

Wojciech Lechowicz

Badania toksykologiczne materiału biologicznego pochodzącego ze zwłok generała Władysława Sikorskiego na obecność trucizn organicznych

Toxicological analysis of biological material originating from the body of general Władysław Sikorski for organic poisons

Z Instytutu Ekspertyz Sądowych im. prof. dra Jana Sehna w Krakowie
Dyrektor: dr hab. M. Kała

Badania toksykologiczne osób zmarłych w niejasnych okolicznościach są jednym z kluczowych elementów listy czynności koniecznych dla pełnego ustalenia przyczyny zgonu. W skład kompleksowych badań zwłok generała Władysława Sikorskiego weszła analiza toksykologiczna również na obecność leków i trucizn organicznych pochodzenia roślinnego i syntetycznego, ze szczególnym uwzględnieniem silnie i szybko działających środków stosowanych w latach 40. XX wieku. Analizą objęto szczątki narządów, takich jak żołądek, wątroba, płuca, mózg oraz włosy i inne materiały pobrane ze zwłok lub znalezione w trumnie. Wykorzystano w tym celu klasyczne metody przygotowania próbek, czyli homogenizację, odbiałczanie, ekstrakcję do fazy nadpowierzchniowej oraz ciec-ciecz, a także techniki łączone, głównie chromatografię cieczą i gazową sprzężone ze spektrometrią mas. W wyniku przeprowadzonych badań nie stwierdzono obecności trucizn.

Toxicological analyses performed in individuals who died in unclear circumstances constitute a key element of research aiming at providing a complete explanation of cause of death. The entire panel of examinations of the corpse of general Sikorski also included toxicological analyses for drugs and organic poisons of synthetic and natural origin. Attention was focused on fast-acting and potent poisons known and used in the forties of the century. The internal organs (stomach, liver, lung, brain) and hair, as well as other materials collected from the body and found in the coffin were analyzed. The classic method of sample

preparation, i.e. homogenization, deproteinization, headspace and liquid-liquid extraction were applied. Hyphenated methods, mainly chromatographic with mass spectrometry were used for identification of the analytes. Organic poisons were not identified in the material as a result of the research.

Słowa kluczowe: badania toksykologiczne, generał Władysław Sikorski
Key words: toxicology, Władysław Sikorski

WSTĘP

Celem badań zleconych przez Instytut Pamięci Narodowej było przeprowadzenie wielokierunkowej analizy toksykologicznej materiałów pobranych ze szczątków generała Władysława Sikorskiego na obecność leków oraz trucizn organicznych pochodzenia roślinnego lub syntetycznego. Wykonanie tego typu badań w materiale pochodzącym z ekshumowanych zwłok zawsze stanowi trudne zadanie, dlatego dobór odpowiedniej metodyki jest istotny.

Techniki łączone, głównie chromatograficzne ze spektrometrią mas, są najbardziej efektywnymi w badaniach przesiewowych materiału biologicznego na obecność trucizn organicznych. Zasady uznania wyniku za pozytywny w przypadku tych technik coraz częściej obwarowywane jest ścisłymi normami, które z definicji mają wykluczać wyniki błędne. W ostatnich latach, w miejsce tzw. ogólnie przesiewowych metod,

wprowadza się zawężone metody przesiewowe. Metody przesiewowe mają więc charakter ukierunkowany na ściśle określoną grupę związków, dzięki czemu łatwiej jest sprostać stawianym wymaganiom szczególnie w przypadku materiału pochodzącego z ekshumacji [2]. Ograniczenia procedur do zdefiniowanej grupy związków wynikają nierzadko z możliwości aparaturowych. Chodzi tu głównie o możliwość równoczesnej rejestracji sygnałów analitycznych, przy odpowiednio dużej czułości, dla szerokiej grupy związków. W tym celu stosowana jest najczęściej metoda chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) w trybie monitorowania wybranych reakcji (SRM). Dodatkowo wyniki potwierdzane są wówczas metodą o innej fizykochemicznej zasadzie działania, co jest klasycznym podejściem lub tą samą techniką jednak w trybie monitorowania co najmniej trzech przejść (MRM). Ogólne metody przesiewowe wykorzystują najczęściej chromatografię gazową ze spektrometrią mas (GC-MS) po wcześniejszej derywatywacji analitu. Są one nadal podstawowym sposobem analizy próbek biologicznych dla wykrycia ksenobiotyku.

Okoliczności zgonu mają nierzadko bardzo duże znaczenie dla ukierunkowania sądowej analizy toksykologicznej. W przypadku zgonu generała pozostawały do dyspozycji badacza fragmenty informacji pochodzące ze śledztwa oraz liczne hipotezy historyków zamieszczane w nie mniej licznych publikacjach [4, 11, 12].

W niniejszych badaniach przyjęto dwukierunkowy tok badań – pierwszy klasyczny to tzw. ogólna analiza przesiewowa z rejestracją widm w ultrafiolecie w zakresie długości fal 200-400 nm w metodzie wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD) oraz jonów o szerokim zakresie wartości m/z 45-650. Anality poddawano fragmentacji bezpośrednio oraz po ich derywatywacji w metodzie (GC-MS). Druga droga, to analiza ukierunkowana na obecność silnie i szybko działających trucizn oraz innych o właściwościach fizykochemicznych umożliwiających w zastosowanym toku postępowania analitycznego ich identyfikację [1, 6, 8]. Badania te prowadzono z zastosowaniem metody LC-MS z jonizacją w polu elektrycznym (ESI) w trybie programowanego gradientu składu fazy ruchomej. Badaniem objęto również leki nasenne z grupy pochodnych kwasu barbiturowego, które w latach 40. XX wieku zostały po raz pierwszy zsyntezowane i wdrażane do użytku. Przy pobieraniu materiału do badań wzięto pod uwagę redukcję masy organów wskutek ich wy-

sychania i rozkładu. Kierowano się przy tym obliczeniami poczynionymi przez Iyengara i wsp. [5] wynoszącymi odpowiednio dla wątroby 72%, żołądka 73%, płuc 78%, mózgu 79% oraz włosów 9%. W przybliżeniu pozostałości organów stanowiły około 1/4 ich masy w chwili śmierci. Utrata tak znacznej części płynów, w połączeniu z toczącymi się przemianami pośmiertnymi, z pewnością miała wpływ na stężenia ewentualnych obcych substancji, przy czym wpływ ten nie jest możliwy do ustalenia.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły wycinki narządów wewnętrznych rozpoznanych jako żołądek, wątroba, płuco, mózg oraz próbki włosów pobranych z ekshumowanych po 65 latach zwłok generała Władysława Sikorskiego. Wycinki znajdowały się w daleko posuniętym stadium rozkładu o znacznie zredukowanej w stosunku do normalnej masie.

Odczynniki wykorzystywane w badaniach stanowiły diwodorofosforan potasu $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, wodorofosforan sodu $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, wodorowęglan sodu NaHCO_3 , węglan sodu NaCO_3 , kwas ortofosforowy 85% oraz bufony do kalibracji pH-metru (pH 3, 4, 7 i 9) zakupione w firmie POCh S.A. oraz Chempur. Odczynniki do chromatografii cieczowej, tj. acetonitryl pochodził z firmy Merck, bufor fosforan trietyloamonowy z firmy Fluka Analytical, woda wytwarzana była w destylarce kwarcowej. Wzorce trucizn między innymi strychniny, brucyny, kolchicyny, waratryny, nikotyny, pilokarpiny, digitoksyny, koniiny, akonityny, konwalatoksyny, prazepam pochodziły z firm Sigma, Merck, Cerilliant oraz Sandoz. Tymol, mentol, kamfora były z firm Merck oraz Aldershof. Odczynnik do derywatywacji BSTFA+1%TMCS zakupiono w firmie Supelco.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki płuca oraz mózgu, po 0,5 g, po rozdrobieniu zadano 1 ml n-pentanu i poddano działaniu ultradźwięków, a po odwirowaniu pobrano fazę organiczną do badań metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) z zastosowaniem aparatu Focus GC/DSQ II wyposażonego w kwadrupolowy analizator mas.

Fazę nadpowierzchniową, z 0,2 g próbek płuca oraz mózgu, po rozdrobieniu i przeniesieniu do szczelnie zamkniętych fiolek, badano metodą

chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID) z zastosowaniem aparatu Focus GC/FID.

Dwie próbki wątroby o masie 2 g każda zhomogenizowano. Jedną próbkę zadano 4 ml buforu fosforanowego o pH 3, a drugą 4 ml buforu węglanowego o pH 9. Obie mieszaniny poddano działaniu ultradźwięków przez 30 min, po czym do każdej dodano standard wewnętrzny (prazepam w stężeniu 20 µg/g) oraz po 11 ml octanu etylu. Mieszaniny wytrząsano przez 20 minut. Po odwirowaniu z każdej z nich pobrano po dwie 5 ml próbki fazy organicznej. Po zagęszczeniu fazy organicznej otrzymano dwie 0,5 ml tłuste pozostałości ze środowiska kwaśnego i dwie 0,1 ml pozostałości ze środowiska alkalicznego. Tłuste pozostałości poddano oczyszczaniu przez ponowną ekstrakcję 1 ml acetonitrylu, rozdzielanie, wirowanie i zagęszczanie do 0,1 ml.

Jeden ekstrakt ze środowiska alkalicznego badano bezpośrednio metodą GC-MS z użyciem aparatu Trace GC Ultra Polaris Q wyposażonego w pułpkę jonową. Następnie ten sam ekstrakt i jeden ekstrakt ze środowiska kwaśnego analizowano po derywatywacji (z BSTFA+1% TMCS) metodą GC-MS z zastosowaniem wyżej wymienionego aparatu i takich samych warunków. Drugi ekstrakt ze środowiska kwaśnego (po rozcieńczeniu 0,1 ml 25mM fosforanu trietyloamonowego) i drugi ekstrakt ze środowiska alkalicznego (po rozpuszczeniu w 0,5 ml fazy ruchomej) analizowano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową (HPLC-DAD) przy użyciu aparatu LaChrom Elite.

Próbkę żołądka, o masie 1 g, po rozdrobnieniu zadano 4 ml wodnego roztworu amoniaku o pH 9 oraz prazepam (w stężeniu 20 µg/g) ekstrahowano 11 ml octanu etylu. Po odwirowaniu pobrano dwie 5 ml próbki fazy organicznej, które odparowano oddzielnie do sucha. Jedną suchą pozostałość rozpuszczono w 0,5 ml mieszaniny fazy ruchomej i poddano badaniom metodą HPLC-DAD przy użyciu aparatu LaChrom Elite, a drugą po derywatywacji analizowano metodą GC-MS z użyciem aparatu Trace GC Ultra Polaris. Pozostałość po ekstrakcji ze środowiska amoniakalnego zakwaszono do pH 3 a następnie ekstrahowano 11 ml eteru dietylowego. Podobnie jak poprzednio jedną 5 ml część ekstraktu badano po derywatywacji metodą GC-MS z użyciem aparatu Trace GC Ultra Polaris, a drugą po reekstrakcji metodą HPLC-DAD przy użyciu aparatu LaChrom Elite. Ponadto 0,2 g rozdrobnionej tkanki żołądka

analizowano bezpośrednio, po zadaniu jej 0,5 ml mieszaniny acetonitrylu i wody (1:1) z dodatkiem kwasu mrówkowego (w ilości 100 µl/100 ml), traktowaniu ultradźwiękami i wirowaniu, metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) z zastosowaniem aparatu HP-1100 Agilent Technologies z pojedynczym kwadropolowym analizatorem mas.

Jedną z dwóch 0,1 g próbek mazistej substancji zadano 2 ml n-pentanu, a drugą 2 ml acetonitrylu. Uzyskane roztwory badano metodami GC-MS z zastosowaniem aparatów z różnymi analizatorami mas, czyli kwadropola i pułpki jonowej.

Próbkę włosów ze szczytowej części głowy, w ilości 0,2 g, zadano 1 ml acetonitrylu, poddano działaniu ultradźwięków, a po odwirowaniu analizowano metodą GC-MS z zastosowaniem pojedynczego kwadropolowego analizatora mas. Ponadto, włosy przygotowywano zgodnie z metodą zaproponowaną przez Hogstada i wsp. [3]. W tym celu włosy z tylnej części głowy poddano myciu sekwencją rozpuszczalników i segmentacji na odcinki 1 cm. Tak uzyskane próbki pocięto na odcinki o długości 0,5-1 mm, a następnie ekstrahowano 5% roztworem acetonitrylu w wodzie z dodatkiem kwasu mrówkowego (w ilości 100 µl/100 ml) przez 18 godz. w temperaturze 37°C. Próbki po odwirowaniu badano metodą HPLC-DAD oraz LC-MS/MS.

Opis stosowanych metod instrumentalnych

1) Metody chromatografii gazowej z detekcją mas (GC-MS) z użyciem aparatów firmy Thermo Electron Corporation:

- a) *Trace GC Ultra Polaris Q* wyposażony w pułpkę jonową, jako analizator mas, pracował w warunkach: jonizacja elektronowa (70eV); tryb skanowania jonów (m/z) 45-650 w polaryzacji dodatniej; kolumna RTx-5ms firmy Restek. Program temperatury: 0 min 70°C; 1 min 70°C, 25°C/min do 280°C; 16,5 min stała temperatura 280°C; temperatura dozownika 250°C; temperatura linii transferowej 200°C; przepływ helu 1,2 ml/min; podział nasyty 10, objętość dozowanej próbki 1 µl.
- b) *Focus GC/DSQ II* wyposażony w kwadropolowy analizator mas pracował w warunkach: jonizacja elektronowa (70eV); tryb skanowania jonów (m/z) 25-300 w polaryzacji dodatniej; kolumna SPB-624 60 m, średnica 0,25 mm firmy Supelco; program temperatury: 0 min 36°C; 4 min 36°C, 4°C/min do 200°C; 10 min stała temperatura 200°C;

temperatura dozownika 250°C; temperatura linii transferowej 200°C; przepływ: hel 1,2 ml/min; podział nastryku 10; objętość dozowanej próbki 1 μ l.

- c) *Focus GC/FID* wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny pracował w warunkach: kolumna BAC-2 firmy Restek; stała temperatura pieca 40°C; podział próbki 10; nastryk fazy nadpowierzchniowej 0,5 ml.

Identyfikacja substancji realizowana była automatycznie przy użyciu programu AMDIS z National Institute of Standards and Technology (NIST) oraz manualnie na podstawie porównania z bibliotekami: własnej z dodanymi widmami trucizn, widm masowych NIST, WILEY oraz Pflieger/Maurer/Weber. Kryterium identyfikacji była obecność co najmniej trzech jonów diagnostycznych, stosunku jonów $\pm 20\%$ w porównaniu do wzorca o zgodnym czasie retencji, który nie różni się więcej od analitu niż 0,05 min.

2) Metody chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) z użyciem aparatów:

- a) *Waters/Micromass Quattro Micro* z tandemowym układem kwadrupolowych analizatorów mas w warunkach: tryb monitorowania reakcji (MRM) oraz tryb skanowania; kolumna LiChroCART 125x2 z wypełnieniem LiChrospher RP-select B firmy Merck; faza ruchoma: 0,1% kwas mrówkowy w acetonitrylu (A) oraz 0,1% kwas mrówkowy w wodzie (B) podawana na kolumnę w warunkach gradientowych (w odniesieniu do fazy A): 0 min 35%, 1 min 35%, 10 min 80%, 11 min 80%, 14 min 80%, 15 min 80%, 15,20 min 35%, 20 min 35%; przepływ fazy wynosił 0,3 ml/min w segmencie analizy od 0 do 11 min oraz 0,5 ml/min w segmencie od 11 do 14 min; objętość dozowanej próbki wynosiła 20 μ l.
- b) *HP-1100 Agilent Technologies* z pojedynczym kwadrupolowym analizatorem mas w warunkach: optymalizacja warunków w trybie wstrzykowej analizy przepływowej (FIA); analizy próbek prowadzono w trybie monitorowania wybranych jonów (SIM) i skanowania dla (m/z) 100-800; kolumna LiChroCART 125x4 z wypełnieniem LiChrospher RP-select B firmy Merck; faza ruchoma: 0,1% kwas mrówkowy w acetonitrylu (A) oraz 0,1% kwas mrówkowy w wodzie (B) podawana na kolumnę w warunkach gradientowych (w stosunku do A): 0 min 0%, 30 min 70%, 33 min 0%, 43 min 0%;

przepływ fazy wynosił 1 ml/min; objętość dozowanej próbki wynosiła 20 μ l.

3) Wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją diodową z zastosowaniem aparatu:

- a) *LaChrom Elite* firmy Hitachi, który pracował w warunkach: rejestracja widma w zakresie ultrafioletu 200-400 nm; kolumna chromatograficzna: Chromolith Performance RP-18e 100x4,6 firmy Merck; faza ruchoma: acetonitryl (A) oraz 25mM wodny roztwór fosforanu trietyloamonowego (pH 3) (B) podawana na kolumnę w warunkach gradientowych (w odniesieniu do A): 0 min 1%, 5 min 1%, 10 min 12,5%, 20 min 33,3%, 32 min 100%, 35 min 1%, 40 min 1%; objętość dozowanej próbki wynosiła 20 μ l.

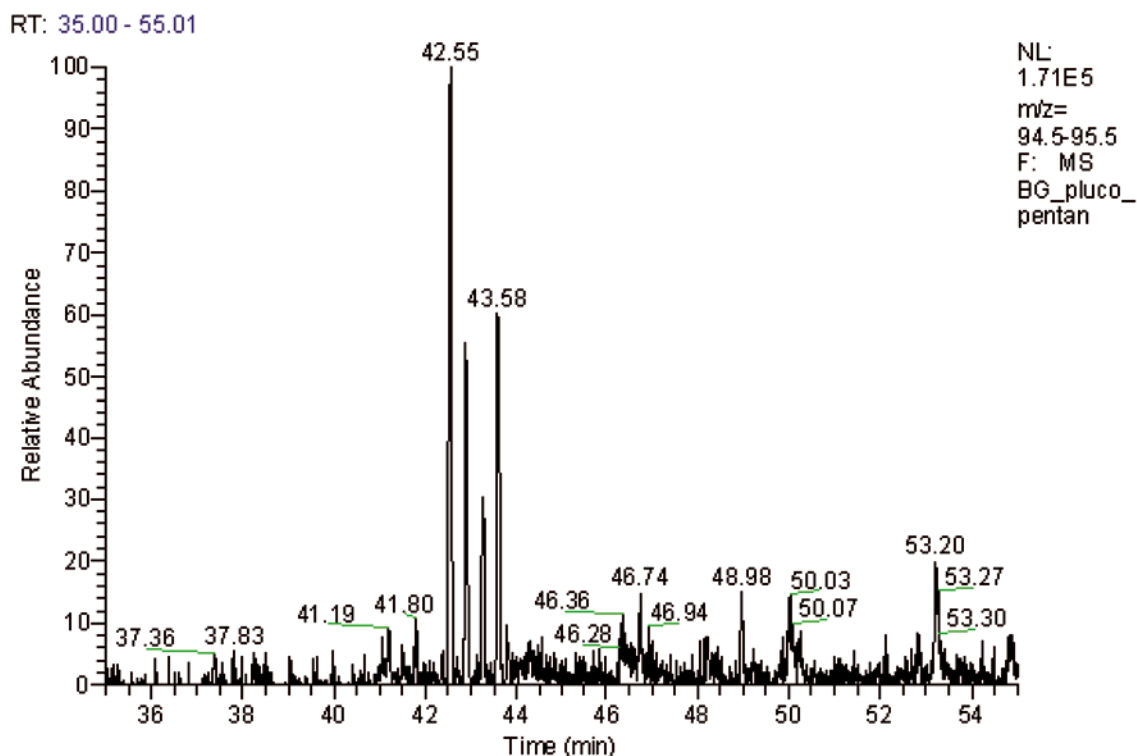
Identyfikacja substancji realizowana była na podstawie porównania widm UV z bibliotekami widm własnymi, a także listą zamieszczoną w katalogach widm Mills/Roberson.

WYNIKI I DYSKUSJA

Analiza próbek płuca oraz mózgu, wykonywana na obecność lotnych związków organicznych, wykazała szereg substancji naturalnie wytwarzających się podczas zachodzących procesów rozkładowych w tego typu materiale. Wykryto tu związki takie jak aldehydy (np. benzaldehyd, butanal), aminy (np. z grupy pochodnych butanu), amidowe pochodne kwasów tłuszczowych, liczne kwasy tłuszczowe, pochodne siarkowe licznych związków alifatycznych (np. disiarczek dimetylu), węglowodory nasycone (np. heksan, heptan). Obecność tego typu związków wykrywana jest w materiale sekcyjnym, stanowią one naturalne składniki tła biologicznego [10]. Spośród wykrytych substancji, poza wcześniej wymienionymi, na uwagę zasługują pochodne terpenowe (fig. 1). Wykazano je zarówno w mózgu, jak i płucu, wśród nich potwierdzono kamforę oraz mentol. Innych wykazanych w wycinkach pochodnych terpenowych nie identyfikowano.

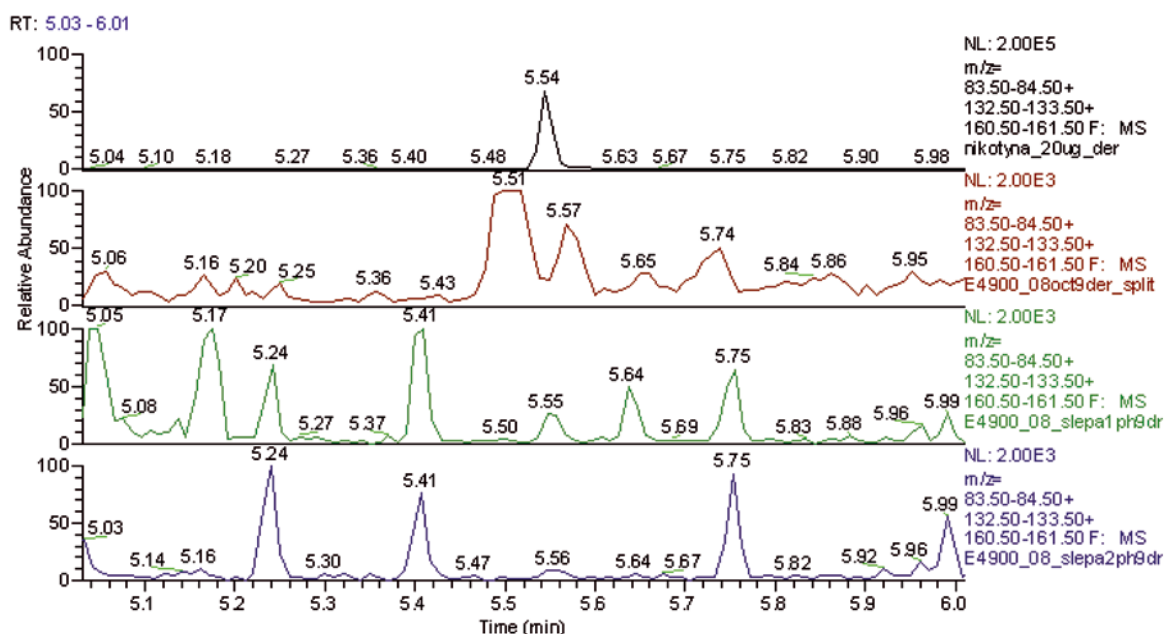
Obecność terpenów dzięki właściwościom bakteriostatycznym, przeciwnilnym oraz przeciwgrzybicznym mogła przyczynić się do zajęcia naturalnej mumifikacji. Procesy z nią związane utrwalają powłoki ciała.

Obecność amidowych pochodnych kwasów tłuszczowych, ale także kamfory, wykryto w maziastej substancji zebranej z powierzchni włók. Charakter tej mazi oraz skład może wskazywać, że jest to substancja typu tłuszczowosku, która również sprzyja mumifikacji a tym samym utrwaleniu włók.



Ryc. 1. Ekstrakt pentanowy z próbki płuc. Kamfora t_R – 42,55 min, mentol t_R – 42,91 min oraz pozostałe nie zidentyfikowane terpeny o strukturze przypominającej mentol i izoborneol.

Fig. 1. Pentane extract of the lung sample. Camphor at t_R – 42.55 min, menthol t_R – 42.91 min and other unidentified terpenes with structures similar to menthol and isoborneol.



Ryc. 2. Chromatogramy wybranych jonów (m/z 84, 133, 161 dla nikotyny ($t_R=5,57$ min): wzorzec, ekstrakt z wątroby generała oraz ekstrakty z dwóch próbek wątrób referencyjnych.

Fig. 2. Chromatograms of selected ions (m/z 84, 133, 161 for nicotine ($t_R=5.57$ min): standard, general liver extract, extracts of two reference liver samples.

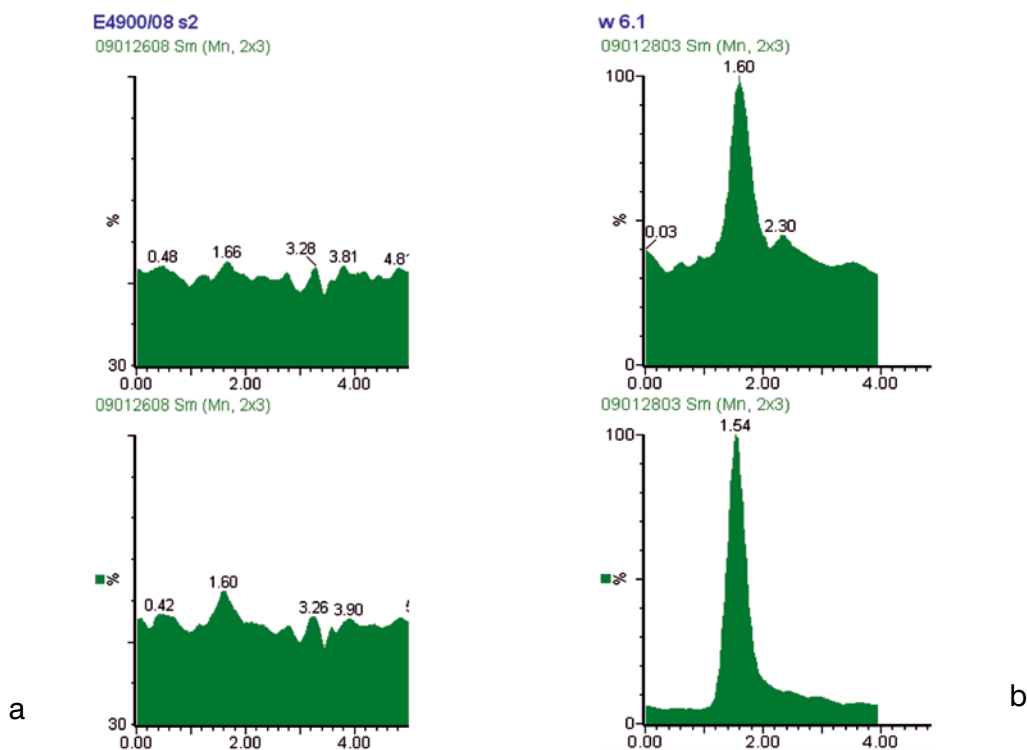
Badania tkanki wątroby wykazały obecność nikotyny. Dla porównania poziomu nikotyny przygotowano w identyczny sposób trzy próbki wątroby odniesienia pobrane ze zwłok w różnym stanie rozkładu gnilnego i porównywano do pró-

bek pobranych ze zwłok generała. Przyjęto przy tym, iż 2 gramowa próbka wątroby pochodzącej z ekshumowanych zwłok może odpowiadać około 8 gramom próbki odniesienia. Uzyskane chromatogramy przedstawiono na fig. 2. Okaza-



Ryc. 3. Próbkę włosów: a) przed myciem, b) po myciu.

Fig. 3. Hair samples: a) unwashed, b) after extensive washings.



Ryc. 4. Porównanie próbek włosów pobranych z: a) drugiego segmentu, b) palacza tytoniu. Chromatogramy przedstawiają: górny – kotynina ($t_R=1,60$ min; przejście 177 > 80), dolny – nikotyna (t_R 1,54 min; przejście 163 > 130). Przejścia SRM rejestrowane w trybie ESI. Tylko śladowe ilości analitów widoczne na LOD.

Fig. 4. Comparison of hair samples collected from: a) second segment, b) cigarette smoker. Chromatograms represent: upper – cotinine ($t_R=1.60$ min; transition 177 > 80) and lower – nicotine (t_R 1.54 min; transition 163 > 130). SRM transitions recorded in ESI mode. Only analyte traces close to LOD were present.

to się, iż zawartość nikotyny w wątrobie pobranej ze szczątków generała była znacznie niższa niż w próbkach odniesienia.

Analizie na obecność nikotyny poddano również próbki włosów. Na fig. 3 przedstawiono stan włosów przed i po myciu. Można dodać, że zabiegi agresywnego mycia ujawniły rzeczywisty kolor włosów.

W próbkach włosów stwierdzono bardzo niskie stężenie nikotyny, nieco wyższe niż trzykrotny stosunek sygnału do szumu (granica detekcji). Można oszacować, że takie stężenia nikotyny występują raczej u osób biernie narażonych na dym tytoniowy niż u osób palących. Na fig. 4 zamieszczono chromatogramy przejść jonowych dla nikotyny oraz kotyniny wyekstrahowanych z włosów stanowiących przedmiot niniejszych badań oraz włosy palaczy tytoniu. Profil analityczny wszystkich 6 badanych segmentów był identyczny i porównywalny z materiałem odniesienia, który stanowiły włosy w tym samym kolorze pobrane od znanej, zdrowej osoby.

WNIOSKI

Dwukierunkowy tok badań narządów nie wykazał obecności związków organicznych, których rodzaj i stężenie upoważniałoby do traktowania ich jako truciznę.

W wycinkach płuc oraz mózgu wykryto związki pochodzące z rozkładu materiału biologicznego z różnych grup chemicznych a ponadto kamforę i mentol.

Wykryta kamfora jest składnikiem naturalnym występującym m.in. w Cynamonowcu kamforowym. Działa miejscowo znieczulająco i rozgrzewająco. Po podaniu domięśniowym działa analeptycznie, a więc pobudzając ośrodkowy układ nerwowy, a zwłaszcza ośrodek oddechowy i naczynioruchowy, może być stosowana w stanach przemęczenia i depresji. Kamforę stosuje się jednak najczęściej zewnętrznie, głównie jako składnik preparatów złożonych, do nacierania w bólach reumatycznych i neuralgicznych. Mentol jest składnikiem naturalnym mięty, pobudza czynności wydzielnicze żołądka i wątroby, ułatwiając trawienie i przyswajanie pokarmów. Działa także bakteriobójczo po podaniu zarówno doustnym, jak i drogą inhalacji lub zewnętrznie. Ma również działanie odstrasżające owady.

Ze względu na swoje właściwości zarówno kamfora, jak i mięta (mentol) stosowane mogą być do konserwacji zwłok. Takie praktyki znane są m.in. w krajach muzułmańskich. Obecność

w zwłokach tych związków, ale także w mazistej substancji pobranej z powłok ciała może prowadzić do wniosku, iż zwłoki przed pochówkiem zostały posypane jakimś produktem zawierającym kamforę i mentol.

W wątrobie stwierdzono nikotynę, której stężenie oszacowano jako niskie. Biorąc pod uwagę redukcję masy wątroby stężenie nikotyny oszacowano jako znacznie niższe niż u palaczy. Wniosek ten potwierdzono przez badania porównawcze próbek włosów pobranych od palaczy oraz włosów pobranych ze zwłok generała.

Mazista substancja pobrana w czasie sekcji zwłok z powłok ciała zawierała amidowe pochodne kwasów tłuszczowych oraz kamforę. Skład i postać mazi może wskazywać, iż jest to substancja typu tzw. tłuszczowosku (wosk trupi). Taka wydzielina ze zwłok ułatwia naturalną mumifikację. Pojawia się stosunkowo rzadko, wtedy gdy wystąpią specyficzne warunki temperatury i wilgotności. Tłuszczowosk nie jest najczęściej stwierdzany, gdy w zwłokach obecne są insekty.

Przy interpretacji wyników wzięto pod uwagę zjawiska redystrybucji pośmiertnej oraz daleko posuniętych procesów gnilnych [7]. Można także stwierdzić, iż obecność np. nikotyny oraz wspomnianych terpenów wskazuje na trwałość niektórych substancji w wycinkach mimo tak długiego upływu czasu.

Badaniami nie objęto jądów zwierzęcych.

PIŚMIENNICTWO

1. Blyth A. W., Blyth M. W.: Poisons: Their effect and detection, Londyn 1920.
2. Bogusz M.: Quality assurance aspects of identification with chromatographic – mass spectrometric methods, Problems of Forensic Sciences, 2009, vol. 77 (LXXVII), pp. 7-28.
3. Hegstad S., Khiabani H.Z., Kristoffersen L., Kunøe N., Lobmaier P. P., Christophersen A. S.: Drug Screening of Hair by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, Journal of Analytical Toxicology, 2008, vol. 32, pp. 364-372.
4. Irving D., Accident: The death of general Sikorski, Londyn, 1967.
5. Iyengar G. V., Kollmer W. E., Bowen H. J. M.: The Elemental Composition of Human Tissues and Body Fluids, Verlag Chemie, New York, 1978.

6. Marrs T., Maynard R. L., Sidell F. R.: Chemical Warfare Agents: Toxicology and Treatment, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, 2007, p. 694.
7. Pelissier-Alicot A., Gaulier J., Champsaur P., Marquet P.: Mechanisms underlying postmortem redistribution of drugs: A review, *Journal of Analytical Toxicology*, vol. 27, no.8, pp. 533-544.
8. Sabalitschka T.: Wstęp do wykrywania trucizn na drodze chemicznej, Warszawa, 1931.
9. Siegmund B., Leitner E., Pfannhauser W.: Determination of the Nicotine Content of Various Edible Nightshades (Solanaceae) and Their Products and Estimation of the Associated Dietary Nicotine Intake, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1999, vol. 47 (8), pp. 3113-3120.
10. Statheropoulos M., Spiliopoulou C., Agapiou A.: A study of volatile organic compounds evolved from the decaying human body, *Forensic Science International* 2005, vol. 153, 147-155.
11. Thompson C.: The Assassination of Winston Churchill, Prószyński i spółka, 1968.
12. Whitley J.: Śmierć generała Sikorskiego, wyd. Bellona, Warszawa, 2007.