

Concentración de etanol mediante cromatografía de gases en muestras de humor vítreo de cadáveres

Wilson Edwin Moncayo Molina^{1*}; Karen Gisella Moncayo Redrobán²;
Fabiola Elena Villa Sánchez³; Enrique Efraín Arguello Arellano⁴
(Recibido: marzo 02, Aceptado: mayo 08, 2020)

Resumen

La investigación se realizó con enfoque cuantitativo para determinar la concentración de etanol en muestras de humor vítreo, provenientes de cadáveres de la Provincia de Chimborazo, Ecuador. La muestra de estudio se conformó en 60 evidencias sometidas al desarrollo investigativo, que ingresaron al Laboratorio de Química Forense para su análisis, durante el período de febrero a septiembre de 2016. El grado de concentración de alcohol etílico se determinó por medio del método de cromatografía de gases, previo la preparación de solución estándar de etanol, comparativo interno de 2- propanol y de cada una de las muestras biológicas en estudio. Por medio de un procedimiento confirmatorio de cuantificación se obtuvo como resultado que el 53,33% son evidencias positivas y el 46,67% negativas de la población total analizada. Por lo que se estableció la existencia de una considerable incidencia de muertes relacionadas con este tóxico analizadas por el método cromatográfico de alta tecnología y mediante la utilización de esta muestra biológica (humor vítreo), que presenta ventajas al analista forense frente a la muestra de sangre comúnmente utilizada para el análisis de etanol a la hora de establecer la concentración inicial y final sanguínea y sin riesgo de contaminación, putrefacción o pérdida del tóxico volátil.

Palabras Clave: alcohol etílico; cadáver; cromatografía de gases; cuantificación; humor vítreo

Ethanol concentration by gas chromatography in samples of vitreous humor of corpses

Abstract

The investigation was carried out with a quantitative approach to determine the concentration of ethanol in samples of vitreous humor, from bodies of the Province of Chimborazo, Ecuador. The study sample was formed in 60 kinds of evidence submitted to the research development, which entered the Forensic Chemistry Laboratory for analysis, during the period from February to September 2016. The degree of concentration of ethyl alcohol was determined by means of the gas chromatography method, prior to the preparation of standard ethanol solution, internal comparison of 2- propanol and of each of the biological samples under study. Through a confirmatory quantification procedure, it was obtained that 53.33% is positive evidence and 46.67% negative out of the total population analyzed. Therefore, the existence of a considerable incidence of deaths related to this toxic was analyzed by the high-tech chromatographic method and through the use of this biological sample (vitreous humor), which presents advantages to the forensic analyst over the blood sample commonly used for the analysis of ethanol when establishing the initial and final blood concentration and without risk of contamination, rot or loss of volatile toxic.

Keywords: ethyl alcohol; corpse; gas chromatography; quantification; vitreous humor.

¹ Doctor en Química, Perito Químico Forense del Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Chimborazo, Ecuador. Email: wilsonmoncayom@hotmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-2584-1861>

² Estudiante de la Universidad de los Andes, Ecuador. Email: guisellamoncayo@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-3228-7387>

³ Dra en Química. Docente de la Universidad de Guayaquil, Ecuador. Email: fabiola.villa@ug.ed.ec. <https://orcid.org/0000-0002-9260-5810>

⁴ Abogado en Derecho. Jefe del Departamento de Criminalística de Chimborazo, Ecuador. Email: efra_argu@hotmail.com. <https://orcid.org/0000-0003-2798-2895>

* Autor de correspondencia

INTRODUCCIÓN

El consumo de bebidas alcohólicas es tan antiguo como la humanidad y sus problemas perjudiciales están ya descritos en textos bíblicos, diversos pueblos y culturas del país y el mundo han experimentado en los últimos años un alarmante aumento con la ingesta de etanol, siendo este un líquido incoloro, inflamable y volátil formado por la fermentación de productos azucarados, que al ser ingerido crea dependencia en sus víctimas relacionados con adultos, jóvenes e incluso niños que consumen diferentes tipos de productos que contienen alcohol, sin diferencia de sexo, raza, situación económica o estrato social (1,2).

La ingestión de alcohol etílico en el ser humano causa diversos efectos tóxicos a corto plazo como: ebriedad, deshidratación euforia, inseguridad, hipotermia, torpeza en la coordinación de movimientos y otros, mientras a medio y largo plazo puede actuar sobre múltiples órganos y sistemas en el organismo produciendo cambios en el metabolismo, convulsiones, coma y muerte (3,4).

Cuando se encuentra asociado a fármacos como: benzodiazepinas, antihistamínicos, ciclosporinas clometiazol, fenobarbital, produce mayor permanencia de toxicidad en el organismo y con disulfiram, cefalosporinas, ketoconazol, nitroimidazoles y otros derivados, producen la inhibición de la enzima aldehído deshidrogenasa, se interrumpe la biotransformación del etanol en acetaldehído y su acumulación causa vasodilatación, hipotensión, náuseas, vómito, sudoración y rubefacción que le puede ocasionar la muerte (5).

Debido a los daños que produce el consumo de etanol en las personas, en la mayoría de los laboratorios de análisis forense se determina con carácter de urgencia, con fines terapéuticos, emergencia, legales o investigativos. Su valor cuantitativo en unidades representativas, depende de la muestra biológica obtenida como: aire aspirado la relación de concentración es 0,0005g/l equivale a 1g/l en sangre, orina 1,3 g/l es equivalente a 1g/l, y humor vítreo su relación (sangre/humor vítreo) es equivalente y directa (2,6).

El método de cromatografía de gases permite el análisis de concentraciones bajas del tóxico, proporcionando resultados rápidos, satisfactorios y confiables para la validación de los métodos analíticos, que son los requisitos estadísticos que deben cumplirse para que los resultados gocen de la fiabilidad necesaria para ser aceptados en los ámbitos científicos y forenses (7,8).

La evidencia post mortem de humor vítreo, es útil y selectiva para la determinación del alcohol, por ser un líquido claro, seroso, que se obtiene de forma sencilla, fácil de trabajar analíticamente y puede ser muestreada sin una necropsia completa debido a su posición anatómica aislada que le protege de la putrefacción bacteriana por estar cubierta de una estructura ósea que rodea al glóbulo ocular y su irrigación es escasa lo que le defiende de infecciones vía hemática. También, al carecer de glucosa no permite la neo formación del etanol por fermentación, lo que no ocurre con otro tipo de muestras como sangre y otras, que están fácilmente expuestas a reacciones de descomposición y putrefacción; logrando así un aporte científico en el ámbito forense, ya que el analista se encontrará con menos dificultades en la cuantificación de este compuesto (9-11).

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la concentración de alcohol etílico por el método de cromatografía de gases, siendo confiable y satisfactorio por su alta sensibilidad y resolución en la determinación de analitos, en muestras de humor vítreo obtenidos de cadáveres de la Provincia de Chimborazo, Ecuador. Las evidencias se obtuvieron por diversas causas como: muertes súbitas, asfixia e intoxicación a causa del consumo de elevadas concentraciones del alcohol y, en su mayoría, a causa de accidentes de tránsito por efectos del consumo de esta sustancia tóxica volátil. Para determinar la concentración de alcohol etílico se trabajaba generalmente con muestras de sangre, por lo que esta investigación es de gran importancia ya que es una técnica alternativa de trabajo en el área forense, con una metodología que garantiza resultados confiables, contribuyendo con la correcta administración

de justicia, considerando que estos análisis son solicitados constantemente por las Autoridades Competentes (Ministerio Público, Juzgados y Policía).

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio transversal descriptivo, con enfoque cuantitativo, en muestras de humor vítreo, que ingresaron al Laboratorio de Química Forense de la Provincia de Chimborazo, para cuantificar etanol, ya que permitieron obtener los objetivos propuestos y ayudaron a verificar las variables planteadas en el desarrollo del trabajo, utilizando el razonamiento científico y obtener las conclusiones deseadas, que parten de hechos aceptados como válidos, cuya aplicación sea de carácter general, con un procedimiento analítico-sintético, a partir de la experimentación y el análisis de casos estudiados.

La muestra estuvo conformada por 60 evidencias de humor vítreo, durante el periodo de febrero a septiembre de 2016, que se llevó en cabo a través de diferentes procesos de cuantificación. Los materiales de trabajo utilizados fueron: insumos de laboratorio, solventes, reactivos, y equipo de cuantificación.

En el laboratorio se prepararon soluciones:

- Estándar: 100 µl de etanol en 100 ml de agua para análisis cromatográfico.
- Estándar interno: 100 µl de propanol en 500 ml de agua para análisis cromatográfico.
- Solución de trabajo del estándar interno/ estándar: 1000 µl de estándar interno con 100 µl de estándar.
- Soluciones de trabajo del estándar interno /humor vítreo: 1000 µl de estándar interno con 100 µl de humor vítreo.

Condiciones de trabajo para cuantificación. Se verificó el correcto funcionamiento del equipo de cromatografía de gases, previo al trabajo con estándares de calibración y el software de trabajo a través del programa Peak sample y se establecieron las siguientes condiciones:

- Presión de nitrógeno como gas portador 40 psi

- Presión de gas hidrógeno 30 psi
- Presión de aire 10-12 psi
- Temperatura del inyector 80 °C
- Temperatura del detector variable 180 °C
- Temperatura del horno 200 °C
- Tiempo de incubación 10 -15 min
- Condiciones de análisis por medio del programa Peak sample, ordenado al equipo de cuantificación de acuerdo con la Tabla 1

Tabla 1. Controles de temperatura de trabajo para cuantificar etanol

Temperatura/ Tiempo/Rampa	Control 1	Temperatura/ Tiempo/Rampa	Control 2
Temperatura inicial	50°C	Temperatura inicial: 160°C	160°C
Tiempo de retención	1 min	Tiempo de retención	1 min
Rampa	30	Rampa	0
Temperatura final	160°C	Temperatura final: 160°C	160°C

Fuente: Laboratorio de Química Forense de la Provincia de Chimborazo

- Volumen de inyección de las soluciones de estándar comparativo y las muestras en el interior de la cabeza de la columna cromatográfica 0.1 µl (12).

Concentración de alcohol etílico en g/l en muestras de humor vítreo

$$C_{g/l} = \frac{A_1 \times A_4}{A_2 \times A_3} \times 0,8 \quad (1)$$

$C_{g/L}$ = Concentración de alcohol etílico en gramos por litro

A_1 = Área de la muestra

A_2 = Área del estándar interno/muestra

A_x = Relación de A1 con respecto A2

A_3 = Área del estándar

A_4 = Área del estándar interno/estándar

A_y = Relación de A3 con respecto A4

A_z = Porcentaje de alcohol en humor vítreo

0,8 = Factor de multiplicación para determinar alcohol etílico en sangre, humor vítreo u orina.

RESULTADOS

Durante los meses de febrero a septiembre de

2016, se establecieron porcentajes similares de ingreso de muestras de humor vítreo, con intervalos entre el 10,00% que corresponde a marzo y julio al 15,00% de abril y septiembre; demostrándose que existió un constante ingreso de estas evidencias con destino al laboratorio de análisis forense en el periodo de estudio, presumiendo que exista o no la presencia de alcohol etílico. Ver Tabla 2.

Tabla 2. Muestras de humor vítreo.

Meses	Nº Muestras	(%)
Febrero	7	11,67
Marzo	6	10,00
Abril	9	15,00
Mayo	7	11,67
Junio	8	13,33
Julio	6	10,00
Agosto	8	13,33
Septiembre	9	15,00
Total	60	100,00

Fuente: Laboratorio de Química Forense de Chimborazo

Mediante el método cuantitativo de cromatografía de gases, se realizó el estudio en 60 muestras biológicas de humor vítreo que ingresaron al laboratorio forense para determinar la concentración del etanol, dando como resultando 32 evidencias positivas, que representa el 53,33% y 28 negativas (46,67%), por lo que se estableció un mayor porcentaje de evidencias que contienen alcohol etílico.

Tabla 3. Muestras de humor vítreo, positivos y negativos para etanol

Resultado	Nº Muestras	(%)
Positivo	32	53,33
Negativo	28	46,67
Total	60	100,00

De acuerdo con los resultados obtenidos en el tiempo de estudio, 32 muestras de humor vítreo analizadas por cromatografía de gases, resultaron positivas para etanol, 24 de ellas corresponden a cadáveres de sexo masculino, que representa el 75,0%, y 08 al sexo femenino (25,0%), por lo que se estableció que existió un mayor índice del consumo de bebidas alcohólicas

en hombres por causas no determinadas.

En las muestras de humor vítreo que se sometieron a las pruebas periciales de alcohol etílico mediante la cuantificación por cromatografía de gases, se obtuvo como resultado 32 evidencias positivas que representa el 53,33%, con un mayor porcentaje en valores comprendidos entre 0,51 y 1,0 g/l que corresponde al 43,75%, seguido de 31,25% entre 0,1 y 0,5g/l y 25% con cantidades superiores a 1,1 g/l.

Tabla 4. Cuantificación de etanol por cromatografía de gases, en gramos por litro

Nº Muestras	Cantidad de etanol (g/l)	(%)
10	De 0,1 hasta 0,5	31,25
14	0,51 hasta 1,0	43,75
8	De 1,1 en adelante	25,00

Fuente: Laboratorio de Química Forense de Chimborazo

DISCUSIÓN

En la Tabla 2, se evidencian los porcentajes mensuales de las muestras de humor vítreo ingresadas al laboratorio de análisis forense, en el rango del 10 al 15%, estableciéndose que existe un constante ingreso mensual de evidencias en el tiempo de trabajo. Otros estudios relacionados con el consumo de bebidas alcohólicas en Ecuador reflejan un incremento hasta del 25% en el mes de diciembre, de acuerdo a encuestas proporcionadas por el Consejo Nacional de Sustancias Estupefacientes y Psicotrópicas y el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (13). Lo que conduce a un sinnúmero de muertes relacionadas con la ingesta de licor en el país y América latina por: envenenamiento accidental, autoinflingido sin intención de la víctima, expectativas, creencias, publicidad, costumbres familiares y sociales, enfermedad alcohólica del hígado, trastornos mentales de comportamiento y accidentes de tránsito (14,15).

Durante el tiempo de investigación, las evidencias de humor vítreo ingresadas al laboratorio reflejaron el 53,33% pruebas positivas, por consiguiente, se logró establecer que existió un alto índice de personas que fallecieron como consecuencia de una relación

directa con la ingesta de alcohol etílico, debido a diferentes causas no determinadas. Según datos proporcionados por diferentes Casas Asistenciales de Salud, Fuerza Pública, Poder Judicial y el Instituto Nacional de Seguros en el Ecuador y otros países, informaron que diversos hechos suscitados que condujeron a la muerte se relacionaron con: violencia familiar, conflictos de pareja, problemas económicos, riñas, accidentes de tránsito, muertes violentas y criminalidad, que fueron también perpetrados por actores encontrados bajo los efectos del alcohol que participaron de manera directa e indirecta en los sucesos (16,17).

El estudio de etanol en muestras de humor vítreo en la investigación realizada, ha demostrado una mayor ingesta en personas del género masculino con el 75%, siendo coherente los resultados según informes establecidos por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos publicado en julio de 2013, acerca del consumo de alcohol etílico en el Ecuador; según el cual de un total de 912.576 personas que consumieron bebidas alcohólicas, el 89,7% eran hombres y el 10,3% mujeres. Datos proporcionados en septiembre a diciembre de 2015 relacionados con accidentes de tránsito y muerte, el 96,36%, corresponde al sexo masculino y el 3,64% a mujeres; por tanto se ha demostrado que el porcentaje del consumo de esta bebida tóxica que se relaciona con el fenecimiento de hombres y mujeres por diferentes causas es relativo con el transcurso del tiempo (18, 19).

Los diferentes grados de concentración de etanol en personas del género masculino y femenino, comprendido en valores de 43,75% de los casos entre (0,51- 1,0) g/l, seguido de 31,25% entre (0,1-0,5) g/l) y 25% con valores superiores a 1,1 g/l, presente en las muestras biológicas de humor vítreo y analizadas por cromatografía de gases, son resultados confiables por tratarse de un indicio sin riesgo de contaminación, putrefacción o pérdida del tóxico volátil, y que se confirman con los resultados proporcionados por Serrano y Vélez en el 2011, que evidenciaron valores con concentraciones de 0.54g/l en sangre y de 0.58g/l en humor vítreo y más altos

de 3.02g/l en sangre y de 3.88g/l en humor vítreo lo que demuestra que la concentración de alcohol etílico es más elevado en el humor vítreo que en la sangre para un mismo cadáver, sin diferenciar edad, sexo, raza ni condición social, puesto que el estudio no depende de estos factores y las muestras utilizadas deben ser obtenidas a partir de cadáveres que tengan antecedentes de haber ingerido alcohol previo a su muerte y no necesariamente que la causa de la muerte se haya producido por una intoxicación alcohólica (9, 20).

Según estudio realizado por Azuero en el año 2015 (19), el índice alcohol en sangre en personas del género masculino y femenino, comprendió valores de 0,00 a 0,29 g/l (68,3%), de 0,30 a 0,79 g/l (5,5%), y de 0,80 g/l en adelante el 26,3%, lo que se establece que existe una estrecha relación y se encuentran vinculados con hechos y sucesos relacionados con el consumo de esta sustancia altamente tóxica y peligrosa para la salud y entorno social. La mayoría de evidencias ingresaron al laboratorio de análisis forense por causas de accidentes de tránsito en la Provincia de Chimborazo y se encuentran vinculados con el Artículo 376 del Código Orgánico Integral Penal (COIP), que establece: la muerte causada por conductor en estado de embriaguez o bajo los efectos de sustancias estupefacientes, psicotrópicas o preparados que las contengan y ocasione un accidente de tránsito del que resulten muertas una o más personas, será sancionada con pena privativa de la libertad de diez a doce años, revocatoria definitiva de la licencia para conducir vehículos (21).

CONCLUSIONES

La cuantificación de alcohol etílico por el método de cromatografía de gases, se realizó en 60 muestras de humor vítreo que ingresaron al Laboratorio de Química Forense de Chimborazo, durante el periodo de febrero a septiembre de 2016, y se determinó que el 53,33% de las muestras biológicas de humor resultaron positivas para etanol. 24 de ellas corresponden a cadáveres de sexo masculino, que representa el 75%, y 08 al sexo femenino

(25%), por lo que se demuestra un mayor índice del consumo de bebidas alcohólicas en personas de género masculino. En el 43,75% de los casos con resultados positivos para alcohol etílico, se encontraron cantidades de etanol con valores entre 0,51 y 1,0 g/l, siendo el mayor porcentaje obtenido en este rango, seguido de resultados entre 0,1-0,5 g/l (31,25%) y mayores de 1,1 g/l (25%). Se concluye que la determinación de etanol en humor vítreo por cromatografía de gases constituye un buen método alternativo en el área forense.

Conflictos de intereses: los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS

10. López J, Robles C MG. Criminalística Actual, Ley y Ciencia. Euroméxico, editor. 2012. 713-714. p.
11. Serrano, ME. & Vélez M. Comparación de valores de alcohol etílico en muestras de sangre y humor vítreo en cadáveres de la morgue del Hospital Vicente Corral Moscoso [Internet]. Universidad de Cuenca; 2011 [cited 2018 Apr 4]. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2438/1/tq1078.pdf>
12. Costilla, EL., & Mejía A. Determinación por cromatografía de gases, el valor del cociente: etanol en humor vitreo/sangre en cadáveres necropsiados de la Morgue del Cusco. Horizonte Médico. 2014; 14(2): 34–38.
13. Morán, I., Martínez J., Marruecos-Sant, L. & Nogué S. Toxicología Clínica. Madrid: Difusión Jurídica y Temas de Actualidad S.A.; 2011. Available from: http://www.fetoc.es/asistencia/Toxicologia_clinica_libro.pdf
14. Serrano, ME, Vélez M. Comparación de valores del alcohol etílico en muestras de sangre y humor vítreo en cadáveres de la morgue del Hospital Vicente Corral Moscoso [Internet]. [Cuenca (Ecuador)]: Universidad de Cuenca; 2011. 85 p.
15. Repetto, M, Repetto G. Toxicología Fundamental [Internet]. Cuarta edición. España: Ediciones Díaz de Santos. 2009. Available from: <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788988.pdf>
16. García-Rodríguez S. & Giménez MP. Recursos humanos e instrumentos en un laboratorio toxicológico forense. Revista de Toxicología [Internet]. 2005; 22(Su1):1–11. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91909901>
17. Arias A. & Gil D. Estandarización de la técnica cromatografía de gases capilar para la identificación y cuantificación de fitoesteroles en semillas de luffa cylindrica [Internet]. [Pereira (Colombia)]: Universidad Tecnológica de Pereira; 2012. 80 p.
18. Levine B., Smith M., Smialek J. & Caplan Y. Interpretation of Low Postmortem Concentrations of Ethanol. J Forensic Sci [Internet]. 1993; 38(3):663–7. Available from: <http://www.astm.org/doiLink.cgi?JFS13453J>
19. Jönsson A., Holmgren P. & Ahlner J. Fatal intoxications in a Swedish forensic autopsy material during 1992–2002. Forensic Sci Int [Internet]. 2004; 143(1):53–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15177630>
20. Bellido Achahui Cristofer Joehl, Estudio Comparativo del factor de Widmark para la Determinación del nivel de Etanolemia por Cromatografía de Gases en sujetos varones de la ciudad del Cusco. [Cusco (Perú)]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2010.
21. Gonzales J. Estudio comparativo entre las concentraciones de etanol en sangre y en humor vítreo mediante técnica de cromatografía gaseosa con detector de ionización a la llama (FID). Revista de Toxicología. 2003; 20(2), 142.
22. El Comercio. Aumento de consumo de alcohol en el Ecuador. El Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Publicación 24 de diciembre de 2015. Disponible en:

- http://mobile.ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&unc=news_user_view&id=2818793650.
23. Segura, M., Vivanco, A., Santos, J., López, M. & Sanmartin, D. Incidencia de las intoxicaciones: un caso en hospital de Ecuador. *Ciencia Unemi* [Internet]. 2016; 9(19): 77–83.
 24. Heath D. Análisis de aspectos Socioculturales del Alcohol en América Latina. *Rev Médica Honduras* [Internet]. 1984; 52: 100-109. Available from: <http://cidbimena.desastres.hn/RMH/pdf/1984/pdf/Vol52-2-1984-6.pdf>
 25. Castaño-Perez, G. & Calderon-Vallejo, G. Problemas asociados al consumo de alcohol en estudiantes universitarios. *Revista Latino Americana Enfermagen* [Internet]. 2014; 22(5): 739–746. DOI: 10.1590/0104-1169.3579.2475
 26. Lacroix, A., Bouvet, R., Legape, S., Baert, A., Abondo, M., Feuillu, A., Anger, JP., Le Gueut, M. & Morell I. Intérêt des analyses toxicologiques pour déterminer les causes de la mort : bilan de quatre années d’expertise judiciaire. *Ann Toxicol Anal* [Internet]. 2010; 22(3):141–7.
 27. Organización Mundial de la Salud. Siete órganos se afectan con frecuencia por el alcohol. Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2014; Available from: http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=1208:mayo-14-2014&Itemid=972
 28. Azuero, BL. Índice de alcohol étílico en conductores y la prevalencia de accidentes de tránsito determinados por ATM en Guayaquil 2015. Tesis [Internet]. [Guayaquil (Ecuador)]: Universidad de Guayaquil; 2016. 72 p.
 29. Serrano, ME. & Vélez, ME. Comparación de valores de alcohol étílico en muestras de sangre y humor vítreo en cadáveres de la morgue del Hospital Vicente Corral Moscoso Tesis [Internet]. [Cuenca (Ecuador)]: Universidad de Cuenca; 2011. 85 p.
 30. Código Orgánico Integral Penal, publicado en el R.O. Nro. 180 de fecha 10 de febrero de 2014. República del Ecuador. Asamblea Nacional. 40, 148,152, 190.