

## Nachweis von Propan, Isobutan und n-Butan nach unterschiedlichen postmortalen Asservierungszeiten

Wolfgang Römhild<sup>1,\*</sup>, Enno Logemann<sup>2</sup>, Elke Below<sup>3</sup>, Ursula Standke<sup>4</sup>, Juliane Höfig<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum, AöR, Magdeburg; \*ka7201-120@online.de

<sup>2</sup>Speckbacherweg 3, D-79111 Freiburg/Br.

<sup>3</sup>Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Greifswald, Kuhstraße 30, D-17489 Greifswald

<sup>4</sup>LKA Thüringen - Dezernat 41, Kranichfelder Straße 1, D-99097 Erfurt

<sup>5</sup>Institut für Rechtsmedizin, Universitätsklinikum Jena, Fürstengraben 23, D-07743 Jena

---

### 1. Einleitung

Propan, Isobutan und n-Butan sind als halogenfreie Treibmittel in Sprühdosen leicht zugängliche und preiswerte Schnüffelstoffe. Das Problem der missbräuchlichen Inhalation von Treibgasen hat nicht an Aktualität verloren, obwohl die hier vorgestellten Ergebnisse bereits vor einiger Zeit erzielt wurden. Erneute Todesfälle belegen, dass Konsumenten die Gefahren nach wie vor unterschätzen. So fand Kalentzi 2012 in einer statistischen Arbeit über vergiftungsbedingte Todesfälle heraus, dass im Bereich des Giftinformationszentrums-Nord 40% der letalen Intoxikationen der im Alter von 13 – 19 Jahren Verstorbenen ursächlich auf die Inhalation von Propan/Isobutan/n-Butan zurückzuführen waren [1].

Als mögliche Todesursachen waren einerseits Hypoxie wegen Sauerstoffmangels, aber auch Narkose bis zur Atemlähmung oder/und „Sekudentod“ infolge kardialer Arrhythmie („Sudden Sniffing Death Syndrome“, SSDS) zu diskutieren. Valide Analysen der Treibgase in Organproben sind für das Studium der todesursächlichen Zusammenhänge erforderlich. Ein Problem der Treibgasanalysen ist die hohe Flüchtigkeit der Analyten (Siedetemperatur: Propan -42°C, Isobutan -11.7°C, n-Butan -0,5°C; Dampfdruck bei 20°C: Propan 830 kPa, Isobutan 302 kPa, n-Butan 208 kPa). Die Methoden anderer Autoren führten zu folgenden Überlegungen:

Pfeiffer et al. [2] wandten zur Herstellung von Kalibrationsproben für Isobutan-Analysen ein recht praktisches Verfahren der gravimetrisch kontrollierten Aufnahme von Isobutan-Gas/Dampf in eine Paste einer fetthaltigen Emulsion an. Die den Organproben angepassten Mengen der Paste waren die Grundlage für die Kalibration erfolgreicher Bestimmungen der Einzelsubstanz Isobutan. Diese Methode wurde für die Bestimmung von Propan/Isobutan/n-Butan nicht herangezogen, weil die drei zu bestimmenden Verbindungen sehr unterschiedliche Dampfdrucke bei Raumtemperatur und unterschiedliche Henry-Konstanten haben und die sich gegenseitig beeinflussenden Partialdampfdrucke im Gemisch nicht überschaubar wären.

Die von Kolb und Etre [3] entwickelte MHE-Methode („Multiple Headspace Extraction“) mit einem Probengeber der Gleichdruckdosierung wurde von verschiedenen Autoren bevorzugt angewandt [4]. Spritzendosierung war nicht gleichermaßen erfolgreich [5]. Von Bouche [6] wurde 2002 ein Verfahren zur Bestimmung der Treibgase unter Verwendung eines Prüfgasgemisches vorgeschlagen, das als Basis für die folgenden Arbeiten diente. Diese Methode wurde unter folgenden Aspekten weiterentwickelt:

- Zunächst wurde abgeschätzt, wie stark das reale Gasverhalten von dem vorausgesetzten idealen Gascharakter abweicht.
- Für die atmosphärischen Einflüsse wurden Auswirkungen des Gasgesetzes ergänzt.

- Die aufwändigen Korrekturen nach dem Gasgesetz wurden mittels gravimetrischen Korrekturfaktors vereinfacht.
- Das Volumenverhältnis ( $V_{\text{Dampfphase}}/V_{\text{kondensierte Phase}}$ ) in der Headspace-Gleichung wurde konsequent eingehalten, und eine Tieftemperaturmethode für die Präparation der Organproben entwickelt.

Im Zusammenhang mit der Aufklärung von Todesursachen interessierte die Frage, ob geraume Zeit nach der Obduktion noch ein Nachweis von gasförmigen Kohlenwasserstoffen geführt werden kann. Ausgangspunkt der Untersuchungen waren 3 Fälle mit todesursächlicher Inhalation der Treibgase Propan, Isobutan und/oder n-Butan, die nicht sofort nach der Obduktion analysiert wurden. In einem der Fälle war vom Organ Leber genügend Material vorhanden, sodass die Abnahme der Isobutan/n-Butan-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Asservierungszeit (ohne luftdichten Verschluss) über einen Zeitraum von mehreren Jahren beobachtet werden konnte.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Headspace-GC/MS-Gerätesystem

Die analytische Messmethode war Headspace-GC/MS. Damit war auch bei einem großen Überschuss an flüchtigen Substanzen wie Ethanol und Acetaldehyd eine sichere Identifizierung und Quantifizierung gegeben. Die Gerätekombination bestand aus einem Headspace-Probengeber HS 800 (CTC Analytics, Zwingen, Schweiz), einem Gaschromatographen HP 5890 II und einem massenspezifischen Detektor HP 5972 (Agilent Technologies, Palo Alto, USA). Die Details der Headspace-, GC- und Detektor-Parameter wurden bereits früher beschrieben [5]. Daher beschränkt sich diese Mitteilung auf eine Aufzählung der wesentlichen Daten der Methode.

Headspace: CTC HS 800 Probengeber mit Probenrotation und Spritzendosierung mit temperierter Spritze, 1 g Organ bzw. 1 ml Blut in 10 ml Vials, Thermostat-Temperatur: 60 °C, Thermostatierzeit: 20 min, Injektion von 1 ml Dampfraumvolumen in den GC.

GC/MS: GC HP 5890 / MSD HP 5972, Kapillarsäule: Poraplot Q, 30 m x 0,32 mm, 8 µm, Temperaturprogramm: 130°C, 6 min, rate 20°C/min, 200°C, 3,7 min, MSD: SIM mode, m/z 27, 29, 41, 43, 58, 101, 103.

### 2.2. Prüfgas

Ein kommerzielles Prüfgasgemisch aus Propan, n-Butan, Isobutan und Stickstoff 5.0 (Fa. Messer, Griesheim, Krefeld, BRD), dessen Zusammensetzung Tabelle 1 zeigt, ermöglichte eine präzise Kalibration. Für den Fall, dass nur ideale Gase miteinander gemischt wurden, entspricht das % v/v – Verhältnis der molaren Zusammensetzung. Für die Einschätzung, wie stark das reale Verhalten des Prüfgases vom Verhalten der idealen Gase abweicht, sind in Tabelle 1 die Kompressibilitätsfaktoren  $Z$  (auch Realgasfaktor genannt) aus den Landolt/Börnstein-Tabellen [7] für SATP-Bedingungen zitiert (Tab. 1 Fußnote 2 - Standard Ambient Temperature and Pressure wird für gaschromatographische Messungen empfohlen). Aus dem SATP-Normvolumen 24465 ml/mol und den Kompressibilitätsfaktoren wurden die molaren Volumina der Einzelkomponenten für reale Gase und deren Anteile im Prüfgas berechnet. Die Addition der realen Gasanteile ergab 24450,9 ml. Die Abweichung vom idealen

$$Z_{25^{\circ}\text{C}} = \frac{p \cdot V_{\text{real}}}{n \cdot R \cdot T}$$

Gasverhalten ( $V_{\text{real}}/V_{\text{ideal}} = 1$ ) macht sich mit  $V_{\text{real}}/V_{\text{ideal}} = 0,999425$  erst in der 4. Dezimale bemerkbar und bleibt damit unterhalb der Messgenauigkeit. Daher wird für die weiteren Berechnungen von idealem Verhalten des Prüf gases ausgegangen. Folglich sind die zertifizierten Volumenverhältnisse den molaren Verhältnissen unter Normbedingungen äquivalent.

Tab. 1. Parameter des Prüf gases.

Substanz	Volumenanteil im Prüf gas (lt. Zertifikat)	Molmasse	Masse in 22414 ml Prüf gas	Kompressi- bilitätsfaktor Z	Molvolumina der realen Gase	Volumenanteile für SATP- Bedingung der realen Gase
	NB <sup>1)</sup>		NB <sup>1)</sup>	SATP <sup>2)</sup>	SATP <sub>real</sub> <sup>2)</sup>	SATP <sub>real</sub> <sup>2)</sup>
	% v/v	g/mol	g		ml	ml
Propan	<b>0,483</b>	44,10	0,2130	0,9845	24086	116,3
Isobutan	<b>0,486</b>	58,12	0,2825	0,9679	23680	115,1
n-Butan	<b>0,500</b>	58,12	0,2906	0,9706	23746	118,7
Stickstoff	<b>98,531</b>	28,0134	27,6019	0,9998	24460	24100,8
	<b>100%</b>		28,3879			24450,9

Abweichung vom Idealgas:  $V_{\text{real}}/V_{\text{ideal}} = 24450,9 \text{ ml}/24465 \text{ ml} = 0,999425$

<sup>1)</sup> Normbedingung: DIN 1343, 101,325 kPa, 0 °C, molares Normvolumen (22,413 968 ± 0,000 020) l/mol

<sup>2)</sup> SATP: Standard Ambient Temperature and Pressure: 101,3 kPa, 25 °C, molares Volumen 24,465 433 l/mol

<sup>3)</sup> Kompressibilitätsfaktoren Z aus [7]

## 2.3. Herstellung der Kalibrationsproben

Die Standards für die Kalibration wurden in 10 ml-Headspace-Röhrchen mit 1 ml bzw. 1 g Matrix (Serum, Blut, Organmaterial) hergestellt. Da für eine validierte Methode das Volumenverhältnis  $V_{\text{Gasphase}}/V_{\text{kondensierte Phase}}$  konstant (s. Punkt 2.5) sein muss, wurden nicht pipettierbare Matrixproben z.B. die Organproben auf (1±0,02) g eingewogen. Für die Dosierung des Prüf gases wurden die gasdicht verschlossenen Vials nacheinander mit einer Kanüle mit Dreiwegehahn versehen. Durch die Kanüle wurde der Gasraum im Vial zunächst evakuiert und anschließend mittels Präzisionspritze mit dem entsprechenden Prüf gasvolumen befüllt bzw. nach Betätigung des Dreiwegehahns vom Vakuum in das Vial hineingesaugt. Je nach Arbeitsbereich wurden Prüf gasvolumina der Reihe 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 ml; oder 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 ml dosiert. Nach Abziehen der Dosierspritze erfolgte Druckausgleich mit dem äußeren Luftdruck. Die Kalibrationsproben äquilibrierten über Nacht. Nach Zugabe des internen Standards (2 µL einer Lösung von 10 mg 1,1,2-Trichlortrifluorethan in 1 ml t-Butylmethylether) wurden die Proben unter den beschriebenen Bedingungen chromatographiert. Ein Beispielchromatogramm für 0,01 ml Prüf gas und einer Matrix von Herzblut ist in Abbildung 1 dargestellt.

## 2.4. Quantifizierung

### 2.4.1. Korrekturfaktor für das Prüf gas in Bezug auf die täglichen Druck- und Temperaturbedingungen

Sowohl bei der Spritzendosierung im Probengeber als auch bei der Befüllung der Kalibrationsproben erfolgte der Druckausgleich zum umgebenden Luftdruck als Basisgröße.

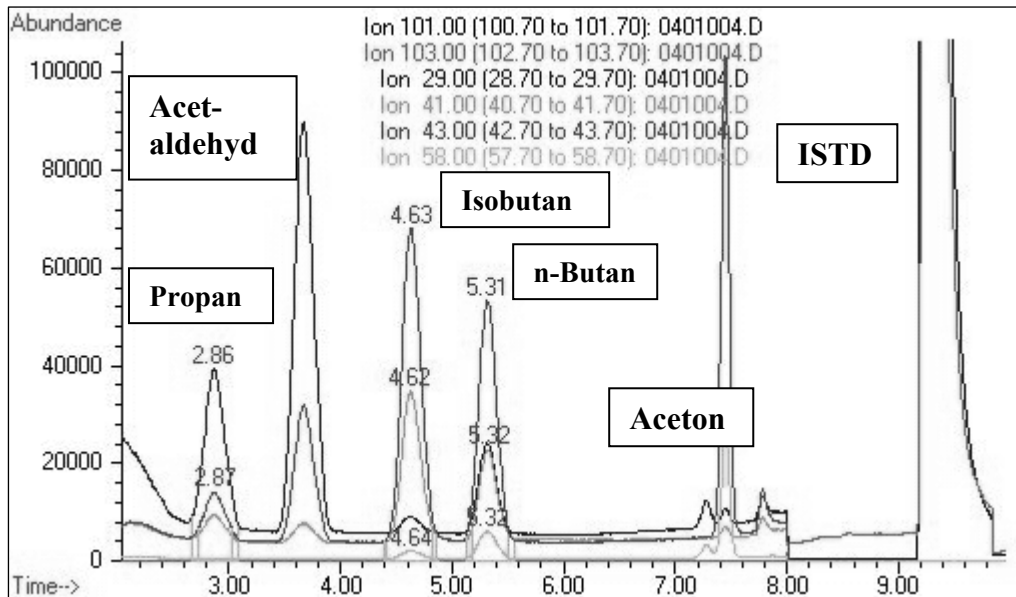


Abb. 1. HS-GC/MS-Chromatogramm von 0,01 mL Prüfgas – Propan 0,086 µg/mL, Isobutan 0,115 µg/mL, Butan 0,118 µg/mL, Matrix: 1 mL Herzblut, ISTD = 20 µg 1,1,2-Trichlortrifluorethan.

Für die Berechnung der Massenanteile in den Kalibrationsproben waren daher der Luftdruck und die Raumtemperatur zu berücksichtigen. In den 9 Jahren, in denen diese Analysenmethode durchgeführt wurde, variierten die Werte des Luftdrucks zwischen 967 hPa und 1042 hPa. Bezogen auf den mittleren Luftdruck Magdeburgs von 1006,3 hPa [8] beträgt die Variationsbreite 7,4 %.

Die gemessene Raumtemperatur im Labor variierte zwischen 18,4 °C und 27,5 °C (Variationsbreite bezogen auf die absolute Temperatur: 3,3 %). Um die Korrekturberechnungen auf ein vertretbares Maß zu reduzieren, wurde ein analysentäglicher Korrekturfaktor (DCF = daily correction factor) eingeführt. Für die Berechnung dieses Faktors wurde eine gasdichte 100 ml-Durchstechflasche evakuiert, leer gewogen und anschließend mit 50 ml Prüfgas befüllt und wiederum gewogen. Dieser Vorgang wurde 10mal durchgeführt und ein Mittelwert (Standardabweichung < 1 % war eine Bedingung) gebildet.

Der Quotient aus der tatsächlichen Masse von 50 ml Prüfgas und der für Normbedingungen errechneten Masse (Tab. 1) ergab den Korrekturfaktor zur Berechnung der Massen an Propan/Isobutan/n-Butan in den Kalibrationsproben. Die Korrekturfaktoren variierten zwischen 0,87 und 0,93. Würde das Gasgesetz ignoriert, wären also die Ergebnisse mit einem systematischen Fehler zwischen 7 % und 13 % behaftet.

#### 2.4.2. Analytische Qualitätsparameter

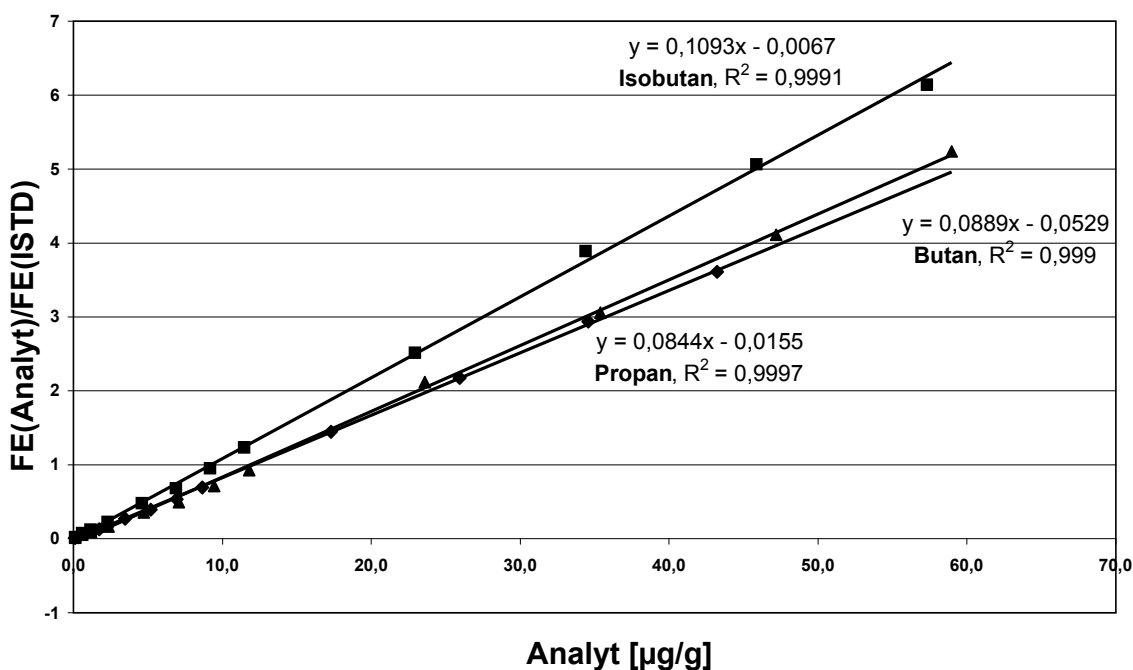
Die analytischen Qualitätsparameter wurden gemäß Leerwertmethode DIN 32645 unter Verwendung eines Rechenprogramms von Schmitt [9] ermittelt. Gegenüber der Validierung nach der Kalibrationsmethode, die mit erheblichem Aufwand für eine frühere Arbeit [10] durchgeführt wurde, passt sich die Leerwertmethode einfach an die Bedingung an, dass wegen des analysentäglichen zu bestimmenden Korrekturfaktors für gleiche Prüfgasvolumina unterschiedliche Werte für die Konzentrationen gelten.

Die wichtigsten Qualitätsparameter gemäß Leerwertmethode sind in Tabelle 2 enthalten. Die Kalibrationen sind bis ca. 50 µg/g linear (Abb. 2). Auch bei dieser weit ausgedehnten Kalibration weichen die Schnittpunkte der Kalibrationsgeraden nur wenig vom Nullpunkt ab.

Tab. 2. Qualitätsparameter nach der Leerwert-Methode DIN 32645.

	<b>Propan</b>	<b>Isobutan</b>	<b>Butan</b>
k-Wert <sup>1)</sup>	3	3	3
Alpha-Fehler (%)	1,0	1,0	1,0
Steigung [FE/ $\mu$ g]	423968	14699	52276
Anzahl der Leer-Werte	10	10	10
Mittelwert	1782 FE <sup>2)</sup>	560 FE	522FE
Standardabweichung	203 FE	156 FE	187FE
Normalverteilt?	ja	ja	ja
Homogen? (F-Test)	ja	ja	ja
Anzahl der Werte	10	10	10
Mittelwert	3127 FE	2507 FE	9099 FE
Standardabweichung	400 FE	321 FE	345 FE
Normalverteilt?	ja	ja	ja
Nachweisgrenze (NG)	0,001 $\mu$ g/g	0,031 $\mu$ g/g	0,011 $\mu$ g/g
Erfassungsgrenze (EG)	0,003 $\mu$ g/g	0,063 $\mu$ g/g	0,021 $\mu$ g/g
Bestimmungsgrenze (BG)	0,004 $\mu$ g/g	0,094 $\mu$ g/g	0,032 $\mu$ g/g

<sup>1)</sup> relative Ergebnisunsicherheit, <sup>2)</sup> FE – Flächeneinheit in [counts x sec]

Abb. 2. Die Kalibrationen sind linear für Propan bis 42,9  $\mu$ g/g, für Isobutan bis 56,9  $\mu$ g/g und für Butan bis 58,6  $\mu$ g/g (Matrix: homogenisiertes Blut).

## 2.5. Probenvorbereitung

Entsprechend der Headspace-Gleichung (s. Fußnote nächste Seite) ist es erforderlich, für die Kalibration und die Bestimmung der Analysenproben konsequent das gleiche Volumenverhältnis  $\beta$  einzuhalten. Wegen der Flüchtigkeit der Analyten erschien eine Einwaage bei Raumtemperatur, die mehrere Minuten dauert, problematisch. Außerdem entsprachen die Bedingungen im Sektionssaal nicht den Aufstellvorschriften für eine geeichte Waage.

Daher wurde im Magdeburger Institut für Rechtsmedizin folgende Präparation eingehalten. Die entnommenen Organproben wurden sofort nach der Entnahme in 22 ml-Röhrchen überführt, gasdicht verschlossen und bei  $-18^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. Für die Analyse wurden die noch gefrorenen Organproben zunächst grob zerkleinert und anschließend bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs in einem Porzellanmörser pulverisiert. Das pulverförmige Organmaterial wurde auf  $1,0(\pm 0,02)\text{g}$  eingewogen und sofort mit Crimp-Verschluss versehen. Nach Zugabe mittels gasdichter Hamilton<sup>®</sup> Spritze von  $2\ \mu\text{l}$  ( $20\ \mu\text{g}$ ) ISTD-Lösung ( $10\ \text{mg/ml}$  1,1,2-Trichlortrifluorethan in t-Butyl-methylether) wurden die Proben chromatographiert. Die Bestimmung von Isobutan und n-Butan erfolgte mit dem Targetion  $m/z$  58, da die deutlich höheren Signale von  $m/z$  29 und 43 von koelulierendem Ethanol verfälscht würden (Abb. 1).

Die Organproben des Falles (1) waren wie oben beschrieben entnommen und hermetisch verschlossen, die Proben des Falles (2) nur zu einem Teil luftdicht verschlossen und die Organe des Falles (3) ohne luftdichten Verschluss in Plastikeinmalgefäßen asserviert worden. Alle Proben gingen auf dem Postweg ein. Die weitere Bearbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

### 3. Zeitabhängigkeit der Verflüchtigung der Treibgase aus dem Organmaterial

Die Frage, wie lange die Gase Propan, Isobutan und n-Butan im Obduktionsgut nachweisbar sind, wird an 3 Fällen mit unterschiedlichen Asservierungsbedingungen behandelt.

#### 3.1. Fall (1)

Ein 10 Jahre alt gewordener Junge wurde in der elterlichen Wohnung tot in einem Plastiksack liegend aufgefunden. In der Nähe befanden sich verschiedene Sprayflaschen. Wegen des Verdachts, dass Treibgase inhaliert worden waren, wurden Organproben während der Sektion luftdicht asserviert. Die Analyse 249 Tage post mortem hatte folgende Ergebnisse (Tab. 3).

Tab. 3. Analysenergebnisse des Falles (1).

	Propan	Isobutan $\mu\text{g/ml}$ bzw. $\mu\text{g/g}$	n-Butan
Lunge	0,40	< BG	12,50
Niere	1,00	0,17	29,00
Herzblut rechts	< BG	neg	2,00
Herzblut links	< BG	neg	3,20

n-Butan war 8 Monate post mortem in den bei  $-18^{\circ}\text{C}$  unter Luftabschluss asservierten Organproben in einer Konzentration nachweisbar, die den Verdacht der missbräuchlichen Inhalation bestätigte.

#### 3.2. Fall (2)

Ein 41 Jahre alt gewordener Mann wurde in seiner Wohnung tot bäuchlings mit dem Oberkörper in einem Plastiksack liegend aufgefunden. In dem Plastiksack befand sich auch eine geöffnete Propangasflasche. Während der Obduktion wurden Herzblut- und Lungenproben

---

Die Headspace-Gleichung  $A \propto C_G = C_0/K + \beta$  beschreibt den Zusammenhang zwischen der Fläche A des analytischen Signals nach Analyse eines Headspacealiquots, der Analytkonzentration  $C_G$  im Dampfraum, der ursprünglichen Analytkonzentration  $C_0$  in der Probe, der Gleichgewichtskonstante K ( $=C_{\text{kondensierte Phase}}/C_{\text{Dampfraum}}$ ) und dem Phasenverhältnis  $\beta$  ( $=V_{\text{Dampfraum}}/V_{\text{kondensierte Phase}}$ ) [3].

luftdicht verschlossen und tiefgekühlt asserviert. Die Proben von Leber und Bauchfett wurden in Plastikeinmalgefäßen asserviert und tiefgekühlt aufbewahrt. Luftdicht verschlossen wurden diese Proben erst 10 Monate später und weiterhin tiefgekühlt asserviert. Die Ergebnisse der Analyse 345 Tage post mortem sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4. Analysenergebnisse des Falles (2).

	<b>Propan</b>	<b>Isobutan</b> µg/ml bzw. µg/g	<b>n-Butan</b>
Lunge	1,48	< BG	0,03
Leber	32,80	1,07	1,37
Bauchfett	10,30	0,09	4,55
Herzblut	1,88	neg	< BG

Auch aus den Analysenergebnissen fast ein Jahr später, ist die missbräuchliche Inhalation herzuweisen, obwohl einige Proben erst 2 Monate vor der Analyse luftdicht verschlossen wurden.

### 3.3. Fall (3)

Eine 16 Jahre alt gewordene weibliche Person wurde bewusstlos auf ihrem Bett in halbsitzender Position aufgefunden. Der hinzugezogene Notarzt begann sofort mit der Reanimation, die dann aufgrund der Reaktionslosigkeit des Herzens (EKG-Nulllinie) und lichtstarrer Pupillen erfolglos abgebrochen wurde. Im Zimmer des Mädchens befanden sich eine feuchte Plastiktüte und eine Butan-Nachfüllflasche. Die Staatsanwaltschaft veranlasste eine toxikologische Analyse einschließlich der Kohlenwasserstoffe. Die während der Obduktion entnommenen Proben wurden tiefgekühlt in Einmalplastikgefäßen mit Schraubdeckeln asserviert. Folgende Analysenergebnisse wurden 63 Tage post mortem ohne hermetischen Luftabschluss erhalten (Tab. 4).

Tab. 5. Analysenergebnisse des Falles (3).

	<b>Propan</b>	<b>Isobutan</b> µg/ml bzw. µg/g	<b>n-Butan</b>
Herzblut	< BG	0,4	5,8
Lunge	< BG	0,7	3,4
Lungenpress-flüssigkeit	< BG	1,5	7,0
Leber	0,1	13,5	37,4

Obwohl die Asservate nicht unter hermetisch abgeschlossenen Bedingungen aufbewahrt wurden, konnten Isobutan und n-Butan auch hier in Konzentrationen nachgewiesen werden, die den inhalativen Abusus bestätigten.

### 4. Langzeitanalyse der Leber aus Fall (3)

Die vorstehenden Ergebnisse waren Anlass zu einer Langzeituntersuchung der Leber vom Fall (3). In unregelmäßigen Abständen wurde diese bei -18°C im Plastikeinmalgefäß mit Schraubverschluss aufbewahrte Leber analysiert. Es wurden jeweils 3 Proben bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs im Porzellanmörser pulverisiert und eingewogen wie unter Punkt 2.4 beschrieben. Zusätzlich wurden jeweils 3 Proben unter Raumtemperatur Bedingungen eingewogen und - wie oben beschrieben - analysiert. In Abbildung 3 ist graphisch die

Abnahme der Isobutan-Konzentration und in der Abbildung 4 der n-Butan-Konzentration dargestellt. Die Messpunkte **A** entsprechen der Abfüllung unter Raumtemperatur und die Messpunkte **B** der Probenpräparation bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs. Ein Chromatogramm der B-Serie 1148 Tage post mortem ist in Abbildung 5 dargestellt.

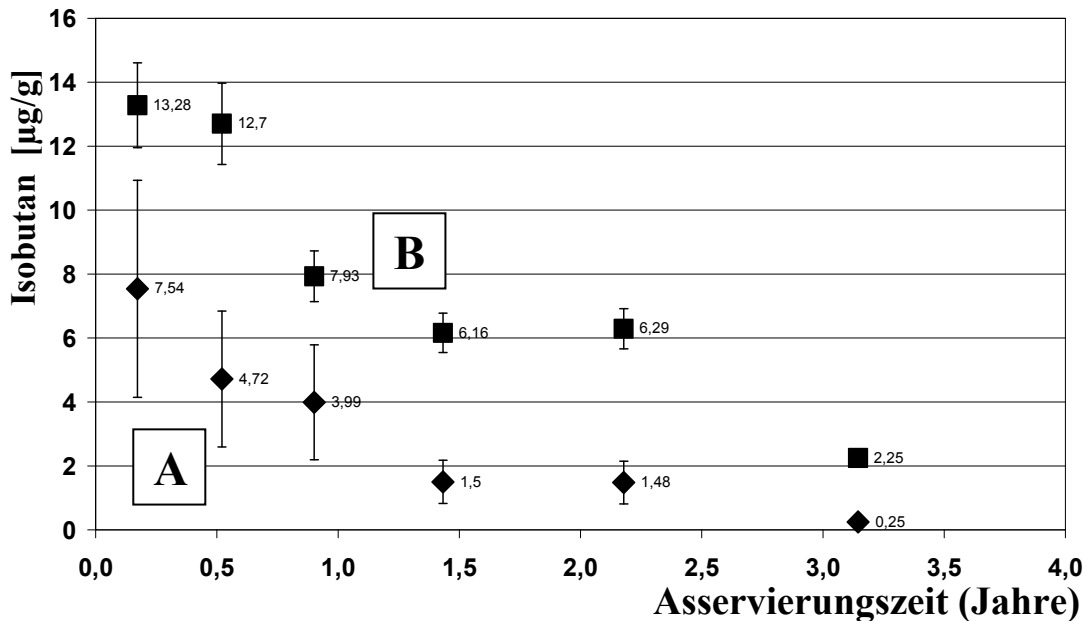


Abb. 3. Isobutan-Konzentration der im Fall 3 asservierten Leber als Funktion der Asservierungszeit. **A** – Proben bei 0° bis -5°C zerkleinert und bei Raumtemperatur eingewogen. **B** – Proben unter flüssigem Stickstoff mittels Porzellanmörser homogenisiert und als tiefgekühltes Pulver eingewogen. Die in der Grafik genannten Zahlen geben jeweils die Analysenergebnisse der Isobutankonzentrationen [µg/g] an.

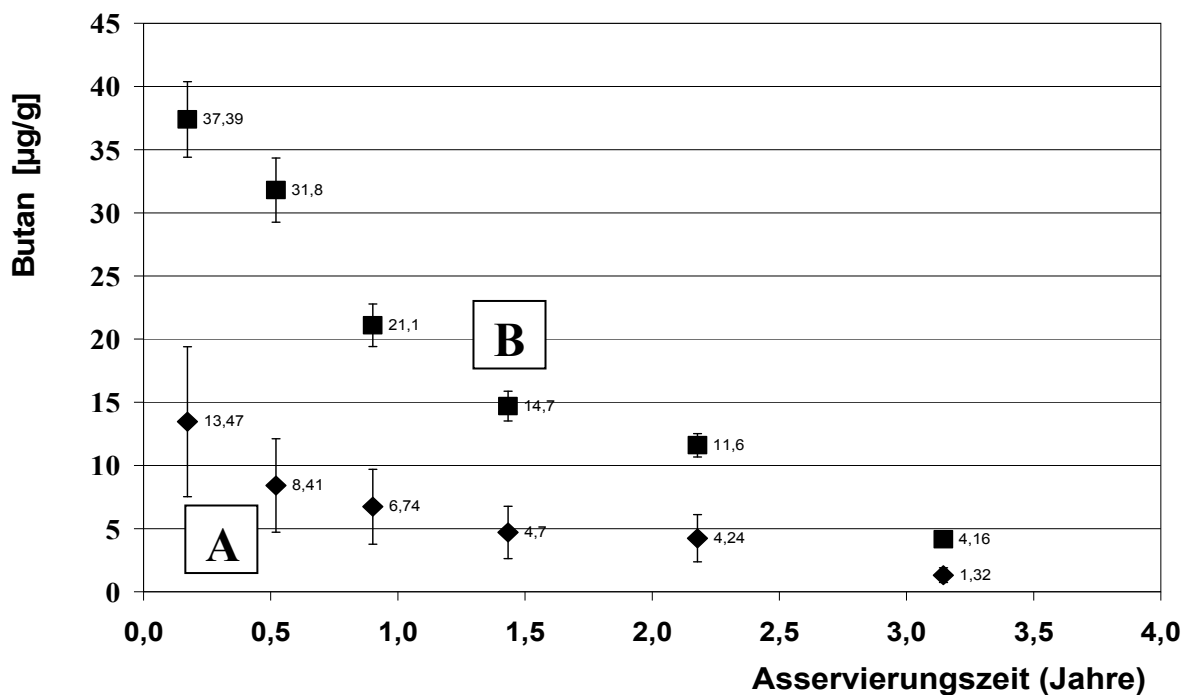


Abb. 4. Butan-Konzentration der im Fall 3 asservierten Leber als Funktion der Asservierungszeit. **A** – Proben bei 0° bis -5°C zerkleinert und bei Raumtemperatur eingewogen. **B** – Proben unter flüssigem Stickstoff mittels Porzellanmörser homogenisiert und als tiefgekühltes Pulver eingewogen. Die in der Grafik genannten Zahlen geben jeweils die Analysenergebnisse der Butan-Konzentrationen [µg/g] an.



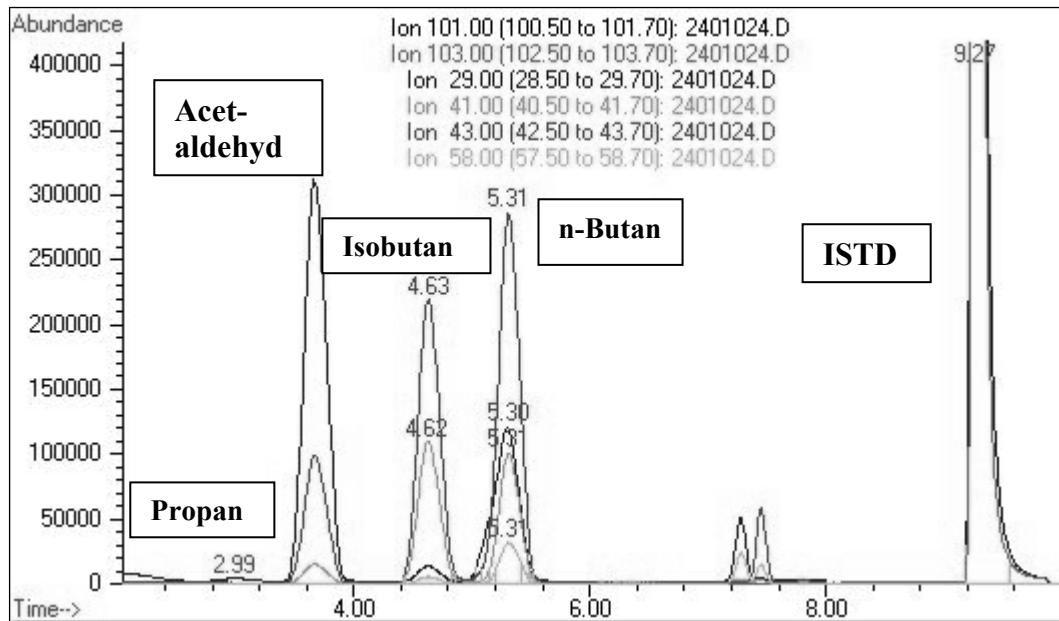


Abb. 5. Headspace-GC/MS-Chromatogramm aus der Leber (Fall 3), 1148 Tage post mortem.

## 5. Ergebnisse und Diskussion

Die Verwendung eines Prüfgases hat sich bewährt für die simultane Bestimmung von Propan, Isobutan und n-Butan in Organproben. Für ein N<sub>2</sub>-Prüfgasgemisch mit je ca. 0,5 % der Analyten konnte wegen der geringen Abweichungen des realen Gasgemisches vom Verhalten eines idealen Gases ausgegangen werden. Die zumeist aufwändigen Korrekturen nach dem Gasgesetz konnten durch die Einführung eines gravimetrisch ermittelten Korrekturfaktors auf ein vertretbares Maß gesenkt werden. Da Analysen-täglich die Analytkonzentrationen mit Luftdruck und Raumtemperatur variierten, war die Validierung der Analysenmethode mittels Leerwertmethode (DIN 32645) eine geeignete Alternative zur Validierung mittels Kalibrationsmethode. Die ermittelten analytischen Grenzwerte (Tab. 2) mit den Nachweisgrenzen (LOD) für Propan 0,001 µg/g, Isobutan 0,031 µg/g und n-Butan 0,011 µg/g und den Bestimmungsgrenzen (LOQ) für Propan 0,004 µg/g, Isobutan 0,094 µg/g und n-Butan 0,032 µg/g sind in der gleichen Größenordnung wie die Grenzwerte anderer Autoren [2, 3] und sind ausreichend für alle von Jackowski et al. [10] tabellarisch erfassten Analyseergebnisse von todesursächlichen Treibgas-Inhalationen.

Die chromatographische Trennung auf einer PLOT<sup>®</sup>-Säule im Zusammenhang mit einer Headspace-GC/MS-Gerätekombination ergab Basislinienchromatogramme (Abbildungen 1 und 5) mit fast symmetrischen Peaks, deren substanzspezifische Target- und Qualifierionen (Propan m/z 29, 43, Isobutan m/z 58, 43, n-Butan m/z 58, 43) ausgewertet wurden. Störende Koelutionen mit physiologischen Substanzen oder Abusus-Inhalaten (tabellarische Übersicht bei Bouche [3]) wurden nicht beobachtet.

Ausgangspunkt der Untersuchungen waren 3 Fälle mit unterschiedlichen postmortalen Asservierungszeiten. Im Fall (1) war n-Butan in den während der Sektion luftdicht verschlossenen und tiefgekühlt gelagerten Organproben 249 Tage postmortal in erheblicher Konzentration (Tab. 3) nachweisbar.

Im Fall (2) ist erstaunlich, dass die in luftdicht verschlossenen Gefäßen asservierten Organe Lunge und Herzblut relativ geringe Propankonzentrationen enthielten, während in den erst 10 Monate später luftdicht verschlossenen Organproben Leber und Bauchfett viel höhere Propankonzentrationen nachweisbar waren. Offenbar sind die Mechanismen zur Speicherung

der Treibgase organabhängig. Unklar ist auch die Herkunft des n-Butans im Bauchfett. Vermutlich wurde das n-Butan früher infolge Butan-haltiger Inhalationen akkumuliert.

Im Zusammenhang mit der Frage, wie stark lipophile Wechselwirkungen die Gase Propan/Isobutan/n-Butan im biologischen Material binden können, war die Untersuchung der Leberproben des Falles (3) interessant, die während der Obduktion lediglich in Plastikeinmalgefäßen tiefgekühlt asserviert worden waren. Ohne hermetischen Verschluss waren 63 Tage nach Todeseintritt Isobutan und n-Butan in erheblichen Konzentrationen in den Organproben nachweisbar (Tab. 5).

Dieses Ergebnis war Anlass für das unter Punkt 4 beschriebene Langzeitexperiment zur Untersuchung der Flüchtigkeit der Treibgase aus Organproben über einen Zeitraum von über 3 Jahren für Isobutan und n-Butan. Tabelle 6 enthält die Mittelwerte und Variationskoeffizienten von jeweils 3 Einzelanalysen für die Präparationsmethode A (Einwaage bei Raumtemperatur) und Präparationsmethode B (Pulverisierung der Organproben unter flüssigem Stickstoff und Einwaage bei tiefstmöglicher Temperatur). Die Abbildungen 3 und 4 zeigen anschaulich, dass die Pulverisierung der Organe unter flüssigem Stickstoff deutliche Vorteile sowohl für die Präzision der Messwerte als auch für die gemessenen Konzentrationen hat. Nach einem Jahr waren noch ca. die Hälfte der anfänglich nachgewiesenen Konzentrationen von Isobutan und n-Butan nachweisbar. Nach etwa 3 Jahren war die Konzentration des Isobutans auf ca. 1/6 und die Konzentration des n-Butans auf ca. 1/9 des Anfangswertes abgesunken. Ohne spezielles Hermetisieren der Leberprobe waren also nach 3 Jahren noch relevante Mengen Isobutan und n-Butan nachweisbar. Für die forensische Praxis bedeutet dies, dass eine missbräuchliche Inhalation von Treibgasen auch nach längerer postmortaler Liegezeit in der Leber (bzw. auch im Bauchfett und im Hirn) nachweisbar sein könnte.

Tab. 6. Zeitabhängigkeit der Analytverluste von Isobutan und Butan aus einer bei -18°C gelagerten Leberprobe.

Zeit post mortem		Methode A				Methode B			
Tage	Jahre	Isobutan		Butan		Isobutan		Butan	
d	a	µg/g	VK %	µg/g	VK %	µg/g	VK %	mg/kg	VK %
63	0,17	7,54	37	13,47	47	13,28	9,7	37,39	8,7
190	0,52	4,72	42	8,41	44	12,7	10,8	31,8	11
329	0,90	3,99	46	6,74	87	7,93	8,8	21,1	9,1
523	1,43	1,5	100	4,7	86	6,16	9,4	14,7	7,3
795	2,18	1,48	28	4,24	47	6,29	3,7	11,6	3,4
1148	3,15	0,25	54	1,32	12	2,25	8,1	4,16	5,9

Um eine postmortale Neubildung der Analyten auszuschließen, wurden 10 analytfreie Leberproben aus anderen Obduktionsfällen (5 Proben unter Luftabschluss, 5 Proben in Plastikeinmalgefäßen) nach einem Jahr untersucht. Es war keine Neubildung der Analyten oberhalb der Nachweisgrenze zu beobachten.

Offenbar führen relativ stabile lipophile Wechselwirkungen der Gase Propan/Isobutan/n-Butan mit Zellbestandteilen besonders der Leber (bzw. des Fettgewebes und der Nervenzellen) dazu, dass der Dampfdruck und damit die Analytverluste relativ gering bleiben. Weitere Forschungen sind nötig, um die noch weitgehend unbekanntenen Speichermechanismen für gasförmige Kohlenwasserstoffe in menschlichen Organen aufzuklären.

Über den Einfluss von Alkanen (Propan, Butan etc.) auf die menschliche Gesundheit, über Blutspiegeldaten, Intoxikationsfälle etc. (Human Health Effects) existiert eine umfangreiche Literatur, die in der Toxnet-Datenbank (Toxicology Data Network) frei zugänglich ist [11].

## 6. Literatur

- [1] Kalentzi C. Vergiftungsbedingte Todesfälle, Retrospektive Analyse von 316 letalen Intoxikationen des Giftinformationszentrums-Nord, Dissertation, Uni Göttingen 2012. [https://ediss.uni-goettingen.de/bitstream/handle/11858/00-1735-0000-001D-C0F9-B/Todesfälle\\_END\\_2013.06.08.pdf?sequence=3](https://ediss.uni-goettingen.de/bitstream/handle/11858/00-1735-0000-001D-C0F9-B/Todesfälle_END_2013.06.08.pdf?sequence=3).
- [2] Pfeiffer H, Al Khaddam M, Brinkmann B, Köhler H, Beike J. Sudden death after isobutane sniffing: a report of two forensic cases, *Int J Legal Med* 2006;120:168-173.
- [3] Kolb B, Ettre LS. *Static Headspace-Gas-Chromatography – Theory and Practice*, Wiley, New York, 1997; 2<sup>nd</sup> edition 2006.
- [4] Pragst B, Prügel M, Schulze S. Use of the Multiple Headspace Extraction Gaschromatography (MHE-GC) for the quantitative investigation of intoxications by volatile compounds. In: R. K. Mueller (Ed.), *Proceedings of the 31st International Meeting of The International Association of Forensic Toxicologists, MOLINApress, Leipzig, 1994, 408-414.*
- [5] Römhild W, Logemann E, Schmitt G, Alt A, Krebs K, Bartels H, Pedal I, Schmidt U, Beck N, Krause D. Analyse von Propan/Isobutan/n-Butan in vier Todesfällen. In: Pragst F, Aderjan R (Hrsg.). *GTFCH-Symposium 2003 - Beiträge zum XIII. Symposium der GTFCH. Verlag Dr. Dieter Helm, Heppenheim, 2004, 109-122.*
- [6] Bouche MP, Lambert WE, Van Bocxlaer JF, Piette MH, De Leenheer AP. Quantitative determination of n-Propane, iso-Butane, and n-Butane by headspace GC-MS in intoxications by inhalation of lighter fluid. *J Anal Toxicol* 2002;26:35-42.
- [7] Landoldt-Börnstein, GROUP IV, *Physical Chemistry, Volume 21*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2002.
- [8] SKlima, private Wetterstation, Peißenberg. [http://sklima.de/datenbank/tag\\_auswertung.php?datum=12.01.2015&stations\\_id=3126](http://sklima.de/datenbank/tag_auswertung.php?datum=12.01.2015&stations_id=3126)
- [9] Schmitt G. Programm zur Leerwertmethode nach DIN 32645, © 2004-2005 analytiksoft.de, Institut für Rechtsmedizin und Verkehrsmedizin, Uniklinikum Heidelberg, Rev. 1.3 vom 12.10.2005.
- [10] Jackowski C, Römhild W, Aebi B; Bernhard W, Krause D, Dirnhofner R. Autoerotic accident by inhalation of propane-butane gas mixture. *Am J Forensic Med Pathol* 2005;26(4):355–359.
- [11] NIH. U.S. National Library of Medicine. TOXNET® (TOXicology Data NETwork) <http://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/hsdb.htm>.