

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Matthias Graw

Ethanol- und Acetaldehydstoffwechsel
unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen
mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von der Ärztin
Julia Campos Arnoldi
aus München

2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter und Betreuung: apl. Prof. Dr. med. Thomas Gilg

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Markus Backmund
Prof. Dr. Anne-Laure Boulesteix

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 30.04.2015

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	5
2.	GRUNDLAGEN	9
	2.1 Alkoholelimination, Alkoholmetabolismus	9
	2.2 beschleunigte Elimination („Promillekiller“)	13
3.	MATERIAL UND METHODE	15
	3.1 Material und Studienaufbau	15
	3.2 Methoden.....	21
	3.2.1 ADH-Methode zur Ethanolbestimmung	22
	3.2.2 Head-Space Gaschromatographie	22
	3.2.3 Begleitstoffmethode	23
4.	ERGEBNISSE	26
	4.1 Alkoholelimination: Vollblutalkoholwerte/Blutalkoholkonzentrationen BAK.....	26
	4.1.1 Bier	27
	4.1.2 Wein	29
	4.1.3 Wodka.....	31
	4.1.4 Obstbranntwein	33
	4.1.5 Alle Versuche	35
	4.1.6 AUC (Area under curve)	36
	4.1.7 Intraindividueller Vergleich	37
	4.2 Alkoholelimination: Serumalkoholkonzentration SAK	38
	4.2.1 Bier.....	40
	4.2.2 Wein	42
	4.2.3 Wodka.....	44
	4.2.4 Obstbranntwein	46
	4.2.5 Serumalkohol (alle Versuche)	48
	4.2.6 Quotienten SAK Eisproben/SAK Normalproben.....	50
	4.2.6.1 Bier	50
	4.2.6.2 Wein	51
	4.2.6.3 Wodka.....	52
	4.2.6.4 Obstbranntwein	53
	4.2.6.5 Alle Versuche	54
	4.2.7 Quotienten SAK/BAK.....	55
	4.3 Acetaldehyd.....	55
	4.3.1 Acetaldehydspiegel Bierversuch.....	59
	4.3.2 Acetaldehydspiegel Wein	61
	4.3.3 Acetaldehydspiegel Wodka.....	63
	4.3.4 Acetaldehydspiegel Obstbranntwein	65
	4.3.5 Acetaldehydspiegel alle Versuche	67

4.3.6	Quotienten Acetaldehyd Eisproben/Acetaldehyd Normalproben	69
4.3.6.1	Bier	69
4.3.6.2	Wein	70
4.3.6.3	Wodka.....	70
4.3.6.4	Obstbranntwein	71
4.3.6.5	Quotienten Acetaldehyd Eis-/Normalproben – alle Versuche.....	71
5.	DISKUSSION	73
5.1	Alkoholelimination	74
5.2	Serumalkoholkonzentration (SAK) und Acetaldehyd.....	75
6.	ZUSAMMENFASSUNG	79
7.	LITERATURVERZEICHNIS	82
8.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	91
9.	DANKSAGUNG UND LEBENS LAUF	93

1. Einleitung

Immer wieder werden Getränke oder Präparate beschrieben und beworben, die die Alkoholelimination beschleunigen und eine rasche und deutliche Senkung der Blutalkoholkonzentration sowie eine entsprechende Minderung psychophysischer Leistungsdefizite bewirken sollen. In aller Regel konnten solche Präparate derartige Versprechungen nicht halten (vgl. Musshoff et al 2006).

Ende der 1990er Jahre kam „Sauerstoffwasser“ bzw. mit Sauerstoff angereichertes Wasser aus Österreich auf den deutschen Markt. Nachdem in Österreich kein konkretes Gesundheitsrisiko belegt war, wurden solche Produkte in Deutschland geduldet, allerdings mit einer befristeten Ausnahmegenehmigung für neun Jahre und bis zum wissenschaftlichen Nachweis eines ernährungsphysiologischen Vorteils des Sauerstoffzusatzes. 2010 und 2011 waren immer noch entsprechende Getränke (z.B. der Fa. Adelholzener) auf dem Markt, mit Sauerstoffanreicherung und Sauerstoffgehalten zwischen 40 und 200 mg pro Liter, laut Etikett, garantiert jeweils bis zum Mindesthaltbarkeitsdatum. Wegen der Flüchtigkeit des Sauerstoffs kommt es selbst in verschlossenen, angebrochenen Flaschen zu Verlusten bis zur Hälfte (vgl. Stiftung Warentest 5/2003).

Das neue „Wundermittel“ sollte nach Herstellerangaben über die Sauerstoffanreicherung neben einer Stärkung des Immunsystems, gesteigerter Durchblutung und höherer Leistungsfähigkeit auch eine Optimierung des Stoffwechsels ermöglichen.

Piantadosi (2006) bezweifelte einen Anstieg des Sauerstoffpartialdrucks in der Leber, während Forth et al (2001) davon ausgingen, dass eine Sauerstoffanreicherung über den Gastrointestinaltrakt in der Leber erfolgt, da ein Anstieg des O₂-Partialdrucks in der Bauchhöhle und der Pfortader nachweisbar war. Ansonsten ist angesichts der Konzentrationsverhältnisse im Vergleich zur physiologischen Sauerstoffaufnahme über die Lunge (ca. 20-500 g pro Stunde gegenüber maximal 24-226 mg über einen Liter O₂-Wasser) nicht von einer relevanten systemischen Wirkung auszugehen (Leibetseder 2006, Piantadosi 2006). Wing-Gaia et al fanden 2005 keine Leistungssteigerung nach dreitägiger Aufnahme von 35 ml Sauerstoffwasser pro kg Körpergewicht und Tag bei mäßig aktiven jungen Männern. Darüber hinaus werden mögliche Risiken durch die Sauerstofferhöhung in der Pfortader und der Leber diskutiert, die sorgfältig überprüft werden sollten (Arnaud 2006).

Vorstellbar erscheint, dass – insbesondere sauerstoffabhängige – Stoffwechselforgänge in der Leber beeinflusst werden, wie z.B. beim Alkoholabbau (Stowell und Crow, 1985) oder auch bei hepatischen Perfusionsstörungen. Neben Metabolismusbeschleunigungen kommt allerdings auch eine vermehrte Bildung von Radikalen durch eine Sauerstoffgabe als Folge eines „oxidativen Stress“ in Betracht. Deshalb wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch Ascorbylradikale bestimmt. In den folgenden Abschnitten werden in Anlehnung an Karrer (2011) kurz einige Aspekte beschrieben.

Oxidativer Stress wird als Missverhältnis zwischen Prooxidantien und Antioxidantien definiert, wobei Prooxidantien wie reaktive Sauerstoffspezies (ROS) überwiegen. Wesentliche Ursachen für die Bildung von ROS sind Veränderungen im Bereich der Elektronentransportkette in den Mitochondrien, im Rahmen des Alterungsprozesses, sowie bei allen Zuständen, die mit einem Ischämie/Reperfusionen-Phänomen einhergehen (z.B. Organtransplantationen, vgl. Gößling 2007).

Erhöhte Radikalkonzentrationen („oxidativer Stress“) können generell durch eine Reihe von Belastungen auftreten und beispielsweise gastrische Läsionen verursachen, an der Pathogenese von toxischen und kanzerogenen Veränderungen am Ösophagus und Intestinaltrakt beteiligt sein und zur Entstehung einer Leberzirrhose beitragen (Albano 1996, 2006, Reinke und Moore 1997). Auch an der Entstehung von Autoimmunerkrankungen bei alkoholkranken Patienten scheinen Radikale für die Genese von Autoantikörpern mitverantwortlich zu sein, ebenso bei anderen Erkrankungen (Bagenholm et al 1997, Halliwell und Gutteridge 1989, Masumizu et al 2005, Pietri et al 1990, 1994).

Inzwischen besteht eine Vielzahl von Publikationen über Bildung und Auswirkungen von Sauerstoffradikalen. Auch über metabolisch bedingte Radikalbildungen nach Alkoholaufnahme und mögliche, toxische Wirkungen und Organschädigungen wurde berichtet (Albano und Clot 1996, Albano 2006, Cederbaum 1987, 1989, Moore et al 1995, Molina et al 2014, Reinke und Moore 1997), meistens nach chronischer Alkoholbelastung und in Tierversuchen. Andererseits sollen bereits 1890 oxygenierte Absinthgetränke gesundheitliche Vorteile gehabt haben und nach Versuchen in den 1920/30er Jahren Symptome einer Alkoholintoxikation abgeschwächt haben.

Versuche mit Rattenleberscheiben hätten positive Zusammenhänge zwischen Sauerstoffsättigung und Alkoholelimination gezeigt (Übersicht bei Lachenmeier und Rehm 2010).

1978 berichteten dann Hyvärinen et al über einen beschleunigten Ethanolabbau bei drei Makaken, denen zusätzlicher Sauerstoff über entsprechend angereicherte Getränke zugeführt wurde. Im Humanversuch konnten diese Ergebnisse nach Aufnahme von 200 ml oxygeniertem Wasser allerdings nicht bestätigt werden (Laakso et al 1979, Maring und von Wartburg 1980). Die Arbeit von Baek et al (2010, mit Untersuchungen nach den vorliegenden) beschreibt eine beschleunigte Ethanolelimination und Reduktion von Kater- bzw. Hangoversymptomen, weist jedoch nach einem kritischen Leserbrief von Lachenmeier und Rehm 2010 erhebliche Mängel auf, die auch durch die Antwort der Autoren nicht hinreichend entkräftet werden.

Neben der Frage inwieweit möglicherweise bereits eine bolusartige Einnahme von Ethanol ohne Sauerstoffanreicherung die Bildung von Sauerstoffradikalen beeinflusst (vgl. Karrer 2011) sollte auch untersucht werden, welchen Einfluss sauerstoffangereichertes Wasser im Vergleich zu normalem Wasser in Verbindung mit einer Alkoholaufnahme hat.

Ergebnisse aus Humanversuchen über die Auswirkungen kurzzeitiger, bolusartiger Alkoholbelastung auf den Metabolismus von Sauerstoffradikalen waren nicht auffindbar, speziell nicht im Hinblick auf Pharmakokinetik und eine Differenzierung nach verschiedenen alkoholischen Getränken mit unterschiedlichen Begleitstoffspektren und Auswirkungen auf den Radikalstoffwechsel. Im Raum steht z.B. eine mögliche Wirkung von Radikalfängern in Rotwein (Satoh 1996) bzw. antioxydative Kapazitäten von Rotwein (Jamroz 2001). Ferner wird eine Bildung von zellschädlichen Sauerstoffradikalen im Zuge der Alkoholverstoffwechslung über Cytochrome P 450 2E1 diskutiert (Koop 2006). Die kürzliche Mitteilung von Baek et al (2010) über eine raschere Alkoholelimination unter Einfluss von Sauerstoffwasser stützt sich nicht auf Alkoholabbauwerte nach Auswertung von Eliminationskurven, sondern lediglich auf das Erreichen des Endpunkts der Alkoholelimination bzw. das Erreichen von „0,00“, mit nicht überzeugenden Differenzen und auf einem ungeeigneten Konzept basierend (vgl. auch kritische Anmerkungen von Lachenmeier und Rehm 2010).

Zu einer Vielzahl von Antioxidantien bzw. „Radikalfängern“ wie beispielsweise Enzymen (Superoxiddismutasen, Glutathionperoxidasen u.a) und Substanzen wie Glutathion zählen auch Vitamin E und Vitamin C bzw. Ascorbinsäure. Nach Literaturangaben widerspiegelt der Nachweis einer vermehrten Bildung von Ascorbylradikalen zwar nicht den gesamten oxidativen Stresstatus, gilt jedoch als entsprechender Marker (Ashton et al 1999, Buettner 1993, Halliwell 1989, Pietri 1990, 1994, Roginsky 1994).

Schoenberg et al konnten 2002 im Humanversuch bei regelmäßiger Aufnahme von Sauerstoffangereichertem Wasser (ab 30 mg Sauerstoff/Liter) eine zeitlich begrenzte, geringe Erhöhung der Serumkonzentration des Ascorbylradikals nachweisen. Gruber et al (2005) berichteten über eine Erhöhung von Ascorbylradikalen beim Menschen von 48 auf 65 nmol/l ab einem Sauerstoffzusatz von 30 mg/l im Wasser.

Systematische Trinkversuche mit Alkohol, mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser, zur Frage eines oxidativen Stress mit möglichen Auswirkungen auf den Stoffwechsel von Ethanol und Begleitstoffen wurden nach der verfügbaren Literatur bisher offenbar nicht durchgeführt. Die vorliegende Arbeit sollte als Teil einer umfassenderen Studie den Stoffwechsel von Ethanol und dessen Hauptabbauprodukt Acetaldehyd ohne und mit sauerstoffangereichertem Wasser untersuchen, speziell im Hinblick auf eine eventuell gesteigerte Ethanolelimination. Das Verhalten von (Ascorbyl-)Radikalen und Begleitstoffen wurde getrennt untersucht (vgl. Dissertation von Karrer 2011 sowie von Strehlow 2014, in Arbeit).

2. Grundlagen

2.1 Alkoholelimination, Alkoholmetabolismus

Grundlagen des Alkoholstoffwechsels nach kurzzeitiger oraler Alkoholaufnahme mit Resorptions-, Distributions- und Eliminationsphasen und Eliminationscharakteristika sind in Abb. 1 und 2 beschrieben (Übersichten vgl. Seitz 2000, Gilg 2005a/b, Jones 2011).

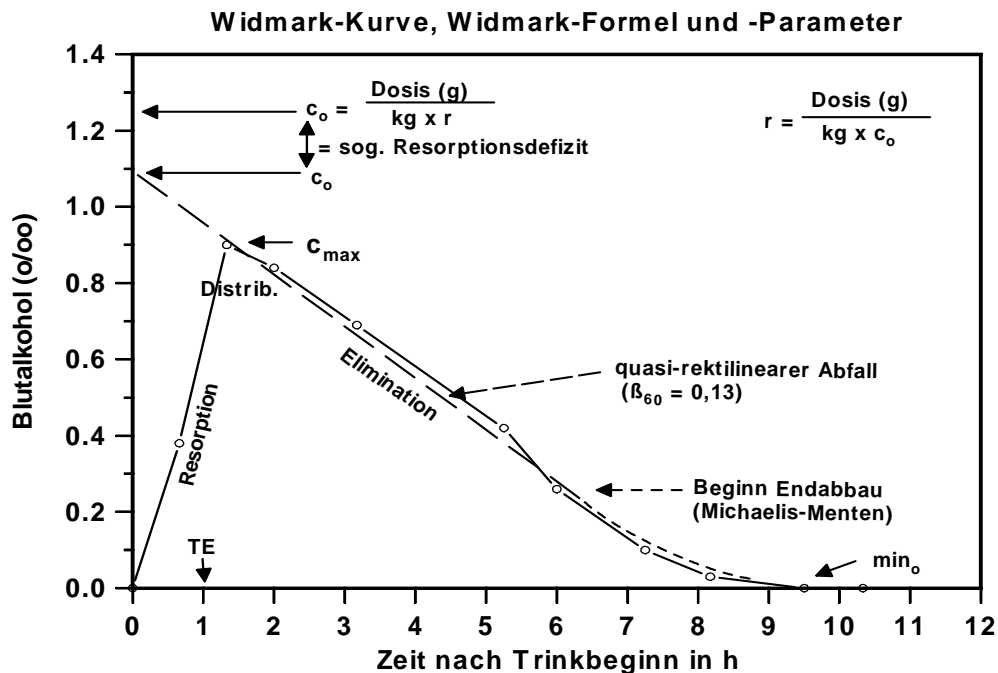


Abb. 1: Typische Konzentrations-Zeitkurve von Ethanol bzw. Alkoholverlaufskurve nach bolusartiger Alkoholaufnahme mit Widmark-Formel und mit wesentlichen Charakteristika.

c = Blutalkoholkonzentration (BAK), c_{\max} = maximale erreichte BAK, c_o = theoretisch errechneter BAK-Wert bzw. aus dem Kurvenverlauf über Retropolation zurückgerechneter BAK-Wert;

c_o Widmark = nach Widmark errechneter maximaler Wert. c_o/c_o Widmark in % ist sog. Resorptionsdefizit

Dosis = Alkoholdosis in g

kg = Körpergewicht in kg

r = Reduktionsfaktor, entsprechend dem Verteilungsvolumen bzw. Körperwasseranteil (aus Gilg 2005a/b)

Maximal 2-5 % des aufgenommenen Alkohols bzw. Ethanol (C_2H_5OH , im Folgenden auch synonym zu verstehen) wird über Atmung, Schweiß und Urin physikalisch unverändert ausgeschieden, ca. 0,5 % wird zu Fettsäureethylester konjugiert bzw. glucuronidiert und über die Niere ausgeschieden.

Etwa 95 % des Alkohols wird metabolisiert und hauptsächlich zu etwa 90 % durch die hepatische Alkoholdehydrogenase (ADH) zu Acetaldehyd (=Ethanal, C_2H_4O) oxidiert, das dann durch die Aldehyddehydrogenase (ALDH) zu Acetat (=Essigsäure, C_2H_3OH) verstoffwechselt wird. Acetat wird schließlich durch Thiokinase über Acetyl-Coenzym A im Zitronensäurezyklus zu Wasser (H_2O) und Kohlensäure (CO_2) abgebaut (siehe Abb. 2). Der Ethanolabbau ist begrenzt, da sowohl die ADH als auch die ALDH das Co-Enzym NAD benötigen, das bei diesen Prozessen in NADH umgewandelt wird und anschließend wieder zu NAD reoxidiert werden muss. Dieser Vorgang ist der limitierende Faktor beim Alkoholabbau über ADH und dafür verantwortlich, dass Alkohol nahezu konzentrationsunabhängig und linear abgebaut wird (siehe Abb. 1), wie Widmark (1932) bereits in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts herausfand, ohne jedoch die genauen Mechanismen des Alkoholabbaus zu kennen. Er bezeichnete die negative Steigung der Alkoholabbauphase mit dem griechischen Buchstaben β und berichtete über einen Mittelwert von 16 mg/dl/h für gesunde, nahrungsnüchterne Personen mit mäßigen Trinkgewohnheiten. Dies entspricht 0,16 g/l/h bzw. knapp 0,16 g/kg/l/h = 0,16 ‰/h bei Bezug auf Masseverhältnisse. Der geringste beobachtete Wert lag bei 10 mg/dl/h und der höchste bei 25 mg/dl/h.

In der forensischen Praxis werden nach wie vor Eliminationswerte von mindestens 0,10 ‰/h, wahrscheinlich 0,15 ‰/h und bis zu 0,20 ‰/h zu Grunde gelegt (vgl. Gilg 2005a/b). Eine Steigerung des Alkoholabbaus über eine Enzyminduktion der ADH ist nicht möglich, ggf. jedoch über eine beschleunigte Reoxydation gebildeten NADH's, wie über erhöhte Sauerstoffspiegel oder z.B. Fructose, ferner durch Enzyminduktion bei Alkoholikern (siehe 2.2).

Seit Widmark (1932) gibt es unzählige Untersuchungen zum Alkoholabbau, mit Hinweisen für etwas höhere, stündliche Abbauwerte als 0,15 ‰ bei Frauen, möglicherweise auch bei Männern (vgl. Übersichten z.B. bei Gilg 1995, 2005a/b, Dettling 2007, 2008, 2009 und Jones 1993, 2008, 2010 und 2011).

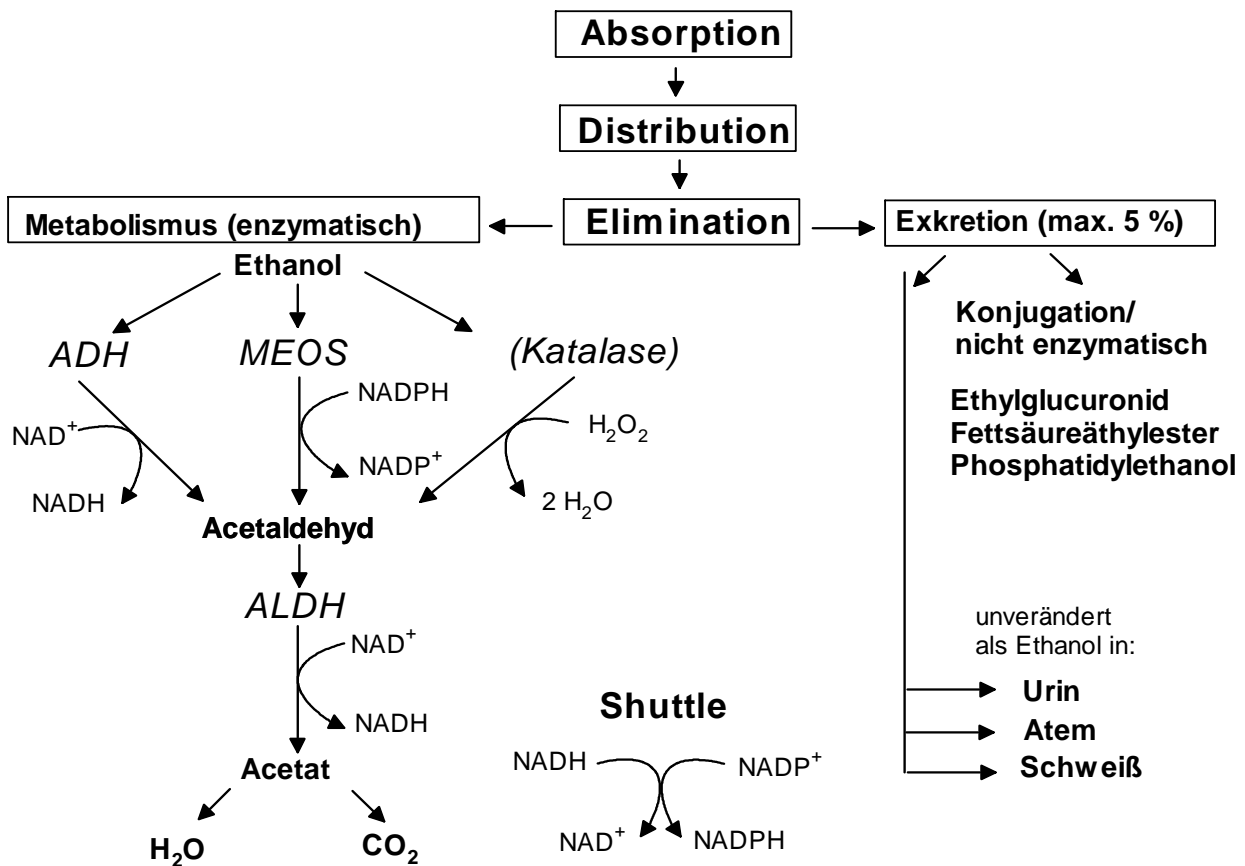


Abb. 2: Ethanolelimination: Überblick über die verschiedenen Stoffwechselwege des Alkoholabbaus (ADH, MEOS (Cytochrom P450 2E1), Katalase)

Ethanol kann – zunehmend ab 1 ‰ Blutalkoholkonzentration (BAK) – auch über ein mikrosomales ethanoloxidierendes System (MEOS) verstoffwechselt werden, mittels Cytochrom P450 2E1 (CYP2E1). Dabei wird Ethanol in den Mikrosomen der Leberzellen unter Sauerstoffverbrauch zu Acetaldehyd oxidiert. Insofern könnte eine Sauerstoffzufuhr über die Portalvene wie durch sauerstoffangereichertes Wasser möglicherweise zu einer metabolischen Induktion führen. Bei chronischem Alkoholabusus kann es über eine Enzyminduktion mit 4-10facher Erhöhung des mitochondrialen Cytochrom P450 2E1 zu deutlich gesteigerten Eliminationsraten von bis zu 0,30/0,35 ‰/h kommen, mit möglicher Bedeutung für die Praxis der forensischen BAK-Rückrechnung (Übersichten bei Lieber 1999, 2005 , Pagliaro 1992, Haffner 1991, 1992, Jones 1993, 2008, 2010, 2011).

Möglicherweise kommt auch eine kurzfristige Steigerung der Alkoholabbaurrate in Betracht, der so genannte "swift increase of alcohol metabolism" (SIAM), der mit einem erhöhten Sauerstoffbedarf und einer perizentralen Hypoxie der Leber einhergeht. Teilweise wurde ein Anstieg der Alkoholstoffwechselrate (um 20-40 % etwa zwei bis vier Stunden nach der

Alkoholeinnahme beobachtet (Thurman RG, 1989). Ein erhöhtes Angebot an den Co-Faktoren NAD^+ und H_2O_2 soll für erhöhte Aktivität der ADH und auch der Katalase verantwortlich sein (Bradford 2005). *Yuki und Thurman* (1980) stellten bei Ratten ca. zweieinhalb Stunden nach der einmaligen intragastrischen Applikation von 5 g Ethanol pro kg Körpergewicht (!!)) einen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs auf das Doppelte fest. Auch wenn derartige massive Alkoholbelastungen eher unrealistisch und auf Humanverhältnisse problematisch zu übertragen sind, spielt möglicherweise ein erhöhter Sauerstoffverbrauch der Leber eine Rolle, der über Faktoren wie Nahrungsaufnahme u.a. über eine verstärkte Pfortaderdurchblutung zu solchen Effekten führt.

Der dritte Abbauweg über die in den Peroxisomen lokalisierte Katalase unter Verbrauch von H_2O_2 spielt unter physiologischen Bedingungen nur eine untergeordnete Nebenrolle (Lieber 2005), da nur eine geringe Menge an H_2O_2 zur Verfügung steht (Olson 1987).

Allen drei Stoffwechselwegen gemeinsam ist der aus der Alkoholoxydation resultierende Acetaldehyd, der auf Grund der begrenzten Ethanolelimination in relativ geringen Mengen entsteht und bei kurzer Halbwertszeit im Minutenbereich rasch zu Acetat abgebaut wird. Gleichwohl wird dem sehr reaktiven Acetaldehyd toxische Wirkung zugeschrieben, u.a. im Hinblick einerseits auf Cancerogenese, andererseits Unverträglichkeitserscheinungen. Speziell bei genetisch bedingter ALDH-Defizienz und bei Medikamenteneinfluss wie durch Disulfiram („Antabuseffekt“) resultieren erhöhte Acetaldehydspiegel mit typischer Symptomatik. Im Speichel kann Acetaldehyd mikrobiell aus Ethanol gebildet werden. Während Acetaldehyd die Blut-Hirnschranke kaum überwindet, könnte eine Entstehung direkt im ZNS durch Ethanolabbau über ADH, Cytochrome P450 2E1 oder Katalase eine Rolle spielen (Zimatkin 1997). Im Übrigen entsteht sogar bei der Verbrennung von Superkraftstoff E10 mit 10 % Bioethanolanteil Acetaldehyd, was als Vorläufer von Ozon angesehen wird, schädliche Auswirkungen werden diskutiert (vgl. Übersicht in der Stellungnahme des Bundesinstituts für Risikobewertung Nr. 022/2010 vom 4.5.2010).

Generell und speziell im Hinblick auf Acetaldehydmessungen im Serum, Plasma oder Vollblut sind analytische Probleme zu berücksichtigen (vgl. Detail in 3.1).

2.2 beschleunigte Elimination („Promillekiller“)

Immer wieder werden Substanzen beschrieben, die den Alkoholabbau beschleunigen sollen, wie z.B. Koffein, Aloin (Chinon-Derivat von Aloe), Honig, Sangrita (mexikanischer Gewürzsaft) und vor allem Fructose (Thieden 1965, Scholz 1976). Pletscher et al fanden 1952 bei Hunden nach Einnahme von 1-2 g Fructose pro kg Körpergewicht und Stunde eine Steigerung der Alkoholoxidation um 80 %, beim Menschen ergaben ihre Versuche nach Infusion der gleichen Fructosemenge eine Steigerung um 70 %. Bei oraler Fructose-zufuhr kamen Lundquist und Wolthers zu dem gleichen Ergebnis (1958). Crownover et al zeigten 1986 bei gleichzeitiger Einnahme von Fructose zu Alkohol lediglich einen niedrigeren Spitzenwert der Blutalkoholkurve, bei Einnahme von Fructose 30 Minuten nach Alkoholzufuhr fanden sie einen um durchschnittlich 25 % beschleunigten Alkohol-stoffwechsel. Scholz und Nohl lieferten schon 1976 eine mögliche Erklärung dafür. Sie entnahmen ihren Ergebnissen, dass Fructose die Ethanoloxidation indirekt über eine Erhöhung des Energieverbrauchs der Leber steigert (Bildung von Glucose aus Fructose). Hieraus folgen eine erhöhte Rate oxidativer Phosphorylierung und eine erhöhte Kapazität der Atmungskette, mit rascherer Reoxidation des im Alkoholstoffwechsel entstehenden NADH und anderer Substrate. Kleiber et al (1985) kamen bei der Untersuchung von „Neukamm“, einem auf Fructose basierendem Getränk, zu einem anderen Ergebnis: Sie konnten keine Beschleunigung des Alkoholabbaus feststellen. Letztlich ist eine Beschleunigung der enzymatischen Ethanolmetabolisierung durch erhöhte Reoxydation des dabei gebildeten NADH's über Substanzen wie Fructose möglich, jedoch durch die Unverträglichkeit der erforderlichen Mengen limitiert (Übersichten zu solchen als „Promillekiller“ bezeichneten und beworbenen Produkten, meist mit Fructose, teils auch Vitamin C u.a., finden sich bei Kleiber 1985, Schmidt 2000 und Mußhoff 2006).

Kalant beschrieb 2005 in seiner Arbeit, dass die Einnahme von Fett, Kohlenhydraten oder Proteinen direkt vor oder zusammen mit der Einnahme von Alkohol in gleichem Maße die Entleerung des Magens verzögern und die maximale Blutalkoholkonzentration nach der gleichen Dosis von Alkohol verringern.

Vitamin C (Ascorbinsäure) kann den „Kater“ nach übermäßigem Alkoholgenuss mildern (Herbrich 1963). Zudem wurde eine erhöhte Alkoholelimination durch Stimulation der ADH nach Vitamin C-Gabe festgestellt, allerdings nicht bei Einmalgabe, sondern im Verlauf von zwei Wochen mit einer täglichen Gabe von 1 g (Krasner 1974).

Bereits 1967 untersuchten Grüner et al den Einfluss von Sauerstoffatmung auf die Blutalkoholkurve und die alkoholbedingte Leistungsminderung. Sie konnten zeigen, dass sich die alkoholbedingten Funktionsstörungen zwar vermindern ließen, die Blutalkoholkurve sich aber nur kurz im Sinne einer Senkung änderte, dann jedoch schnell wieder ausglich. Ähnliche Effekte wurden auch bei adrenalinbedingter Stresswirkung beobachtet (Grüner 1958).

Falls der hepatische Alkoholmetabolismus oxydativ gesteigert werden kann, stellt sich die Frage, ob sauerstoffangereicherte Flüssigkeiten überhaupt zu messbaren bzw. relevanten Erhöhungen der Sauerstoffspiegel speziell in der Leber bzw. im Portalvenenblut führen können. 2001 zeigten Forth und Adam bei Kaninchen eine Steigerung des Sauerstoffgehaltes in der Portalvene um bis zu 14 mmHg nach der intragastrischen Zufuhr von 30 ml mit Sauerstoff angereicherten Wassers (80-150 mg O₂/l). Zuvor hatten Hyvärinen et al bei Hunden nach intragastraler Applikation von sauerstoffangereichertem Wasser in der Portalvene eine Steigerung des Sauerstoffpartialdruckes von 7-8 % gefunden, der 10 bzw. 15 Minuten anhielt (1978). Zu dem gleichen Ergebnis kamen Leibetseder et al 2006, die die Versuchspersonen zwei Wochen lang täglich 1,5 Liter Sauerstoffwasser zu sich nehmen ließen.

Hyvärinen et al untersuchten dann den Einfluss sauerstoffangereicherter Getränke (Wasser und Orangensaft mit 64 ± 14 mg O₂/l) auf den Alkoholabbau bei Affen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Alkoholabbaurate nach Aufnahme sauerstoffangereicherter Getränke um durchschnittlich 60 % zunahm (1978). Im Humanversuch konnte die gleiche Forschergruppe jedoch keine Veränderung des Alkoholstoffwechsels durch oxygeniertes Wasser feststellen (Laakso 1979). Maring und von Wartburg hatten bereits 1980 keinen Effekt von Sauerstoffwasser auf den Alkoholabbau feststellen können.

3. Material und Methode

3.1 Material und Studienaufbau

Nach Zusage auf einen Antrag zur Gewährung von Fördermitteln aus der Stiftung der MMW wurde die Studie mit 7.500 € unterstützt (Entschädigungen für Versuchspersonen, allg. Sachkosten: ca. 600 Radikalbestimmungen, ca. 1.500 Blutuntersuchungen auf Alkohol und 1.500 auf Begleitstoffe). Die Studie erfolgte unter 3 Aspekten bzw. Zielsetzungen:

1. Verhalten von Ascorbylradikalen (Dissertation von Karrer 2011)
2. Verhalten von Ethanol und Acetaldehyd mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser (vorliegende Arbeit)
3. Verhalten von Begleitstoffen (Dissertation von Strehlow, in Arbeit)

Durchgeführt wurden 4 Versuchsreihen mit je 6 gesunden Versuchspersonen und an je 2 Samstagen im Wochenabstand, somit insgesamt 24 Versuche. Je Versuchsreihe wurden als alkoholisches Getränk Rotwein, Wodka, Bier und Obstbranntwein verabreicht. Je Versuchstag wurde innerhalb jeder Versuchsreihe randomisiert, placebokontrolliert und doppelblind eine zusätzliche Aufnahme von Wasser mit O₂-Anreicherung oder mit normalem O₂-Gehalt durchgeführt. Zusätzlich wurde eine weitere Versuchsreihe an nur einem Versuchstag ohne Alkoholeinnahme unter alleiniger Aufnahme von sauerstoffangereichertem Wasser festgelegt. Diese Versuchsreihe diente als Kontrollgruppe um den alleinigen Einfluss von sauerstoffangereichertem Wasser gegenüber der bolusartigen Einnahme von Alkohol auf die Bildung von Ascorbylradikalen einschätzen zu können.

Die Versuche wurden mit 21 gesunden freiwilligen Personen durchgeführt, davon 20 männlichen im Alter von 17 bis 28 Jahren sowie einer weiblichen im Alter von 25 Jahren. Alle Probanden wurden mit einem Aufklärungsbogen und mündlich über den Versuchsablauf informiert und aufgeklärt und nahmen nach Zustimmung freiwillig teil, bei einer Aufwandsentschädigung von 50 € je Versuchstag. Den Probanden stand es frei, ihre Teilnahme ohne Angabe von Gründen jederzeit abzubrechen. Keine der Versuchspersonen machte von dieser Möglichkeit Gebrauch. Drei der männlichen Versuchspersonen nahmen an zwei Experimenten, zwei der männlichen Versuchspersonen nahmen an drei Experimenten teil, ein Versuchsteilnehmer musste wegen Übelkeit und Erbrechen den Versuch abbrechen. Einzelne Vorversuche bzw. erste Versuche

waren wegen Ausfall der Kühlzentrifuge hinsichtlich der dann zu niedrigen und nicht plausiblen Ascorbylradikalwerte nicht verwertbar und wurden wiederholt. Insgesamt standen 24 gültige Versuche zur Auswertung zur Verfügung.

Zum Ausschluss einer Leberfunktionsstörung wurden bei allen Versuchspersonen γ -GT, GOT und GPT überprüft, hier lagen sämtliche Werte im Normbereich (GOT 28-50 U/l, Referenzbereiche männlich 28-50, weiblich 10-35 U/l, GPT 13-44 U/l, Referenzbereich männlich 10-50, weiblich 10-35 U/l, γ -GT 9-46 U/l Referenzbereich männlich < 66, weiblich < 39 U/l. Tab. 1 (wie bei Karrer 2011) gibt eine Übersicht über weitere Details und Rahmenbedingungen.

Versuchsperson	Alter/ Geschlecht	KG(kg)/ KL(cm)	BMI	redezuiertes KG (kg), bei r=0,7	Ethanol bei 1g / kg (KG)	Alkoholart	Trinkmenge 1g/kg KG gerundet	Theor. Cmax nach Widmark	Trinkgewohnheiten
V/8	24 / m	83 / 190	23	58,1	83	Obstler 38,0%	280 ml	1,47‰	10-12 Bier/Woche
V/4	28 / m	91 / 187	26	63,7	91	Bier 5,6%	2250 ml	1,58‰	8-10 Bier/Woche
V/2	26 / m	71 / 184	21	49,7	71	Bier 5,6%	1750 ml	1,58‰	12-14 Bier/Woche
IV/5	24 / m	85 / 193	23	59,5	85	Rotwein 12,0%	850 ml	1,37‰	gelegentlich
IV/3	28 / m	74 / 179	23	51,8	74	Rotwein 12,0%	740 ml	1,37‰	1 Bier/Tag
V/3	26 / m	90 / 185	26	63	90	Weissbier 4,8%	2500 ml	1,52‰	gelegentlich
V/5	24 / m	68 / 175	22	47,6	68	Obstler 38,0%	220 ml	1,44‰	gelegentlich
III/2	17 / m	74 / 180	23	51,8	74	Weissbier 4,8%	1950 ml	1,48‰	1 Bier/Tag
IV/2	17 / m	75 / 180	23	52,5	75	Rotwein 12,0%	750 ml	1,37‰	1 Bier/Tag
III/1	23 / m	83 / 179	26	58,1	83	Weissbier 4,8%	2000 ml	1,45‰	2 Bier/Tag
IV/4	23 / m	82 / 179	26	57,4	82	Rotwein 12,0%	820 ml	1,37‰	2 Bier/Tag
V/9	23 / m	80 / 182	24	56	80	Obstler 38,0%	260 ml	1,41‰	6 Bier/Woche
IV/1	19 / m	70 / 178	22	49	70	Rotwein 12,0%	700 ml	1,37‰	2 Bier/Woche
III/3	27 / m	93 / 186	27	65,1	93	Weissbier 4,8%	2500 ml	1,47‰	2 Bier/Tag
V/6	27 / m	93 / 186	27	65,1	93	Obstler 38,0%	300 ml	1,40‰	2 Bier/Tag
II/5	23 / m	60 / 176	19	42	60	Rotwein 12,0%	630 ml	1,44‰	3-4 Bier/Woche
V/1	23 / m	70 / 192	19	49	70	Obstler 38,0%	240 ml	1,47‰	10 Bier/Woche
V/7	25 / w	63 / 171	22	37,8 (r=0,6)	63	Obstler 38,0%	180 ml	1,43‰	10-12 Bier/Woche
III/4	23 / m	65 / 179	20	45,5	65	Wodka 40,0%	200 ml	1,41‰	1-2 Bier/Tag
III/5	28 / m	74 / 179	23	51,8	74	Wodka 40,0%	230 ml	1,42‰	1 Bier/Tag
II/3	24 / m	74 / 184	22	51,8	74	Wodka 40,0%	230 ml	1,42‰	gelegentlich
II/2	25 / m	73 / 182	22	51,1	73	Wodka 40,0%	220 ml	1,38‰	1 Bier/Tag
II/1	21 / m	92 / 187	26	64,4	92	Wodka 40,0%	280 ml	1,39‰	2 Bier/Tag
II/4	23 / m	84 / 188	24	58,8	84	Wodka 40,0%	260 ml	1,41‰	2 Bier/Tag

1g Ethanol /kg KG ergibt nicht 1‰ BAK als Maximalwert, sondern aufgrund des Verteilungsraums / Widmarkfaktors bei r=0,7 entspricht dies 1,428‰

Tab.1: Versuchspersonen

Die Alkoholversuche fanden an zwei aufeinanderfolgenden Samstagen statt, mit einer Ausnahme: Da bei einem Probanden am 2. Versuchstag Restalkohol über eine Atemalkoholmessung nachgewiesen wurde, wurde der 2. Versuchstag in der darauffolgenden Woche wiederholt. Nach diesen Versuchen erhielten drei Personen an einem letzten Versuchstag ausschließlich sauerstoffangereichertes Wasser ohne Alkohol. Nur an diesem Versuchstag wussten Untersucher und Probanden, dass mit Sauerstoff angereichertes Wasser getrunken wurde.

Die Versuchspersonen wurden in vier Gruppen eingeteilt, wobei jede Gruppe ein alkoholhaltiges Getränk zugewiesen bekam. Es wurden Versuche mit Rotwein (Affaltracher Dornfelder 12 % vol oder Vol-%), Bier (Unertl Weißbier 4,8 % vol und Augustiner Edelstoff 5,6 % vol, je drei Mal), Obstbranntwein (Obstwässerli August Kranz 38 % vol) und Wodka (Moskovskaya 40 % vol) durchgeführt. Teilnehmer VP IV/5 in der Rotweingruppe erschien mit Restalkohol zu einem Versuch, der dann wiederholt wurde. In der Gruppe mit Obstbranntwein erschienen zwei Versuchspersonen mit Restalkohol, eine Wiederholung war aus organisatorischen Gründen nicht möglich. Die Befunde wurden entsprechend diskutiert und soweit möglich mit einbezogen.

Die Versuchspersonen erhielten die Auflage, gegen 8 Uhr ein normales (kontinentales) Frühstück zu sich zu nehmen und ab dann Nahrungskarenz einzuhalten, der Versuchsbeginn war für 11 Uhr angesetzt. Erst nach Abschluss der Alkoholresorption (2 Stunden nach Trinkende) wurden belegte Brötchen zum Verzehr gereicht.

Die orale Alkoholbelastung betrug bei den männlichen Versuchspersonen innerhalb einer Stunde 1,0 g Alkohol/kg Körpergewicht, bei weiblichen 0,9 g Alkohol/kg Körpergewicht, entsprechend einer Ziel-BAK von 1,0 bis 1,2 ‰. Begleitend zur Alkoholaufnahme mussten die Probanden an den beiden Versuchstagen je einmal sauerstoffangereichertes Wasser und einmal normales Wasser trinken, in zufällig festgelegter Reihenfolge und zwar 0,3 Liter Wasser zu Beginn des Trinkversuches und alle 30 Minuten bis Trinkende, sowie dann mindestens 0,3 Liter Wasser jede weitere Stunde, ad libidum, d.h. ohne Beschränkung der Wasseraufnahme. Bis zum Zeitpunkt nach der Auswertung der Daten hatten weder die Probanden noch die Untersucher eine Information über die Art des zugeführten Mineralwassers. Das Design der Studie war deshalb doppelblind, kontrolliert und gekreuzt.

Das sauerstoffangereicherte Wasser war von der Firma Adelholzener, Marke O₂ Active, damals in 0,5 Liter Glasflaschen, und enthielt nach Herstellerangaben physikalisch gelöst mindestens 60,

durchschnittlich aber 90 mg O₂/Liter Wasser. Das normale Wasser, das 4-7 mg O₂/Liter Wasser enthält, wurde von der Herstellerfirma in die gleichen Flaschen abgefüllt und dann von einem Dritten (Frau Schönberg) mit roter bzw. grüner Farbe markiert, so dass weder die Probanden noch die Versuchsleiter den Inhalt der Flaschen kannten. Aktuell werden 2010 von Adelholzener 5 verschiedene Arten in 0,75 Liter Kunststoffflaschen angeboten, mit dem 25fachen O₂-Gehalt gegenüber normalem Mineralwasser, also mindestens 40 mg/l gegenüber normal 2,5 mg/l. Getrunken wurde meist direkt aus den Glasflaschen, die danach per Aluminiumschraubverschluss verschlossen wurden. Die Abgabemengen an Wasser und Alkohol wurden auch zeitlich protokolliert. Die Trinkmengen an Wasser lagen bei mindestens 4,0 Liter bis zu 9,5 Liter über mindestens 6 Stunden (die einzige Frau hatte als Mindesttrinkmenge 2,5 Liter). Dies entspricht bei mindestens 60 mg O₂ pro Liter nach Herstellerangabe (s.o.) einer Sauerstoffbelastung von mindestens 240-570 mg bzw. bei maximal möglichen 90 mg O₂ pro Liter Sauerstoffbelastungen von maximal 360-855 mg. Durchschnittlich wurden 6,2 Liter getrunken, entsprechend ca. 360-540 mg O₂.

Bevor mit der Alkoholaufnahme begonnen wurde, wurde den Versuchspersonen durch den betreuenden Anästhesisten und damaligen Doktoranden Karrer (vgl. Dissertation 2011) zur Blutentnahme ein peripher-venöser Zugang in die Cubital- oder eine großkalibrige Unterarmvene gelegt. Sodann wurde die Null-Blutprobe entnommen, außerdem wurde eine Atemalkoholprobe zur Verifizierung der Alkoholnüchternheit durchgeführt. Die Blutproben wurden nach Trinkbeginn für 3 Stunden alle 30 Minuten entnommen, dann alle 60 Minuten, insgesamt bis zu 8 Stunden nach Trinkbeginn, insgesamt im Laufe der zwei Versuchstage 48 Blutproben. Zu jedem Zeitpunkt wurden je zwei Proben direkt hintereinander entnommen. Pro Blutentnahme (BE) wurden etwa je 6 ml (EDTA), in Sarstedt Monovetten, abgenommen. Insgesamt wurden zweimal je 12 Blutproben pro Versuchstag, entsprechend 144 ml Blut abgenommen.

Die 1. Blutprobe war für die Bestimmung des Ascorbylradikals und der Begleitstoffe vorgesehen. Die Blutprobe wurde sofort auf Eis verbracht, dann in der Kühlzentrifuge über 3 Minuten bei 4 °C und zwischen 3.500 bis 5.000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma sofort abpipettiert und unmittelbar bei mindestens -18 °C eingefroren. Der Transport des Plasmas zum Speziallabor für die Messungen des Ascorbylradikals erfolgte in flüssigem Stickstoff (detaillierte Ergebnisse bei Karrer 2011). Nach Auftauen wurden an diesen „Eisproben“ Begleitstoffanalysen im weiteren Verlauf nach der Routinemethode durchgeführt (s.u.).

Die 2. Blutprobe unmittelbar danach aus demselben Zugang erfolgte für die routinemäßige Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) und einer weiteren Begleitstoffanalyse wie in routinemäßig gelagerten Blutproben. Die Probenröhrchen standen zunächst bei Raumtemperatur mehrere Stunden und wurden dann stehend im Kühlschrank bei 4 °C mit Serumüberstand etwa zwei Tage aufbewahrt, bis dann nach üblicher Zentrifugation im Serum routinemäßig die forensische Alkohol-/Ethanolbestimmung mit Umrechnung in Vollblutwerte bzw. BAK erfolgte. Dies entspricht Routineverhältnissen, ein eventueller in-vitro-Abbau der BAK ist dabei allerdings analysenbedingt bei dem vorgegebenen Empfindlichkeitsoptimum nicht abgrenzbar.

Mit der Begleitstoffanalyse sind im Gegensatz zur BAK-Bestimmung auf Grund der hohen Empfindlichkeit eventuelle Veränderungen bzw. in-vitro und ggf. enzymatisch bedingte Abnahmen der Ethanol-, Acetaldehyd- und Begleitstoffkonzentrationen erfassbar. Die Begleitstoffanalyse erfolgte im Verlauf einiger Tage nach Kühlschranklagerung im abpipettierten Serum, zum Vergleich mit den Eisproben bzw. den Proben mit enzym- und abbauhemmender Vorbehandlung mit Eis und Kühlzentrifuge.

Acetaldehydbestimmungen im (Voll)Blut, Plasma oder Serum sind problematisch, vor allem bei niedrigen wie z.B. endogenen Spiegeln (Lüben 1972, Eriksson 1980, 1983, 1993, Fukunaga 1993), bei Head-Space Gaschromatographie auf Grund der Thermoinstabilität und Reaktivität (Kristofferson 2006, Tiscione 2011) sowie bei Deproteinisierung (Stowell 1977, 1978, 1989). Am ehesten sind eindeutig erhöhte Acetaldehydspiegel noch bei ALDH-defizienten Asiaten oder nach ALDH-blockierender Disulfiramgabe differenzierbar (Fischer 1982a/b, Inoue 1984). Ansonsten kommt es nach Literaturangaben bei Acetaldehydbestimmungen in-vitro ohne entsprechende Vorkehrungen wie rascheste Kühlung und Proteinzerstörung durch Eiweissfällung zu enzymatisch vermittelten, metabolischen Veränderungen. Dabei ist sowohl ein enzymatischer Ethanolabbau in-vitro über ADH (Meier-Tackmann 1981, Erickson 1991, Dubowski 1997, Ferrari 2006) als auch ein Acetaldehydabbau in-vitro über ALDH (Meier-Tackmann 1981, Eckey 1990, Helander 1993) beschrieben. Darüber hinaus ist auch ein nicht-enzymatischer Ethanolabbau zu Acetaldehyd in-vitro beschrieben (Sippel 1973), z.B. auch über Oxyhämoglobin (Brown 1973, Smalldon 1973, Christmore 1984, Chen 1994). Auch eine Freisetzung von Acetaldehyd aus Addukten wie mit Hämoglobin durch Hämolyse kann eine Rolle spielen, mit einem Anstieg von Acetaldehyd bei lagerungsbedingter, zunehmender Hämolyse auch nach eigenen Erfahrungen. Insofern wurden im Lauf der Zeit verbesserte Analysemethoden entwickelt und definiert (vgl. Majchrowicz 1970, 1975, Lindros 1983, Di Padova 1986, Hernandez-Munoz 1992).

Zur Bestimmung eines möglichen enzymatischen in-vitro-Abbaus von Alkohol bzw. Ethanol z.B. durch ADH (vgl. Meier – Tackmann et al 1981, Chrostek 1994) oder über Oxyhämoglobin (Brown 1973, Smalldon 1973, Winek 1978, Christmore 1984, Chen 1994, Penetar 2008, Wigmore 2009) wurden sowohl Acetaldehyd als erstes Alkoholabbauprodukt als auch die Serumalkoholkonzentration (SAK) simultan mittels der hochempfindlichen und trennscharfen Methode der Begleitstoffanalyse bestimmt.

Insbesondere sollten die Alkohol-Abbaugeschwindigkeiten und das Verhalten von Acetaldehyd mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser verglichen werden. Einschlusskriterien waren BAK-Werte mit mindestens 0,15 ‰ (der Umschlagpunkt zwischen linearem und exponentiellem Ethanolabbau liegt in der Regel unter einer BAK von 0,1 ‰, vgl. Mattern et al 1983) und Blutproben mindestens zwei Stunden nach Trinkende oder allenfalls früher, wenn aus dem individuellen Kurvenverlauf eindeutig eine abgeschlossene Alkoholresorption bei linearem BAK-Abfall zu entnehmen war. Die Studie wurde als randomisierte, placebokontrollierte Doppelblindstudie angelegt. Erste Zielsetzung war die Ermittlung der BAK-Abbauraten (β_{60} -Wert) im Vergleich von sauerstoffangereichertem Wasser zu normalem Wasser. Das zweite Ziel war die Bestimmung der SAK- und Acetaldehyd-Werte im Vergleich der tiefgekühlten und kühl gelagerten Proben.

3.2 Methoden

Die Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) erfolgte im Institut für Rechtsmedizin der LMU München nach den Richtlinien zur Feststellung des Alkohols im Blut für forensische Zwecke, d.h. mit je 2 verschiedenen, validierten Methoden (ADH-Methode und Head-Space-GC) mit je 2 Einzelwerten. Aus den 4 Einzelwerten wird der Mittelwert bis zur zweiten Kommastelle gebildet, ohne mathematische Rundung (vgl. aktuelle Fassung, Aderjan et al 2011).

3.2.1 ADH-Methode zur Ethanolbestimmung

Bei diesem enzymatischen Verfahren wird der biologische Alkoholabbau der Leber in-vitro nachgeahmt. Ethanol und das Coenzym NAD^+ werden über die Alkoholdehydrogenase (ADH) zu Acetaldehyd und NADH umgesetzt. Die Menge des hierbei entstandenen NADH kann in einem Autoanalyser durch Messung mit Licht der Wellenlänge 365 nm photometrisch bestimmt werden. Sie ist direkt proportional zur Menge des in der Probe enthaltenen Alkohols.

Die ADH-Methode ist nicht ethanolspezifisch, sondern lediglich alkoholspezifisch, d.h. dass sie nicht nur auf Ethanol reagiert, sondern auch auf andere in der Probe enthaltene Alkohole. Weil deren Anteile jedoch gegenüber dem Ethanol für gewöhnlich verschwindend gering sind (etwa 1/1000 des Gesamtalkoholgehalts) und vom Versuchsaufbau her keine Verfälschungen wie eventuell durch Desinfektionsmittel möglich waren, spielt dies keine Rolle.

3.2.2 Head-Space Gaschromatographie

Die Gaschromatographie nach der so genannten Head-Space-Methode ist eine physikalische Bestimmungsmethode, die auf Adsorptions-/Desorptions-Vorgängen in einer Trennsäule beruht (vgl. Kristofferson 2006).

Zunächst wird durch Zentrifugation das Serum vom Vollblut abgetrennt. Zur Kontrolle wird dann ein sogenannter „innerer Standard“ der Probe zugesetzt, im allgemeinen tertiäres Butanol (0,1-1 %ige wässrige Lösung), das in der Natur nicht vorkommt. Die Probe wird in einem gasdichten Probengefäß (Head-Space-Glas), das mit einem teflonbeschichteten und damit lösungsmittelfreien Gummideckel verschlossen wurde, auf 60°C erhitzt, bis nach ca. 20 Minuten ein Konzentrationsausgleich zwischen den im Serum enthaltenen Substanzen und dem Gasraum über der Flüssigkeit (Head-Space) stattgefunden hat. Eine Kanüle sticht ein und entnimmt eine genau definierte Menge dieses Gasgemischs, das in seiner Zusammensetzung sowohl qualitativ als auch quantitativ exakt die im Blutserum enthaltenen Stoffe „widerspiegelt“. Durch ein konstantes Druckgefälle wird die entnommene gasförmige Probe mittels eines inerten Trägergases, Helium oder Stickstoff, durch die Trennsäule zum Detektor geführt. Dabei gilt, dass die Konzentration einer flüchtigen Substanz in der gasförmigen Phase der Konzentration in der Flüssigkeit proportional ist (Gesetz von Henry). Jede einzelne im Probengas enthaltene Komponente braucht entsprechend ihrer physikalischen Eigenschaften eine unterschiedliche, für die jeweilige Substanz charakteristische Zeit zum Passieren, die in einem Diagramm, dem

sogenannten Chromatogramm, festgehalten wird. Darin entspricht jede nach einer definierten Zeit auftretende Spitze im Kurvenverlauf (Peak) einer anhand von kalibrierten Vergleichsproben bestimmten chemischen Substanz. Auf diese Weise kann ermittelt werden, welche Substanzen (Qualität) im Probengas und damit auch im Blutserum sind. Sodann werden diese durch die unterschiedlichen „Laufzeiten“ voneinander getrennten Substanzen mittels eines Flammen-Ionisations-Detektors (FID) in einer Wasserstoffflamme verbrannt. Die dabei entstehenden elektrisch geladenen Kohlenstoff-Ionen erzeugen in einem Kondensator einen Stromfluss, dessen Stärke direkt proportional zur Menge der jeweiligen Substanz (Quantität) ist.

3.2.3 Begleitstoffmethode

Die Acetaldehydbestimmungen erfolgten im Rahmen der ebenfalls routinemäßig eingesetzten Begleitstoffanalyse mittels eines speziellen Head-Space-GC-Verfahrens, mit Mittelwertbildung aus zwei Einzelwerten.

Die Begleitstoffmethode ist eine Abwandlung der regulären BAK-Bestimmung mittels Head-Space Gaschromatographie. Nach der Probeneingabe in ein gasdichtes Gefäß wird noch Natriumsulfat zugegeben, um den Dampfdruck und damit die Empfindlichkeit zu erhöhen. Zur besseren Trennung kommt ein Temperaturprogramm zur Anwendung, das durchlaufen wird, wenn das Probengas die Trennsäule durchläuft. Die einzelnen Substanzen brauchen entsprechend ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften bis zum Austritt am Ende der Säule unterschiedliche Zeit. Die Messung der Qualität und der Quantität erfolgt wie bei der Head-Space Gaschromatographie beschrieben. Die Analysen erfolgten prinzipiell bereits nach den späteren Richtlinien der GTFCH (Schulz et al 2010).

Begleitstoffanalyse (Head-Space-GC)

CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPH PERKIN-ELMER 8420
CHROMATO-INTEGRATOR D 2500 (MERCK-HITACHI)

20 ml vials 0,25 ml samples 500 mg Na₂S₀4

Serum (Blut):	Deproteinisierung mit 0,5 ml perchlor. acid
Urin:	Inkubation mit 0,05 ml β -Glucuronidase
Getränkeproben:	probenabhängig unverdünnt, 1:10, 1:100 Verdünnung
Interner Standard:	0,1 ml Tertär-Butanol
Kapillarsäule:	Restek RTX 1701, 60 Meter 530 μ m, 3 μ m
Thermostat. Zeit:	40 min
Trägergas Helium:	80 kPa, 10 ml/min, 1 min
Injection:	0,08 min
Temp. Programm:	5 min isotherm, 10 °C/min to 135 °C, 0,5 min isotherm, 30 °C/min to 200 °C, 10 min isoth. Injector: 130 °C Detektor: 200 °C Transfer: 90 °C Probe: 60 °C Nadel: 90 °C
Kalibration:	wässrige Standards für Methanol, Ethanol, Propanol-1 Serum Standards (bovin/human) für Moleküle > C ₃

Die im Weiteren verwendeten Messwerte ergaben sich als Mittelwerte aus Doppelbestimmungen, die Konzentrationen wurden in mg/l angegeben.

Die Eichung erfolgte wässrig, indem aus der jeweiligen Stammlösung durch Verdünnung mit Aqua ad iniectabilia interne Eichstandards hergestellt wurden. Diese wurden nach Zusatz des internen Standards aufgearbeitet und konnten somit über Peakfläche und Einwaage berechnet werden.

Präzisionskontrollen wurden routinemäßig durchgeführt, ferner wurden bei jedem Probenlauf auch externe Qualitätskontrollen in wässriger Form (Fa. Medichem) durchgeführt und es wurde an externen Ringversuchen teilgenommen. Bestimmungsgrenzen und Nachweisbarkeitsgrenzen lagen in einem Bereich von < 0,5 mg/l resp. < 0,15 mg/l für Methanol und etwa < 0,1 mg/l resp. 0,05 mg/l für sonstige Begleitstoffe.

Verwendet wurde ein Gaschromatograph GC 8420 mit Head-Space Autosampler HS 101 der Fa. Perkin Elmer, Shelton, USA.

Routinemäßig wurden folgende Begleitstoffe im Serum mittels Doppelbestimmungen analysiert und ausgewertet (Konzentrationsangaben als Mittelwerte in mg/l, zum Vergleich von Serum/Plasmakonzentrationen mit Vollblutwerten siehe Skopp 2005):

Methanol, **Acetaldehyd**, **Ethanol**, Propanol-1, Butanol-2, Ethylacetat, Iso-Butanol, Butanol-1 sowie 2,3-Methyl-Butanol-1.

Die quantitative Auswertung ist im Prinzip manuell per Peakhöhenmessung durch Vergleich mit dem Standard möglich, besser jedoch ist die Peakflächenmessung. Sie kann näherungsweise aus dem Produkt aus Peakhöhe und Halbwertsbreite errechnet oder planimetrisch ermittelt werden. Die Größe der jeweiligen, für einzelne Alkohole spezifischen Peaks ist also proportional zum entsprechenden Gehalt und wird somit anhand eines internen Standards quantifiziert (vgl. Details bei Strehlow 2014, Grundlagen bei Bonte 1987).

Im Folgenden wird Ethanol und Alkohol vereinfachend synonym verwendet.

Die rechnerische und graphische Auswertung und Darstellung erfolgte über das PC Programm Fig P bzw. Figure P, Version 2.98, von Biosoft (ursprünglich, jetzt Figpsoft/Figp Software Incorporated).

4. Ergebnisse

4.1 Alkoholelimination: Vollblutalkoholwerte/Blutalkoholkonzentrationen BAK

(gemessen mittels Routinemethode)

Sämtliche folgenden Abbildungen beinhalten folgende Parameter (vgl. Abb. 1):

TA: Trinkanfang; **TE:** Trinkende

Ausgefüllte Symbole (rot) stehen für den Trinkversuch mit „normalem“ Wasser bzw. Normalwasser,

leere Symbole (grün) für den Trinkversuch mit sauerstoffangereichertem Wasser bzw. Sauerstoffwasser.

Über die Regressionsgeraden (standardmäßig Werte 90 Minuten nach Trinkende bis $> 0,15 \text{ ‰}$ bzw. im sicheren Eliminationsbereich) wird die stündliche, periphere Alkoholelimination im Blut als **β -60-Wert** ermittelt, nach Retropolation des Kurvenanteils der Elimination der **co-Wert**.

cmax wird den Daten als maximal erreichte BAK entnommen, **cWidmark** ist die nach der Widmarkformel errechnete, theoretische maximale BAK, das **sog. Resorptionsdefizit** entspricht dem prozentualen Anteil von co an cWidmark.

AUC (area under curve bzw. Fläche unter der Konzentrations-Zeitkurve) wird nach der trapezoidalen Methode mittels FigP ermittelt, repräsentativ für Ab/Resorption im Blut, Verteilung und Elimination und als Maß für die Bioverfügbarkeit.

Ebenfalls über FigP werden berechnet: Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen der Einzelwerte (sd). Ausgehend von Normalverteilung erfolgten Signifikanzberechnungen erfolgten zum Mittelwertsvergleich zur Frage statistischer Unterschiede zweier Stichproben nach dem Student's t-Test bzw. t-Test für verbundene abhängige (paired samples) Stichproben, soweit nicht anders angegeben.

4.1.1 Bier

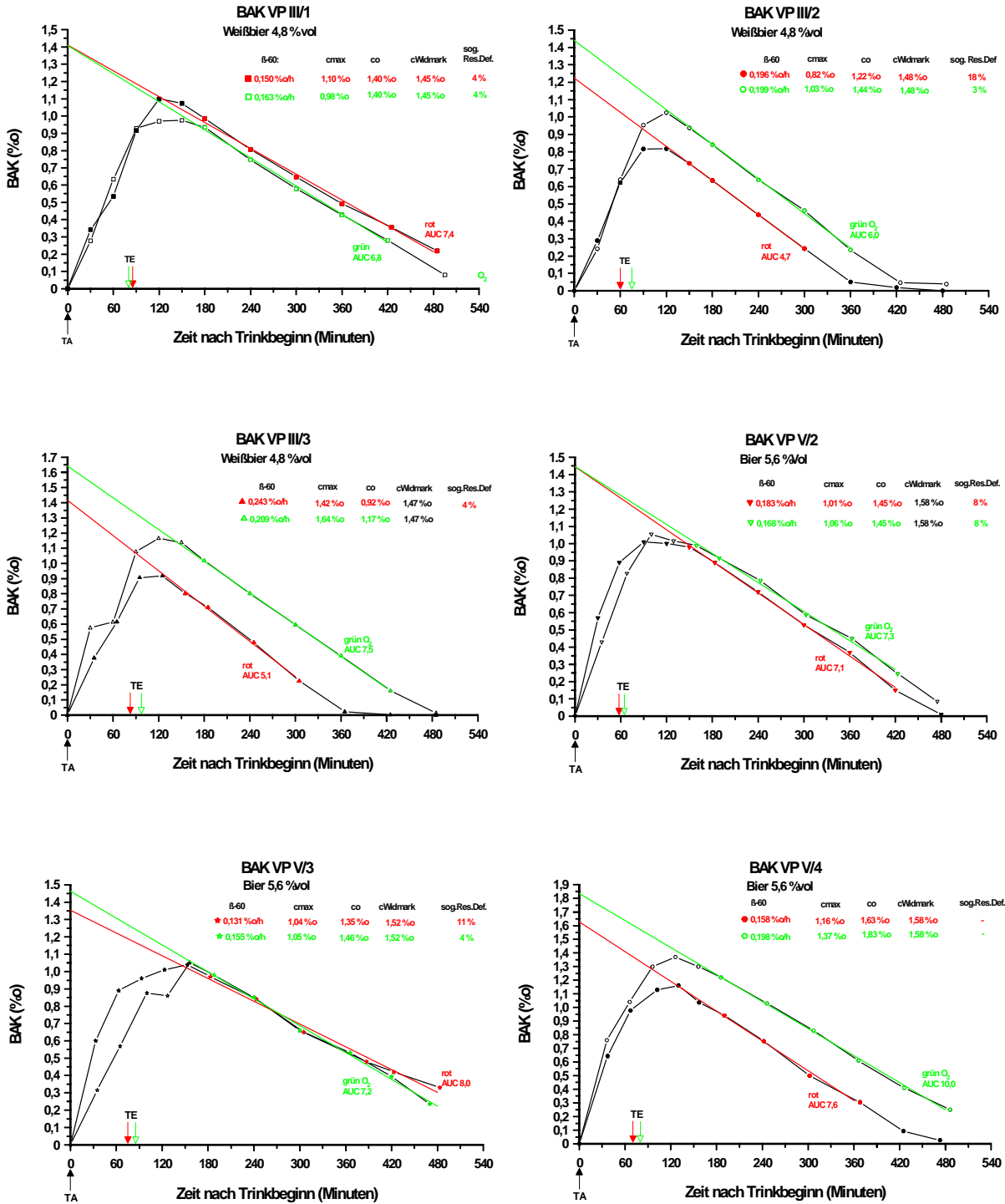


Abb. 3: Bierversuche 1-6 (1-3 Weißbier, 4-6 Augustiner Edelstoff)

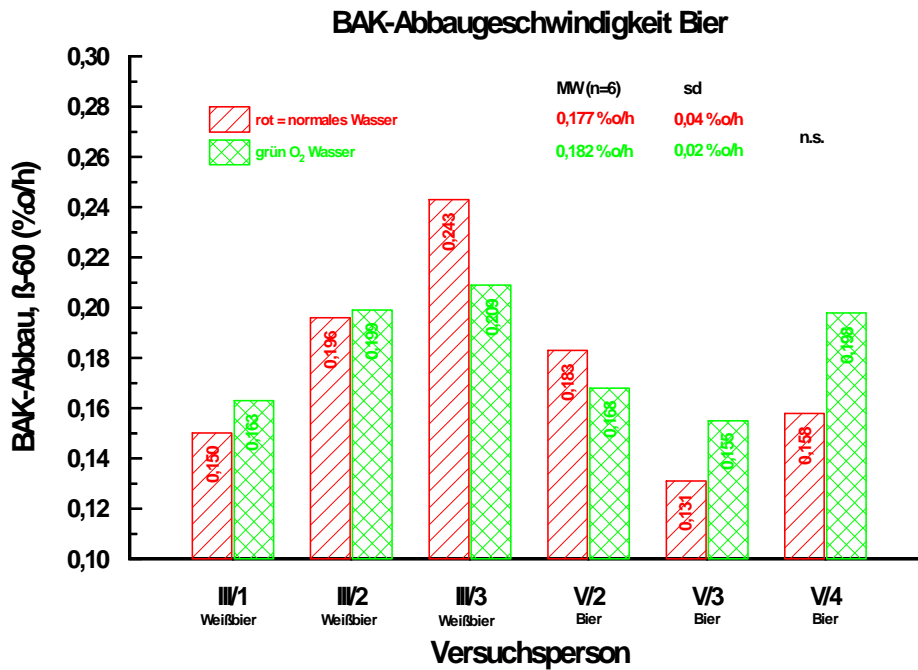


Abb. 4: Vergleich der β -60-Werte im Bierversuch

Beim Bier ($n=6$) war die Alkoholabbaugeschwindigkeit tendenziell mit dem (grün markierten) Sauerstoffwasser in vier Fällen höher als mit dem rot markierten Normalwasser, mit durchschnittlich $0,182 \pm 0,022$ %o/h (grün) im Gegensatz zu $0,177 \pm 0,039$ %o/h (rot). Nach Durchführung eines t-Test für gepaarte Stichproben ergibt sich jedoch kein signifikanter Unterschied.

Die AUC war in 4 Fällen mit Sauerstoffwasser größer als mit Normalwasser. Der Mittelwert aller 6 Versuche beim Sauerstoffwasser lag mit 7,47 %o/min höher als beim Normalwasser mit 6,65 %o/min, der Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant (vgl. Abb. 12).

Die sog. Resorptionsdefizite liegen zwischen 0 und 18 %, ohne eindeutige Unterschiede.

4.1.2 Wein

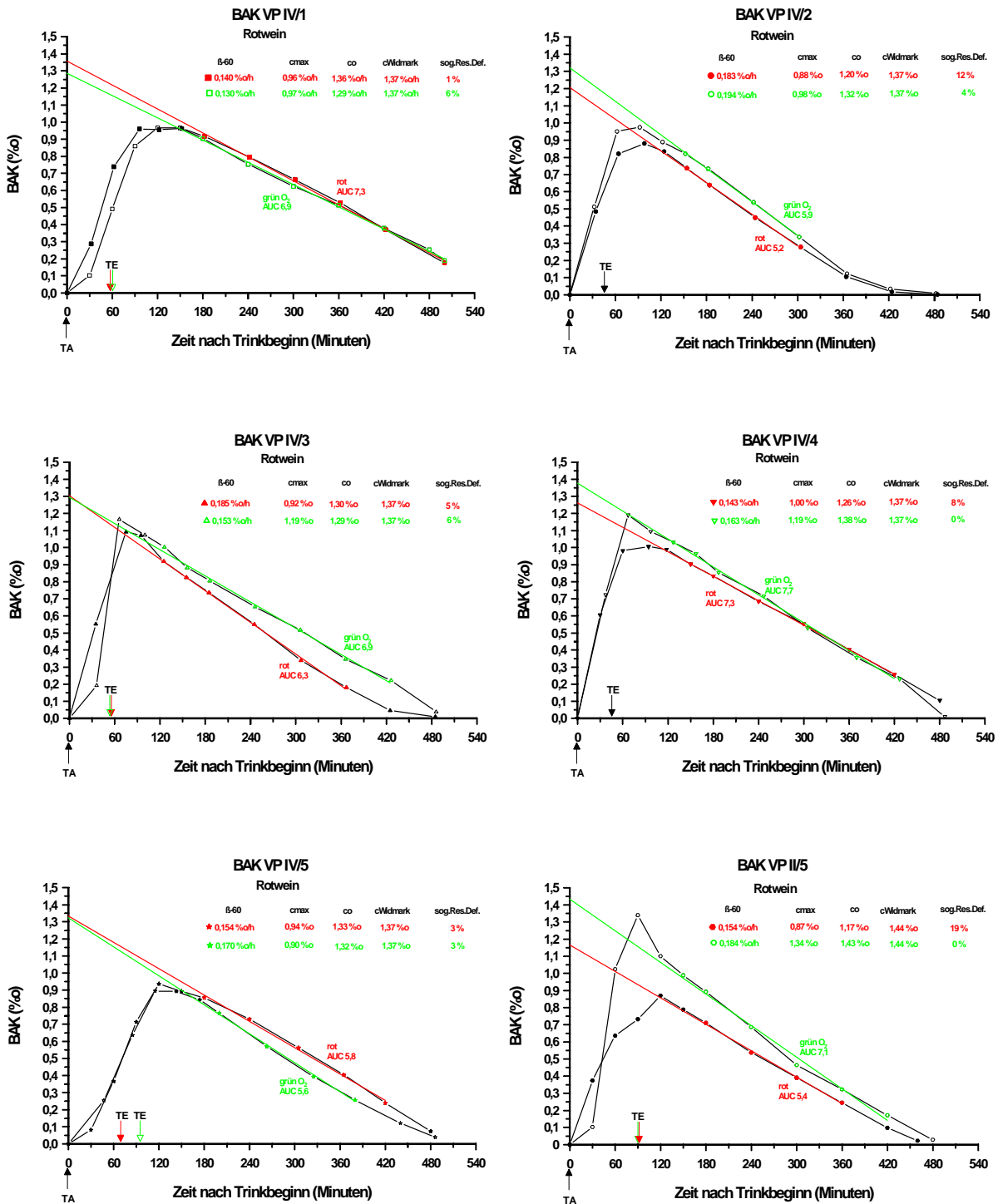


Abb. 5: Weinversuche 1-6

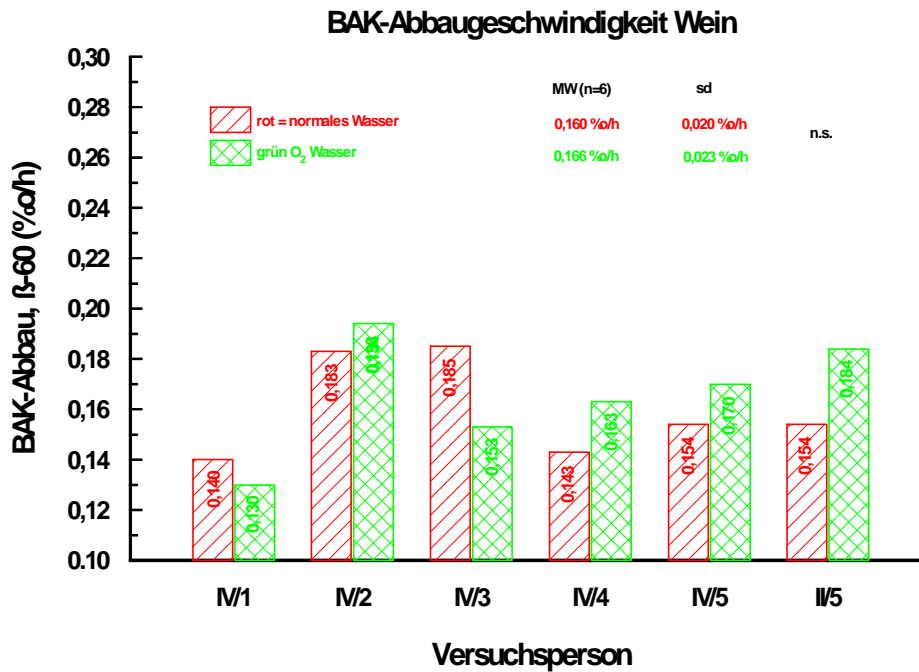


Abb. 6: Vergleich der β -60-Werte im Weinversuch

Bei Wein ($n=6$) ergab sich vier Mal eine höhere Abbaugeschwindigkeit bei grünem Sauerstoffwasser im Vergleich zu rotem Normalwasser, bei durchschnittlich $0,166 \pm 0,023$ ‰/h (grün) gegenüber $0,160 \pm 0,020$ ‰/h (rot), jedoch wie beim Bier ohne Signifikanz im t-Test.

Die AUC lag im Mittelwert aller 6 Versuche beim Sauerstoffwasser mit 6,68 ‰min geringfügig höher als beim Normalwasser mit 6,22 ‰min, der Unterschied ist statistisch nicht signifikant (vgl. Abb. 12).

Die sog. Resorptionsdefizite liegen zwischen 1 und 19 %, ohne eindeutige Unterschiede.

4.1.3 Wodka

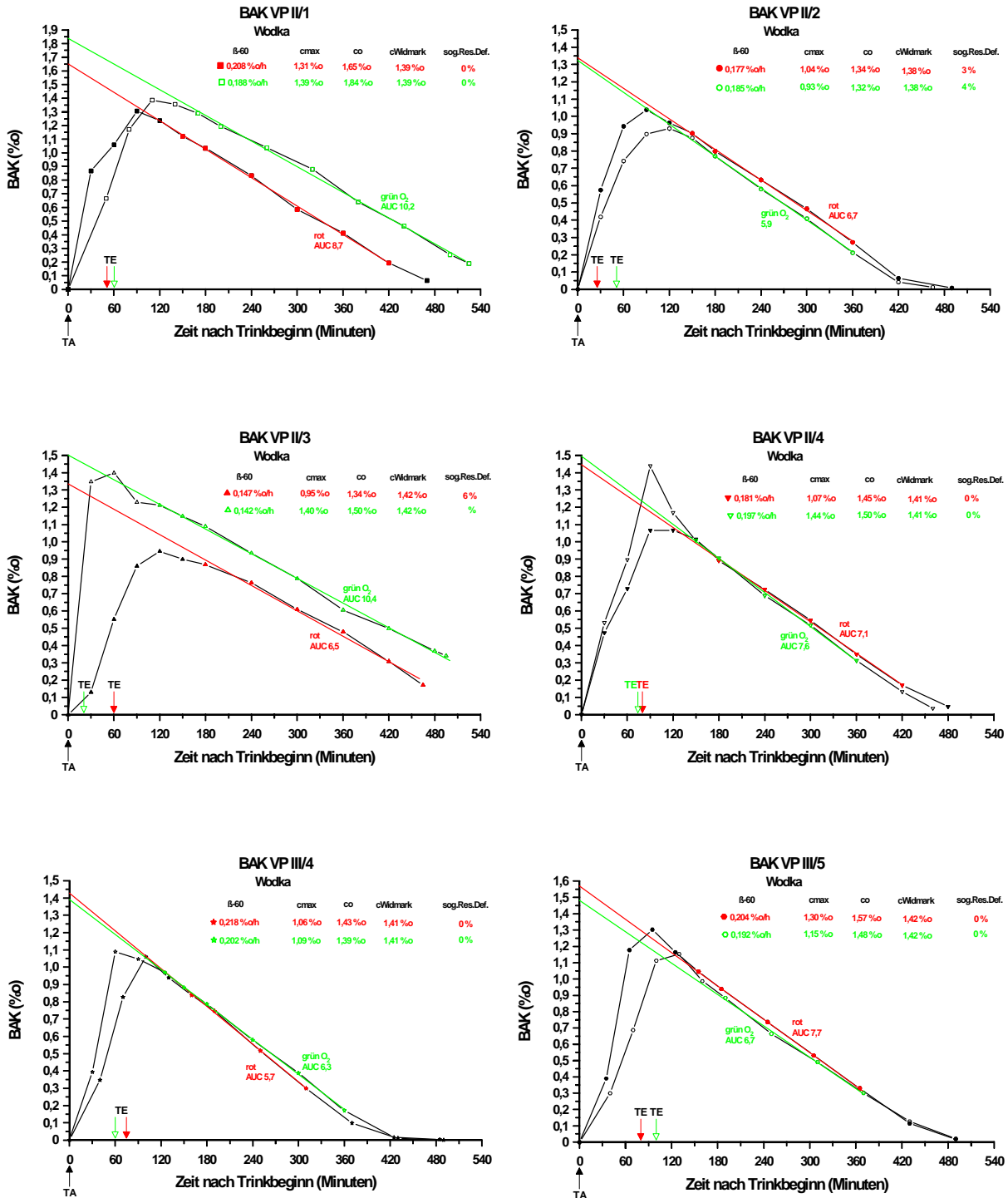


Abb. 7: Wodkaversuche 1-6

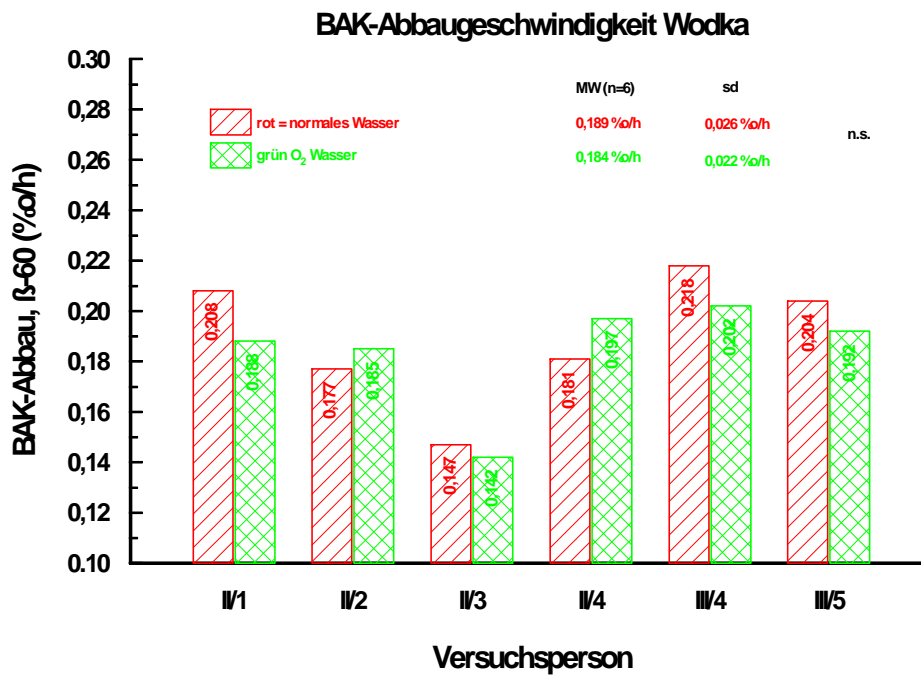


Abb. 8: Vergleich der β -60-Werte im Wodkaversuch

Bei Wodka ($n=6$) zeigt sich nur zwei Mal ein höherer β -60-Wert im Versuch mit Sauerstoffwasser (grün) gegenüber Normalwasser (rot), bei durchschnittlich $0,184 \pm 0,022$ ‰/h gegenüber $0,189 \pm 0,026$ ‰/h, ohne Signifikanz im t-Test. Auffällig war, dass die individuellen Unterschiede der β -60-Wert zwischen den Sauerstoffversuchen (grün) und den Normalwasserversuchen (rot) mit durchschnittlich $0,012$ ‰/h am geringsten waren, im Vergleich mit Wein mit $0,019$ ‰/h, Bier $0,021$ ‰/h und Obstbranntwein $0,014$ ‰/h.

Die AUC lag im Mittelwert aller 6 Versuche beim Sauerstoffwasser mit $7,85$ ‰min höher als beim Normalwasser mit $7,07$ ‰min, der Unterschied bei größerer Streuung jedoch statistisch nicht signifikant (vgl. Abb. 12).

Die sog. Resorptionsdefizite liegen meist bei 0 ‰, teils sogar mit negativer Bilanz, maximal bis zu 6 ‰, insgesamt niedriger als bei den Bier- und Weinversuchen, wie bei hochprozentigen Getränken zu erwarten.

4.1.4 Obstbranntwein

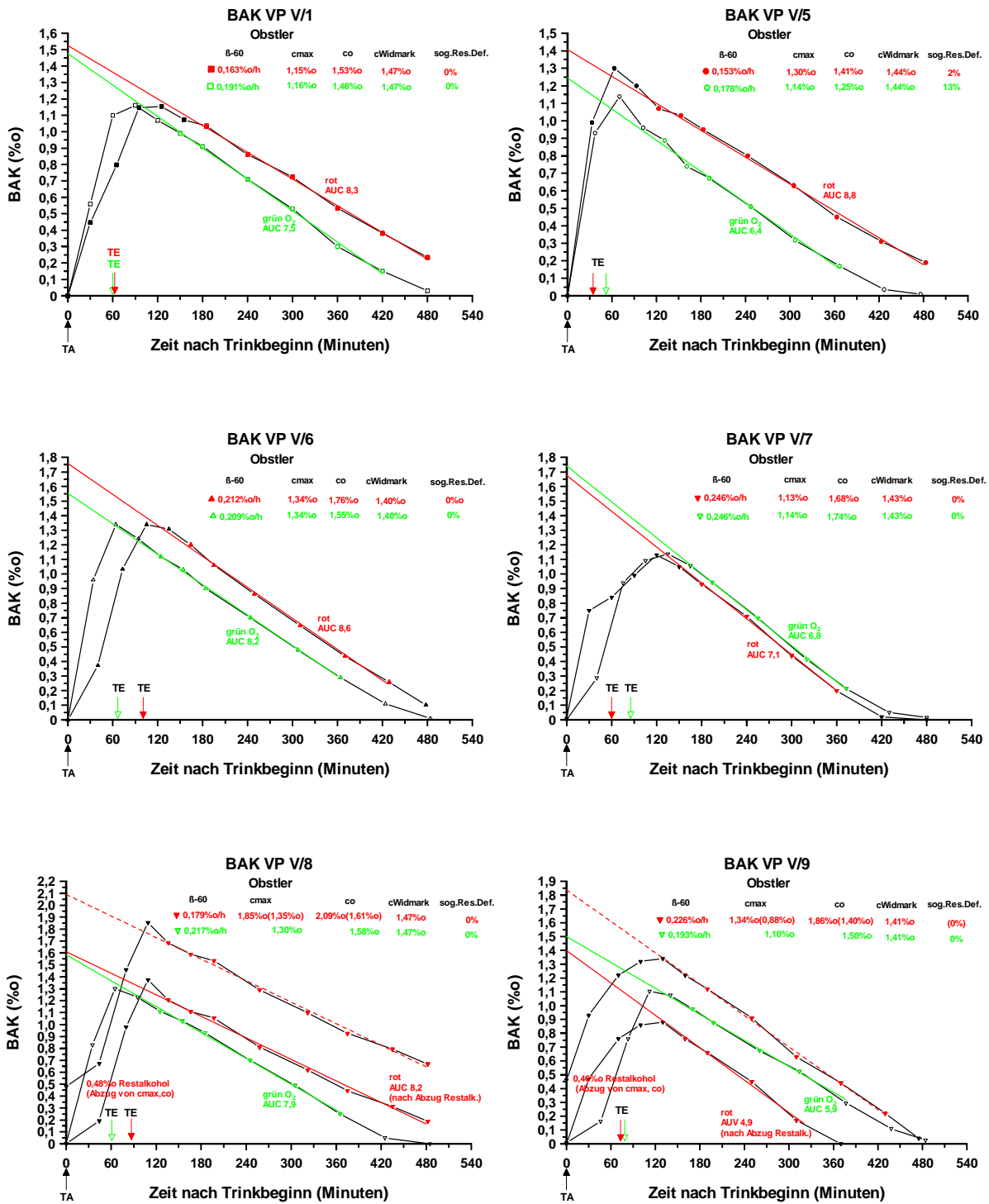


Abb. 9: Obstbranntweinversuche 1-6 (VP V/7 einzige weibliche Versuchsperson, VP V/8 und V/9 mit Restalkohol im Versuch mit normalem Wasser (rot))

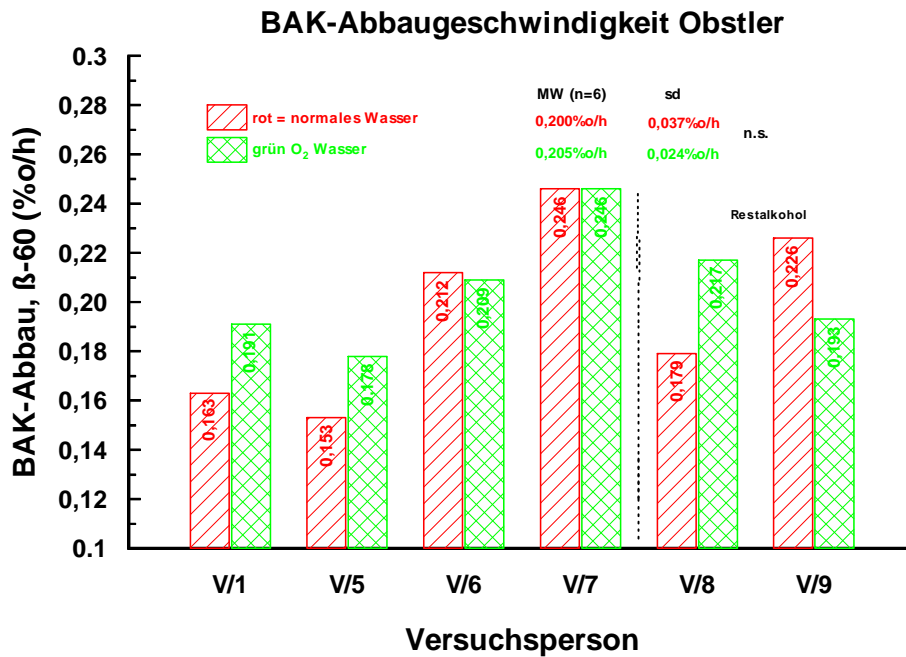


Abb. 10: Vergleich der β -60-Werte im Obstbranntweinversuch

Bei Obstbranntwein ($n=6$) ergaben sich zwar je drei Mal höhere β -60-Werte bei Sauerstoffwasser (grün) als bei normalem Wasser (rot), jedoch auch drei Mal umgekehrte Verhältnisse. Die Mittelwerte aller 6 Versuche ($0,205 \pm 0,024$ ‰/h (grün) bzw. $0,200 \pm 0,037$ ‰/h (rot) unterscheiden sich beim t-Test für abhängige Stichproben nicht signifikant.

Die AUC lag im Mittelwert aller 6 Versuche beim Sauerstoffwasser mit $6,90$ ‰min im Gegensatz zu den Bier-, Wein- und Wodkaversuchen niedriger als beim Normalwasser mit $7,28$ ‰min, der Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant (vgl. Abb. 12).

Die sog. Resorptionsdefizite liegen wie bei den Wodkaversuchen meist bei 0 ‰, teils sogar mit negativer Bilanz, lediglich einmal bei 2 resp. 13 ‰, auch hier insgesamt niedriger als bei den Bier- und Weinversuchen, wie bei hochprozentigen Getränken zu erwarten.

4.1.5 Alle Versuche

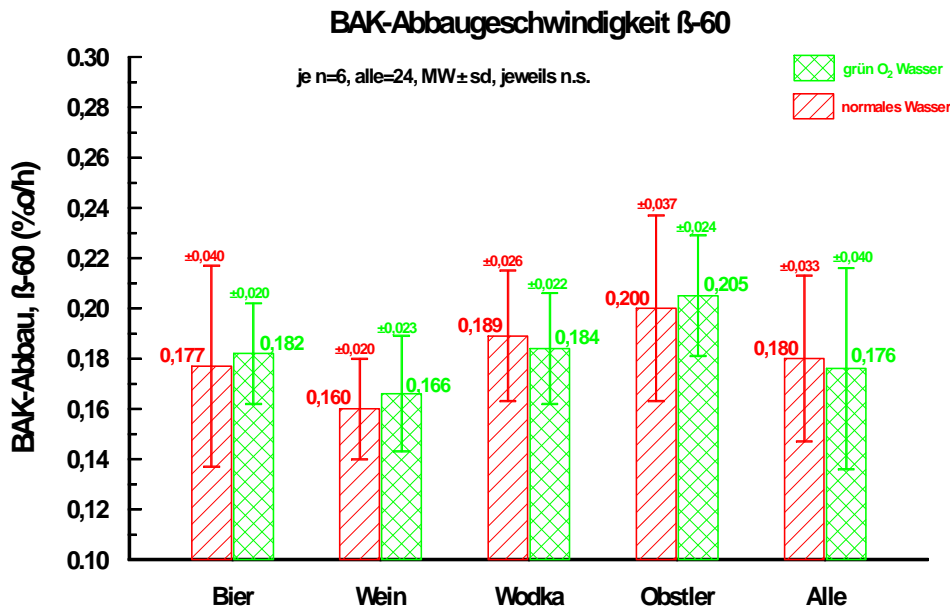


Abb. 11: Vergleich der β -60-Werte in allen Trinkversuchen

Im gesamten Trinkversuch (n=24) ist die Alkoholabbaugeschwindigkeit 13 Mal mit Sauerstoffwasser höher als mit Normalwasser. Durchschnittlich beträgt die Alkoholabbaurrate beim Sauerstoffwasser $0,176 \pm 0,025$ ‰/h, beim normalen Wasser $0,180 \pm 0,033$ ‰/h, ohne Signifikanz beim t-Test für abhängige Stichproben.

4.1.6 AUC (Area under curve)

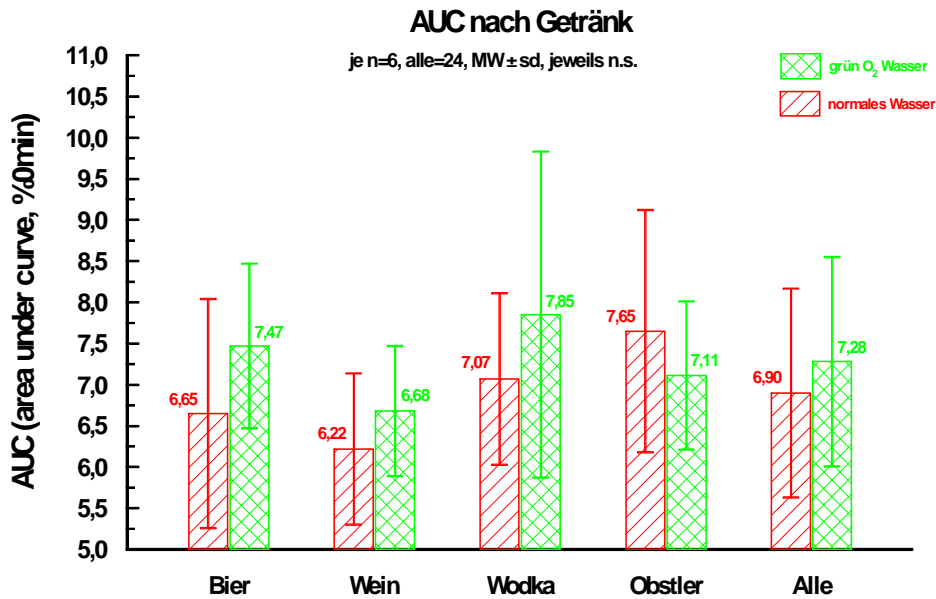


Abb. 12: AUC aller Getränke im Vergleich

Bei allen Getränken außer Obstbranntwein ist die durchschnittliche AUC bei den jeweils 6 Versuchen mit Sauerstoffwasser größer, allerdings ohne Signifikanz. Dies weist zumindest auf eine möglicherweise sauerstoffvermittelte, höhere Bioverfügbarkeit hin, beispielsweise über Resorptionseffekte, wobei Zusammenhänge mit der Ethanol elimination jedoch nicht erkennbar sind.

4.1.7 Intraindividueller Vergleich

Vier der Versuchspersonen nahmen an 2 Versuchen mit verschiedenen Getränken teil. Die Tendenz der β -60-Werte bleibt vergleichbar, d.h. bei den Versuchspersonen III/1=IV/4 und III/2=IV/2 ist β -60_{grün} sowohl beim Bierversuch als auch beim Weinversuch etwas höher als β -60_{rot}, bei den Versuchspersonen III/3=V/6 und III/5=IV/3 ist β -60_{grün} sowohl bei Bier als auch bei Obstler bzw. Wodka und Wein niedriger als β -60_{rot}. Zusammenhänge mit eventueller Alkoholtoleranz ergeben sich zumindest nach den subjektiven Angaben zu Trinkgewohnheiten nicht.

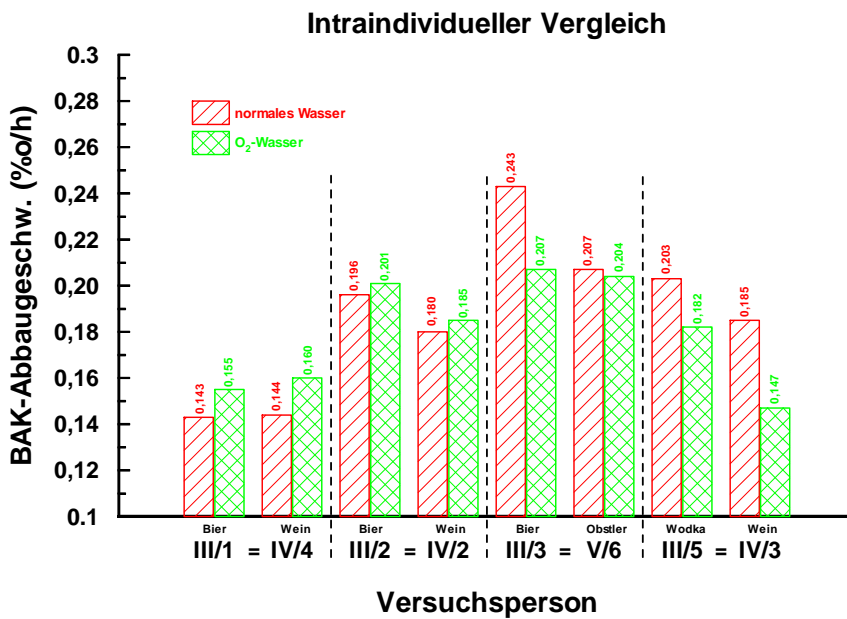


Abb. 13: Vergleich der Blutalkoholabbaugeschwindigkeiten bei 4 Personen, die an zwei Versuchen teilgenommen haben

4.2 Alkoholelimination: Serumalkoholkonzentration SAK

(gemessen über Begleitstoffanalyse)

Ein eventueller, enzymatischer in-vitro-Abbau von Ethanol ist so gering zu erwarten, dass er über Vollblut- bzw. BAK-Werte auf Grund der Optimierung der Methode für den ‰-Messbereich nicht sicher abgrenzbar ist. Über die SAK-Bestimmungen mit der hochempfindlichen Begleitstoffanalyse lassen sich eventuelle, geringe Konzentrationsunterschiede zwischen Eisproben mit und Normalproben ohne Enzymaktivitätshemmung differenzieren ebenso wie zwischen Proben mit und ohne Sauerstoffwasser.

Zunächst wurden für jeden Probanden die Konzentrations-Zeitkurven der SAK und der BAK mit und ohne Sauerstoffwasser erstellt. Dabei lagen die SAK-Kurven erwartungsgemäß immer gleichmäßig über den BAK-Kurven, bei vergleichbarem Kurvenverlauf und ohne auffallende Unterschiede in Resorptions- und Eliminationsphase. Auf eine Einzeldarstellung wurde deshalb verzichtet. Begründet ist dies durch das typische Verhältnis von SAK und BAK von 1,2 zu 1, auf Grund der Wasserlöslichkeit von Ethanol analog zum Verhältnis der Wassergehalte in Serum und Vollblut. Durch die zusätzliche Dampfdruckerhöhung bei der Begleitstoffanalyse liegt das Verhältnis SAK/BAK bei der Begleitstoffanalyse bei durchschnittlich bei 1,3 zu 1 (vgl. Auswertung der Quotienten SAK/BAK in 4.2.7).

Hinsichtlich möglicher, präanalytischer Einflüsse in-vitro und/oder von Sauerstoffwasser wurden sodann Konzentrations-Zeitkurven der SAK im Versuch mit und ohne Sauerstoffwasser sowie für (enzymhemmende) Eis- und Normalproben für jeden Einzelversuch erstellt.

Insgesamt lassen die Einzelkurven deutliche Tendenzen zu höheren Konzentrationen der Eisproben im Vergleich zu den Normalproben erkennen, ferner auch tendenziell höhere Werte beim Sauerstoffwasser gegenüber Normalwasser. Hinweise für auffällig unterschiedliche Verläufe in der Resorptions- und/oder Eliminationsphase sind nicht abzuleiten (siehe Grafiken 4.2.1 – 4.2.5).

Im Weiteren wurden dann integrierend Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK - Werte jeweils für die 6 Versuche mit Bier, Wein, Wodka und Obstbranntwein bestimmt und zwischen Eis- und Normalproben verglichen, um eventuell quantitativ Unterschiede durch Hemmung enzymatischer in-vitro Veränderungen zu erfassen (siehe Tabellen bei 4.2.1 – 4.2.5).

Sodann wurden für intraindividuelle Vergleiche für jede Versuchsperson und jeden Versuch die SAK-Werte der Normalproben von den – mutmaßlich höheren – Eisproben subtrahiert, jeweils für den Versuch mit und ohne Sauerstoffwasser. Damit sollte ggf. eine in-vitro Elimination von Ethanol differenziert, quantifiziert und verglichen werden.

Für Verlaufsbeurteilungen wurden dann in 4.2.6 die Quotienten SAK Eisproben/SAK Normalproben berechnet und im Zeitablauf dargestellt.

4.2.1 Bier

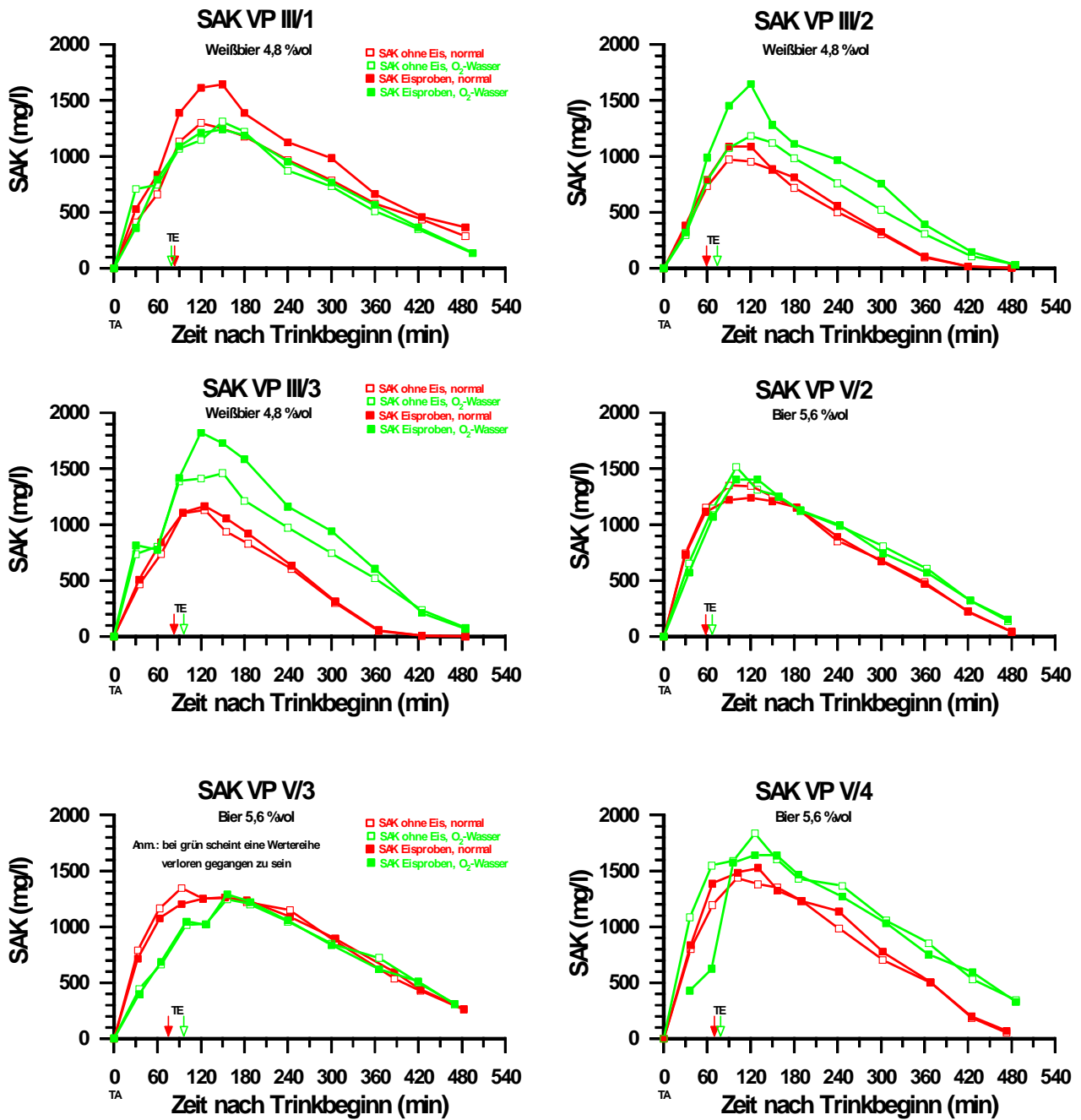


Abb. 14: Bierversuche 1-6

	SAK Eisproben	SAK Normalproben	t-Test
Alle Bierversuche (n=132)	849 ± 461 mg/l	817 ± 437 mg/l	n.s.
Bier mit O₂-Wasser (n=66)	892 ± 465 mg/l	874 ± 436 mg/l	n.s.
Bier mit Normalwasser (n=66)	806 ± 456 mg/l	759 ± 434 mg/l	n.s.
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Bier Eisproben	892 ± 465 mg/l	806 ± 456 mg/l	n.s.
Bier Normalproben	874 ± 436 mg/l	759 ± 434 mg/l	n.s.

Tab. 2: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK-Werte in den Bierversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Insgesamt liegen im Vergleich der Werte aller Bierversuche (132 Wertepaare) die Eisproben tendenziell im Durchschnitt um 32 mg/l höher als die Normalproben, mit Sauerstoffwasser um durchschnittlich 18 mg/l höher, ohne Sauerstoffwasser um 47 mg/l höher, ohne statistische Signifikanz bei höheren Streuungen. Mit Sauerstoffwasser lagen die Werte gegenüber Normalwasser bei Eisproben um 86 und bei Normalproben um 115 mg/l höher, ohne Signifikanz.

Der Vergleich der individuellen Differenzwerte SAK-Eisproben abzüglich SAK-Normalproben ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Normalwasser (47 ± 96 mg/l) und Sauerstoffwasser (18 ± 198 mg/l). Im Durchschnitt aller Probendifferenzen lagen die SAK-Werte der Eisproben um 32,5 mg/l höher, allerdings bei großer Streuung mit einer Standardabweichung von ± 155 mg/l, ohne Normalverteilung und bei Ausreißern.

4.2.2 Wein

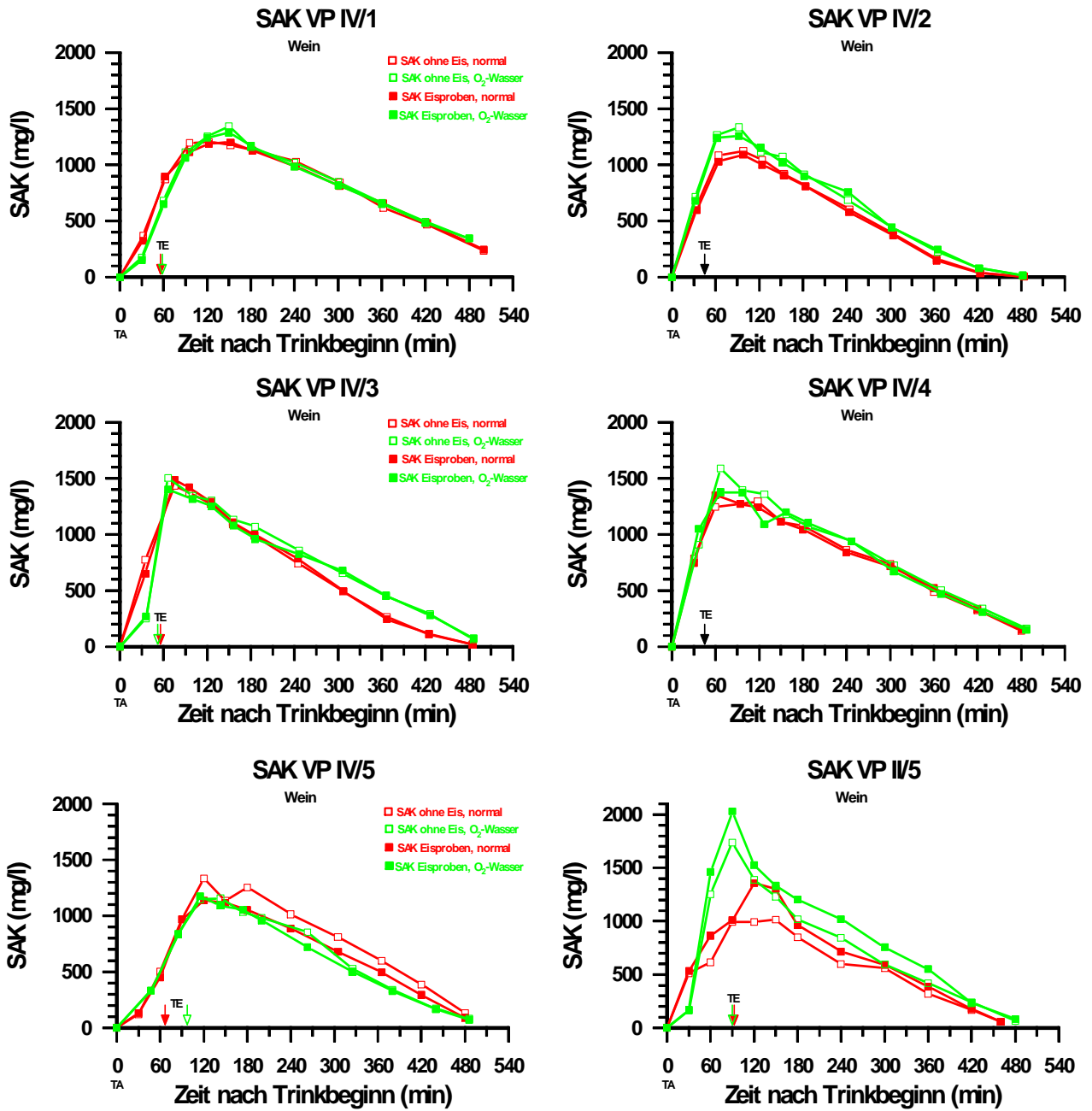


Abb. 15: Weinversuche 1-6

	SAK Eisproben	SAK Normalproben	t-Test
Alle Weinversuche (n=133)	768 ± 435 mg/l	760 ± 430 mg/l	n.s.
Wein mit O₂-Wasser (n=67)	797 ± 459 mg/l	796 ± 454 mg/l	n.s.
Bier mit Normalwasser (n=66)	740 ± 412 mg/l	740 ± 406 mg/l	n.s.
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Wein Eisproben	797 ± 459 mg/l	740 ± 412 mg/l	n.s.
Wein Normalproben	796 ± 454 mg/l	740 ± 406 mg/l	n.s.

Tab. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK-Werte in den Weinversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Insgesamt liegen im Vergleich der Werte aller Weinversuche (133 Wertepaare) die Eisproben im Durchschnitt weder bei den Normalproben, noch beim Sauerstoffwasser eindeutig abgrenzbar höher. Allenfalls lagen die Werte bei den Sauerstoffversuchen insgesamt geringfügig höher als bei den Versuchen mit Normalwasser.

Der Vergleich der individuellen Differenzwerte SAK-Eisproben abzüglich SAK-Normalproben ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Normal- und Sauerstoffwasser. Im Durchschnitt aller Probendifferenzen lagen die SAK-Werte der Eisproben um lediglich 0,522 mg/l höher, bei großer Streuung mit einer Standardabweichung von ± 87 mg/l, ohne Normalverteilung und bei Ausreißern.

4.2.3 Wodka

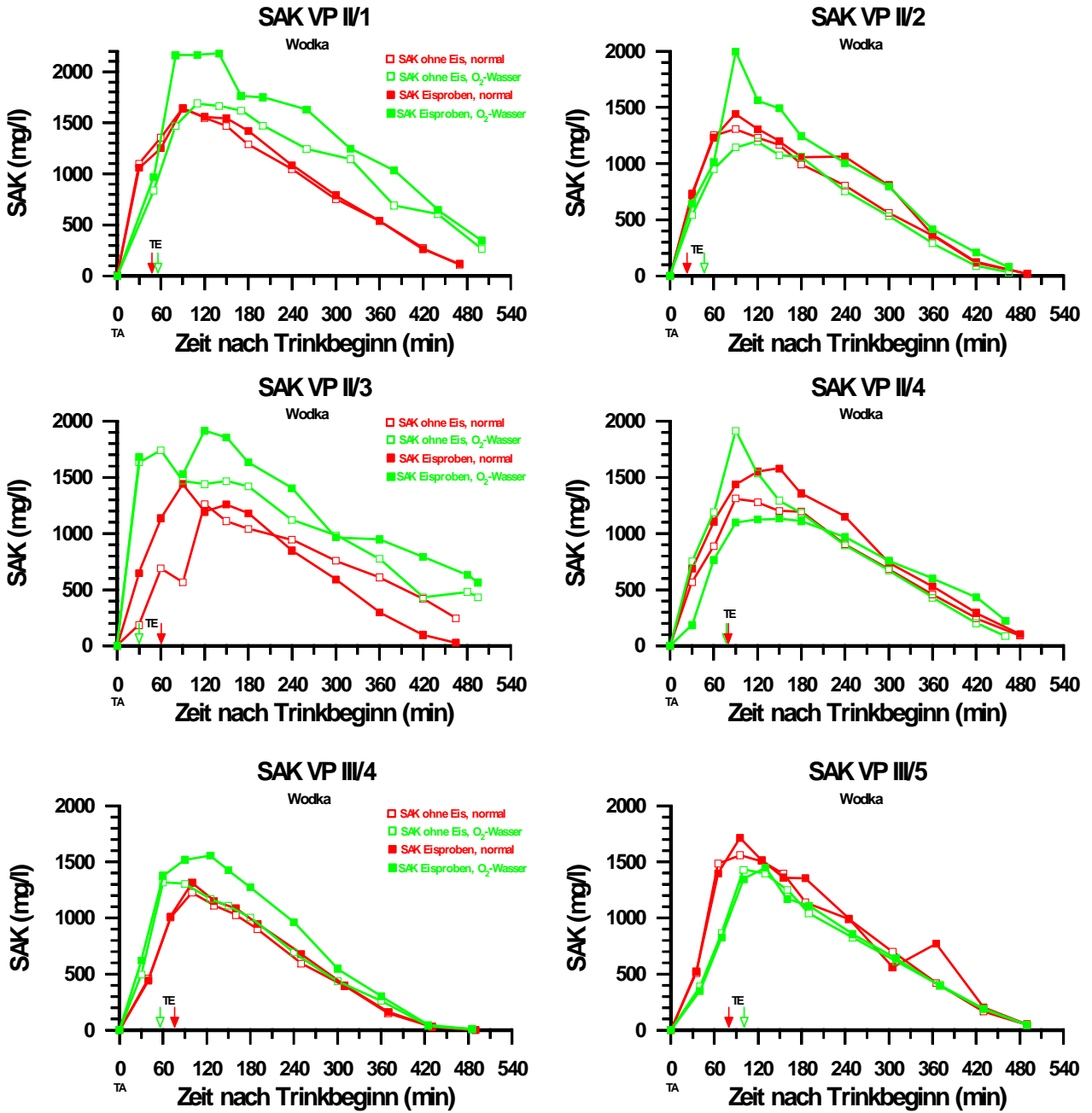


Abb. 16: Wodkaversuche 1-6

	SAK Eisproben	SAK Normalproben	t-Test
Alle Wodkaversuche (n=134)	946 ± 556 mg/l	848 ± 489 mg/l	n.s.
Wodka mit O₂-Wasser (n=68)	1018 ± 489 mg/l	890 ± 510 mg/l	n.s.
Wodka mit Normalwasser (n=66)	872 ± 507 mg/l	805 ± 467 mg/l	n.s.
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Wodka Eisproben	1018 ± 489 mg/l	872 ± 507 mg/l	n.s.

Tab. 4: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK-Werte in den Wodkaversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Insgesamt liegen im Vergleich der Werte aller Wodkaversuche (134 Wertepaare) die Eisproben im Durchschnitt um 98 mg/l höher als die Normalproben, mit Sauerstoffwasser sogar um durchschnittlich 128 mg/l höher, jedoch ohne Signifikanz. Die Werte bei den Sauerstoffversuchen lagen generell deutlich höher als bei den Versuchen mit Normalwasser, ebenfalls ohne Signifikanz.

Der Vergleich der individuellen Differenzwerte SAK-Eisproben abzüglich SAK-Normalproben ergab für Sauerstoffwasser $139,8 \pm 184$ mg/l und für Normalwasser $62,5 \pm 117$ mg/l, ohne signifikante Unterschiede. Im Durchschnitt aller Probendifferenzen lagen die SAK-Werte der Eisproben um 101,8 mg/l höher, allerdings bei großer Streuung mit einer Standardabweichung von $\pm 158,9$ mg/l, ohne Normalverteilung und bei Ausreißern.

4.2.4 Obstbranntwein

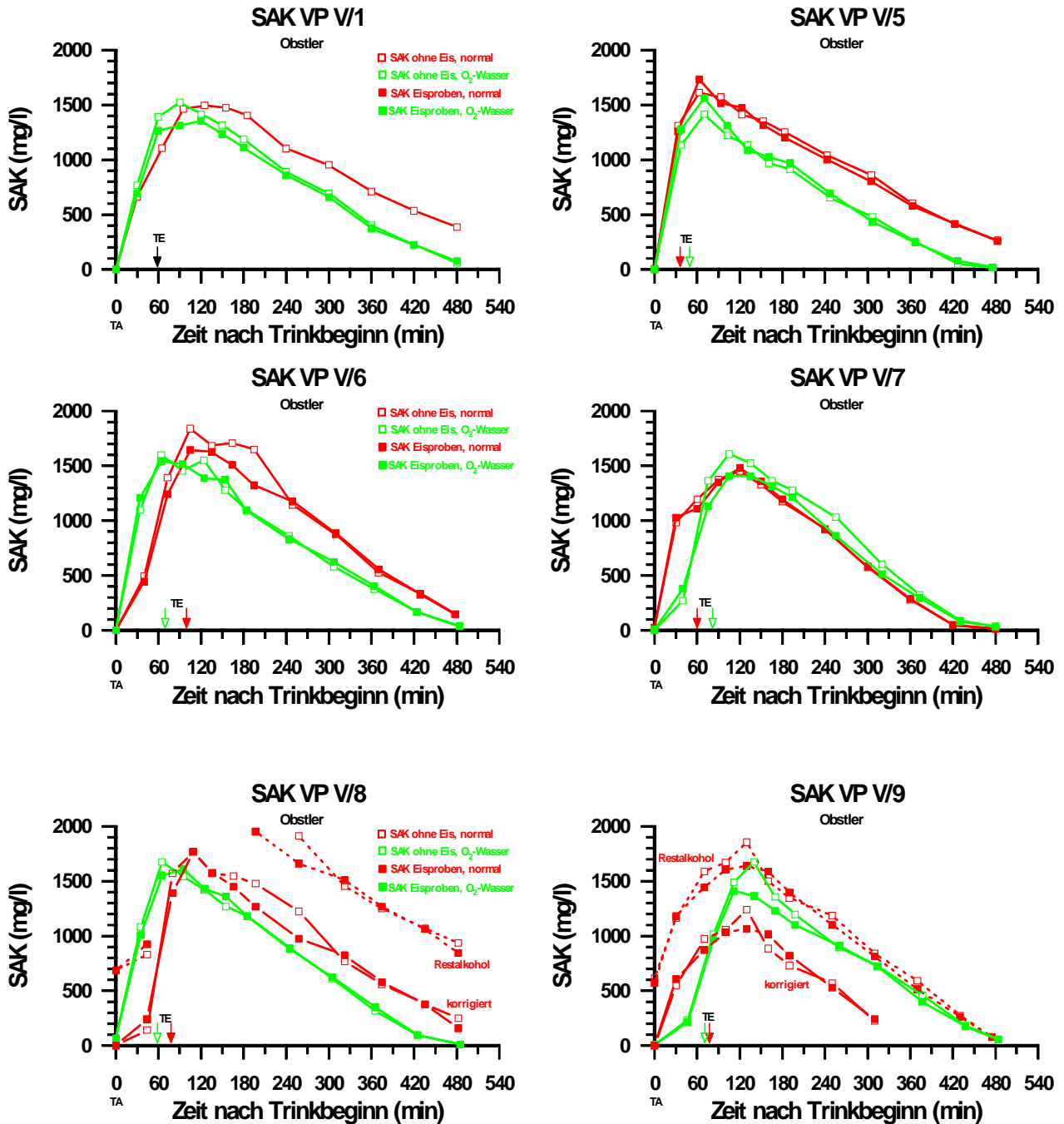


Abb. 17: Obstbranntweinversuche 1-6 (VP V/7 einzige weibliche Versuchsperson, VP V/8 und V/9 mit Restalkohol), VP V/1 keine Eisproben bei Normalwasser (Probleme mit Kühlzentrifuge)

	SAK Eisproben	SAK Normalproben	t-Test
Alle 3 Obstlerversuche (n=66)	899 ± 520 mg/l	920 ± 540 mg/l	n.s.
Obstler mit O₂-Wasser (n=33)	833 ± 527 mg/l	844 ± 540 mg/l	n.s.
Obstler mit Normalwasser (n=33)	964 ± 511 mg/l	995 ± 538 mg/l	n.s.
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Obstler Eisproben	833 ± 527 mg/l	964 ± 511 mg/l	n.s.
Obstler Normalproben	844 ± 540 mg/l	995 ± 538 mg/l	n.s.

Tab. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK-Werte in den Obstlerversuchen, ohne VP V1 (fehlende Werte), V8 und V9 (Restalkohol), im Vergleich Eisproben und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Insgesamt liegen im Vergleich der Werte der 3 verwertbaren Obstlerversuche (66 Wertepaare) die Eisproben im Gegensatz zu den Versuchen mit Bier, Wein und Wodka im Durchschnitt um 21 mg/l niedriger als die Normalproben, mit Sauerstoffwasser um durchschnittlich 11 mg/l niedriger, bei Normalwasser um durchschnittlich 31 mg/l niedriger. Die Werte bei den Sauerstoffversuchen lagen im Gegensatz zu den Versuchen mit Bier, Wein oder Wodka niedriger als bei den Versuchen mit Normalwasser, jedoch ohne Signifikanz.

Der Vergleich der individuellen Differenzwerte SAK-Eisproben abzüglich SAK-Normalproben ergab keine verwertbaren Unterschiede, im Durchschnitt aller Probendifferenzen lagen die SAK-Werte der Eisproben mit -28,54 mg/l sogar niedriger, allerdings bei großer Streuung mit einer Standardabweichung von ± 87,8 mg/l, ohne Normalverteilung und bei Ausreißern.

4.2.5 Serumalkohol (alle Versuche)

	SAK Eisproben	SAK Normalproben	t-Test
Alle Versuche (n=520)	881 ± 511 mg/l	854 ± 494 mg/l	n.s.
Alle Versuche mit O₂-Wasser (n=267)	886 ± 515 mg/l	855 ± 484 mg/l	n.s.
Alle Versuche mit Normalwasser (n=253)	874 ± 507 mg/l	853 ± 506 mg/l	n.s.
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Alle Versuche Eisproben	886 ± 515 mg/l	874 ± 507 mg/l	n.s.
Alle Versuche Normalproben	855 ± 484 mg/l	853 ± 506 mg/l	n.s.

Tab. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher SAK-Werte in allen Versuchen, im Vergleich Eisproben und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Insgesamt liegt der SAK-Mittelwert aus 520 Wertepaaren aller Versuche bei den Eisproben mit 881 ± 511 mg/l trotz der umgekehrten Tendenz beim Obstler immer noch geringfügig um 27 mg/l höher als bei den Normalproben mit 854 ± 494 mg/l.

Auffallend ist das gegensätzliche Verhalten in den Obstlerversuchen, was möglicherweise auf zusätzliche Stoffwechselbelastungen durch die erheblich höheren Begleitstoffspiegel zurückzuführen ist (vgl. Diss. Strehlow). Allerdings sind die Unterschiede insgesamt bei höheren Streuungen relativ gering.

Insgesamt ist zumindest eine Tendenz zu einer Abnahme der SAK-Werte durch in-vitro Effekte abzuleiten, was für einen wenngleich geringen in-vitro-Abbau von Ethanol spricht. Eine Abhängigkeit von der Resorptions- oder Eliminationsphase ist nach den Einzelkurvenverläufen nicht abgrenzbar.

Eine Abnahme der SAK um 27 mg/l würde bei Massebezug etwa 26 mg/kg bzw. bei einem Quotienten von etwa 1,3 (vgl. 4.2.7) etwa einer BAK-Abnahme von 0,02 ‰ entsprechen, bzw. etwa 0,4 mMol/l (bei einem Molekulargewicht von 46 g/Mol).

Die individuellen Differenzwerte SAK Eisproben abzüglich SAK Normalproben für alle Versuche lagen bei $28,6 \pm 136$ mg/l und somit in einer vergleichbaren Größenordnung.

Insgesamt ist davon auszugehen, dass die Eisproben nach enzymhemmender Vorbehandlung (sofortige Kühlzentrifugation und Einfrieren) durchschnittlich etwas höhere Serumkonzentrationen aufweisen als unbehandelte Normalproben. Allerdings sind die Standardabweichungen relativ hoch, nicht zuletzt bedingt durch die geringen, analytisch schwierig abzugrenzenden Abweichungen. Die Unterschiede sind deutlich abgrenzbar, aber nicht signifikant, was auch durch die nivellierende Über-Allesbetrachtung bedingt sein kann. Eine eindeutige, quantitative Abgrenzung über die integrierende Gesamtzahl der Einzelanalysen war nicht möglich.

Deshalb wurde zur ergänzenden, individuellen Beurteilung das Verhältnis der einzelnen SAK-Werte zwischen Eis- und Normalproben durch Quotientenbildung (Eiswerte/Normalwerte) überprüft, zunächst im zeitlichen Verlauf mit Kurvendarstellung, dann für alle Wertepaare.

4.2.6 Quotienten SAK Eisproben/SAK Normalproben

4.2.6.1 Bier

Die 132 Quotienten aus den Werten der Eis- und Normalproben beim Bierversuch ergeben einen Mittelwert von $1,05 \pm 0,157$.

Beim Sauerstoffwasser ergeben 66 Quotienten einen Durchschnittswert von $1,03 \pm 0,188$ und beim normalen Wasser einen Mittelwert von $1,07 \pm 0,115$, ohne signifikanten Unterschied.

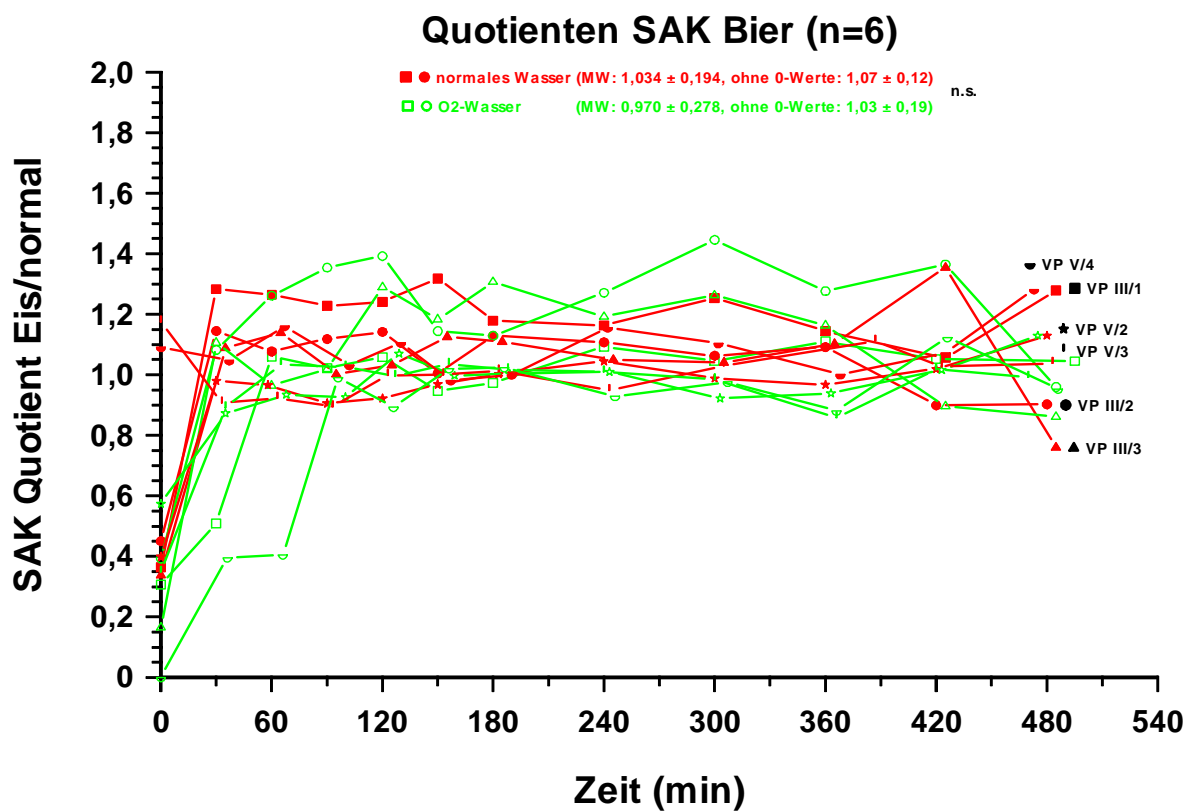


Abb. 18: SAK Quotienten Eis/normal, Bier

4.2.6.2 Wein

Die 122 Quotienten aus den Werten der Eis- und Normalproben beim Weinversuch ergeben einen Mittelwert von $1,00 \pm 0,113$.

Beim Sauerstoffwasser ergeben 56 Quotienten einen Durchschnittswert von $1,01 \pm 0,104$, beim normalen Wasser bei 66 Quotienten einen Mittelwert von $0,996 \pm 0,120$, ohne signifikanten Unterschied.

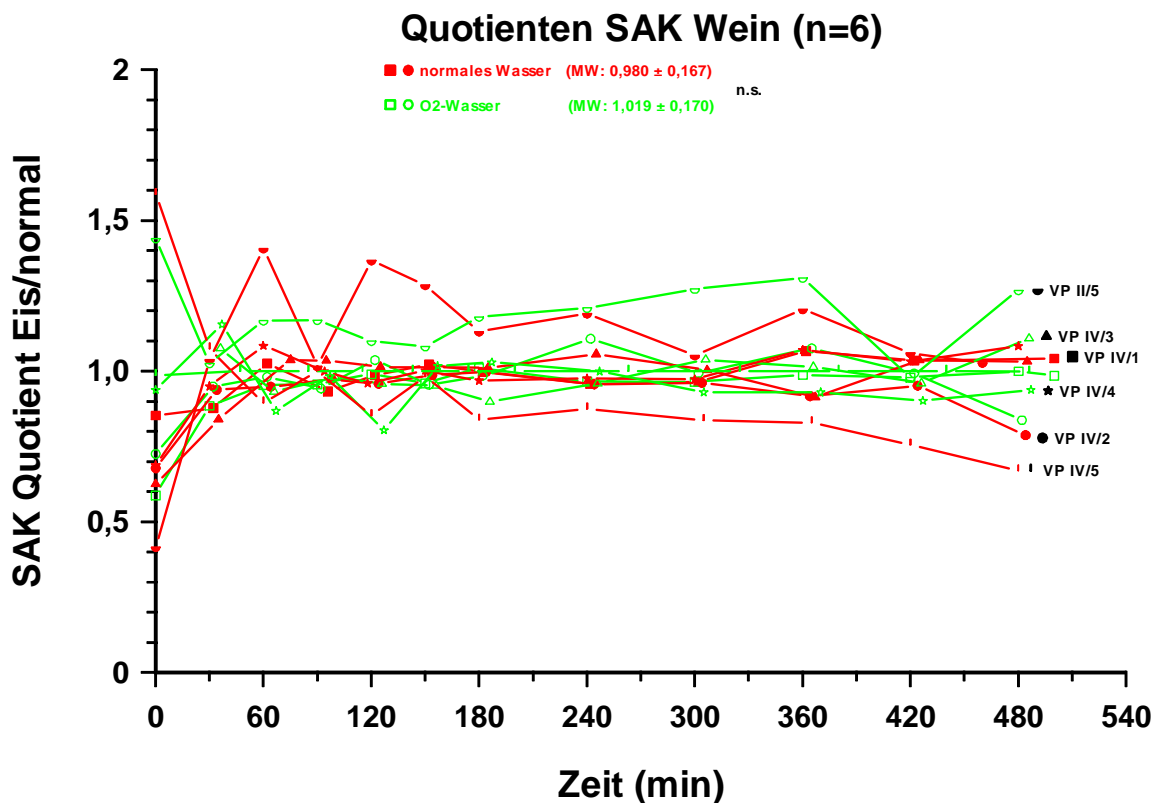


Abb. 19: SAK Quotienten Eis/normal, Wein

4.2.6.3 Wodka

Die 133 Quotienten aus den Werten der Eis- und Normalproben beim Wodkaversuch ergeben einen Mittelwert von $1,16 \pm 0,406$, mit einzelnen „Ausreißern“.

Beim Sauerstoffwasser ergeben 67 Quotienten einen Durchschnittswert von $1,22 \pm 0,383$, beim normalen Wasser bei 66 Quotienten einen Mittelwert von $1,11 \pm 0,421$, ohne signifikanten Unterschied.

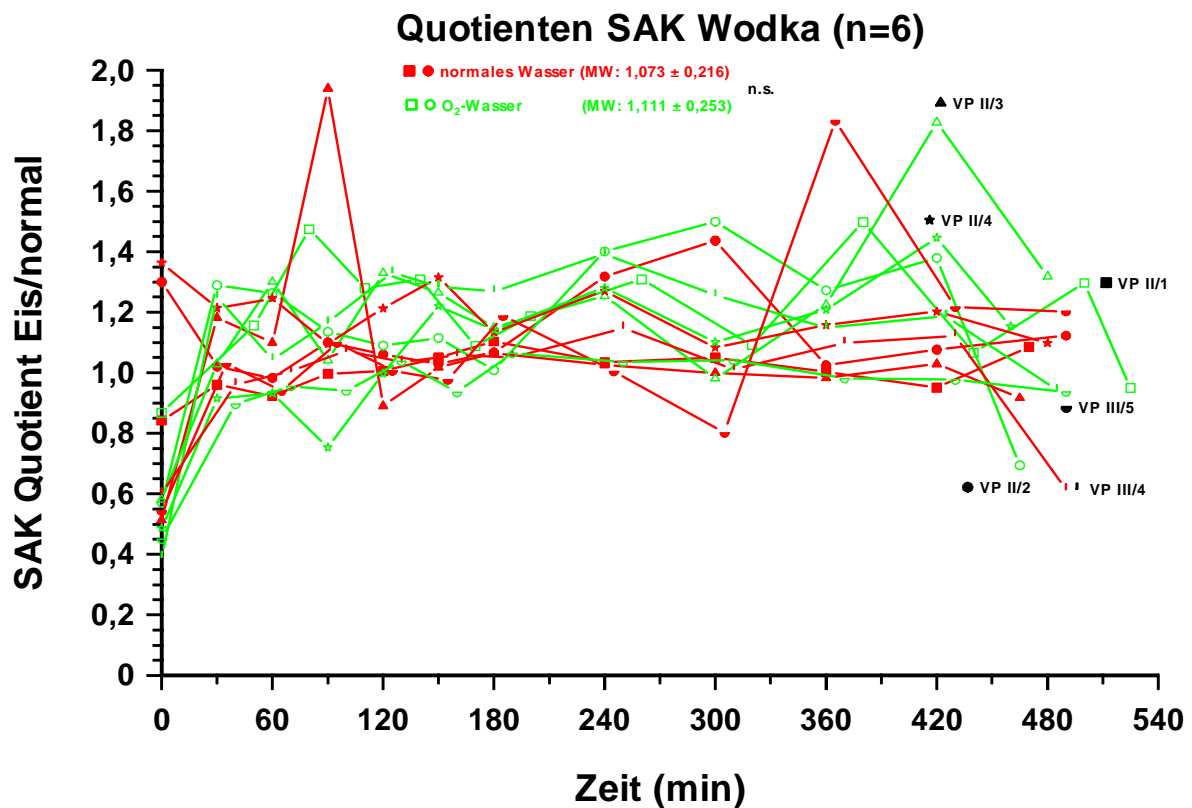


Abb. 20: SAK Quotienten Eis/normal, Wodka

4.2.6.4 Obstbranntwein

Die 121 Quotienten aus den Werten der Eis- und Normalproben beim Versuch mit Obstbranntwein ergeben einen Mittelwert von $0,986 \pm 0,101$.

Beim Sauerstoffwasser ergeben 66 Quotienten einen Durchschnittswert von $0,998 \pm 0,123$, beim normalen Wasser bei 55 Quotienten einen Mittelwert von $0,971 \pm 0,061$, ohne signifikanten Unterschied.

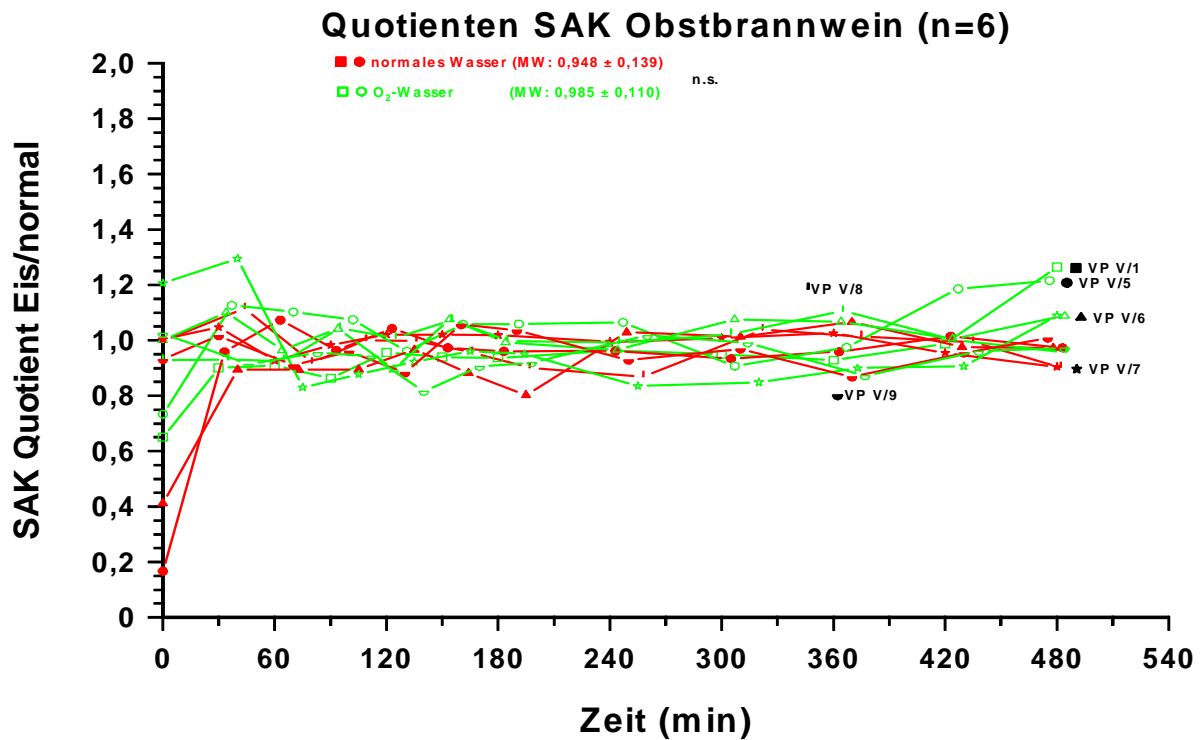


Abb. 21: SAK Quotienten Eis/normal, Obstbranntwein

4.2.6.5 Alle Versuche

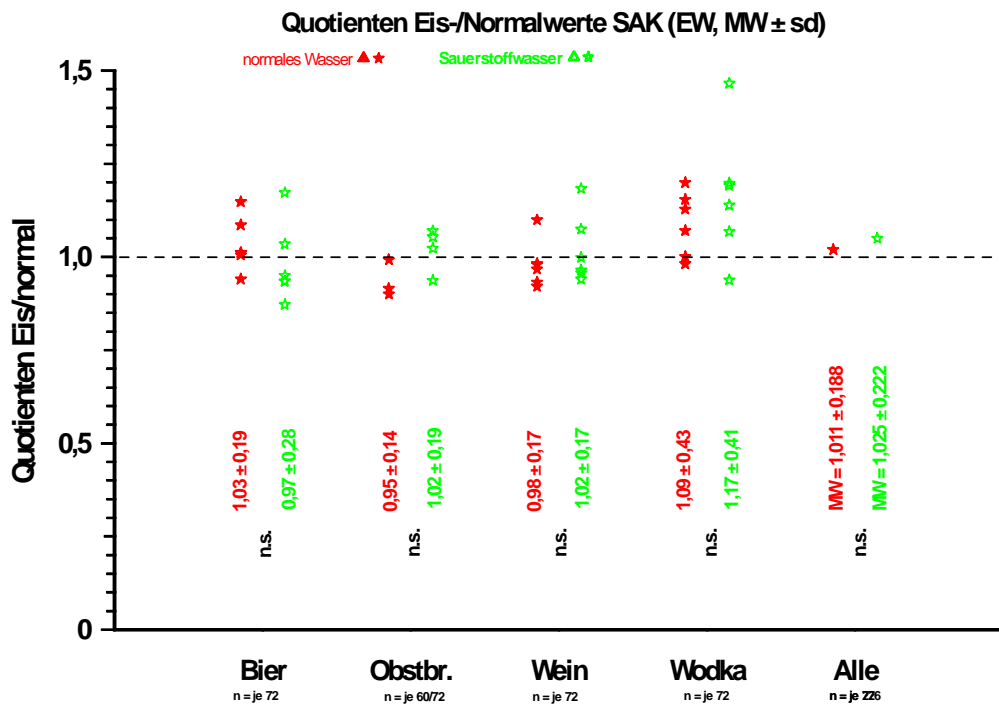


Abb. 22: SAK Quotienten Eis/normal (* MW jeder einzelnen VP, MW der einzelnen Getränke in Zahlen ± sd)

Insgesamt ergibt sich aus allen 520 Quotienten (SAK-Wert Eisproben/SAK-Wert Normalproben) ein Mittelwert von $1,05 \pm 0,243$.

Bei den Versuchen mit Sauerstoffwasser (grün) ergibt sich aus 267 Quotienten ein Durchschnittswert von $1,07 \pm 0,245$.

Beim normalen Wasser (rot) resultiert aus 253 Quotienten ein Mittelwert von $1,04 \pm 0,240$.

Im Gegensatz zur summarischen Betrachtung der SAK-Werte sind die Standardabweichungen bei der individuellen Betrachtung der Einzelwerte durch Quotientenbildung deutlich niedriger. Bis auf die Quotienten der Obstlerwerte sind alle Quotienten knapp über 1.

Insgesamt bestätigt dies die Tendenz aus den absoluten SAK-Werten, dass in den Eisproben eine geringfügig höhere SAK enthalten ist als in den Normalproben, als Ausdruck eines geringen in-vitro Abfalls der SAK, allenfalls in einem Bereich von etwa 5 %. Die Quotienten sind bei uniformem, zeitlichem Verlauf im Vergleich mit Konzentrations-Zeitkurven der SAK auch unabhängig von der Höhe der SAK.

4.2.7 Quotienten SAK/BAK

Alkoholspiegel im Serum (SAK) oder Plasma liegen auf Grund der Verteilung des Ethanols analog des Wassergehalts um den Faktor 1,2 höher als im Vollblut (BAK). In klinischen Laboratorien wird typischerweise Ethanol mittels der ADH-Methode im Serum oder Plasma bestimmt und in g/l angegeben. Bei der analytisch bedingten Konzentrationsangabe einer SAK in g/l ist bei einer Umrechnung in BAK-Werte bei Bezug auf Masse/Masse Verhältnisse wie bei ‰ bzw. g Ethanol/kg ein Quotient von 1,23 anzusetzen (vgl. Richtlinien, Aderjan et al 2011). Bei einer SAK als mg/l ist dementsprechend ein Quotient von 1.230 anzusetzen.

Bei routinemäßigen, häufig nachträglich und nach Kühlschranklagerung durchgeführten Begleitstoffuntersuchungen ist eine Kontrolle und ein Vergleich des gleichzeitigen Ethanolwertes mit dem früher ermittelten BAK-Wert sinnvoll. Auf Grund der Dampfdruckerhöhung beim Begleitstoffverfahren sind höhere Umrechnungsfaktoren bzw. Quotienten im Bereich von 1,4 anzunehmen (vgl. Richtlinien Schulz 2010, Gilg 1995).

Bei den gegenständlichen Versuchen lag der Quotient SAK/BAK aller Wertepaare (n=466) bei den Sauerstoffproben mit einem MW von 1.320 ± 169 (bzw. etwa 1,34 bei Umrechnung g/l) ohne signifikanten Unterschied geringfügig höher als bei den Normalwasserproben (n=457) mit 1.304 ± 152 (bzw. 1,29 bei g/l SAK). Fasst man alle Versuche zusammen, ergibt sich ein MW von 1.312 ± 161 (n=923), d.h. im Mittel ist eine SAK-Wert durch etwa 1,3 zu teilen, um einen gleichzeitigen, vergleichbaren BAK-Wert zu erhalten.

4.3 Acetaldehyd

Falls ein in-vitro-Abbau von Ethanol erfolgt wie beispielsweise enzymatisch über ADH, MEOS oder Katalase sowie ggf. durch Oxyhämoglobin, ist eventuell mit höheren Konzentrationen des ersten Abbauprodukts Acetaldehyd zu rechnen. Dabei ist präanalytisch zu berücksichtigen, dass Acetaldehyd aus Hämoglobinaddukten nach Hämolyse freigesetzt wird, nach vorangegangener Adduktbildung mit zirkulierendem oder im Blut gebildeten Acetaldehyds. Umgekehrt könnte eine eventuell sauerstoffvermittelte Aktivitätssteigerung auch einen Acetaldehydabfall z.B. über ALDH verursachen. Ein enzymatischer Abbau über ADH oder ALDH ist abhängig von verfügbarem NAD bzw. von der Reoxydation gebildeten NADH's und erscheint beim Blut limitiert.

Die Acetaldehydgehalte in den Getränken sind nach Tab. 3 so niedrig, dass eine abgrenzbare resorptive Serumkonzentration rechnerisch nicht zu erwarten ist (z.B. resultieren aus 3 Liter Augustiner Edelstoff 30 mg Acetaldehydaufnahme, entsprechend maximal und theoretisch etwa 0,6 mg/l bei einem 75 kg schweren Mann nach der Widmarkformel, ohne Berücksichtigung eines initialen Abbaus).

Ethanol (g/l) und Begleitstoffe (mg/l)	Etoh (g/l)	Meoh (mg/l)	Prop-1 (mg/l)	Isobut (mg/l)	But-2 (mg/l)	But-1 (mg/l)	Acetal (mg/l)	ÄthAc (mg/l)	IAA (mg/l)
Bier 5 % vol Augustiner Edelstoff	40	3,5	11	8	-	-	10	33	60
Weißbier Unertl 4,8 % vol (Haag)	38	2,4	22	46	-	-	6	42	81
Rotwein 12 % vol Affaltracher Dornfelder	96	81	35	43	-	2	10	60	254
Wodka 40 % vol Moskovskaya	320	0/-	-	-	-	-	-	-	-
Obstbranntwein 38 % vol Obstwässerli A.Kranz	300	2388	275	258	77	55	94	686	1147
Adelholzener Mineralwasser Normal (4-7 mg O ₂ /l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O₂ Active (60-90 mg O ₂ /l)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tab. 7: Ethanol- und Begleitstoffgehalte der konsumierten Getränke (vgl. Diss. Strehlow).

Etoh=Ethanol, Meoh=Methanol, Prop-1=Propanol-1, Isobut=Isobutanol, But-2=Butanol-2, But-1=Butanol-1, Acetal=Acetaldehyd, ÄthAc=Äthylacetat, IAA=Isoamylalkohol(Summe 2- und 3-Methyl-Butanol-1, - = n.n. bzw. nicht nachweisbar / < 0,02 mg/l

Isopropanol und Aceton nicht nachweisbar, im Obstbranntwein 22 mg/l Methylacetat.

Im Mineralwasser war bei den verwendeten Glasflaschen – im Gegensatz eventuell zu Kunststoffflaschen – kein Acetaldehyd nachweisbar bzw. ein Acetaldehydgehalt unterhalb der Nachweisgrenze von etwa 0,02 mg/l. Mit empfindlicheren und hierfür optimierten Methoden sind – vorzugsweise in PET- Flaschen (Polyethylenterephthalat) – Acetaldehydkonzentrationen im Bereich von 0,2-24,3 µg/l (0,0002-0,0243 mg/l) und insgesamt meist unter 7 µg/l

nachweisbar. Der Trinkwassergrenzwert liegt seit November 2011 bei 10 µg/l. Acetaldehyd entsteht v.a. aus PET, deutsche Flaschenhersteller setzen teilweise Blocker zur Bindung freien Acetaldehyds zu. Resultierende Acetaldehydbelastungen werden als gesundheitlich völlig unbedenklich angesehen, deutlichere Konzentrationen als 24,3 µg/l (=0,0243 mg/l) wären auch bei unserer Methodik als Spuren abgrenzbar, sie machen sich durch fruchtig-süßen Geschmack bemerkbar (vgl. Stiftung Warentest 8/2011, 8/2014).

In unseren Versuchen bestimmten wir die Acetaldehydserumspiegel vor Alkoholaufnahme als Nüchternwerte/endogene Spiegel, mit folgenden Ergebnissen:

Endogene Acetaldehydspiegel:

Eisproben: 0,244 ± 0,241 mg/l

Normalproben: 0,234 ± 0,164 mg/l

verwertbare Proben: n=42, jeweils zwei Werte pro Proband, statistisch ohne signifikanten Unterschied der Mittelwerte nach t-Test bei allerdings größerer Streuung.

Endogene Serumethanolspiegel:

Eisproben: 3,38 ± 9,78 mg/l

Normalproben: 4,19 ± 10,3 mg/l

n=44, bei noch höherer Streuung nicht normal verteilt bzw. geometrisch verteilt und ohne statistisch signifikanten (Mittelwerts-)Unterschied.

Nach Abb. 23 beeinflusst auch eine Aufnahme von ca. 6 Liter O₂-Wasser über mehrere Stunden nüchterne Ausgangswerte nicht (beispielhaft für eine von 3 Versuchspersonen mit vergleichbaren Verläufen).

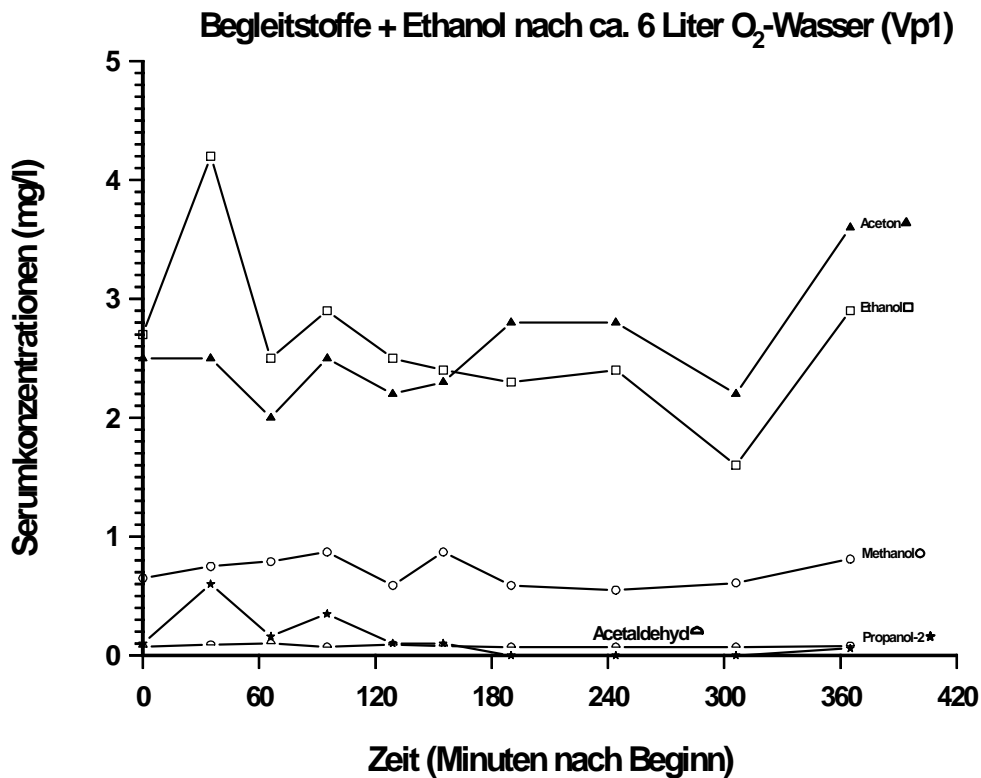


Abb. 23: Begleitstoffe und Ethanol bei einer von drei Versuchspersonen nach Aufnahme von ca. 6 Litern (!!) O₂-Wasser

Wenn ein enzymatischer in-vitro-Abbau von Acetaldehyd erfolgt, so sollte dies auf Grund einer Enzymhemmung durch die Probenvorbehandlung zu höheren Spiegeln in den Eisproben führen, eventuell auch zu einer O₂-induzierten weiteren Erhöhung in den Versuchen mit Sauerstoffwasser.

Im Folgenden wurden die Serumspiegel von Acetaldehyd der Einzelversuche (ohne Nullwerte) in den Eis- und Normalproben sowie mit und ohne Sauerstoffwasser verglichen, zum Einen summarische über-alle-Werte, zum Anderen nach individueller Subtraktion der Einzelwerte der Normalproben von den Eisproben. Schlussendlich wurden für jeden Einzelwert Quotienten der Acetaldehydspiegel der Eisproben zu den Normalproben berechnet, individuell für den Versuchsverlauf grafisch dargestellt und summarisch verglichen.

4.3.1 Acetaldehydspiegel Bierversuch

Zunächst ist anzumerken, dass eine Acetaldehydaufnahme bei Weißbier und Augustinerbier nicht relevant ist. Bei einer Aufnahme von allenfalls bis zu 12-15 mg würden bei Annahme eines Verteilungsraums analog Widmark allenfalls Blutspiegel von bis zu 0,21 bzw. 0,23 mg/l resultieren, wobei ein initialer Abbau noch gar nicht berücksichtigt ist. Im Vergleich zu feststellbaren Acetaldehydspiegeln nach Alkoholaufnahme ist dies zu vernachlässigen.

	Acetaldehyd Eisproben	Acetaldehyd Normalproben	t-Test
Alle Bierversuche (n=132)	1,48 ± 0,577 mg/l	0,850 ± 0,323 mg/l	p < 0,0001
Bier mit O₂-Wasser (n=66)	1,53 ± 0,465 mg/l	0,904 ± 0,355 mg/l	p < 0,0001
Bier mit Normalwasser (n=66)	1,42 ± 0,670 mg/l	0,797 ± 0,281 mg/l	p < 0,0001
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Bier Eisproben	1,53 ± 0,465 mg/l	1,42 ± 0,670 mg/l	n.s.
Bier Normalproben	0,904 ± 0,355 mg/l	0,797 ± 0,281 mg/l	p < 0,002

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher Acetaldehyd-Werte in den Bierversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Die Eisprobenwerte sind sowohl mit als auch ohne Sauerstoffwasser sowie insgesamt statistisch signifikant höher als die Normalprobenwerte, während sich innerhalb der Eis- und Normalproben keine Unterschiede ergaben. Danach bewirkt die enzymhemmende Eisprobenvorbehandlung offenbar eine Abbauehemmung des Acetaldehyds im Blut/Serum.

Die individuellen Differenzwerte Acetaldehyd Eisproben abzüglich Acetaldehyd Normalproben lagen beim Sauerstoffwasser im Mittel bei $0,631 \pm 0,554$ mg/l und beim Normalwasser bei $0,628 \pm 0,68$ mg/l, ohne signifikanten Unterschied, auch nicht im Vergleich mit dem Mittelwert aller Proben von $0,629 \pm 0,623$ mg/l. Der Abfall der Acetaldehydspiegel in-vitro liegt also etwa bei 0,6 mg/l oder auch etwa 0,6 mg/kg bzw. 0,014 mMol (bei einem Molekulargewicht von

Acetaldehyd von 44,1 g/Mol.).

Die Konzentrations-Zeitkurven zeigen einen Anstieg nach Trinkbeginn mit einsetzendem Ethanolmetabolismus und anschließendem, annähernd linearem Verlauf, unabhängig von den Ethanolwerten, entsprechend einer weitgehend konzentrationsunabhängigen, stündlichen Ethanolelimination.

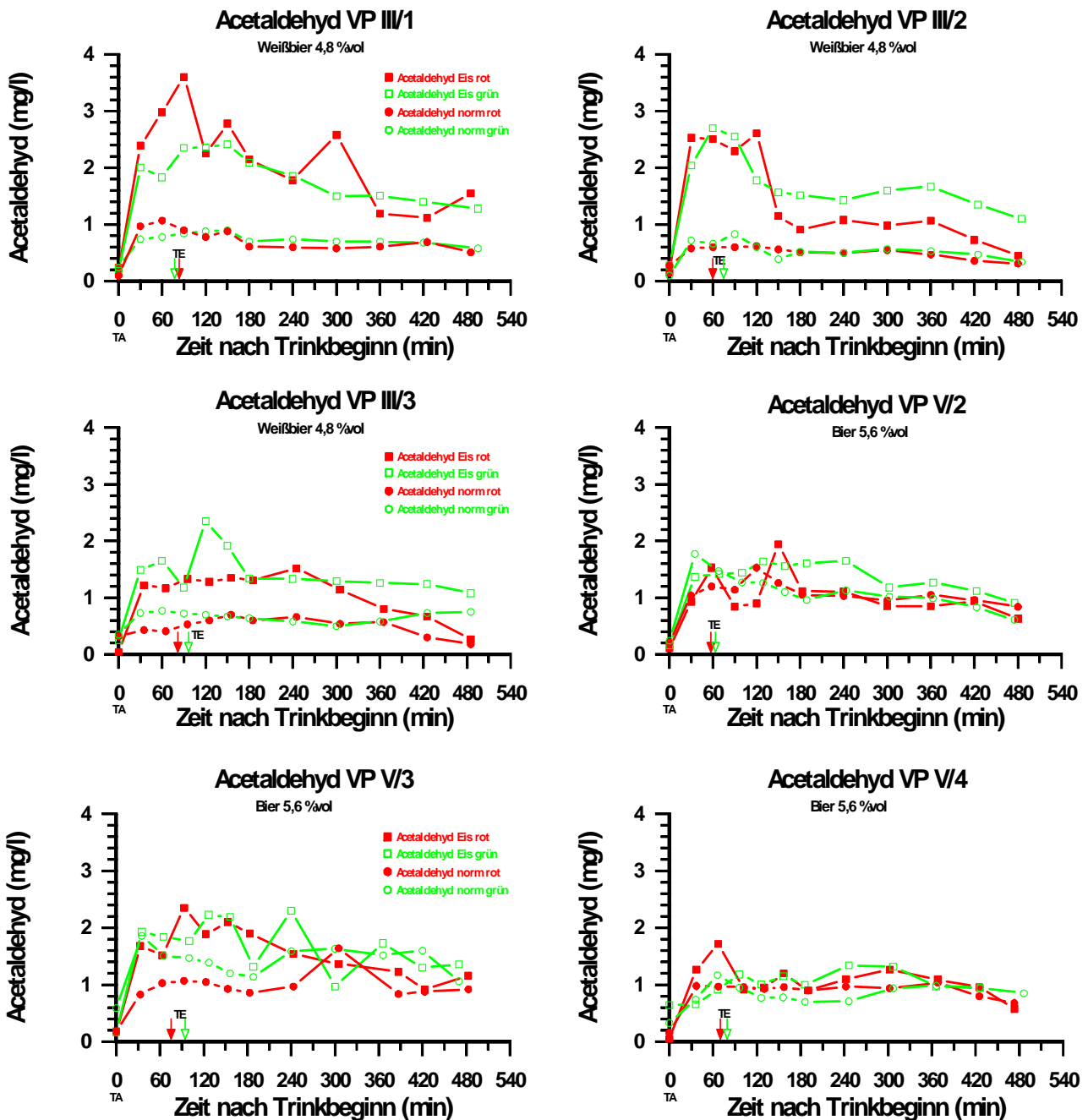


Abb. 24: Bierversuche 1-6

4.3.2 Acetaldehydspiegel Wein

Die Acetaldehydaufnahme über Rotwein liegt bei insgesamt bis zu etwa 7-8 mg, entsprechend allenfalls bis zu 0,14-0,21 mg/l im Blut, sie ist ebenfalls nicht relevant.

	Acetaldehyd Eisproben	Acetaldehyd Normalproben	t-Test
Alle Weinversuche (n=133)	1,52 ± 0,633 mg/l	0,785 ± 0,216 mg/l	p < 0,0001
Wein mit O₂-Wasser (n=67)	1,59 ± 0,749 mg/l	0,785 ± 0,225 mg/l	p < 0,0001
Wein mit Normalwasser (n=66)	1,45 ± 0,484 mg/l	0,785 ± 0,208 mg/l	p < 0,0001
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Bier Eisproben	1,59 ± 0,749 mg/l	1,45 ± 0,484 mg/l	n.s.
Bier Normalproben	0,785 ± 0,225 mg/l	0,785 ± 0,208 mg/l	n.s.

Tab. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher Acetaldehyd-Werte in den Weinversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Sämtliche Werte sind vergleichbar mit dem Bierversuch. Auch hier sind die Eisprobenwerte sowohl mit als auch ohne Sauerstoffwasser sowie insgesamt statistisch signifikant höher als die Normalprobenwerte, während sich innerhalb der Eis- und Normalproben keine Unterschiede ergaben. Danach bewirkt die enzymhemmende Eisprobenvorbehandlung offenbar eine Abbauehemmung des Acetaldehyds im Blut/Serum.

Die individuellen Differenzwerte Acetaldehyd Eisproben abzüglich Acetaldehyd Normalproben lagen beim Sauerstoffwasser bei $0,933 \pm 0,641$ mg/l und beim Normalwasser bei $0,667 \pm 0,471$ mg/l, ohne signifikanten Unterschied, auch nicht im Vergleich mit dem Mittelwert aller Proben von $0,800 \pm 0,576$ mg/l. Der Abfall der Acetaldehydspiegel in-vitro liegt etwa bei 0,8 mg/l oder auch etwa 0,8 mg/kg bzw. 0,018 mMol, etwas höher als beim Bierversuch.

Auch die Konzentrations-Zeitkurven zeigen einen vergleichbaren Anstieg nach Trinkbeginn mit einsetzendem Ethanolmetabolismus und anschließendem, annähernd linearem Verlauf, unabhängig von den Ethanolwerten.

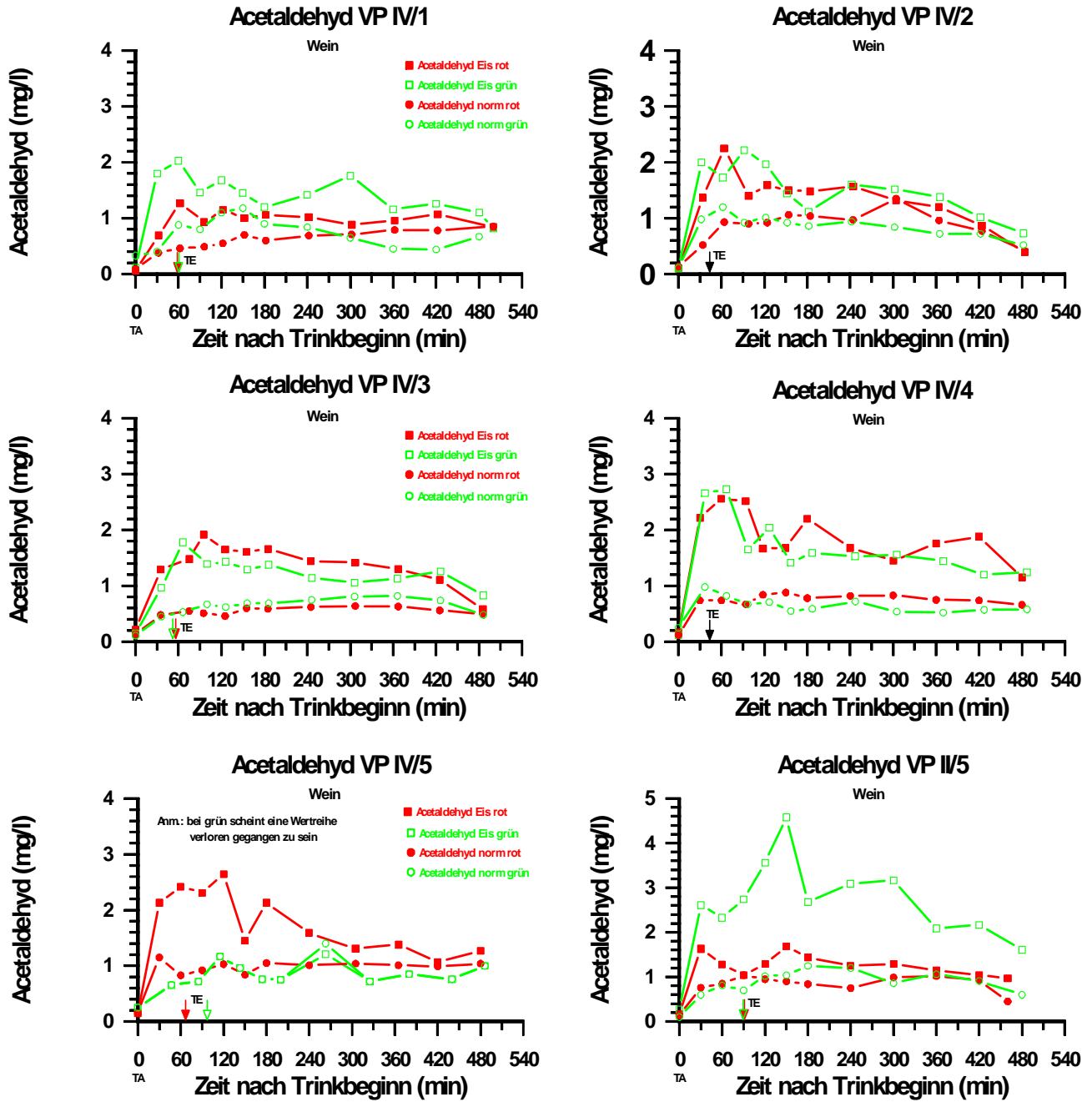


Abb. 25: Weinversuche 1-6

4.3.3 Acetaldehydspiegel Wodka

Wodka enthält kein Acetaldehyd, insofern kommt es zu keinerlei resorptiver Aufnahme.

	Acetaldehyd Eisproben	Acetaldehyd Normalproben	t-Test
Alle Wodkaversuche (n=134)	1,41 ± 0,419 mg/l	0,631 ± 0,159 mg/l	p < 0,0001
Wodka mit O₂-Wasser (n=68)	1,54 ± 0,384 mg/l	0,644 ± 0,166 mg/l	p < 0,0001
Wodka mit Normalwasser (n=66)	1,27 ± 0,413 mg/l	0,618 ± 0,152 mg/l	p < 0,0001
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Wodka Eisproben	1,54 ± 0,384 mg/l	1,27 ± 0,413 mg/l	p < 0,001
Wodka Normalproben	0,644 ± 0,166 mg/l	0,618 ± 0,152 mg/l	n.s.

Tab.10: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher Acetaldehyd-Werte in den Wodkaversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Sämtliche Werte sind vergleichbar mit dem Bier- und Weinversuch. Auch hier sind die Eisprobenwerte sowohl mit als auch ohne Sauerstoffwasser sowie insgesamt statistisch signifikant höher als die Normalprobenwerte, während sich innerhalb der Eis- und Normalproben keine Unterschiede ergaben. Danach bewirkt die enzymhemmende Eisprobenvorbehandlung offenbar eine Abbauehemmung des Acetaldehyds im Blut/Serum.

Die individuellen Differenzwerte Acetaldehyd Eisproben abzüglich Acetaldehyd Normalproben lagen beim Sauerstoffwasser bei $0,893 \pm 0,357$ mg/l und beim Normalwasser bei $0,654 \pm 0,384$ mg/l, ohne signifikanten Unterschied, auch nicht im Vergleich mit dem Mittelwert aller Proben von $0,775 \pm 0,388$ mg/l. Der Abfall der Acetaldehydspiegel in-vitro liegt etwa bei 0,8 mg/l oder auch etwa 0,8 mg/kg bzw. 0,018 mMol, wie beim Weinversuch und etwas höher als beim Bierversuch.

Auch die Konzentrations-Zeitkurven zeigen einen vergleichbaren Anstieg nach Trinkbeginn mit einsetzendem Ethanolmetabolismus und anschließend, annähernd linearem Verlauf, unabhängig von den Ethanolwerten.

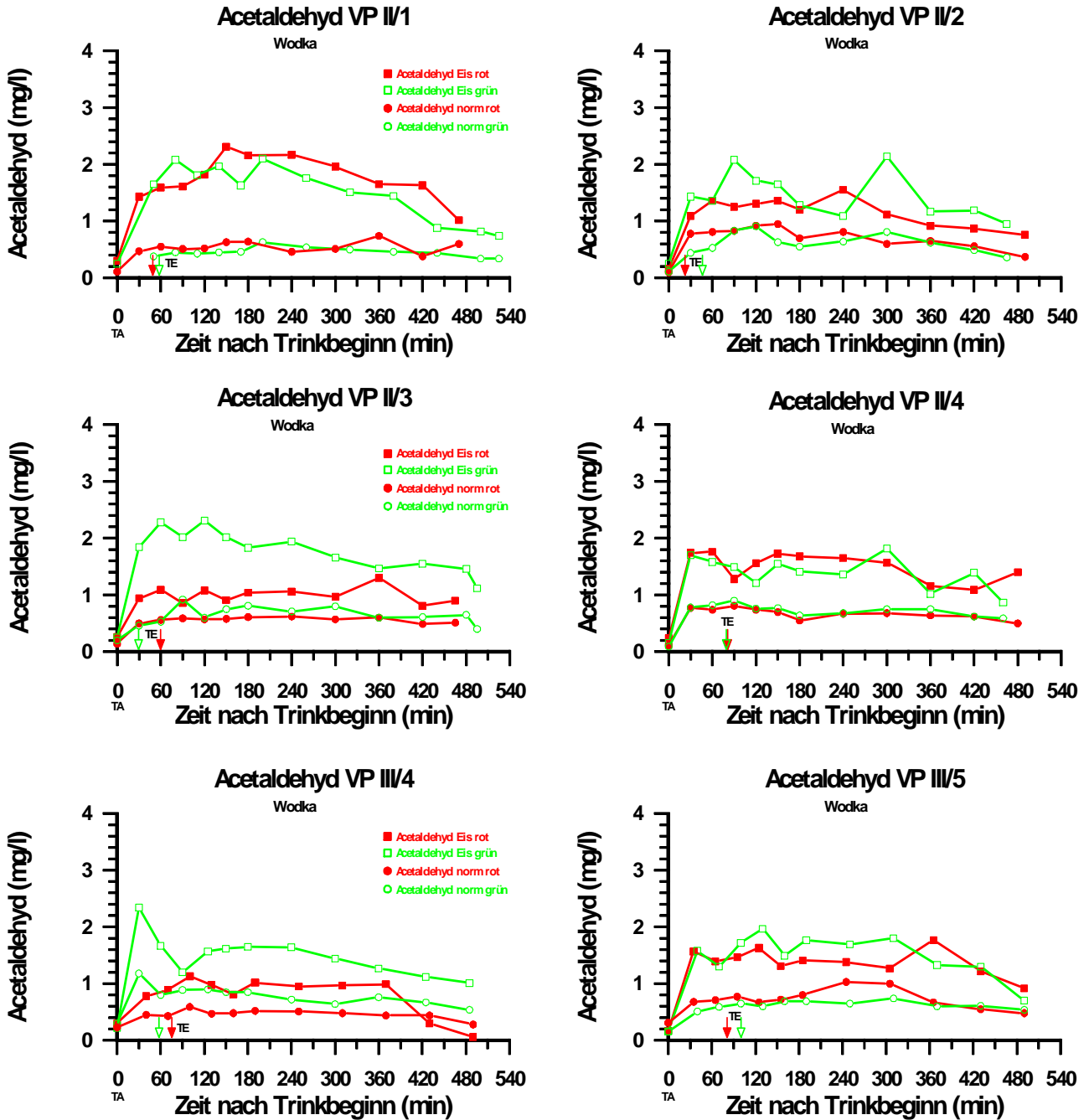


Abb. 26: Wodkaversuche 1-6

4.3.4 Acetaldehydspiegel Obstbranntwein

Die Acetaldehydaufnahme über Obstbranntwein liegt bei bis zu 14-21 mg, erreichbar sind allenfalls vernachlässigbare, nicht relevante Blutspiegel bis zu 0,37-0,39 mg/l, ohne Abbau.

	Acetaldehyd Eisproben	Acetaldehyd Normalproben	t-Test
Alle Obstlerversuche (n=121)	1,14 ± 0,530 mg/l	0,863 ± 0,447 mg/l	p < 0,0001
Obstler mit O₂-Wasser (n=66)	1,23 ± 0,639 mg/l	0,852 ± 0,531 mg/l	p < 0,0001
Obstler mit Normalwasser (n=55)	1,04 ± 0,335 mg/l	0,876 ± 0,324 mg/l	p < 0,001
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Bier Eisproben	1,23 ± 0,639 mg/l	1,04 ± 0,335 mg/l	p < 0,05
Bier Normalproben	0,852 ± 0,531 mg/l	0,876 ± 0,324 mg/l	n.s.

Tab. 11: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher Acetaldehyd-Werte in den Obstlerversuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Sämtliche Werte sind vergleichbar mit dem Bier- und Weinversuch. Auch hier sind die Eisprobenwerte sowohl mit als auch ohne Sauerstoffwasser sowie insgesamt statistisch signifikant höher als die Normalprobenwerte, während sich innerhalb der Eis- und Normalproben keine Unterschiede ergaben. Danach bewirkt die enzymhemmende Eisprobenvorbehandlung offenbar eine Abbauehemmung des Acetaldehyds im Blut/Serum.

Die individuellen Differenzwerte Acetaldehyd Eisproben abzüglich Acetaldehyd Normalproben lagen beim Sauerstoffwasser bei $0,360 \pm 0,398$ mg/l und beim Normalwasser bei $0,173 \pm 0,333$ mg/l, ohne signifikanten Unterschied, auch nicht im Vergleich mit dem Mittelwert aller Proben von $0,267 \pm 0,197$ mg/l. Der Abfall der Acetaldehydspiegel in-vitro liegt beim Obstlerversuch deutlich niedriger bei etwa 0,3 mg/l oder auch etwa 0,3 mg/kg bzw. 0,007 mMol. Auffallend sind allerdings einige „Ausreißer“, die diese Auswertung maßgeblich beeinflussen können und bei der Instabilität von Acetaldehyd bei nicht optimaler Probenvorbehandlung auftreten können.

Die Konzentrations-Zeitkurven zeigen demgegenüber einen typischen, vergleichbaren Anstieg nach Trinkbeginn mit einsetzendem Ethanolmetabolismus und anschließendem, annähernd linearem Verlauf, unabhängig von den Ethanolwerten.

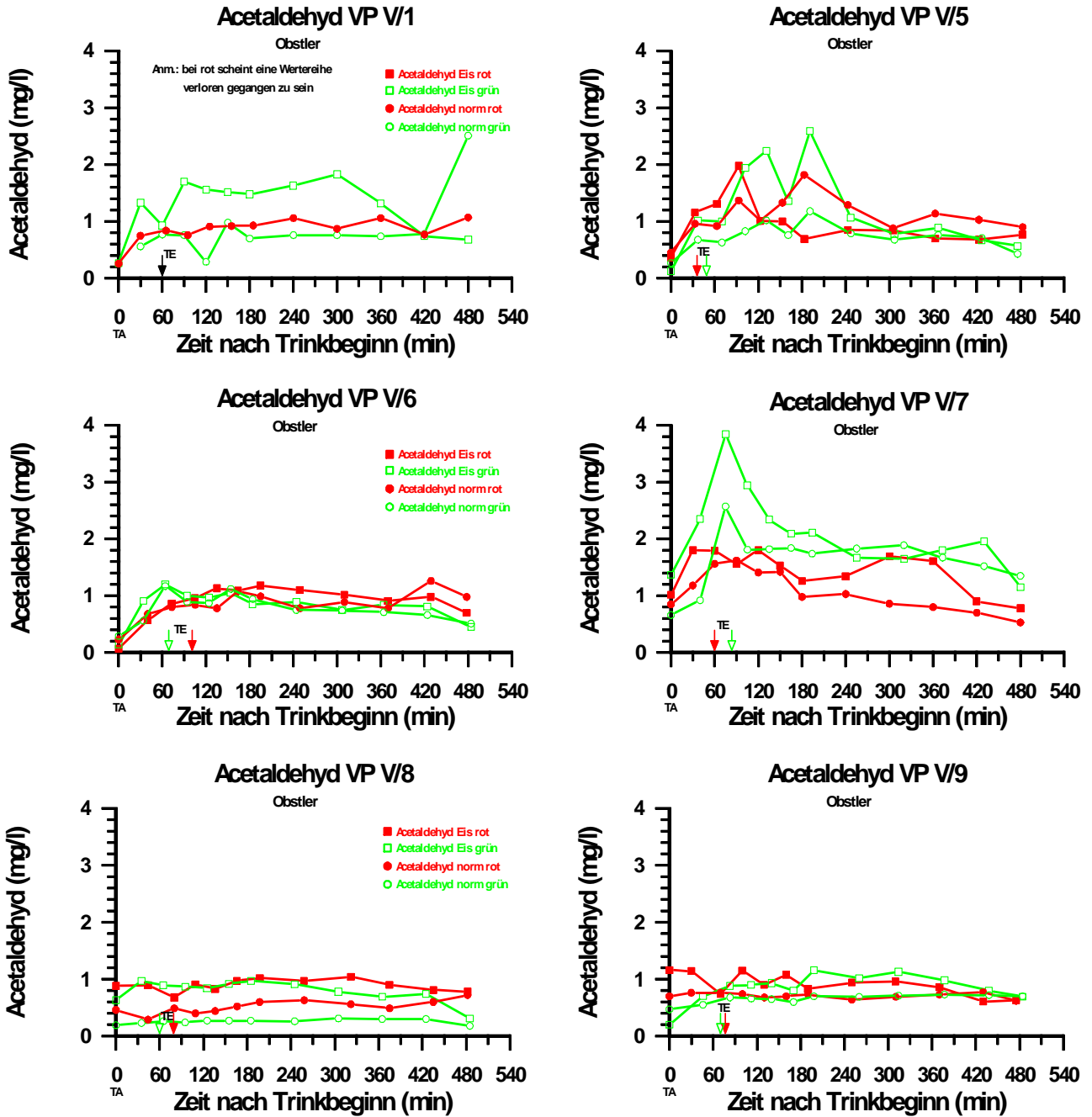


Abb. 27: Obstbranntweinversuche 1-6

4.3.5 Acetaldehydspiegel alle Versuche

	Acetaldehyd Eisproben	Acetaldehyd Normalproben	t-Test
Alle Versuche (n=570)	1,39 ± 0,563 mg/l	0,780 ± 0,316 mg/l	p < 0,0001
Alle Versuche mit O₂- Wasser (n=267)	1,48 ± 0,591 mg/l	0,795 ± 0,359 mg/l	p < 0,0001
Alle Versuche mit Normalwasser (n=253)	1,31 ± 0,519 mg/l	0,764 ± 0,262 mg/l	p < 0,0001
	mit O₂-Wasser	Normalwasser	
Alle Versuche Eisproben	1,48 ± 0,591 mg/l	1,31 ± 0,519 mg/l	(p < 0,001)
Alle Versuche Normalproben	0,795 ± 0,359 mg/l	0,764 ± 0,262 mg/l	n.s.

Tab. 12.: Mittelwerte und Standardabweichungen sämtlicher Acetaldehyd-Werte in allen Versuchen, im Vergleich Eis- und Normalproben sowie mit/ohne Sauerstoffwasser

Aus 520 Wertepaaren aus allen Trinkversuchen ergibt sich bei den Eisproben ein um 0,61 mg/l signifikant höherer Mittelwert der Acetaldehydkonzentrationen im Serum von $1,39 \pm 0,563$ mg/l gegenüber einem MW von $0,780 \pm 0,316$ mg/l in den Normalproben ($p < 0,0001$, t-Test für abhängige Stichproben). Die Mittelwerte sämtlicher Versuche sind vergleichbar mit den Einzelversuchen. Auch hier sind die Eisprobenwerte sowohl mit als auch ohne Sauerstoffwasser sowie insgesamt statistisch signifikant höher als die Normalprobenwerte, während sich innerhalb der Eis- und Normalproben keine Unterschiede ergaben. Die enzymhemmende Eisprobenvorbehandlung bewirkt offenbar unabhängig von der Alkoholart eine Abbauehemmung des Acetaldehyds im Blut/Serum während der Lagerung bis zur Analyse. Sauerstoffwasser führt tendenziell möglicherweise zu einem etwas höheren Acetaldehydabbau.

Die individuellen Differenzwerte Acetaldehyd Eisproben abzüglich Acetaldehyd Normalproben bei allen Versuchen lagen beim Sauerstoffwasser und beim Normalwasser im Bereich des Mittelwerts aller Werte von $0,629 \pm 0,545$ mg/l, also sehr gut vergleichbar mit dem obigen, summarischen Unterschied. Der Abfall der Acetaldehydspiegel in-vitro über alle Versuche liegt also bei etwa 0,6 mg/l oder auch etwa 0,6 mg/kg bzw. 0,014 mMol.

	Bier (n=132)	Wein (n=133)	Wodka (n=134)	Obstler (n=121)	Alle Getr. (n=520)
gesamt	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)
O₂-Wasser	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)
Norm.Wasser	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<<0.0001)	Eis > norm. (p<0.001)	Eis > norm. (p<<0.0001)
Eisproben	O ₂ ≈ norm.	O ₂ ≈ norm.	O ₂ > norm. (p<0.001)	O ₂ > norm. (p<0.05)	O ₂ > norm. (p<0.001)
Normalproben	O ₂ > norm. (p<0.002)	O ₂ ≈ norm.	O ₂ ≈ norm.	O ₂ ≈ norm.	O ₂ ≈ norm.

Tab. 13: Zusammenfassung der Ergebnisse hinsichtlich Acetaldehyd in Eis- und Normalproben

Zusammenfassend ist eindeutig davon auszugehen, dass in den Eisproben signifikant höhere Acetaldehydspiegel nachweisbar sind als in den Normalproben, was wohl auf eine präanalytische Enzymhemmung zurückzuführen ist

Etwas höhere Acetaldehydspiegel beim Sauerstoffwasser in den Eisproben gegenüber den Normalproben könnten auf einen zusätzlichen, sauerstoffbedingten Abbau von Acetaldehyd hinweisen, allerdings sind die Unterschiede zu gering.

4.3.6 Quotienten Acetaldehyd Eisproben/Acetaldehyd Normalproben

Für eine ergänzende und individuellere Beurteilung wurden Quotienten aus den Acetaldehyd-Werten der eisgekühlten und der normal gekühlten Proben (Eis/normal) gebildet. Wie man aus den Abbildungen 28-31 erkennen kann, liegen die Quotienten deutlich über 1, d.h. in den eisgekühlten Proben befindet sich fast immer mehr Acetaldehyd als in den normal gekühlten Proben.

4.3.6.1 Bier

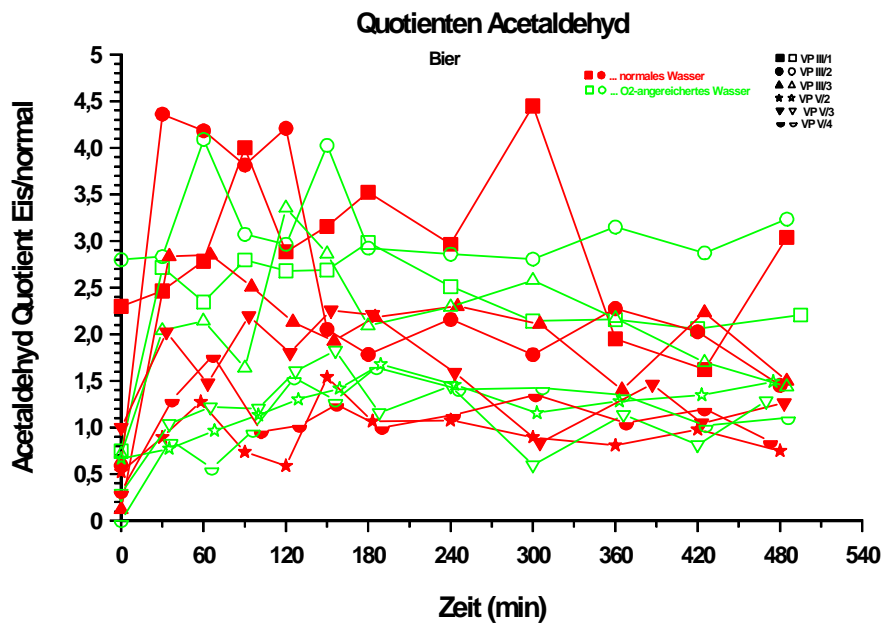


Abb. 28: Acetaldehyd Quotienten Eis/normal, Bier

4.3.6.2 Wein

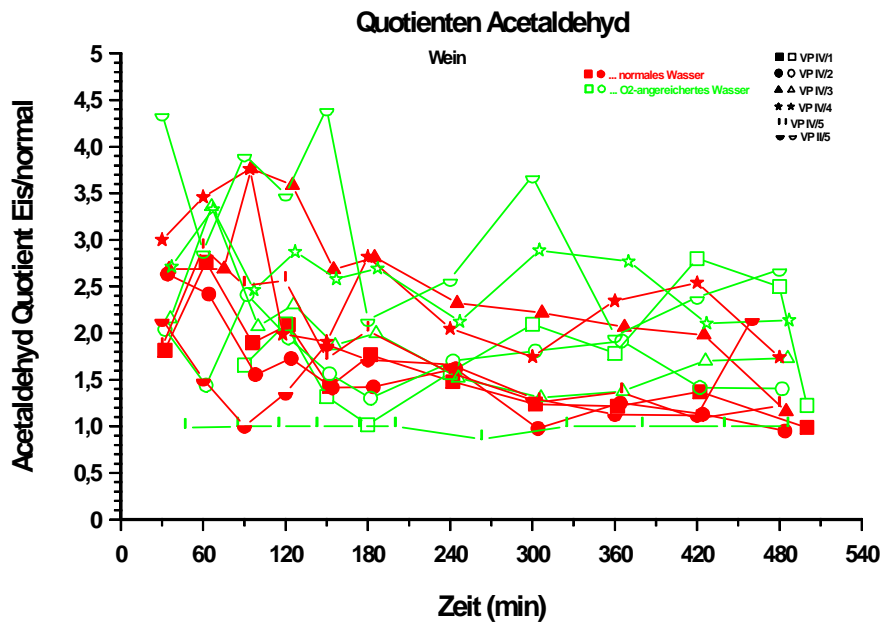


Abb. 29: Acetaldehyd Quotienten Eis/normal, Wein

4.3.6.3 Wodka

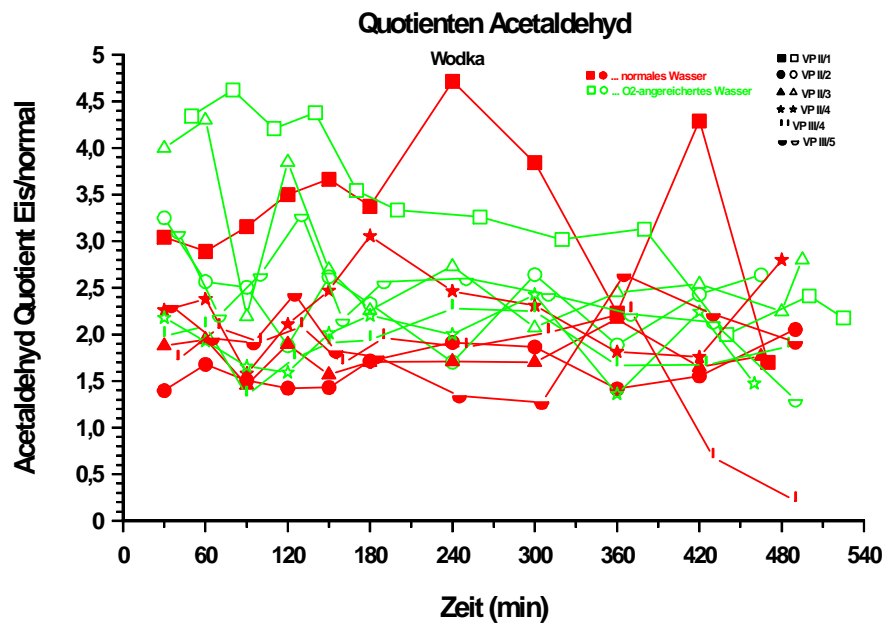


Abb. 30: Acetaldehyd Quotienten Eis/normal, Wodka

4.3.6.4 Obstbranntwein

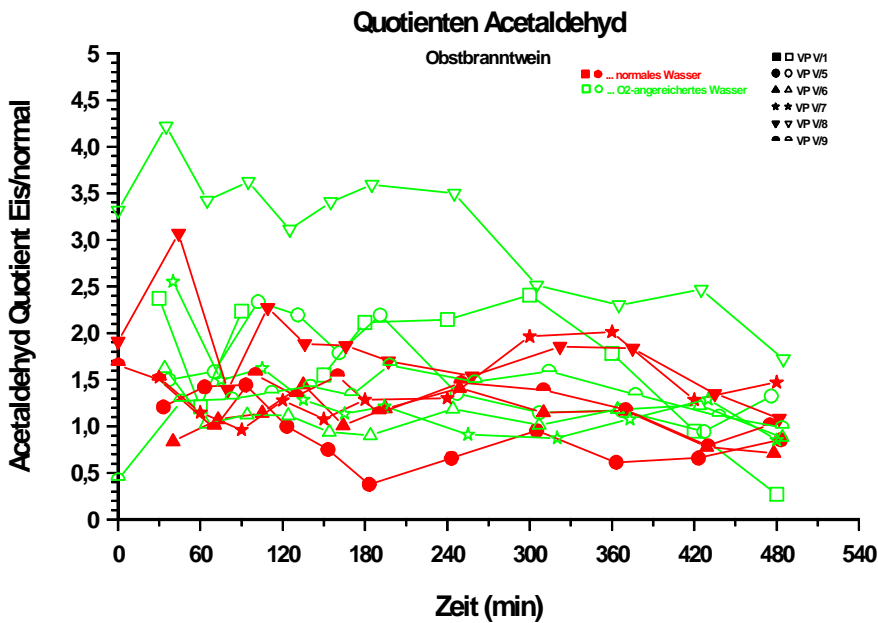


Abb. 31: Acetaldehyd Quotienten Eis/normal, Obstler

4.3.6.5 Quotienten Acetaldehyd Eis-/Normalproben – alle Versuche

Bei 520 Quotienten aus den Werten aller Versuche (Acetaldehyd-Wert aus eisgekühlter Probe/Acetaldehyd-Wert aus normal gekühlter Probe) liegt der Mittelwert bei $1,96 \pm 0,886$.

Beim Sauerstoffwasser (grün) ergibt sich aus 267 Quotienten ein MW von $2,08 \pm 0,933$ und beim normalen Wasser (rot) aus 253 Quotienten ein Mittelwert von $1,84 \pm 0,818$, dieser Unterschied ist signifikant ($p < 0.005$).

Wie bei den Absolutwerten könnte Sauerstoffwasser tendenziell möglicherweise zu einem etwas höheren Acetaldehydabbau führen, wenn überhaupt jedoch gering und kaum (sicher) abgrenzbar.

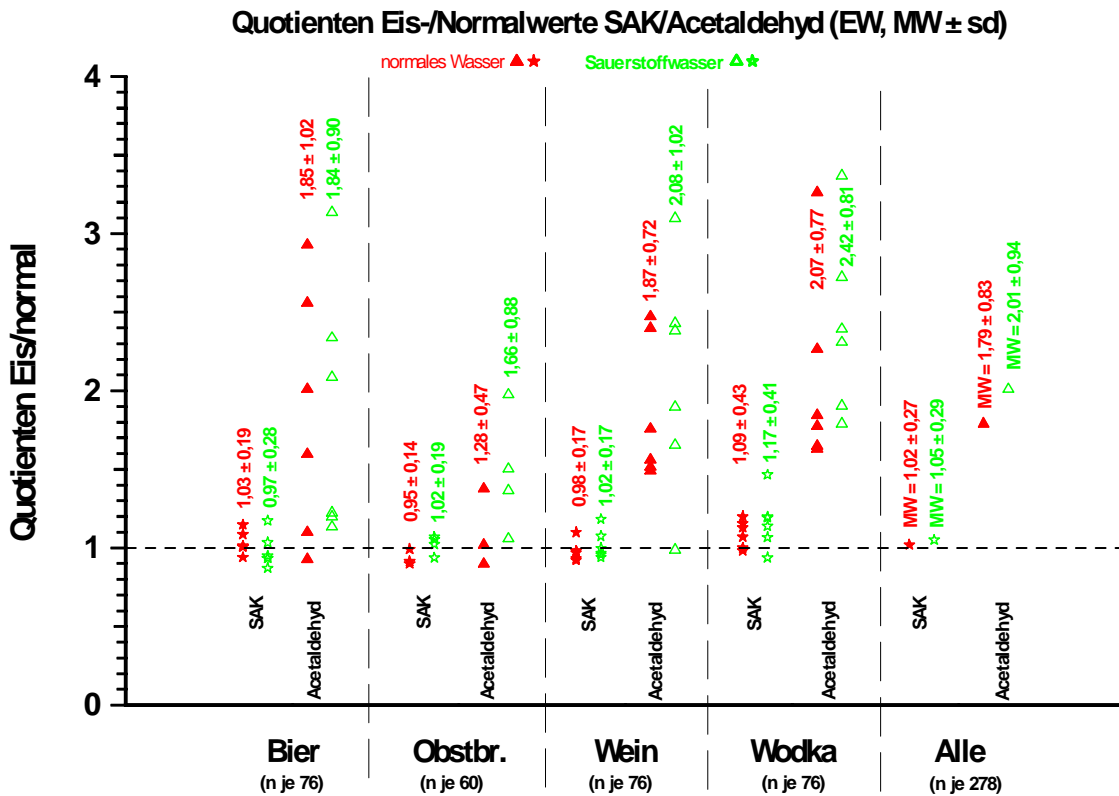


Abb. 32: Vergleich der individuellen MW von SAK und Acetaldehyd

Bezüglich der einzelnen Getränke sind sämtliche SAK- und Acetaldehydmittelwerte statistisch im t-Test nicht signifikant unterschiedlich, lediglich der Acetaldehydspiegel im Obstlerversuch liegt unter O₂-Wasser bei p<0,001 signifikant höher als unter normalem Wasser, allerdings nicht mehr, wenn die VP 6 mit Restalkohol weggelassen wird.

5. Diskussion

Hauptziel dieser Untersuchung war die Klärung der Frage, ob sauerstoffangereichertes Wasser die Ethanolelimination beschleunigen kann, wie von Hyvärinen et al 1978 und zuletzt von Baek et al 2010 behauptet. Zusätzlich wurden mögliche Einflüsse auf Acetaldehyd- und Serumalkoholkonzentrationen untersucht, nachdem im Rahmen der Ascorbylradikalmessungen ohnehin Serumproben nach Kühlzentrifugation und Einfrieren für diese präanalytisch sensiblen Analysen zur Verfügung standen. Mögliche Auswirkungen auf Ascorbylradikale oder Begleitstoffe wurden im Rahmen der Dissertationen von Karrer (2011) und Strehlow (2014) untersucht.

Das Studiendesign in Form einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie hinsichtlich der Aufnahme von Normal- und Sauerstoffwasser begrenzt Einflüsse von vorneherein. Der Sauerstoffgehalt in den Glasflaschen ist als stabil zu betrachten. Die aufgenommenen Mengen an Sauerstoffwasser (durchschnittlich 6,2 Liter) und Sauerstoff (mindestens 60 bzw. durchschnittlich 90 mg O₂/l) liegen dabei noch deutlich höher als den oben genannten, früheren Versuchen.

Eine eventuelle Alkoholaufnahme in der Vornacht war lediglich über Atemalkoholtests vor den Versuchen zu kontrollieren. Bei den 2 Personen mit Restalkohol wurden aus organisatorischen Gründen die Versuche trotzdem durchgeführt und dann kritisch mit einbezogen. Eventuell individuell nicht exakte Konsummengen der zugeteilten Getränke sind ggf. nicht sicher auszuschließen.

Limitierende Faktoren sind ggf. in der relativ geringen Anzahl von Versuchen bzw. Versuchspersonen zu sehen, wobei organisatorische und nicht zuletzt finanzielle Grenzen gesetzt waren, vor allem durch den Aufwand bei den nahezu zeitgleichen, doppelten Blutentnahmen mit sofortiger Kühlzentrifugation und Eislagerung des Serums. Die gewählten Versuchsbedingungen und Ergebnisse erwiesen sich bei kritischer Beurteilung für eine schlüssige Auswertung geeignet.

Die BAK-Analysen, Kurvenverläufe, Eliminations- bzw. β -60-Werte und Vergleiche sind eindeutig und ohne Einschränkungen verwertbar. Allerdings sind mit der routinemäßigen BAK-Bestimmung niedrige Unterschiede des Ethanolgehalts zwischen den Normalproben und den Eisproben nicht differenzierbar, dies war allenfalls über die SAK-Bestimmung im Rahmen der Begleitstoffanalyse möglich.

Diese SAK-Analysen mittels der Begleitstoffanalyse sind demgegenüber kritisch zu beurteilen. Eine Abgrenzung allenfalls zu erwartender Unterschiede von Blut- bzw. Serumalkoholkonzentrationen im Bereich von mg/l bzw. 0,00 ‰ bei Messwerten im Promillebereich ist von vorneherein schwierig, jedoch methodisch nicht anders feststellbar. Die SAK-Werte liegen eigentlich außerhalb des optimierten Messbereiches von Begleitstoffen, sind im kritischen Vergleich dennoch aussagekräftig, vor allem wenn man nicht nur individuell Einzelwerte und Differenzen heranzieht, sondern summarisch mit großer Fallzahl Quotienten zwischen zwei Werten bildet.

Präanalytische Aspekte erwiesen sich im Hinblick auf die Bestimmung von Acetaldehyd teilweise als problematisch, wie vor allem von Eriksson 1993 u.a. beschrieben, mit einzelnen Ausreißern bzw. erhöhten Werten, wenn die Bedingungen nicht konsequent eingehalten bzw. einzuhalten waren. Dies betrifft weniger die Eisproben bei standardisierter Aufbereitung als die Normalproben. Im Hinblick nicht zuletzt auf die forensische Praxis wurden diese (Normal)Proben nach Entnahme bei Raumtemperatur stengelassen und am Ende des Versuchstags im Kühlschrank gelagert. Die BAK- und insbesondere die aufwendigeren Begleitstoff- bzw. SAK- und Acetaldehydanalysen erfolgten dann innerhalb von einigen Tagen danach. Hauptsächlich erythrozytenggebundene ADH- und auch ALDH-Aktivitäten mit Ethanol und Acetaldehydabbau wie auch eventuelle Freisetzungen membrangebundenen Acetaldehyds sind dann nicht einheitlich zu erwarten. Zur Beurteilung wurden deshalb auch hier verschiedene Ansätze gewählt, wie individuelle Differenzbildungen von Einzelwerten, Darstellungen der Kurvenverläufe und integrierende Auswertungen über alle Werte.

5.1 Alkoholelimination

Die in den Tierversuchen von Hyvärinen et al 1978 festgestellte Beschleunigung des Alkoholstoffwechsels durch sauerstoffangereicherte Getränke konnte bereits im nachfolgenden Humanversuch von Laakso et al 1979 nicht bestätigt werden. Die von Baek et al dann 2010 beschriebene, beschleunigte Ethanolelimination durch Sauerstoffwasser beruht lediglich auf der Feststellung eines früheren Endpunkts einer terminalen Alkoholelimination bzw. auf dem Erreichen von „0 ‰“ nach Aufnahme von Sauerstoffwasser, ohne Auswertung von Kurvenverläufen und der Ermittlung von eindeutigen Eliminationsparametern. Dies entspricht nicht wissenschaftlich anerkannten Kriterien, die Ergebnisse sind nicht überzeugend.

Demgegenüber stützt sich unsere Untersuchung auf die Ermittlung von Ethanoleliminationen aus Abbaukurven und β -60-Werten und somit auf anerkannte Standards in der Ermittlung von Ethanoleliminationen. Unsere Untersuchungen widerlegen eindeutig eine beschleunigte Ethanolelimination durch eine zusätzliche Aufnahme von Sauerstoffwasser, auch unabhängig von Alkoholart und Konzentration der Getränke.

Selbst nach der Literatur zu unterstellende, erhöhte Sauerstoffkonzentrationen in der Pfortader und entsprechende Sauerstoffgehalte in der Leber führen also nicht zu einer abgrenzbaren, erhöhten Oxydation und Ethanolverstoffwechslung, wie in erster Linie über den eigentlich einzigen, biochemischen Mechanismus einer beschleunigten NADH-Reoxydation. Eine eventuelle Stimulation des MEOS durch gebildete Sauerstoffradikale wäre nach den Ergebnissen von Karrer in Erwägung zu ziehen (genereller Anstieg der Ascorbylradikale ähnlich dem BAK-Verlauf, wie bei oxidativem Stress, etwas höher noch bei Sauerstoffwasser), realisierte sich offensichtlich jedoch nicht.

Bei den beiden Personen, die an zwei Versuchen teilgenommen hatten, fiel auf, dass die Tendenz jeweils bei beiden Versuchen gleich war, d.h. entweder war die Alkoholabbaugeschwindigkeit bei beiden Versuchen unter Konsum von sauerstoffangereichertem Wasser größer als die Alkoholabbaugeschwindigkeit mit normalem Wasser (siehe Versuchspersonen III/1=IV/4, III/2=IV/2) oder langsamer (siehe Versuchspersonen III/3=V/6, III/5=IV/3). Auch wenn es sich nur um eine Tendenz handelt, könnte es Personen geben, bei denen sauerstoffangereichertes Wasser beschleunigend auf den Alkoholstoffwechsel wirkt. Speziell bei Personen mit Alkoholmissbrauch, Induktion des MEOS, metabolischer Toleranz mit beschleunigter Ethanolelimination und eventuell höherer Acetaldehydbildung könnten andere Voraussetzungen gegeben sein, was durch weitere Versuche zu klären wäre.

5.2 Serumalkoholkonzentration (SAK) und Acetaldehyd

Endogene Serumethanolspiegel lagen bei 42 Probanden in den Eisproben im Mittel bei $3,38 \pm 9,78$ mg/l, in den Normalproben bei $4,19 \pm 10,3$ mg/l, bei großer Streuung, während Sprung et al 1981 mittels Head-Space-GC bei 170 nüchternen Personen immer unter 0,75 mg/l fanden, mit einer Häufung zwischen 0,1 und 0,2 mg/l. Die Analysenbedingungen sind dabei nicht direkt vergleichbar, letztlich belegt dies, dass endogener Ethanol mit normaler BAK-Analyse nicht abgrenzbar ist und in Bereichen unter 0,00 ‰ liegt.

In den Eisproben aller Versuche waren insgesamt geringfügig höhere SAK-Werte im Bereich von etwa durchschnittlich 27-28,6 mg/l feststellbar, umgerechnet etwa 0,02 g/kg bzw. ‰ BAK bei Massebezug, entsprechend etwa 0,4 mMol/l. Allerdings waren die Streuungen – möglicherweise bedingt durch die oben genannten, präanalytischen Einflüsse – so groß, dass allenfalls eine Tendenz zu einem in-vitro-Abbau von Ethanol abzuleiten ist. Dies weist im Einklang mit Literaturangaben darauf hin, dass zumindest im Serum/Plasma keine wesentliche Enzymaktivität zur Ethanolverstoffwechslung vorhanden ist.

Fischer et al 1982a/b fanden nach Zusatz von Ethanol zu frischem Vollblut einen Abbau von Ethanol und eine Neubildung von Acetaldehyd. Ein solcher erythrozytärer, enzymatischer Ethanolabbau in den Normalproben kann auf Grund der hohen Wasserlöslichkeit des Ethanols nach weiterer Lagerung und diffusiver Durchmischung auch zu niedrigeren Serumspiegeln an Ethanol gegenüber Eisproben führen. Nachdem ethanolabbauende Enzyme im Plasma nach Fischer keine Rolle spielen sollen, wäre ein in-vitro-Abbau von Ethanol erythrozytär gebunden und würde sich sekundär im Serum/Plasma und Gesamtblut auswirken, während Acetaldehyd bei geringerer Wasserlöslichkeit eher erythrozytär bleibt. Insgesamt sind allerdings Rückschlüsse auf eine Ethanolabbaukapazität des gesamten zirkulierenden Blutes allein deshalb problematisch, da hier zusätzlich biochemisch dynamisch Austauschprozesse von Stoffwechselprodukten anzunehmen sind. Ohnehin sind eventuelle Abbaukapazitäten von Blut bei der Ermittlung einer Ethanolelimination enthalten. Ein relevanter in-vitro-Abbau ist eher nicht anzunehmen bzw. spielt dabei keine Rolle.

Bei einem solchen Ethanolabbau in-vitro wären dann äquimolar etwa um 0,4 mMol/l oder etwa 18 mg/l erhöhte Acetaldehydspiegel zu erwarten.

Die endogenen Acetaldehydspiegel im Serum lagen bei 42 Probanden im Durchschnitt bei $0,244 \pm 0,241$ mg/l in den Eisproben und $0,234 \pm 0,164$ mg/l in den Normalproben, ohne Unterschiede in Eis- oder Normalproben und somit unabhängig von eventueller enzymatischer Aktivität. Die Werte sind gut vergleichbar mit Sprung et al 1981, die zwischen 0,6 und 5,1 mg/l mit einer Häufung zwischen 3,0 und 4,0 mg/l fanden.

Die Kurvenverläufe der Acetaldehydserumspiegel sowohl der Eis- wie auch der Normalproben sind unabhängig von der Höhe der BAK und auch der Getränkeart und angenähert linear. Die Acetaldehydspiegel bei den Eisproben liegen über den Alkoholisierungsverlauf im Mittel bei etwa 1,5 mg/l und nicht höher als 2 mg/l, bei den Normalproben im Mittel bei etwa 0,6 mg/l.

Im Gegensatz zum Ethanol sind die Acetaldehydspiegel in den Eisproben eindeutig und signifikant höher als in den Normalproben. Der Mittelwert aller Versuche lag bei den Eisproben signifikant um 0,61 mg/l höher, entsprechend etwa 0,014 mMol/l. Dieser Abfall bzw. Acetaldehydabbau liegt deutlich niedriger, als bei einem äquimolaren Ethanolabbau von möglicherweise 0,4 mMol/l in-vitro zu erwarten wäre. Dabei ist jedoch die grosse Streuung der SAK-Werte zu berücksichtigen, die – im Gegensatz zum Acetaldehyd – ausserhalb des analytischen Optimums gemessen wurden. Die höheren Konzentrationen in den Eisproben sind wohl auf eine präanalytische Enzymhemmung zurückzuführen. Eindeutige, quantitativ relevante Unterschiede zwischen Sauerstoffwasser- und Normalwasserversuchen waren nicht abgrenzbar. Insofern ergab sich auch wie bei der SAK kein Hinweis auf eventuelle Enzymstimulationen durch Radikalbildung.

Fischer et al 1982a/b beschrieben eine Neubildung von Acetaldehyd an den Erythrozyten nach Zusatz von Ethanol zu frischem Vollblut, während im Plasma kein Acetaldehyd nachweisbar war. Auch nach Ethanolzusatz zum Plasma war dort kein Acetaldehyd nachweisbar, allerdings bei einer Nachweisgrenze von lediglich 0,002 ‰ bzw. 2 mg/kg. Erythrozytär ist also von einem Ethanolmetabolismus auszugehen, nicht jedoch im Plasma. Andererseits wird dem Plasma eine deutliche Kapazität zum Umsatz von Acetaldehyd zugeschrieben.

Bei unseren Normalproben kommt es zum zeitlich protrahierten Gerinnen und Absetzen korpuskulärer Anteile mit entsprechend längerem Kontakt. Dies kann konsekutiv zu einer Freisetzung hämoglobingebundenen Acetaldehyds bzw. von Acetaldehyd-Hämoglobinaddukten führen, allerdings relevant erst nach Hämolyse. Dieser Effekt ist aus routinemäßigen Begleitstoffanalysen an gelagerten und hämolysierten Proben bekannt, führt jedoch zu wesentlich höheren Acetaldehydspiegeln im Bereich von zwei Dezimalstellen. Nach Fischer et al (1982a) werde an Erythrozyten gebildeter Acetaldehyd ansonsten auf Grund der niedrigeren Wasserlöslichkeit nicht/kaum an das Plasma abgegeben. Nach Fischer et al (1982a) ist von einer deutlichen Eliminationsfähigkeit des Plasmas/Serums für Acetaldehyd auszugehen. Die anzunehmende Hemmung einer Enzymaktivität bei den Eisproben spricht insgesamt gegen eine Freisetzung hämoglobingebundenen Acetaldehyds und für einen Abbau von Acetaldehyd im Serum, entweder über ALDH oder allgemeine Oxydasereaktion. Die etwas höheren Acetaldehyd-Werte (MW $1,48 \pm 0,591$ mg/l) in den Sauerstoffwasserversuchen gegenüber normalem Mineralwasser (MW $1,31 \pm 0,519$ mg/l) könnten ggf. Ausdruck einer wenn dann geringfügig erhöhten Oxydaseaktivität sein.

Insgesamt ist der Ethanol- und Acetaldehydstoffwechsel im Vollblut oder Plasma/Serum sehr komplex (vgl. Literaturangaben in der Einleitung). Eine genauere Abklärung wäre ggf. durch Isolierung und getrennte Analyse der Erythrozyten möglich gewesen, was jedoch im Rahmen der Studie und bei der primären Fragestellung nicht realisierbar war. Eine Freisetzung grösserer Mengen Acetaldehyd aus der Leber ist auch nach unseren Untersuchungen und im Einklang mit Fischer u.a. nicht anzunehmen, so dass organschädigende Wirkungen eher über lokale Bildung von Acetaldehyd zu diskutieren sind.

Der Quotient SAK/BAK liegt üblicherweise bei 1,2, was beispielsweise bei klinischen Ethanolbestimmungen im Serum mit der ADH-Methode zu berücksichtigen ist. Bei methodisch bedingter Dampfdruckerhöhung durch die Begleitstoffanalyse war unabhängig von Eis- oder Normalproben wie auch von Sauerstoffwasser ein durchschnittlicher Quotient von 1,312 feststellbar, entsprechend dem Verteilungsverhältnis von Ethanol (wie auch Wasser) zwischen Serum und Vollblut. Nachdem routinemässige Begleitstoffanalysen beispielsweise zur Beurteilung von Nachtrunkbehauptungen häufig an gelagerten Blutproben durchgeführt werden, können über diese simultan festgestellte SAK nach Umrechnung im Vergleich mit der ursprünglichen BAK Verdunstungsverluste etc. beurteilt werden.

6. Zusammenfassung

Immer wieder werden Getränke oder Präparate beschrieben, die die Alkoholelimination beschleunigen und eine rasche und deutliche Senkung der Blutalkoholkonzentration sowie eine entsprechende Minderung psychophysischer Leistungsdefizite bewirken sollen. Bisher hielten die Versprechungen einer wissenschaftlichen Überprüfung nicht stand (Übersicht bei Musshoff et al 2006). Limitierender Schritt bei der Ethanoloxydation bzw. -elimination ist die Reoxydation des Coenzym NADH, worauf u.a. der verträglichkeitslimitierte und letztlich relativ geringe Effekt einer Fructosegabe beruht. Möglicherweise könnte dann eine Sauerstoffanreicherung in der Leber eine erhöhte Oxydationskapazität bewirken, nach Hinweisen in Tierversuchen, jedoch ohne Bestätigung im Humanversuch.

Im Hinblick auf seit Jahren beworbene, sauerstoffangereicherte Mineralwasser wurden mit Fördermitteln der MMW systematische Trinkversuche über einen möglichen Einfluss solcher Wasser auf Sauerstoffradikale (vgl. Diss. Karrer 2011), Begleitstoffe (Diss. Strehlow, in Arbeit, 2014) und auch Alkoholabbau (diese Untersuchung) durchgeführt.

In 4 Versuchsreihen tranken jeweils 6 junge, gesunde Probanden im Wochenabstand jeweils am Samstag innerhalb einer Stunde eine auf eine Ziel-BAK von 1-1,2 ‰ berechnete Menge an jeweils Bier, Rotwein, Wodka oder Obstbranntwein (mit unterschiedlichen Alkohol- und Begleitstoffgehalten, insgesamt 24 Versuche). Dazu wurde an einem Versuchstag normales Wasser und am anderen Tag sauerstoffangereichertes Wasser der Firma Adelholzener („Active O₂“) getrunken, mit festgelegter Mindestmenge, in doppelt-blindem, kontrolliertem und gekreuztem Studiendesign. Die tatsächlich getrunkenen Wassermengen lagen bei durchschnittlich 6,2 Liter (4,0 bis zu 9,5 Liter) über mindestens 6 Stunden, entsprechend einer Sauerstoffmenge (im Falle des Sauerstoffwassers) von 360-540 mg O₂. Zur Kontrolle wurde ein Versuch mit 3 Personen durchgeführt, die ausschließlich mit Sauerstoff angereichertes Wasser tranken. Vor Trinkbeginn bis zum mutmaßlich vollständigen Abbau des Alkohols wurden regelmäßig (ca. 12 mal) jeweils zwei Blutproben aus einem peripher venösen Zugang entnommen, von denen jeweils eine sofort kühlzentrifugiert und dann das Plasma tiefgekühlt wurde (zur Bestimmung der Begleitstoffe und von Ascorbylradikalen), die andere wurde routinemäßig bei 4 °C gelagert, bis zur Bestimmung von Ethanol bzw. BAK und Begleitstoffen an den Folgetagen.

Ethanolmetabolismus:

Eine Steigerung des Alkoholabbaus bzw. der stündlichen Ethanolelimination im peripheren Blut (β -60) durch mit Sauerstoff angereichertes Wasser war dabei nicht feststellbar, unabhängig von der Art der Alkoholika. Durchschnittlich betrug die Alkoholabbaurate bzw. der β -60-Wert beim Sauerstoffwasser $0,176 \pm 0,025$ ‰/h im Vergleich zum normalen Wasser mit $0,180 \pm 0,033$ ‰/h, ohne signifikanten Unterschied. Bei 13 Versuchspersonen war die Alkoholabbaurate mit Sauerstoffwasser höher als bei normalem Mineralwasser, bei einer Versuchsperson exakt gleich und bei 10 niedriger. Unterschiede zwischen verschiedenen Alkoholika waren nicht feststellbar. Auch hinsichtlich der AUC und somit der Bioverfügbarkeit ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Entgegen den ohnehin kritikwürdigen und nicht vergleichbaren Untersuchungen von Baek et al (2010) ist somit eindeutig belegt, dass eine orale Zufuhr auch großer Mengen von Sauerstoffwasser nicht zu einer Beschleunigung der Ethanolelimination führt. Allenfalls ist bei den gegenüber durchschnittlichen Abbauwerten von $0,15$ ‰/h höheren Werten zu diskutieren, inwieweit – neben individuellen und situativen Faktoren – die große Flüssigkeitsaufnahme zu einer physikalischen Eliminationssteigerung beiträgt.

SAK (Serumalkoholkonzentration):

Hinsichtlich möglicher in-vitro Veränderungen wurden SAK-Werte und Acetaldehyd in Eis- und Normalproben untersucht und die Absolutwerte (Kurvenverläufe und Summe aller Werte) wie auch Differenzwerte (Eisprobenwerte abzüglich Normalprobenwerte) und die Verhältnisse SAK/BAK sowie SAK/Acetaldehyd ausgewertet.

Endogene Serumethanolspiegel lagen bei 42 Probanden in den Eisproben im Mittel bei $3,38 \pm 9,78$ mg/l, in den Normalproben bei $4,19 \pm 10,3$ mg/l, also realistisch.

Sämtliche Eisproben wiesen dabei etwas höhere SAK-Werte auf als die Normalproben, im Mittel um 27 mg/l höher, bei großer Streuung allenfalls als Hinweis auf einen geringen, wenn dann erythrozytär enzymatisch vermittelten in-vitro-Abbau von Ethanol. Eindeutige Unterschiede zwischen Sauerstoffwasser und Normalwasser waren nicht feststellbar, also auch kein Hinweis auf eine oxydative Wirkung im Blut. Im Hinblick auf praktische Bedeutungen dürfte die Kapazität eines in-vitro-Abbaus dabei auch bei längerer Lagerung limitiert sein.

Unabhängig von Eis- oder Normalproben wie auch von Sauerstoffwasser ergab sich ein durchschnittlicher Quotient SAK/BAK von 1,312.

Acetaldehyd:

Die endogenen Acetaldehydspiegel im Serum lagen bei 42 Probanden im Durchschnitt bei $0,244 \pm 0,241$ mg/l in den Eisproben und $0,234 \pm 0,164$ mg/l in den Normalproben, ohne Unterschiede in Eis- oder Normalproben und somit unabhängig von eventueller enzymatischer Aktivität.

Acetaldehyd ist in Blutproben wegen enzymatischer Vorgänge und Freisetzung normalerweise problematisch zu bestimmen und zu beurteilen. Die gewählten präanalytischen Bedingungen wie Kühlzentrifugation und sofortige Eiskühlung mit anzunehmender Enzymhemmung limitieren derartige Effekte wirkungsvoll.

Die Acetaldehydspiegel über den Trink- bzw. Versuchsverlauf waren annähernd linear und typischerweise praktisch unabhängig von BAK-Höhe bzw. -Verlauf, sie liegen bei den Eisproben über den Alkoholisierungsverlauf im Mittel bei etwa 1,5 mg/l und nicht höher als 2 mg/l, bei den Normalproben im Mittel bei etwa 0,6 mg/l.

Statistisch eindeutig belegbar ist ein in-vitro-Abbau von Acetaldehyd, der Mittelwert aller Versuche lag bei den Eisproben signifikant um 0,61 mg/l höher, entsprechend etwa 0,014 mMol/l, weitgehend unabhängig vom Sauerstoffwasser. Dieser Abbau erfolgt in erster Linie enzymatisch im Serum, Sauerstoffwasser kann ggf. zu einer gering höheren Abbaurate führen.

Eine Freisetzung grösserer Mengen Acetaldehyd aus der Leber ist auch nach unseren Untersuchungen und im Einklang mit Fischer u.a. nicht anzunehmen, so dass organschädigende Wirkungen eher über lokale Bildung von Acetaldehyd zu diskutieren sind.

7. Literaturverzeichnis

- Aderjan R et al Richtlinien zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) für forensische Zwecke. Blutalkohol 2011; 2:137-143
- Albano E, Clot P. Free radicals and ethanol toxicity. In: Alcohol and the gastrointestinal tract. Ed by Preedy VR and Watson RR. 1996; CRC Press, Boca Raton
- Albano E. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. Proc of the Nutrition Soc 2006; 65:278-290
- Arnaud MJ. Does oxygenated water support aerobic performance and lactate kinetics? Letter to the editor. Int J Sports Med 2006; 27(9): 759 (vgl. Leibetseder et al 2006; 27(3):232-5
- Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peter JR. Elektron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. J Appl Physiol 1999; 87(6): 2032-2036
- Baek In-hwan, Lee Byung-yo, Kwon Kwang-il. Influence of dissolved oxygen concentration on the pharmacokinetics of alcohol in humans. Alc Clin Exp Res; 2010; 34(5): 834-839. (vgl. letters to the editor: Does oxygenated alcohol reduce hangover? Lachenmeier DW, Rehm J, Alc Clin Exp Res; 2010; 34: 1671, sowie Antwort der Autoren: Oxygenated alcohol – sober faster! publ. online 1. Juli 2010, 34/10, 1-2,)
- Bagenholm R, Nilsson UA, Kjellmer I. Formation of free radicals in hypoxic ischemic brain damage in the neonatal rat, assessed by an endogenous spin trap and lipid peroxidation. Brain Res 1997; 773: 132-138
- Bonte W. Begleitstoffe alkoholischer Getränke. Schmidt-Römhild, Lübeck, 1987
- Bradford BU, Rusyn I. Swift increase in alcohol metabolism (SIAM): understanding the phenomenon of hypermetabolism in liver. Alcohol 2005; 35:13-17
- Brown GA, Neylan D, Reynolds WJ, Smalldon KW. The stability of ethanol in stored blood. Part I. Important variables and interpretation of results. Anal Chim Acta 1973; 66:271-283 (vgl. II bei Smalldon)
- Buettner GR, Jurkiewicz BA. Ascorbyl free radical as a marker of oxidative stress. Free Radical Biol. Med 1993; 14: 49-55
- Cederbaum AI. Microsomal generation of hydroxyl radicals: Its role in microsomal ethanol oxidizing system (MEOS) activity and requirement for iron. Ann N Y Sci 1987; 492:35-49

- Cederbaum AI. Oxygen radical generation by microsomes: Role of iron and implications for alcohol metabolism and toxicity. *Free Radic Biol Med* 1989; 7:559-567
- Chen HM, Lin WW, Ferguson KH, Scott BK, Peterson CM. Studies of the oxidation of ethanol to acetaldehyde by oxyhemoglobin using fluorogenic high-performance liquid chromatography. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18:1202-1206
- Christmore DS, Kelly RC, Doshier LA. Improved recovery and stability of ethanol in automated headspace analysis. *J Forensic Sci* 1984; 29: 1038-1044
- Chrostek L, Szmitkowski M, Wierzchowski J. Activity of class I and II dehydrogenase in the sera of alcoholics. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32:881-884
- Crownover BP, La Dine J, Bradford B, Glassman E, Forman D, Schneider H, Thurman RG. Activation of ethanol metabolism in humans by fructose: importance of experimental design. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 236(3):574-579
- Dettling A, Fischer F, Böhler S, et al Ethanol elimination rates in men and women in consideration of the calculated liver weight. *Alcohol* 2007; 41: 415-420
- Dettling A, Skopp G, Graw M, Haffner HT. The influence of sex hormones on the elimination kinetics of ethanol. *For Sci Int* 2008; 177:85-89
- Dettling A, Witte S, Skopp G, Graw M, Haffner HT. A regression model applied to gender-specific ethanol elimination rates from blood and breath measurements in non-alcoholics. *Int J Legal Med* 2009; 123:381-385
- Di Padova C, Alderman J, Lieber CS. Improved methods for the measurement of acetaldehyde concentrations in plasma and red blood cells. *Alcohol Clin Exp Res* 1986, 10:86
- Dubowski KM, Gadsden RH, Poklis A. The stability of ethanol in human whole blood controls: An interlaboratory evaluation. *J Anal Toxicol* 1997; 21:486-491
- Eckey R, Agarwal DP, Cohn P, Püschel K, Goedde HW. Neue Aspekte des Acetaldehydmetabolismus in menschlichen Geweben und Erythrozyten. *Beitr Gerichtl Med* 1990; 47:397-402
- Erickson CK. Lowering of blood ethanol by activated carbon products in rats and dogs. *Alcohol* 1991; 10:103-107
- Eriksson CJP. Problems and pitfalls in acetaldehyde determinations. *Alc Clin Exp Res* 1980; 4:22

- Eriksson CJP. Human blood acetaldehyde concentration during ethanol oxidation (Update 1982). *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 18: Suppl.1:141-150
- Eriksson CJP, Fukunaga T. Human blood acetaldehyde (Update 1992). *Alcohol Alcohol* 1993; Suppl. 2:9-25 (review, 145 refs.)
- Ferrari LA, Triszcz JM, Giannuzzi L. Kinetics of ethanol degradation in forensic blood samples. *For Sci Int* 2006; 161:144-150
- Fischer G, Kampmann H. Untersuchung des Acetaldehydstoffwechsels im Blut – Zum Problem der Kausalität alkoholbedingter Organschäden. *Blutalkohol* 1982a; 19:53-74
- Fischer G, Kampmann H. Verteilung exogenen Acetaldehyds im menschlichen Blut und deren Beeinflußung durch Disulfiram. *Blutalkohol* 1982b; 19:447-458
- Forth W, Adam O. Uptake of oxygen from the intestine - experiments with rabbits. *Eur J Med Res* 2001; 6(11):488-492
- Fukunaga T, Sillanaukee P, Eriksson CJP. Problems involved in the determination of endogenous acetaldehyde in human blood. *Alcohol Alcohol* 1993; 28:535-541
- Gilg T. Alkohol (Ethanol): Pharmakologie, BAK-Berechnung und forensische Begutachtung. In: Soyka M, Die Alkoholkrankheit – Diagnose und Therapie 1995; 18–104. Chapman & Hall, Weinheim
- Gilg T. Alkoholbedingte Fahruntüchtigkeit. Beurteilung und Begutachtung in der forensischen Praxis, Teil 1. *Rechtsmedizin* 2005a; 15: 39–48
- Gilg T, Alkoholbedingte Fahruntüchtigkeit. Beurteilung und Begutachtung in der forensischen Praxis, Teil 2. *Rechtsmedizin* 2005b; 15: 97–112
- Gößling S. Hochdosierte Gabe von Vitamin C bei Lebertransplantationen: Einfluss auf den Ischämie-/Reperfusionsschaden. Inaugural Dissertation Universitätsmedizin Berlin 2007;
- Gruber R, Axmann S, Schoenberg MH. The influence of oxygenated water on the immune status, liver enzymes, and the generation of oxygen radicals: a prospective, randomised, blinded clinical study. *Clinical Nutrition* 2005; 24: 407-414
- Grüner O. Adrenalin und Blutalkoholkurve im Rahmen unfallbedingter „Stress“-wirkung. *Deutsche Zeitschrift Gerichtliche Medizin* 1958; 48:4-16
- Grüner O, Ludwig O, Pieschl D. Über den Einfluss von Sauerstoffatmung auf die Blutalkoholkurve und alkoholbedingte Leistungsminderung. *Blutalkohol* 1967; 4(2):57-65

- Haffner HT et al Die Äthanol-Eliminationsgeschwindigkeit bei Alkoholikern unter besonderer Berücksichtigung der Maximalwertvariante der forensischen BAK-Rückrechnung. *Blutalkohol* 1991; 28:46-54
- Haffner HT et al Statistische Annäherung an forensische Rückrechnungswerte für Alkoholiker. *Blutalkohol* 1992; 29:53-61
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed, Clarendon Press, Oxford, 1989; 228-230
- Helander A. Aldehyde dehydrogenase in blood. Distribution characteristics and possible use as marker of alcohol abuse. *Alcohol Alcohol* 1993; 28:135-145
- Herbrich J, Prokop O. Untersuchungen über den Einfluss von Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme auf Blutalkoholspiegel. *Wien Klin Wschr* 1963; 14:421-427
- Hernandez-Munoz R, Ma XL, Baraona E, Lieber CS. Method of acetaldehyde measurement with minimal artifactual formation in red blood cells and plasma of actively drinking subjects with alcoholism. *J Lab Clin Med* 1992; 120(1):35-41
- Hyvärinen J, Laakso M, Sippel H, Roine R, Huopaniemi T, Leinonen L, Hytönen V. Alcohol detoxification accelerated by oxygenated drinking water. *Life Sciences* 1978; 22(7):553-560
- Inoue K, Fukunaga M, Kiriyama T, Komura S. Accumulation of acetaldehydes in alcohol-sensitive Japanese: reaction to ethanol and acetaldehyde oxidizing capacity. *Alc Clin Exp Res* 1984; 8:319-323
- Jamroz A, Beltowski J. Antioxidant capacity of selected wines. *Med Sci Monit* 2001; 7:1198-1202
- Jones AW. Disappearance rate of ethanol from the blood of human subjects. *J For Sci* 1993; 38:104-118
- Jones AW. Ultra-rapid rate of ethanol elimination from blood in drunken drivers with extremely high blood-alcohol concentrations. *Int J Legal Med* 2008; 122:129-134
- Jones AW. Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. *For Sci Int* 2010; 200:1-20
- Jones AW. Pharmacokinetics of ethanol – issues of forensic importance. Central Police University Press 2011; 23(2):92-136
- Kalant H. Effects of food and body composition on blood alcohol levels, in: *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology Vol. 1*, Academic Press 2005; 87-99

- Karrer M. Ascorbylradikale und oxidativer Stress unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser. Dissertation LMU-München, Me. Fak., 2011
- Kleiber M, Seifert H, Welk I. Ein neues "Promille-senkendes" Getränk auf dem Markt? *Blutalkohol* 1985; 22:432-438
- Koop DR. Alcohol metabolism's damaging effect on the cell. A focus on reactive oxygen generation by the enzyme cytochrome P 450 2E1. *Alcohol Research & Health* 2006; 29/4; 274-280
- Krasner N, Dow J, Moore R, A. Ascorbic saturation and ethanol metabolism. *Lancet* 1974; 693-695
- Kristofferson L, Stormyhr LE, Smith-Kielland A. Headspace gas chromatographic determination of ethanol: The use of factorial design to study effects of blood storage and headspace conditions on ethanol stability and acetaldehyde formation in whole blood and plasma. *Forensic Sci Int* 2006; 161:151-157
- Laakso M, Huopaniemi T, Hyvärinen J, Lindros K, Roine R, Sippel H, Ylikahri R. Inefficacy of oxygenated drinking water in accelerating ethanol elimination in humans. *Life Sciences* 1979; 25(16):1369-1372
- Leibetseder V, Strauss-Blasche G, Marktl W, Ekmekcioglu C. Does oxygenated water support aerobic performance and lactate kinetics? *Int J Sports Med* 2006; 27:232-235 (vgl. letter to the editor von Arnaud)
- Lieber CS. Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS): the first 30 years (1968-1998). *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23:991-1007
- Lieber CS. Alcohol metabolism: General aspects, in: *Comprehensive Handbook of Alcohol Related Pathology* Vol. 1, Academic Press 2005; 15-26
- Lindros KO. Human blood acetaldehyde levels: With improved methods, a clearer picture emerges. *Alcoholism Clin Exp Res* 1983; 7:70-75
- Lüben V, Post D, Grüner O. Gaschromatographische Untersuchungen zum Vorkommen des Acetaldehyd in Blutproben. *Blutalkohol* 1972; 9:465-472
- Lundquist F, Wolthers H. The influence of fructose on the kinetics of alcohol elimination in man. *Acta Pharmacol Toxicol.* 1958; 14:290-294
- Majchrowicz E, Mendelson JH. Blood concentrations of acetaldehyde and ethanol in chronic alcoholics. *Science* 1970; 168:1100-1102
- Majchrowicz E. Metabolic correlates of ethanol, acetaldehyde, acetate and methanol in humans. *Adv Exp Med Biol* 1975; 56:111-140

- Maring JA, von Wartburg JP. The effect of oxygenated water on alcohol metabolism in man. *Experientia* 1980; 36:711
- Masumizu T, Noda Y, Mori A, Packer L. Electron spin resonance assay of ascorbyl radical generation in mouse hippocampal slices during and after kainate-induced seizures. *Brain Research Protocols* 2005; 16:65-69
- Mattern R, Bösche J, Birk K, Härdle W. Experimentelle Untersuchungen zum Verlauf der Alkoholkurve in der späten Eliminationsphase. *Fortschritte der Rechtsmedizin: Festschrift für Georg Schmidt* 1983; 238-243
- Meier-Tackmann D, Agarwal DP, Harada S, Goedde HW, Geldmacher-v. Mallinckrodt M, Machbert G. Untersuchungen zum Polymorphismus der Alkoholdehydrogenase und Aldehyddehydrogenase in menschlichen Autopsieproben, Blut und Haarwurzeln. *Beitr Gerichtl Med* 1981; 39:287-293
- Molina PE, Gardner JD, Souza-Smith FM, Whitaker A.M. Alcohol abuse: Critical pathophysiological processes and contribution to disease burden (Review). *Physiology* 2014; 29:203-215
- Moore DR, Reinke LA, McCay PB. Metabolism of ethanol to 1-hydroxyethyl radicals in vivo: Detection with intravenous administration of α -(4-pyridyl-1-oxide)-N-t-butyl nitron. *Molecular Pharmacol* 1995; 47:1224-1230
- Mußhoff F, Preuss J, Thierauf A, Madea B. Der Promille-Killer „Break Down“. *Blutalkohol* 2006; 44:78-86
- Olson JA. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin A in humans. *Am J Clin Nutr.* 1987; 45:704-716
- Pagliari L, Pagliaro AM. Alcohol metabolism. *Can Med Assoc J* 1992; 146(12):2141
- Penetar DM, McNeil JF, Ryan ET, Lukas SE. Comparison among plasma, serum and whole blood ethanol concentrations: Impact of storage conditions and collection tubes. *J Anal Toxicol* 2008; 32:505-510 (vgl. Letter to the editor: Wigmore JG. Blood ethanol concentrations are less stable than serum or plasma upon storage because of oxyhemoglobin-mediated oxidation of ethanol to acetaldehyde. 2009; 33:182)
- Piantadosi CA. "Oxygenated" water and athletic performance. *Br J Sports Med* 2006; 40:740
- Pietri S, Culcasi M, Stella L, Cozzone PJ. Ascorbyl free radical as a reliable indicator of free radical-mediated myocardial ischemic and post-ischemic injury. *Eur. J. Biochem.* 1990; 193: 845-854
- Pietri S, Seguin J R, d'Arbigny P D, Culcasi M. Ascorbyl free radical: a non-invasive marker of oxidative stress in human open-heart surgery. *Free Radical Biol Med* 1994; 16: 523-528

- Pletscher A, Bernstein A, Staub H. Beschleunigung des Alkoholabbaus durch Fructose beim Menschen. *Experientia* 1952; 8:307-308
- Reinke LA, Moore DR. Free radical formation in livers of rats treated acutely and chronically with alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21:642-646
- Roginsky VA, Stegmann HB. Ascorbyl radical as natural indicator of oxidative stress: quantitative regularities. *Free Radical Biology and Medicine* 1994; 17:93-103
- Satoh K, Sakagami H. Ascorbyl radical scavenging activity of polyphenols. *Anticancer Research* 1996; 16:1885-1890
- Schmidt V, Spannemüller U, Oehmichen M. Kommerz und Kinetik: Zur (Un-)Wirksamkeit sogenannter „Promille-killer“. In: *Jahrbuch Verkehrsrecht 2000* Werner, Düsseldorf, 339-360
- Schoenberg MH, Hierl TC, Zhao J, Wohlgemuth N, Nilsson UA. The generation of oxygen radicals after drinking oxygenated water. *Eur J Med Res* 2002; 7: 109-116
- Scholz R, Nohl H. Mechanism of the stimulatory effect of fructose on ethanol oxidation in perfused rat liver. *Eur J Biochem* 1976; 63(2):449-458
- Schulz et al Richtlinien der GTFCH zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen. Begleitstoffuntersuchungen mit Dampfraum-Gaschromatographie im biologischen Material. *Toxichem Krimtech* 2010; 35/78: 16-22
- Seitz HK, Lieber CS, Simanowski UA. *Handbuch Alkohol, Alkoholismus, Alkoholbedingte Organschäden*. J. Barth-Verlag 2000; Leipzig/Heidelberg
- Sippel HW. Non-enzymatic ethanol oxidation in biological extracts. *Acta Chemica Scandinavica* 1973; 27(2): 541-550
- Skopp G, Schmitt G, Pötsch L. Plasma to blood ratios of congener analytes. *J Analyt Toxicol* 2005; 29:145-147
- Smalldon KW, Brown GA. The stability of ethanol in stored blood. Part II. The mechanism of ethanol oxidation. *Anal Chim Acta* 1973; 66:285-290
- Sprung R, Bonte W, Rüdell E, Domke M, Frauenrath C. Zum Problem des endogenen Alkohols. *Blutalkohol* 18, 1981; 65-70
- Stiftung Warentest: Sauerstoffangereicherte Wässer. *Luftnummern*. Heft 5, 2003

- Stiftung Warentest: Natürliche Mineralwässer mit Kohlensäure. Heft 8, 2011; 22-29
- Stiftung Warentest: Natürliche Mineralwässer. Heft 8, 2014; 20-27
- Stowell AR, Greenway RM, Batt RD. Acetaldehyde formation during deproteinization of human blood samples containing ethanol. *Biochem Med*, 1977; 18:392-401
- Stowell AR, Greenway RM, Batt RD. Stability of acetaldehyde in human blood samples. *Biological Medicine* 1978; 20(2):167-179
- Stowell AR. Measurement of acetaldehyde and ethanol in blood, breath, and other biological material for experimental purposes. In: *Human metabolism of alcohol*, Vol. 2, Crow KE and Batt RD, editors, CRC Press, Boca Raton, 1989; 163-176
- Stowell KM, Crow KE. The effect of acute ethanol treatment on rates of oxygen uptake, ethanol oxidation and gluconeogenesis in isolated rat hepatocytes. *Biochem J*. 1985; 262:595-602
- Strehlow N. Stoffwechsel von alkoholischen Begleitstoffen unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser. Diss. Ludwig-Maximilians-Universität München, in Arbeit, 2014
- Thieden HID, Lundquist F. The influence of the fructose effect on the ethanol metabolism. *J Clin Inv* 1965; 44:817-830
- Thurman RG, Cheren I, Forman D, Ewing JA, Glassman E. Swift increase in alcohol metabolism in humans. *Alc Clin Exp Res* 1989; 13:572-576
- Tiscione NB, Alford I, Yeatman DT, Shan X. Ethanol analysis by Headspace Gaschromatography with simultaneous flame-ionization and mass spectrometry detection. *J Anal Toxicol* 2011; 35:501-511
- Widmark EMP. Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwertbarkeit der gerichtsmedizinischen Alkoholbestimmung. Urban und Schwarzenberg 1932; Berlin
- Wigmore JG. Blood ethanol concentrations are less stable than serum or plasma upon storage because of oxyhemoglobin-mediated oxidation of ethanol to acetaldehyde. *J Anal Toxicol* 2009; 33:182-183
- Winek CL, Carfagna M. Comparison of plasma, serum and whole blood ethanol concentrations. *J Anal Toxicol* 1987; 11:267-268
- Wing-Gaia SL, Subudhi AW, Askew EW. Effects of purified oxygenated water on exercise performance during acute hypoxic exposure. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005; 15/6: 680-688

Yuki T, Thurman RG. The Swift Increase in Alcohol Metabolism. *Biochem. J* 1980; 186:119-126

Zimatkin SM, Deitrich RA. Ethanol metabolism in the brain. *Addiction Biology* 1997; 2:387-399

8. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADH	Alkoholdehydrogenase
ALDH	Aldehyddehydrogenase
AUC	Area under the curve
BAK	Blutalkoholkonzentration
BE	Blutentnahme
β -60-Wert	Alkoholabbau pro Stunde
c	Blutalkoholkonzentration
c_0	theoretisch errechneter BAK-Wert bzw. aus dem Kurvenverlauf über Retropolation zurückgerechneter BAK-Wert
$c_{0Widmark}$	nach Widmark errechneter maximaler Wert
c_{max}	maximale erreichte BAK
C_2H_5OH	Ethanol
CO_2	Kohlensäure
d.h.	das heißt
et al	und andere
FID	Flammen-Ionisations-Detektor
GC	Gaschromatographie
γ -GT	γ -Glutamyltransferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
H_2O	Wasser
H_2O_2	Wasserstoffperoxid
Kg	Körpergewicht in kg
MEOS	mikrosomales ethanoxidierendes System
MW	Mittelwert

NAD	Nicotinamiddinucleotid
NADH	reduziertes NAD
n.s.	nicht signifikant
O ₂	Sauerstoff
r	Reduktionsfaktor
s.	siehe
s.u.	siehe unten
SAK	Serumalkoholkonzentration
SD	Standardabweichung Einzelwerte
SIAM	swift increase of alcohol metabolism, kurzfristige Steigerung der Alkoholabbaurate
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
Tab.	Tabelle
TA	Trinkanfang Alkohol
TE	Trinkende Alkohol
u.a.	und andere
vgl.	vergleiche
VP	Versuchsperson
ZNS	zentrales Nervensystem

9. Danksagung und Lebenslauf

Mein ausdrücklicher Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer, Herrn Prof. Thomas Gilg, für die Überlassung des Themas, die tatkräftige und geduldige Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Versuche und der Erstellung dieser Arbeit. Ohne seine Hilfe, Aufmunterungen und Geduld wäre diese Studie nie durchgeführt und diese Dissertation wahrscheinlich nie beendet worden.

Außerdem möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Michael Schoenberg für die initiale Idee zu dieser Studie bedanken sowie bei Frau Schönberg für die Kontaktvermittlung zur Firma Adelholzner und die Beschaffung und Verblindung des sauerstoffangereicherten und normalen Wassers, welches in Unmengen benötigt wurde.

Der Firma Adelholzner danke ich für die kostenfreie Bereitstellung des Wassers.

Vielen Dank an die MMW (Münchner Medizinische Wochenschrift) für die Bereitstellung des Forschungsgeldes.

Meinem Mit-Doktoranden Michael Karrer möchte ich danken für die anästhesiologische Betreuung der Versuchspersonen und Planung und Durchführung der Versuche.

Außerdem möchte ich mich bei den Probanden bedanken für ihr geduldiges Ertragen der Probenentnahmen, die Zuverlässigkeit, die fast alle auszeichnete, und die unterhaltsamen Samstage, die wir zusammen verbringen durften.

Großer Dank gilt auch meinen Eltern, die mich mein ganzes Leben lang unterstützt haben und das auch noch hoffentlich lange tun werden, die mich immer wieder an die Pflicht erinnern haben und mich immer wieder ermunterten, die Arbeit zu Ende zu bringen. Ebenso möchte ich meiner Schwiegermutter danken, die mir mehrfach den Rücken freigehalten hat, damit ich trotz dreier Kinder an der Dissertation weiterarbeiten konnte.

Vielen Dank auch an Konstanze Edlmann, die mich durch Lektorenarbeit und Ermutigungen über Jahre hinweg unterstützt hat.

Last but not least möchte ich mich bei meinem Mann bedanken für die Geduld, den Druck, die Aufmunterungen und die kinderfreien Tage und bei meinen Kindern, die mehrfach geduldig gewartet haben, bis die Mama wenigstens einen Abschnitt beendet hatte.

Ohne diese Menschen, hätte ich diese Dissertation, die mich über viele Jahre begleitet hat, wahrscheinlich nie beendet, dafür allen nochmals ein herzliches Dankeschön!

Eidesstattliche Versicherung

Campos Arnoldi, Julia

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Ethanol- und Acetaldehydstoffwechsel
unter oraler, bolusartiger Alkoholbelastung beim Menschen
mit und ohne sauerstoffangereichertem Wasser

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand