

Validierung einer Ionenmobilitätsspektrometrischen Methode (IMS) für den Nachweis von Heroin und Cocain

Franz Dussy, Thomas Briellmann

Abstract

The validation of a qualitative ion mobility spectrometry (IMS) procedure for the detection of trace amounts of heroin and cocaine is presented. The limit of detection (heroin 1 ng, cocain 0.2 ng) of the apparatus, the limit of decision (heroin 3 ng, cocaine 0.5 ng) and the robustness were determined by dosing a methanolic standard onto a filter and subsequently evaporating the solvent under a gentle stream of air. The most important adulterants of heroin and cocaine, marihuana and some detergents were checked for selectivity (spectral interference). Only atropine was found to interfere for cocaine detection. The selectivity for heroin however is not that good, as papaverine and some detergents may give a false positive signal depending on their concentration. Acetyl codeine, noscapine, marihuana, some detergents and cocaine were identified as ionizational interfering substances of heroin as they suppress the signal.

For the determination of the matrix effects, potassium chloride was used as an inert carrier. However, 30 ng of heroin or 1 ng of cocaine were necessary to reach a signal exceeding the limit of decision with this carrier. No decrease in signal was observed when the samples are collected from cotton or paper. In contrast, samples collected from glass or banknotes show a significant drop of the signal intensity.

In practice the laboratory staff has to investigate whether clothes are contaminated with narcotics. This situation was simulated by spiking pockets of cotton clothes with our contamination mixtures and collecting the traces by the aspirator. 1000 ng of heroin and 250 ng of cocaine were necessary to produce an alarm. Thus, depending on the adsorption properties of the surface, a 300 to 500 times higher amount of heroin and cocaine is needed in incriminated clothes than would be expected from the limit of decision.

1. Einleitung

Die Ionenmobilitäts-Spektrometrie (IMS) wird schon seit vielen Jahren eingesetzt, um Spuren von Betäubungsmitteln nachzuweisen. Die grossen Vorteile dieser Methode sind die Leichtigkeit der Probengewinnung und -aufbereitung, die hohe Empfindlichkeit des Detektors, die kurze Analysenzeit und die Mobilität der Gerätschaften. Die Messungen liefern Hinweise für oder gegen einen direkten Kontakt mit Betäubungsmitteln und werden i.d.R. vor Gericht anerkannt.

Die Validierung einer Methode ist eine Voraussetzung für die Aufnahme in den akkreditierten Geltungsbereich. Unseres Wissens sind neben den von Fytche et al. [1] getesteten Parametern noch keine Validierungen einer IMS-Methode publiziert worden.

2. Funktionsprinzip [2]

An Oberflächen anhaftender Staub wird mit Hilfe eines Handstaubsaugers (Abb. 1) auf einem Teflonfilter gesammelt und mit dem IMS analysiert. Die im Staub befindlichen Analyte werden unter Hitze einwirkung



Abb. 1: Handstaubsauger mit austauschbaren Bürsten und Filtern

verdampft und auf dem Weg in die Messzelle durch einen β -Strahler ionisiert. In der Messzelle wird die Flugzeit der gebildeten Ionen-(Cluster) im Gegenluftstrom gemessen. Das Resultat wird in einem Plasmagramm dargestellt, welches nicht mit einem Chromatogramm verwechselt werden darf (Abb. 2).

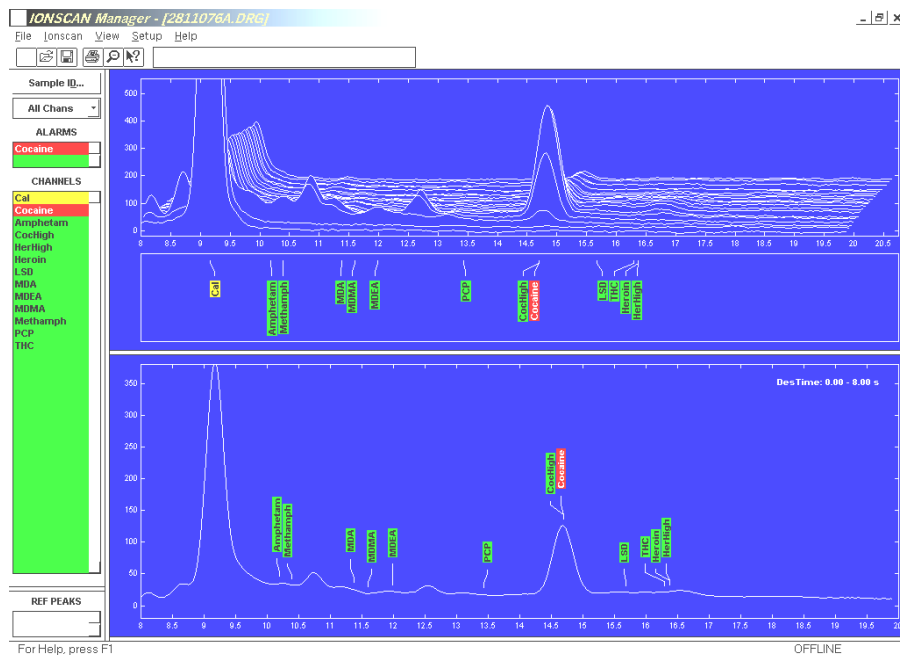


Abb. 2: Plasmagramm von 0.5 ng Cocain oben: 20 Einzelmessungen, unten: kombiniertes Plasmagramm

Eine Substanz ist identifiziert, wenn die Flugzeit und die Halbwertsbreite des Signals mit vordefinierten Referenzwerten übereinstimmen. Im Weiteren muss die Signalhöhe (maximale Amplitude: Max A) von mindestens 2 Messungen der insgesamt 20 Messzyklen über einen definierten Grenzwert steigen.

3. Validierung

Die Validierung einer IMS-Methode unterscheidet sich von der Validierung einer qualitativen chromatographischen Methode, da vor der Detektion keine echte Trennung der Analyten stattfindet; verschiedene Substanzen können zur selben Zeit in die Messzelle gelangen und unvorhersehbare Cluster bilden oder gegenseitig die Ionisierung beeinflussen. Im Extremfall werden Analyte aufgrund von Ionisationssuppression nicht erfasst.

Gemäss Peters et al. [3] sind keine allgemeine Vorgaben für die Validierung von qualitativen Analysen publiziert. Von der Schweizerischen Gesellschaft für Rechtsmedizin sind jedoch schon 2002 Empfehlungen für die Validierung von qualitativen Methoden erarbeitet worden [4]. Die chromatographische Bestätigungsanalyse hat dabei mit einer IMS-Methode für den Nachweis vorgegebener Analyte am meisten Gemeinsamkeiten. Wir haben deshalb für unsere Methode folgende Validierungsparameter definiert:

- Nachweisgrenze
- Entscheidungsgrenze
- Arbeitsbereich
- Selektivität (spektrale Interferenz)
- Robustheit (Reproduzierbarkeit bei der Entscheidungsgrenze, Ionisationsinterferenz und Matrixeffekte)

Die *Nachweisgrenze*, die *Entscheidungsgrenze* und die *Robustheit* wurden nach direkter Auftragung methanolischer Referenzlösungen auf den Filter mit anschliessendem Abblasen des Lösungsmittels bestimmt (Tab. 1). Die Nachweisgrenze entspricht der tiefsten Konzentration (ng/Filter), bei der im Plasmagramm noch ein Signal ersichtlich ist. Eine Substanz wird als nachgewiesen betrachtet, wenn die Signalhöhe die Entscheidungsgrenze, welche der dreifachen Nachweisgrenze entspricht, überschreitet.

Tab. 1: Validierungsparameter

Analyt	Nachweisgrenze	Entscheidungsgrenze	Arbeitsbereich obere Grenze	Robustheit	
				Ø MaxA	Staw MaxA
Heroin	1 ng	3 ng	400 ng	341 du	37 du
Cocain	0.2 ng	0.5 ng	300 ng	324 du	49 du

Der *Arbeitsbereich* beginnt bei der Entscheidungsgrenze und endet theoretisch bei jener Konzentration, welche das Gerät für die nachfolgenden Messun-

gen kontaminiert. In der Praxis hat die obere Grenze des Arbeitsbereichs keinen Einfluss, da man vor der Messung keine Kenntnis der aufgegebenen Substanzmenge hat. Die Robustheit wurde mit 30 Messungen über fünf Tagen ermittelt.

Die **Selektivität** (spektrale Interferenz) und die **Ionisationsinterferenzen** wurden überprüft, indem diverse Substanzen, bei welchen ein gleichzeitiges Vorkommen mit Heroin oder Cocain wahrscheinlich ist, zusammen mit den Zielanalyten auf denselben Filter aufgetragen werden (Tab. 2). In Methanol schlecht lösliche Substanzen wie Marihuana oder Waschmittel wurden als Pulver auf den Filter gebracht und anschliessend abgeblasen.

Tab. 2: Selektivität und Ionisationsinterferenzen

Einteilung	Substanz	Interferenz mit Heroin	Interferenz mit Cocain	Driftzeit (ms)
	Cocain	+		14.72
	Heroin		+	16.71
Verschnittstoffe von Cocain	Lactose	nu	-	--
	Mannitol	nu	-	--
	Phenacetin	nu	-	--
	Atropin	nu	+	14.71
Verschnittstoffe und Begleitstoffe von Heroin	Noscapin	+	-	12.07 17.66
	Papaverin	+	nu	16.73
	Acetylcodein	+	nu	15.97
	6-Acetylmorphin	-	nu	15.47
	Paracetamol	-	-	--
	Coffein	-	nu	--
Marihuana	Extrakt	+	nu	16.57
	Pulver	+	nu	16.57
Waschmittel	Dash	+	-	11.77
				12.09
				13.14
				13.47
	Universal	+	-	15.69
				16.49
				16.98
	Dato	+	-	14.43
				16.63
	Enka	+	-	10.27
	Prix garantie	-	-	10.27
	Dato Gardinenweiss	+	-	--
	Total Color	+	-	13.37
16.87				
Surf Sunfresh	+	-	10.24	
			16.79	
Persil	+	-	10.24	

+: Interferenz, -: keine Interferenz, nu: nicht untersucht, kursiv: spektrale Interferenz

Atropin konnte in jüngster Zeit in einigen Cocain-Konfiskaten nachgewiesen werden; Papaverin ist ein Begleitstoff von Strassenheroin. Beide Substanzen führen zu einem falsch positiven Resultat in der IMS-Untersuchung, welches wir als wenig problematisch ansehen, da weder Atropin noch Papaverin auf dem freien Markt erhältlich sind. Auch einzelne Waschmittel können ein falsch positives Resultat für Heroin erzeugen. Werden die Filter nach dem Aufbringen der Pulver abgeblasen, so wie das auch bei Routineuntersuchungen mit starken Staubansammlungen der Fall ist, fällt das Signal unter die Entscheidungsgrenze. Wir beurteilen deshalb alle untersuchten Substanzen als nicht problematisch für den Routinefall.

Bei Anwesenheit einer hohen Konzentration von Acetylcodein wird das Heroinsignal abgeschwächt. Solange die Menge an Acetylcodein nicht über 10% der Heroinmenge ausmacht ist dieser Effekt vernachlässigbar. Noscapin reduziert ebenfalls das Heroinsignal. Bei Konzentrationen von Noscapin bis 50% relativ zur Heroinkonzentration ist dieser Effekt wenig ausgeprägt; in einer 1:1 Mischung wird das Heroinsignal um 50% reduziert. Auch viele Waschmittel vermögen das Heroinsignal abzuschwächen. Durch Abblasen grosser Staubmengen auf dem Filter wird auch dieser Effekt reduziert. In der Praxis hat sich dieses Vorgehen bewährt, auch wenn dadurch die gesammelte Heroinmenge vermindert wird.

Bereits De Tulleo et al. [5] haben festgestellt, dass der Heroinnachweis bei gleichzeitiger Anwesenheit von Cocain schwierig sein kann. Dieser Befund lässt sich bestätigen: Mit 5 ng Cocain und 10 ng Heroin fällt das Heroinsignal unter die Entscheidungsgrenze von 200 du (Abb. 3), so dass in solchen Fällen nur Cocain detektiert wird. Nur bei der chromatographischen Bestätigungsanalyse lässt sich zusätzlich zum Cocain Heroin nachweisen.

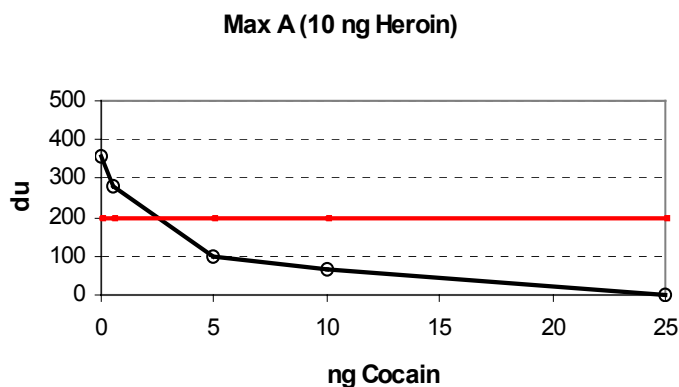


Abb. 3: Abhängigkeit der maximale Signalhöhe (Max A in du) des Heroinsignals bei variierender Cocainmenge auf demselben Filter

Bei der Untersuchung der **Matrixeffekte** zeigte sich das Problem der praxisgerechten Kontamination: Heroin und Cocain müssen in Nanogramm-Mengen auf diverse Matrizen aufgebracht werden. Eine Kontamination mit Lösungen

entspricht nicht der Realität der Fallproben. Wir haben deshalb Stärke, Silica und Kaliumchlorid als Trägersubstanzen mit 0.5 ng Cocain bzw. 5 ng Heroin pro mg Träger evaluiert. Die besten Resultate wurden mit KCl erzielt, wobei die Entscheidungsgrenze von 200 du mit 1 ng Cocain und 30 ng Heroin überschritten wurde. Zuviel Trägermaterial auf dem Filter beeinflusst das Plasmagramm, da der Hitzetransfer für die Verdampfung der Analyte vom Filter mehr Zeit benötigt.

10 mg bzw. 5 mg des Trägermaterials wurden auf Baumwolle, Glas, Papier und Schweizer Banknoten gebracht. Dies entspricht 50 ng Heroin bzw. 2.5 ng Cocain. Anschliessend wurden die Partikel mit dem Handstaubsauger vom kontaminierten Untergrund abgesaugt. Bei der Analyse zeigten beide Analyte dieselbe Tendenz (Abb. 4): Die Max A bleibt gegenüber der direkt auf den Filter aufgetragenen Substanz unverändert, wenn die Matrix Baumwolle oder Papier ist. Ist die Matrix aber Glas oder eine Banknote, so wird eine signifikante Reduktion der Signalhöhe beobachtet. Wir führen diesen Effekt auf eine Adsorption der Substanzen an der Matrixoberfläche zurück.

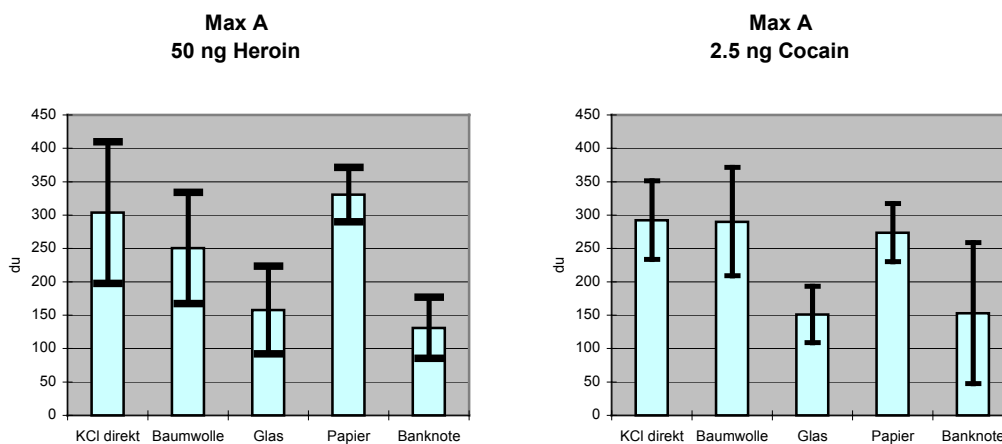


Abb. 4: Matrixeffekte von Baumwolle, Glas, Papier und Banknoten

In der Praxis muss das Laborpersonal häufig Kleider von Personen untersuchen, die verdächtigt werden, mit Betäubungsmitteln zu handeln. Dabei werden nur die Innenseiten der Taschen und die Reissverschlüsse untersucht, um eine zufällige Kontamination auszuschliessen. Diese Situation wurde durch Einbringen unserer kontaminierten KCl-Träger in die Taschen und anschliessendes Absaugen simuliert. 250 ng Cocain und 1'000 ng Heroin wurden für ein Signal oberhalb der Entscheidungsgrenze benötigt. Abhängig von der jeweiligen Adsorption des untersuchten Materials werden folglich ca. 300 bis 500 mal höhere Mengen benötigt, als die direkte Aufbringung der methanolischen Lösung des Betäubungsmittels dies erfordert. Durch Waschen der Kleider wird die Kontamination vollständig entfernt.

4. Literatur

- [1] L.M. Fytche, M. Hupé, J.B. Kovar, P. Pilon, Ion mobility spectrometry of drugs of abuse in customs scenarios: Concentration and temperature study, *J. Forensic Sci.*, 37 (1992) 1550-1566
- [2] G.A. Eiceman, Z. Karpas, *Ion mobility spectrometry*, 2nd ed., 2005, CRC Press
- [3] F.T. Peters, O.H. Drummer, F. Musshoff, Validation of new methods, *Forensic Sci. Int.* 165 (2007) 216-224
- [4] B. Aebi, M. Baumgartner, J.-L. Dubugnon, F. Dussy, C. Giroud, O. Plaut, W. Sturm, Empfehlungen zur Validierung von Analysemethoden in der Forensischen Toxikologie, www.sgrm.ch, geschützter Bereich
- [5] A.M. De Tulleo, P.G. Galat, M.E. Gay, Detecting heroin in the presence of cocaine using ion mobility spectrometry, *Intern. J. Ion Mobility Spectrometry*, 3 (2000) 38-42

Dr. phil. Franz Dussy
Institut für Rechtsmedizin
Pestalozzistrasse 22
CH-4056 Basel
E-Mail: franz.dussy@bs.ch