

死体および保存臓器におけるアルコール産生と その機序に関する研究

岡山大学医学部法医学教室（主任：何川 涼教授）

長 島 洋

（昭和61年5月28日受稿）

Key words : post-mortem ethanol
mechanism of ethanol formation
ethanol and organ storage
死体アルコール

緒 言

自殺、事故死、他殺などの変死体の鑑定を行う法医学において、事件の様相や動機を知る上に、アルコール検査が欠かせないものであることは言うまでもない。死体アルコールの研究は他領域の研究者に関心が薄いこともあり、アルコール法医学の中心課題とも言える問題である。

死体アルコールの研究は古くから多数の法医学者により各方面から行われてきたが、¹⁾ 本格的な展開を見るに至ったのは、gas chromatography (GC) による ethanol 定量^{2), 3), 4)} が可能になった約20年来のことである。それまで ethanol の定量法は dichromate⁵⁾ を用いた非特異的定量法であったため、生体血などではそれほど問題はなかったが、揮発性還元性物質を死後変化により産生しうる死体の試料では、定量法そのものに問題があったためである。

ところで GC による特異的 ethanol 定量が可能になった現在においても問題がないわけではなく、ただ単に心臓血の ethanol 濃度を測定するというような単純なことでは済まされない、生体とは違った多くの問題がある。^{6), 7), 8)} その最も重要なものは死体における ethanol 産生であるが、そのほかにも胃内 ethanol の死後拡散、死因や死亡時の状況による影響、試料の相違による濃度差などなどがある。従って、正確な測定値をうるだけでは目的は達せられず、測定値

の正しい解釈が必要となる。

死体において化学的死後変化の部分現象として、ethanol を含む諸種のアルコール類が産生しうることは、既にかなり古くから知られてきた。^{9), 10), 11), 12)} 死体の条件によっては必ずしも微量ではなく、時には非飲酒者を酩酊者の死亡と誤まる危険性があることも最近では明らかになった。

本論文は、法医学の実務の立場から、各種条件下の死体における ethanol 産生、保存試料の ethanol 産生、生前の飲酒と死後産生 ethanol の鑑別、ethanol 死後産生のメカニズムなどを明らかにする目的で各種の実験を行った。

実験材料および実験方法

1) 実験材料にはウサギ、ラット、マウス、法医解剖死体の諸臓器、人や動物の血液などを用いた。動物は空気塞栓や溺死で死亡させた。臓器は実験に応じ homogenate あるいは細切り、血液と同様に各種条件下で保存した。

2) ethanol その他の定量

試料約0.5 g を vial にとり、正確に重量を測定したのち、内部標準として0.03 % の t-butanol 0.5 ml を正確に加え、二重ゴム栓で密封後、55°C の温浴中に15分放置し、気相をGCに注入した。なお n-propanol を常に ethanol と共に測定し、単位はいずれも % (mg/g) とした。

3) GC の分析条件

装置：島津 GC-4CMPF, カラム：25% PEG

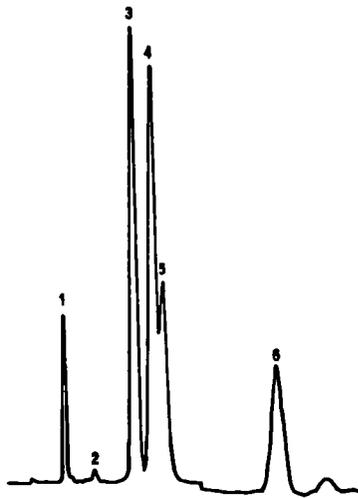


図1 ウサギ肝, 30°Cに3日保存
1: Acetaldehyde, 2: Acetone, 3: t-Butanol (internal standard), 4: iso-Propanol, 5: Ethanol, 6: n-Propanol.

1,000, Shimalite 60~80 mesh, 0.3 cm i.d. × 2 m, ガラスカラム, カラム温度: 90°C, 注入口温度: 110°C, 検出器: FID, carrier gas: N₂, 50 ml/min.

4) ethanol 産生に対する影響をみるため, 保存試料に 10% glucose 液, 人の腐敗肝, こうじ, 酵母などを適当量添加した.

5) ethanol 産生の機序を検討する目的で, 試料 pH の影響, 抗生物質, ADH, NADH, acetaldehyde, pyruvic acid, disulfiram の代謝物などの添加による影響を検討した. この実験には死後約 1 日の剖検死体からえた人肝と血液を混じて homogenate にしたものを試料とし, 37°C のふらん器中に放置した.

6) 法医解剖例の中から 6 例を選び, 実験成績をもとに ethanol 濃度を考察した.

結 果

1. ウサギ死体における ethanol 産生

空気塞栓により死亡させたウサギ 3 匹を, 30°C の水浴中に放置し, 1 日, 2 日, 3 日後に解剖して臓器および体液を採取し, 死後産生物である ethanol, n-propanol を測定した. その結果を表 1 に示す. また 3 日後の肝の chromatogram

表 1 ウサギ死体における産生

死後	試料	ethanol(%)	n-propanol(%)
1 日	脳	0.06	0
	胸腔液	0.07	0.018
	心臓血	0.08	0.025
	肺	0.04	0.012
	腹腔液	0.02	0.004
	肝	0	0
	腎	0	0
2 日	脳	0.09	0.011
	胸腔液	0.36	0.033
	心臓血	0.41	0.049
	肺	0.32	0.015
	腹腔液	0.33	0.031
	肝	0.21	0.051
	腎		0.036
3 日	脳	0.38	0.047
	胸腔液	0.65	0.053
	心臓血	0.71	0.062
	肺	0.72	0.071
	腹腔液	0.54	0.049
	肝	0.55	0.067
	腎	0.52	0.054
大 腿 筋	尿	0.29	0.038
	大 腿 筋	0.23	0.023

gram を図 1 に示す.

1 日で既に心臓血, 胸腔液, 脳, 肺などに 0.1% 以下の ethanol 産生があり, 2 日では全試料に 0.1~0.4% 程度, 3 日では 0.3~0.7% 程度の産生があった. 他の産生物では n-propanol が比較的 ethanol と並行して産生され, ただ 1 日では両者とも微量で不定であった.

2. ethanol 投与ウサギ死体における ethanol 産生

15% ethanol 水溶液 10 ml/kg を投与したウサギ 2 匹につき, 1 時間後に耳静脈から採決し, ついで空気塞栓で死亡させ, 30°C の水浴中に放置, 2 日および 3 日後に解剖して各試料を採取した. 1 時間後の血中 ethanol 濃度は 2 日後のもの 0.73%, 3 日後のもの 0.68% であった. 2 日後, 3 日後ともに生前に比し明らかな ethanol

表2 ethanol 投与ウサギ死体における産生

死後	試料	ethanol(‰)	n-propanol(‰)
2日	脳	0.94	0.043
	胸腔液	1.10	0.036
	心臓血	0.98	0.029
	肺	0.87	0.030
	腹腔液	0.85	0.030
	肝	0.87	0.045
	腎	0.84	0.028
	尿	0.51	0.025
3日	大腿筋	1.05	0.022
	脳	0.98	0.048
	胸腔液	1.21	0.042
	心臓血	1.12	0.037
	肺	1.24	0.040
	腹腔液	1.35	0.039
	肝	1.33	0.050
	腎	1.34	0.047
尿(なし)			
	大腿筋	1.22	0.042

死亡前血中 ethanol 濃度

2日のもの 0.73 ‰

3日のもの 0.68 ‰

表3 ラット死体における産生

死後		心	肝	腎	脳	血液
1日	ethanol(‰)	0	0	0	0	0
	n-propanol(‰)	0	0	0	0	0
3日	ethanol	0	0	0	0	0
	n-propanol	0	0	0	0	0
5日	ethanol	0.14	0.06	0.02	0.09	0.14
	n-propanol	0.01	0	0	0.01	0.01
7日	ethanol	0.38	0.19	0.16	0.43	0.30
	n-propanol	0.07	0.05	0.04	0.05	0.04
9日	ethanol	0.59	0.33	0.31	0.59	0.54
	n-propanol	0.07	0.07	0.03	0.06	0.10

濃度の上昇があり、ethano 産生がみられたが、産生の程度は ethanol の非投与時に比し、殆ど差異はなかった。n-propanol の値は ethanol の非投与時と同様な値を示した。

3. ラット死体における ethanol 産生

ラット5匹を溺死させ、室温(10~16°C)に

表4 マウス死体における産生

死後	試料	ethanol(‰)	n-propanol(‰)
1日	筋肉	0.12	0.014
	腹腔液	0.17	0.018
2日	筋肉	0.36	0.022
	腹腔液	0.31	0.021
3日	筋肉	0.42	0.028
	腹腔液	0.36	0.027
4日	筋肉	0.68	0.038
	腹腔液	0.55	0.037
5日	筋肉	0.68	0.044
	腹腔液	0.73	0.046

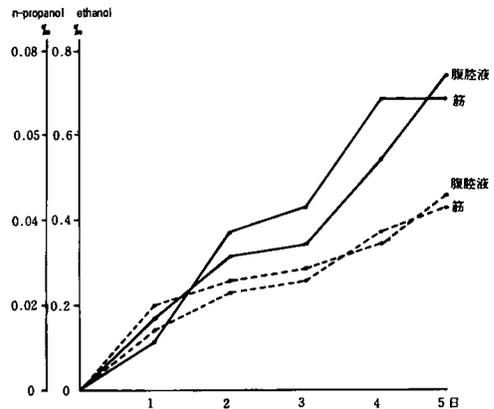


図2 マウス死体における ethanol および n-propanol 産生
— ethanol n-propanol

放置し、経日的に1匹ずつ解剖して、心、肝、腎、脳、血液を採取し、ethanol および n-propanol を測定した。結果を表3に示す。死後3日まで両者とも産生はなく、5日で約0.1‰、7日で0.2~0.4‰、9日で0.3~0.6‰のethanol 産生があり、n-propanol は ethanol の1/5 ~ 1/10 程度の産生がみられた。

4. マウス死体における ethanol 産生

マウス15匹を同時に溺死させ、ウジの発生を防止するため、3匹ずつビニール袋に入れ、室温(19~28°C)に放置した。経日的に3匹ずつ解剖して、腹腔液および大腿筋を試料としてとり、3匹の平均を数値として、表4および図2

表5 保存臓器 (人) における ethanol 産生

保存日数		心	肝	腎	肺	脾
0	ethanol (‰)	0.03	0.07	0.07	0.04	0.19
	n-propanol (‰)	0	0	0	0	0
1日	ethanol	0.14	0.19	0.15	0.16	0.48
	n-propanol	0	0	0	0	0
2日	ethanol	0.25	0.97	0.25	0.18	0.43
	n-propanol	0.024	0.031	0.006	0.002	0.021
3日	ethanol	0.48	1.02	0.18	0.15	0.53
	n-propanol	0.023	0.014	0.012	0.002	0.011
4日	ethanol	0.76	1.23	0.12	0.52	0.24
	n-propanol	0.036	0.016	0	0.02	0.014

表6 飲酒死体の保存臓器における ethanol 産生

保存日数		心	肝	腎	脳	肺	脾	血液
3日	glucose	2.00 (0)	1.10 (0)	1.96 (0)	1.77 (0)	1.85 (0)	2.04 (0)	1.88 (0)
	対 照	1.35 (0.02)	1.10 (0)	1.48 (0.02)	1.18 (0.01)	1.14 (0.02)	1.43 (0.02)	1.71 (0)
6日	glucose	2.03 (0)	2.11 (0)	2.03 (0)	1.77 (0)	2.51 (0)	2.08 (0)	2.05 (0)
	対 照	1.45 (0.02)	1.17 (0.02)	1.85 (0.06)	1.62 (0.06)	1.32 (0.05)	2.20 (0.05)	1.85 (0.01)
8日	glucose	1.97 (0)	2.15 (0)	2.19 (0)	1.76 (0)	2.62 (0.01)	1.91 (0)	2.00 (0)
	対 照	1.50 (0.02)	1.27 (0.01)	1.90 (0.07)	2.15 (0.11)	1.48 (0.05)	2.24 (0.05)	1.76 (0.02)
10日	glucose	3.49 (0)	1.94 (0)	3.57 (0)	1.84 (0)	2.78 (0.01)	1.68 (0)	2.08 (0)
	対 照	1.29 (0.03)	1.29 (0.01)	2.17 (0.07)	2.23 (0.15)	1.51 (0.06)	2.68 (0.06)	1.63 (0.04)
14日	glucose	2.35 (0)	2.08 (0)	2.28 (0)	1.85 (0)	3.02 (0)	1.48 (0.01)	2.88 (0)
	対 照	1.38 (0.04)	1.15 (0.01)	1.56 (0.05)	2.48 (0.20)	1.64 (0.06)	2.97 (0.06)	1.70 (0.08)

単位は ‰, () n-propanol

に示した。

ethanol および n-propanol 共に両試料間で産生にあまり差がなく, 1日で既に ethanol は約0.15 ‰, 2日で約0.3 ‰, 3日で約0.4 ‰, 4日で約0.6 ‰, 5日で約0.7 ‰を示し, n-propanol は ethanol の 1/10~1/15 産生がみ

られた。平均値のためか両者ともかなり直線的な上昇を示した。

5. 保存臓器における ethanol 産生

解剖時に採取した人の心, 肝, 腎, 肺, 脾を-20℃の冷凍庫に約2週間保存しておいたものを解凍し, 各10gに水10mlを加えて homo-

表7 保存臓器（人）に glucose 添加の影響

保存日数		心	肝	腎	脳	肺	脾	血液
3 日	glucose	0.61 (0)	1.37 (0)	2.02 (0)	0.59 (0)	1.22 (0)	0.66 (0)	0.11 (0)
	対 照	0.41 (0)	1.44 (0)	0.45 (0.02)	0.22 (0.02)	0.36 (0.02)	0.28 (0)	0 (0)
5 日	glucose	0.86 (0)	2.15 (0)	2.03 (0)	1.71 (0)	1.86 (0)	2.05 (0)	0.16 (0)
	対 照	0.57 (0.02)	2.54 (0)	0.63 (0.06)	0.41 (0.02)	0.57 (0.03)	0.74 (0.03)	0.03 (0)
8 日	glucose	1.90 (0.01)	2.63 (0)	1.86 (0.01)	2.17 (0.01)	2.16 (0.01)	2.17 (0.01)	0.22 (0)
	対 照	0.65 (0.04)	1.73 (0)	0.90 (0.08)	0.83 (0.05)	1.03 (0.06)	1.19 (0.04)	0 (0)
10 日	glucose	3.25 (0.02)	2.43 (0)	3.74 (0.01)	2.37 (0.01)	2.23 (0.01)	2.38 (0.01)	0.57 (0)
	対 照	0.67 (0.04)	1.17 (0.02)	0.85 (0.09)	0.89 (0.06)	1.07 (0.07)	1.41 (0.04)	0 (0)
14 日	glucose	3.63 (0.01)	11.80 (0)	3.51 (0.01)	2.71 (0.01)	1.96 (0.01)	2.02 (0.01)	4.96 (0)
	対 照	0.69 (0.04)	5.89 (0.02)	0.86 (0.08)	1.08 (0.06)	0.85 (0.07)	1.59 (0.05)	0 (0)
16 日	glucose	3.35 (0.02)	13.85 (0)	3.37 (0.01)	2.60 (0.01)	1.84 (0.01)	2.49 (0)	5.44 (0)
	対 照	0.65 (0.04)	7.67 (0.04)	0.92 (0.08)	1.25 (0.09)	2.04 (0.06)	1.56 (0.04)	0 (0)

単位は‰, () n-propanol

genate とし, 50 ml フラスコに入れ, 栓をせず
に室温 (12~23°C) に放置した。

実験開始時および以後経日的に一部をとって
試料とした。その成績を表5に示す。実験開始
時既に微量の ethanol が検出されたが, 1日では
明らかに産生増加があり, その後経日的に増加
の傾向があったが, 増加の仕方はやや不整で,
n-propanol の産生は特に不整で, 死体の場合
に比し少ない傾向があった。

6. 飲酒死体の保存臓器における ethanol 産生

死後18時間の死体で, 解剖時の心臓左心室血
に1.65‰の ethanol が検出され, n-propanol
は検出されなかった死体から各種試料を採取し,
直ちに実験を開始した。各試料とも20g ずつ2
個のフラスコにとり, 細切して, 一方に10%
glucose 液5ml, 他方に対照として水5mlを

加え, 栓をせず室温 (10~17°C) に放置した。
ethanol などの測定は上清を用いた。

その結果を表6に示す。3日後で既にやや
ethanol 濃度の上昇があり, 日数の経過と共に
同様な値かやや上昇したが, glucose を加えた
方は対照に比し ethanol 産生が著明で, 中には
3.0‰を越えるものがあった。試料によってか
なり差異があったが, 本質的なものではなく,
実験条件によるものと考えられた。n-propanol
と ethanol 濃度の比も不定であった。

7. 保存臓器に glucose 添加の影響

人死体の臓器および血液を試料として, 上記
と同様2個のフラスコに20g ずつをとり, 一
方に10% glucose 5ml, 他方に水5mlを入れ,
栓をせず室温 (9~18°C) に放置し, 上清を試
料とし, ethanol と n-propanol を測定した。
その結果を表7に示す。また放置16日の腎の

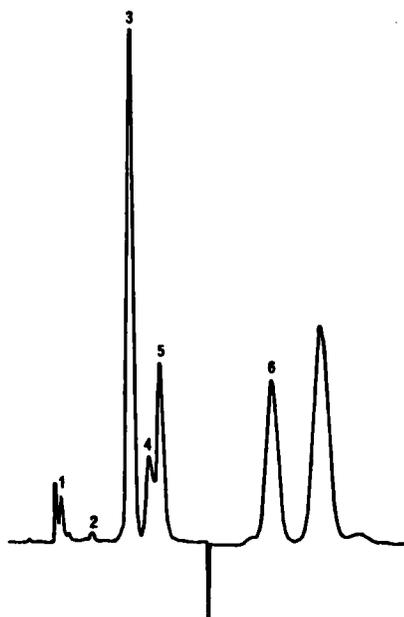


図3 人腎ホモジネート, 室温 (9 ~ 18°C) に3日保存

1: Acetaldehyde, 2: Acetone, 3: t-Butanol (internal standard), 4: iso-Propanol, 5: Ethanol, 6: n-Propanol.

chromatogram を図3に示す.

試料により ethanol 産生の濃度はかなりまちまちであり, 表5および表6と比較してみても臓器による差異は不一致であるが, しいて言えば肝, 腎, 肺などは数値が高いように思える. ただ glucose 添加のものは対照に比し著明な ethanol 産生があり, 14日, 16日の肝では10%以上の高値を示した. また glucose 添加の方は著明な ethanol 産生にかかわらず n-propanol 産生は少量であった.

8. 人の新鮮血を保存した場合

生体から採血した血液5mlずつをべつの試験管に入れ, 一方に10% glucose 1ml, 他方に生理食塩水1mlを加え, 綿栓して25°Cの水浴中に放置し, 経日的に一部をとり, 測定した.

ethanol および n-propanol は4日まで全く産生されず, 5日では glucose 加のみ ethanol 0.05%, 6日では glucose 加は0.14%, 対照0.01%検出された. n-propanol はいずれも0であった. 始めの血糖値は測定しなかった.

表8 血液に glucose および腐敗組織添加の影響

放置日数	試料	ethanol (‰)	n-propanol (‰)
1 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.14	0.014
	4	0.75	0.017
2 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.13	0.021
	4	1.29	0.022
3 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.13	0.027
	4	0.96	0.023
4 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.08	0.022
	4	0.95	0.033
5 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.04	0.014
	4	0.60	0.027
6 日	1	0	0
	2	0	0
	3	0.08	0.006
	4	0.48	0.016

次に血糖値150 mg/dl の新鮮血と glucose を加えて400 mg/dl に調製した血液を試料とし, 20°Cおよび37°Cに放置した. 容器は密栓した.

その結果, 20°Cでは glucose 加のみ1日0.26%, 2日0.33%, 3日0.31%, 4日0.26%, 5日0.20%を示し, n-propanol は産生しなかった. なお容器に試料をいっぱいに入れ, 空気の入らないようにキャップした比較的嫌気的条件下では, 37°C5日でも ethanol 産生はなかった.

9. ウサギの新鮮血に glucose および腐敗組織を加えた場合

血液5mlずつを4本の試験管に入れ, 次の4条件で, 栓をせず室温(15~23°C)に放置した.

- 1) 血液のみ
- 2) 血液, glucose 50 mg
- 3) 血液, 腐敗肝 0.5 g

表9 血液に腐敗菌, こうじ, 酵母添加の影響

実験条件	0	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
1	0 (0)	0 (0)	0.05 (0)	0.09 (0)	0.05 (0)	0.09 (trace)	0.10 (trace)	0.06 (trace)
2	0 (0)	0 (0)	0.29 (0.03)	0.40 (0.03)	0.38 (0.05)	0.39 (0.06)	0.39 (0.05)	0.35 (0.04)
3	0 (0)	0.27 (0)	0.62 (0)	0.63 (0)	0.57 (0)	0.63 (0)	0.73 (0)	0.68 (0)
4	4.45 (0)	6.45 (trace)	9.18 (0)	12.54 (0.01)	12.62 (0.01)	18.89 (0.02)	24.56 (0.04)	25.01 (0.04)

単位は‰, () n-propanol

表10 ラット死体における胃内 ethanol 産生

死後	Case No.	心臓血	胸腔液	腹腔液	胃内容
1日	1	0.25 (0.06)	0.24 (0.07)	0.60 (0.14)	1.17 (0.02)
	2	0.32 (0.06)	0.35 (0.04)	0.56 (0.11)	1.47 (0.02)
	3	0.21 (0.06)	0.28 (0.16)	0.14 (0.01)	0.69 (0)
	4	0.18 (0.10)	0.31 (0.21)	0.22 (0.03)	0.86 (0.01)
	5	0.14 (0.08)	0.15 (0.04)	0.20 (0.04)	0.59 (0.01)
2日	6	0.29 (0.03)	0.45 (0.05)	0.50 (0.09)	0.50 (0.06)
	7	0.38 (0.03)	0.46 (0.06)	0.52 (0.08)	0.91 (0.03)
	8	0.59 (0.06)	0.76 (0.08)	0.70 (0.08)	0.82 (0.07)
	9	0.27 (0.03)	0.44 (0.05)	0.53 (0.07)	0.45 (0.03)

単位は‰, () n-propanol

4) 血液, glucose 50 mg, 腐敗肝 0.5 g
結果は表8の如くで, 1) 2) では6日後まで全く ethanol 産生はなく, 3) 4) では1日で既に ethanol および n-propanol の産生があり, 6日まで産生がみられた. 4) は3) に比し著明に高い ethanol 値であった. 全体として必

ずしも直線的な上昇ではなく, 2~4日に高く, 以後漸減した.

10. 腐敗菌, こうじ, 酵母の影響

比較的新しい人死体血を用いた4条件で, 室温 (20~27°C) に放置した.

1) 血液 20 ml

表11 抗生物質添加の影響

試 料 条 件		1	2	3	4	5 (日)
① Control	ethanol (‰)	1.32	2.05	2.12	2.56	2.34
	n-propanol (‰)	0.001	0.002	0.005	0.007	0.008
② Cephalexin を1回	ethanol	0.07	4.09	6.94	9.03	8.28
	n-propanol	0	0.002	0.002	0.006	0.008
③ Cephalexin を毎日	ethanol	0.02	0.04	0.05	0.08	0.05
	n-propanol	0	0	0	0	0

表12 ADH, NADH, acetaldehyde 添加の影響

試 料 条 件		1	2	3	4	5 (日)
① Control	ethanol (‰)	1.35	2.12	2.02	2.14	2.12
	n-propanol (‰)	0.008	0.011	0.009	0.011	0.011
② ADH, NADH を毎日	ethanol	1.58	3.03	2.88	2.43	2.48
	n-propanol	0.008	0.008	0.006	0.006	0.007
③ ADH, NADH Acetaldehyde を1回	ethanol	0.09	0.56	3.28	4.64	4.08
	n-propanol	0	0	0	0	0
④ Acetaldehyde を1回	ethanol	0.21	1.97	4.23	5.19	4.40
	n-propanol	0	0	0	0	0

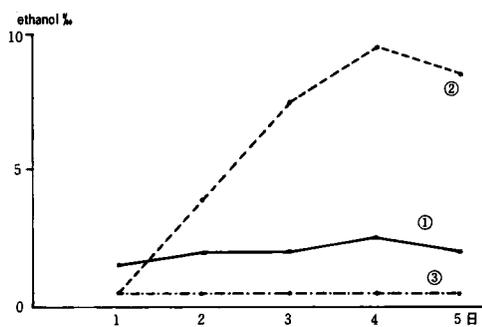


図4 抗生物質添加の影響

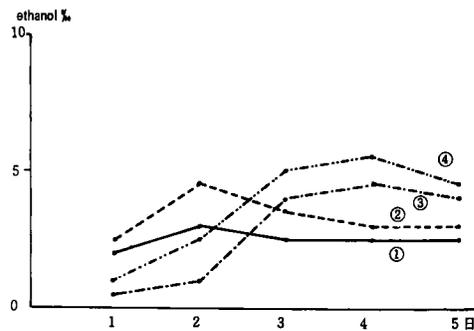


図5 ADH, NADH, acetaldehyde 添加の影響

表13 pyruvic acid, acetic acid 添加の影響

試 料 条 件		1	2	3	4	5 (日)
① Control	ethanol (‰)	1.12	1.85	2.14	2.47	2.32
	n-propanol (‰)	0.008	0.013	0.009	0.012	0.011
② Pyruvic acid	ethanol	0.09	4.23	5.72	5.88	5.48
	n-propanol	0	0.006	0.006	0.008	0.011
③ Acetic acid	ethanol	0.04	1.66	1.55	1.68	1.94
	n-propanol	0	0	0	0	0.001

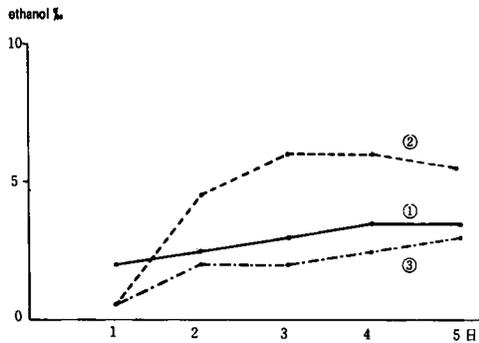


図6 pyruvate, acetate 添加の影響

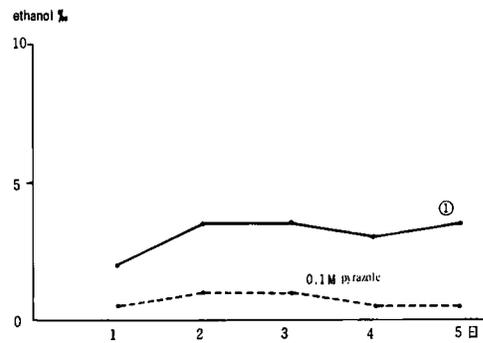


図7 酵素阻害物質の影響

表14 酵素阻害物質の影響

試料条件		1	2	3	4	5 (日)
① Control	ethanol (‰)	1.32	2.65	2.65	2.36	2.73
	n-propanol (‰)	0.006	0.012	0.013	0.012	0.013
② Pyrazole (1 M)	ethanol	0	0	0	0	0
	n-propanol	0	0	0	0	0
② Pyrazole (0.1 M)	ethanol	0.01	0.28	0.35	0.29	0.30
	n-propanol	0	0	0	0	0
③ Cyanamide (1 M)	ethanol	0	0	0	0	0
	n-propanol	0	0	0	0	0
④ Sod. diethyl-dithiocarbamate (1 M)	ethanol	0	0	0	0	0
	n-propanol	0	0	0	0	0

- 2) 血液 20 ml, 腐敗肝 35 g
- 3) 血液 20 ml, 酵母 (こうじ種) 1 g
- 4) 血液 20 ml, こうじ 15 g

結果を表9に示す。こうじを加えた4)は始めから4.45‰を示し、3日で12.54‰、7日で25.01‰と著明な ethanol 産生があった。人血のみでは7日まで0.1‰以下であるのに対し、腐敗肝を加えると2日で産生があり、7日まで0.4‰以下、酵母を加えたものは1日で0.27‰、3日で0.63‰、7日で0.68‰であった。4)を除き1)2)3)では ethanol 産生は2~3日で最高濃度に達し、以後同様な値を7日まで持続した。また腐敗肝では ethanol と共に n-propanol の産生があるのに対し、こうじや酵母では n-propanol の産生はないかごく微量であった。

11. ラット死体における胃内 ethanol 産生

ラットの胃内に酵母の水溶液を投与したのち窒息死させ、室温 (25~30℃) に1日および2日間放置し、胃内容、腹腔液、胸腔液、心臓血を採取した。1日と2日の group は別々に実験を行った。結果を表10に示す。

胃内容を比較すると、必ずしも2日の方が1日より高いわけではないが、ともに著明な ethanol 産生があった。ethanol と n-propanol を比較すると、ethanol 産生に比し n-propanol 産生は微量であった。

他の試料をみると、腹腔液、胸腔液、心臓血ともに1日で既に ethanol がかなり検出され、1日より2日の方が高い。しかし胃内容より低値であった。n-propanol の産生は胃内容より多かった。

12. ethanol 産生のメカニズムに関する実験

1) 抗生物質添加の影響

cephalexin 125 mg を始めに1回添加したものの、毎日同量添加したものの、と対照の結果を表11と図4に示す。

対照では1日で既に1.32%の ethanol 産生があり、直線的に増量することなく、なだらかに経過して5日で2.34%を示した。cephalexin 1回添加のものは1日では殆ど ethanol 産生はなく、2日から急に上昇して5日では8.28%に達した。毎日添加のものは5日まで殆ど産生はみられなかった。

2) ADH, NADH, acetaldehyde 添加の影響

ADH 1 mg, NADH 1 mg を毎日添加したものの、ADH および NADH を各1 mg, acetaldehyde 0.12 ml を始めに添加したものの、acetaldehyde 0.12 ml を始めに添加したものの、および対照の成績を表12と図5に示す。

ADH と NADH を毎日添加したものは、対照に比し全経過を通じて僅かに高い ethanol 濃度であった。さらに acetaldehyde を加えて始めに1回だけ添加した場合は、1日および2日では対照より低く、以後急速に ethanol 産生があり、5日では対照の約2倍を示した。acetaldehyde を1回添加したものはそれと同様な経過を示した。

3) pyruvic acid, acetic acid 添加の影響

pyruvic acid 0.24 ml を添加したものの、acetic acid 0.16 ml を添加したものの、と対照の成績を表13と図6に示す。

対照は1日で既に ethanol 産生があるのに対し、pyruvic acid, acetic acid を添加したものでは産生は殆どない。2日以後では acetic acid 添加の方は対照よりやや低い値で経過するのに対し、pyruvic acid の方は ethanol 産生が著明で、5日では5.48%の高値を示した。

4) 酵素阻害物質の影響

ADH の阻害物質の pyrazole (1M 及び 0.1 M), ALDH の阻害物質の cyanamide (1M および 0.1M), disulfiram の体内代謝産物の diethyl-dithiocarbamate (1M および 0.1 M) を添加して ethanol 産生に対する影響をみた。各物質とも試料中の最終濃度が 1 M 及び 0.1 M

になるようにした。結果を表14と図7に示す。

pyrazole 1 M では全く ethanol 産生はなく、0.1 M ではごく微量産生がみられた。cyanamide, sod. diethyl-dithiocarbamate の 1M, 0.1 M ともに全く ethanol 産生はみられなかった。

5) pH の影響

pH 9.0, 7.3, 4.4 のりん酸緩衝液 20 ml を試料に加え、対照には水を同量加えて比較した。その結果を表15と図8に示す。

1日では弱アルカリ側で ethanol 産生が強いにみえるが、それ以後では全体として pH 4.0 ~ 8.0 の範囲ではそれほど差異がないように思われる。

13. 人体剖検例の ethanol 濃度

法医解剖例の中から6例をあげる。()内は n-propanol である。単位はいずれも %。

第1例 48歳 男 交通外傷死 死後8時間 (2月)

左心室血 1.92 (0) 右心室血 2.10 (0)
股静脈血 2.12 (0) 尿 3.41 (0) 髄液 2.11 (0) 胃内容 2.65 (0)

第2例 36歳 女 出血死 死後7時間 (11月)

左心室血 1.85 (0) 右心室血 1.91 (0)
股静脈血 2.00 (0) 大動脈血 2.33 (0) 心のう液 2.26 頭皮下出血 2.19 (0) 尿 2.67 (0) 髄液 2.37 (0) 胃内容 7.96 (0)

第3例 31歳 男 水死 死後7日 (5月)
左心室血 0.24 (0.120) 右心室血 0.40 (0.094) 心のう液 0.43 (0.167) 左胸腔液 0.45 (0.142) 右胸腔液 0.36 (0.015) 尿 0.02 (0.003) 胃内容 0.60 (0.051)

第4例 57歳 女 急性心臓死 死後12日 (9月)

左胸腔液 0.49 (0.062) 腹腔液 0.46 (0.087)
心のう液 0.71 (0.105) 筋肉 0.29 (0.025)

第5例 65歳 男 外傷性ショック死 死後2日半 (8月)

左心室血 2.17 (0.022) 右心室血 2.18 (0.018) 股静脈血 2.24 (0.021) 心のう液 2.53 (0.017) 腹腔液 2.38 (0.020) 尿 2.89 (0.003) 髄液 2.86 (0.011) 筋肉 1.81 (0.012) 脳 1.70 (0.011)

表15 pHの影響

試料条件		1	2	3	4	5 (日)
① Control	ethanol (‰)	0.93	2.89	2.86	3.06	2.74
	n-propanol (‰)	0.002	0.012	0.009	0.011	0.012
	pH	6~7	4~5	4~5	5	5
② pH 9.0 Buffer	ethanol	2.41	2.48	2.76	2.43	2.27
	n-propanol	0.007	0.10	0.011	0.013	0.014
	pH	8	8	8	8	8
③ pH 7.3 Buffer	ethanol	1.56	1.67	1.87	1.98	1.84
	n-propanol	0.005	0.005	0.003	0.005	0.004
	pH	6~7	7	7	7	7
④ pH 4.4 Buffer	ethanol	0.73	1.87	1.89	1.90	1.80
	n-propanol	0.002	0.003	0.004	0.005	0.003
	pH	5	4	4	4~5	4~5

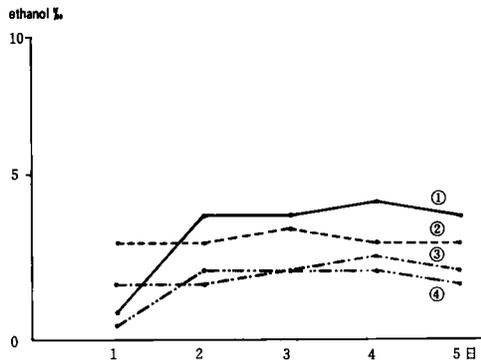


図8 pHの影響

第6例 39歳 男 水死 死後2日(5月)
 左心室血 0.59 (0.005) 右心室血 0.73 (0.014)
 心のう液 1.26 (0.026) 股静脈血 0.63 (痕跡)
 髄液 0.54 (痕跡) 胆汁 0.90 (0.003)
 尿 0.71 (0.006)

以上のうち第1, 第2例は生前の飲酒のみと判断されるもの, 第3, 第4例は非飲酒者で ethanol の死後産生のみと判断されるもの, 第5, 第6例は生前の飲酒に ethanol の死後産生が加わったと判断されたものである。

考 察

動物死体を各種条件下に放置して ethanol 産生の状況をしらべた研究は既にいくつか報告がある^{9), 13), 14)} 死体で ethanol 産生があることは

現在疑う余地のない事実であるが, 産生の程度, 諸臓器における差異, 死体の条件との関係, ethanol 産生のメカニズム, 人体例の成績を解読するにあたっての問題点など, さらに解明すべき点は多く残されている。^{15), 16), 17), 18)}

本研究はこれらの問題を取りあげ, 最終的には人体例の法医鑑定に役立てるため, 実験を行ったものである。

まずウサギ死体を 30°C に放置したところ, 血液その他の体液, 諸臓器に ethanol のほか acetaldehyde, acetone, iso-propanol, n-propanol などの物質が検出された。いうまでもなく死体現象の化学としては, 蛋白質その他の分解など, 広範な死後変化が起きるのであるが, ここにあげたのは GC による ethanol 検査に際して, 同一クロマトグラム上に出現する物質の主なものである。死体の条件によってはもっと別の物質も検出され, また量的にも差異がある。^{11), 12), 13)}

本実験では, ethanol については1日では 0.1% 以下の微量であり, 2日では 0.1~0.4%, 3日では 0.3~0.7% が検出された。試料別では, 胸部試料の方が腹部試料よりやや高値を示す傾向があり, 尿や大腿筋など ethanol 産生が弱いように思われた。尿については教室で既に報告がある。^{17), 19)} ethanol 以外では産生がかなりまちまちであり, n-propanol が比較的 ethanol

と並行して産生するようである。n-propanol からみて20倍以上の ethanol 濃度はない。

Mebs ら¹³⁾はウサギ, 猫, 犬の死体を25°Cに放置し, 14日で0.86%の血中 ethanol を認め, 同様にラットを放置して2日で1.2%の血中 ethanol を認めている。

次に死亡前に ethanol を投与した場合の ethanol 産生に対する影響をみた。死亡前の血中濃度からみて, 明らかに ethanol の死後産生があり, 死後2日よりも死後3日の方が高値であったが, ethanol 投与の影響はないように思われた。Bogusz ら²⁰⁾も血液を用いた in vitro の実験で同様なことを報告している。n-propanol は死後産生のみであるから, ethanol 濃度に比し著しく低値であった。

ラットを溺死させて10~16°Cの室温に放置したところ, 死後3日まで ethanol 産生はなく, 5日で約0.1%, 以後9日まで次第に増量した。また n-propanol は ethanol の1/5~1/10程度の産生であった。

マウスを同様に溺死させ19~28°Cの室温に放置したところ, 1日後に既に筋肉および腹腔液に0.15%程度の ethanol 産生があり, 以後日数と共に増加した。この成績はそれぞれ3匹ずつの平均で示したので, 比較的そろった値となった。n-propanol は ethanol の1/10~1/15の濃度であった。

以上の如く, ウサギ, ラット, マウスのいずれも死後において明らかに ethanol 産生があり, 最も重要な条件は環境温度と考えられる。この点について何川ら^{8), 17)}は既に20°C, 24時間が一応の目安になり, 温度が高いほど, 死後経時間の長いほど ethanol 産生を考慮する必要があると述べている。

人死体の鑑定を考える場合, 当然種属差もあるが, 参考になりうると思われる。n-propanol は飲酒者の血中には検出されず, 死体でこれが検出されれば, ethanol の死後産生があると考えて差支えない。両者の量的関係はまちまちではあるが, 以上の実験では n-propanol 濃度の20倍以上の ethanol 濃度を示すものはなかった。ただ ethanol が0.1%以下のごとく両者ともあまりに微量な場合は比較するのは無理であ

る。Mebs ら¹³⁾は25°Cに放置したラットの死体で, 血中に ethanol の10分の1以下の n-propanol を認めたと報告している。

法医鑑定において, 剖検時に採取し保存された臓器が問題になることがある。冷凍庫に保存しておいた人臓器を解凍して homogenate としたものを, 12~23°Cの室温に放置して試料とした。経日的に ethanol 産生が増加する傾向はあったが, 全体にかなり不整で臓器差も強く, n-propanol の産生も少なかった。臓器10gに水10mlを加えて homogenate としたこと, 臓器により腐敗度が異なったこと, その他の実験条件が関係した可能性がある。

糖尿病患者の死亡例で, 血液や尿に ethanol が産生され易いことを Eckes ら²¹⁾ Meyer ら²²⁾, Joachim ら²³⁾が報告している。試料に glucose 添加の影響をみるため, 飲酒者の死体臓器を用い, 細切して, 一方に10% glucose, 他方に水を加えて, 室温10~17°Cに放置して, ethanol 産生の状況を検討してみた。

経日的に ethanol 濃度の上昇があり, glucose を加えた方は対照の水を加えたものに比し, ethanol 産生が著明で, 中には3%を越えるものがあった。臓器による ethanol 濃度の差異は, 本質的なものとは考えられず, 実験条件によると思われる。n-propanol は不定で, 特に glucose 添加の方は強い ethanol 産生に拘らず, n-propanol は殆ど検出されなかった。

非飲酒者の死体臓器に, glucose を加えたものと水を加えたものを8~18°Cの室温に放置してみた。

表5および表6と比較してみても, 臓器による差異は不定であるが, glucose 添加のものは対照より ethanol 産生が著明であり, 16日の肝では13.85%にも達した。glucose 添加の方はやはり n-propanol の産生は少量であった。

一般に保存試料としては血液が最も普通であり, これについては既にいろいろと報告がみられる。^{11), 20), 23)}

人の新鮮血を一方に glucose, 他方に生理食塩水を加えて, 25°Cの水浴中に保存してみた。その結果4日まで ethanol は全く産生されず, glucose 加のみ5日, 6日で微量に産生があっ

た。

次に血糖値 150 mg/dl の人の新鮮血と glucose を加えて 400 mg/dl に調製した血液を 20°C と 37°C に放置してみた。20°C では 5 日までいずれも ethanol 産生はなく、37°C では glucose 添加の方のみ 1 日から 5 日にわたって 0.2 ~ 0.3% の ethanol がみられた。n-propanol は産生しなかった。

以上のことから、通常の人々の新鮮血を保存した場合、25°C、37°C の高温においても ethanol 産生は 5 日後でも殆どなく、高血糖のものでも保存 5 日位まで微量な ethanol 産生に止まることわかった。その理由は恐らく細菌増殖が少ないことによると考えられる。

ウサギの新鮮血を用い、glucose を加えたもの、腐敗組織を加えたもの、glucose と腐敗組織を加えたもの、などを検討してみた。その成績は表 8 にみられるように、glucose 添加だけでは 6 日後まで ethanol は産生せず、それより腐敗組織添加の方が有効であり、glucose と腐敗組織を添加すると 1 日で既に 0.75% という高値を示した。ただ 2 ~ 4 日がピークで、以後はやや減少した。n-propanol の産生は腐敗組織添加時は死体放置の場合と同様であったが、腐敗組織と glucose 添加の場合は、ethanol 産生量に比し少量であった。

以上臓器保存の *in vitro* の実験では、死体放置の *in vivo* の実験に比し、ethanol 産生がまちまちであり、また ethanol 産生には腐敗菌の関与が何よりも重要であり、glucose を試料に添加すると ethanol 産生が著しく増強することが明らかになった。人体の場合でも血糖値の高い死体ではこのことを考慮する必要があると考えられる。Sjϕlin²⁴⁾ は人死体から分離した *Candida albicans* と *Saccharomyces* が ethanol 産生能をもつこと、Dawes ら²⁵⁾ は *Escherichia coli* による ethanol 産生を報告している。n-propanol の産生も保存臓器の場合は、死体放置の場合のような ethanol に対する比率がみられず低値のことが多く、特に glucose 添加で ethanol 産生が著明に増強した場合、そういう傾向が強かった。

死体の胃内においては、食物中に含まれる酵

母の影響で、血液や他の臓器とは異なる ethanol 産生があることがかなり以前から知られている。^{24), 26), 27)} そこで死体血を試料として、腐敗菌、酵母、こうじをそれぞれ添加してみた。温度は 20 ~ 27°C の室温に放置した。

ethanol 産生は各群間で著明な差があり、表 9 に示す如く、こうじ添加では始めから 4.45% の ethanol が検出され、7 日後には 25.01% の高値に達した。酵母添加では 2 日以降 7 日まで 0.6 ~ 0.7%、腐敗菌添加では 0.3 ~ 0.4%、血液のみでは 7 日まで 0.1% 以下であった。n-propanol は腐敗菌では ethanol の 1/4 ~ 1/10 程度の産生があるのに対し、酵母やこうじでは産生がないか極めて微量であった。

前もって胃内に酵母の水溶液を投与したのち死亡させたラットの死体を、25 ~ 30°C の室温に放置し、胃内容、腹腔液、胸腔液、心臓血について ethanol 産生をしらべてみた。1 日群、2 日群ともに胃内には当然のことながら ethanol 産生があったが、それより低い値で腹腔液、胸腔液さらに心臓血にも ethanol が検出された。胃内容は酵母で、他の体液は腐敗菌が主体で ethanol 産生があったと考えられ、ethanol と n-propanol の比からもそのように思われるが、腹腔液については胃内 ethanol の拡散もいくらか考慮すべきかも知れない。

次に死体における ethanol 産生のメカニズムを検討するため、ethanol の産生し易い 37°C の条件下で、人肝と血液を混じて homogenate にした試料を用い、各種の実験を行ってみた。

まず最も関係が深い腐敗菌の増殖を抑止するため、抗生物質 cephalixin を添加してみた。対照では 1 日後既に 1.32%、5 日後では 2.34% ethanol 産生があったのに対し、cephalexin を毎日添加すると、全くといってよいほど ethanol 産生がなかった。始めに 1 回だけ添加すると、1 日では ethanol 産生はなく、2 日以後急激に増量して、対照よりもはるかに高い値を示した。その理由は明らかでないが、急激な細菌増殖あるいは ADH (alcohol dehydrogenase)、ALDH (aldehyde dehydrogenase) の活性化があるのであろうか。試料の pH は、対照は始め 5 ~ 6、5 日で 7 ~ 8 であった。

次に生体において ethanol 代謝に関与し、死体などでは逆に ethanol 産生に関与すると推測される ADH, NADH および acetaldehyde を添加してみた。

まず ADH と NADH を毎日添加したところ、全経過を通じ対照より僅かに高い程度で、さほど効果的とは考えられなかった。ADH, NADH および acetaldehyde を始めに1回添加すると、1日では対照より低く、その後かなり急速に増量して、5日では対照の2倍以上となった。2～3日後には chromatogram 上に acetaldehyde が微量であったことから、始めは高濃度の acetaldehyde のため細菌増殖が抑制されるが、その後徐々に増殖して、適当量の acetaldehyde の存在下で急速に ethanol 産生が起きた可能性が考えられる。acetaldehyde のみを添加した場合もそれと同様な経過を示した。

pyruvic acid, acetic acid を添加したところ、両者とも1日では ethanol 産生が抑制され、acetic acid ではその後対照と同様の値を示したが、pyruvic acid では2日以後急上昇して、5日では対照の2倍以上を示した。pyruvic acid は acetyl COA を経て ALDH を介して ethanol 産生につながる事が示唆される。acetic acid に関しては、初期の ethanol 産生抑制は細菌増殖の抑制が考えられるが、以後対照と同様な経過を示すのは、その存在が ethanol 産生にさほど有効ではないことが考えられる。

次に ADH 及び ALDH の阻害物質を添加してみた。対照では全経過を通じて1.32～2.73%の ethanol 産生があったのに対し、pyrazole IM, cyanamide IM および 0.1 M, sod. diethyl-dithiocarbamate IM および 0.1 M 添加では、全く ethanol, n-propanol 共に産生が抑制され、pyrazole 0.1 M 添加のみ ADH 阻害が軽度なためか、0.3%以下の軽度な ethanol 産生がみられた。

ethanol 産生に関与する細菌の増殖には、試料の pH が関係する可能性があるので、pH 4.4～9.0 の phosphate buffer を添加して、ethanol 産生の強弱を検討してみた。その結果、1日後では弱アルカリ側で僅かに産生が強いようであるが、pH 4.0～8.0 の範囲ではそれ程差異

はみられなかった。

以上 ethanol 産生のメカニズムを検討するため種々の実験を行ったが、次のように結論されるであろう。ethanol 産生には細菌の増殖が大きく関与する。試料の pH は 4.0～8.0 の範囲ではそれ程大きな差異はない。ADH および ALDH の阻害物質により ethanol 産生は完全に抑制される。従って細菌のもつ ADH および NADH が ethanol 産生の主役である。ADH および NADH を添加してもあまり効果的ではなく、細菌由来のものが効果的である。acetaldehyde, pyruvic acid の添加は、1日後では ethanol 産生の抑制があるとは言え、2日以後著明な産生増強がある。従ってこれらが ethanol の precursor となることは間違いない。glucose についても同様である。

以上のことから、死体や保存臓器における ethanol 産生は、増殖する腐敗細菌のもつ ADH, ALDH により糖質を材料として、生体における ethanol 代謝²⁸⁾ と逆の方向で進行するものと考えられる。

なお、これらの実験において n-propanol の産生は ethanol 産生に比し微量であったが、前にも述べたように in vitro の実験では in vivo の実験とは相違がある。

最後に実際の法医解剖の中から状況のよく判明している6例を参考までにあげた。第1例および第2例は、冬期で死後経過時間も短かく、n-propanol も全く検出されていない。従って検出された ethanol 濃度はすべて死亡前の飲酒によると考えられる。第2例の胃内容の濃度が高いのは、飲酒後それほど時間が経過していないためと考えられる。しかし2例とも尿濃度が心臓血より高いので、飲酒開始後1～2時間以後の死亡と推定される。これらの点については何川が既に総説を発表している。^{7), 8)}

第2例および第3例は、春秋の時期で、死後7日および12日を経過した死体で、n-propanol の産生があり、ethanol 濃度はその20倍以下である。ethanol 産生の少ない尿は第3例で低濃度である。2例とも日頃酒を飲まないことも判明している。これらからこの2例の ethanol 濃度はすべて死後産生のものと考えられる。

第5例と第6例は8月および5月の時期で死後約2日の死体である。ともにふだん飲酒する人。2例とも *n*-propanol が検出されるので、ethanolも死後産生があると考えて差支えない。ただ ethanol 濃度は *n*-propanol 濃度の20倍より著しく高い。死後産生の少ない尿は心臓血よりも高い。これらからここにえられた ethanol 濃度は、死亡前に飲酒があり、さらに ethanol の死後産生が加わったもの、と判断できるであろう。

結 論

剖検死体の ethanol 検査において最も重要な ethanol の死後産生、保存試料における産生を明らかにするため、各種の実験を行い、次の結論をえた。

1) 死体では環境条件により、血液を含む各種の体液および臓器に ethanol, *n*-propanol, iso-propanol, acetaldehyde, acetone などの産生がある。

2) 20°C, 24時間が一応のめどで、それより温度が高く、死後経過時間が長いほど、無視できない ethanol 産生があると考えてよい。

3) 死体における ethanol 産生を知る指標として *n*-propanol の検出が役立ち、しいて ethanol 産生量を求めるとすれば、*n*-propanol の

約20倍までと推定される。この場合両者とも微量なものはあてはまらない。

4) 死亡前における飲酒は、ethanol の死後産生を増強することはない。

5) 保存臓器においても ethanol 産生があり、新鮮血では産生しにくく、死体血では産生がある。これらの場合 *n*-propanol の同時産生は少ない。

6) 死体の胃内における酵母による ethanol 産生は特異で、腐敗菌による産生より著明であり、*n*-propanol の同時産生は少ない。

7) 抗生物質添加による細菌増殖の抑制、ADH および ALDH の阻害物質の添加は、*in vitro* において ethanol 産生を完全に阻害する。

8) 死体における ethanol 産生は、糖質を材料とし、増殖する細菌の ADH, ALDH により、生体における ethanol 代謝と逆の経路で行われるものと考えられる。

本論文の要旨は、昭和60年10月5日第20回日本アルコール医学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました何川涼教授に深く感謝致します。また本実験に際し御協力を頂いた法医学教室の各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

1. Grüner, O.: Der gerichtsmmedizinische Alkoholnachweis. Carl Heymanns Verl., Köln, 1967.
2. Curry, A.S., Hurst, G., Kent, N.R. and Powell, H.: Rapid screening of blood samples for volatile poisons by gas chromatography. *Nature* **195**, 603-604, 1962.
3. Machata, G.: Über die gaschromatographische Blutalkoholbestimmung. Analyse der Dampfphase. *Mikrochim. Acta* **6**, 262-271, 1964.
4. 何川 涼, 古徳 迪: Gas Chromatography による生物試料中 Alcohol の迅速定量法. アルコール研究, **4**, 27-33, 1969.
5. Widmark, E.M.P.: Die theoretische Grundlage und die praktische Verwendbarkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung. Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Wien, 1932.
6. Weinig, E. and Lautenbach, L.: Die Beurteilung von Alkohol-Befunden in Leichenblutproben. *Blutalkohol* **1**, 222-233, 1962.
7. Nanikawa, R.: Leichenalkohol. *Beitr. Gerichtl. Med.* **44**, 1986. (印刷中)
8. 何川 涼: 死体アルコールの法医学的検査とその意義—剖検例を中心として. 法医学の実際と研究, **27**, 199-208, 1984.

9. Landberg, G.: Über den Alkoholgehalt tierischer Organe. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* **41**, 505, 1904.
10. Gormson, H.: Alcohol production in the dead body. *J. Forensic Med.* **1**, 170-171, 1954.
11. Weinig, E., Schwerdt, W. and Lautenbach, L.: Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen im Leichenblut und forensische Bedeutung. *Beitr. Gerichtl. Med.* **21**, 114-126, 1961.
12. Osterhaus, E. and Johannsmeier, K.: Postmortale Entstehung von Alkoholen durch Fäulnis. *Dtsch. Z. Ges. Gerichtl. Med.* **57**, 281-284, 1966.
13. Mebs, D., Schmidt, K. and Gerchow, J.: Experimentelle Untersuchungen zur postmortalen Alkoholbildung. *Blutalkohol* **15**, 145-150, 1978.
14. Mebs, D. and May, M.: Weitere Studien zur postmortalen Alkoholbildung. *Blutalkohol* **17**, 207-213, 1980.
15. Weiler, G. and Reh, H.: Der Beweiswert gaschromatographischer Blutalkoholbestimmungen bei Leichenfäulnis. *Blutalkohol* **11**, 402-408, 1974.
16. Krauland, W., Klug, E. and Toffel, P.: Zur Bestimmung der Alkoholkonzentration in Leichenorganen. *Blutalkohol* **16**, 290-299, 1979.
17. Nanikawa, R. and Kotoku, S.: Medico-legal evaluation of the ethanol levels in cadaveric blood and urine. *Yonago Acta Med.* **15**, 61-69, 1971.
18. Backer, R.C., Pisano, R.V. and Sopher, I.M.: The comparison of alcohol concentrations in post-mortem fluids and tissues. *J. Forensic Sci.* **25**, 327-331, 1980.
19. 飴野 清: 死体における血液および尿アルコール濃度に関する法医学的研究. *日法医誌*, **35**, 83-102, 1981.
20. Bogusz, M., Guminska, M. and Markiewicz, J.: Studies on the formation of endogenous ethanol in blood putrefying in vitro. *J. Forensic Med.* **17**, 156-168, 1970.
21. Eckes, K., Haffner, H.T. and Leithoff, H.: Untersuchung zur Neubildung von Äthanol in Frischblutproben von Diabetikern. *Blutalkohol* **21**, 302-307, 1984.
22. Myer, J. and Leithoff, H.: Untersuchung zur Neubildung von Äthanol im Blut und Harn von Diabetikern. *Blutalkohol* **19**, 481-489, 1982.
23. Joachim, H., Wuermeling, H.B. and Würst, U.: Die postmortale Entstehung von Äthanol im Diabetikerblut und -harn. *Blutalkohol* **12**, 218-237, 1975.
24. Sjølin, K.E.: Post-mortem production of alcohol. *Acta Med. Leg. Soc.* **9**, 269-276, 1956.
25. Dawes, E.A. and Foster, S.M.: The formation of ethanol in *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **22**, 253-265, 1956.
26. Gormson, H.: Yeast and the production of alcohol post mortem. *J. Forensic Med.* **1**, 170-171, 1954.
27. 何川 涼, 飴野 清, 岡本茂男: 死体アルコール濃度について. *日法医誌*, **36**, 329-334, 1982.
28. 何川 涼: アルコールの代謝. *Med. Companion* **6**, 647-650, 1986.

**Studies on ethanol formation and its mechanism
in corpses and stored biological samples**

HIROSHI NAGASHIMA

Department of Legal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. R. Nanikawa)

The purpose of the present study was to investigate experimentally the formation of ethanol in corpses and stored biological samples important in medicolegal examination, and to study the mechanism of ethanol formation.

In the tissues and bodily fluids of corpses, ethanol, n-propanol, iso-propanol, acet-aldehyde, acetone and others may be formed to various degrees according to the post-mortem conditions. The criteria of post-mortem ethanol formation are 20 °C and 24 hours of post-mortem time, and a significant amount of ethanol can be formed at higher temperatures and longer times. The presence of n-propanol in samples may be useful for ascertaining post-mortem ethanol formation. The amount of ethanol formed post-mortemly may be presumed to be under 20 times of the amount of n-propanol simultaneously detected.

Post-mortem ethanol formation is not increased by ante-mortem ethanol intake. Ethanol may be produced in biological samples including cadaveric blood. Fresh aseptic blood is not conducive to ethanol formation within five days.

The formation of n-propanol due to yeast in the stomach of corpses is lower than that due to bacteria in other organs and bodily fluids. The addition of antibiotics, which suppress the bacterial growth in the samples, and the addition of chemical inhibitors of ADH and ALDH contained in bacteria completely blocked ethanol formation.

It may be considered that ADH and ALDH in the bacteria in corpses produce ethanol from carbohydrates such as glucose and pyruvic acid through the reverse pathway of ethanol metabolism in living subjects.