



GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

Toxichem

+

Krimtech

58 (4-6)

TOXICHEM + KRIMTECH

MITTEILUNGSBLATT DER GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

Das Mitteilungsblatt erscheint in zwangloser Folge, im Schnitt sechs mal jährlich. Alle Mitglieder der GTFCh erhalten die Zeitschrift im Rahmen ihres Mitgliedsbeitrages.

Schriftleitung: Prof. Dr. Thomas Daldrup
 Institut für Rechtsmedizin
 Heinrich-Heine-Universität
 Moorenstraße 5
 D-4000 Düsseldorf 1

Vertrieb: Geschäftsstelle der GTFCh
 Karl Schmidt
 Landgrabenstraße 74
 D-6368 Bad Vilbel

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	78	U. Demme: Kommentar zur Standardmethode 1: Extraktion	115
R. Denk, I. Raff, H. Sachs: Untersuchung von Kopfharen	79	W. Arnold: Nachlese: ANAKON 1991	122
M. Erdweg, M. Hoffmann: Nachweis von Cocain	84	W. Arnold: Nachlese: TIAFT 1991	126
H.H. Maurer, M. Rupp, A. Weber: Workshop 91: Extraktion	91	***** *Fortbildungsveranstaltung der * *GTFCh 1992: Programm	131*
F. Mußhoff, Th. Daldrup: Workshop 91: Benzodiazepine	95	***** H.J. Battista: 5. Seminar für Toxikologie: Luftschadstoffe	132
G. Schmitt, R. Aderjan: Workshop 91: Cocain	98	Personalialia: Stellengesuche, Foren- sischer Toxikologe, Berufungen	134
G. Möschwitzer, U. Demme, H. König: Standardmethoden	106	Personalialia: Neue Mitglieder, Austritte, Notizen	134, 136
U. Demme, G. Möschwitzer, H.J. Birkhahn, R. Scholz: Standard- methode 1: Extraktion	108	M. Brinkhoff: Buchbesprechung	137
		C. Heller: Buchbesprechung	139

Vorwort

Das lang erwartete neue T+K-Heft liegt Ihnen nun endlich vor. Es ist das letzte Heft für das Jahr 1991. Es ist ein besonders seitenstarkes Heft geworden, welches, so meine ich, eine ganze Reihe interessanter Beiträge enthält.

Im neuen Jahr ist beabsichtigt, das Erscheinungsbild von T+K optisch zu verbessern. Herr Sachs aus Ulm hat sich angeboten, das Layout aller Artikel mit Hilfe moderner Textgestaltungsprogrammen und -geräten zu überarbeiten. Hierfür benötigt er selbstverständlich den auf Diskette gespeicherten Beitrag. Ich darf deshalb schon jetzt bitten, in Zukunft den druckfertigen Text und - falls vorhanden - die zugehörige Diskette mit Angaben über die benutzte Software an die Schriftleitung zu schicken. Herr Sachs hat hierzu "Hinweise an die Autoren", die auf der letzten Seite dieses Heftes abgedruckt sind, formuliert. Wie alle Artikel in T+K dann in Zukunft aussehen sollen, zeigt der in diesem Heft abgedruckte Beitrag von Herrn Sachs und seinen Mitarbeitern.

Ich möchte es nicht versäumen, allen Lesern des Mitteilungsblattes unserer Gesellschaft ein erfolgreiches Jahr 1992 zu wünschen.

Ihr

Thomas Daldrup

NEUERSCHEINUNG Symposiumsband

Beiträge zur
Toxikologischen Chemie



1. Gesamtdeutsches Symposium
3. - 5. Juli 1990
Leipzig

Erhältlich zum Preis von DM 20,- bei der Geschäftsstelle

Qualitätssicherung bei der Untersuchung von Kopfhaaren zum Nachweis von Betäubungsmitteln

R. Denk, I. Raff und H. Sachs, Ulm

Institut für Rechtsmedizin der Universität Ulm, Prittwitzstr.6, W-7900 Ulm/Donau,
Bundesrepublik Deutschland

Eingegangen 3. November 1991

Einleitung

Der Ausschuß der GTFCh zur Erarbeitung von Richtlinien für die Qualitätskontrolle hat allgemeine Richtlinien, betreffend Personal, technischer Ausrüstung, Verfahrensweisen und Protokollierung, für die Qualitätskontrolle erstellt, die am 20.04.91 beschlossen wurden [1].

Bei der Haaranalytik, zum Nachweis von Betäubungsmitteln, ergeben sich Besonderheiten, die über diese Richtlinien hinausgehen. Um grundsätzlich die Aussagekraft der Haaranalyse sicherzustellen sind einige Maßnahmen notwendig, deren Beachtung es erst erlaubt die Möglichkeiten dieser Technik auszuschöpfen. So ist eine Kontrolle der chemisch-toxikologischen Untersuchung durch den Gebrauch von gespikten Proben, ähnlich dem Kontrollserum oder dem Kontrollurin, den die GTFCh anbietet, nicht ausreichend. Daher ist für diese Probenart ein anderes Konzept der Kontrolle zu wählen, das hier beschrieben werden soll. Zunächst soll jedoch auf die Probennahme und Fehler, die bei ihr gemacht werden, eingegangen werden. Ein noch so ausgeklügeltes Kontrollsystem des Analysenweges ist sinnlos, wenn schon bei der Probennahme Fehler gemacht werden. Selbst das genaueste Analysenverfahren kann solche Fehler, nicht mehr ausgleichen.

I. Probennahme :

Die häufigsten Mängel, die nach unserer Erfahrung auftreten, und deren Auswirkungen seien im folgenden kurz angesprochen.

1. Zu geringe Probenmengen :

Es werden Proben eingesandt, die insgesamt nur aus 5 - 10 einzelnen Haaren bestehen. Diese Probenmenge ist für die Beantwortung forensisch-toxikologischer Fragestellungen nicht ausreichend.

2. In sich verschobene oder schräg abgeschnittene Haarstränge :

Für die Beurteilung des Aufnahmezeitpunktes ist es ein Unterschied, ob die Probe schräg abgeschnitten wurde oder ob sie sich nachträglich verschoben hat. Dieser sehr häufig beobachtete Fehler schränkt die Beurteilungsmöglichkeit der Zeiträume, in denen Betäubungsmittel aufgenommen wurden, ein.

3. Unvollständige Dokumentation :

Proben, bei denen eine eindeutige Zuordnung zu Personen nicht möglich ist, haben selbstverständlich keine Aussagekraft. Dieser Fehler kommt seltener vor. Häufiger ist das Fehlen der Bezeichnung von kopfnaher Schnittstelle und Haarspitze. Ebenso fehlt oft die Dokumentation der Länge der an der Kopfhaut verbliebenen Haarstoppeln.

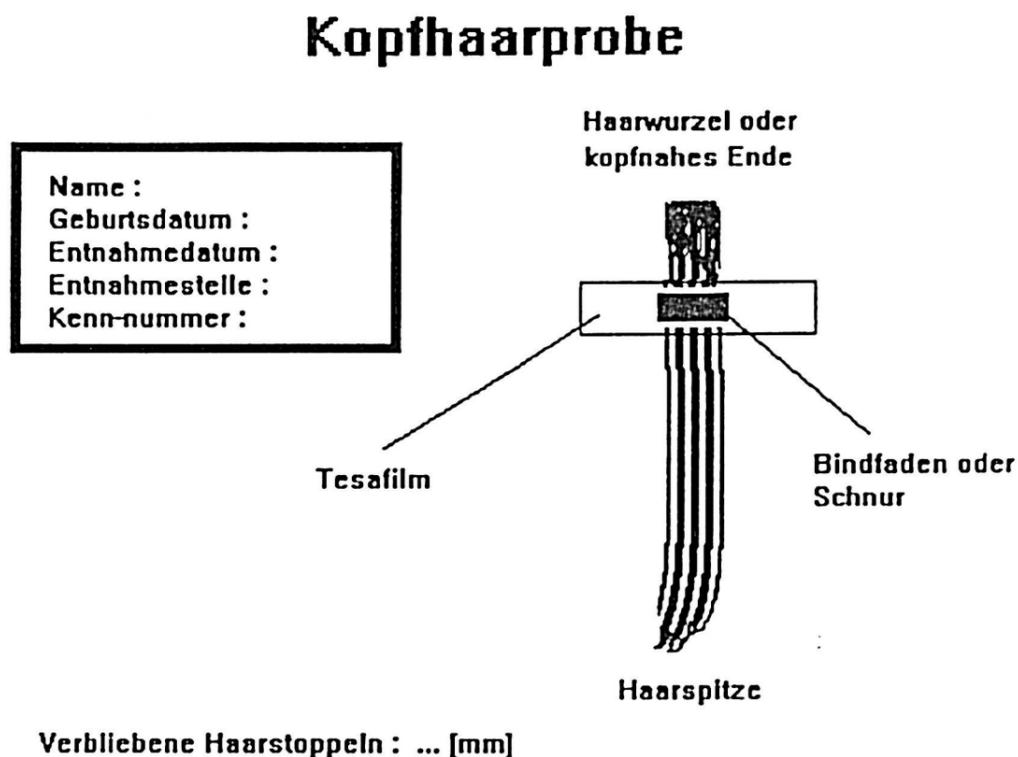
Die angeführten Fehler wirken sich auf die Sicherheit der Beurteilung aus bzw. sie schränken die Möglichkeiten der Beurteilung ein und führen dadurch zu einem Informationsverlust.

Die richtige Probennahme ist in folgenden Regeln zusammengefasst :

1. Die Probennahme, das Verpacken und Versenden dürfen nicht in der Nähe von Rauschmittelasservaten stattfinden und der Probenentnehmende sollte sichergehen, daß er vor der Probennahme nicht in Kontakt mit diesen war.
2. Die Entnahme erfolgt, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, primär über dem Hinterhauptshöcker des Probanden. Ist dies nicht möglich, muß die Entnahmestelle entsprechend dokumentiert werden.
3. Die zu asservierende Probe sollte ein mindestens bleistift- bis kleinfingerdicker Strang sein.
4. Die Haare werden vor dem Abschneiden mit einem festen Bindfaden, 2 - 3 cm von der Kopfhaut entfernt, fest zusammengebunden. Sollten die Haare zu kurz sein, kann auf diese Manahme verzichtet werden.
5. Die zusammengebundenen Haare sind direkt an der Kopfhaut abzuschneiden. Sollte dies nicht möglich sein, muß die Länge der zurückgebliebenen Haarreste dokumentiert werden.
6. Bei der Entnahme ist besonders darauf zu achten, da sich die entnommenen Haare nicht ineinander verschieben.
7. Die entnommene Haarprobe ist fest in Aluminiumfolie einzurollen und mit Tesafilm auf einem Briefbogen zu fixieren. Die Probenbeschriftung mit Probenkennung, Bezeichnung von kopfnahem Ende und Haarspitze, sowie Angaben über die Länge der verbliebenen Haarstoppeln ist auf dem Briefbogen zu vermerken.

Wie eine solche Probe aussehen sollte, ist in Abbildung 1 dargestellt.

Abb. 1 : Schematische Darstellung einer korrekt asservierten Haarprobe



In den meisten Fällen entzieht sich die Asservierung der Haare der Kontrolle des Analytikers. Sie wird hauptsächlich von Polizeibeamten oder Ärzten durchgeführt. Deshalb müssen diese Personen entsprechend informiert werden, um die oben angesprochenen Fehler zu vermeiden.

II. Chemisch-toxikologische Untersuchung

Die Zuverlässigkeit und Präzision der Untersuchung einer korrekt asservierten Haarprobe muß ebenfalls abgesichert werden.

II.I. Probenannahme und Lagerung

Der erste Schritt, nachdem die Probe das Labor erreicht hat, ist das Auspacken, Erfassen und Lagern der Probe. Dies muß strikt getrennt von anderen Asservaten erfolgen. Die Lagerung der Proben sollte in verschließbaren Kunststoffbeuteln erfolgen. Ein Tiefgefrieren der Proben ist wegen der Stabilität der zu suchenden Wirkstoffe nicht unbedingt erforderlich.

II.II. Kontrolle des Analysenganges

Möglichkeiten der Kontrolle des Analysenganges sind die Verwendung eines Standardreferenzmaterials oder die Überprüfung der Verfahren mittels der Tracertechnik. Der einfachere und billigere Weg ist der Einsatz eines Standardreferenzmaterials. Unter einem solchen Material versteht man eine wirkstoffhaltige Matrix, in der die Wirkstoffe in ihrer natürlichen Form und in ihren natürlichen Bindungsverhältnissen vorliegen. Der Wirkstoffgehalt dieser Matrix muß dann sehr sorgfältig durch verschiedene Verfahren bestimmt werden. Schließlich müssen diese Werte noch durch eine Institution anerkannt werden [2,3]. Die Vorstufe zu einem Standardreferenzmaterial ist normalerweise die Herstellung eines sogenannten Pools aus der wirkstoffhaltigen Matrix. Hierfür lassen sich die Kopfhaare eines an einer Überdosis Heroin verstorbenen Abhängigen verwenden.

Normalerweise ist die Herstellung von solchen Standardreferenzmaterialien sehr aufwendig. Wir haben, weil uns nur wenig Haare zur Verfügung standen, eine sehr einfache Form der Aufbereitung gewählt.

Die Herstellung des Haarpoools wurde wie folgt durchgeführt:

Die Haare wurden mit Aceton, Methanol und demineralisiertem Wasser gewaschen und bei Raumtemperatur getrocknet. Um den Wirkstoff, sowie eventuell vorhandene Bindungsverhältnisse zu schonen, wurden Portionen von etwa 500 mg in mehrfach mit einer Stahlkugelmühle gemahlen. Das Haarmehl wurde dann in einem Becherglas gesammelt, zwei Tage durch Rühren homogenisiert und in einem verschließbaren Gefäß gelagert. Die Gehalte an Morphin, Codein und Dihydrocodein wurden nach dem Auflösen in Natronlauge mit anschließender saurer Hydrolyse und zweimaliger Extraktion, gaschromatographisch - massenspektrometrisch gegen Ethylmorphin als internem Standard gemessen [4,5].

In dem von uns hergestellten Pool wurden folgende Gehalte und Standardabweichungen aus 7 Aufbereitungen ermittelt (Tabelle 1).

Tab. 1:

Morphin:	687 +- 67 ng/g
Codein:	297 +- 20 ng/g
Dihydrocodein	638 +- 80 ng/g

Eine in der beschriebenen Weise hergestellte Menge von ca. 30 g Haarmehl ist zur Absicherung von Haaranalysen bei etwa 600 Untersuchungstagen ausreichend.

Ausblick:

Forensische Fragen, die durch die Anwendung der Haaranalyse beantwortet werden können, haben in jüngster Zeit erheblich zugenommen. Es sollte deshalb möglichst frühzeitig damit begonnen werden, die verwendeten Analyseverfahren auf ihre Genauigkeit und Zuverlässigkeit hin zu überprüfen. Da die Herstellung von Referenzmaterialien, bedingt durch die hohen Anforderungen an ein solches Material nur mit einer entsprechend großen Haarmenge lohnend ist, müssen weiter wirkstoffhaltige Haare gesammelt und entsprechend aufbereitet werden.

Literatur :

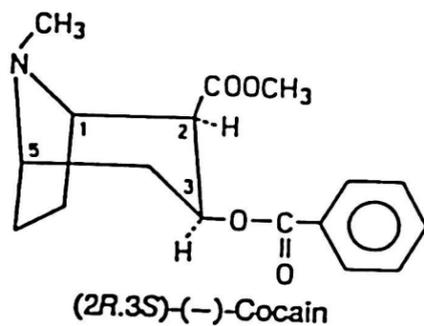
1. Aderjan R, Daldrup T, Harzer K, Heller C, Kauert G, Maurer H, Müller M, Müller E, Raudonat H, Rösener H, Rübsamen K, Schmidt K, Schmitt G, Schmoltdt A, Wennig R (1991) Laborrichtlinien für chemisch-toxikologische Untersuchungen. *Toxichem + Krimtech* 58 (3): 43 - 47
2. Beegly HF, Mears TW, Michaelis RE, Wilson JN (1975) *Treatise on Analytical Chemistry*, Editoren Kolthoff I.M., Elving P.J., Stross F.H., John Wiley & Sons New York Volume 3: 2 - 43
3. United States Department of Commerce (1976) *Catalog and Price list of Standardmaterials issued by the National Bureau of Standards. Misc. Publ. 260 and its semiannual supplements* Washington D.C. Government Printing Office
4. Sachs H, Arnold W (1989) Results of Comparative Determination of Morphine in Human Hair Using RIA and GC/MS. *Clin Chem Clin Biochem* 27: 873-877
5. Sachs H, Brunner U (1986) Gaschromatographisch-massenspektrometrische Befunde von Morphin und Codein in Glaskörperflüssigkeit und Haaren. *Beitr Gerichtl Med* 44: 281-288 (1986)

Zum Nachweis von Cocain

Martin Erdweg und M. Hoffmann
 Institut für Hygiene und Laboratoriumsmedizin
 Städtische Krankenanstalten W-4150 Krefeld

Cocain (Abb. 1), ein Alkaloid das aus den Blättern des Cocastrauches "Erythroxylum coca" durch Veresterung mit Methanol und Benzoylierung zu gewinnen ist, wurde vor der Entwicklung synthetischer Anästhetika als wirksames Lokalanästhetikum verwendet.

Abb. 1 Strukturformel von Cocain



Auf Grund der potentiellen suchterzeugenden Eigenschaften zählt Cocain heute zu den am häufigsten verwendeten Drogen. Dies wird durch die steigende Zahl positiver Ergebnisse bei der Untersuchung auf Cocain belegt. Über die Verfahren zur routinemäßigen Untersuchung von Urinproben auf Cocain und seiner Metaboliten soll im folgenden berichtet werden.

Material und Methoden

Zur Durchführung der qualitativen und quantitativen Analysen stehen eine Reihe von Untersuchungsverfahren zur Verfügung, dazu zählen die Fluoreszenzpolarisation (FPIA) und die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC).

FPIA

Polarisiertes Licht, das alternierend horizontal und vertikal in zwei Ebenen schwingt, wird von einem Fluorophor, z.B. Fluorescein, absorbiert. Das absorbierte Licht wird bei einer anderen Wellenlänge emittiert und nach Durchtritt durch ein Polarisationsfilter gemessen. Die Eigenrotation des Fluorophors führt zu einer Depolarisierung des absorbierten Lichts. Durch die Bindung an ein Makromolekül (z.B. Antikörper) wird die Rotation des Fluorophors gehemmt, der Polarisationsgrad nimmt zu. Daher ist die Konzentration an freiem Fluorophor umgekehrt proportional zum gemessenen Polarisationsgrad. Im Testansatz werden ein fluoreszenzmarkierter Analyt (Tracer-Molekül), unmarkierter Analyt der Probe und Antikörper, der im Überschuss vorliegt, gemischt. Tracer und Analyt der Probe konkurrieren um die Bindungspositionen am Antikörper. Nach einer vorgegebenen Inkubationszeit wird der Polarisationsgrad gemessen. Mittels Testlösungen, die einen definierten Gehalt an Analyten aufweisen, lassen sich Kalibrationskurven erstellen, die die Drogenuntersuchung der verdächtigten Probe ermöglichen. Cocain, Benzoyllecgonin und Ecgoninmethylester werden mit der beschriebenen Methode quantitativ als Summenparameter erfaßt.

HPLC

Extraktionsverfahren

Zur Bestätigung der mittels FPIA erstellten Resultate wird ein Aliquot der zu untersuchenden Probe, in der Regel Urin, für die Cocainbestimmung mit Dichlormethan extrahiert und anschließend mittels HPLC analysiert. Bei der Extraktion kann die Methode der flüssig-flüssig Extraktion angewandt werden, alternativ ist auch ein Vorgehen nach der Methode der Festphasenextraktion, siehe unten, möglich.

Flüssig-flüssig Extraktion

5 ml der Urinprobe werden mit 10 ml Dichlormethan versetzt. Nach intensivem Rühren für 10 Minuten wird die organische Phase abgetrennt und am Rotationsverdampfer unter Anlegen von Vakuum bis zur Trockne eingengt. Die Probe wird für die HPLC in einem definierten Volumen Startpuffer aufgenommen und dann über eine Proben-schleife injiziert.

Festphasenextraktion

Eine mit Octadecyl-C18 gefüllte Extraktionssäule wird vor der Probenaufgabe zuerst mit Methanol und anschließend mit Wasser gespült. Die Urinprobe wird auf die Säule gegeben und durch Anlegen eines leichtgradigen Vakuums durch die Säule gesaugt. Der nachfolgende Waschschriff entfernt zum größten Teil die störenden Begleit-substanzen. Die Lufttrocknung des Säuleninhalts erfolgt durch erneutes Anlegen von Vakuum für etwa 10-15 Minuten. Dann werden die auf der Extraktionssäule befindlichen Substanzen mit Methanol eluiert. Die gewonnene organische Phase wird bis zur Trockne eingengt, der Rückstand kurz vor der Injektion in Startpuffer aufgenommen und dann mit HPLC analysiert.

HPLC-Analyse

Die HPLC-Analysen lassen sich in einem isokratischen Arbeitsgang durchführen. Als Elutionspuffer dient ein Gemisch aus 15 % Acetonitril und 85 % Phosphatpuffer mit einem pH-Wert von 2,3, das mit einer konstanten Flußrate von 1 ml/min über die Analysensäule gepumpt wird. Die Trennsäule mit einer Länge von 250 mm und einem Innendurchmesser von 4,6 mm ist gefüllt mit RP-18-Material der Partikelgröße 10 µm. Eine vorgeschaltete Kartusche ebenfalls mit RP-18-Material gefüllt, reduziert die Belastung der Hauptsäule durch störende Verunreinigungen. Ein Säulenofen mit Umluftthermostat, in dem auch das Probenaufgabeventil integriert ist, sorgt für eine konstante Säulentemperatur von 40 °C und bewirkt gleichzeitig die Vortemperierung des Eluentenstromes. Die Abb. 2, siehe unten, zeigt das typische Chromatogramm einer Cocainanalyse.

Ergebnisse

Qualitätskontrolle

Die Überprüfung der Analysenresultate, die mit Hilfe der FPIA-Methode erstellt wurden, erfolgte mittels zwei Kontrolllösungen. Beide Kontrollproben wiesen eine gleichartige Matrix wie das zu analysierende Probenmaterial auf.

Zur Kontrolle der Meßwerte von Proben mit niedrigem Cocaingehalt diente eine Lösung von 0,5 µg Benzoyllecgonin pro 1 ml Humanurin. Eine zweite Kontrolle mit einer Benzoyllecgoninkonzentration von 3,0 µg pro 1 ml Humanurin wurde für die Proben mit höherem Drogengehalt eingesetzt. Die Präzision in der Serie wurde an Hand dieser beiden Testlösungen überprüft. Die gemessenen Werte sind in Tab.1 dargestellt.

Tab.1 FPIA-Messungen in der Serie -
Konzentrationsangaben in µg / ml

Präzision in der Serie	
Kontrolle L	Kontrolle H
0,43	3,16
0,47	3,22
0,43	3,19
0,48	3,01
0,43	2,97
0,48	3,05
0,44	3,11
0,47	2,99
0,43	2,97
0,45	3,27
$\bar{x}_L = 0,451$	$\bar{x}_H = 3,094$
$s_L = 0,0207$	$s_H = 0,1054$
$VK_L = 4,592 \%$	$VK_H = 3,408 \%$

Für die Lösung mit dem niedrigen Drogeninhalt von 0,5 µg Benzoyllecgonin pro 1 ml Humanurin wurde aus den Meßergebnissen ein Variationskoeffizient von 4,13 % errechnet. Die Auswertung der Analysenreihe für die Kontrollprobe mit der höheren Konzentration von 3,0 µg pro 1 ml Humanurin ergab einen Variationskoeffizienten von 3,13 % .

Die tägliche Kontrolle für die FPIA erfolgte ebenfalls mit zwei verschiedenen Lösungen von Benzoyllecgonin und Humanurin. Die Low-Kontrolle war auf 0,5 µg / ml Benzoyllecgonin eingestellt, die High-Kontrolle enthielt 3,0 µg / ml Benzoyllecgonin. In Tab.2 sind die Meßwerte ,die an 20 aufeinanderfolgenden Tagen erstellt wurden,aufgeführt.

Tab.2 Täglichen Messungen, Mittelwerte, Standardabweichungen und Variationskoeffizienten der FPIA - Konzentrationsangaben in µg / ml

Kontrollen von Tag zu Tag	
Kontrolle L	Kontrolle H
0,46	2,94
0,44	2,80
0,48	2,84
0,48	3,21
0,46	3,05
0,49	3,24
0,51	3,32
0,47	3,01
0,50	3,34
0,49	2,87
0,48	3,25
0,53	2,99
0,43	3,08
0,48	3,01
0,47	3,01
0,46	3,16
0,49	3,19
0,47	2,96
0,45	2,96
0,45	2,97
$\bar{x}_L = 0,47$	$\bar{x}_H = 3,06$
$s_L = 0,023$	$s_H = 0,154$
$VK_L = 4,92 \%$	$VK_H = 5,02 \%$

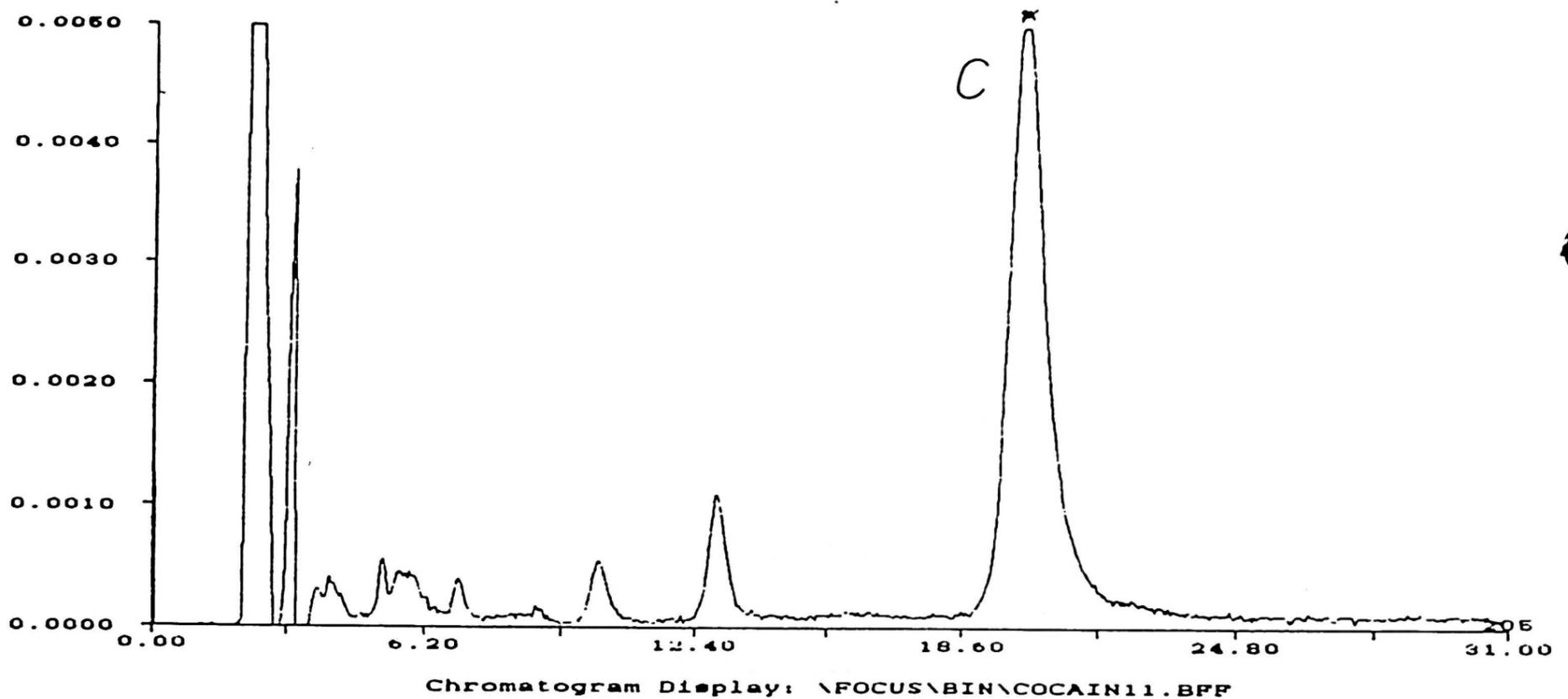
An Hand dieser Daten ließ sich für die Low-Kontrolle eine Standardabweichung von $s = 0,023$ errechnen. Die High-Kontrolle lieferte für die Standardabweichung einen Wert von $s = 0,097$.

Aus den gewonnenen Daten resultierte für die Kontrolllösung mit niedrigerem Benzoylcegoningehalt ein Variationskoeffizient von $VK = 4,13 \%$. Für die Kontrolle mit der höheren Konzentration an Benzoylcegonin wurde ein Variationskoeffizient von $VK = 3,13 \%$ gebildet.

HPLC-Analyse

Die Proben, die bei der FPIA positive Ergebnisse lieferten, wurden anschließend mittels HPLC einer Bestätigungsanalyse unterzogen. Abb.2 zeigt das Chromatogramm einer HPLC-Analyse auf Cocain.

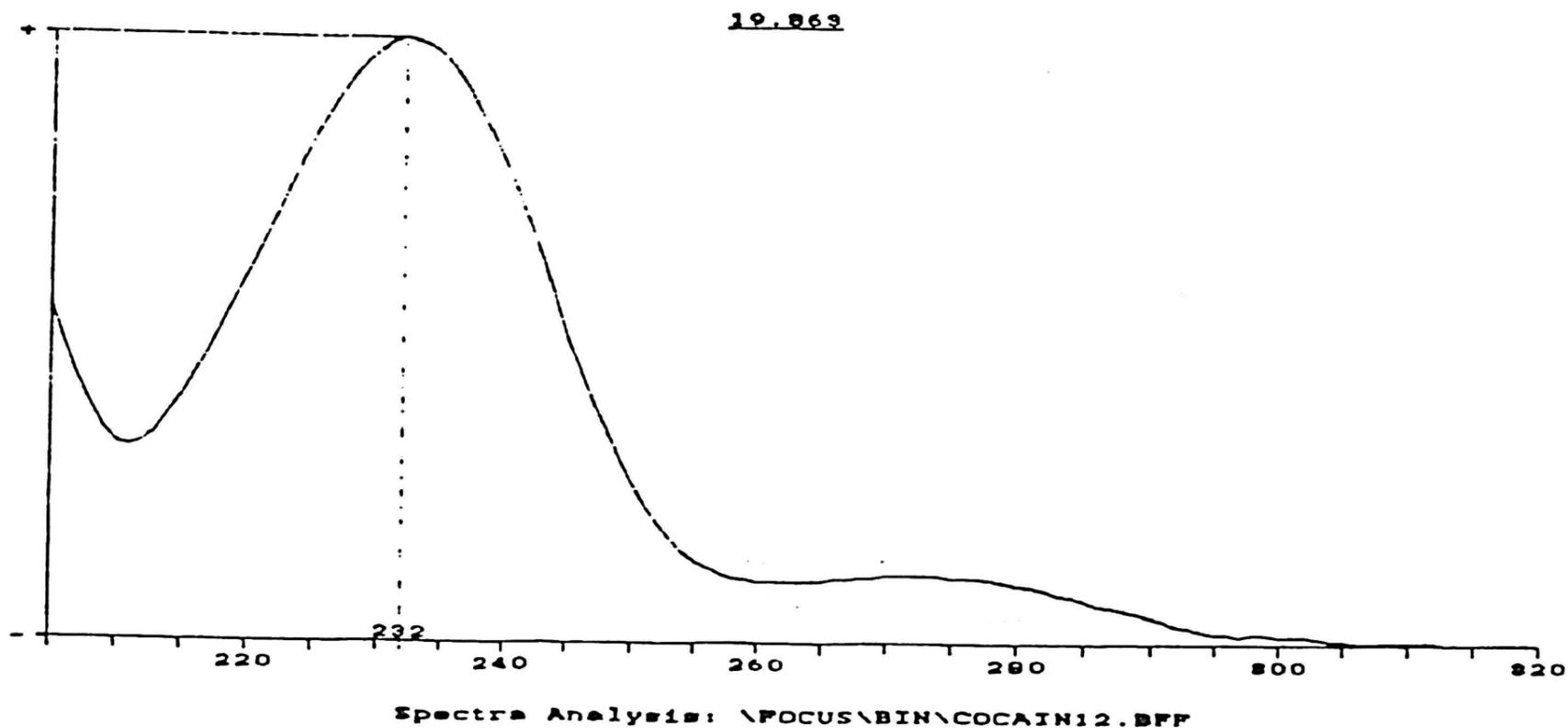
Abb.2 Chromatogramm einer Cocainanalyse



Analysenbedingungen: RP-18-Säule (4 x 250 mm) mit Vorsäule; Phosphatpuffer (pH 2,4), Acetonitril (85:15); Flußrate 1ml/min;

An Hand der Retentionszeit von 19.86 Minuten wurde der Substanzpeak als Cocain identifiziert. Während dieses Analysenlaufes wurden vom gleichen Substanzpeak die Daten für ein UV-Spektrum aufgenommen. Der Absorptionsverlauf ist in Abb.3 dargestellt.

Abb.3 UV-Spektrum des Substanzpeaks zur Retentionszeit 19,86 Minuten

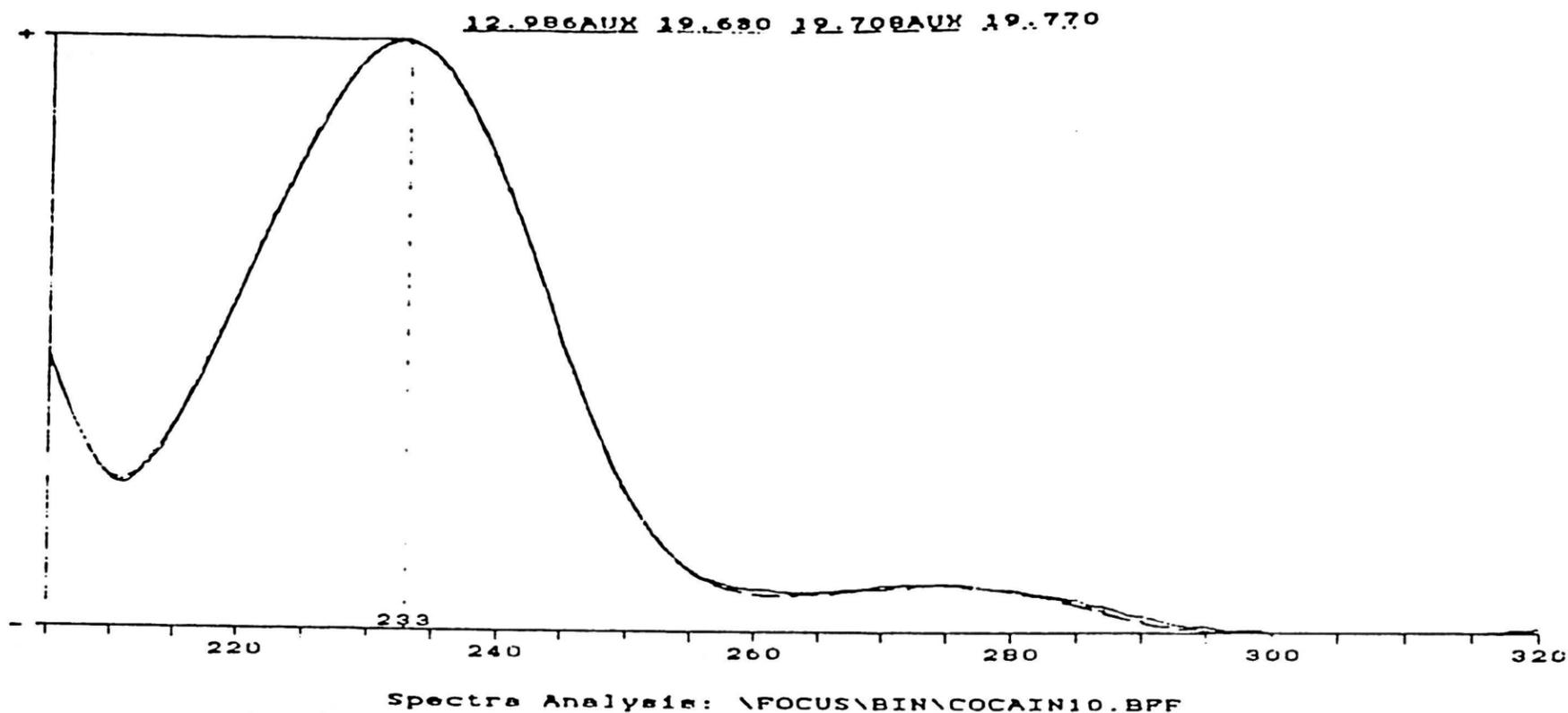


Dargestellter Wellenlängenbereich: 205 - 320 nm.
Gemessenes Absorptionsmaximum 232 nm.

Für die Erstellung der UV-Spektren wurde ein Wellenlängenbereich von 205 nm bis 320 nm festgelegt. Dieser Bereich gibt den für Cocain charakteristischen Absorptionsverlauf mit einem Maximum bei 233 nm und einem deutlich schwächer ausgeprägten Maximum bei ~ 275 nm wieder.

In Abb.4 ist das UV-Spektrum der Reinsubstanz Cocain und dasjenige des Substanzpeaks aus der Analyse übereinander projiziert. Es zeigt sich, daß beide Spektren, und damit auch die Substanzpeaks, identisch sind.

Abb.4 Überlagerung der UV-Spektren zweier Substanzpeaks verschiedener Chromatogramme.



Retentionszeit der Substanzpeaks 19,68 bzw.19,70 Minuten
Wellenlängenbereich: 205-320 nm

Zusammenfassung

Drogenuntersuchungen, die mit der FPIA-Methode durchgeführt werden, liefern in kurzer Zeit und bei minimalem personellen Aufwand exakte Resultate. Für die notwendige Absicherung der erstellten Ergebnisse kann die HPLC-Analyse als zweite unabhängige Methode eingesetzt werden. Die Ausstattung des HPLC-Systems mit einer geeigneten EDV-Anlage, die die Analysendaten als Rohdaten speichern und aufbereiten kann und damit die Erstellung von UV-Spektren sowie die erneute Darstellung und Modifizierung der Chromatogramme erlaubt, stellt eine wertvolle Bereicherung der Möglichkeiten in der Drogenanalytik dar.

Workshop 1991: Festphasenextraktion aus Plasma für GC und GC-MS*

Hans H. Maurer, Martina Rupp und Armin Weber
Abteilung Klinische Toxikologie der Universität des Saarlandes
W-6650 Homburg (Saar)

Für die gaschromatographisch-massenspektrometrische Identifizierung und Quantifizierung von Arznei- und Giftstoffen im Plasma wurde ein Festphasenextraktionsverfahren mittels Octadecylsäulen (C-18) entwickelt. Das Ziel war, möglichst viele Stoffe unterschiedlicher Struktur zu erfassen. Die Effizienz sollte anhand des GTFCh-Kontrollserums (für die GC) exemplarisch getestet werden.

Material und Methode

Das GTFCh-Kontrollserum für GC (Fa. Laboserv GmbH, Gießen) enthält die in Tab. 1 angegebenen therapeutischen Konzentrationen ausgewählter Arzneistoffe.

Die einzelnen Schritte der Festphasenextraktion sind in Abb. 1 zusammengefaßt.

Die Quantifizierung wurde mittels GC-MSD durchgeführt (neue (!) Methylsilicon-Kapillare HP-1, Temperaturprogramm 100-310°C in 10°/min; Full Scan Mode, Auswertung mittels Ionenchromatographie und Integrationssoftware von HP). Da die Konzentrationen im GTFCh-Kontrollserum zwar realistisch aber für die Quantifizierung in einem Schritt zu unterschiedlich sind, wurden alle Proben zweimal analysiert, wobei beim zweiten Run die Multiplier-Spannung deutlich erhöht wurde.

Ergebnisse und Diskussion

In Tab. 1 sind die Wiederfindungsraten der im GTFCh-Plasma enthaltenen Substanzen aufgelistet (n=5). Da am Ende der Elution ein kleiner Rest Wasser in der Probe verbleibt, dauert der Abdampfschritt relativ lange, sodaß flüchtige Verbindungen (z.B. Clomethiazol) verloren gehen können.

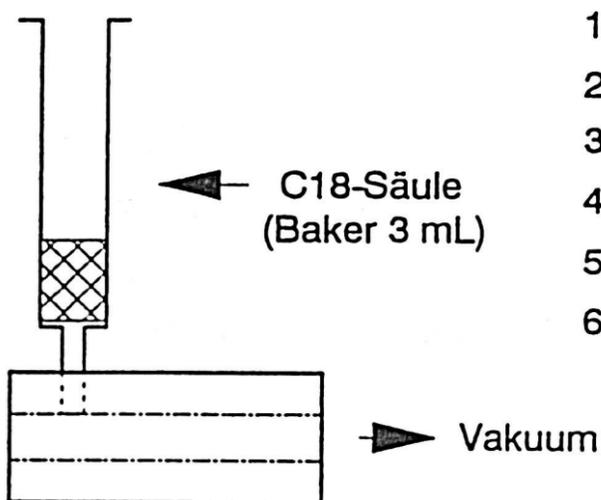
In Abb. 2 ist ein typisches Totalionenchromatogramm eines Festphasenextraktes des GTFCh-Kontrollserums abgebildet (TP 30°C/min). Die Nummerierung der Peaks entspricht der Nummerierung der Substanzen in Tab. 1. Im Vergleich zur Flüssig-Flüssig-Extraktion sind die Matrixbestandteile - insbesondere das Cholesterol - etwas geringer.

Nach unserer Erfahrung bietet die Festphasenextraktion - zumindest derzeit - noch keinen wesentlichen Fortschritt für die toxikologische Routineanalytik.

* vorgestellt anlässlich des Workshops der GTFCh "Suchtstoffnachweis im Blut", Köln 3.-4.10.1991

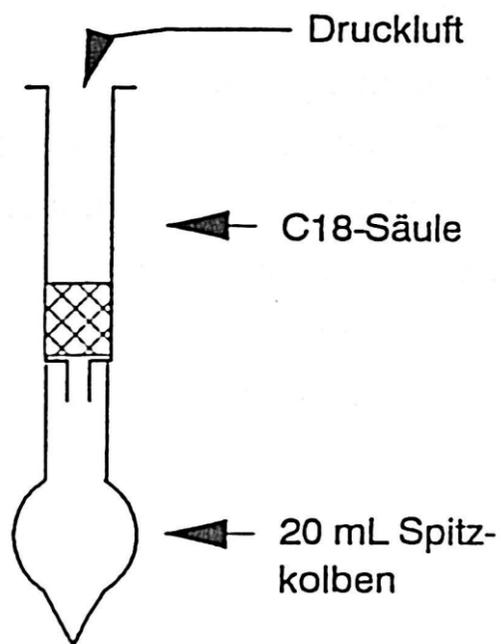
Abb. 1: Festphasenextraktionsverfahren für Plasma

Vorbereiten



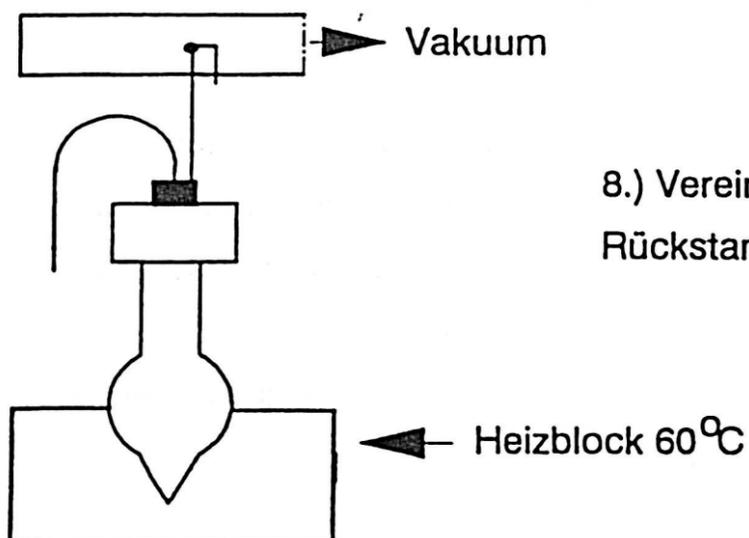
- 1.) Säulenaktivierung: 2x3 mL Methanol, 2x3 mL Wasser
- 2.) Probenaufgabe: 1mL Plasma mit 3 mL Wasser verdünnen
- 3.) Waschen mit 2x3 mL Wasser
- 4.) Ansäuern mit 1 mL 1 M Essigsäure (pH4)
- 5.) Wasserentfernung mit 1mL Hexan, dann 0,1 mL Aceton
- 6.) Trockensaugen (10min), 5min zentrifugieren

Eluieren



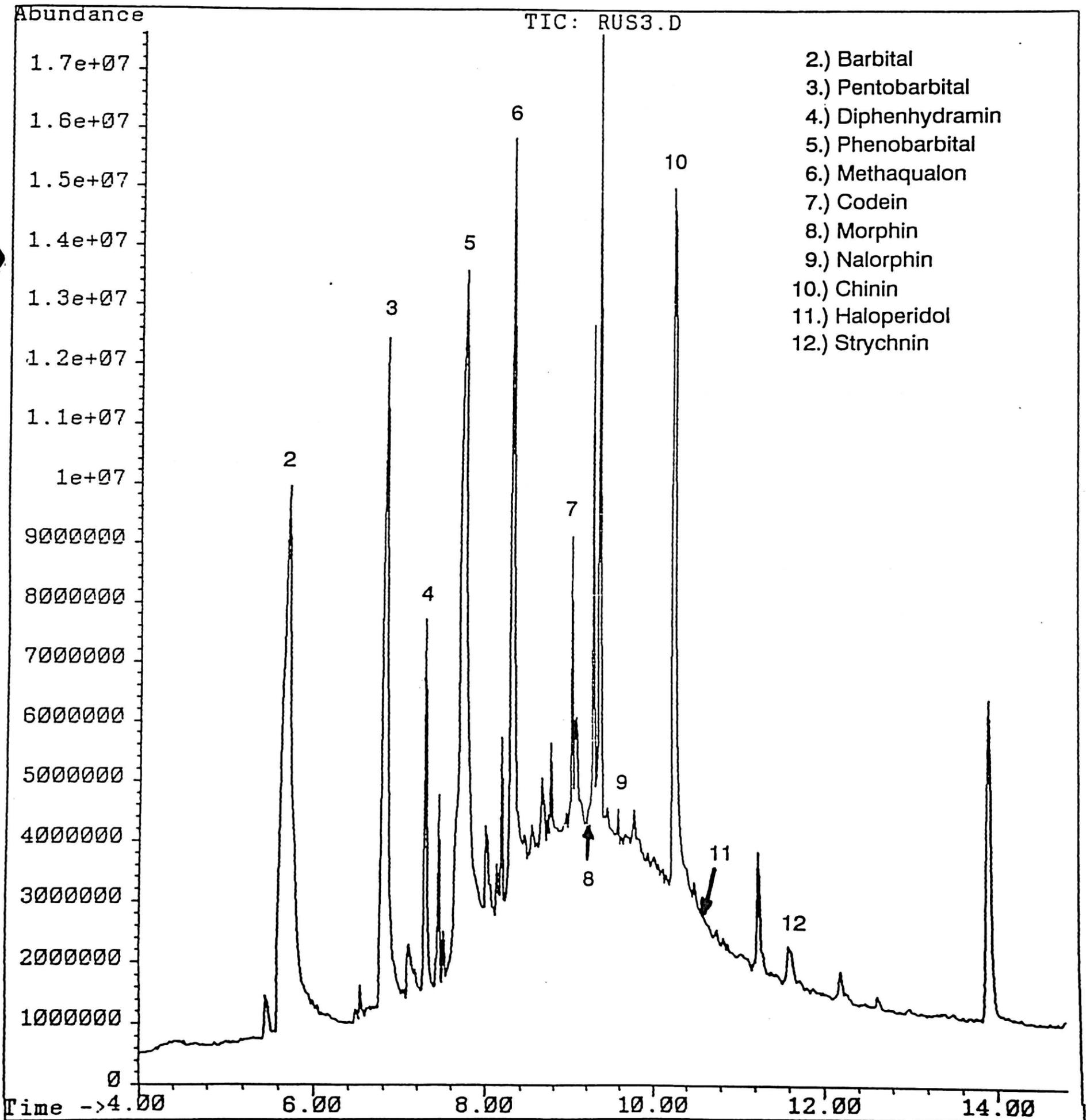
- 7.) Elution in zwei Schritten
saure/neutrale Arzneistoffe mit 1x1 mL, dann
1x2 mL Dichlormethan basische Arzneistoffe mit 1x1 mL
dann 1x2 mL alk. Eluent(Ethylacetat, Methanol,
conc. Ammoniak; 88:10:2 pH 8-9)
(pH-Kontrolle, ggfs. neu ansetzen)

Eindampfen



- 8.) Vereingte Eluate werden abgedampft (10-15min)
Rückstand mit 100 µL Methanol aufnehmen.

Abb. 2: Totalionenchromatogramm des GTFCh-Kontrollserums nach Festphasenextraktion



Tab. 1: Wiederfindungsraten aus dem GTFCH-Kontrollserum nach Festphasenextraktion (n=5)

Nr.	Substanz	C [mg/L]	WFR in Serum
1.)	Clomethiazol	1,0	
2.)	Barbital	10,0	42 % ± 10,2
3.)	Pentobarbital	5,0	103 % ± 17,1
4.)	Diphenhydramin	0,5	96 % ± 6,0
5.)	Phenobarbital	10,0	85 % ± 22,2
6.)	Methaqualon	5,0	116 % ± 17,3
7.)	Codein	0,5	78 % ± 7,8
8.)	Morphin	0,1	87 % ± 22,2
9.)	Nalorphin	0,1	64 % ± 9,1
10.)	Chinin	5,0	91 % ± 10,2
11.)	Haloperidol	0,1	91 % ± 9,8
12.)	Strychnin	0,5	81 % ± 15,9

Workshop 1991: Quantifizierung von Benzodiazepinen nach Festphasen - Extraktion mittels HPLC / DAD

Frank Mußhoff und Thomas Daldrup
Institut für Rechtsmedizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
W-4000 Düsseldorf 1

Einleitung:

Screening und Nachweis von Benzodiazepinen erfolgen sowohl zu therapeutischen Zwecken, als auch im Zusammenhang mit toxikologischen und verkehrsmedizinischen Fragestellungen. Im folgenden wird eine in unserem Labor bereits etablierte, schnelle und einfach zu handhabende HPLC-Methodik mit vorausgehender Festphasen-Extraktion zur Quantifizierung von Benzodiazepinen aus Serum mit internem Standard beschrieben. Erarbeitet wurde diese Prozedur anhand von 8 sehr gängigen Wirkstoffen, nämlich Bromazepam, Desmethyldiazepam, Diazepam, Flunitrazepam, Midazolam, Oxazepam, Tetrazepam und Triazolam, mit dem in der Praxis selten anzutreffenden Brotizolam als internem Standard. Damit wurden Substanzen mit großen Unterschieden in den therapeutischen Konzentrationsbereichen einbezogen.

Material und Methodik:

Ausstattung: Perkin Elmer Series 1 LC Pump; Säule Kontrosorb 10 RP 18 (25 x 4.6 mm i.d.); Perkin Elmer LC-480 Auto Scan Diode Array Detector; PC mit Perkin Elmer-Software (LC-DES plus)

Chromatographie-Parameter: Isokratische Bedingungen mit flow von 1.3 ml/min; Elutionsmittel: 156 g Acetonitril (Lichrosolv Merck) + 344 g Phosphat-Puffer (4.8 g 85%ige Orthophosphorsäure und 6.66 g KH_2PO_4 ad 1 L Wasser (Baker-HPLC-Reagent), pH 2.30)

Extraktionssäulen: Worldwide Monitoring Clean Up C_{18} End Capped (100 mg) bezogen von der Firma AMCHRO

Borat-Puffer (pH 9): 835 mL Lsg.A (12.37 g H_3BO_3 + 100 mL 1 M NaOH mit 0.05 M Borax-Lsg. ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) ad 1 L) + 165 mL 0.1 M HCl

Alle Reagentien waren von p.a. Qualität. Die Benzodiazepine wurden

in Form von Reinsubstanzen von den Firmen bezogen und lagen als 0.1 %ige Stammlösungen in Methanol vor.

Extraktion: 2 mL Serum (Blind- bzw. aufgestocktes Serum) werden nach Zugabe von 500 ng Brotizolam (10 µL einer Lsg. mit 0.05 mg/mL Methanol) mit 2 mL Borat-Puffer (pH 9) versetzt. Eine Clean Up C₁₈-Extraktionssäule wird wie folgt konditioniert: Nach Auftragen von 2 mL Methanol erfolgt ein Spülen mit 2 mL A.dest. und 1 mL Borat-Puffer (pH 9). Auf diese konditionierte Säule wird die Probe aufgetragen (flow von ca. 1 mL/min). Es folgt ein Waschschrift mit zunächst 1 mL A.dest., dann mit 1 mL 15%igem wäßr. Methanol. Die Säule wird gut getrocknet (Zentrifugation 5 min, 2000 rpm). Anschließend erfolgt die Elution mit 1 mL reinem Methanol. Das Eluat wird unter N₂ bei 50°C im Heizblock eingengt und in 20 µL Methanol aufgenommen, von denen 10 µL (Aliquot entsprechend 1 mL Serum) in das HPLC-System injiziert werden.

Ergebnisse und Diskussion:

Für unsere Untersuchungen haben wir Blindserum mit 2 unterschiedlichen Testmischungen aufgestockt: Testlösung A enthielt Bromazepam, Oxazepam, Desmethyldiazepam und Flunitrazepam, Testlösung B Midazolam, Tetrazepam, Triazolam und Diazepam.

Gerade die 1,4-Benzodiazepine zeigen eine intensive UV-Absorption mit spezifischen UV-Maxima. Für die Screening-Untersuchung wählten wir die universelle Detektorwellenlänge von 220 nm.

Zur Quantifizierung werden die Peakflächenverhältnisse (Probe zu Standard) herangezogen. Die Kalibrationskurven sind für sämtliche untersuchten Benzodiazepine über den Konzentrationsbereich von 5-1500 ng/mL Serum linear, mit Korrelationskoeffizienten von 0.993-0.997. Die Nachweisgrenzen liegen sämtlich bei 1-2 ng/mL. Mit der Dioden-Array-Detektion erhält man bis hinunter zu Konzentrationen von 10 ng/mL UV-Spektren der Substanzen als zusätzliche Identifikationsmerkmale.

Die Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten wurden von uns bei 10 ng/mL und 500 ng/mL bestimmt. Die Wiederfindungsraten liegen für die niedrig konzentrierten Ansätze zwischen 74.9 und 90.0% und für die höher konzentrierten zwischen 79.8 und 94.1%. In der Tabelle 1

Tabelle 1:
Präzisionsdaten
(n = 5)

A	Bromazepam		Oxazepam		Desmethyl-diazepam		Flunitrazepam	
Aufgestockt (ng/ml)	10	500	10	500	10	500	10	500
Ermittelt* (ng/ml)	9.7	488	10.7	483	10.5	480	9.7	477
± x	±0.78	±35.4	±1.34	±28.8	±0.74	±31.7	±1.15	±40.2
Vk %	7.8	7.1	13.4	5.8	7.4	6.3	11.5	8.0
Wiederfindung (%)	80.1	83.1	79.8	81.9	86.1	90.6	80.8	84.1
± x	±2.4	±2.3	±3.5	±3.2	±3.3	±2.7	±3.1	±2.9
r Korrelationskoeffizient (Bichgerade)	0.996		0.994		0.993		0.996	

B	Midazolam		Tetrazeepam		Triazolam		Diazepam	
Aufgestockt (ng/ml)	10	500	10	500	10	500	10	500
Ermittelt* (ng/ml)	10.6	489	10.8	516	9.0	471	11.1	523
± x	±0.98	±47.8	±1.04	±50.2	±1.15	±48.1	±1.13	±24.4
Vk %	9.8	9.6	10.4	10.0	11.5	9.6	11.3	4.9
Wiederfindung (%)	80.4	84.4	76.7	81.4	74.9	79.8	90.0	94.1
± x	±3.1	±2.7	±3.1	±2.8	±1.9	±2.4	±3.0	±2.2
r Korrelationskoeffizient (Bichgerade)	0.996		0.997		0.996		0.994	

*Ermittelt über internen Standard Brotizolam

sind die Werte für die Präzision von Tag zu Tag aufgeführt, mit Variationskoeffizienten von 7.8-13.4% für die niedrig konzentrierten Proben und von 4.9-10.0% für die höher konzentrierten.

Diese Methodik der Festphasen-Extraktion mit angeschlossener Hochdruckflüssigkeitschromatographie und Dioden-Array-Detektion zeichnet sich für das Benzodiazepin-Screening aus durch gute Wiederfindungsraten, hohe Reproduzierbarkeit und in jeder Beziehung ausreichende Sensitivität und Selektivität. Auch für die niedrig dosierten Benzodiazepine ist die Erfassung der therapeutischen Konzentrationsbereiche gewährleistet. Nicht zuletzt durch die leichte Handhabung und den vergleichsweise geringen Zeitaufwand konnte sich dieses Verfahren in unserem Labor als Routine-Methode etablieren.

Workshop 1991: Nachweis von Cocain und Benzoylecgonin - Pentafluoroisopropylester aus Blut und Urin

Georg Schmitt und Rolf Aderjan
Institut für Rechtsmedizin, W-6900 Heidelberg

1. Einleitung

Im Gegensatz zu Cocain ist das Hauptstoffwechselprodukt Benzoylecgonin nur nach Derivatisierung chromatographisch einfach darstellbar. Zur Verbesserung der chromatographischen Eigenschaften hat sich die Derivatisierung mit Hexafluoroisopropanol (HFIP) und Pentafluoropropionsäureanhydrid (PFPA) bewährt (Abb.1). Benzoylecgonin wird dabei in einen mit scharfem Peak chromatographierbaren Ester überführt. Die Ionen-Chromatogramme (EI, PCI) von Cocain und Benzoylecgonin-HFIP sind in Abb.2-3 zu sehen. PFPA, vorwiegend für die Derivatisierung von phenolischen OH-Gruppen eingesetzt, dient im vorliegenden Fall der Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes in Richtung des Esters (Abfangen des Reaktionswassers). Es wird bekanntlich auch zur Derivatisierung anderer Betäubungsmittel (z. B. THC, Morphin, Codein) verwendet. Das Benzoylecgonin-HFIP-Derivat kann sowohl über seinen Retentionsindex als auch über seine Ionenmasse problemlos vom Cocain unterschieden werden (Abb.4).

2. Chemikalien und Materialien

1,1,1,3,3,3-Hexafluor-2-propanol (Hexafluoroisopropanol, HFIP),
Fluka***, > 99% (GC)
Pentafluoropropionylanhydride (PFPA), Fluka***, 95 % (GC)
Cocain, Sigma***
Benzoylecgonin, Sigma ***
Methanol, Roth***
Dichlormethan, Roth***
iso-Propanol, Roth***
Natriumcarbonat, Fluka***
konz. Ammoniak (25%) Merck***
destilliertes Wasser
"Fremdstofffreies" Blut z.B. 10 mL
"Fremdstofffreier" Urin z.B. 10 mL

C18-Säule: Bond Elut (200 mg / 3,0 mL), Analytichem International

Reagenzröhrchen 4 mL

GC-Gläschen 2 ml mit Bördelkappen

*** Roth GmbH+Co., D-7500 Karlsruhe.
*** Sigma GmbH, D-8024 Deisenhofen
*** Merck, D-6100 Darmstadt
*** Fluka Chemie AG, CH-9470 Buchs

3. Lösungen:

0,2 m Natriumcarbonatlösung: 21,1 g Na₂CO₃ /L H₂O
0,2 m Natriumbicarbonatlösung: 16,7 g NaHCO₃ /L H₂O

Natriumcarbonatpuffer: 4 mL 0,2 m Na₂CO₃ + 46 mL 0,2 m NaHCO₃
mit Wasser auf 200 mL auffüllen.

Elutionslösung: 80 ml CH₂Cl₂ + 20 mL iso-Propanol + 2 mL NH₃ konz.

Lösung zur Aufnahme des Derivates für die GC:

90 ml Dichlormethan + 10 mL Isopropanol

Externe Standards: Zusatz von je 0,3 Mikrogramm Cocain oder Benzoylecgonin zu 1 mL Leerblut oder Leerurin

4. Extraktion

Zunächst wird mit 1x 3 mL Methanol und 1x 3 mL Natriumcarbonatpuffer die C-18 Festphase konditioniert (jeweils durchsaugen und Säule nicht trocken laufen lassen). Je 1 mL Blut / Urin werden mit 2 mL Natriumcarbonatpuffer versetzt. Anschließend wird 3 min bei ca. 5000-10000 upm zentrifugiert. Der Überstand wird auf die vor-konditionierte C-18-Säule gegeben. Dann wird 1 min lang Vakuum angelegt, mit 3 mL Wasser gewaschen 10 min lang Vakuum angelegt. Mit 2x 1 mL Elutionslösung werden Cocain und Benzoylecgonin in GC-Gläschen aufgefangen. Die Elutionslösung wird bei 50°C mit Stickstoff bis zur Trockne eingeengt.

5. Derivatisierung

Zum Extraktückstand werden 50 µL PFPA sowie 50 µl HFIP gegeben. Der Reaktionsansatz wird 30 min bei 70°C gehalten. Anschließend wird mit Stickstoff bei 50°C eingeengt. Der Trockenrückstand wird in 30 µL Dichlormethan / iso-Propanol (9:1) aufgenommen

5. GC/MS (HP 5988) Bedingungen:

Trennkapillare: CP-SIL 5, 12 m, 0,25 mm ID, 0,32 µm Schichtdicke

RI (Kovats) : 2190 für Cocain
1980 für Benzoylecgonin-HFIP

Temperaturprogramm : 170°C 1 min, 20°C/min, 290°C 1 min
Injector : 250°C
Interface : 250°C
Multipller : 1300 V

SIM (Beobachtungscyclus (dwell) je 50 ms) :

I.) EI (70 eV)

m/z= 182, 303 für Cocain
m/z= 272, 318 für Benzoylecgonin-HFIP

II.) PCI (230eV, Methan)

Quellendruck 1 Torr
m/z= 182, 304 für Cocain
m/z= 318, 440 für Benzoylecgonin-HFIP

7. Linearität, Bestimmungsgrenzen, Richtigkeit, Präzision, Wiederfindung und Stabilität:

Linearität der Kalibration:

Im Bereich von 25 bis 1000 µg/L in Blut und in Urin wurde die erwartete lineare Beziehung zwischen Signalintensität (Peakfläche) und Konzentration für Cocain und für Benzoylecgonin geprüft und gefunden.

Bestimmungsgrenzen:

30 µg/l Blut (EI), 20 µg/l Blut (PCI) bei Multiplier-Einstellung von 1300 V. Sie sind bei entsprechender Signalverstärkung abzusenken auf ca. 1 µg/L.

Richtigkeit und Präzision:

Sie wurden geprüft über Zusätze von 100 µg Cocain und 250 µg Benzoylecgonin pro Liter zu einer Blutprobe, die innerhalb von 2 Wochen 6 mal bestimmt wurden. Für Cocain ergab sich eine mittlere Konzentration ± Standardabweichung von 101 ± 12,9 µg/L (CV = 12,8 %) und für Benzoylecgonin von 249 ± 19,3 µg/L (CV = 7,7 %). Die Intraassay-Varianz (5 malige Extraktion und Bestimmung innerhalb eines Tages) war nur geringfügig besser.

Wiederfindung:

wiedergefunden	aus Blut	aus Urin
Cocain	86 %	95 %
Benzoylecgonin	75 %	87 %

Stabilität:

Bei -20°C unter Feuchtigkeitsausschluß ist der Benzoylecgonin-pentafluoroisopropylester mindestens 4 Tage stabil.

8. Befunde

In Tabelle 1 sind Untersuchungsergebnisse für Cocain und für Benzoylecgonin angegeben. Die ermittelten Konzentrationen wurden nach positiv verlaufenden immunochemischen Voruntersuchungen (FPIA, TDx (6)) bestimmt. In Blut wurden, mit Ausnahme von post mortalen Untersuchungen, keine Werte über 80 µg/L ermittelt. Die Ursache hierfür könnte in der kurzen Plasma-Halbwertszeit von Cocain (etwa 1-1,5 Stunden) und der noch in vitro aktiven körpereigenen Esterasen liegen. Erwartungsgemäß fanden wir im Urin die höchsten Konzentrationen von Cocain und von Benzoylecgonin.

Tabelle 1: Untersuchungsbefunde mit FPIA (6) und GC/MS

Probe	Fall	Material	GC/MS		FPIA (TDx)
			Cocain µg/L	Benzoyl- ecgonin µg/L	µg/L
1	Ch	Urin	>1000	>1000	>5000
2	Ch	Urin	200	>1000	>5000
3	Ch	Urin	50	300	550
4	Ch	Urin	60	>1000	>2000
5	Ch	Urin	0	>1000	>2000
6	Ch	Urin	300	>1000	>5000
7	Ch	Urin	0	>1000	>5000
8	Ba	Blut	30	210	250-500
		Urin	290	>1000	>5000
9	Ba	Blut	80	580	250-500
10	S	Blut	120	170	250-500
11	S	Blut	0	290	250-500
		Urin	160	16000	>5000
12	S	Blut	1700	11800	>500
		Urin	200	76000	>5000

Ch = chemisch-toxikologischer Fall, Ba = Fall nach routinemäßiger Blutalkoholbestimmung, S = Sektionsfall.

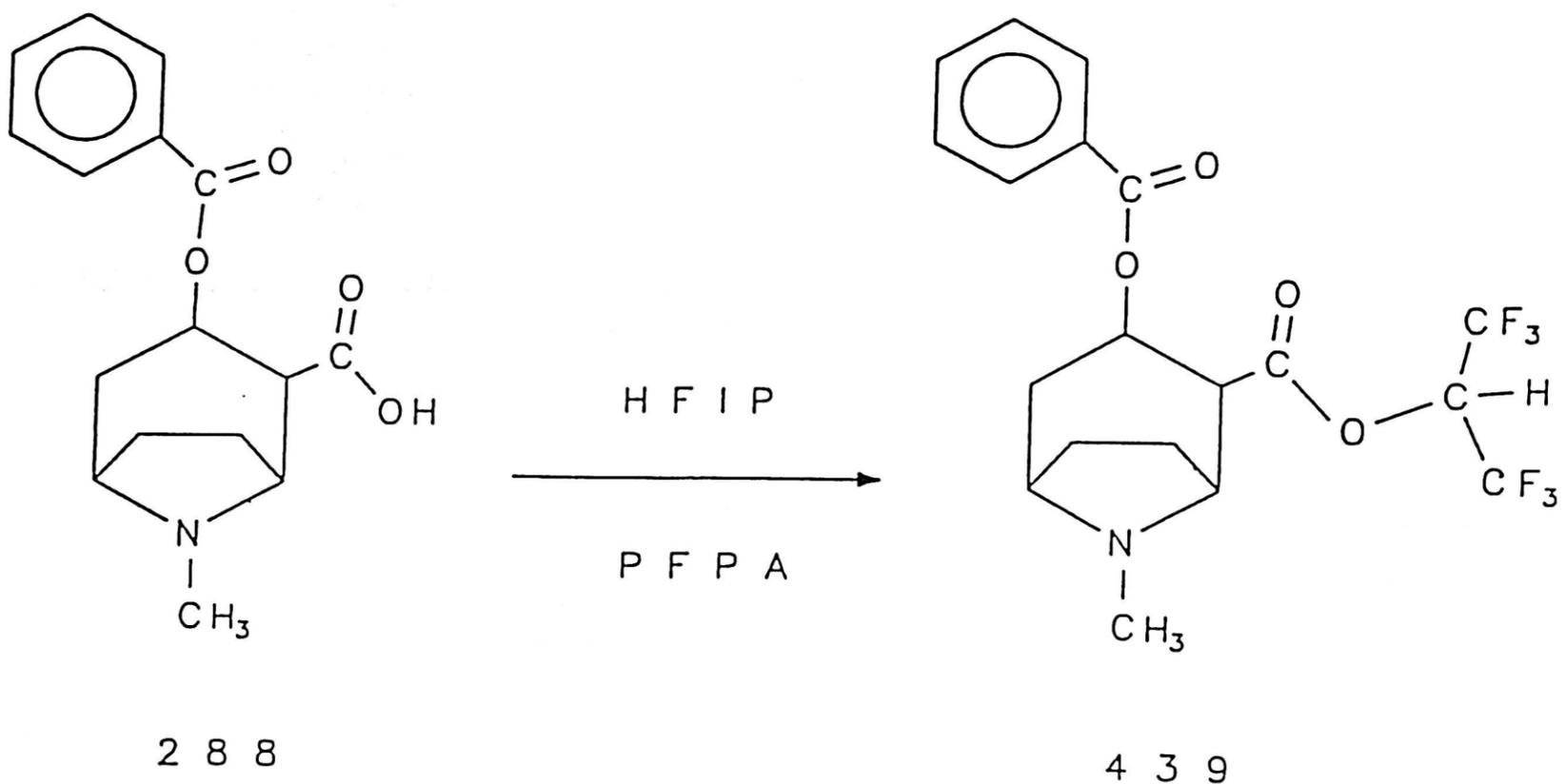
Literatur

1. Matsabura K., Maseda C., Fukui Y.
Quantification of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester by GC CI-SIM after extrelut extraction, *Forensic.Sci.Int.* 12, 181-189 (1984)
2. Mule S.J., Casella G.A.
Confirmation and quantitation of cocaine, benzoylecgonine, ecgonine methyl ester in human urine by GC/MS, *J.Anal.Toxicol* 12, 153-155 (1988)
3. Isenschmid S., Levine S., Caplan H.
A method for the simultaneous determination of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in blood and urine using GC/MS with derivatisation to produce high mass molecular ions, *J.Anal.Toxicol* 12, 242-245 (1988)
4. Zhang J., Foltz R.L.
Cocaine metabolism in man: Identification of four previously unreported cocaine metabolites in human urine, *J.Anal.Toxicol* 14, 201-205 (1990)
5. Aderjan R., Schmitt G., Wu M., Meyer C.
Determination of cocaine and benzoylecgonine by derivatisation with iodomethane-d3 or PFPA/HFIP in human blood and urine using

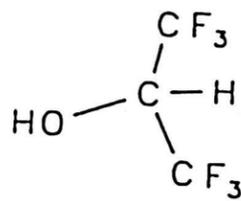
GC/MS (EI or PCI mode), J.Anal.Toxicol. (accepted)

6. Bogusz M., Aderjan R., Schmitt G., Nadler E., Neureither B.

The determination of drugs of abuse in whole blood by means of FPIA and EMIT-dau immunoassays - a comparative study, Forensic.Sci.Int. 48, 27-37 (1990)



HFIP



PFPA

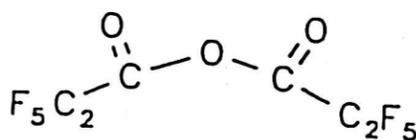


Abb.1: Derivatisierung von Benzoylgonin mit HFIP/PFPA

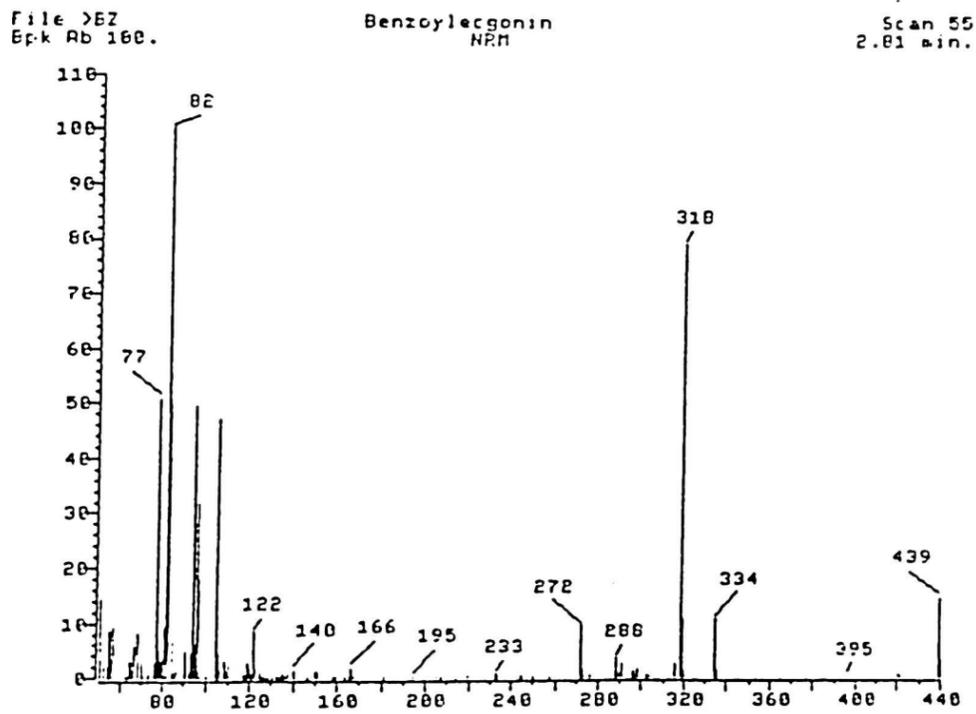
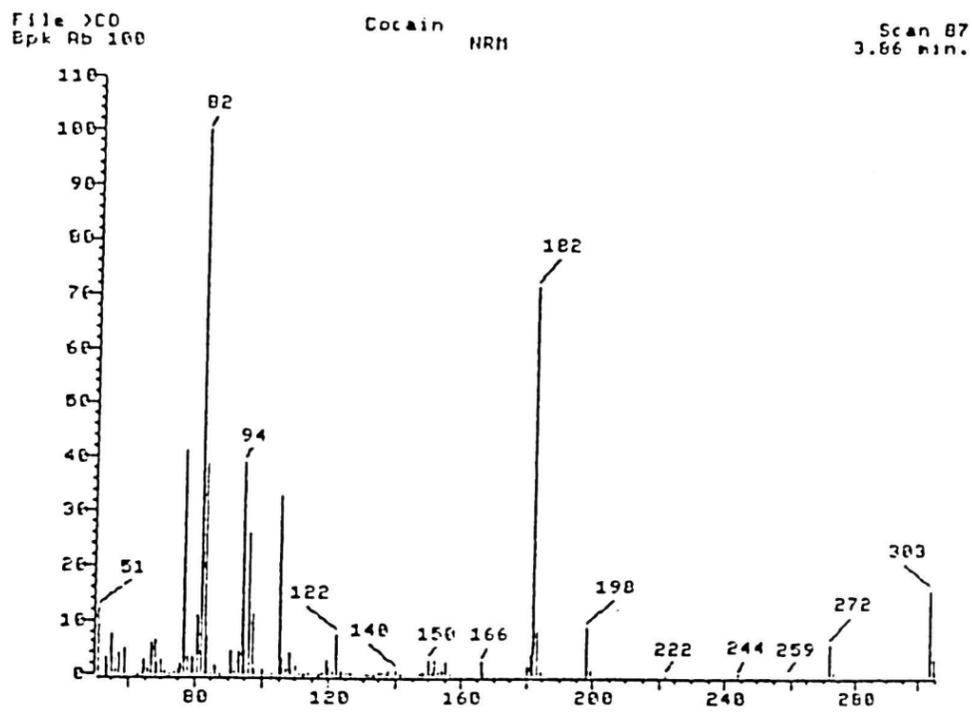


Abb.2: Massenspektrum (EI, 70 eV) von Cocain (oben) und Benzoylcgonin-HFIP (unten)

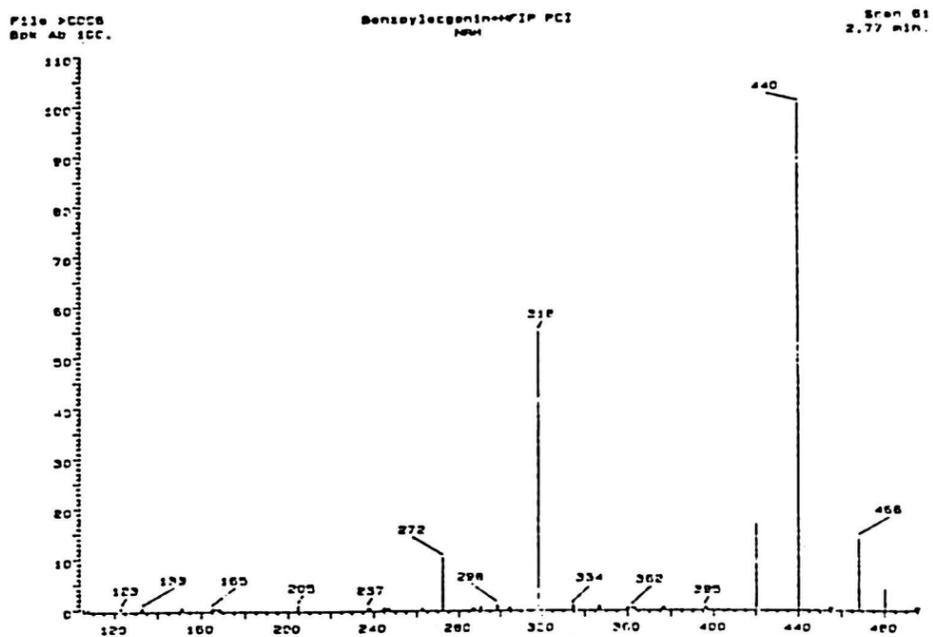
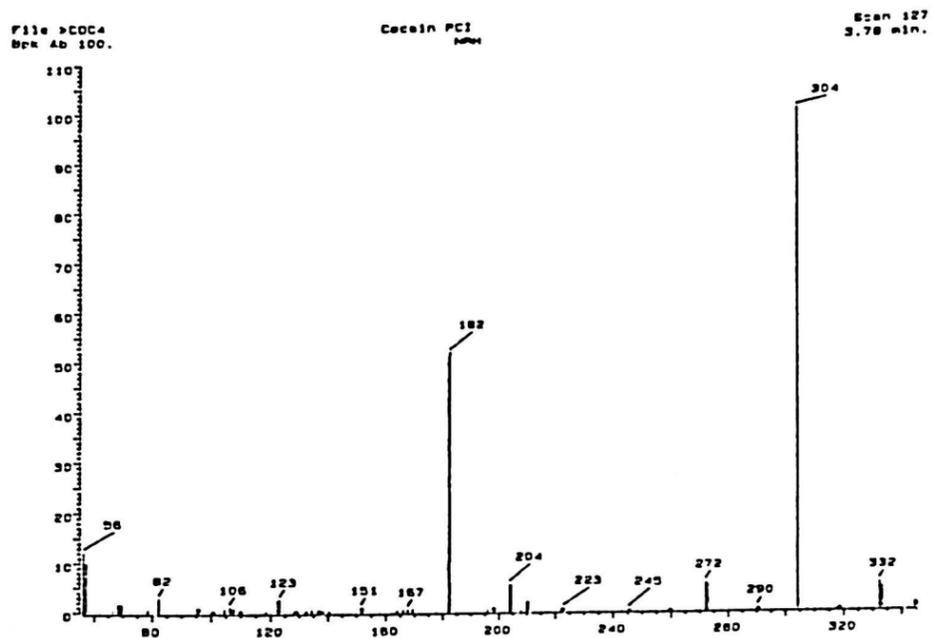


Abb.3: Massenspektrum (PCI, 230 eV) von Cocain (oben) und Benzoylgonin-HFIP (unten)

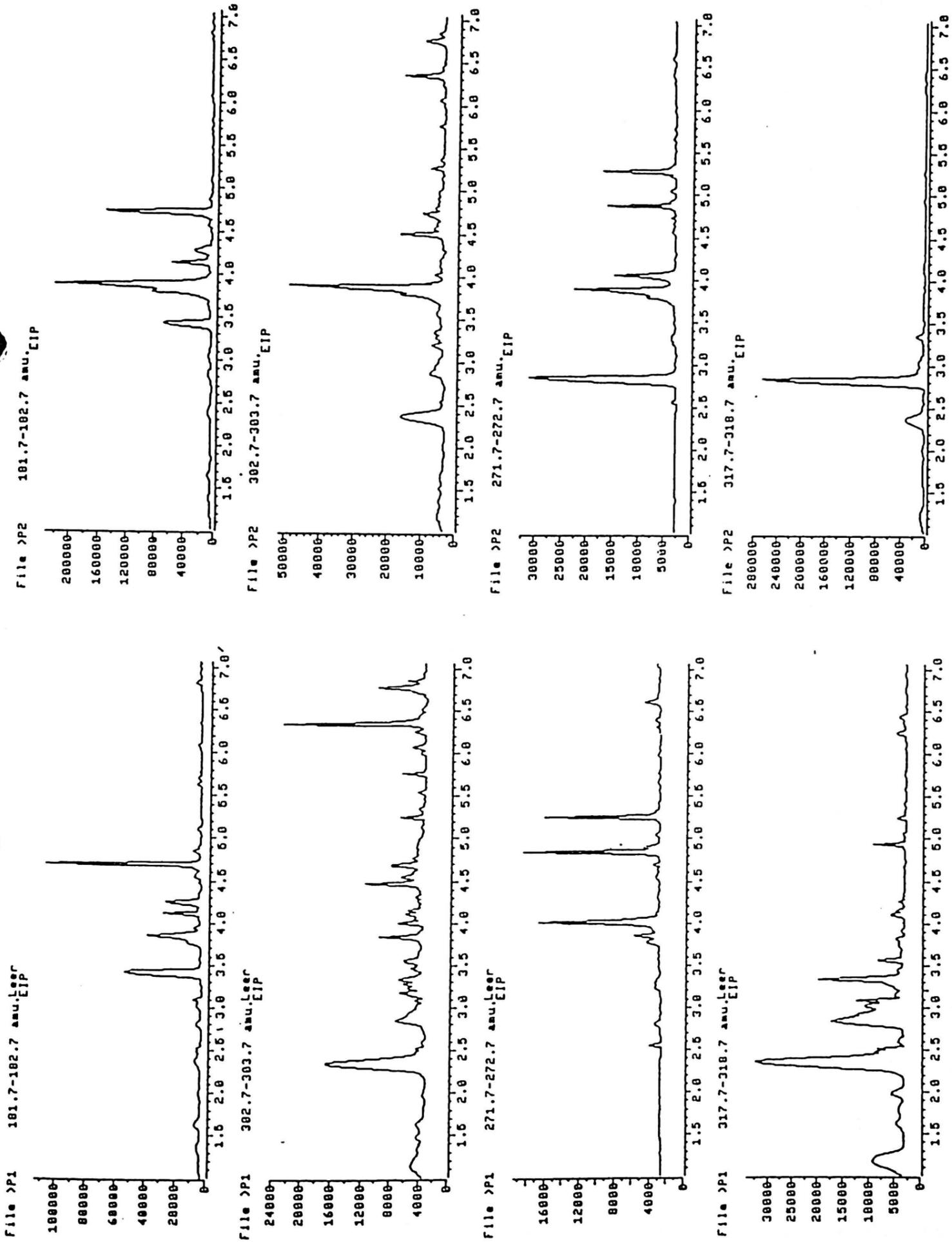


Abb. 4: Ionenchromatogramme (EI 70 eV, $m/z=182, 303, 272, 318$) für Leerblut (links) und einen Zusatz von 0,3 Milligramm Cocain und Benzoyllecgonin pro Liter Leerbut (rechts).
Achtung: Chromatogramme mit unterschiedlicher Skalierung bezüglich Intensitätsachse (Ion current). Im Leerblut (= Sektionsblut) ist vor dem Zusatz ein Störsignal erkennbar.

Standardisierte Methoden für die dringliche klinisch-toxikologische Analytik: Einführung

Gerhard Möschwitzer (Berlin), Ulriche Demme (Jena) und Harald König (Schwerin)

Ausgehend von einem sehr unterschiedlichen Entwicklungsstand und Organisationsgrad der klinisch-toxikologischen Analytik auf dem Gebiet der ehemaligen DDR gab es seit Anfang der achtziger Jahre intensive Anstrengungen, diesen Zustand im Interesse der zu versorgenden Patienten deutlich zu verbessern. Deshalb erfolgte im März 1986 u.a. die Gründung der Arbeitsgruppe "Klinisch-toxikologische Analytik" im Fachausschuß "Diagnostische Laboratoriumsmethoden" der Arzneibuchkommission der DDR. In diesem Gremium stellten sich Fachkolleginnen und -kollegen aus fünf Bezirkskrankenhäusern und vier gerichtsmedizinischen Instituten das Ziel, anwendungsbereite, standardisierte Arbeitsvorschriften für die dringliche klinisch-toxikologische Analytik insbesondere bei akuten Intoxikationen zu erarbeiten.

Um das Vorhaben in der überschaubaren Zeit von einigen Jahren bewältigen zu können, wurden zunächst etwa 80 relevante Arzneimittelwirkstoffe und Gifte, die gehäuft als Indikationsursachen auftraten, für die erste Arbeitsetappe ausgewählt.

Als anzuwendende Methoden boten sich dem damaligen Ausrüstungsstand entsprechend die

- Flüssig - Flüssig - Extraktion
- Dünnschichtchromatografie auf Fertigfolien
- Gaschromatografie mit Flammenionisationsdetektor
- Hochleistungsflüssigchromatografie mit Festwellenlängendetektor

- und UV - VIS - Spektrofotometrie mit selbstregistrierendem Fotometer

an.

Diese Methoden sollten an die Analytik zu stellende Mindestanforderungen festschreiben, um jedem Patienten eine adäquate klinisch-toxikologische Grundversorgung gewähren zu können.

Weiterführende Untersuchungen und die Anwendung verbesserter Techniken sind bei entsprechend vorhandenen personellen und apparativen Kapazitäten ausdrücklich erwünscht.

Da die 1989 fertiggestellten Standardvorschriften aus bekannten Gründen nicht wie ursprünglich beabsichtigt in der Zeitschrift "Zentralblatt für Pharmazie, Pharmakotherapie und Laboratoriumsdiagnostik" zur Diskussion gestellt und dann in das "Arzneibuch der DDR" aufgenommen werden konnten, freuen wir uns über die Möglichkeit der Publikation im Mitteilungsblatt der GTFCH.

Weil die erfaßte Substanzpalette für die neuen Bundesländer nach wie vor relevant ist, sollen die folgenden Standardvorschriften vor allem eine Hilfe für die Kolleginnen und Kollegen in der ehemaligen DDR sein.

Wir wären jedoch erfreut, wenn unsere Arbeit darüberhinaus Interesse finden sollte. Insbesondere wären wir für kritische Hinweise und Diskussionen dankbar.

Vielleicht könnte sogar erreicht werden, daß das vorgestellte Untersuchungsspektrum durch weitere Substanzen und modernere Methoden und Techniken erweitert wird.

Standardisierte Methoden für die dringliche klinisch-toxikologische Analytik: 1. Mitteilung

Extraktion toxikologisch relevanter Arzneistoffe aus Körperflüssigkeiten

Ulrich Demme¹, Gerhard Möschwitzer², Hans-Jürgen Birkhahn³ und R. Scholz⁴

¹Institut für Gerichtliche Medizin, O-6900 Jena

²Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr, O-1040 Berlin

³Krankenhaus im Friedrichshain, O-1017 Berlin

⁴Bundesgesundheitsamt, Berlin

Prinzip

Toxikologisch relevante Arzneistoffe werden durch Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Chloroform aus wäßriger Phase isoliert. Dabei wird die bessere Löslichkeit der Arzneistoffe im nichtwäßrigen Lösungsmittel ausgenutzt. Es wird sowohl im sauren als auch im basischen Milieu extrahiert, um die Dissoziation der sauren und basischen Arzneistoffe zurückzudrängen und somit den Anteil der in Chloroform besser löslichen undissoziierten Verbindungen zu erhöhen. Je nach Lage des Verteilungsgleichgewichts ist ein mehr oder weniger großer Anteil der Arzneistoffe nach der Extraktion in der organischen Phase enthalten.

Die nach dem Verdampfen des Chloroforms verbleibenden Rückstände werden dünnschichtchromatografisch, gaschromatografisch oder mittels Hochleistungsflüssigchromatografie geprüft.

Untersuchungs- und Prüfmaterial

Als Prüfmaterial werden Urin, Magenspülflüssigkeit, Blut, Serum und Plasma verwendet.

Ausführung

Methode A:

Mindestens 10,0 maximal 100 ml Magenspülflüssigkeit oder Urin werden mit Schwefel- oder Phosphorsäure (500 mmol/l) auf einen pH-Wert von 1,0 bis 2,0 eingestellt, mit der 1,5- bis 2fachen Menge Chloroform versetzt und 30 s bis 3 min intensiv geschüttelt. Nach dem Entmischen wird die Chloroformlösung abgetrennt.

Die wäßrige Phase wird durch Zugabe von Natriumhydrogencarbonat bzw. Trislösung (200 mmol/l) auf einen pH-Wert von 9,0 eingestellt und nach Zugabe der 1,5- bis 2fachen Menge Chloroform 30 s bis 3 min intensiv geschüttelt. Nach dem Entmischen wird die Chloroformlösung abgetrennt und die wäßrige Phase verworfen.

Von den beiden erhaltenen Chloroformlösungen wird das Chloroform abdestilliert bzw. in kleinen Porzellan- oder Glasschalen auf dem Wasserbad verdampft.

Die Rückstände werden, wie in den jeweiligen Prüfmethoden angegeben, in einem organischen Lösungsmittel aufgenommen und dünnschichtchromatografisch, gaschromatografisch oder mittels Hochleistungsflüssigchromatografie geprüft.

Methode B:

Maximal 10,0 ml Blut, Serum oder Plasma werden mit mindestens der 1,5fachen, maximal mit der 10fachen Menge Chloroform versetzt und 30 s bis 3 min intensiv geschüttelt: Nach dem Entmischen wird die Chloroformlösung abgetrennt. Die wäßrige Phase wird mit Natronlauge (1 mol/l) auf den pH-Wert von 13 eingestellt und mit Chloroform in analoger Weise extrahiert.

Die Chloroformlösungen der neutralen und basischen Extraktion werden vereinigt und wie unter Methode A angegeben, weiterbehandelt.

Angaben zur Extrahierbarkeit der Arzneistoffe

In nachfolgender Tabelle ist die qualitative bzw. halb-quantitative Extrahierbarkeit der toxikologisch relevanten Arzneistoffe angegeben. In der letzten Spalte ist durch ac bzw. bas gekennzeichnet, ob bei der vorgegebenen Zweistufen-Extraktion der Hauptanteil des Arzneistoffes im sauren oder basischen Extrakt zu erwarten ist.

Tab.: Extrahierbarkeit von toxikologisch relevanten Arzneistoffen

- Legende: - nicht extrahierbar
 (+)geringe Extrahierbarkeit (Ausbeute \lesssim 0,1)
 + mittlere Extrahierbarkeit
 ++ gute bis vollständige Extrahierbarkeit

Substanz	pH-Wert			Hauptanteil in bas/ac Extrakt
	1-2	7	9	
Acetylsalicylsäure	++	(+)	(+)	ac
Ajmalin	(+)	+	++	bas
Aminophenazon	+	++	++	bas
Amitriptylin	(+)	++	++	bas
Amphetaminil	(+)	++	+	bas
Aprobarbital	++	++	(+)	ac
Atropin	-	(+)	++	bas
Barbital	+	+	(+)	ac
Bromhexin	++	++	++	ac
Bromisoval	++	++	++	ac
Buformin	(+)	(+)	(+)	ac
Butaperazin	(+)	++	++	bas
Carbamazepin	++	++	++	ac
Cathin	-	(+)	(+)	bas
Chinidin	-	+	++	bas

Substanz	pH-Wert			Hauptanteil in bas/ac Extrakt
	1-2	7	9	
Chinin	-	+	++	bas
Chlordiazepoxid	(+)	++	++	bas
Chlorochin	-	(+)	++	bas
Chlorphenethazin	+	++	++	bas
Chlorpromazin	+	++	++	bas
Chlorprothixen	(+)	++	++	bas
Clomethiazol	++	++	++	bas
Clomipramin	+	++	++	bas
Clonazepam	++	++	++	ac
Clonidin	-	+	++	bas
Codein	-	+	++	bas
Coffein	++	++	++	ac
Crotylbarbital	++	++	(+)	ac
Desipramin	(+)	++	++	bas
Cyclobarbital	++	++	(+)	ac
Desmethyldiazepam	+	++	++	ac
Detajmium	-	++	++	bas
Diazepam	++	++	++	ac
Diclofenac	++	+	-	ac
Dihydralazin	-	-	+	bas
Disulfiram	++	++	++	ac
Ephedrin	-	-	(+)	bas
Etoloxamin	+	++	++	bas
Furosemid	++	-	-	ac
Glibenclamid	+	+	(+)	ac
Glutethimid	++	++	++	ac
Haloperidol	-	++	++	bas
Hexobarbital	++	++	++	ac
Imipramin	(+)	++	++	bas
Indometacin	++	++	-	ac
Kebuzon	++	++	(+)	ac
Levomepromazin	+	++	++	bas
Meclofenoxat	(+)	(+)	-	ac
Medazepam	+	++	++	bas

Substanz	pH-Wert			Hauptanteil in bas/ac Extrakt
	1-2	7	9	
Meprobumat	++	++	++	ac
Metamizol	-	+	++	bas
Methaqualon	++	++	++	ac
Methylphenobarbital	++	++	++	ac
Metoclopramid	-	++	++	bas
Metofenazat	+	++	++	bas
Nicotin	-	+	++	bas
Nifurantin	(+)	(+)	-	ac
Nitrazepam	++	++	++	ac
Noxiptylin	++	++	++	bas
Oxytetracyclin	(+)	(+)	-	ac
Oxazepam	++	++	++	ac
Phenacetin	++	++	++	ac
Phenazon	++	++	++	ac
Paracetamol	-	-	-	-
Phendimetrazin	-	(+)	(+)	bas
Phenobarbital	++	++	(+)	ac
Phenprocoumon	++	+	(+)	ac
Phenytoin	++	++	+	ac
Phenylbutazon	++	++	+	ac
Pholedrin	-	-	+	bas
Primidon	(+)	(+)	(+)	ac
Promazin	(+)	++	++	bas
Promethazin	(+)	++	++	bas
Propranolol	-	++	++	bas
Propyphenazon	++	++	++	ac
Pyrihydion	++	++	++	ac
Reserpin	-	+	+	bas
Salicylamid	++	++	+	ac
Salicylsäure	+	-	-	ac
Sulfamerazin	+	++	(+)	ac
Talinolol	(+)	+	++	bas
Theophyllin	+	+	(+)	ac
Thioridazin	++	++	++	bas

Substanz	pH-Wert			Hauptanteil in bas/ac Extrakt
	1-2	7	9	
Trimipramin	+	++	++	bas
Trimethoprim	-	++	++	bas
Tolbutamid	++	+	-	ac
Verapamil	++	++	++	ac

Hinweise

1. Die unterschiedliche Extrahierbarkeit und die unterschiedlichen Erfassungsgrenzen der Analysenverfahren für die einzelnen Arzneistoffe bedingen, daß die Extraktion in Verbindung mit den in den Prüfmethode beschriebenen Analysenverfahren keinen sicheren Nachweis aller in der Tabelle angegebenen Arzneistoffe garantiert. Dies gilt insbesondere für den therapeutischen Konzentrationsbereich, aber auch für den Nachweis von Vergiftungen mit bestimmten Arzneistoffen.
2. Das für die Extraktion angegebene Verhältnis von organischer zu wäßriger Phase kann in weiten Grenzen variiert werden; bei schlechten extrahierbaren Arzneistoffen führt eine Verkleinerung zur Verminderung der Extraktionsausbeute.
Bei Verwendung von Serum oder Plasma kann auch ein Phasenverhältnis < 1 eingesetzt werden und der Extrakt ohne Verdampfen des Chloroforms direkt analysiert werden.

Reagenzien

Chloroform CHCl ₃ (119,4)	puriss.
Schwefelsäure, konzentrierte H ₂ SO ₄ (98,08)	puriss. TGL 28129

Gehalt mindestens 95 % H_2SO_4

Gehalt mindestens 17,8 mol H_2SO_4/l

Schwefelsäure (500 mmol/l)

28,1 ml konzentrierte Schwefelsäure werden zu 800 ml Wasser gegeben. Nach dem Abkühlen auf $20^{\circ}C \pm 5 K$ wird die Mischung mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.

Phosphorsäure, konzentrierte puriss.

H_3PO_4 (98,00) TGL

Gehalt 85 % H_3PO_4

Gehalt 14,7 mol H_3PO_4/l

Phosphorsäure (500 mmol/l)

34,0 ml konzentrierte Phosphorsäure werden zu 800 ml Wasser gegeben. Nach dem Abkühlen auf $20^{\circ}C \pm 5 K$ wird die Mischung mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.

Natrium-hydrogen-carbonat puriss.

$NaHCO_3$ (84,01)

Natriumhydroxid puriss.

$NaOH$ (40,00)

Natronlauge (1 mol/l)

40,0 g Natriumhydroxid werden in kohlendioxidfreiem Wasser zu 1,000 l gelöst.

Tris (hydroxymethyl) aminomethan p. a.

2-Amino-2-(hydroxymethyl) propan-1,3-diol

Trislösung (200 mmol/l)

24,23 g Tris (hydroxymethyl)aminomethan werden in kohlendioxidfreiem Wasser zu 1,000 l gelöst.

Kommentar zur Standardvorschrift: Extraktion toxikologisch relevanter Arzneistoffe aus Körperflüssigkeiten

Ulrich Demme

Institut für Gerichtliche Medizin der Friedrich-Schiller-Universität
0-6900 Jena

Allgemeines

Der Nachweis und die Bestimmung von körperfremden Substanzen - insbesondere von Arzneistoffen - erlangt auf den verschiedenen Gebieten der klinischen Toxikologie eine ständig steigende Bedeutung. Moderne Analysenverfahren gestatten einen immer sicheren Nachweis immer kleinerer Konzentrationen und damit sowohl den Einsatz geringerer Mengen von Körperflüssigkeiten als auch den Nachweis einer ständig wachsenden Zahl von Arzneistoffen.

Voraussetzung für die Mehrzahl der toxikologisch-chemischen Analysenverfahren ist aber nach wie vor die Isolation der nachzuweisenden Substanzen aus dem biologischen Material. Die Flüssig-Flüssig-Extraktion (FFE) ist ein weit verbreitetes allgemein anwendbares Isolationsverfahren, das nur geringen apparativen Aufwand erfordert und dessen Effektivität zudem theoretisch gut beschreibbar ist. Daneben findet die Isolation durch Adsorption der Arzneistoffe an der Oberfläche fester Adsorbentien mit nachfolgender Elution immer breitere Anwendung (1 - 4). Teilweise beruhen die Isolationsverfahren mit Extraktionssäulen ebenfalls auf den Gesetzmäßigkeiten der FFE (5).

Prinzip

Die theoretischen Grundlagen der FFE in Zweiphasensystemen, bestehend aus einer wäßrigen Phase und einem damit nicht bzw. nur sehr gering mischbaren organischem Lösungsmittel, sind in (6) beschrieben. Im Gleichgewicht ist nach dem Nernst'schen Verteilungssatz das Verhältnis der Phasenkonzentration einer gelösten Substanz konstant (Gl. (1a, b)).

Zahlreiche toxikologisch relevante Arzneistoffe unterliegen in wäßriger Phase in mehr oder weniger starkem Maße der elektrolytischen Dissoziation. Da Ionen aber in den allgemein verwendeten Lösungsmitteln nicht löslich sind (sofern keine Ionenpaar-Assoziation erfolgt), gilt Gl. (1a, b) nur für die neben den Ionen im Dissoziationsgleichgewicht noch vorliegenden Neutalmoleküle.

Dem Verteilungsgleichgewicht überlagert sich somit noch das Dissoziationsgleichgewicht.

Die Gleichungen 1a - 4a sowie 1b - 4b geben die entsprechenden formelmäßigen Zusammenhänge für saure bzw. basische Verbindungen wieder.

	Säuren ¹⁾	Basen ¹⁾
Nernstscher Verteilungssatz	$k = \frac{C_{HA}^0}{C_{HA}^H} \quad (1a)$	$k' = \frac{C_B^0}{C_B^H} \quad (1b)$
Dissoziationsgleichgewicht	$K_A = \frac{C_{H^+}^H \cdot C_{A^-}^H}{C_{HA}^H} \quad (2a)$	$K_B = \frac{C_{BH^+}^H \cdot C_{OH^-}^H}{C_B^H} \quad (2b)$
scheinbare (meßbare) Verteilungskonstante	$k' = \frac{C_{HA}^0}{C_{HA}^H + C_{A^-}^H} \quad (3a)$	$k' = \frac{C_B^0}{C_B^H + C_{BH^+}^H} \quad (3b)$
Zusammenhang zwischen k', k u. K	$k' = \frac{k}{1 + \frac{K_A}{C_{H^+}^H}} \quad (4a)$	$k' = \frac{k}{1 + 10^{14} \cdot K_B \cdot C_{H^+}^H} \quad (4b)$

Aus der scheinbaren - aber für die Praxis entscheidenden - Verteilungskonstanten k' , die sich durch Überlagerung von Verteilung und Dissoziation gemäß Gl. 4a, b ergibt, läßt sich die hier interessierende Ausbeute in organischer Phase (A_o)¹⁾ sehr leicht berechnen (Gl. 5).

$$A_o = \frac{k' \cdot v_o}{v_w + k' v_o} \quad (5)$$

1)

C_o, C_w Konzentrationen in organischer bzw. wäßriger Phase

v_o, v_w Volumina der organischen bzw. wäßrigen Phase

$k, K_{A,B}$ Verteilungs- bzw. Dissoziationskonstante

HA, B Neutramoleküle

A^-, BH^+ Ionen

Bei experimentellen Untersuchungen zeigte sich, daß diese Gesetzmäßigkeiten nicht immer streng erfüllt waren, insbesondere im sauren Milieu ergaben sich Abweichungen bei einigen Substanzen. Dies ist die Ursache dafür, daß einige basische Substanzen aus Tab. 1 der Methodenvorschrift bei pH 1 - 2 teilweise extrahierbar waren, obwohl dies nach Lage der Gleichgewichte nicht in dem Maße zu erwarten wäre.

Untersuchungs- und Prüfmaterial

Die in der Methodenvorschrift genannten Prüfmaterialien sind bei 4°C bzw. bei längerer Lagerung in tiefgefrorenem Zustand aufzubewahren.

Ausführung

Die Phasentrennung nach der Extraktion kann durch Zentrifugieren unterstützt werden, anderenfalls empfiehlt sich eine Filtration der organischen Phase. Zu deren Trocknung kann wasserfreies Natriumsulfat eingesetzt werden.

Tritt bei Verwendung von Magenspülflüssigkeit oder Urin nach dem intensiven Schütteln eine stabile Emulsion auf, so kann diese durch Zusatz einer geringen Menge Ethanol gebrochen werden.

Der Ethanolzusatz vermindert jedoch die Reinheit der Extrakte.

Prinzipiell sind auch andere Lösungsmittel (z.B. Diethylether, Essigsäureethylester, Dichlormethan u.a.) bzw. Lösungsmittelgemische für die Extraktion einsetzbar und in der Literatur weit verbreitet (7, 8, 9). Das Verteilungsverhalten ist für viele Arzneistoffe jedoch naturgemäß unterschiedlich in den verschiedenen Lösungsmitteln, so daß im konkreten Fall eine vorherige Prüfung erforderlich ist.

Das Abdampfen des Chloroforms ist vorsichtig vorzunehmen. Sind leichtflüchtige Substanzen zu erwarten (z.B. Nicotin oder Cathin), so empfiehlt sich die Zugabe von einigen Tropfen einer 0,1 molaren Salzsäure in Methanol. Die Abweichung der pH-Werte bei der Verwendung von Blut in der Methodenvorschrift ist auf die starke Verunreinigung der Extrakte im sauren Bereich bzw. auf die hohe Emulsionsneigung bei pH-Wert 9 zurückzuführen. Die wesentlich unschärfere Trennung durch Extraktion bei pH 7 und 13 und der meist geringere Materialeinsatz sind der Grund für die Vereinigung der aus Blut gewonnenen Extrakte. Bei Verwendung von Serum oder Plasma - insbesondere bei gezielten Untersuchungen auf bestimmte Arzneistoffe - können je nach Art der zu extrahierenden Substanz (en) auch spezielle pH-Einstellungen des biologischen Materials vorgenommen werden.

Auswertung

Die halbquantitativen Ausbeuten (Tab. 1 der Methodenvorschrift) wurden aus den Arbeiten von Müller (6, 10 - 11) entnommen, bzw. für einzelne Arzneistoffe in sechs verschiedenen Laboratorien experimentell ermittelt. Die Ausbeute für jede Substanz ist in mindestens zwei Laboratorien bestimmt worden.

Maßnahmen zur Qualitätssicherung sind im allgemeinen nicht erforderlich, können aber durch Zusatz von Arzneistoffen zum biologischen Material ¹⁾ und Vergleich der entsprechenden Signalintensität vor und nach der Extraktion vorgenommen werden.

Reagenzien

Falls das Extraktionsmittel den Reinheitsansprüchen des entsprechenden Analysenverfahrens nicht gerecht wird (z.B. durch Auftreten von Störpeaks), ist es vor der Verwendung zu destillieren.

Erfassungsgrenze

Aus Tab. 1 der Methodenvorschrift geht die unterschiedliche Extrahierbarkeit der einzelnen Verbindungen hervor. Im Hinweis 1 werden diese Differenzen - und die dadurch beeinflusste Nachweisbarkeit der verschiedenen Arzneistoffe - noch einmal ausdrücklich betont.

Konkrete Angaben zu den Erfassungsgrenzen können nur in der Kombination aus Extraktions- und Analysenverfahren gemacht werden und finden sich in den einzelnen Methodenvorschriften bzw. den entsprechenden Kommentaren.

1)

Bei nachgewiesenermaßen starken Rauchern und nach Kaffeegenuß ist der positive Nicotin- bzw. Coffeinnachweis im bei pH 9 gewonnenen Urinextrakt ein Hinweis auf die "Richtigkeit" der durchgeführten Extraktion.

Literatur

- (1) Schlicht, H.J.
H.P. Glebke Z. Rechtsmedizin 81,25 (1978)
- (2) Elahi, N. J. Anal. Toxicol. 3,35 (1979)
- (3) Ford, B., J.Vine, J. Anal. Toxicol. 7,116(1983)
- (4) Jürgens, U. J. Liqu.chrom. 10, 507 (1987)
- (5) Breiter, J. Arzneimittel-Forsch. 28,1941 (1978)
- (6) Müller, R.K. Pharmazie 37, 416 (1982)
- (7) Sharp, M.E. Can. Soc. Forens. Sci. J. 19, 83 (1986)
- (8) Sharp, M.E. J. Anal. Toxicol. 11, 8 (1987)
- (9) Wallace, J.E.
H.A.Schwertner
E.L. Shimek Jr. Clin. Chem. 35, 1296 (1979)
- (10) Müller, R.K. Pharmazie 38, 462 (1983)
- (11) Müller, R.K. Pharmazie 38, 596 (1983)
- (12) Müller, R.K. Pharmazie 38, 721 (1983)

Veranstaltungskalender Nachlese: ANAKON 1991

Wolfgang Arnold
Eckerkamp 96, W-2000 Hamburg

Es war von jeher mein Bestreben, mich über Ziele und Intentionen anderer analytischer Gesellschaften und Organisationen außer unserer GTFCh zu informieren, Man konnte daraus lernen und vieles für die eigene Arbeit und weiteren Pläne einsetzen. So habe ich bereits mehrere Male an den Tagungen der ANAKON teilgenommen, teilweise auch mit eigenen Beiträgen. Diese speziellen Veranstaltungen der Fachgruppe für Analytische Chemie der GDCh finden traditionsgemäß seit vielen Jahren in Baden-Baden statt, so auch dieses Jahr vom 22. - 24. April 1991 im dortigen Kongreßzentrum, alternativ aller 2 Jahre zur Biochemica Analytika in München, bei der allerdings noch andere Gesellschaften beteiligt sind. Diese Veranstaltung hat u. a. vornehmlich das Ziel, analytisch interessierte Chemiker mit neuen Methoden der Analytik und ihrer gezielten praktischen Anwendung vertraut zu machen. Die diesjährige Veranstaltung stand unter dem Generalthema: Fortschritte der analytischen Chemie in Methode und Anwendung. Die diesjährige Tagung umfaßte insgesamt 22 Plenarträge von durchschnittlich 30 - 45 Minuten Dauer und wurde ergänzt und erweitert durch fast 90 einschlägige Poster.

Ein wesentlicher Teil der Plenarvorträge und eine Vielzahl von Postern setzten sich mit der Qualitätssicherung und -Kontrolle auseinander, einem Problem, welches auch in der forensischen Chemie immer mehr an Bedeutung gewinnt. Es ist aber in diesem Zusammenhang darauf hinzuweisen, daß auf unserem Sektor der Chemie die Schwierigkeiten einer befriedigenden Lösung wesentlich größer und komplizierter sind als z. B. in der Industrieanalytik. Auch Arbeitsmedizin und klinische Chemie machen hier keine Ausnahme, sind doch im Rahmen dieser Analytik, von wenigen Ausnahmen abgesehen, im wesentlichen vorgegebene, genau definierte Parameter zu bestimmen, für die entsprechende, tausendfach bewährte Vorschriften vorliegen. Anders ist dies in der forensischen Chemie, vor allem bei "General Unknown" Analysen. In solchen Fällen ist manchmal weder die zu ermittelnde Substanz sowie ihre mögliche Menge bekannt und fehlen häufig auch die geringsten Hinweise aus Anamnese und Tatortbefunden. Hinzu kommt vielfach die Tatsache, daß das zur Verfügung stehende Material begrenzt ist und eine möglicherweise in diesem enthaltene Giftsubstanz Verwesungs-, Fäulnis- und Zersetzungs Vorgängen ausgesetzt ist.

Nach den üblichen Begrüßungsformalitäten wurde die Tagung mit einem mehr oder weniger philosophisch inaugurierten Vortrag von RAPP zu gesetzmäßigen Abläufen in der Natur eröffnet. Eine Reihe weiterer Beiträge befaßte sich mit dem Leitthema Qualitätssicherung und -Kontrolle unter den verschiedensten Gesichtspunkten, so u. a. bei der Herstellung chemischer Industrieprodukte (MASING, CZABON) insbesondere auch im Zusammenhang mit Fragen einer Gesundheitsgefährdung. Etwas spezieller im Rahmen dieser Thematik sprach EBEL zur Validierung von Analysemethoden und ging dabei auf einzelne besondere Probleme ein. Von HARTKAMP wurden die vorangehenden Ausführungen vertieft, indem eindringlich auf die Bedeutung und den Einfluß der Probenahme für das Analyseergebnis hingewiesen wurde. WERNER betonte die Bedeutung der systematischen Qualitätssicherung während der einzelnen Prozeßvorgänge bei der Herstellung chemischer Produkte, GRIE-PINK diskutierte die unabdingbaren Forderungen, die bei einer Qualitätskontrolle an zertifizierte Referenzmaterialien zu stellen sind und BALLSCHMITER äußerte sich zum Sinn und Unsinn von Ringanalysen. Nach seiner Ansicht liefert nicht das Analysengerät falsche Ergebnisse, Fehler macht der Analytiker, der den Apparat bedient und diesem die Chance gibt für die Erstellung eines unrichtigen Ergebnisses. Auch STELLING war der gleichen Meinung, nach seiner Ansicht ist in erster Linie der Ausbildungsstand und die Qualifikation der Mitarbeiter eines Untersuchungslaboratoriums ausschlaggebend für die Qualität der Analyseergebnisse. Interessant war auch der Beitrag von MERZ zur "Guten Laborpraxis". Nach dem gegenwärtigen Stand der Dinge sind im Rahmen der Chemikaliengesetzgebung vor der Zulassung und Vermarktung eines neuen Produktes zahlreiche Untersuchungen und Prüfungen festgeschrieben, die wenig flexibel erscheinen und möglicherweise zukünftigen Anforderungen nur bedingt entsprechen.

Zum Thema Qualitätskontrolle und -Sicherheit wurden zusätzlich 11 Poster präsentiert. ANGERER und Coworker nahmen Stellung aus arbeitsmedizinischer Sicht, ARNOLD und SACHS betonten (siehe oben), daß für eine Qualitätskontrolle in der forensischen Chemie wesentlich andere Richtlinien erforderlich sind als bei üblichen Industrieanalysen. Weitere Poster befaßten sich mit Kontrollen bei der HPLC-Analyse, der UV-Spektroskopie, in der Lebensmittelchemie, bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, der Enzymimmunologie und Jonenchromatographie usw,

Der Vormittag des zweiten Kongreßtages war vornehmlich der anorganischen Umweltanalytik vorbehalten und wurde eröffnet durch einen Vortrag von SCHUSTER über selektive Komplexbildner bei der Spurenanalyse von Platinmetallen. Die Absolutnachweisgrenzen liegen im Picogrammbereich. WILKEN sprach zum biologischen Kreislauf des Quecksilbers und seiner Verbindungen, DUNEMANN zur Kopplungstechnik beim Nachweis von Metallverbindungen und LINSCHIED über LC/MS Methoden im Rahmen biochemischer und umweltanalytischer Untersuchungen. Eine weitere Vortragsreihe setzte sich mit dem Problem der Enantiomerentrennung durch Destillation (KOPPENHÖFER), mit der Aufklärung von Bio- und Phototransformationen der Pyrethroide mittels GC-MS (CLASS) auseinander. Im Referat von PÖRSCHMANN wurden Ergebnisse kapillargaschromatographischer Untersuchungen von freien und derivatisierten Fettsäuren erörtert. Am Nachmittag befaßten sich insgesamt 4 Plenarbeiträge mit der Kapillarelektrophorese, einer Methode, die eine immer größere Bedeutung gewinnt und zunehmend zur Lösung analytischer Probleme eingesetzt wird. Zunächst äußerte sich KARGER zu Prinzipien und Anwendungsmöglichkeiten dieses Verfahrens vor allem im Bereich biotechnologischer und molekularbiologischer Untersuchungen. EVERAERTS sprach speziell zur Kapillar-Isotachophorese und BAYER über seine Erfahrungen mit der Direktkopplung der Kapillarelektrophorese und Ionenspray-MS bei der Analyse synthetischer Polymere und Proteine. ENGELHARDT berichtete über Vergleichsuntersuchungen der micellaren elektrokinetischen Chromatographie mit der Kapillarelektrophorese unter Verwendung modifizierter Kapillaren.

Die einzelnen Generalthemen der diesjährigen ANAKON wurden, wie gesagt, durch spezielle Postersessionen ergänzt und trugen so zum besseren Verständnis der Plenarvorträge bei. Im Rahmen der Umweltanalytik wurden fast 30 Beiträge offeriert, die sich teilweise mit sehr eng begrenzten Problemen auseinandersetzten, die lediglich bestimmte Interessanten ansprachen. Natürlich waren manche Titel auch von allgemeinem Interesse wie z. B. "Chemische Analyse einzelner Regentropfen und ihrer Oberfläche". Gerade dieses Beispiel ist ein treffender Beweis dafür, daß dem Nachweis von Spuren in der Atmosphäre und im Erdreich kaum Grenzen gesetzt sind, allerdings verbunden mit der Gefahr, daß von sensationslüsternen Journalisten wahllos aufgegriffene Ergebnisse tendentiös interpretiert werden. Es würde zu weit führen, noch auf einige weitere Beiträge zu dieser Fragestellung einzugehen. Soviel ich weiß, werden in den nächsten Monaten viele der Beiträge auf der ANAKON in der Zeitschrift für Analytische Chemie (FRESENIUS) veröffentlicht.

Dem chromatographischen Sektor wurden 25 Poster zugeordnet, Viele Poster dieser Kategorie erläuterten die verschiedenen analytischen Möglichkeiten besonders in Verbindung mit spektroskopischen Verfahren (GC/FTIR). Im Vordergrund standen hier die HPLC, u. a. in Verbindung mit der Fmoc. Auch die Anwendung superkritischer Lösungsmittel wurde einbezogen. In ähnlicher Weise tendierten die Beiträge der letzten Postersitzung und -Demonstration. So wurde u. a. eingegangen auf den Einsatz der FTIR, auch mit Hilfe eines FTIR- oder Raman-Mikroskopes. Die NMR-Strukturanalyse wurde als neue, empfindliche Nachweismöglichkeit genannt und so könnten noch viele Hinweise aufzeigen, daß die ANAKON dem Analytiker auch in diesem Jahr wertvolle Informationen und praktische Hilfen für die eigenen Arbeitsprobleme zur Verfügung stellte. Auch in Zukunft wird dies so sein.

Am Abend des 1. Kongreßtages gab die Kurverwaltung Baden-Baden einen Empfang für die Tagungsteilnehmer, dessen Höhepunkt ein interessanter Vortrag von Peter FABIAN aus München zum Thema: Klimaveränderungen durch die veränderte Zusammensetzung der Atmosphäre war. Mit überzeugenden Worten konnte der Redner aufzeigen, welchen Gefahren die Menschheit zusteuert, wenn nicht sobald als möglich die CO₂-Emission entscheidend verringert wird. Bedauerlich, daß dieser Vortrag nur einem begrenzten Zuhörerkreis zugänglich war.

Vormerken: Die nächste ANAKON findet wieder in Baden-Baden vom 19. - 21. April 1993 statt und wird sich neben anderen wichtigen Themen mit der Statistik in der Analytik, Datenmanipulation und wie bereits in diesem Jahr mit der Qualitätssicherung sowie Hochleistungstrennmethode für Peptide und Proteine auseinandersetzen.

Veranstaltungskalender Nachlese: TIAFT 1991

Wolfgang Arnold
Eckerkamp 96, W-2000 Hamburg

Unter dem Präsidium von Professor Dr. BENT KAEMPE wurde vom 24. - 27. Juni dieses Jahres das 29. TIAFT-Meeting im Panum-Gebäude der Universität Kopenhagen durchgeführt. Das Programm umfaßte 60 Vorträge, die jeweils in 6 verschiedenen Sektionssitzungen spezieller toxikologischer Thematik gebündelt wurden. Weiterhin wurden noch 22 Poster gezeigt, in Ergänzung der mündlich vorgetragenen Beiträge. Der Morgen des 28. Juni war einem speziellem MS-Kolloquium im Kopenhagener Institut für Forensische Chemie vorbehalten.

Bereits am Vorabend des Kongresses hatte Bent KAEMPE zu einem Glas Wein im Gelände des Kildesoener Wild- und Vergnügungsparkes eingeladen. Anschließend durften die Kongreßteilnehmer das Schauspiel einer historisch überlieferten Hexenverbrennung (witch burning) miterleben, umrahmt von Tanzdarbietungen königlicher Ballett-Tänzer einschließlich Sangesdarbietungen und verschönt durch ein sehenswertes Feuerwerk.

Am Montag, den 24. Juni wurde der Kongreß offiziell durch den dänischen Justizminister Hans ENGELL eröffnet, gefolgt von weiteren Begrüßungsansprachen. Die 1. fachliche Sektionssitzung setzte sich im wesentlichen mit Methoden des Drogennachweises im biologischen Material auseinander. VINSON und Mitarbeiter bevorzugten die Extraktion mit festen Phasen in Verbindung mit der HPTLC, BALABANOVA überprüfte in in vitro-Versuchen das Eindringen von Methadon und Cocain in abgeschnittene Haare und äußerte sich weiter zu Ergebnissen einer vergleichenden Bestimmung von Cocain im menschlichen Haar mit Radioimmunoassay und GC/MS. FRASER sprach zu Richtlinien, die in Kanada beim Einsatz von Methadon und anderen Drogen im Rahmen der Süchtigetherapie praktiziert werden.

Der Nachmittag des gleichen Tages war ausschließlich der analytischen Qualitätskontrolle und -Sicherung vorbehalten. So gab WETHE zunächst einen Überblick über Durchführung externer Qualitätskontrollen in den skandinavischen Staaten, BUTLER und unabhängig davon auch FERRARA sprachen speziell zur Qualitätssicherung bei der Untersuchung auf Rauschdrogen. UGES und DIJKHUIS betonten die Bedeutung einer internationalen Zusammen-

arbeit auf diesem analytischen Sektor der forensischen Chemie. In gleicher Weise äußerten sich auch SEGURA und Mitarbeiter. Die nächsten Vorträge befaßten sich mit den Möglichkeiten einer Qualitätskontrolle in verschiedenen europäischen Ländern (Deutschland, Großbritannien, Luxemburg, Belgien und Holland, Griechenland, Dänemark, Frankreich, Irland und Portugal). In 2 weiteren Vorträgen berichteten SINGH et al über GC/MS-Untersuchungen brauner Zuckerproben, die im indischen Staat Gujarat sichergestellt wurden und die verschiedensten Drogen u. a. auch Opiate in wirksamer Menge enthielten. Der 2. Beitrag beschäftigte sich mit dem illegalen Anbau von Marihuana in Dänemark unter Berücksichtigung des Cannabinoidgehaltes dieser Pflanzen an verschiedenen Standorten.

Die Vormittagssitzung des nächsten Tages war im wesentlichen immunologischen Themen vorbehalten. So sprachen HALLBACH und Mitarbeiter über Erfassungsgrenzen beim immunologischen Benzodiazepinnachweis im Urin, LEMM-AHLERS et al über immunologische Analysen tricyklischer Antidepressiva im Serum oder Plasma und TSOUKALI erörterte die differenten Anwendungsmöglichkeiten immunologischer Techniken. BOGUSZ und Mitarbeiter überprüften im vergleichenden Einsatz eine neue Generation von RP-HPLC-Säulen niedriger Silanol-Aktivitäten beim Nachweis verschiedener Arzneimittel. KALA berichtete über HPLC- und TDX-Analysen auf Benzodiazepine und Barbiturate im Serum und FRASER et al über quantitative Bestimmungen von Baclofen bei einem fatalem Vergiftungsfall mit diesem Neurotransmitter. DUNNETT setzte sich mit Problemen bei der Einführung des Laboratorium Informations Management Systems (LIMS) auseinander,

Weiterhin erörterten NAGATA und Mitarbeiter Probleme des Nachweises der Bestandteile eines Farbverdünners im Mageninhalt einer erdrosselten Frau. SCHUBERTH berichtete über den Nachweis niedrig-molekularer Lösungsmittel mit Headspace-Kapillar-GC in Kopplung mit einem IT-Massenspektrometer. Über ähnliche Untersuchungen in etwa 100 Todesfällen bei Mißbrauch von Lösungsmitteln äußerten sich STREETE et al. FELBY löste Probleme bei der Erfassung von Lösungsmittelspuren durch ein von ihm entwickeltes "Cryofocusing"-Verfahren. DEVEAUX und BARAT schilderten die Folgen einer Zumischung eines Herbizids zum Inhalt eines Parfümzerstäubers einschließlich Analytik des verbliebenen Lösungsmittelrückstandes und BONIFACE et al beschrieben den Nachweis von Zopiclone (Imovan) mittels HPLC und UV-Detektion. Von TOSELAND und OSSELTON wurde ein Carbaryl-Intoxikationsfall vorgebracht, dessen Nachweis mit erheblichen analytischen und Interpretati-

ons-Schwierigkeiten verbunden war. ZWEIPFENNIG und VERHULST stellten ein liquidchromatographisches System zur Ermittlung basischer Arzneimittel vor. HUNDT und JOUBERT äußerten sich zum Ergebnis toxokinetischer Untersuchungen bei einer kombinierten Dieldrin-Aldrin-Strychnin-Intoxikation. Am Schluß dieser Sitzung trug OSSELTON einige Richtlinien zur "Guten Laborpraxis" vor, die u. a. auch im unmittelbaren Zusammenhang mit Qualitätskontrolle und -Sicherung im Rahmen der Analytik stehen.

Der Donnerstag-Vormittag war den verschiedensten Problemen in der forensischen Toxikologie gewidmet und wurde eröffnet durch einen Vortrag von DALDRUP und FOWINKEL, die über verschiedene neue und auch seit langem bewährte Techniken bei der Erfassung von Giften im Rahmen forensischer und klinisch-toxikologischer Untersuchungen berichteten. MARTIN und DAWLING konnten aufzeigen, daß es durchaus möglich ist, auch in der Leiche Insulinüberdosierungen sicher nachzuweisen, HILBERG et al stellten im Rahmen von Tierversuchen fest, daß im Kadaver toter Ratten noch merkbare Konzentrationsveränderungen nach Amitriptyline-Verabreichung eintreten können, wahrscheinlich wesentlich beeinflusst durch Diffusionsvorgänge. Eine weitere Versuchsreihe (gleiche Autoren) mit der gleichen Tiergattung bestätigte diese Ergebnisse. Außerdem wurden zusätzlich Abbauvorgänge am Molekül des applizierten Antidepressivums beobachtet. Auch SPIEHLER und Mitarbeiter äußerten sich zur Wirkung von Amitriptylin bei Überdosierung und konnten ihre Ergebnisse durch vergleichende Computerstudien erhärten. TEIGE und Mitarbeiter stellten fest, daß in Norwegen tödliche Intoxikationen durch Antidepressiva und Neuroleptika kontinuierlich zunehmen. Auch WONG und LEE berichteten über vermehrte Todesfälle mit Benzodiazepinen, insbesondere bei Heroinabhängigen, die diese Tranquilizer zusätzlich verwendeten. Buflomedil war nach Ausführungen von GHYSEL und HAGUENOER Todesursache in 3 Fällen, in Verbindung mit Alkohol oder Paracetamol.

Die 4 folgenden Vorträge waren vorwiegend analytisch konzipiert. So berichteten BOGUSZ et al über die Reproduzierbarkeit von HPLC-Retentions-Indices, MAURER sprach zum GC/MS-Nachweis von Selegilin und seiner Metaboliten, MINTY zur HPLC-Analyse basischer Medikamente auf Siliciumsäulen und BRZEZINKA erörterte die Möglichkeiten einer Kombination der TLC und MS im Vergleich zur GC/MS. Bei 2 tödlichen Germanium-Intoxikationen gelang ITEN nach vorangehender Hydridisierung die Erfassung von Spuren dieses Metalls im biologischem Material mittels GC-SIM.

Der letzten wissenschaftlichen Vortragssektion waren die verschiedensten Themen zugeordnet. RYALL gab einen Bericht über die Verbreitung des Diabetes mellitus in Tasmanien und äußerte sich weiterhin zur Beteiligung von Alkohol und Arzneimitteln bei plötzlichen Todesfällen und Suiziden. TSATSAKIS et al verglichen die Ergebnisse von enzymatischen und gaschromatographischen Untersuchungen bei Blutalkoholbestimmungen. KÖPPEL und TENCZER fanden endogene Benzodiazepine mit Hilfe spezieller massenspektrometrischer Techniken bei Patienten mit hepatischer Enzephalopathie. YAMADA und Mitarbeiter überprüften Genotypen alkoholmetabolisierender Enzyme im Vergleich zur Alkoholverträglichkeit. Ebenso führten auch KÖPPEL et al gentechnologische Versuche bei Patienten durch, deren Arzneimittelmetabolismus, erblich bedingt, gestört war und stellten eine Überempfindlichkeit dieser Personen gegenüber Medikamentennebenwirkungen fest. FRANKE und Mitarbeiter berichteten über Erfahrungen im Rahmen systematischer toxikologischer Analysen und präsentierten eine Festphasen-Säule, mit der sowohl saure, neutrale und basische Substanzen extrahiert werden können. KAEMPE sprach zur Entwicklung der forensischen Toxikologie in Dänemark bezüglich Analytik und Bedeutung im Zeitraum von 1960 bis annähernd zur Jahresmitte 1991. Ergänzend äußerten sich zu diesem Thema MÜLLER und DE ZEEUW, indem sie u. a. auf wichtige Gesichtspunkte, wie Qualitätskontrolle und allgemeine Laborrichtlinien (Gute Laborpraxis) hinwiesen.

Die mündlichen Beiträge im Rahmen dieses TIAFT-Kongresses wurden ergänzt durch eine Vielzahl von Postern, deren Diskussion und Besprechung in einer besonderen Sitzung am Dienstag, den 25. Juni durchgeführt wurde. Ein großer Teil dieser Poster beschäftigte sich mit Rauschgiftproblemen und deren Nachweis unter Bevorzugung immunologischer Verfahren. Im Vordergrund stand hierbei u.a. die Analyse von Heroin, Morphin und 6-Acetylmorphin als kurzfristiges Abbauprodukt von Heroin. Andere Arbeiten setzten sich mit dem Cocainnachweis auseinander und hierbei vor allem auch mit dem Body Packer Syndrom. Wie ein verkehrsmedizinischer Beitrag aus Norwegen aufzeigte, sind Rauschdrogen und bestimmte starkwirkende Arzneimittel häufig in Verbindung mit Alkohol vielfach eine der Hauptursachen von Verkehrsunfällen. In einigen Postern wurde darauf aufmerksam gemacht, daß Marihuana nach wie vor das meist gebrauchte Rauschgift ist und noch immer als sogenannte Einstiegsdroge eine besondere Bedeutung besitzt. Ein Poster wies eindringlich auf den meist tödlichen Ausgang von Paraquatvergiftungen hin. Interessant war auch der Beitrag von JEGER und BRIELLMANN, die eine TLC-Analyse von Morphin im menschlichen Haar beschrieben.

Das insgesamt interessante, geistig fordernde wissenschaftliche Programm der Tagung war geschickt umrahmt von Besichtigungen, Stadtrundfahrten und einem Tagesausflug nach Nordseeland, obligatorisch für alle Teilnehmer. Trotz teilweise recht heftigen, aber erfreulicherweise meist nur kurzfristigen Regenschauern klärte der Himmel meist auf, wenn ein Spaziergang durch ein altes Städtchen, eine Schloßanlage oder andere Sehenswürdigkeit auf dem Programm stand. Besonders eindrucksvoll war die Besichtigung des Hamletschlosses Kronenburg. Gewährte man seiner Phantasie freien Raum und schloß auf den äußeren Schloßwällen die Augen, so hörte man neben Brandung und Seewind unverkennbar: "To be or not to be, that is the question". Dies gilt vielleicht nur für Teilnehmer, die früher in ihrer Schulzeit mit Begeisterung den Shakespeare-Text im Original gelesen haben !

Während der wissenschaftlichen Sektionssitzungen wurde ausreichend durch Kaffeepausen und jeweils mittags durch ein alle Gourmet-Wünsche erfüllendes, reichhaltiges Büffet für den Kalorienersatz gesorgt, der infolge geistiger Anstrengungen während der wissenschaftlichen Vormittagssitzungen verloren gegangen war. Wie die Sage geht, haben manche Teilnehmer während des Kongresses einige Pfunde an Gewicht zugelegt !

Ich hatte dank des Entgegenkommens von Bent KAEMPE die Freude, am Vormittag des 28. Juni zusammen mit einigen anderen das Institut of Forensic Chemistry zu besichtigen. Wir wurden mit Tatsachen konfrontiert, die anderswo mehr oder minder Traumvorstellungen sind. Zunächst der Personalbestand: 9 Akademiker, darunter mehrere Professoren, 23 (dreiundzwanzig !) technische Assistenten und -innen, 4 Sekretariate mit entsprechendem Schreib- oder Computerpersonal sowie mehrere Auszubildende, darunter auch Studenten.

Zur Verfügung stehen 1000 qm Räumlichkeiten, aufgeteilt in Laboratorien mit einer Größe zwischen 20 - 40 qm. An Geräten sind vorhanden: 19 Gaschromatographen (universell), 7 HPLC, 3 UV-Spektrometer, 1 FTIR, 1 AAS, 1 Liquidscintillator, 1 Gammacounter, 1 großes GC/MS und ein Ion Trap neben vielen anderen Geräten und Laboreinrichtungen. Man konnte nur staunen !

Abschließend, und ich glaube im Namen aller Kopenhagenteilnehmer sprechen zu dürfen: Vielen herzlichen Dank Dir, lieber Bent für alles !

 Veranstaltungskalender Vorschau: Weiterbildungsveranstaltung der
 GTFCh im Berufsförderungswerk Thüringen, O-6517 Seelingstädt
 2. April bis 4. April 1992

Vorläufiges Programm

2. April 1992

14.00 Uhr Begrüßung
 14.15 Uhr Anatomisch-physiologische Grundlagen der
 Pharmakokinetik (H. MAURER)
 15.45 Uhr Pause
 16.15 Uhr Anatomisch-physiologische Grundlagen der
 Pharmakokinetik (H. MAURER)
 17.45 Uhr Ende
 19.00 Uhr Abendessen

3. April 1992

08.30 Uhr Toxikokinetik wichtiger Arznei- und Giftstoffe
 (R.K. MÜLLER)
 10.00 Uhr Pause
 10.30 Uhr Toxikokinetik wichtiger Arznei- und Giftstoffe
 (R.K. MÜLLER)
 12.00 Uhr Mittagessen

Analytik wichtiger Arznei- und Giftstoffe:

14.00 Uhr Immunoassays (R. WENNIG)
 14.30 Uhr Dünnschichtchromatographie (L. von MEYER)
 15.00 Uhr HPLC (K. HARZER)
 15.30 Uhr Pause
 16.00 Uhr Gaschromatographie (G. FRITSCHI)
 16.30 Uhr GC-MS (E. SCHNEIDER)
 17.45 Uhr Ende
 19.00 Uhr Abendessen

4. April 1992

08.30 Uhr Toxikologische Interpretation der Analysen-
 befunde (C. KÖPPEL)
 10.00 Uhr Pause
 10.30 Uhr Juristische Aspekte der toxikologischen
 Begutachtung (J. JOACHIMSKI)
 12.00 Uhr Mittagessen

Tagungsgebühr: DM 200,-
 Übernachtung: DM 22,- pro Nacht
 Vollverpflegung: DM 12,50 pro Tag

Anmeldung: K. Schmidt, Geschäftsstelle der GTFCh
 Landgrabenstr. 74, W-6368 Bad Vilbel

Organisation: Dr.R. Barchet, Stuttgart, Dr. E.M. Müller, BKA
 Wiesbaden und Prof.Dr. R. Wennig, Luxembourg

Veranstaltungskalender Vorschau: 5. Seminar für Toxikologie: Toxikologie der Luftschadstoffe aus Straßenverkehr und anderen Quellen. Innsbruck, 27. und 28.2.1992, Gr. Hörsaal der neuen Frauen- und Kopfklinik der Universität Innsbruck

P r o g r a m m

Donnerstag, 27.2.1992

- 9.00 - 9.30 Uhr: **Eröffnung und Begrüßung**
- 9.30 - 10.15 Uhr: Dr. P. Tritthart, Graz: **Automobilabgase in Gegenwart und Zukunft**
- 10.15 - 10.40 Uhr: Ing. U. Schröer (Linz) **Emissionsvermindernde Maßnahmen der Eisen- und Stahlindustrie**
- 10.40 - 11.05 Uhr: Dr. H. Schröfelbauer (Klagenfurt): **Emission von Kraftwerken**
- 11.05 - 11.30 Uhr: Kaffeepause
- 11.30 - 12.00 Uhr: Univ.Prof. Dr. Ch. God): **Abgase aus Haushaltsheizungsanlagen**
- 12.00 - 12.45 Uhr: Univ.Do. Dr. I. Vergeiner, Innsbruck: **Transport, Verfrachtung und Verbreitung von Schadstoffen durch die Luft**
- 12.45 - 14.15 Uhr: Mittagspause
- 14.15 - 15.00 Uhr: Univ.Prof. Dr. R. Schulte-Hermann, Wien: **Einführung in die toxikologische Bewertung der Luftschadstoffe**
- 15.00 - 15.30 Uhr: Kaffeepause
- 15.30 - 16.00 Uhr: Univ.Prof. DDr. H.-E. Wichmann, Wuppertal: **Epidemiologische Erfassung gesundheitlicher Auswirkungen von Luftschadstoffen**
- 16.00 - 16.45 Uhr: Univ.Do. Dr. R. Dallinger, Innsbruck: **Einführung in die ökotoxikologische Bewertung von Luftschadstoffen**
- 16.45 - 17.45 Uhr: Postersitzung
- 17.45 - 18.05 Uhr: **Öffentlicher Abendvortrag:** Univ.Do. Dipl.Ing. Dr. H. Puxbaum, Wien: **Ozon und Photooxidantien: Entstehung und Vorkommen**
- 18.05 - 18.25 Uhr: Univ.Prof. DDr. M. Haider, Wien: **Ozon und Photooxidantien: Gesundheitliche Bewertung**
- 18.25 - 18.45 Uhr: Diskussion
- 19.00 Uhr: **Gemeinsamer Abend**

Freitag, 28.2.1992

- 9.00 - 9.30 Uhr: Univ.Do. Dr. M. Koller, Wien: **Luftbelastung in Innenräumen**
- 9.30 - 10.00 Uhr: Univ.Prof. Dr.med. Ch. Vutuc, Wien: **Passivrauchen und die epidemiologische Erfassung schwacher Risikofaktoren**
- 10.00 - 10.20 Uhr: Ass.Prwof. Univ.Do. Mag. DDr. Ch. Hartter, Wien: **Nachweis von Belastungen durch Passivrauchen**
- 10.20 - 10.50 Uhr: Kaffeepause
- 10.50 - 11.20 Uhr: Univ.Prof. Dr. O. Hutzinger, Bayreuth: **Entstehung, Verteilung und Bedeutung von Dioxinen**
- 11.20 - 11.50 Uhr: Univ.Prof. Dr. W. Koransky, Marburg: **Dioxin in der Muttermilch - Vorkommen und Bewertung**
- 11.50 - 12.20 Uhr: Univ.Prof. Dr. W.R. Langenbacher, Wien: **Ökologische Alarmierung als moderne Medienfunktion**
- 12.20 - 12.50 Uhr: Univ.Prof. Dr. W. Kofler, Innsbruck: **Toxikopie-bedingte Gesundheitsbeeinträchtigungen durch Immission und ihre Abgrenzung von toxikologisch bedingten Schäden.**

PERSONALIA

Stellengesuche

Wegen der Schließung von Instituten bzw. aufgrund des (drohenden) Stellenabbaues an den Instituten in Ostdeutschland müssen sich mehrere unserer Kolleginnen und Kollegen eine neue Stelle suchen. Es wird deshalb darum gebeten, entsprechende Stellenangebote an Prof.Dr. R.K. Müller, Institut für Rechtsmedizin der Universität Leipzig oder an die Schriftleitung zu schicken.

Forensischer Toxikologe GTFCh

Herrn Prof.Dr. R. Klaus Müller (Leipzig) wurde die Bezeichnung "Forensischer Toxikologe GTFCh" verliehen.

Berufungen

Herr Priv.-Doz. Dr. Hans H. Maurer, Privat-Dozent für Pharmakologie und Toxikologie, erhielt einen Ruf auf eine C-3 Professur für Klinische Toxikologie in der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes in Homburg (Saar). Mit dieser Professur ist auch die Leitung des Toxikologiezentrums sowie die Unterrichtung der Pharmaziestudenten in Saarbrücken verbunden. Herr Dr. Maurer hatte zuvor einen Ruf an das Medizinische Institut für Umwelthygiene an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf abgelehnt.

Neue Mitglieder

Herr Theo Bouvre
Labor Drs. P. Tarkkanen, Beckers, Stein
Wallstr. 10, W-4050 Mönchengladbach
Tel.: 02161-81940 Fax: 02161-819433

Frau Dipl.-Chem. Cornelia Friedrich
Institut für Gerichtliche Medizin
Rembrandtstr. 6, O-9001 Chemnitz
Tel.: 003771-650290 Fax:

Herr Dipl.-Ing. August Goebel
Gemeinschaftslabor Dr. Schiwara
Straßburgerstr. 19, W-2800 Bremen 1
Tel.: 0421-349640 App. 36 Fax: 0421-3496458

Herr Dr. Andreas Günzel
Institut für Gerichtliche Medizin
Rembrandtstr. 6, O-9001 Chemnitz
Tel.: 003771-650290 oder 260 Fax:

Herr Dipl.-Chem. Martin Hartung
Institut für Rechtsmedizin
Universitätsklinikum, W-6650 Homburg (Saar)
Tel.: 06841-166315 Fax: 06841-166314

Herr Maxime Hess
Labor Drs. Hess, Schonard, Kruse
Friedrich-Ebertstr. 2, W-3500 Kassel
Tel.: 0561-774044 Fax: 0561-13303

Frau Dipl.-Chem. Sieglinde Herre
Institut für Gerichtliche Chemie
Hannoversche Straße 6, O-1040 Berlin
Tel.: -2838320 Fax:

Herr Dr. Ernst Kaltwasser
Chemisches und Lebensmittel-Untersuchungsamt
Koblenzerstr. 73, W-5900 Siegen
Tel.: 0271-3377460 Fax:

Herr Dr. Harald Krause
LKA Baden-Württemberg
Taubenheimstr. 85, W-7000 Stuttgart 50
Tel.: 0711-50602408 Fax: 0711-50602558

Herr Prof.Dr. Jan Markiewicz
Institut für Gerichtliche Expertisen
Westerplatte 9, PL-31-033 Krakow
Tel.: -228755 Fax:

Herr Apotheker Rüdiger Michels
Chemisches und Lebensmittel-Untersuchungsamt
Koblenzerstr. 73, W-5900 Siegen
Tel.: 0271-3377461 Fax:

Herr Dr.Ing. Othmar Mueller
IMSZI Technisches Gerichtsachverständigen-Institut
Damjanicht utca 12, H-1406 Budapest VII
Tel.: 00361-1229277 Fax: 00361-1220021

Herr Prof.Dr. Stefan Pollak
Institut für Rechtsmedizin
Albertstr. 9, W-7800 Freiburg
Tel.: 0761-273030 Fax:

Herr Maj. Dr. William R. Prescott
United States Military Academy
Department of Chemistry, USA-10996 Westpoint NY
Tel.: -914-938-5820 Fax:

Herr Apotheker J. Sawazki
Apotheke der Rheinischen Landesklinik Viersen
Postfach, W-4060 Viersen
Tel.: 02162-671521 Fax:

Frau Dr. Dagmar Schäfer
US-Army Drug Testing Laboratory
Air Base Wiesbaden, Building 01212, W-6200 Wiebaden
Tel.: 0611-7055562 Fax:

Herr Prof.Dr. Michael Staak
Institut für Rechtsmedizin
Melatengürtel 60-62, W-5000 Köln 30
Tel.: 0221-4784280 Fax: 0221-4784261

Frau Klara Szabo
Koranyi s. und F. Krankenhaus
Alsoerdösor 7, H-1074 Budapest
Tel.: 00361-1215215 oder 123 Fax:

Herr Dr. Detlef Thieme
Institut für Rechtsmedizin
Otto-Grotewohlstraße 53, O-1200 Frankfurt (Oder)
Tel.: 0930-3773363 Fax: 0930-3773584

Beratungsstelle für Vergiftungserscheinungen
und Embryonaltoxikologie
Pulsstraße 3-7, W-1000 Berlin 19
Tel.: 030-3023022 Fax: 030-34307021

Austritte

Priv.-Doz. Dr. med. habil. Klausdieter Bauer, W-6600 Saarbrücken

Notiz

Herr Kollege Pragst hat von der diesjährigen Tagung in Mosbach einen Videofilm angefertigt. Durch Überweisung von DM 20,- auf das Konto der GTFCh mit dem Vermerk "Videofilm Mosbach 1991" und Angabe der genauen Adresse kann dieser Film bestellt werden. Wer mehr Einzelheiten wissen möchte, kann sich an Herrn Prof. Dr. Möller (Homburg) wenden.

Studien- und Fortbildungsmöglichkeiten in USA

Die amerikanische "Society of Toxicology" hat 1990 ein Verzeichnis veröffentlicht mit dem Titel: "Resource Guido to Careers in Toxicology", in dem die amerikanischen Universitäten verzeichnend sind, die ein Studium sowie Fortbildungsmöglichkeiten in Toxikologie in den USA anbieten. Dieses Verzeichnis enthält jeweils die Namen der Professoren und deren Spezialgebiete, die Voraussetzungen für das Studium, die Art der Ausbildung und den möglichen Ansprechpartner. Außerdem sind einige Förderungsmöglichkeiten aufgegliedert. Interessenten können sich telefonisch oder schriftlich an mich wenden. Ich werde dann die gewünschten Informationen zur Verfügung stellen. (M. Möller, Homburg)

BUCHBESPRECHUNG

Empfehlungen zur klinisch-toxikologischen Analytik
Folge 5: Empfehlungen zur Dünnschichtchromatographie
Mitteilung XVI der Senatskommission für klinisch-
toxikologische Analytik
Deutsche Forschungsgemeinschaft
bearbeitet von Gottfried Machata und Harald Schütz
unter Mitarbeit von
James Bäumlner, Thomas Daldrup und Hans Jörg Gibitz
VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim; Basel; Cambridge; New York
1991, IX, 104 Seiten, 21 Abbildungen, 8 Tabellen
DM 44,00

Die Dünnschichtchromatographie nimmt in der Analytik von Substanzgemischen auch heute noch einen festen Platz ein. Durch die Entwicklung von Hochleistungs-Fertigplatten in Verbindung mit neuen Entwicklungstechniken (z.B. der AMD-Technik) und hochempfindliche, selektive Auswertetechniken wurde die Leistungsfähigkeit der Dünnschichtchromatographie erheblich gesteigert.

Im Drogen-Screening steht die moderne Dünnschichtchromatographie gleichwertig neben den anderen analytischen Verfahren.

Die vorliegende Mitteilung XVI der Senatskommission für klinisch-toxikologische Analytik der DFG bietet weit mehr als nur Empfehlungen für die Dünnschichtchromatographie. In einer kurzen Einleitung wird die historische Entwicklung, das Prinzip der Methode und die Anwendung der Dünnschichtchromatographie im Rahmen der toxikologischen Analytik dargestellt. Hervorgehoben wird insbesondere die Bedeutung der dünn-schichtchromatographischen Verfahren beim Screening von Barbituraten, Benzodiazepinen, Cannabinoiden, Laxantien und Opiaten.

Die folgenden Abschnitte des Buches befassen sich mit der Ausrüstung, der Probenapplikationstechnik sowie mit der richtigen Wahl der Entwicklungskammer und der Entwicklungstechnik. Hier werden dem interessierten Leser alle notwendigen Informationen vermittelt.

In den Kapiteln 3 und 4 werden die wichtigsten stationären und mobilen Phasen beschrieben. Für toxikologische Untersuchungen empfehlen die Autoren als stationäre Phase Kieselgel G mit oder ohne Zusatzstoffe (Fluoreszenzindikatoren) auf Glas. Nicht zuletzt deshalb, da sich fast alle tabellierten Daten auf diese Schicht beziehen.

Für die mobilen Phasen werden die in der Mitteilung VII der Senatskommission empfohlenen Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemische vorgeschlagen.

Besonders wertvoll ist der Hinweis, bei den mobilen Phasen möglichst auf cancerogen wirksame Lösungsmittel wie Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff und Benzen zu verzichten und statt dessen auf Toluol bzw. Dichlormethan auszuweichen. In einem ausführlichen Kapitel widmen sich die Autoren der Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen. Es ist ohne Zweifel der wichtigste und auch schwierigste Teil der Dünnschichtchromatographie. Probleme der Detektion von Substanzflecken, die qualitative Bestimmung einer Substanz unter Bezugnahme des seit langem bekannten R_f -Wertes sowie das Konzept des korrigierten R_f -Wertes (R_f^C -Wertes) werden ausführlich beschrieben.

Der Einsatz von Scannern zur quantitativen Bestimmung einer Substanz auf der DC-Platte wird am Beispiel von 6-Monoacetylmorphin (MAM) beschrieben.

Es folgen im Kapitel 6 einige praktische Hinweise zur Herstellung und Analyse der Extrakte aus dem Probenmaterial sowie der Anreicherung für weitere chemisch-physikalische Methoden.

Im Anhang befindet sich ein Verzeichnis einiger Firmen, die Geräte und Zubehör für die Dünnschichtchromatographie herstellen und vertreiben und zwei Tabellen, die für den Anwender der DC sehr hilfreich sind.

In der ersten Tabelle werden R_f -Werte (unkorrigiert) und Farbreaktionen von 123 toxikologisch relevanten Substanzen im Fließmittel Methanol/Aceton aufgelistet. Die zweite Tabelle enthält die korrigierten hR_f -Werte (hR_f^C -Werte) von 500 toxikologisch relevanten Wirkstoffen in den Fließmittelsystemen Methanol und Essigsäureethylester/Methanol/Ammoniak 25%.

Insgesamt ist das Buch "Empfehlungen zur Dünnschichtchromatographie" übersichtlich und didaktisch gut aufgebaut und bietet sowohl dem potentiellen Anwender als auch dem erfahrenen Analytiker bei der Einrichtung und Durchführung der Dünnschichtchromatographie wertvolle Hinweise. Dieses Buch sollte deshalb in keinem toxikologisch-chemischen Laboratorium fehlen.

N. Brinkhoff, Magdeburg

Buchbesprechung:

Orientierende Angaben zu therapeutischen und toxischen Konzentrationen von Arzneimitteln und Giften in Blut, Serum oder Urin (Mitteilung XV der Senatskommission für Klinisch-toxikologische Analytik der Deutschen Forschungsgemeinschaft)

Bearbeitet von D. R. A. Uges, unter Mitarbeit von M. v. Clarmann, M. Geldmacher-von Mallinckrodt, A. N. P. van Heijst, K. Ibe, M. Oellerich, H. Schütz, D. Stamm, F. Wunsch. Deutsche Forschungsgemeinschaft. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim-Cambridge-New York. 1990. XII, 115 S., 8 Abb., 11 Tab.; DM 42,--. ISBN 3-527-27383-2

An dieser Stelle über ein Buch noch viele Worte zu verlieren, das per se ein Muß für jedes toxikologische Laboratorium darstellt, hieße, Eulen nach Athen zu tragen. Titel und Autorenliste sprechen für sich selbst, deshalb sei nur noch wenig zum Inhalt gesagt.

Wesentlicher Bestandteil des Bandes ist die überarbeitete "Holländische Blutspiegelliste" von D. Uges, in der über 300 pharmakologisch relevante Verbindungen erfaßt sind. Angegeben sind die Konzentrationsbereiche, die in Serum bzw. Blut oder Plasma, in einzelnen Fällen auch für Urin, unter Monotherapie erreicht werden bzw. bei Intoxikationen für die Monosubstanz dokumentiert sind. An Hand dieser Liste ist i.a. eine gute und vor allem eine rasche Orientierung möglich: Sind höchstwahrscheinlich bereits toxische Konzentrationen erreicht, oder sind andere Ursachen für die Symptomatik verantwortlich, welche therapeutischen Maßnahmen sind aufgrund dieser Werte zu ergreifen? Eine endgültige Aussage kann natürlich erst nach Würdigung sämtlicher Faktoren gemacht werden, die für den speziellen Fall relevant sind.

Diesem letzten Punkt trägt das Buch insofern Rechnung, als die Liste nicht einfach als alleinseligmachend aufgeführt ist, sondern in einem textlichen Zusammenhang mit weiteren, für die toxikologische Interpretation der Meßergebnisse wesentlichen Aspekten steht. So werden neben einem kurzen Abriss über die pharmakologischen Grundlagen wichtige Hinweise für die Befunderhebung gegeben, die die Vorgeschichte bzw. pathologische Veränderungen betreffen. Auch die Asservierung sowie Probenversand und -lagerung werden behandelt, die, unsachgemäß ausgeführt, zu einer Verfälschung der Resultate führen können. Ergänzend sind im Anhang einige wichtige Begriffsdefinitionen aufgeführt, ebenso findet sich dort Grundsätzliches zum Thema Qualitätskontrolle.

Sicher kann das Buch langjährige Erfahrung nicht ersetzen, insgesamt gibt es aber in wohlthuender Kürze einen Überblick über die verschiedenen Parameter, die der Toxikologe in seine Arbeit einzubeziehen hat, wie auch über die Bedingungen, unter denen seriöse Ergebnisse überhaupt erst zustandekommen. Auch vom Preis her, der selbst einem kränkelnden Universitätsbibliotheksetat nichts Unmögliches abverlangen sollte, ist es uneingeschränkt zu empfehlen.

C. Heller, Düsseldorf

Hinweise an die Autoren

Die Erfahrungen, die im EDV-Ausschuß der GTFCh mit der Textverarbeitung gemacht werden, sollen nun auch zur Herstellung dieser Zeitschrift genutzt werden. Ab 1992 Heft 1 sollen die Artikel in dem Format erscheinen, in dem auch der Beitrag "Qualitätssicherung bei der Untersuchung von Kopfhaaren zum Nachweis eines Betäubungsmittels" in diesem Heft abgedruckt ist. Obwohl wir uns über jede Herausforderung freuen, ein Text- bzw. Graphikformat in ein anderes zu konvertieren, würde die Beachtung folgender Regeln die Arbeit an den Heften beschleunigen:

- Falls die Beiträge mit einem Textverarbeitungssystem erarbeitet wurden, sollte dem gedruckten Beitrag eine Diskette (5,25" oder 3,5 ") für MS-DOS Rechner im ASCII- Format beigelegt werden.

- Falls Zeichnungen mit einem Graphiksystem erstellt wurden, könnten wir neben der gedruckten Zeichnung auch Abbildungen auf den o.g. Disketten verwenden, wenn das Format angegeben ist. Standardformate von Corel Draw!, Harvard Graphics oder Paintbrush erleichtern uns die Arbeit.

Diese Regeln sollen allerdings niemanden an der Einsendung eines Beitrages hindern, falls er nicht über die technischen Mittel verfügt. Wir werden versuchen, jeden Beitrag in die einheitliche Form dieser Zeitschrift zu überführen.

