała, Gut, 1994). Acetone interference, which is of great importance due to the fact that this substance can be present in air exhaled by diabetics, was reported for many devices that used an IR detector, e.g., Alkometr A2.0, Alkomat (Papierz, Berent, Szram, 2006), and Intoxilyzer[®] 5000 (Kupferschmidt, 2011). A further improvement in spectrophotometric methods of BrAC measurement

was achieved with a significant change in the applied wavelength. While the earlier used wavelength of 3.4 μm was connected with symmetric and asymmetric stretching vibrations in the methyl group, the new value proposed – about 9.5 μm – was related to vibrations of the C-O bond, which were more specific than the -CH₃ vibrations (Wigmore, Langille, 2009).

The most advanced designs available nowadays make use of two different detectors (FC and IR) for BrAC determination, which allows them to utilize the different advantages (and overcome the disadvantages) connected with the two techniques. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) was also proposed for the measurement of ethanol concentration in breath (Nishiyama et al., 2001), as was mass spectrometry (Wilson et al., 2001), but devices based on such solutions are not routinely used at present.

The aim of our work was to estimate the uncertainty connected with the double analysis of ethanol concentration in exhaled air performed at short intervals and to compare this uncertainty value with literature data.

2. Data

The IFR data analysed consisted of 1441 double BrAC measurements performed at short intervals (between 1 min and 10 min). The ethanol concentrations were in the range 0.00–0.54 mg/l, with a mean concentration equal to 0.20 mg/l. These measurements were experimental data collected during a comparison of evidential analysers that have been approved for testing drivers' level of alcohol intoxication in Poland. The analysers were equipped with both a spectrophotometric IR detector (Alkometr, Alkomat, and Alcotest 7110) and a detector utilising fuel cell technology (Lion Alcometer SD-400P, AlcoQuant 3020, AlcoSensor IV, Alcotest 7410, and 7410+). Most of the recorded measurements ($n = 1189$) were taken using two different devices, while the remainder ($n = 252$) constituted duplicated measurements taken using the same analyser.

3. Results

The distribution of BrAC test values is presented in Figure 1 (a and b), whilst the distribution of the differences between the two repeated measurements is shown in Figure 2 (a and b).

Analysis of the data revealed that for the whole set of data the distribution of differences could not be

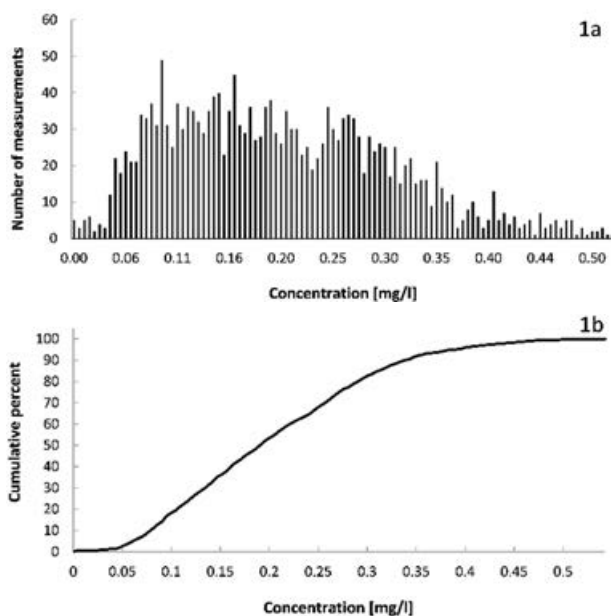


Fig. 1. Distribution of the results of BrAC tests in the IFR dataset (a) and their cumulative percentage (b).

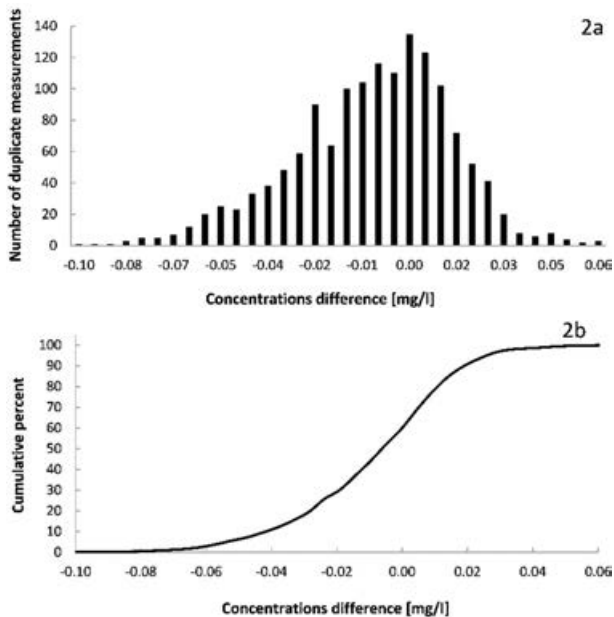


Fig. 2. Distribution of the differences of duplicated BrAC tests in the IFR dataset; $n = 1441$ (a) and their cumulative percentage (b).

approximated by a normal distribution and that the second measurement exhibited a tendency to adopt a lower value than the first one. The lack of normality was confirmed in the Shapiro-Wilk test ($W = 0.982$; $p < 0.001$). Nevertheless, when the results of measurements performed by the same analyser were tested, it was shown that the differences distribution could be

approximated by a normal distribution ($W = 0.950$; $p = 0.231$). This was in agreement with the results published by Jones (Jones, 1976).

The calculated mean difference between repeated measurements was equal to $\bar{d} = 0.006$ mg/l with standard deviation $S_{\bar{d}} = 0.024$ mg/l. It should be taken into account that according to the recommendations released by the International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Métrologie Légale, OIML), the result of the BrAC test should be reported after truncating to hundredths, i.e. 0.427 mg/l would be given as 0.42 mg/l, and not 0.43 mg/l (OIML R 126; 2012). This allowed us to conclude that the mean difference found was negligible.

Estimation of the actual measurement uncertainty of BrAC quantification was possible by comparison of the results of duplicate measurements of exhaled air that were performed at short intervals, i.e. between 1–10 minutes. For such a short interval, it could be assumed that processes resulting in ethanol removal from the body could be ignored as negligible (Gullberg, 1995).

Taking into account the value of the standard deviation of the mean difference between the two values given above and the fact that it was calculated for a large set of data ($n = 1441$), the uncertainty of a duplicated BrAC measurement could be calculated by means of the following equation:

$$u = t_{\alpha,\infty} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \tag{1}$$

where $t_{\alpha,\infty}$ is a parameter connected with the t-Student distribution, which for the two-sided test and a significance level $\alpha = 0.05$ is equal to 1.96.

The calculated expanded uncertainty is then equal to:

$$u = t_{0.05,\infty} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} = 1.96 \cdot \frac{0.024}{\sqrt{2}} = 0.03 \text{ mg/l}. \tag{2}$$

The result can be interpreted as follows. For duplicate measurements performed by the same device, i.e. when a normal distribution of differences can be assumed, almost all measurements (about 95%) would be located in the range ± 0.03 mg/l.

It should be pointed out that the calculated value of expanded uncertainty (u) encompassed the influence of many different factors, such as: the person tested, the type of device (IR or FC), calibration, sampling, detector response and signal processing. The number of factors included was thus even greater than required when the measurement uncertainty is determined according to OIML recommendations.

The IFR dataset analysis also allowed for the conclusion that results obtained by means of portable devices equipped with an FC type detector and stationary devices with an IR detector were convergent ($n = 868$, $\bar{d} = 0.016$ mg/l). No significant difference in measurement accuracy between these two groups of analysers could be noticed. Moreover, our dataset did not support the thesis that devices equipped with an IR detector are superior to those in which FC technology is used. While the differences in measurement precision between the two subgroups were indeed statistically significant ($F = 2.21 > F_{\text{crit};0.05} = 1.24$), measurements performed by the analysers equipped with an FC detector, i.e. portable ones, were less dispersed than those performed by stationary devices with an IR detector (see Table 1).

Table 1
Characteristics of the two subgroups of analysers tested in the IFR according to the type of detector used

Parameter	IR	FC
Mean difference, d [mg/l]	0.0058	0.0021
Variance, s^2 [mg/l] ²	0.0007	0.0003
No. of measurements, n	392	181
Degrees of freedom, df	391	180
$F_{0.05}$	2.21	

The similarity in the number of replicates observed in the following ranges of ethanol concentration [mg/l]: $-0.03 < c < 0$ (533 pairs, 37.0% of total) and $0 < c < +0.03$ (525 pairs, 36.4% of total) confirmed the assumption that the influence of ethanol elimination processes on BrAC measurements performed up to 10 minutes apart was insignificant.

4. Discussion

Breath alcohol analysis is a non-invasive method used for quantification of ethanol concentration in the body. And like any measurement, BrAC testing is connected with its own intrinsic error.

BrAC analysis performed for evidential purposes should comply with a wide range of requirements. These requirements were defined by OIML (2012). Regarding the measurement uncertainty, the OIML recommendations define the maximum permissible error value, which depends on whether they are routine measurements or whether they are performed as part of a preliminary step in the device approval pro-

cedure. The permissible error is greater in the former case (see Table 2).

Table 2
Maximum permissible error of BrAC tests according to OIML recommendations (2012)

BrAC value	Device approval	Routine work
< 2.00 mg/l	0.020 mg/l or 5% of the reference value*	0.030 mg/l or 7.5% of the reference value*
> 2.00 mg/l	$(0.50 \cdot c - 0.90)$ mg/l	$(0.75 \cdot c - 1.35)$ mg/l

*Whichever is the greater.

The devices used in Poland for evidential purposes are certificated and this process allows the correctness of their measurements to be verified. Certification is performed in accredited laboratories and is based on analyses of calibrants for their ethanol content, which are carried out in a strictly controlled laboratory environment. The devices are calibrated by means of wet ethanol standards (as recommended by OIML) or dry ones. The results are then used for estimation of both the instrument bias (the difference between mean analyte concentration calculated for repeated analyses and its “true” value, i.e., the ethanol concentration in calibrants) and the measurement uncertainty, connected with the precision of the tests performed. These two parameters are presented in the calibration certificate for a given device in accordance with PN-EN ISO/IEC 17025 (2005). The certification procedure can be performed only by official measures bodies or accredited laboratories certified by the Polish Centre of Accreditation (PCA).

According to a statement by the Central Office of Measures, the actual result of a BrAC test (c) can be expressed taking into account the value recorded (x), the bias (p) and the expanded uncertainty (u) as:

$$c = (x + p) \pm u. \quad (3)$$

It should be pointed out that the values of p and u presented in a device certificate are calculated based on the results of measurements of synthetic gas standards in strictly controlled laboratory conditions. When tests are performed in more realistic conditions, measurement uncertainty is usually larger. This can be explained by differences in measuring conditions – the composition and temperature of exhaled air, expiratory volume, etc. (Dubowski, 1974; Fox, Hayward, 1989). It should be stressed, however, that once the calibration function is set, it is constant over an extended period of time (Booker, Lehmann, Korkosh, 2012).

The ethanol concentration in standards can be determined with great precision (expressed by repeatability and reproducibility), accuracy, and at very low concentrations (expressed as limit of quantification or limit of detection; Jones, 1978b; Tremblay, 2013). The same is not always true when this analyte is determined in expired air due to the influence of different biological factors. The biological component of the measurement variability is a dominant factor in the total measurement uncertainty, accounting for about 73% of the uncertainty budget (Gullberg, 2008). The contribution of analytical factors (i.e., connected with the device used for testing) such as temperature, electronics, and signal processing is lower than 10%. The traceability and the uncertainty of the value of the ethanol partition coefficient between blood and air account together for about 17%. When only the first two factors are considered, the biological variability contribution exceeds 90% (Figure 3; Gullberg, 2006). This means that any significant difference observed when two measurements are taken at short intervals can be attributed to sampling variability, not to a lack of precision of the analyser used (Gullberg, 1989).

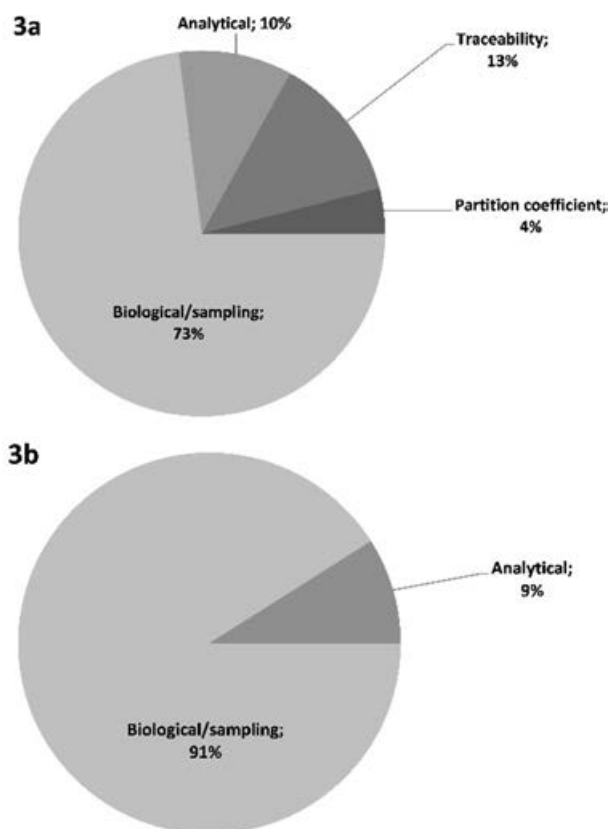


Fig. 3. The main components of the total uncertainty of the BrAC test (a), and the contribution of its two main components (b), according to Gullberg (2006).

The issue of BrAC testing reliability has been considered by many authors (Table 3). Analysers working on different principles, i.e. equipped with IR (BAC Datamaster, Intoxilyzer 1400, Intoxilyzer 5000-D, Intoxilyzer 5000, Seres Ethylometre 679T, Alcotest 7110) and FC (ASD, Alcometer, Alco-Sensor IV-XL) detectors, together with a more advanced design that utilised both detecting elements (Intoximeter ECIR), have been thoroughly tested.

From the data presented in Table 3, it can be concluded that the uncertainty of BrAC tests when duplicated measurements were performed at short time intervals for measurand concentrations in the range 0.10–0.25 mg/l was lower than 0.03 mg/l and that this value was independent of the type of device used. Moreover, the consistency of the results of measurements performed using stationary (Alkomat, Alkomat A2.0) and portable (Alco-Sensor IV, Alcotest 7410) analysers could be clearly ascertained (Zuba, 2008), as could their high measuring precision even when used in field conditions (Leonard, 2012).

Statistical analysis of large datasets revealed the existence of a linear relationship between measurement uncertainty and analyte concentration (Stowell, Gainsford, Gullberg, 2008). Such empirical relationships, established for a given type of analyser, can then be utilized for estimating uncertainty for a given test result in the range they cover.

The BrAC measurement uncertainty computed for the IFR dataset was similar to values reported by other authors. Moreover, based on our data it was also possible to conclude that ethanol elimination from the body could be disregarded when measurements were taken up to 10 minutes apart.

5. Conclusions

The review of literature data and analysis of the IFR dataset which contained the results of duplicated BrAC tests allowed us to conclude that in typical conditions it can be assumed that the expanded uncertainty connected with ethyl alcohol determination in expired air is equal to 0.03 mg/l for analyte concentration lower than 0.5 mg/l. This value of the expanded uncertainty is comparable with the maximum permissible measurement error according to the OIML (2012) recommendations, and is similar to other literature data, which also suggest that the measurement uncertainty does not exceed 0.03 mg/l ($\alpha = 0.05$) and that it is independent of the type of device used.

However, it should be stressed that the interpretation of the results of BrAC testing should always take

Table 3
Literature data on BrAC test uncertainty

Analyser [min]	t [min]	n	c [mg/l]	\bar{c}	\bar{d}	$S_{\bar{d}}$	$u_{\alpha=0.05}$	Literature	
ASD	~2	147	0.04–1.30	0.50	0.075		0.10	Jones (1976)	
Alcometer (pocket)	3–5		0.03–0.81			0.010 (elimination)	0.020	0.03	Jones (1978b)
						0.036 (absorption)	0.034	0.05	
		342				0.002	0.024	0.03*	Jones (1985b)
	< 5	290	0.00–1.67	0.48	0.005		0.09	Jones (1985a)	
Alco-Sensor IV-XL		38580	0.00–>2.00	0.67	0.029	0.033 0.024*	0.05 0.03*	Leonard (2012)	
Intoximeter ECIR	FC+IR	10715	0.05–1.85	0.74	0.014	0.040 0.009*	0.05 0.01*	Gullberg (2003)	
Drager 7110	IR	8071	0.05–2.04	0.73	0.004	0.031 0.007*	0.04 0.01*	Gullberg (2003)	
Intoxilyzer 5000		44867	0.05–2.20	0.77	0.005	0.035 0.007*	0.05 0.01*		
BAC Datamaster		28321	0.05–2.07	0.69	0.005	0.036 0.008*	0.05 0.01*		
BAC Datamaster		92029				0.008*	0.01*	Gullberg (2006)	
Intoxilizer 5000/ Seres Ethylometre 679T		Mean 1.7	11837	0.17–1.77	0.61	0.005	0.038 0.010*	0.05 0.01*	Stowell, Gainsford, Gullberg (2008)
BAC Datamaster/ Intoxilyzer 1400/ Intoxilyzer 5000-D			2004		0.07–0.262			0.02	Dubowski, Essary (1994)

* For ethanol concentration 0.25 mg/l, t – time interval between duplicate measurements, n – number of repeated measurements considered, c – concentration range, \bar{c} – mean ethanol concentration, \bar{d} – mean difference between repeated tests, $S_{\bar{d}}$ – standard deviation of \bar{d} , $u_{\alpha=0.05}$ – expanded uncertainty calculated for $\alpha = 0.05$.

into account not only the bare value of the measurement uncertainty, but also the possibility of the occurrence of additional factors such as: ethanol metabolic phase, the possibility of hyper- and hypoventilation or eructation (burping), the presence of residual alcohol in the mouth, etc. These factors can sometimes influence BrAC test results in a significant way.

References

- Bogen, E. (1927). Drunkenness – a quantitative study of acute alcoholic intoxication. *JAMA*, 89, 1508–1511.
- Booker, R., Lehmann, G. P., Korkosh, S. L. (2012). Calibration stability of the Alco-Sensor FST over a seven week period. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 45, 176–178.
- Borkenstein, R. F., Smith, H. W. (1961). The breathalyzer and its applications. *Medicine, Science and Law*, 1, 13–23.
- Dubowski, K. M. (1974). Biological aspects of breath-alcohol analysis. *Clinical Chemistry*, 20, 294–299.
- Dubowski, K. M., Essary, N. A. (1994). Measurement of low breath-alcohol concentrations: laboratory studies and field experience. *Journal of Analytical Toxicology*, 23, 386–395.
- Emerson, V. J., Holleyhead, R., Isaacs, M. D., Fuller, N. A., Hunt, D. J. (1980). The measurement of breath alcohol. The laboratory evaluation of substantive breath test equipment and the report of an operational police trial. *Journal of Forensic Science Society*, 20, 3–70.
- Fox, G. R., Hayward, J. S. (1989). Effect of hyperthermia on breath-alcohol analysis. *Journal of Forensic Sciences*, 34, 836–841.

8. Greenberg, H. W., Keator, F. W. (1941). Portable automatic apparatus for indirect determination of the concentration of alcohol in blood. *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, 57, 57–72.
9. Gubała, W., Gut, W. (1994). Przypadek sprzeczności między wynikiem badania trzeźwości za pomocą Alkomatu o wynikiem laboratoryjnej analizy próby krwi. *Archiwum Medycyny Sądowej i Kryminologii*, 44, 203–205.
10. Gullberg, R. G. (2003). Breath alcohol measurement variability associated with different instrumentation and protocols. *Forensic Science International*, 131, 30–35.
11. Gullberg, R. G. (1989). Breath alcohol test precision: an in vivo vs. in vitro evaluation. *Forensic Science International*, 43, 247–255.
12. Gullberg, R. G. (2008). Employing components-of-variance to evaluate forensic breath test instruments. *Science and Justice*, 48, 2–7.
13. Gullberg, R. G. (2006). Estimating the measurement uncertainty in forensic breath-alcohol analysis. *Accreditation and Quality Assurance*, 11, 562–568.
14. Gullberg, R. G. (1995). Repeatability of replicate breath alcohol measurements collected in short time intervals. *Science & Justice*, 35, 5–9.
15. Harger, R. N. (1931). Papers at the Indianapolis Meeting of the American Chemical Institute. *Science News (Suppl.)*, 73, 10.
16. Hlastala, M. P. (1998). The alcohol breath test – a review. *Journal of Applied Physiology*, 84, 401–408.
17. Jones, A. W. (1976). Precision, accuracy and relevance of breath alcohol measurements. *Modern Problems of Pharmacopsychiatry*, 11, 68–78.
18. Jones, A. W. (1978a). Evaluation of breath alcohol instruments I. In vitro experiments with alcohol pocket model. *Forensic Science International*, 12, 1–9.
19. Jones, A. W. (1978b). Evaluation of breath alcohol instruments II. In vivo experiments with alcometer pocket model. *Forensic Science International*, 12, 11–23.
20. Jones, A. W. (1985a). Evaluation of breath alcohol instruments III. Controlled field trial with alcometer pocket model. *Forensic Science International*, 28, 147–156.
21. Jones, A. W. (1985b). Evaluation of breathalcohol instruments IV. Roadside tests with alcometer pocket model. *Forensic Science International*, 28, 157–165.
22. Jones, A. W. (2000). Measuring alcohol in blood and breath for forensic purposes – a historical review. *Forensic Science Review*, 12, 151–181.
23. Kupferschmidt, G. J. (2011). The utility of the Interferent #1 message on the Intoxilyzer® 5000. A case report. *TIAFT Bulletin*, 41, 13–17.
24. Leonard, R. J. (2012). Evaluation of the analytical performance of a fuel cell breath alcohol testing instrument: A seven-year comprehensive study. *Journal of Forensic Sciences*, 57, 1614–1620.
25. Liljestrand, G., Linde, P. (1930). Über die Ausscheidung des Alkohols mit der Expirationsluft. *Skandinavisches Archiv für Physiologie*, 60, 273–298.
26. Nishiyama, T., Tsukamoto, I., Scirakawa, Y., Komatsu, H., Maekawa, N., Kinoshita, H., Ameno, K., Ijiri, I. (2001). Fourier transform infrared (FTIR) analysis of volatile compounds in expired gas for the monitoring of poisonings. I. Ethanol. *Pharmaceutical Research*, 18, 125–128.
27. OIML R 126 (2012). *Evidential breath analyzers – International recommendation*. International Organization of Legal Metrology.
28. Papierz, P., Berent, J., Szram, S. (2006). Positive readings on evidential breath analyzers in cases of presence of acetone in exhaled air. *Problems of Forensic Sciences*, 66, 159–164.
29. PN-EN ISO/IEC 17025:2005 (2005). *Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących*.
30. Stowell, A. R., Gainsford, A. R., Gullberg, R. G. (2008). New Zealand's breath and blood alcohol testing programs: Further data analysis and forensic implications. *Forensic Science International*, 178, 83–92.
31. Tremblay, J. (2013). A comparison of paired calibration check results of Alco-Sensor IV – RBT IV and Intoxilyzer® 5000 C in real cases. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 46, 112–119.
32. Wigmore, J. G., Langille, R. M. (2009). Six generations of breath alcohol testing instruments: changes in the detection of breath alcohol since 1930. An historical overview. *Canadian Society of Forensic Science Journal*, 42, 276–283.
33. Wilson, F. P., Freeman, G. C., McEwan, M. J., Milligan, B. ., Allardyce, R. A., Shaw, M. G. (2001). Alcohol in breath and blood: A selected ion flow tube mass spectrometric study. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15, 413–417.
34. Zuba, D. (2008). Accuracy and reliability of breath alcohol testing by handheld electrochemical analysers, *Forensic Science International*, 178, e29–e33.

Corresponding author

Dr Juliusz Adamski
Instytut Ekspertyz Sądowych
ul. Westerplatte 9
PL 31-033 Kraków
e-mail: jadamski@ies.gov.pl

NIEPEWNOŚĆ OZNACZANIA ALKOHOLU ETYLOWEGO W POWIETRZU WYDYCHANYM

1. Wprowadzenie

Obserwacje, że alkohol etylowy (w dalszej części pracy nazywany etanolem lub alkoholem) po wprowadzeniu do organizmu eliminowany jest również w formie niezmienionej z powietrzem wydychanym, wzbudziła zainteresowanie badaczy już w XIX w. (Jones, 2000), a pierwsze doniesienia o wykorzystaniu informacji o zawartości alkoholu w wydychanym powietrzu do szacowania stężenia tego związku we krwi pochodzą z lat 20. XX w. (Bogen, 1927; Liljestrand, Linde, 1930). Od tego czasu opracowano i poddano weryfikacji wiele przyrządów i procedur postępowania w tym zakresie (Emerson i in., 1980; Hlastala, 1998).

Analiza powietrza wydychanego jest powszechnie stosowaną metodą oceny stanu trzeźwości z uwagi na swoje zalety, takie jak: krótki czas badania, nieinwazyjność, brak konieczności udziału przeszkolonego personelu medycznego czy laboratoryjnego oraz wykorzystania skomplikowanej i drogiej aparatury badawczej. Badanie tego typu ma tę dodatkową przewagę nad badaniami krwi, że w większości przypadków umożliwia określenie poziomu alkoholu w organizmie praktycznie w momencie zatrzymania do kontroli. Nie ma zatem konieczności przeprowadzania rachunku retrospektywnego, tj. szacowania stężenia alkoholu „na chwilę popelnienia czynu/zdarzenia”.

Badania powietrza wydychanego na zawartość alkoholu możliwe są dzięki temu, że pewna część tego związku (2–5% w zależności od stężenia) eliminowana jest z organizmu w postaci niezmienionej. W procesie wymiany gazowej w płucach, alkohol przechodzi wraz z dwutlenkiem węgla z krwi do pęcherzyków płucnych i wydalany jest z organizmu z wydychanym powietrzem. Wielkością mierzoną w przypadku tego typu analiz jest stężenie masowe alkoholu etylowego w wydychanym powietrzu wyrażone najczęściej w mg/l lub mg/dm³; w Stanach Zjednoczonych wynik wyraża się w mg na 210 l wydychanego powietrza celem uzyskania wartości liczbowych odpowiadających stężeniu we krwi (mg/dl krwi).

Pierwszy instrument, który wszedł do powszechnego użycia i który stosowany był do określenia stężenia alkoholu w wydychanym powietrzu u kierujących pojazdami stworzony został w roku 1954 w Stanach Zjednoczonych przez prof. Roberta F. Borkensteina i nazywał się Breathalyzer (Borkenstein, Smith, 1961; Jones, 2000). Stanowił on rozwinięcie aparatu skonstruowanego w latach 30. XX w. przez R. N. Hagera z Indiana University (Drunkometer; Harger, 1931). Przyrządy stosowane w początko-

wym okresie opierały się na reakcji barwnych roztworów utleniaczy: manganianu(VII) potasu w przypadku Drunkometru, dwuchromianu potasu dichromianu(VI) potasu w Breathalyzerze, tlenku jodu(V) w Alcometrze (Greenberg, Keator, 1941) z etanolem obecnym w powietrzu wydychanym, którego odmierzoną objętość przetłaczano przez roztwór. Ze zmian zabarwienia tego roztworu wnioskowano o stężeniu alkoholu.

Znacząca odmiana w typie stosowanych przyrządów nastąpiła w latach 70. XX w. i związana była z dążeniem do posiadania przez funkcjonariuszy policji przenośnych, automatycznych, prostych w obsłudze przyrządów, w których nie występowałaby konieczność stosowania silnie reaktywnych odczynników. Opracowywane typy aparatów opierały się na różnych podstawach fizykochemicznych i obejmowały zastosowanie metody chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID, ang. Flame Ionization Detector), spektrofotometrii w podczerwieni (IR, ang. Infra Red), ogniw paliwowych (FC, ang. Fuel Cell) oraz detektorów półprzewodnikowych typu n (tzw. czujnik Taguchi). Dalszym etapem rozwoju było zastosowanie w przyrządach wykorzystujących pochłanianie promieniowania z zakresu podczerwieni pomiarów absorbancji przy dwóch lub większej liczbie długości fali (różnych od stosowanej początkowo około 3,4 μm). Pozwoliło to na zwiększenie selektywności przyrządu, a w szczególności wyeliminowanie wpływu na wynik badania par rozpuszczalników organicznych (Gubała, Gut, 1994) oraz acetonu mogącego występować np. w powietrzu wydychanym przez osoby chore na cukrzycę. O takim wpływie donoszono np. w przypadku stosowanych w Polsce Alkomatu A2.0 i Alkomatu (Papierz, Berent, Szram, 2006) oraz urządzenia Intoxilizer[®] 5000 (Kupferschmidt, 2011). Dalsze ulepszenie w tego typu przyrządach osiągnięto, wybierając inną analityczną długość fali. O ile bowiem początkowo stosowana długość, tj. około 3,4 μm, związana jest z symetrycznymi i niesymetrycznymi drganiami rozciągającymi grupy metylowej, o tyle w pomiarach przy około 9,5 μm mamy do czynienia z drganiami wiązania C-O, a więc bardziej specyficznymi (Wigmore, Langille, 2009).

Najbardziej zaawansowane współczesne konstrukcje stanowią przyrządy posiadające możliwość wykonywania pomiarów z zastosowaniem dwóch detektorów (FC oraz IR). Donoszono również o możliwości zastosowania spektrofotometrii w podczerwieni z transformacją Fouriera (Nishiyama i in., 2001) czy spektrometrii mas (Wilson i in., 2001), jednak takie analizatory nie znalazły jeszcze zastosowania w praktyce.

Celem pracy było oszacowanie niepewności związanej z dwukrotnym, przeprowadzonym w niewielkim odstępie czasu, badaniem powietrza wydychanego i porównanie jej z wartościami podawanymi przez literaturę przedmiotu.

2. Materiał badawczy

Dane zgromadzone w Instytucie Ekspertyz Sądowych (IES) obejmowały 1441 par pomiarów zawartości alkoholu w wydychanym powietrzu w zakresie 0,00–0,54 mg/l (średnie stężenie wynosiło 0,20 mg/l) przeprowadzonych w niewielkim odstępie czasu (od 1 do 10 min). Były to dane eksperymentalne stanowiące wyniki badań porównawczych oznaczania alkoholu etylowego w wydychanym powietrzu z użyciem głównych typów przyrządów dopuszczonych w Polsce do badania trzeźwości kierujących pojazdami, tj. wykorzystujących metodę spektrofotometrii w podczerwieni (Alkometr, Alkomat, Alcotest 7110) oraz metodę elektrochemiczną z zastosowaniem tzw. ogniwi paliwowych (Lion Alcometer SD-400P, AlcoQuant 3020, Alco-Sensor IV, Alcotest 7410, 7410⁺). Większość pomiarów ($n = 1189$) wykonana została dwoma różnymi przyrządami, pozostałe ($n = 252$) stanowią powtórzenia analiz tym samym przyrządem.

3. Wyniki

Rozkład wartości stężeń uzyskanych w poszczególnych badaniach powietrza wydychanego, składający się na zbiór wyników zgromadzonych w IES, przedstawiono na rysunku 1, natomiast rozkład różnic stężeń w dwóch powtórzonych po sobie badaniach zaprezentowano na rysunku 2.

Analiza rozkładu różnic wykazała, że dla całego zbioru wyników rozkład nie ma charakteru normalnego oraz że wynik drugiego pomiaru wykazuje tendencję do przyjmowania wartości niższej niż uzyskana w pierwszym pomiarze. Brak normalności rozkładu znajduje potwierdzenie w wynikach testu Shapiro-Wilka ($W = 0,982$; $p < 0,001$). Przeprowadzone analizy pozwoliły jednak na wykazanie, że dla danego konkretnego przyrządu pomiarowego różnice mają rozkład normalny ($W = 0,950$; $p = 0,231$). Potwierdza to wnioski sformułowane uprzednio przez Jonesa (1976).

Analiza danych pozwoliła ponadto na wykazanie, że średnia wartość różnic pomiędzy badaniami wynosiła $\bar{d} = 0,006$ mg/l, a odchylenie standardowe tej wartości $S_{\bar{d}} = 0,024$ mg/l. Mając na uwadze, że zgodnie ze zaleceniami Międzynarodowej Organizacji Metrologii Prawnej (Organisation Internationale de Métrologie Légale, OIML) zaokrąglanie wyników pomiarów odbywa się poprzez odcięcie miejsca tysięcznego (tj. wynik 0,427 mg/l

przedstawiony jest jako 0,42 mg/l; OIML R 126, 2012); oznacza to, że podana powyżej średnia wartość różnic jest znikomo mała.

Oszacowanie rzeczywistej wartości niepewności rozszerzonej pomiaru zawartości alkoholu możliwe jest poprzez porównanie wyników dwukrotnego badania powietrza wydychanego przeprowadzonego w niewielkim odstępie czasu w zakresie od 1 do 10 min. W przypadku, gdy czas między analizami nie przekracza 10 min, możliwe jest bowiem zaniedbanie wpływu procesów eliminacji alkoholu z organizmu (Gullberg, 1995).

Wykorzystując podaną powyżej wartość odchylenia standardowego średniej różnicy między dwoma pomiarami oraz uwzględniając fakt, że zbiór wyników, na podstawie którego została ona oszacowana jest bardzo liczny ($n = 1441$), możliwe jest wyznaczenie niepewności pomiaru stężenia alkoholu w powietrzu wydychanym na podstawie podwójnego badania jako:

$$u = t_{\alpha, \infty} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}, \quad (1)$$

gdzie $t_{\alpha, \infty}$ jest parametrem związanym z rozkładem t-Studenta, który dla testu dwustronnego oraz dla poziomu istotności $\alpha = 0.05$ wynosi 1,96. Oszacowana wartość niepewności wynosi więc:

$$u = t_{0.05, \infty} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} = 1,96 \cdot \frac{0,024}{\sqrt{2}} = 0,03 \text{ mg/l}. \quad (2)$$

Otrzymany wynik pozwala na stwierdzenie, że dla badań wykonanych tym samym przyrządem, w którym to przypadku rozkład różnic można przybliżyć rozkładem normalnym, prawie wszystkie pomiary (około 95%) obejmować będzie przedział o szerokości $\pm 0,03$ mg/l.

Podkreślić w tym miejscu należy, że wyznaczona wartość niepewności (u) obejmowała takie jej źródła, jak: osoba badana, typ stosowanego przyrządu (IR lub FC), jego wzorcowanie, pobranie próbki powietrza do badań, odpowiedź detektora i jej przetwarzanie, tj. również takie, które nie są uwzględniane w szacowaniu niepewności przeprowadzonym zgodnie z zaleceniami OIML.

Przeprowadzona analiza wskazała ponadto, że wyniki uzyskiwane urządzeniami przenośnymi wyposażonymi w ogniwa paliwowe są zbieżne z wartościami wskazywanymi przez urządzenia stacjonarne wykorzystujące spektrofotometrię IR ($n = 868$, średnia wartość różnic 0,016 mg/l).

Można także wykazać, że przynajmniej w przypadku analizowanych danych nie ma wskazań do twierdzenia, że przyrządy działające na zasadzie pomiaru absorpcji promieniowania podczerwonego dają wyniki bardziej precyzyjne od przyrządów wykorzystujących ogniwa paliwowe. Testy statystyczne pozwalają bowiem na wykazanie, że o ile wariacje w obu podgrupach rzeczywiście różnią się w sposób statystycznie istotny ($F = 2,21 > F_{\text{crit}, 0.05} = 1,24$), to mniejszy rozrzut wyników obserwuje się w podgrupie analizatorów wykorzystujących ogniwa paliwowe (patrz tabela 1). Porównanie liczby par pomia-

rów przypadających na zakresy: $-0,03 < c < 0$ (533 pary, 37,0% wyników) oraz $0 < c < +0,03$ (525 par, 36,4% wyników) pozwala ponadto na potwierdzenie przyjętego powyżej założenia o braku istotnego wpływu procesów eliminacji alkoholu z organizmu na wynik kolejnego badania, wykonanego w niedługim czasie po pierwszej analizie.

4. Dyskusja

Badanie powietrza wydychanego jest nieinwazyjną metodą wyznaczania zawartości alkoholu w organizmie. Jednak jak każdy pomiar, również oznaczanie zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym jest obarczone błędem. Analizatory powietrza wydychanego, aby ich wynik posiadał wartość dowodową, spełniać muszą szereg ścisłych wymagań zdefiniowanych w dokumencie przygotowanym przez OIML (2012). W zakresie niepewności pomiarowej, dokument ten definiuje maksymalny dopuszczalny błąd przyrządu, przy czym wartość tego błędu jest mniejsza w przypadku badań wstępnych, mających na celu wykazanie użyteczności danego urządzenia, a nieco większa w trakcie rutynowego użytkowania (por. tabela 2).

Przyrządy stosowane w Polsce poddawane są wzorcowaniu, które ma na celu określenie poprawności ich wskazań. Wzorcowanie przeprowadzane jest w akredytowanych laboratoriach i polega na określaniu stężeń alkoholu w gazach wzorcowych o znanym stężeniu etanolu, w określonych, kontrolowanych warunkach. Na tej podstawie ustalana jest wartość poprawki, tj. różnicy między średnią wartością wskazań przyrządu a rzeczywistym stężeniem alkoholu w badanej mieszaninie gazowej oraz tzw. niepewność rozszerzona – błąd pomiaru uwzględniający błąd przypadkowy związany z precyzją pomiarów. Wartości te podawane są w treści świadectwa wzorcowania, przy czym zakres informacji zawartych w tym świadectwie wynika z zapisów normy PN-EN ISO/IEC 17025 (2005). Świadectwa wzorcowania wydawane mogą być przez organy administracji miar albo akredytowane laboratoria posiadające certyfikat Polskiego Centrum Akredytacji (PCA). Analizatory wzorcuje się za pomocą tzw. wilgotnych wzorców etanolowych (zgodnie z zaleceniami OIML) oraz suchych wzorców etanolowych.

Zgodnie z komunikatem Głównego Urzędu Miar, wynik rzeczywisty pomiaru (c) otrzymuje się dla danego, zmierzonego stężenia (x), uwzględniając zarówno wartość poprawki (p), jak i niepewności rozszerzonej (u) zgodnie z wyrażeniem:

$$c = (x + p) \pm u. \quad (3)$$

Należy jednak podkreślić, że podana w świadectwie wzorcowania wartość niepewności wyznaczona została w warunkach laboratoryjnych dla gazów wzorcowych.

W warunkach rzeczywistych, tj. podczas analizy powietrza wydychanego osoby zatrzymanej, błąd pomiaru jest z reguły większy. Jest to spowodowane faktem odmiennych niż podczas wzorcowania laboratoryjnego warunków pomiaru (skład wydychanego powietrza, jego temperatura, temperatura otoczenia, objętość wydechu itp. (Dubowski, 1974; Fox, Hayward, 1989). Wspomnieć jednak warto, że raz ustalona odpowiedź urządzenia dla gazów wzorcowych (tj. wyznaczona zależność kalibracyjna) pozostaje stała przez dłuższy czas (Booker, Lehmann, Korkosh, 2012).

O ile stężenie alkoholu w roztworach wzorcowych wyznaczone może być z bardzo dużą precyzją (powtarzalnością i odtwarzalnością), dokładnością i czułością (LOD i LOQ ; Jones, 1978b; Tremblay, 2013), o tyle w przypadku pomiarów zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym w grę wchodzi dodatkowo wkład czynnika biologicznego. Zmienność związana z tą składową niepewności jest dominująca w ogólnej niepewności pomiaru (Gullberg, 2008), a przeprowadzone szacunki wskazują, że stanowi ona około 73% budżetu niepewności. Czynniki analityczne związane z samym przyrządem pomiarowym, takie jak temperatura, elektronika, oprogramowanie wykorzystywane do przetwarzania sygnału z detektora, nie wnoszą wkładu większego niż 10%. Pozostałe około 17% związane jest ze spójnością pomiarową i uwzględnia niepewność stężenia alkoholu we wzorcach oraz niepewność współczynnika podziału alkoholu pomiędzy krew a powietrze wydychane. W przypadku uwzględnienia jedynie dwóch pierwszych z wymienionych powyżej składowych, niepewność związana ze składnikiem biologicznym przekracza 90% (rysunek 3; Gullberg 2006). Oznacza to, że każda znacząca różnica w wartościach uzyskanych w powtórzonych w krótkim odstępie czasu badaniach powietrza wydychanego związana jest zatem głównie z pobieraniem próbki do badań, a nie brakiem precyzji użytego przyrządu pomiarowego (Gullberg, 1989).

Problem miarodajności wyników badania powietrza wydychanego był tematem wielu prac opublikowanych w międzynarodowych czasopismach (por. tabela 3). Badania dotyczyły zarówno dwóch podstawowych typów analizatorów wydechu, tj. spektrofotometrycznych w podczerwieni (BAC Datamaster, Intoxilyzer 1400, Intoxilyzer 5000-D, Intoxilizer 5000, Seres Ethylometre 679T, Alcotest 7110), elektrochemicznych, wykorzystujących ogniwa paliwowe (ASD, Alcometer, Alco-Sensor IV-XL), jak również przyrządu wyposażonego równocześnie w oba detektory (Intoximeter ECIR).

Z danych przedstawionych przez różnych autorów wynika, że niepewność wyznaczania zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym na podstawie dwóch analiz wykonanych w niedługim czasie dla stężeń alkoholu w zakresie 0,10–0,25 mg/l nie przekracza wartości 0,03 mg/l, a zazwyczaj jest niższa. Z danych przyto-

czonych w tabeli 3 wynika ponadto, że niepewność ta nie zależy od typu stosowanego w badaniach przyrządu pomiarowego. Można wykazać bardzo dobrą zgodność pomiędzy wynikami uzyskanymi za pomocą urządzeń przenośnych wyposażonych w ogniwa paliwowe (Alco-Sensor IV, Alcotest 7410) a urządzeniami stacjonarnymi działającymi na zasadzie wykorzystania zjawiska absorpcji promieniowania elektromagnetycznego z zakresu podczerwieni (Alkomat, Alkometr A2.0; Zuba, 2008) oraz wysoką precyzję tego typu urządzeń pracujących w warunkach polowych (Leonard, 2012). Analiza bardzo obszernych zbiorów wyników analiz pozwoliła ponadto na wykazanie liniowej zależności funkcyjnej pomiędzy niepewnością pomiaru zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym a jego stężeniem (Stowell, Gainsford, Gullberg, 2008). Tego typu empiryczne zależności pozwalają na szacowanie wartości niepewności dla dowolnego stężenia alkoholu w zakresie, który pokrywają.

Porównanie niepewności związanej z podwójnym badaniem powietrza wydychanego oszacowanej na podstawie danych zgromadzonych w IES z wartościami zawartymi w literaturze przedmiotu pozwala na stwierdzenie ich wzajemnej zgodności. Przeprowadzona analiza pozwoliła ponadto na wykazanie, iż procesy eliminacji alkoholu z organizmu przebiegające pomiędzy powtórzonymi w krótkim odstępie czasu (do 10 min) pomiarami zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym nie wpływają w sposób statystycznie istotny na wyniki badań.

5. Wnioski

Opierając się na wartościach podawanych w literaturze przedmiotu oraz badaniach przeprowadzonych w IES można przyjąć, iż w typowych przypadkach niepewność związana z przeprowadzonym w warunkach rzeczywistych dwukrotnym pomiarem zawartości alkoholu w powietrzu wydychanym wynosi 0,03 mg/l (dla stężeń do 0,5 mg/l). Oszacowana wartość jest porównywalna z maksymalnym dopuszczalnym błędem pomiarowym wynikającym z zaleceń OIML (2012) i pozostaje w zgodzie z danymi literaturowymi, z których wynika, że dla niskich stężeń alkoholu niepewność oznaczania tego analitu w powietrzu wydychanym nie przekracza wartości 0,03 mg/l ($\alpha = 0,05$) i jest niezależna od typu stosowanego w badaniach przyrządu (FC lub IR).

Podkreślić jednak należy, że interpretacja wyników badań wymaga znacznej ostrożności oraz uwzględnienia szeregu dodatkowych czynników, z których za najbardziej istotne przyjąć należy: fazę metabolizmu alkoholu w organizmie, możliwość wystąpienia hiper- i hypowentylacji, eruktacji, obecność alkoholu zalegającego czy interferentów, które wpływają, często w sposób znaczący, na wartości uzyskiwane w badaniach powietrza wydychanego i ostateczną ich interpretację.