



## FATAL POISONING BY GASOLINE

Artur TEŻYK, Roman WACHOWIAK, Rudolf DURYS

*Department of Forensic Medicine, Medical University, Poznań, Poland*

### Abstract

Lead-free gasoline is a complex mixture of aromatic and aliphatic hydrocarbons, alcohols, ethers and other oxygen-containing aromatic heterocyclic hydrocarbons. The toxic effect of the set of compounds contained in petrol products is multidirectional and includes irritation of the skin, mucous membranes, dysfunction of vitally important systems, including respiratory, nervous (depressive action) and circulatory systems (arrhythmogenic action). This study aimed to analyse causes and effects in the course of lethal poisoning of a 53-year-old man, whose corpse was found dressed in gasoline-soaked clothes in the service pit of a garage. In the course of autopsy, several traces of II° chemical burns were identified and blood plus urine, gastric content, tissues of liver, brain and abdominal walls were taken for chemical analysis. The autopsy material was subjected to extraction with ethyl ether, while estimation of reference components of gasoline was performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry using a DB-1 column. Quantitative analysis of gasoline in blood and tissues was based on suggestions by M. A. Martinez, making use of calibration (1 to 100 g/ml) of reference gasoline components (m,p-xylene) and an internal standard (n-octanobenzene). The presence of hydrocarbons was disclosed in blood and tissues, but not in urine. This points to a significant input of inhalatory exposure and of transdermal resorption in the poisoning. Gasoline poisoning was indicated as the cause of death with possible contribution of ethyl alcohol. The content of the latter (blood: 1.7‰, urine: 1.94‰) was confirmed in supplementary studies.

### Key words

Gasoline poisoning; Toxicological analysis; Interpretation of fatalities.

*Received 12 October 2007; accepted 30 October 2007*

### 1. Introduction

Lead-free gasoline and also other petroleum products and derivatives are a complex mixture of aromatic and aliphatic hydrocarbons, alcohols, ethers and other oxygen-containing aromatic heterocyclic compounds, which can constitute a toxicological threat if distribution is uncontrolled. Qualitative and quantitative composition of gasolines which are allowed to be sold in Poland is regulated by the Decree of the Minister of Economy and Labour issued on 19 October 2005, which concerns quality requirements of liquid fuels [9].

The toxic effect of the set of compounds contained in petroleum products is similar for all crude oil distil-

lation products. This effect is multidirectional and includes irritation of skin and mucous membranes, dysfunction of vitally important systems, respiratory, nervous (depressive action) and circulatory systems (arrhythmogenic action). Poisonings which take place in confined spaces are particularly dangerous as inhalatory exposure to gasoline vapours can lead to hypoxia and, more rarely, anoxia [1, 5, 6, 8].

In published poisoning reports (summarised in Table III), rare cases of lethal poisonings by crude oil derivatives are described, mainly connected to their abuse or due to accidental ingestion [4, 6]. Certain problems arise in chemical diagnostics of poisoning cases – both in qualitative and quantitative analysis of biological specimens and in interpretation of the ob-

tained results. Analytical and interpretation difficulties arise from the fact that in cases of gasoline poisoning, the analyst is dealing with a complicated mixture of compounds with different penetration rates of cellular membranes and different degrees of accumulation in organ tissues, as well as in high lipid content tissues (central nervous system, abdominal walls and intestinal mesentery) [8]. As a consequence of these properties, independently of problems linked with qualitative and quantitative analysis, it is important to select appropriate biological material which enables a cause-effect interpretation, which is necessary for forensic toxicological expert opinions.

## 2. Case report

The corpse of a 53-year-old male was found in the service pit of a garage under a car in which the deceased was fixing the fuel pump. At the scene where the corpse was found, a strong odour of gasoline was smelled. The deceased was dressed in gasoline-soaked clothes. External inspection of the corpse and the autopsy revealed numerous traces of chemical burns of II° on the face, neck, trunk, chest, abdominal walls, limbs and abundant peeling of the epidermis in the unburnt skin areas. The *post-mortem* examination identified blood liquidity in dural sinuses, blood vessels and heart, symptoms of intense swelling of the brain and pulmonary oedema. In terms of pathological changes, significant myocardial left-ventricular hypertrophy, minor sclerosis of both coronary arteries and the presence of two subcapsular cysts in the left kidney were identified.

Blood, urine, brain, liver, gastric content and gastric tissue, and fat tissue samples from the abdominal walls were collected for toxicological analyses.

## 3. Materials and methods

### 3.1. Reagents

Lead-free gasoline was used as a reference standard in qualitative analysis. The internal standard was n-octanobenzene purchased from Sigma Aldrich (Germany), which was used to make up 100 g/ml methanolic solution. Quantitative analysis of the gasoline in blood was based on a calibration curve in the range 1–100 g/ml, using the signal of an m,p-xylene peak as a reference peak. Standard solutions of gasoline in blood were prepared from a basic solution (10 mg/ml) of gasoline in methanol. Ethyl ether, stabi-

lised with t-butylhydroxytoluene, was used for extraction: it was purchased from POCh (Gliwice, Poland). Methanol for HPLC was bought from Lab Scan (Dublin, Ireland)

### 3.2. Extraction

Extraction of gasoline components was carried out in accordance with the procedure of Martinez et al. [6]. To 10 ml glass vials, 3 g of homogenised tissues or body fluids were weighed out, then 0.1 ml of internal standard (n-octanobenzene 100 g/ml) and 1 ml of ethyl ether were added and afterwards vortexed for 3 min and centrifuged at 4000 rpm for 10 min. The organic layer was collected and analysed by the GC-MS method.

### 3.3. Qualitative-quantitative analysis

Gasoline components were identified and determined utilising a Perkin Elmer Claus 500 gas chromatograph coupled to a quadrupole mass detector. Separation of target compounds was carried out on a JW Scientific (USA) DB-1 column (length 30 m, diameter 0.5 mm, film thickness 0.25 μm). The column temperature programme was as follows: 40°C maintained for 3 min and increased to 250°C at 10°C/min. Injector temperature was 280°C, injection volume was 3 μl in split mode (1:24). Carrier gas flow rate was 1 ml/min. Temperature transfer line was 250°C and ion source was maintained at 180°C. Positive electron impact ionisation mode (EI) with electron beam energy of 70 eV and full scan 40–500 m/z mode was used. Identification of gasoline components was based on retention times and mass spectra of particular compounds. The method was validated. Limits of detection and quantification were evaluated for the lowest concentrations of m,p-xylene in blood corresponding to a signal/noise ratio of 3 for *LOD* and 10 for *LOQ*. Recovery (at 10 g/ml), intra-assay precision and linearity range are presented in Table I.

### 3.4. Additional analysis

Blood and urine specimens were subjected to routine analysis for ethyl alcohol. The results were as follows: blood – 1.70‰, urine – 1.94‰. Carboxyhemoglobin was not detected in blood. The results of immunoassay (ELISA) screening for amphetamine and methamphetamine derivatives, opiates and cannabinoids in blood were negative.

TABLE I. VALIDATION PARAMETERS FOR DETERMINATION OF TARGET COMPOUND IN BLOOD

Parameter	Value
Calibration range	1–100 g/ml
Recovery	86.8%
Precision ( <i>RSD</i> %)	3.9%
<i>LOD</i>	0.3 g/ml
<i>LOQ</i>	1.2 g/ml

#### 4. Results and discussion

Qualitative and quantitative composition of lead free gasoline which is used mainly as a fuel for internal combustion engines is regulated by certain standard specifications, enabling safe and energetically advantageous use. Gasoline as an energy medium is a mixture of various chemical compounds, the composition of which is shown in Table II.

The greatest risk of toxic exposure to gasoline components occurs not only in the petrochemical industry but also during distribution and use of vehicles equipped with internal combustion engines. Constituents of gasoline, particularly aliphatic and aromatic hydrocarbons, are easily absorbed via the respiratory system and skin. The mentioned chemical groups are lipophilic compounds with weak surface tension en-

abling high penetration into fat rich tissues, particularly into nervous tissue. Generally, after a single acute gasoline poisoning, no damage to solid organs or the hemopoietic system was observed, which usually takes place in long-term exposure, e.g. *via* inhalation. Quantitative determination of gasoline in blood is of great importance for acute poisoning cases.

Ranges of gasoline concentration noted in the literature for diagnosed cases of fatal poisonings are presented in Table III. Authors selected various components of gasoline as reference points (when determining gasoline by gas chromatography). Nagata et al. performed determination of gasoline based on two peaks of unidentified components of gasoline. Carnewale et al. used 2-methylpentane as a reference peak. Kimura et al. used benzene as a reference compound. Matsumoto et al. carried out determination of gasoline based on several components. In the evaluation of the poisonings described by Marinez et al., all determinations of gasoline were carried out in reference to m,p-xylene [5, 6].

A few documented cases of gasoline poisoning are characterised by non-specific autopsy findings, with a predominance of lung congestion in cases of inhalation exposure. There are recorded cases of long-term contact of gasoline with skin, in which chemical burns of the body surface are described. Such cases require appropriate chemico-toxicological diagnosis.

Targeted toxicological analysis was performed in the case of exposure to gasoline components. For isolation and determination of gasoline in biological

TABLE II. CHEMICAL COMPOSITION OF GASOLINE

Hydrocarbon content:	Unit	Max. concentration
– olefin	% (v/v)	15.0
– aromatic	% (v/v)	35.0
– benzene	% (v/v)	1.0
Oxygen content	% (v/v)	2.7
Content of organic compounds with oxygen atom		
– methanol	% (v/v)	3.0
– ethanol	% (v/v)	5.0
– isopropanol	% (v/v)	10.0
– isobutanol	% (v/v)	10.0
– tertbutanol	% (v/v)	7.0
Ethers with 5 or more carbon atoms	% (v/v)	10.0
Other organic compounds containing oxygen atom	% (v/v)	10.0
Lead	mg/l	5

TABLE III. CONCENTRATIONS OF GASOLINE IN BIOLOGICAL SPECIMENS RECORDED IN THE AVAILABLE LITERATURE

Case	Specimen	Concentration of gasoline	Author
♂ age 63 Accidental inhalation	Peripheral blood	1‰	Nagata 1968
♂ age 25 Accidental inhalation	Cardiac blood	51.5 ppm	Carnevale 1983
♂ age 44 Accidental inhalation	Cardiac blood	0.051–0.447 mg/l	Ikebuchi 1986
♂ age 34 Deliberate inhalation	Peripheral blood	4.259 mg/l	Kimura 1988
♀ age 59 Accidental inhalation	Cardiac blood	19.2 mg/l	Matsubara 1988
♂ age 44 Accidental inhalation	Peripheral blood	247 mg/l	Matsumoto 1992
♂ age 36 Accidental inhalation	Cardiac blood Liver	28.4 mg/l 41.4 mg/l	Martinez 2005
♂ age 26 Accidental inhalation	Peripheral blood Brain	19.3 mg/l 65.6 mg/kg	Martinez 2005
♂ age 15 Deliberate inhalation	Cardiac blood Peripheral blood Liver	38.3 mg/l 22.1 mg/l 124.2 mg/kg	Martinez 2005
♀ age 73 Accidental ingestion	Peripheral blood	122.4 mg/l	Martinez 2005
♀ age 73 Suicidal inhalation	Peripheral blood	22.3 mg/l	Martinez 2006
♂ age 36 Accidental inhalation	Cardiac blood Liver	28.4 mg/l 41.4 mg/l	Martinez 2005

specimens, the Martinez method, enabling fast and precise diagnosis of poisonings, was used. In the quantitative analysis of gasoline by gas chromatography coupled to mass spectrometry, m,p-xylene was used as the calibration reference compound. At the same time, n-octanobenzene, which is not a lead-free gasoline component, was used as the internal standard, in the determination process. The described chromatographic conditions enable rapid qualitative-quantitative analysis of gasoline. Typical chromatograms obtained for a gasoline standard, and also a studied blood sample and a blank sample are presented in Figure 1.

The basis of objective risk assessment is the determined gasoline concentration ranges with reference to its reference component, m,p-xylene, which is present in each *post-mortem* specimen, regardless of the type of exposure [5, 6]. The obtained determination results of gasoline indicated that high concentrations of gasoline were found in the brain, fatty tissue and liver. Lower concentrations of gasoline in blood show that hydrocarbons accumulate in fat rich tissues. Compar-

ing the results of gasoline determination in particular tissues to those obtained by the same method published by Matinez at al. [5, 6], one should emphasise the similarity of concentrations found in the group of inhalation poisonings. The fact that low volatility hydrocarbons were detected: tetramethylbenzene isomers, naphthalene, and methylnaphthalene, which were not detected in cases of inhalation poisonings [5, 6] and also detection of only small amounts of gasoline in gastric content compared to other tissues, suggests transdermal absorption as the predominant route.

Additional toxicological studies which revealed the presence of ethyl alcohol in the deceased person's body (blood 1.70‰, urine 1.94‰) indicate the possibility of its synergic, depressive influence on the central nervous system.

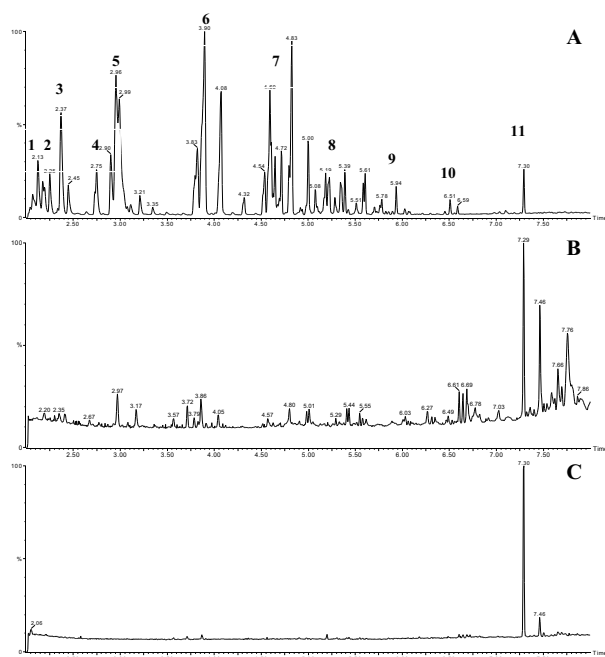


Fig. 1. Chromatogram (total ion current) of lead-free gasoline standard (A); case blood sample (B); and blank blood sample (C). 1. benzene, 2. isooctane, 3. n-heptane, 4. n-octane, 5. toluene, 6. xylene isomers, 7. trimethylbenzene isomers, 8. tetramethylbenzene isomers, 9. naphthalene, 10. methyl-naphthalene, 11. n-octanobenzene (internal standard).

## 5. Summary

Diagnostics of poisonings by lead-free gasoline, which consists of a mixture of various volatile chemical compounds from the following groups: aliphatic and aromatic hydrocarbons, alcohols, ethers and heterocyclic hydrocarbons, requires an appropriate analytical procedure enabling an objective cause-effect evaluation. The suggested isolation method as well as a quantitative and qualitative analysis procedure based on gas chromatography coupled to mass spectrometry utilising m,p-xylene as the reference component and octanobenzene as the internal standard, ensures good precision and repeatability, which are useful in clinical and forensic toxicology. In cause – effect evaluation of sudden fatal cases with suspicion of exposure to gasoline, one should take into consideration all circumstances connected to the event, particularly the participation of xenobiotics which have a depressive influence on the central nervous system, e.g. ethyl alcohol.

## References

1. Cairney S., Maruff P., Burns C. [et al.], The neuro-behavioral consequences of petrol (gasoline) sniffing, *Neuroscience and Behavioral Reviews* 2002, 26, 81–89.
2. Fukunaga T., Yamamoto H., Tanegashima A. [et al.], Liquefied petroleum gas (LPG) poisoning: report of two cases and review of the literature, *Forensic Science International* 1996, 82, 193–200.
3. Hideaki S., Sasaki C., Hashimoto C. [et al.], Three cases of sudden death due to butane or propane gas inhalation: analysis of tissues for gas components, *Forensic Science International* 2004, 143, 211–214.
4. Ikebuchi J., Kotoku S., Yashiki M. [et al.], Gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrometric determination of gasoline in case of gasoline vapor and alcohol poisoning, *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 1986, 7, 146–150.
5. Martinez M. A., Ballesteros S., Investigation of fatalities due to acute gasoline poisoning, *Journal of Analytical Toxicology* 2005, 29, 643–652.
6. Martinez M. A., Ballesteros S., Suicidal inhalation of motorbike exhaust: adding new data to the literature about the contribution of gasoline in the cause of death, *Journal of Analytical Toxicology* 2006, 29, 697–702.
7. Narayanasamy K., Patel R., Jackson T. [et al.], Percutaneous absorption and skin irritation of JP-8 (jet fuel), *Toxicology* 2001, 161, 1–11.
8. Wille S. M. R., Lambert W. E. E., Volatile substance abuse – post-mortem diagnosis, *Forensic Science International* 2004, 142, 135–156.

## Corresponding author

Artur Teżyk  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
ul. Świącickiego 6  
PL 60-781 Poznań  
e-mail: atezyk@amp.edu.pl

## ZATRUCIE BENZYNĄ – OPIS PRZYPADKU

### 1. Wprowadzenie

Benzyna bezołowiowa, jak również inne produkty ropopochodne, stanowi złożoną mieszaninę węglowodórów aromatycznych, alifatycznych, alkoholi, eterów oraz innych aromatycznych związków heterocyklicznych zawierających tlen, które w warunkach niekontrolowanej dystrybucji stanowią zagrożenie toksykologiczne. Skład jakościowo-ilościowy benzyn dopuszczonych do sprzedaży na terenie Polski reguluje rozporządzenie Ministra Gospodarki i Pracy z dnia 19 października 2005 roku, które dotyczy wymagań jakościowych dla paliw ciekłych [9].

Oddziaływanie toksyczne grupy związków zawartych w produktach naftowych jest podobne dla wszystkich produktów destylacji ropy naftowej i wykazuje charakter wielokierunkowy, powodując podrażnienia skóry i błon śluzowych oraz dysfunkcje ważnych dla życia układów: oddechowego i nerwowego (działanie depresyjne), a także krążeniowego (działanie arytmogenne). Za szczególnie niebezpieczne uznaje się intoksykacje w pomieszczeniach o małej kubaturze, kiedy ekspozycja wziewna oparami benzyny może prowadzić do uduszenia w warunkach hipoksji, a rzadziej anoksji [1, 5, 6, 8].

W kazuistyce zatruć (zestawionej w tabeli III) opisane są nieliczne przypadki dotyczące zatruć śmiertelnych produktami ropopochodnymi, głównie w następstwie używania ich w celach odurzających bądź wynikające z przypadkowego spożycia [4, 6].

Diagnostyka chemiczna przypadków zatruć nastęrcza pewnych trudności zarówno podczas analizy jakościowo-ilościowej składników w materiale biologicznym, jak i w interpretacji uzyskanych wyników. Trudności analityczne i interpretacyjne wynikają z faktu, iż w przypadku zatruć benzyną mamy do czynienia ze skomplikowanym układem mieszaniny związków o różnym stopniu penetracji przez błony komórkowe i różnym stopniu kumulacji w tkankach i narządach, a także o wysokim wskaźniku zawartości lipidów (ośrodkowy układ nerwowy, powłoki brzuszne, krezka jelitowa) [8]. Konsekwencją tych właściwości, niezależnie od problemów związanych z analizą jakościowo-ilościową, jest dobór właściwego materiału biologicznego warunkującego odpowiednie możliwości interpretacji przyczynowo-skutkowej, niezbędnej w opiniowaniu toksykologiczno-sądowym.

### 2. Opis przypadku

Zwłoki 53-letniego mężczyzny zostały znalezione w kanale garażu, pod samochodem, w którym naprawiał

pompę paliwową. W miejscu ujawnienia zwłok wyczuwalny był silny zapach benzyny. Denat miał na sobie ubranie przesiąknięte tym płynem.

Przeprowadzone oględziny zewnętrzne oraz sekcja zwłok wykazały liczne oparzenia chemiczne II<sup>o</sup> w obrębie twarzy, szyi, tułowia, klatki piersiowej, powłok brzucha, kończyn górnych i dolnych, a nadto obfite splezanie naskórka w obrębie skóry nieobjętej oparzeniami. Badanie sekcyjne wykazało płynność krwi w zatokach opony twardej, naczyniach krwionośnych i sercu, cechy znacznie nasilonego obrzęku mózgu oraz obrzęk płuc w obrębie ich szczytów. Ze zmian chorobowych ujawniono znaczny przerost mięśnia sercowego, szczególnie w obrębie komory lewej, nieznacznie nasiloną miażdżycę obu tętnic wieńcowych oraz obecność dwóch podtorebkowych torbieli w obrębie nerki lewej.

Do badań toksykologicznych zabezpieczono krew, mocz, mózg, wątrobę, żołądek z treścią pokarmową oraz tkankę tłuszczową z powłok brzusznych.

### 3. Materiały i metody

#### 3.1. Odczynniki

Jako standardu porównawczego przydatnego w ocenie jakościowej użyto benzyny bezołowiowej. Standard wewnętrzny stanowił n-oktanobenzen firmy Sigma Aldrich (Niemcy), z którego przygotowano metanolowy roztwór (100 g/ml). Analizę ilościową benzyny we krwi oparto na krzywej kalibracyjnej w zakresie 1–100 g/ml, wykorzystując jako pik referencyjny sygnał pik m,p-ksylenu. Roztwory wzorcowe benzyny we krwi przygotowano z roztworu podstawowego (10 mg/ml) benzyny w metanolu. Do ekstrakcji użyto eteru dietylowego stabilizowanego t-butylohydroksytoluenem z firmy POCh (Gliwice, Polska). Metanol do HPLC pochodził z firmy Lab Scan (Dublin, Irlandia).

#### 3.2. Warunki ekstrakcji

Ekstrakcje składników benzyny przeprowadzono zgodnie z procedurą zaproponowaną w pracy Martineza i in. [6]. Do szklanych fiolek o pojemności 10 ml odważono po 3 g homogenizowanych tkanek bądź płynów ustrojowych, dodano 0,1 ml roztworu standardu wewnętrznego (n-oktanobenzenu 100 g/ml) oraz 1 ml eteru dietylowego, następnie zakapslowano i wytrząsano przez 3 min, po czym odwirowano przy prędkości 4000 rpm przez 10 min. Warstwa organiczna została zebrana i poddana analizie metodą GC-MS.

### 3.3. Metoda analizy jakościowo-ilościowej

Składniki benzyny identyfikowano i badano ilościowo, wykorzystując chromatograf gazowy Claus 500 firmy Perkin Elmer sprzężony z kwadrupolowym detektorem mas. Rozdział badanych związków przeprowadzono na kolumnie DB-1 (długość 30 m, średnica 0,5 mm, grubość filmu 0,25  $\mu$ m, producent JW Scientific (Stany Zjednoczone). Zastosowano program temperaturowy z temperaturą początkową 40°C utrzymaną przez 3 min i przyrostem do 250°C z prędkością 10°C/min. Temperatura dozownika wynosiła 280°C, objętość nasytu 3  $\mu$ l z podziałem (1:24). Przepływ helu przez kolumnę wynosił 1 ml/min. Temperatura linii transferowej miała 250°C, natomiast źródła jonizacji 180°C. Zastosowano pozytywną jonizację elektronową (EI) o energii 70 eV i zakresie skanowania 40–500 m/z.

Podstawą identyfikacji komponentów benzyny były czasy retencji oraz uzyskane widma masowe poszczególnych związków.

Zastosowana metoda została poddana walidacji. Limit wykrywalności i oznaczalności we krwi wyznaczono dla najniższych stężeń m,p-ksylenu we krwi dających stosunek sygnału do szumów równy odpowiednio 3 dla *LOD* i 10 dla *LOQ*. Odzysk (przy stężeniu 10  $\mu$ g/ml), precyzję wewnątrzgrupową oraz zakres liniowości zestawiono w tabeli I.

### 3.4. Badania dodatkowe

Próbka krwi i moczu poddana rutynowym badaniom na zawartość alkoholu etylowego wykazała: krew 1,70%, mocz 1,94%. W próbce krwi nie stwierdzono obecności karboksyhemoglobiny. Przeprowadzone badania skryningowe próbek krwi metodą immunoenzymosorbecyjną (ELISA) na obecność pochodnych amfetaminy i metamfetaminy, opiatów, benzodiazepin, kokainy oraz kannabinoli dały wyniki negatywne.

## 4. Wyniki i ich omówienie

Skład jakościowo-ilościowy benzyny bezołowiowej stosowanej głównie do napędu silników spalinowych podlega odpowiednim normom użytkowym warunkującym bezpieczną, a zarazem korzystną energetycznie eksploatację. Benzyna jako nośnik energii jest mieszaną zróżnicowanych związków chemicznych, których skład przedstawiono w tabeli II.

Największe narażenie na działanie toksyczne składników tworzących benzynę występuje nie tylko w przemyśle petrochemicznym, ale również podczas dystrybucji i czynności eksploatacyjnych pojazdów z silnikami spalinowymi. Komponenty tworzące benzynę, a szczególnie węglowodory alifatyczne czy aromatyczne, łatwo

wchłaniają się przez układ oddechowy i skórę. Wymienione grupy należą do związków lipofilnych o małym napięciu powierzchniowym, warunkującym wysoką przenikalność do tkanek bogatych w lipidy, a w szczególności do tkanki nerwowej. Po jednorazowym, ostrym zatruciu benzyną na ogół nie obserwuje się uszkodzeń narządów mięszzowych czy układu krwiotwórczego, co jest efektem długotrwałego narażenia np. inhalacyjnego. Dla przypadków zatruc ostrych istotne znaczenie ma określenie stężenia benzyny we krwi.

Notowane w piśmiennictwie zakresy stężeń benzyny dla diagnozowanych przypadków zatruc śmiertelnych przedstawiono w tabeli III. W zestawionych doniesieniach autorzy w celu oznaczenia benzyny metodą chromatografii gazowej dokonywali wyboru różnych jej komponentów jako układu odniesienia. Nagata i in. oznaczali benzynę na podstawie pików dwóch niezidentyfikowanych jej składników. Carnewale i in. użyli do oznaczenia 2-metylopentanu jako pików referencyjnych. Kimura i in. jako pików odniesienia użyli benzenu. Matsmoto i in. oznaczali benzynę w odniesieniu do kilku składników. W ocenie przypadków zatruc opisanych przez Martineza i in. wszystkie oznaczenia benzyny dokonano w odniesieniu do m,p-ksylenu [5, 6].

Nieliczne udokumentowane przypadki zatruc benzyną charakteryzują się niespecyficznym obrazem sekcyjnym, w którym dominuje przekrwienie płuc w przypadku ekspozycji inhalacyjnej. Opisano również oparzenia chemiczne powierzchni ciała w przypadku przedłużonego kontaktu skóry z benzyną. Przypadki takie wymagają odpowiedniej diagnostyki chemiczno-toksykologicznej.

Ukierunkowanemu badaniu toksykologicznemu poddano przypadek ekspozycji na składniki benzyny. Do izolacji i oznaczenia benzyny w materiale biologicznym zastosowano metodę opracowaną przez Martineza, która pozwala na szybką i precyzyjną diagnostykę przypadków zatrucia. W analizie ilościowej benzyny metodą chromatografii gazowej i spektrometrii masowej wykorzystano obecność m,p-ksylenu, który stanowił referencyjny układ odniesienia kalibracyjnego. Równocześnie w badaniach ilościowych zastosowano jako wzorzec wewnętrzny n-oktanobenzen, który nie występuje w grupie komponentów tworzących benzynę bezołowiową. Zaproponowane warunki analizy chromatograficznej pozwalają na szybką analizę jakościowo-ilościową benzyny. Typowy zapis chromatograficzny analizy benzyny wzorcowej, próbki krwi badanej oraz próbki ślepej przedstawiono na rycinie 1.

Podstawą obiektywnej oceny zagrożenia są ustalone zakresy stężeń benzyny w odniesieniu do jej referencyjnego składnika, m,p-ksylenu, który występuje w każdej próbce materiału sekcyjnego niezależnie od rodzaju odbytej ekspozycji [5, 6]. Uzyskane wyniki analizy ilościowej benzyny w zabezpieczonym materiale sekcyjnym wskazują, iż wysokie stężenie benzyny oznaczono w móż-

gu, tkance tłuszczowej oraz wątrobie. Niższe stężenie we krwi dowodzi, iż węglowodory ulegają kumulacji w tkankach bogatych w lipidy.

Odnosząc uzyskane wyniki oznaczeń w poszczególnych tkankach do rezultatów uzyskanych tą samą metodą i opublikowanych przez Martineza i in. [5, 6], należy wskazać na zbieżność ustalonych zakresów stężeń, które występowały w grupie zatruc inhalacyjnych. Fakt wykazania obecności trudno lotnych węglowodorów: izomerów tetrametylobenzenu naftalenu i metylonaftalenu, których nie stwierdzano w zatruciach inhalacyjnych [5, 6] oraz potwierdzenie znikomej ilości benzyny w treści pokarmowej w porównaniu z innymi tkankami, sugeruje udział absorpcji transdermalnej jako dominującej.

Dodatkowa analiza toksykologiczna materiału sekcyjnego, która wykazała obecność alkoholu etylowego w organizmie denata (krew 1,70‰, mocz 1,94‰), wskazuje na potencjalną możliwość jego synergistycznego, depresyjnego oddziaływania na ośrodkowy układ nerwowy.

## 5. Podsumowanie

Diagnostyka zatruc benzyną bezołowiową, która stanowi zespół zróżnicowanych lotnych związków chemicznych z grupy węglowodorów alifatycznych, aromatycznych, alkoholi, estrów oraz heterocyklicznych, wymaga odpowiednich postępowań analitycznych warunkujących obiektywną ocenę przyczynowo-skutkową.

Zaproponowana metoda izolacji oraz analizy jakościowo-ilościowej w materiale biologicznym oparta na zasadzie chromatografii gazowej i spektrometrii masowej z wykorzystaniem jako komponentu referencyjnego m,p-ksylenu oraz wzorca wewnętrznego n-oktanobenzenu, zapewnia wysoką precyzję oraz powtarzalność przydatną w toksykologii klinicznej i sądowej.

W ocenie przyczynowo-skutkowej przypadków śmierci nagłej, z podejrzeniem o ekspozycję na benzynę, należy uwzględnić wszystkie okoliczności towarzyszące zdarzeniu, a w szczególności udział ksenobiotyków oddziałujących depresyjnie na centralny układ nerwowy, do których należy między innymi alkohol etylowy.