

Abstracts - Vorträge

V2 Vakutainer mit Fluorid/Oxalat zur Blutentnahme für die forensisch-toxikologische Analytik – Erfahrungen mit immunologischen Vortests und der GC/MS-Bestätigung.

S.W. Toennes, G. Kauert

Zentrum der Rechtsmedizin, Abt. II – Forensische Toxikologie, Kennedyallee 104, 60596 Frankfurt/Main

Es ist bekannt, daß sich Kokain in einer entnommenen Blutprobe z.T. zersetzt, wenn kein Zusatz von Fluorid verwendet wird, der die enzymatische Spaltung von Kokain inhibiert. In der derzeitigen forensisch-toxikologischen Begutachtungspraxis wird daher gegenwärtig die Benzoylcegonin-Konzentration als Kriterium für die Befundinterpretation benutzt, was allerdings unbefriedigend ist. Bei Verwendung kommerzieller Blutentnahmesysteme mit Stabilisator-Zusatz stellt sich die Frage, welche Effekte sich in der Betäubungsmittelanalytik ergeben.

Im Rahmen von polizeilichen Verkehrskontrollen wurden bei Blutentnahmen jeweils ein normaler Vakutainer (ohne Zusatz) und einer mit Natriumfluorid/Kaliumoxalat-Zusatz verwendet. Beide Blutproben wurden nach Zentrifugation parallel auf Betäubungsmittel untersucht und die Ergebnisse miteinander verglichen. Serum wurde nach Acetonfällung immunologisch auf Amphetamine, Cannabinoide, BZE, Opiate, Methadon und Benzodiazepine vorgetestet und die Positiven mit GC/MS bzw. LC/DAD bestätigt.

Bei den fluoridierten Blutproben ließ sich ein um etwa 11% größeres Plasmavolumen abzentrifugieren, das allerdings deutlich hämolytisch war. Von den immunologischen Vortests war einzig der Cannabinoidassay in den fluoridierten Proben deutlich niedriger und zu etwa 14% falsch negativ und die BZE-Meßwerte waren etwa doppelt so hoch. Die Extraktqualitäten bei den Bestätigungsanalysen unterschieden sich nicht deutlich voneinander. Unterschiede in den quantitativen Ergebnissen zeigten sich vor allem bei THC-COOH (geringer), Cocain und BZE (beträchtlich höher) sowie EME (beträchtlich geringer).

Bei Verwendung der „Drogenröhrchen“ kann wegen der Gerinnungshemmung durch Oxalat mehr Serumvolumen zur Analyse verwendet werden, wobei die Hämolyse außer bei der immunchemischen Cannabinoidbestimmung keinen negativen Einfluß hat. Unterschiede durch den Fluorid-Zusatz ergeben sich bei der Bestimmung von THC-COOH und erwartungsgemäß bei der Analytik von Cocain und seinen Abbauprodukten. Das Auffinden beträchtlich höherer BZE-Werte in den fluoridierten Proben war unerwartet. Die Interpretation von BZE-Werten im Serum muß daher kritisch vorgenommen werden.

V3 Optimierte Kalibratorkonzentrationen zur vergleichbaren Berechnung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze bei der THC-Analyse aus Serum

M. Herbold, G. Schmitt, R. Aderjan

Institut für Rechtsmedizin und Verkehrsmedizin im Klinikum der Universität, Voßstr.2, D-69115 Heidelberg

Neben anderen Kenngrößen werden bei der Validierung einer Analysenmethode die Nachweis- und die Bestimmungsgrenze ermittelt, die dem Nachweisziel entsprechen und die Leistungsfähigkeit einer Methode aufzeigen sollen. Meist können jedoch weder Experten und noch weniger Laien als Außenstehende nachvollziehen, auf welche Weise in einem Labor die betreffenden Werte errechnet wurden.

Für die Berechnung von Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde die DIN 32645 ausgearbeitet, die auf einem statistischen Ansatz und der Annahme normalverteilter Meßwerte der Kalibrationskonzentrationen beruht. Sie definiert die Nachweisgrenze als „kritischen Wert“ bei dem sich das Meßsignal mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (meist 99%) vom Meßuntergrund unterscheidet. Dabei ist es gleich wahrscheinlich, daß der nachzuweisende Analyt als anwesend ($\alpha = 0,5$) oder nicht anwesend klassifiziert wird ($\beta = 0,5$). Praktisch sicher zu detektieren ist der Analyt erst bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von β (meist 0,01). Der dazugehörige Konzentrationswert wird gemäß DIN als Erfassungsgrenze bezeichnet, eine Benennung, welche die massenspektroskopische Identifizierung über die Detektion mehrerer spezifischer, jedoch verschieden intensiver Massenbruchstücke

nicht berücksichtigt und deshalb für die forensische Analytik unbrauchbar bzw. diskussionswürdig ist. Die Bestimmungsgrenze ist definiert als die Mindestmenge des Analyten pro Volumen, die mit einer festzulegenden Irrtumswahrscheinlichkeit und einer akzeptablen relativen Ergebnisunsicherheit (k) bestimmt werden kann.

Bei näherer Betrachtung erkennt man, daß z.B. Anzahl und Lage der Kalibrationslevels den Zahlenwert der Nachweisgrenze und der Bestimmungsgrenze beeinflussen. Zum korrekten Vergleich der Leistungsfähigkeit einer Analysenmethode innerhalb eines Labors und zwischen verschiedenen Labors ist deshalb ein einheitliches Vorgehen bei der Berechnung unerlässlich. Dies ist im Falle des Cannabisnachweis im Serum von besonderer Bedeutung, weil quantitative Bestimmungen unmittelbar an bzw. wenig oberhalb der Bestimmungsgrenze durchzuführen sind.

Unabhängig vom Einfluß der Meßpräzision, die von den physikochemischen Eigenschaften des Analyten, vom Meßgerät und von der Analysenmethode abhängt, kann deshalb eine erste Optimierung im Hinblick auf eine möglichst niedrige Nachweisgrenze bereits theoretisch, über die Festlegung geeigneter Kalibrationskonzentrationen, vorgenommen werden. Dabei müssen sowohl die Signifikanzniveaus (jeweils $1-\alpha$ und $1-\beta$) für die Nachweis- und die Bestimmungsgrenze als auch die relative Ergebnisunsicherheit (k) für die Bestimmungsgrenze den analytischen und forensischen Erfordernissen gerecht werden.

Es zeigt sich, daß für die Bestimmung von THC im Serum sich neben dem Leerwert die Kalibrationslevels von 1,0 - 3,0 - 5,0 - 10,0 - 15,0 - 20,0 $\mu\text{g THC} / \text{L}$ zur optimierten Errechnung der Nachweis- bzw. der Bestimmungsgrenze besonders eignen. Es wird deshalb vorgeschlagen, aus Gründen der Vergleichbarkeit zukünftig diese Kalibrationskonzentrationen in methanolischer Lösung einzusetzen. Dabei ist für forensische Belange das Signifikanzniveau von je 99,9% (bei einer relativen Ergebnisunsicherheit von 33,3 % ($k=3$)) zugrundegelegt.

Unter diesen Bedingungen ist es in der Praxis möglich, den THC-Nachweis aus Serum bei dem für den § 24a StVG von der "Grenzwertkommission" vorgeschlagenen Analytischen Grenzwert von 2 ng/mL Serum (= 2 $\mu\text{g THC/L}$ bzw. 0,002 THC mg/L Serum) mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit zu führen.

V4 Validierung von Analyseverfahren in der forensischen Toxikologie - ein Diskussionsbeitrag

B. Babel, H.-J. Battista, M. Hartung, H.-U. Rösener

Institut für Rechtsmedizin Würzburg, Institut für Gerichtliche Medizin Innsbruck, Institut für Rechtsmedizin Homburg/Saar und Chemisches Untersuchungsamt Hagen

Durch die Änderung des §24a des Straßenverkehrsgesetzes ist die folgenlose Fahrt mit einem Kraftfahrzeug unter der Wirkung der im Anhang des §24a StVG genannten berauschenden Mittel als Ordnungswidrigkeit eingestuft worden. Nach der Legaldefinition liegt eine solche Wirkung unabhängig von beobachteten Fahrfehlern oder Ausfallserscheinungen vor, wenn eine der in der Anlage zum §24a StVG aufgeführten Substanzen nachgewiesen wird. Diese unmittelbar mit dem Nachweis verbundenen Rechtsfolgen erhöhen die Anforderungen an die Analytik. Ein im wesentlichen vergleichbares Vorgehen der verschiedenen Laboratorien ist erforderlich. Dies umfaßt nicht nur die eigentliche Durchführung der Analyse, sondern bereits die Validierung des Analyseverfahrens als Qualitätssicherungsmaßnahme.

Im Bereich der forensischen Toxikologie wurden kürzlich von der GTFCh "Richtlinien zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen" erarbeitet. Für die Validierung von Analyseverfahren werden bereits verschiedene Varianten diskutiert.

Das hier beschriebene Konzept wurde von der Arbeitsgruppe "Methodenvalidierung" der GTFCh erarbeitet und ist als Diskussionsbeitrag zu verstehen.

Die zur Ermittlung der Verfahrensparameter dienenden einzelnen Validierungsschritte (Festlegung des Arbeitsbereiches, Ermittlung der Kalibrierfunktion, Überprüfung auf Linearität, Durchführung eines Ausreißertests, Festlegung der unteren Arbeitsbereichsgrenze, Überprüfung auf Homoskedastizität, Festlegung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze und Ermittlung der Wiederfindungsfunktion sowie der Matrixeffekte) werden beschrieben. Anhand eines Beispiels werden zu den einzelnen Arbeitsschritten Testverfahren vorgeschlagen und mögliche Probleme angesprochen.

V5 Benzoyllecgonine and Ecgonine Methyl Ester in Serum Samples of Cocaine Consumers taken during Police Custody

R. Aderjan, G. Schmitt, G. Skopp

Institut für Rechtsmedizin und Verkehrsmedizin im Klinikum der Universität, D 69115 Heidelberg, Voßstr. 2

The new paragraph 24a II of the German road traffic act aims at lowering the risks caused by drivers under influence of such illicit drugs as presently listed in a corresponding appendix. As a consequence, the presence of the active substances in blood (serum) during driving is a violation. However, unstable compounds like cocaine may not only pose an analytical but also a legal problem. Due to preanalytical decay, after taking cocaine, only inactive breakdown products are usually found in blood. As a substitute for cocaine, an analytical threshold value of *0,150 mg benzoyllecgonine (BE) per liter serum* was proposed by the German „Grenzwertkommission“, taking both kinetic and dynamic toxicological studies on cocaine as well as nontolerant subjects into consideration. While kinetic studies were predominantly carried out in the US, in Germany, similar studies as well as comprehensive roadside surveys are confronted with serious difficulties. In contrast, taking a blood sample according to paragraph 81 of the German code of criminal procedures allows to analyze cocaine-metabolite concentrations in abusers and addicts in praxi.

Serum portions of blood samples of 60 cocaine consumers taken during police custody were frozen without preservation upon arrival in our lab. First, enzyme immunoassay (EIA) testing for cocaine-metabolites and other illicit drugs was performed. When EIA-positive, cocaine, benzoyllecgonine and ecgonine methyl ester (EME) were determined after derivatisation (PFPA/HFIP) using GC/MS (selected ion monitoring (SIM) solid phase extraction (SPE) and deuterated internal standards).

With few exceptions, as a rule, cocaine was not found in serum. The mean concentration relation between BE and EME was found to be approximately 6:1. The concentration ranges for BE and EME were 0-10 mg/L and 0 - 0,9 mg/L serum, respectively. However, as expected, there is no close correlation between both metabolites ($y = 6,3x + 142$; $r = 0,714$). As BE has a elimination half-life of approximately 7 hours, relatively high BE and little EME concentration but no cocaine is found in serum of the living subject. (In contrast, a concentration relation between BE and EME of approximately 0,9 was found post mortem).

The reasons for these observations are discussed. According to the literature, due to rapid enzymatic demethylation, EME may be found in negligible concentration during steady state after cocaine consumption. As a consequence, EME was suggested to reflect at least a part of the cocaine concentration originally present in the blood sample at the time of sampling. However, all studies published up to now where performed using cocaine doses much less than those taken by addicts.

Our investigation shows that regarding to the analytical proof of cocaine in blood samples, systematic research on both the analytical stability and metabolic behavior of cocaine and its metabolites needs to be performed until a suitable interpretation of cocaine and/or metabolite concentrations is possible.

V6 The antispasmodic mebeverine leads to positive amphetamine results with the fluorescence polarization immuno assay - Studies on the metabolism and the toxicological detection in urine by GC-MS and FPIA

T. Kraemer¹, K. Bock¹, R. Wennig² and H.H. Maurer¹

¹⁾ *Department of Toxicology, Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany,* ²⁾ *Laboratoire National de Santé, Toxicology Centre, L-1511 Luxembourg*

Studies on the metabolism and on the toxicological analysis of mebeverine (Duspatal[®], MB) using GC-MS and FPIA are described. MB is widely used for treatment of the irritable bowel syndrome. It is the veratric acid ester of 4-{Ethyl-[2-(4-methoxyphenyl)-1-methylethyl]amino}butan-1-ol, which is an N-substituted ethylamphetamine. The aim of our studies was to reinvestigate the metabolism of MB and to check whether the parent compound or its main metabolites can cause positive FPIA results for amphetamine.

The metabolites were identified in urine samples of volunteers by GC-MS after enzymatic cleavage of conjugates, extraction and acetylation. For toxicological detection, acid hydrolysis was preferred. The Abbott TDx amphetamine/methamphetamine II (AM/MA II) was used.

The following metabolites of MB could be identified. Ester hydrolysis led to veratric acid and the corresponding alcohol. Further metabolites of veratric acid were vanillic acid, isovanillic acid and protocatechuic acid. The MB-alcohol was O-demethylated and/or N-deethylated. The N-deethylated metabolites are described for the first

time. For GC-MS detection, the systematic toxicological analysis including acid hydrolysis, extraction at pH 8-9 and acetylation was suitable. After ingestion of 405 mg of MB, the MB-alcohol could be detected for up to 40 h. N-deethyl-MB could be detected for up to 20 h, demethyl-MB for up to 52 h and the demethyl-deethyl metabolite for up to 28 h.

MB and some of its metabolites interfere with the TDx assay AM/MA. This TDx assay gave positive results (maximum TDx value: 750 ng/mL) for up to 16 h after single ingestion taking into consideration the detection limit of the assay.

V7 Methode zum Nachweis inhalativen Cocainkonsums in Serumproben anhand des thermischen Zersetzungsproduktes Anhydroecgoninmethylester.

A. Fandiño, S.W. Toennes, G. Kauert

Zentrum der Rechtsmedizin, Abt. II – Forensische Toxikologie, Kennedyallee 104, 60596 Frankfurt/Main

Die Unterscheidung zwischen nasalem Cocainkonsum und Crackrauchen ist ein wichtiger forensischer Aspekt. Es ist bekannt, daß das thermische Zersetzungsprodukt Anhydroecgoninmethylester (AEME) nur beim Rauchen aus Cocain entsteht und somit zur Diskriminierung verwendet werden kann. AEME konnte bis heute nur in Urin oder in Leichenblut nachgewiesen werden, nicht jedoch im Serum von Lebenden. Unser Ziel war, eine Methode mit hoher Empfindlichkeit für die Bestimmung von AEME in Serum zu entwickeln.

Derzeit wurden 6 Blut/Serumproben aus dem Untersuchungsgut des Zentrums der Rechtsmedizin in Frankfurt untersucht, bei denen in der Vorgeschichte Crackkonsum angegeben war. Die Proben waren nicht stabilisiert und es waren 4 Proben 1 Jahr alt, 1 Probe aktuell und eine stammte von einer Leiche. Das Probenmaterial wurde zentrifugiert, mit internen Standards (Cocain-d₃, Benzoylecgonin-d₃, Ecgoninmethylester-d₃) versetzt und mittels SPE mit Varian Bond elut Certify HF aufgearbeitet. Derivatisiert wurde mit MTBSTFA. Bei der GC/MS-Analyse wurden im SIM-Modus die Analyten Cocain (Coc), Ecgoninmethylester (EME), Benzoylecgonin (BE), Ecgonin (E), Anhydroecgoninmethylester (AEME) und Anhydroecgonin (AE) bestimmt.

In Vorversuchen wurde ausgeschlossen, daß AEME in relevanter Menge als Artefakt aus Coc oder ME entsteht. AEME war in allen Proben nachweisbar, wobei die Konzentration in der Leichenblutprobe bei 1390 ng/mL lag, in den anderen Proben aber zwischen 5 und 29 ng/mL. Auch war in allen Proben AE vorhanden. In den über 1 Jahr gelagerten Serumproben waren Coc, ME und BE nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar, was ein Effekt der Lagerungszeit gewesen sein dürfte. Deutlich nachweisbar war in allen Proben Ecgonin, das als Hydrolyseprodukt aus Coc, ME und BE resultiert.

Mit der von uns vorbereiteten Methode konnte in allen Proben AEME nachgewiesen werden. Eine Schlüsselrolle für die Nachweisbarkeit kommt der Derivatisierung mit MTBSTFA zu (tert-Butyldimethylsilylierung), da Matrixbestandteile nach Trimethylsilylierung einen empfindlichen Nachweis verhindern. Mit der vorgestellten Methode kann AEME als Zeichen eines Crackkonsums in Serumproben, auch nach längerer Lagerung, empfindlich bestimmt werden. Weitere Untersuchungen werden derzeit noch durchgeführt über deren Ergebnisse auch berichtet werden wird.

V8 Die Bedeutung der sachgerechten Probenahme und optimierten Probenvorbereitung für die Qualität spurenanalytischer Ergebnisse

K. Burger

Zentrale Analytik, ZF-DAD, BAYER AG, Gebäude Da5, Bayerwerk, 41538 Dormagen

Der Einfluß verschiedener Parameter auf die verlustarme Manipulation von Spurenkomponenten wird an Beispielen für Anreicherung und clean-up von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen, primären aromatischen Aminen, optischen Aufhellern und anderen relevanten Substanzen demonstriert. Der sicherste Weg zu validen, spurenanalytischen Ergebnissen ist es, die Probenvorbereitung soweit als möglich zu reduzieren: 'Kein clean-up ist das beste clean-up'. Durch Einsatz robuster Trennsysteme wie der matrix-toleranten AMD (Automated Multiple Development) bzw. dem zweidimensionalen Hochleistungstrennsystem der Online-Kopplung aus HPLC und AMD kann auf Anreicherung und clean-up in vielen Fällen verzichtet werden.

V9 Transport-Region CID: Erstellung einer Massenspektrenbibliothek für das General-Unknown-Screening mit LC/MS in Serumextrakten

W. Weinmann, B. Eppinger, M. Renz, M. Svoboda, A. Wiedemann

Institut für Rechtsmedizin, Klinikum der Albert-Ludwigs-Universität, 79104 Freiburg

Mit Hilfe einer Turbo-Ionspray-Quelle und eines im Single-Quadrupol-Modus betriebenen Tripel-Quadrupol-Massenspektrometers (API 365, Perkin-Elmer/Sciex) wurde die Fragmentierung von Molekülonen in der Transport-Region der Ionenquelle (Transport-Region Collision Induced Dissociation, TRCID) untersucht [1]. Mit Hilfe von Haloperidol als Testsubstanz konnten an verschiedenen Geräten mit Ionspray- oder Turbo-Ionsprayquellen reproduzierbare Fragmentierungsbedingungen erhalten werden. Diese Experimente stellten die Grundlage zur Erstellung einer Massenspektrenbibliothek von Drogen und Medikamenten dar. Die Aufnahme von Bibliotheksspektren erfolgte mit drei unterschiedlichen Orifice-Spannungen zur Fragmentation-Bildung; dadurch können simultan Molekülonen-Spektren und Fragmentationenspektren zur Substanzidentifizierung eingesetzt werden.

Die Spektrenbibliothek umfaßt mittlerweile Positiv- bzw. Negativ-Ionenspektren von 600 Substanzen und wird laufend erweitert. Zur Einbindung in die systematische toxikologische Analyse wurden sowohl Flüssig/Flüssig-Extraktion (z.B. für Benzodiazepine, Barbiturate, Analgetika) als auch Festphasenextraktionen (Antidepressiva, Neuroleptika, Opiate etc.) eingesetzt. Anwendungsbeispiele werden vorgestellt.

- [1] W. Weinmann, A. Wiedemann, M. Svoboda, B. Eppinger, M. Renz: *ESI-Mass Spectra Library by CID in the Transport Region (TRCID) for General Unknown Drug-Screening in Serum*. J Am Soc Mass Spectrometry, zur Veröffentlichung eingereicht.

V10 Developing of a GC-MS procedure for detection of new psychotropic drugs in urine based on rat liver microsome studies

J. Bickeboeller-Friedrich, H.H. Maurer

Department of Toxicology, Institute of Pharmacology and Toxicology, University of Saarland, D-66421 Homburg (Saar), Germany.

Screening for unknown drugs or poisons is usually performed by GC-MS in urine. Extensively metabolized compounds can only be detected via their metabolites. Studies on the detection of new psychotropic drugs will be presented.

The metabolites produced by rat liver microsomes were identified by GC-MS after isolation and derivatization. Using their GC and MS data, a GC-MS screening was developed for the detection of such drugs and/or their metabolites in urine after acid hydrolysis, extraction at pH 8-9 and acetylation (for GC-MS details cf. J. Chromatogr. 689 (1997) 81).

This procedure was suitable for GC-MS detection of the following new psychotropic drugs and/or their metabolites in urine: citalopram, dosulepin, fluoxetine, fluvoxamine, lamotrigine, mirtazapine, moclobemide, olanzapine, paroxetine, sertraline, venlafaxine, zolpidem, zopiclone, zotepine and zuclopenthixol. The MS evaluation was done by selective mass chromatography for screening and by library search for identification using the mass spectra recorded during the microsome preparation studies (K. Pflieger, H.H. Maurer, A. Weber, Mass spectral library of drugs and pesticides, 3rd rev., Hewlett-Packard, Palo Alto; and other companies, 1999). Intake of therapeutic doses could be monitored. The detection limits for the different compounds ranged between 5-50 ng/ml ($S/N=3$).

This procedure allows the simultaneous detection of further drugs like amphetamines, barbiturates, benzodiazepines, designer drugs, opioids (opiates and synthetic opioids), phencyclidine as well as non-opioid analgesics, antidepressants, neuroleptics, antiparkinsonians, anticonvulsants, antihistamines, α -blockers, antiarrhythmics, and laxatives.

V11 Praktisches GC-Screening an Blut (und Urin) mit NPD und MS im Parallelbetrieb. Fortschritte in der Auswertung und Datensicherung

B. Aebi und W. Bernhard

Chemische Abteilung am Institut für Rechtsmedizin der Universität Bern, Bühlstrasse 20,

Durch Umsetzen der Idee von Manfred Donike (GTFCh Workshop 1991) sollen NPD und MS in einem Analysensystem in der toxikologischen Routine kombiniert werden. Weiterhin sollen die Analysensicherheit durch Optimieren der Probenvorbereitung erhöht, die computergestützte Auswertung der Totalionenchromatogramme (TIC) bei "geneal unknown" Fällen verbessert sowie eine kostengünstige und praktische Lösung zur Datensicherung erreicht werden.

Folgende Geräte bzw. Software wurde eingesetzt: Gaschromatographen von Varian und Hewlett Packard mit direkter Kopplung zum Massenspektrometer SSQ 7000 mit ALPHA Workstation (Finnigan, Digital Equipment), respektive zum MSD von HP mit Windows NT Workstation. Spektrensuchprogramm MassLib (MSP, CH-3098 Könitz, Email: MassLib@msp.ch, <http://www-masslib.com>) Spektrenbibliotheken (Wiley 6h M, Maurer Pfleger, MassLib Drogejik@ei, etc.). Personal Computer @t Netzwerklkarte und CD-RevMter.

In der Routine werden drei Kombisysteme GC-NPD/MS zur Verbesserung der Spezifität und der Empfindlichkeit der GC-Analysen eingesetzt. Insbesondere beim basischen Screening ist der NPD der Detektor der Wahl. Durch dessen Spezifität wird das NPD-Chromatogramm im Vergleich zum TIC wesentlich vereinfacht. Damit sind auch semiquantitative Auswertungen bei gleichzeitiger Erhöhung der Analysensicherheit (An- oder Abwesenheit stickstoffhaltiger Verbindungen) möglich. Die Auswertung des TIC wurde weitgehend automatisiert. Durch Einsatz des MassLib Programms zusammen mit umfangreichen und aktualisierten Spektrenbibliotheken werden auch in komplexen im "scan mode" aufgezeichneten Chromatogrammen toxikologisch relevante Verbindungen (selbst bei geringen Konzentrationen) im Vergleich zu den sonst üblichen computergestützten Auswertungsmethoden mit erhöhter Sicherheit erkannt.

Die Hardware GC-NPD/MS und das eigens zur Datensicherung aufgebaute Netzwerk mit Hard- und Software werden beschrieben. Beim Anwenden der vorgestellten Methoden werden in der Praxis (mit verhältnismässig bescheidenen Investitionen) beim toxikologischen GC-Screening deutliche Verbesserungen erzielt. Dies wird anhand von Beispielen belegt.

V13 Analytik vergifteter Lebensmittel - aus der Praxis eines forensischen Labors

K. Einhellig

Bayerisches Landeskriminalamt, Maillingerstraße 15, 80636 München

Spektakuläre Giftmorde kommen heutzutage kaum noch vor, dennoch ist die Anzahl der im Bayerischen Landeskriminalamt untersuchten Fälle von in krimineller Hinsicht vergifteten Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen beträchtlich.

In einem Überblick werden die in den Lebensmitteln nachgewiesenen Gifte bei derartigen Delikten aufgezeigt. Häufig liegt bei Delikten nach § 253 StGB eine hohe Probenzahl vor, die in kurzer Zeit analysiert werden muß, wobei neben der Identifizierung der Noxe gegebenenfalls auch eine zumindest semiquantitative Aussage zu treffen ist. Die Bewertung stellt in der Regel eine wesentliche Entscheidungshilfe für das weitere Vorgehen der Ermittlungsbehörden dar.

Anhand ausgewählter Fälle wird die analytische Verfahrensweise (Technik der visuellen und organoleptischen Prüfung; DC; GC/MS) und die forensische Problematik in der Praxis dargestellt und diskutiert.

V14 Strategie zum Nachweis toxischer Substanzen in präparierten Lebensmitteln

D. Richter

LKA PTU 41, 12101 Berlin, Tempelhofer Damm 12

Der im LKA PTU praktizierte Untersuchungsgang mit Lebensmitteln, die in Erpressungsfällen sichergestellt wurden, wird vorgestellt. Je nach Fragestellung und Material ergeben sich verschiedene Wege. Bei entsprechenden Hinweisen oder Verdacht werden Cyanid-, Tensid- oder Lösungsmittelnachweise durchgeführt. Bei Aus-

schluß dieser Stoffe wird eine Dünnschichtchromatographie angefertigt, mit der Cholesterinesterase hemmende Wirkstoffe angezeigt werden.

Danach erfolgt die Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials in Abhängigkeit von der Art des Lebensmittels in Anlehnung an die Methoden S9 und S19 der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln. Zur Untersuchung der Extrakte steht eine HPLC/DAD zur Verfügung. Weitere Analysemethoden wie GC/MS oder LC/MS werden bei Bedarf eingesetzt. Weiterhin wird die Aufarbeitung von Getränken vorgestellt. Als aktuelles Fallbeispiel wird der Nachweis von Bromophos in Marmelade dargestellt.

V15 Mikrodestillation - erste Erfahrungen bei Probenaufbereitung und Screening vergifteter Lebensmittel

G. Haffmanns

Landeskriminalamt Hamburg, LKA 32 Chemie / Toxikologie, Beim Strohhouse 31, D-20097 Hamburg

Es wird die Methode der Mikrodestillation für die Probenaufbereitung und als Screening - Verfahren für die Analytik toxisch präparierter Lebensmittel vorgestellt.

Mit Hilfe des nach Herstellerangaben ursprünglich für die Bestimmung etherischer Öle sowie des Gesamtcyanidgehaltes konzipierten „MicroDistiller™“ lassen sich die als Modellsubstanzen ausgewählten Organochlorpestizide Lindan und Dieldrin sowie die Phosphorsäurederivate Methylparathion, Fenchlorphos und Methylbromophos schnell und empfindlich aus komplexer Matrix (Olivenöl, Ketchup, Konfitüre, Yoghurt, Haarshampoo) abtrennen.

Die konzentrierten Destillate können ohne weitere Reinigungsschritte direkt mittels GC/MS analysiert werden.

V17 Dopingrelevante Analyte zwischen gerichteter Analyse und "general unknown"

R.K. Müller, J. Große, D. Thieme

Institut für Dopinganalytik Kreischa und Institut für Rechtsmedizin der Universität Leipzig

Im Vergleich zur Systematischen Toxikologischen Analyse in Fällen ohne gerichteten Verdacht scheint die Dopinganalyse nur einen relativ schmalen Sektor relevanter, potentiell toxischer Stoffe zu umfassen, da die gültige Definition des IOC nur relativ wenige Stoffe explizit nennt.

Da jedoch jeweils verwandte Verbindungen ebenfalls als verboten gelten, muß mit mindestens mehreren hundert Analyten zuzüglich ihrer Metaboliten gerechnet werden. Deren Kreis ist außerdem unscharf begrenzt. Da mit Rücksicht auf die Nachweisgrenze GC/MS im SIM-Modus überwiegt, ist die Erfassung nicht ausdrücklich berücksichtigter Stoffe aus der "Grauzone" des Doping nicht a priori garantiert, aber - wie mehrere praktische Fälle zeigen - häufig gelungen. Die Erfassungsbreite wird durch zusätzliche Analysenprinzipien (LC/MS, Immunoassays) noch erweitert. Dennoch wird eine angestrebte Konkretisierung der bisherigen Beispiellisten verbotener Verbindungen wie bei der Systematischen Toxikologischen Analyse auch weitere Problemsubstanzen mit sich bringen.

V18 Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) zum Nachweis von Rauschmitteln in Asservaten und auf Körperoberflächen

Th. Keller^a, A. Schneider^a, E. Tutsch-Bauer^a, G. Skopp^b, R. Aderjan^b

^a *Institut für Gerichtliche Medizin, Paris-Lodron-Universität, Ignaz-Harrer-Str. 79, A-5020 Salzburg*

^b *Institut für Rechtsmedizin und Verkehrsmedizin, Ruprecht-Karls-Universität, Voss-Str. 2, D-69115 Heidelberg*

Die Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) wurde bereits von Cohen und Karasek Ende der 70er Jahre als Analyse-methode im Labor eingeführt. Bis heute wird diese Technologie mit verschiedensten Gerätetypen erfolgreich zur Detektion von umweltrelevanten Substanzen, Kampfstoffen, Tränengasen, Herbiziden und Pestiziden, Erdölprodukten, Explosivstoffen sowie von Medikamentenwirkstoffen und illegalen Suchtstoffen zum Einsatz gebracht. Die Autoren berichten über den ersten feldmäßigen Einsatz der IMS-Technologie im Rahmen von Polizei- und Zollkontrollen in Baden-Württemberg im Sommer 1997. Darüberhinaus berichten wir über die Untersuchung von in Österreich beschlagnahmtem Pilzmaterial auf psychotrope Substanzen, den Einsatz der IMS

bei einem spektakulären Fall des Cocainschmuggels in Salzburg sowie über die Anwendung der Ionenmobilitätspektrometrie bei der Untersuchung von Schweißproben Drogentoter. Im psychotropen Pilzmaterial konnte die Wirksubstanz Psilocybin mittels IMS nachgewiesen werden. In den Schweißproben von Drogentoten konnte Cocain eindeutig identifiziert werden. Jeder Drogennachweis mittels Ionenmobilitätsspektrometrie konnte mittels GC/MS bestätigt werden.

V19 Die Chemosensorische Detektion synthetischer Drogen unter Verwendung "Elektronischer Nasen"

R. Dahlenburg, D. Heinz

Bundeskriminalamt, D-65193 Wiesbaden, Thaeerstraße 11

Zur Klassifizierung und Qualitätskontrolle von Nahrungs- und Genußmitteln (wie z.B. Käse, Fisch, Kaffee, Bier oder Tabak) aber auch Duft-/Aromastoffen von Erzeugnissen der chemischen und kosmetischen Industrie werden seit Anfang der 90er Jahre Systeme eingesetzt, die den Geruch dieser Produkte oder notwendiger Ausgangsstoffe mit Hilfe von Chemosensoren charakterisieren.

Das Prinzip basiert auf der summarischen Detektion flüchtiger Komponenten in der Gasphase über den Produkten (Headspace) durch mehrere partiell selektive Sensoren in einem Verbund ("Sensor-Array"), die ein Signalmuster – "Fingerprint" – bilden, dessen Form für die spezifische Zusammensetzung dieses Dampftraumes charakteristisch ist und eine Identifizierung nach Methoden der Mustererkennung ermöglichen. Da im gewissen Sinne der natürliche Geruchssinn in primitiver Form simuliert wird, bezeichnet man solche Sensorsysteme auch als "Elektronische Nasen".

Ausgehend vom Meßprinzip der Chemosensoren und der Kenntnis, daß Rauschgiftspürhunde erfolgreich zum Auffinden von Betäubungsmitteln eingesetzt werden, erfolgten erstmals Versuche zur Detektion sogenannter synthetischer Drogen mit der "Elektronischen Nase FOX 4000" (Hersteller: Alpha MOS, Toulouse) an ausgewählten Amphetamin-Derivaten (Amphetamin, Methamphetamin, MDMA, MDE) und Wirkstoff-Vorstufen (BMK, PMK, Safrol).

Das Gerätesystem arbeitet mit zwei Arrays aus jeweils 6 Metalloxid-Sensoren auf der Basis von dotiertem Zinnoxid und einem Array aus 6 Polymer-Sensoren. Die Probenzuführung erfolgte mit einem Autosampler analog den gängigen GC-Systemen. Als Reaktions- bzw. Trägergas wurde gereinigte Raumluft verwendet. In der Literatur finden sich bisher keine vergleichbaren Analysendaten, so daß auf Basis bekannter Applikationsschriften des Herstellers die Versuchsbedingungen problemorientiert adaptiert werden mußten. Nach ersten Optimierungsschritten der Testparameter (Probemenge, Inkubationstemperatur, Inkubationszeit, Trägergasstrom, Meßintervall, Einfluß von Hilfsstoffen und Verunreinigungen, Luftfeuchte) konnten die Testverbindungen mit dem herstellerseits installierten Sensor-Array reproduzierbar klassifiziert und diskriminiert werden. Auf dieser Basis waren auch erste Untersuchungen sogenannter "Ecstasy"-Tabletten erfolgversprechend. Weitere notwendige Schritte basieren auf der Optimierung des Sensor-Arrays und verfolgen die Erweiterung der Vergleichsbibliothek.

V20 Anwendung der Headspace Solid Phase Microextraction zur Bestimmung von Lidocain in Haarproben von Drogentodesfällen

F. Sporkert und F. Pragst

Institut für Rechtsmedizin der Humboldt-Universität, Hannoversche Straße 6, D-10115 Berlin

In den letzten Jahren wurde in Berlin in den Blutproben von Todesfällen nach Injektion von Drogenzubereitungen häufig Lidocain in z. T. letaler Konzentration festgestellt. Die Analyse der Haarproben sollte daher retropektiv Aufschluß über den Zeitraum und die Häufigkeit solcher Injektionen geben.

Hierfür erwies sich die „Headspace Solid Phase Microextraction“ in Kombination mit Gaschromatographie/Massenspektrometrie (HSPME/GC-MS) als vergleichsweise einfaches, sehr empfindliches und zuverlässiges Verfahren. Zur Erstellung der Methode wurden mehrere Fasern erprobt und die experimentellen Parameter zwecks Optimierung systematisch variiert. Beste Ergebnisse wurden unter folgenden Bedingungen erhalten: 10 mg Haar wurden mit 100 ng Lidocain als innerem Standard versetzt und in 1 ml 1 N NaOH bei 70°C hydrolysiert. Nach Zusatz von 0,5 g Na₂SO₄ wurde im geschlossenen Gefäß bei 70 °C 20 min vortemperiert und

danach 10 min an einer SPME-Faser Carbowax/DVB 65 μm (Supelco) aus dem Gasraum adsorbiert. Die Desorption im GC-Injektor erfolgte bei 250 °C für 3 min. Zur MS-Detektion wurden die Massen 86 und 234 (Lidocain) sowie 128 und 247 (Etidocain) verwendet. Die Nachweis- und die Bestimmungsgrenze betragen 0,1 bzw. 0,4 ng/mg.

Die Untersuchung der Haarproben von 20 Drogentodesfällen ergab Konzentrationen zwischen 0,4 und 300 ng/mg sowie in einem Extremfall 580 ng/mg. Lidocain gehört somit wie das Cocain zu den Wirkstoffen, die sich besonders stark im Haar anreichern. Aus der segmentweisen Untersuchung einiger der bis zu 30 cm langen Haarproben ging hervor, daß diese Substanz offensichtlich über einen längeren Zeitraum häufig aufgenommen wurde.

Am Beispiel von Lidocain und den zum Vergleich untersuchten und ebenfalls alkalisch hydrolysestabilen Lokalanästhetika Etidocain und Propipocain wird gezeigt, daß auch Substanzen mit vergleichsweise geringer Flüchtigkeit aus Extrakten oder Aufschlußlösungen von Haarproben durch HSPME/GC-MS empfindlich und sicher bestimmt werden können.

V21 Nachweis von THC-COOH in Haaren mittels MSD-NCI nach Aufbereitung über HPLC

H. Sachs und U. Dressler

Institut für Rechtsmedizin der Universität München, Frauenlobstraße 7a, D 80046 München

Zum Beweis eines Cannabis-Konsums durch eine Haaranalyse ist in der Regel der Nachweis von THC-COOH notwendig. Methoden mit einfachen MSDs führten auch unter Anwendung von negativer chemischer Ionisation (NCI) nur zu einer Nachweisgrenze von etwa 5 pg/mg. Niedrigere Konzentrationen konnten bislang nur mit Hilfe eines Triple-Stage-Quadrupol-Spektrometers (TSQ) nachgewiesen werden.

Nach Aufbereitung über HPLC läßt sich aber auch mit einem MSD-NCI eine THC-COOH-Konzentration bis in einen Bereich um 0,5 pg/mg nachweisen. Dazu werden 100-200 mg Haare in NaOH aufgelöst und die flüssige Phase nach Ansäuern mit konz. Essigsäure mit Hexan/Ethylacetat extrahiert. Vor der Aufreinigung über HPLC wird die organische Phase noch mit verd. NaOH und HCl gewaschen. Das Extraktionsverfahren ist zwar relativ aufwendig, es wird dafür aber bei der Analyse kein TSQ oder anderes Tandem-MS benötigt.

Im bisherigen Untersuchungsmaterial wurden Konzentrationen bis 10 pg/mg gefunden. Eine direkte Korrelation mit THC war nicht festzustellen. Es war zu erwarten, daß nicht in allen Proben, in denen THC nachweisbar ist, auch THC-COOH gefunden wird. Zusätzlich sollte die Frage beantwortet werden, ob die normale Aufbereitung mit Methanol und Messung auf THC als Screening-Verfahren für Haschischkonsumenten geeignet ist, d.h. daß es zwecklos ist, negative Proben zusätzlich auf THC-COOH zu überprüfen. Dabei stellte sich aber heraus, daß durchaus mittlere Konzentrationen an THC-COOH gefunden werden können, wenn mit der Methanolextraktion kein THC nachzuweisen ist.

V22 Ethylglucuronid-Konzentrationen bei Alkoholvergifteten - Überprüfung eines vorgeschlagenen Grenzwertes für Alkoholmißbrauch

G. Schmitt¹, H. Zimmer¹, R. Aderjan¹, S. Engler², J. Pohl², W. Stremmel²

¹Institut für Rechtsmedizin und Verkehrsmedizin, ²Innere Medizin IV – Abteilung für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektionskrankheiten, im Klinikum der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Ethylglucuronid (EtG) ist ein spezifisches Stoffwechselprodukt von Ethanol, das abhängig von der konsumierten Alkoholdosis gebildet wird. Aufgrund der Ergebnisse aus Trinkversuchen mit gesunden Probanden (n=30) und Alkoholikern im Entzug (n=12) wurde von Schmitt et al. 1997 ein Grenzwert zum Nachweis exzessiven Alkoholmißbrauchs von 5 mg EtG/L Serum vorgeschlagen, wobei dieser Wert mit einer C_{max} für Blutehtanol von mindestens 1,6 ‰ korreliert.

Zur Überprüfung des vorgeschlagenen Grenzwertes sollten Blutproben Alkoholvergifteter auf EtG untersucht und mit der Anamnese, unter Einbeziehung gängiger Laborparameter (CDT, Leberenzymaktivitäten), verglichen werden.

Blutproben von 25 Alkoholvergifteten wurden gaschromatographisch auf Ethanol sowie gaschromatographisch und massenspektrometrisch auf dessen Glucuronid geprüft. Erwartungsgemäß fanden sich bei den kurz nach Aufnahme in die Vergiftungsstation entnommenen Blutproben extrem hohe Konzentrationen beider Analyte.

Die bei Blutethanolkonzentrationen bis 4,5 ‰ im Serum gefundenen EtG-Konzentrationen lagen bei Werten bis 46,6 mg/L und somit weit über den aus Trinkversuchen bekannten, aber im Bereich von Alkoholikern in Entzugsbehandlung. Von den über 5 mg EtG/L Serum liegenden Fällen wurden 80 % aufgrund ihrer Anamnese und den erhobenen Laborwerten als Alkoholiker eingestuft. In 6 Fällen fanden sich auch zum Zeitpunkt der Entlassung, bei Blutethanolkonzentrationen unter 1,6 ‰, noch EtG-Konzentrationen über 5 mg/L Serum. Die Aussagekraft hoher EtG-Konzentrationen als Marker für exzessives Trinkverhalten wird diskutiert.

V23 Sensitive determination of parathion ethyl and other phosphorous esters in blood and other biological specimens

F. A. Tarbah and Th. Daldrup

Institute of Legal Medicine, Heinrich-Heine-University, P.O. Box 10 10 07, D-40001 Duesseldorf, Germany

We developed an accurate, simple and sensitive method with high recoveries for toxicological analysis of parathion ethyl and paraoxon in case of E-605 intoxication. The phosphorous esters were extracted with 1 mL toluene from a 0.7 mL aliquot of the blood or serum sample. Parathion methyl was used as internal standard. After centrifugation at 14,000 rpm for 5 min, 1 µL of the organic phase was analysed directly by GC/PND.

Calibration curves for parathion ethyl and paraoxon in human serum were linear over a range of 0.025-3.0 mg/L. The detection limit of parathion ethyl and paraoxon were approximately 0.01 mg/L. The average recoveries from human serum for parathion ethyl and paraoxon were 94 % and 78 % respectively. The coefficients of variation ranged between 0.0 % and 15.6 % (table 1). No change in parathion ethyl and paraoxon concentrations were observed in spiked serum when mixed with EDTA sodium salt (1.5 mg/mL) and stored at 4°C up to 72 h.

Table 1: The within-day and between-days precision for the analysis of parathion ethyl and paraoxon.

	Within-day precision				Between-days precision			
	Parathion ethyl	Paraoxon	Parathion ethyl	Paraoxon	Parathion ethyl	Paraoxon	Parathion ethyl	Paraoxon
n	5	5	5	5	5	5	5	5
Concentrations expected: [mg/L]	0,050	0,050	1,000	1,000	0,050	0,050	1,000	1,000
Concentrations found: mean [mg/L]	0,056	0,038	0,940	0,780	0,046	0,041	0,910	0,820
SD	0,003	0,000	0,016	0,011	0,007	0,003	0,040	0,046
CV in %	6,000	0,000	1,700	1,400	15,650	8,240	4,400	5,640

In two clinical cases of acute E-605 intoxication, serum concentrations of 0.60 mg/L parathion ethyl and 0.04 mg/L paraoxon for case No. 1 and 0.31 mg/L parathion ethyl and 0.04 mg/L paraoxon for case No. 2 were detected with this method. We tested this method for other common P-esters too, such as mevinphos and metasystox (demeton-S-methyl-sulfoxid, demeton-S-methyl and demeton-S-methyl-sulfon). The best results were observed by using mevinphos as internal standard for metasystox and vice versa. This method was also used for investigation of food products (baby food, soft drinks and instant soup) in cases of suspected contaminated products or in case of blackmail. 0.2 g food product was homogenised with 0.5 mL water and analysed as described above for blood sample with and without addition of internal standard.

Additional analyses were also done for the determination of the main degradation products of parathion ethyl i.e. p-nitrophenol (P-NP). We used a HPLC method [1] for free and conjugated P-NP using β-glucuronidase for the enzymatic hydrolyses and phenolphthalein glucuronic acid as internal standard.

[1] P. Michalke and T. Daldrup: Freier und gebundener Anteil von p-Nitrophenol in Blut und Urin nach E-605 Intoxikation. XIIth Congress of the International Academy of Forensic and Social Medicine. H. Egermann, Wien, pp 427-430 (1982)