



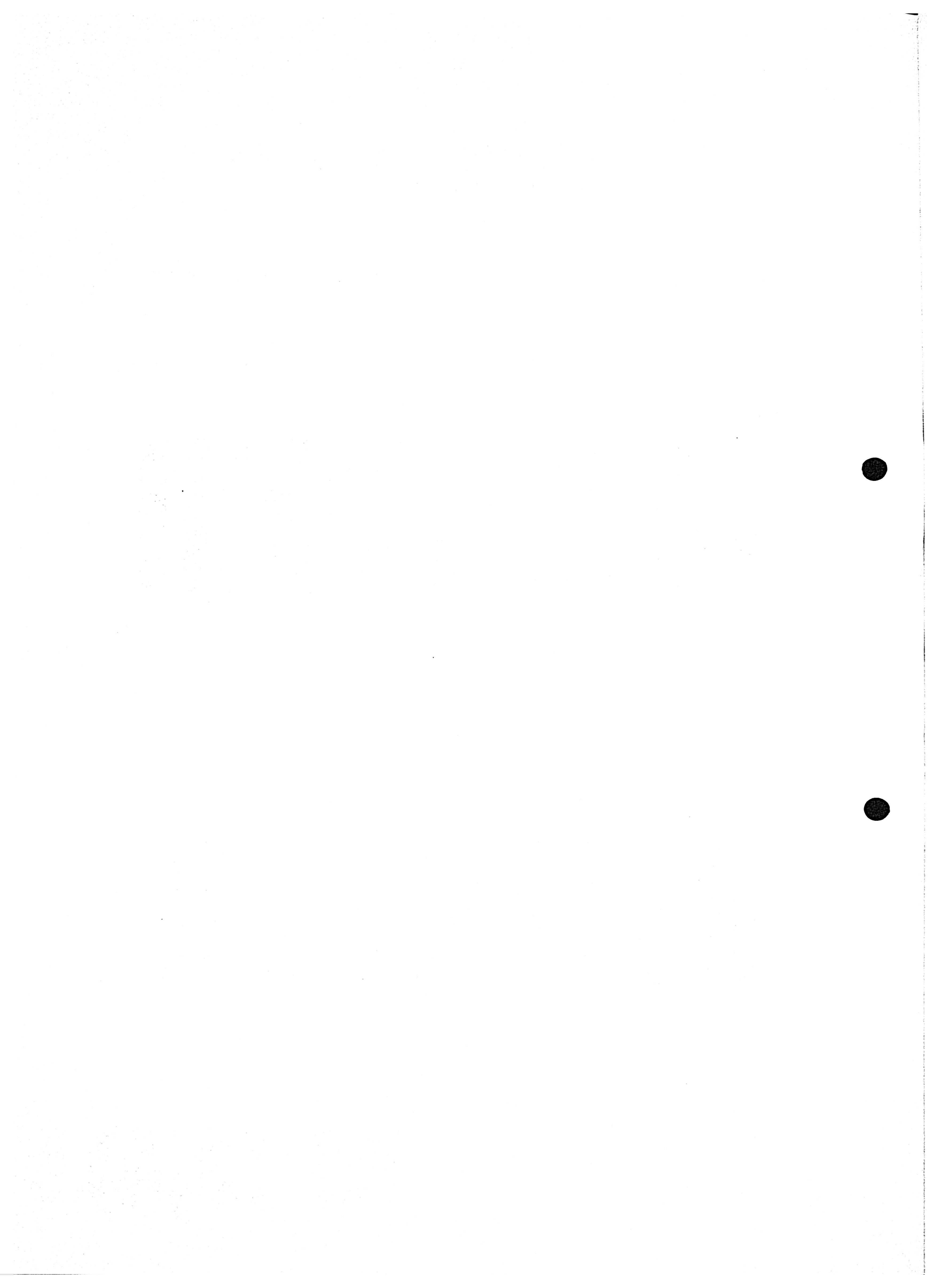
GESELLSCHAFT FÜR TOXIKOLOGISCHE UND FORENSISCHE CHEMIE

Toxichem

+

Krimtech

59 (3,4)





TOXICHEM + KRIMTECH

Mitteilungsblatt der
Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie

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

SCHRIFTLÉITUNG:

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

VERTRIEB:

Geschäftsstelle der GTFCh
Karl Schmidt

Landgrabenstraße 74
D-6368 Bad Vilbel

SATZ:

Dr. Hans Sachs
Institut für Rechtsmedizin
Universitätsklinik
Prittwitzstr. 6
D-7900 Ulm

Bankverbindung der GTFCh: Prof.Dr. M.R. Möller, GTFCh, Postgiroamt Saarbrücken (BLZ: 590 100 66) Kontonummer: 257 54-669

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
MOSBACH '92	106
Th. Daldrup, W. Böhmer: Ergebnisse einer Umfrage zur Situation der klinisch-toxikologischen Analytik an Instituten/Abteilungen für Rechtsmedizin in der Bundesrepublik Deutschland	107
H. Sachs, M. Uhl: Opiat-Nachweis in Haar-Extrakten mit Hilfe von GC/MS/MS und Supercritical Fluid Extraktion (SFE). (Workshop 92)	114
K. Neuman: Vergleichende Heroinanalyse mit der Kapillar-GC: Bestimmung charakteristischer Grössen. (Workshop 92)	121
H.-G. Eigendorf, R. Budde, H. König, G. Möschwitzer, R. Scholz: Standardisierte Methoden für die dringliche klinisch-toxikologische Analytik: 4. Mitteilung Hochleistungsflüssigchromatographie	125
H.-G. Eigendorf : Kommentar zur Standardvorschrift Hochleistungsflüssigchromatographie	133
Personalia	138
Neues vom Büchermarkt/Buchbesprechungen	139,142,145

Mosbach '93

GTFCH - Symposium

15. bis 17. April 1993

Themen:

I: DROGENKONTROLLE IN DER HEUTIGEN GESELLSCHAFT

und

II: FORENSISCHE CHEMIE

Anmeldefrist für Kurzvorträge: 4. Januar 1993

Vortragsanmeldungen (Thema, Zeitwunsch und endgültige Kurzfassung) können Sie direkt an den Tagungspräsidenten, Dr. Reinhold Barchet (Stuttgart), oder an die Geschäftsstelle der GTFCh schicken.

Vorträge zu Thema I können sich z.B. mit Drogenkontrollen am Arbeitsplatz, während einer Substitutionstherapie, von Verkehrsteilnehmern, während der Schwangerschaft usw. befassen.

Für das Thema II konnten bereits einige Referenten gewonnen werden:

G. Hindorf (Hannover): Infrarotspektralphotometrische Untersuchungen in der Forensischen Chemie

G. Fritschi (Wiesbaden): Vergleichende Untersuchungen bei Cocain

P. Göser (München): Möglichkeiten zur statistischen Bewertung von Massenprodukten anhand von Autolackspuren

J. Rott (München): Beispiele für die Anwendung moderner Analytik bei der Untersuchung von polymeren Werkstoffen.

J. Fehn (München): Zur Kasuistik der illegalen Amphetamin - Synthese

Ergebnisse einer Umfrage zur Situation der klinisch-toxikologischen Analytik an Instituten/Abteilungen für Rechtsmedizin in der Bundesrepublik Deutschland

Th. Daldrup und W. Böhmer

Institut für Rechtsmedizin, Heinrich-Heine-Universität, W-4000 Düsseldorf

Einleitung

Nachdem 1989 eine Untersuchung über den Stand der klinisch-toxikologischen Analytik an Krankenhäusern¹⁾ sowie Chemischen Untersuchungsämtern²⁾ stattgefunden hatte, wurde nun Mitte 1991 allen Instituten bzw. Abteilungen für Rechtsmedizin in der Bundesrepublik Deutschland ein Fragebogen zur Untersuchung des Standes der klinisch-toxikologischen Analytik zugesandt. Angemerkt werden muß hierbei, daß einige Institute in den neuen Bundesländern mittlerweile nicht mehr existieren. Nach nochmaliger Anforderung der beantworteten Fragebögen Anfang 1992 sollen nun die bis jetzt vorliegenden Ergebnisse dieser Umfrage hier kurz vorgestellt und erläutert werden.

Fragestellung

Nach der einleitenden Frage, ob in den entsprechenden Instituten/Abteilungen überhaupt klinisch-toxikologische Untersuchungen durchgeführt werden, sollte angegeben werden, von welchen Stellen die Untersuchungsmaterialien zugesandt werden und, auf eine weitere Frage, ob alle Untersuchungen im Hause selbst durchgeführt werden (Tab. 1). Falls dies nicht der Fall ist, sollte angegeben werden, welche Analysen außer Haus bearbeitet werden. Desweiteren sollte genannt werden, wieviele Referenzsubstanzen von welcher Art vorhanden sind und ob ad hoc neue Methoden zur Untersuchung entwickelt werden (Tab. 1). Außerdem ist nach den benützten Methoden in Abhängigkeit von den zu untersuchenden Substanzen (Tab. 2) und von der Art des Probenmaterials (Tab. 3) gefragt worden. Zuletzt sollte noch angeführt werden, welche Substanzen quantitativ bestimmt werden können (Tab. 2).

Ergebnisse

In Tabelle 1 werden die angeschriebenen Institute/Abteilungen zusammen mit der nach Substanzklassen geordneten Angabe der Anzahl der Referenzsubstanzen genannt (Zahlenwerte zwischen zwei Spalten bedeuten, daß hier für zwei Substanzklassen nur eine Gesamtzahl angegeben wurde). Desweiteren finden sich hier Daten, ob Untersuchungen in Rufbereitschaft bzw. im Dienst rund um die Uhr durchgeführt werden und ob ad hoc neue Methoden entwickelt werden. Alle diese Daten lassen einen Rückschluß darauf zu, wie schnell gegebenenfalls mit einer Problemlösung zu rechnen ist, da diese von den Dienstzeiten und nicht unwesentlich von der Verfügbarkeit von Referenzsubstanzen und von einer ad-hoc-Methodenentwicklung abhängt. Zuletzt ist in dieser Tabelle auch noch

notiert, ob von der entsprechenden Einrichtung eine Antwort auf den Fragebogen eingegangen ist, da einige Institutionen ohne Angabe von Daten bzw. überhaupt nicht geantwortet haben, in der Tabelle aber alle genannt sind. Die nächste Tabelle (Tab.2) zeigt, wie oft welche Methode für welche Substanzen angegeben worden ist. Hierbei muß folgendes erwähnt werden:

- 1) Die Wertung erfolgte auch, wenn nur eine Substanz einer Substanzklasse angegeben worden ist.
- 2) Die in der Legende erwähnte IR-Spektroskopie erscheint in der Tabelle nicht, da sie, obwohl bei den durchgeführten Methoden angegeben, kein einziges Mal genannt wird.
- 3) Mit Arzneimittel sind alle übrigen nicht von den anderen Substanzklassen erfassten Stoffe gemeint.
- 4) Bei der Nennung der quantitativ bestimmbaren Substanzen ist in vielen Fällen offensichtlich die Erwähnung des Ethanol vergessen worden.
- 5) Die Unterscheidung zwischen qualitativen und quantitativen Methoden war nicht immer eindeutig erkennbar.

Die letzte Tabelle (Tab. 3) gibt an, wie oft welche Methoden für welches Probenmaterial genannt wird. Hierbei wird auch die IR-Spektroskopie erwähnt.

Referenzen

- 1) M. Geldmacher-von Mallinckrodt, W.G. Guder; Dt. Ges. f. Klin. Chemie e.V. - Mitteilungen 3/89, S. 92 - 104
- 2) M. Geldmacher-von Mallinckrodt, persönliche Mitteilung

Tabelle 1: Auflistung der einzelnen Institute mit Daten zur klinisch-toxikologischen Analytik

Land/Institut	Med	BTM	Pest	Lsm	Met	Sons	Ruf	adho	selb	Ant
Baden-Württemberg										
Institut für Rechtsmedizin, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. B.										-
Institut für Rechtsmedizin, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg	350	50	35	40	12	50	-	+	+	+
Institut für Gerichtliche Medizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen										-
Abteilung Rechtsmedizin im Klinikum der Universität Ulm	100	27	5	10	4		-	+	+	+
Bayern										
Institut für Rechtsmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg	350	70	130	40			-	+	+	+
Institut für Rechtsmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München	400	40	8	20	10		+	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg										-
Berlin										
Institut für Gerichtliche Medizin, Charite' der Humboldt-Universität	700	60	50	alle	alle		+	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin, Freie Universität Berlin										+
Brandenburg										
Institut für Gerichtliche Medizin des Bezirks Frankfurt (Oder)	200	25	20	65				+		+
Institut für Gerichtliche Medizin, Potsdam										+
Institut für Gerichtliche Medizin, Bad Saarow										+
Hamburg										
Institut für Rechtsmedizin, Universität Hamburg	400	65	132	30	5	51	+	+	-	+

Abkürzungen:

Med = Arzneimittel Met = Schwermetalle selv = alle Analysen werden im Haus durchgeführt
 BTM = Betäubungsmittel Sons = Sonstige Substanzen Ant = Antwort auf Rundfrage ist eingegangen
 Pest = Pestizide Ruf = Rufbereitschaft - = nein
 Lsm = Lösungsmittel adho = ad-hoc-Methodenentwicklung + = ja

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Land/Institut	Med	BTM	Pest	Lsm	Met	Sons	Ruf	adho	selb	Ant
Hessen										
Zentrum der Rechtsmedizin, Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/Main	150	10	5	30	19	-	+	+	+	+
Institut für Rechtsmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen	2000	95	195	50	+	+	+	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin, Philipps-Universität Marburg										-
Mecklenburg-Vorpommern										
Institut für Gerichtliche Medizin, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald	100	25	30	10	20	-	+	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin der Universität Rostock	500	30	40	250	alle	+	+	+	-	+
Institut für Gerichtliche Medizin, Schwerin										+
Niedersachsen										
Institut für Rechtsmedizin, Georg-August-Universität Göttingen										-
Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Hochschule Hannover										-
Nordrhein-Westfalen										
Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Fakultät der RWTH Aachen										-
Institut für Rechtsmedizin, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn	400	30	17	30	6	12	-	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf	1250	100	300	55	15		-	+	-	+
Institut für Rechtsmedizin, Gesamthochschule Essen										+
Institut für Rechtsmedizin, Universität zu Köln am Rhein	400		112	63	22		+	+	+	+
Institut für Rechtsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster	350	30	30	15			-	+	-	+
Rheinland-Pfalz										
Institut für Rechtsmedizin, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz										-

Abkürzungen:

Med = Arzneimittel Met = Schwermetalle selv = alle Analysen werden im Haus durchgeführt
 BTM = Betäubungsmittel Sons = Sonstige Substanzen Ant = Antwort auf Rundfrage ist eingegangen
 Pest = Pestizide Ruf = Rufbereitschaft - = nein
 Lsm = Lösungsmittel adho = ad-hoc-Methodenentwicklung + = ja

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Land/Institut	Med	BTM	Pest	Lsm	Met	Sons	Ruf	adho	selb	Ant
Saarland										
Institut für Rechtsmedizin, Universität des Saarlandes Homburg/Saar	400	25	450	50	+	130	+	+	-	+
Sachsen										
Institut für Gerichtliche Medizin, Chemnitz	200	50	15	20	10	5	+	+	-	+
Institut für Gerichtliche Medizin, Medizinische Akademie Dresden										-
Institut für Gerichtliche Medizin, Universität Leipzig	600	50	80	100		540	-	+	-	+
Sachsen-Anhalt										
Institut für Gerichtliche Medizin, Martin-Luther-Universität Halle	400	50	30	30			+	-	-	+
Institut für Gerichtliche Medizin, Medizinische Akademie Magdeburg	300	9	30				+	+	-	+
Schleswig-Holstein										
Abteilung Rechtsmedizin, Christian-Albrechts-Universität Kiel	280	24	19	40			-	+	+	+
Institut für Rechtsmedizin, Medizinische Universität Lübeck										+
Thüringen										
Institut für Gerichtliche Medizin, Medizinische Akademie Erfurt	231	11	22			20	+	+	-	+
Institut für Gerichtliche Medizin am Bezirkskrankenhaus Gera										+
Institut für Gerichtliche Medizin, Friedrich-Schiller-Universität Jena	50	15	1	30			+	+	-	+
Institut für Gerichtliche Medizin, Suhl	750	15	15	30			+	-	-	+

Abkürzungen:

Med = Arzneimittel	Met = Schwermetalle	selb = alle Analysen werden im Haus durchgeführt
BTM = Betäubungsmittel	Sons = Sonstige Substanzen	Ant = Antwort auf Rundfrage ist eingegangen
Pest = Pestizide	Ruf = Rufbereitschaft	- = nein
Lsm = Lösungsmittel	adho = ad-hoc-Methodenentwicklung	+ = ja

Tabelle 2

	Q	E	R	P	D	G	H	M	U	A	V	S	QB
Alkohole				1		12						2	15
Amphetamine		3			1	1	1		1				1
Arzneimittel		1	1	2	7	7	9	3	6			1	13
Barbiturate		5	2	1	6	2	7	2	5				15
Benzodiazepine		5	5		6	5	7	3	2				17
Cannabinoide		9	1		4	4	2	4	3				9
Cocain		6			3	2	3	1	1				3
CO-Hb				12				1	4			1	14
Cyanid	1	2		8		1	1		4		2	1	12
Lösungsmittel						14		2					8
Met-Hb				6				1	3				9
Opiate		10	3		8	8	6	9	4				14
Pestizide					7	10	5	4	3				5
Schwermetalle				2					1	6	3	1	11

Abkürzungen für Methoden:

Q = Schnelltest (chemisch)

E = Immunologischer Schnelltest

R = Quantitativer immunologischer Test

P = Photometrischer Test, quantitativ

I = IR-spektroskopisch

D = Dünnschichtchromatographie

G = Gaschromatographie

H = HPLC

M = Massenspektrometrie

U = UV/VIS-Spektroskopie (DAD, Densitometrie)

A = Atomabsorptionsspektrometrie

V = Voltammetrie/elektrochem. Verfahren

S = Sonstige

QB = Quantitative Bestimmung möglich

Tabelle 2: Anzahl der Nennungen von Methoden zur Bestimmung von Substanzen

Tabelle 3

	Q	E	R	P	I	D	G	H	M	U	A	V	S
R	8	3	2	4	4	19	20	11	14	14	1	3	1
M	8	3	2	6	4	22	19	15	14	16	3	2	2
B	6	9	6	11	2	11	21	15	13	14	5	2	4
P	7	12	15	11	2	9	20	18	13	13	2	2	1
H	12	22	8	10	2	19	21	16	14	15	5	6	2
G	1			1		8	9	6	6	5	3	1	
S	3	2	2		1	5	8	3	7	3			

Abkürzungen für Methoden:

Q = Schnelltest (chemisch)

E = Immunologischer Schnelltest

R = Quantitativer immunologischer Test

P = Photometrischer Test, quantitativ

i = IR-spektroskopisch

D = Dünnschichtchromatographie

G = Gaschromatographie

H = HPLC

M = Massenspektrometrie

U = UV/VIS-Spektroskopie (DAD, Densitometrie)

A = Atomabsorptionsspektrometrie

V = Voltammetrie/elektrochem. Verfahren

S = Sonstige

Abkürzungen für zu untersuchende Materialien:

R = Giftreste

M = Mageninhalt

B = Blut

P = Plasma/Serum

H = Harn

G = Gewebe (Biopsie)

S = Sonstiges

Tabelle 3: Anzahl der Nennungen welche Methoden auf welches Material angewandt werden

Opiat-Nachweis in Haar-Extrakten mit Hilfe von GC/MS/MS und Supercritical Fluid Extraktion (SFE).

H. Sachs¹, M. Uhl²

¹Institut für Rechtsmedizin, 7900 Ulm, ²Bayerisches Landeskriminalamt, 8000 München

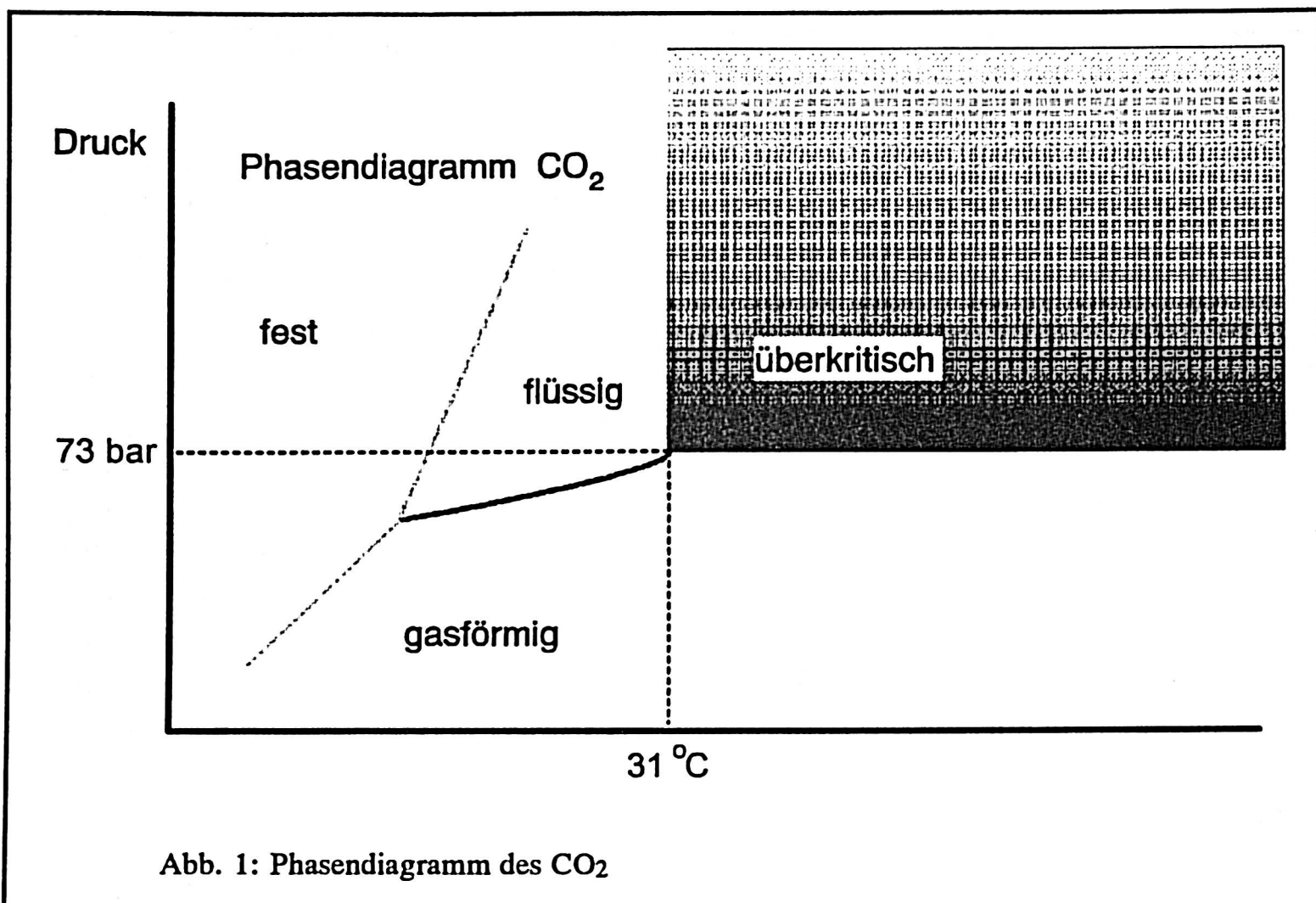
Workshop der GTFCh, 8.-9.Okt.1992, München

Einleitung

Die Extraktion mit überkritischen Flüssigkeiten bietet sich aus theoretischen Gründen bei der Trennung unpolarer Substanzen aus fester Matrix an. Sie wird im Bereich der Umweltanalytik bereits zur Aufarbeitung von Bodenproben eingesetzt. Im Bereich der forensischen Toxikologie scheint sie maßgeschneidert für die Extraktion von Medikamentenwirkstoffen und Betäubungsmitteln aus Haaren zu sein. Wir gehen davon aus, daß alle Wirkstoffe, die sich in einem GC-Verfahren über eine Säule mit einer Methyl- oder Phenyl-Methyl-Silicon-Phase analysieren lassen, auch mit überkritischem CO₂ zu extrahieren sind. Die SFE bietet den Vorteil einer hohen Extraktionsgeschwindigkeit, weil im Gegensatz zu anderen Verfahren nur Minuten benötigt werden. Außerdem kann das Extraktionsverfahren direkt mit einem gaschromatographischen Verfahren gekoppelt werden. Hier eröffnen sich bei einer Automatisierung dieser Methode neue Möglichkeiten in der forensischen Toxikologie. Ein weiterer Vorteil liegt in der Umweltverträglichkeit. Ein Teil der Extraktionen, die mit diesem Verfahren durchgeführt werden können, werden mit den bisherigen Methoden unter Einsatz halogenhaltiger Lösungsmittel durchgeführt.

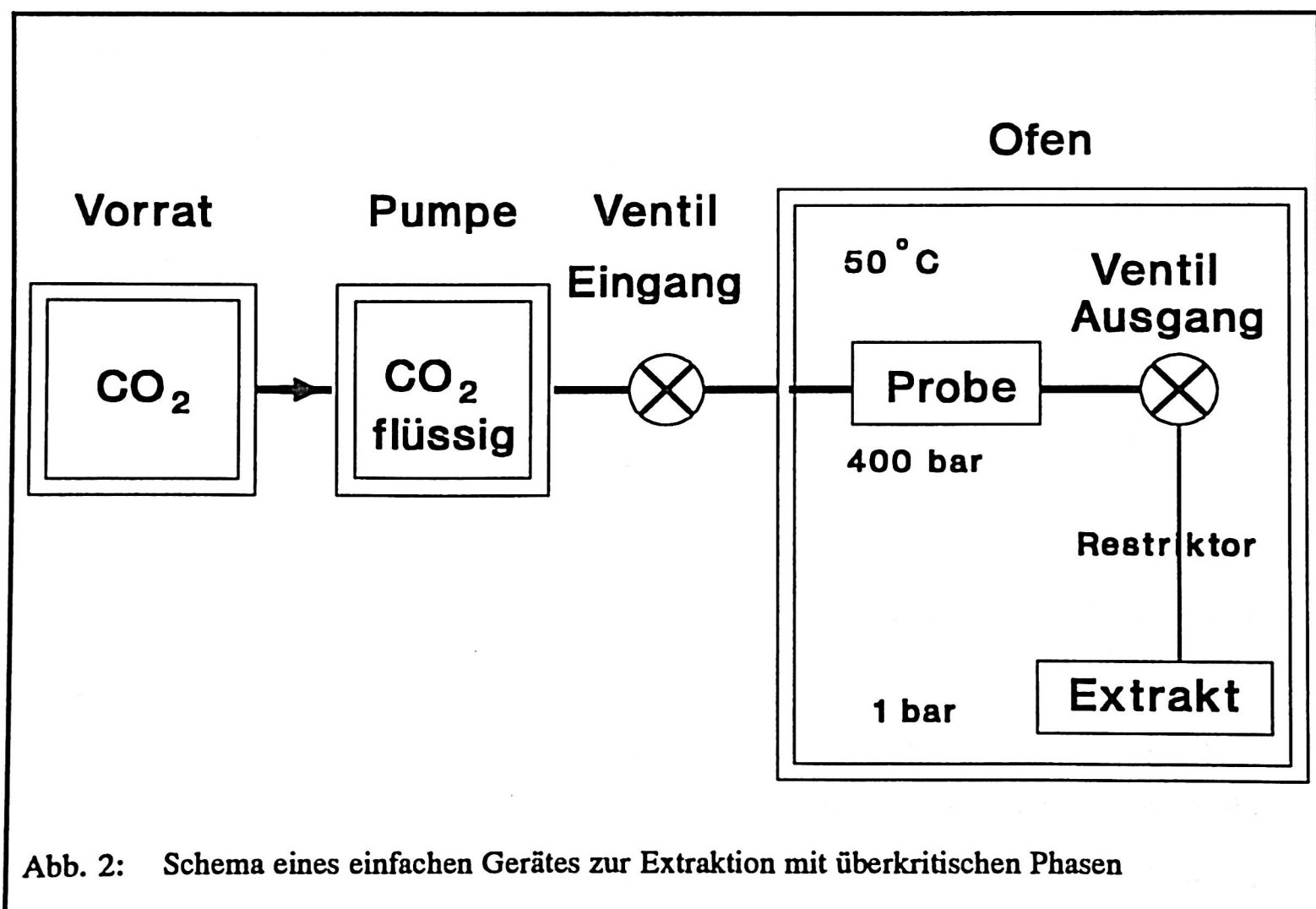
Die Extraktion mit überkritischem CO₂.

In Abb.1 wird das Phasendiagramm des CO₂ dargestellt. Die Trennlinie zwischen Flüssigkeit und Gas ist nicht unendlich, sie endet an einem substanzspezifischen, dem kritischen Punkt. Überschreitet man sowohl die dazugehörige Temperatur als auch den Druck, so ist das CO₂ weder flüssig noch gasförmig, es ist überkritisch. Dieser Zustand unterscheidet sich vom flüssigen dadurch, daß das CO₂ komprimierbar ist. Gleichzeitig zeichnet sich diese Phase durch einen hohen Diffusionskoeffizienten und eine geringe Viskosität im Vergleich zur Flüssigkeit aus. Nach Hildebrandt ist der Löslichkeitsparameter abhängig von der Dichte im überkritischen Zustand. Bei 400 bar und 50 °C hat das CO₂ eine Dichte von 0,96 und bietet sich als Lösungsmittel an, weil kritischer Druck und Temperatur technisch leicht zu erreichen sind. Zudem darf die Phase nicht zu polar sein, weil das Lösungsvermögen überkritischer Phasen so erhöht ist, daß z.B. Glas mit überkritischem Wasser aufgelöst werden kann. Dadurch entstünden Probleme bei der Auswahl der Materialien von Probengefäß, Leitungen und



Dichtungen. CO₂ ist außerdem ungiftig und kann deshalb nach der Extraktion in die Atmosphäre ohne besondere technische Vorkehrungen abgedampft werden.

Der praktische Vorgang ist in Abb. 2 dargestellt. In einer Pumpe befindet sich flüssiges CO₂. Für die Extraktion wird die Verbindung zur Probe geöffnet und das flüssige CO₂ bei hohem Druck auf die Probe gegeben, in der Regel



zwischen 100 und 400 bar. Ist der Ofen auf eine Temperatur über 32 °C eingestellt, wird hier das CO₂ überkritisch.

In dem Gerät SFE 50 der Fa. Suprex ist dies auf besonders einfache Weise verwirklicht. In einem Ofen befindet sich die Kartusche mit der Probe, angeschlossen an eine Pumpe sowie auf der anderen Seite angeschlossen an das Ausgangsventil mit dem Restriktor. Die Kartusche hat in unserem Fall ein Volumen von 150 µl, es gibt aber auch Behälter für mehrere Milliliter. Vor der Extraktion kann der Probe ein sogenannter Modifier beigefügt werden, der die Löslichkeit bestimmter Substanzen verbessert. In unserem Fall liegt es nahe, Methanol oder Essigsäureethylester zu verwenden. Wenn man sich für einen bestimmten Modifier entschieden hat, kann dieser auch gleich von der Lieferfirma in der Flasche oder mit einem Zusatzgerät vor der Pumpe zugemischt werden. Läßt man die überkritische Phase nur durch die Probe strömen, spricht man vom "dynamischen" Verfahren. Wird die Probe zunächst mit der überkritischen Phase für eine bestimmte Zeit zur Elution zusammengeführt, bevor man das CO₂ mit dem Eluat abströmen läßt, so spricht man vom "statischen" Verfahren. Dies ist besonders dann sinnvoll, wenn der Modifier nicht dem CO₂, sondern der Probe zugemischt ist.

Für unsere Fragestellung hat sich vorläufig folgende Prozedur als geeignet herausgestellt:

20 mg Haarpulver werden 20 µl Ethylacetat zugegeben. Der Ofen wird auf 60 °C eingestellt. Die Probe wird statisch 15 Minuten bei 200-300 bar extrahiert, daraufhin 5 Minuten dynamisch ebenfalls bei 200-300 bar. Zum Schluß wird mit CO₂ nachgespült.

Bei der Öffnung des Ausgangsventils wird das Gas auf Atmosphärendruck bei 60 °C expandiert und perlt mit dem Extrakt durch eine Quarzkapillare in ein GC-Gläschen, in dem Ethylacetat vorgelegt ist. Geschickterweise werden die Parameter Ofentemperatur und Zeit, so gewählt, daß am Ende der

EXTRAKTION	DERIVATISIERUNG
Methanol (München)	
Puffer/Festphasenextraktion (Homburg/Saar)	HFBA
Enzymatische Auflösung (Ulm) nicht für Cannabinoide	PFPA
Auflösung mit NaOH nicht für Cannabinoide, Cocain	PFPOH
SFE	

Tab. 1: Liste erprobter Methoden

Ethylester vollständig verdampft ist und die Probe zur Derivatisierung bereitsteht.

Im Vergleich zu den Methoden, die uns bisher zur Verfügung standen (Tab.1), zeichnet sich diese durch eine hohe Geschwindigkeit bei geringer Umweltbelastung aus. Allerdings ist sie nur mäßig empfindlich.

Die Tandem-Massenspektrometrie

1. Allgemeines:

Die Idee der Tandem-Massenspektrometrie besteht darin, die Selektivität zu verbessern, die neben der Empfindlichkeit zur Bestimmung von Spurenkomponenten aus komplexen Gemischen benötigt wird. Dieses Ziel soll durch die Kombination zweier Massenspektrometereinheiten erreicht werden. Matrixprobleme, wie sie in biologischem Material auftreten, können demnach weitgehend reduziert werden. Durch die Entwicklung der "Triple-Stage-Quadrupol" (TSQ)-Technologie hat die MS/MS besondere Impulse erhalten und ist zur am häufigsten benutzten GC/MS/MS-Technik geworden.

2. Der Aufbau des Finnigan TSQ 700

Das TSQ-Gerät bietet mehrere Möglichkeiten (parent scan, neutral loss, daughter scan mode), von denen im folgenden nur die hier verwendete (daughter scan mode) skizziert werden soll.

Das Komponentengemisch der Probe gelangt in die Ionenquelle des MS und wird dort ionisiert; aus dem entstandenen Ionengemisch werden die substanzspezifischen Ionen durch entsprechende Einstellung des ersten, massentrennenden Quadrupolsystems (Q1) herausgefiltert (Abb.3).

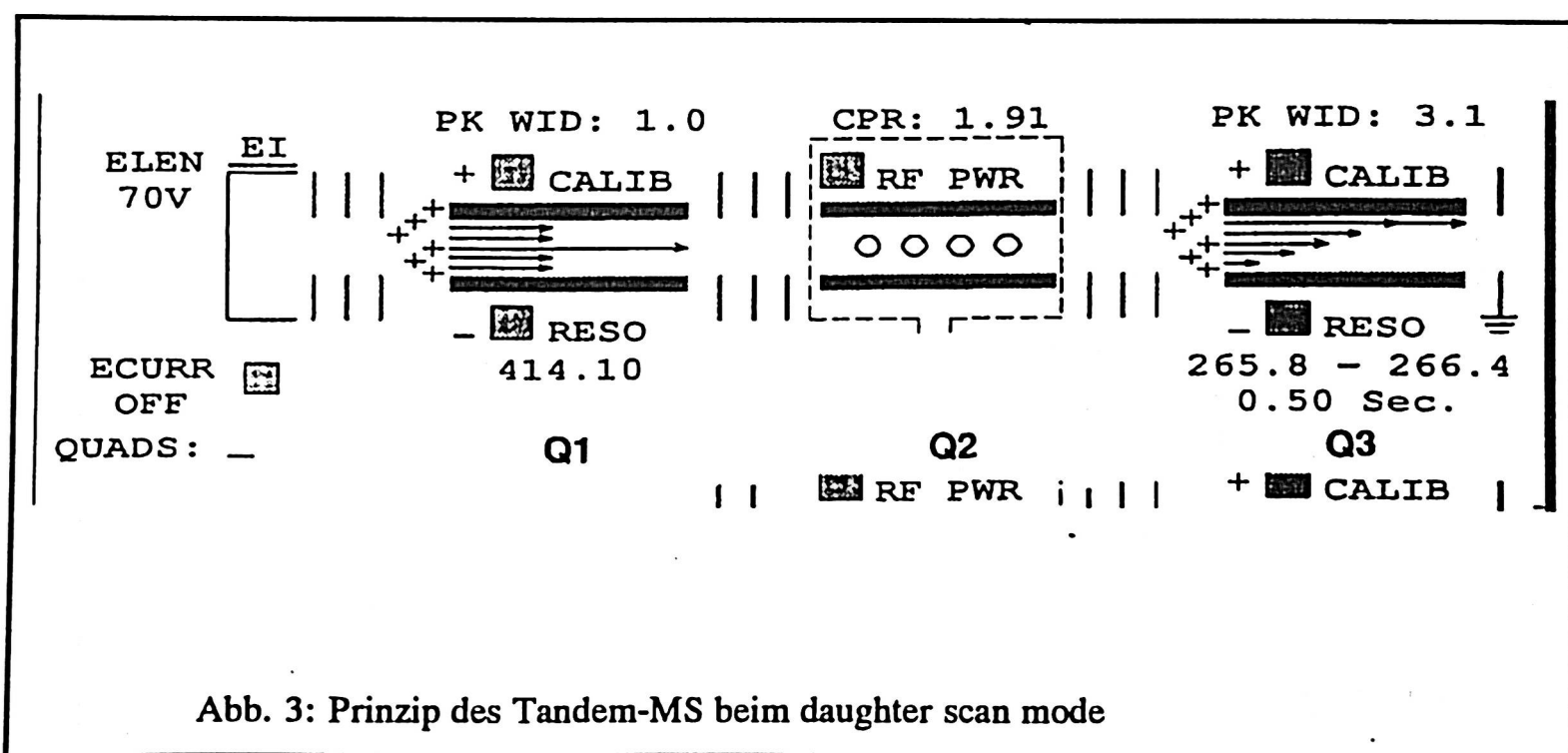


Abb. 3: Prinzip des Tandem-MS beim daughter scan mode

Diese Ionen werden durch ein Linsensystem in die Stoßkammer, d.h. dem zweiten Quadrupol (Q2) geführt. Hier wird (nur) ein Hochfrequenzfeld (RF-only-Mode) an die Quadrupolstäbe angelegt, weswegen diese Stoßregion gute Fokussierungseigenschaften (Verhinderung des Verlustes der Ionen durch Streueffekte), aber keine massentrennende Wirkung hat. Das inerte Gas (Argon) strömt ein, wodurch eine weitere Fragmentierung erzwungen wird (Übertragung eines Teiles der kinetischen Energie der Ionen wird in Anregungsenergie übertragen). Dieser CID (collision induced dissociation) genannte Vorgang ist vergleichbar mit den Prozessen, die in einer Ionenquelle ablaufen. Das resultierende Ionengemisch kann nach Überführung in ein Linsensystem im anschließenden massentrennenden Quadrupol (Q3 bzw. MS2) in ein Massenspektrum aufgetrennt werden. Die kinetische Energie der Ionen und der Stoßgasdruck beeinflussen die Fragmentierung.

Ergebnisse

Bei den Versuchen der einzelnen Gruppen beim Workshop wurden SFE und GC/MS/MS nicht direkt gekoppelt (online SFC), sondern Extraktion, Derivatisierung und GC/MS/MS wurden getrennt durchgeführt. Dabei wurde mit Pentafluorpropionsäureanhydrid (PFPA) derivatisiert, so daß MAM-PFP und Morphin-2PFP neben underivatisiertem Heroin bestimmt werden konnten. Die GC- und MS- Parameter gehen aus Tab.2 hervor. Um die Extraktionsmöglichkeiten zu beschreiben, wurden 3 Versuche mit unterschiedlichen Druckverhältnissen durchgeführt (300, 200 und 100 bar, Abb.4-6).

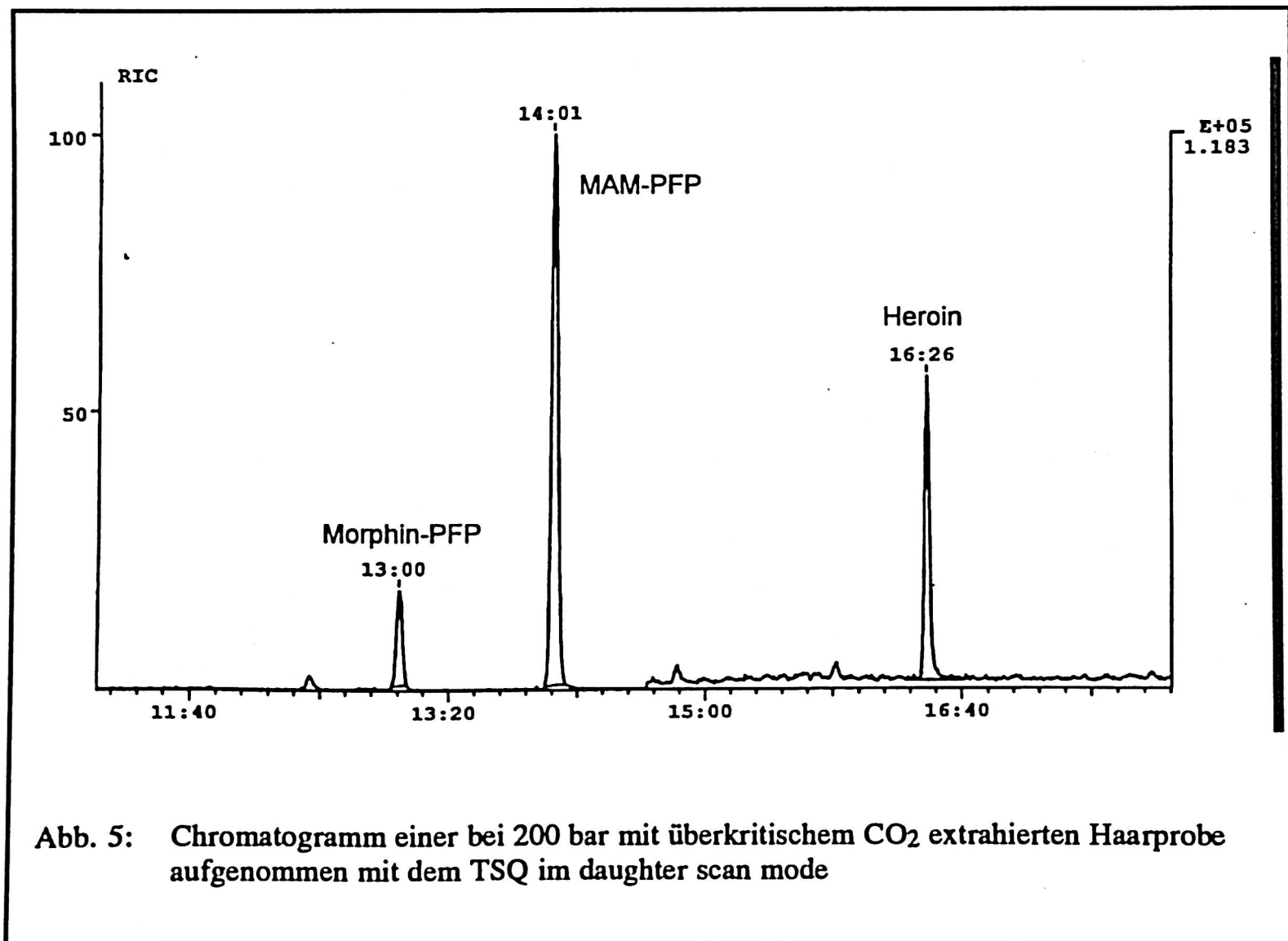
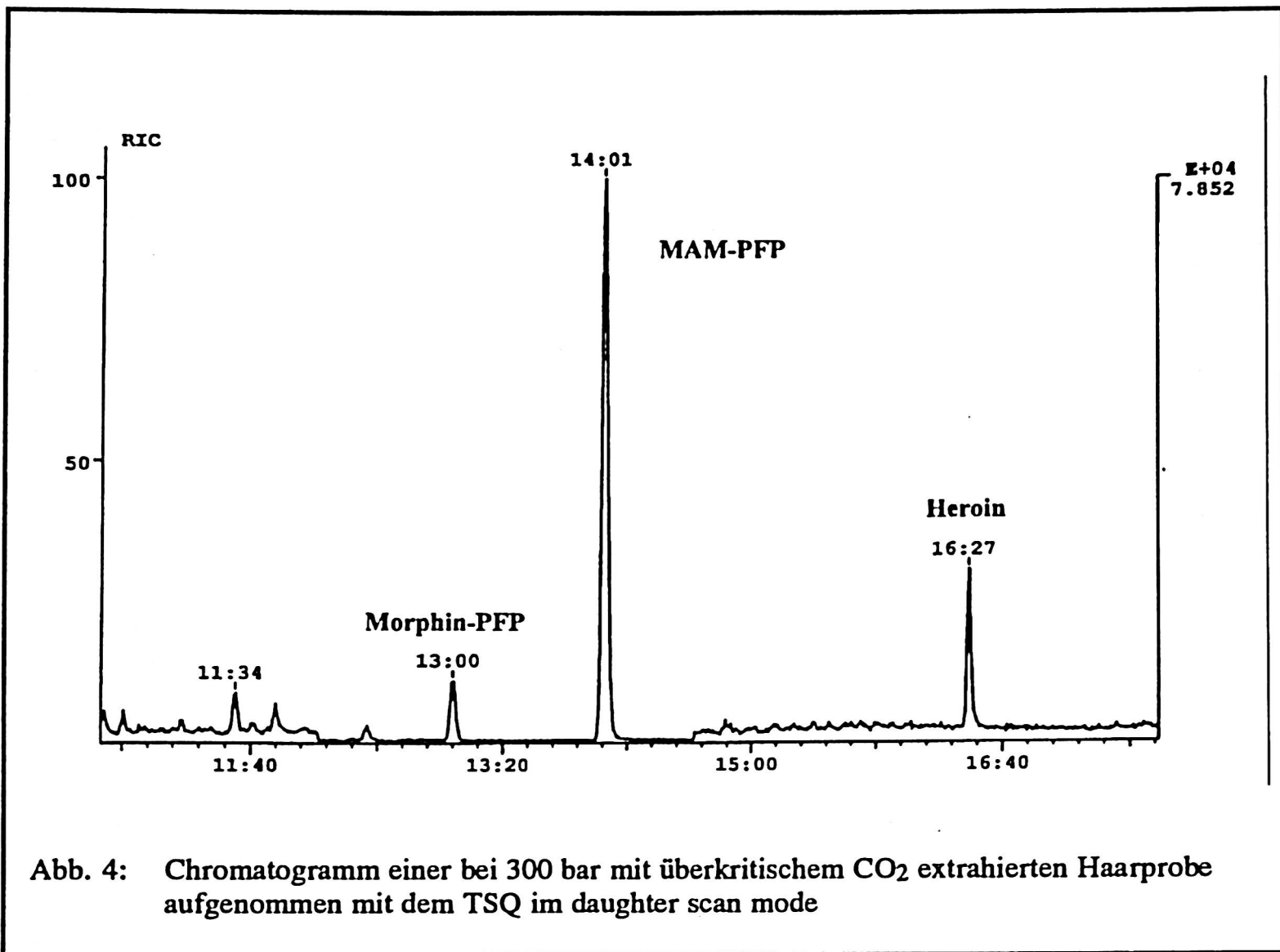
Triple-Stage Quadrupol Massenspektrometer: Finnigan MAT TSQ 700

EI-Mode 70 eV
 Q2: CID-Gas: Ar 2 mbar; -25 eV

Gaschromatograph: Varian 3400

Säule: 30m DB-5, 0.25 µm, ID=0.32 mm;
 Kaltaufgabesystem von Gerstel, splitless,
 Trägergas: 1 ml He/min;
 Temperaturprogramm:
 2 min. 60°,
 25/min von 60-230°,
 5 min 230°,
 25/min 230-280°,
 5 min 280°

Tab. 2: Geräteeinstellung für den Gaschromatographen und das TSQ



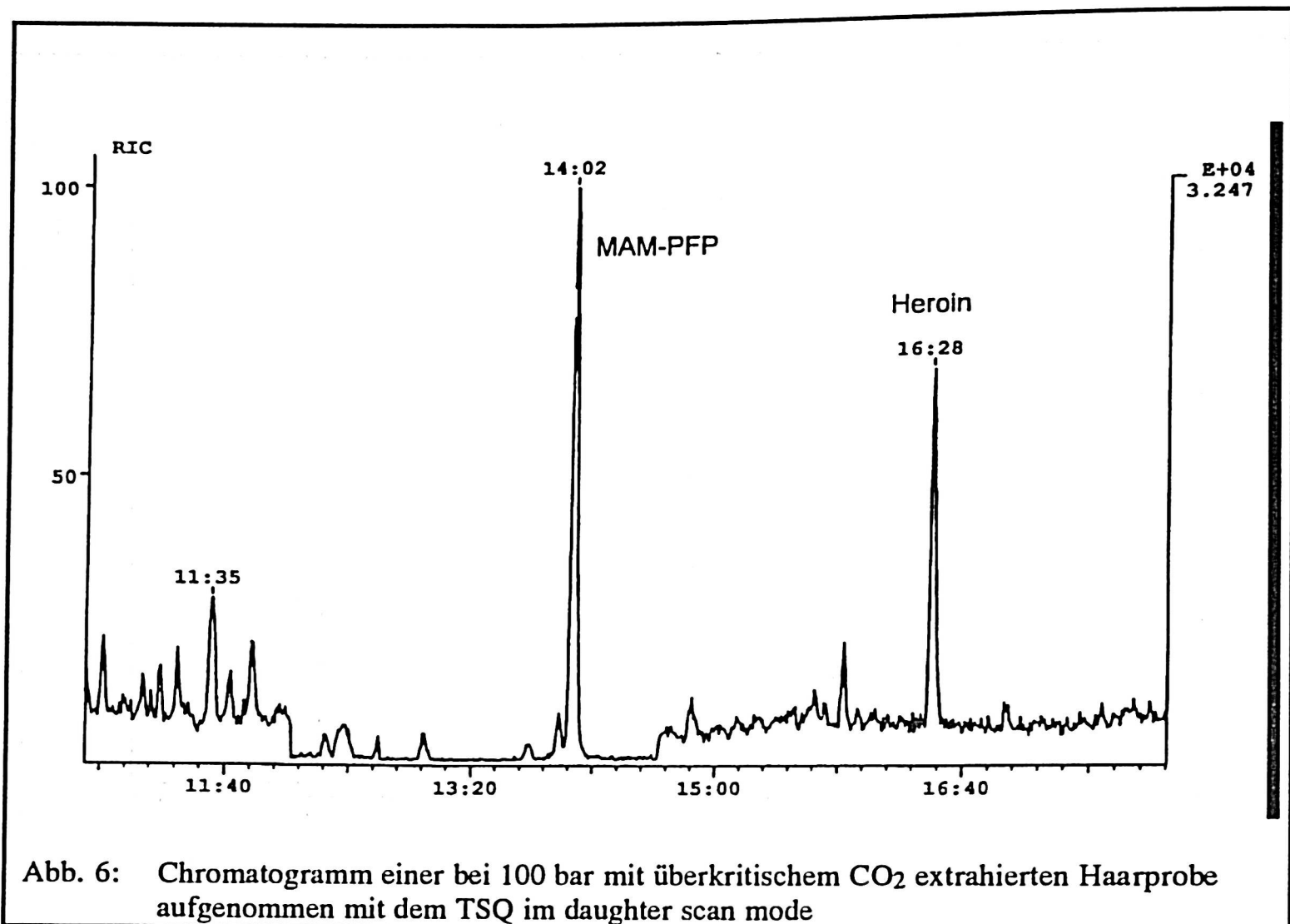


Abb. 6: Chromatogramm einer bei 100 bar mit überkritischem CO₂ extrahierten Haarprobe aufgenommen mit dem TSQ im daughter scan mode

Obwohl keine quantitativen Aussagen möglich sind, erkennt man anhand der Verstärkungen und Grundlinien, daß sich die Extraktionsrate besonders beim Heroin von 300 bar auf 200 bar verbessert (Abb.4 und 5).

Bei 100 bar verschlechtert sich die Extraktionsrate wieder. Dieser Abfall könnte dadurch erklärt werden, daß durch die Beimischung von Ethylacetat der kritische Punkt verschoben wird, so daß nicht mehr eine homogene überkritische Phase vorliegt. Genaue Werte von kritischer Temperatur und kritischem Druck nach Beimengung bestimmter Mengen Ethylacetat liegen nicht vor.

Schlußfolgerungen

Die SFE eignet sich für die Extraktion von Betäubungsmitteln und Medikamenten aus Haaren, nicht zuletzt wegen der hohen Extraktionsgeschwindigkeit. Bei der Verwendung von CO₂ zeichnet sich das Verfahren zusätzlich durch seine Umweltverträglichkeit aus. Da bekannt ist, daß auch die lipophileren Stoffe, wie Heroin, Cocain und THC, direkt in den Haaren abgelagert werden und diese nicht derivatisiert werden müssen, bietet es sich an, die SFE direkt mit der GC/MS/MS zu koppeln. Dabei würde die geringere Extraktionsrate der SFE wieder durch die höhere Selektivität der Tandem-MS-Detektion ausgeglichen.

Vergleichende Heroinanalyse mit der Kapillar-GC:

Bestimmung charakteristischer Kenngrößen

H. Neumann

Bundeskriminalamt Wiesbaden

Workshop der GTFCh, 8.-9. Okt. 1992, München

Für die quantitative Bestimmung der Haupt- und Nebenbestandteile illegaler Heroinproben wird eine Methode mit Silylierung der Proben mit MSTFA (N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoacetamid) und anschließende Analyse mit der Kapillar-GC vorgestellt. Hierbei werden ein üblicher Splitinjektor, eine Kapillarsäule mit Methylsiliconphase und ein Flammenionisationsdetektor (FID) verwendet (1,2).

Die Derivatisierung ermöglicht zum einen eine bessere Auftrennung von Acetylcodein, Acetylmorphin und Morphin sowie die Identifizierung von Verschnittstoffen wie Glucose, Lactose und Mannit. Darüberhinaus werden andere mögliche Probleme bei der gaschromatographischen Heroinanalyse wie Transacetylierung möglicher Inhalts- und Verschnittstoffe, Adsorption und unterschiedlicher Response für Salz und Base vermieden (2).

Mit der Methode können quantitative Ergebnisse für Opiumalkaloide und -derivate, Zusatzstoffe mit Wirkstoffcharakter (Adulterants) und Verschnittstoffe/Inertstoffe (Diluents) in einem Analysenlauf erhalten werden. Auch für die Analyse von Opium- und Rohmorphinproben ist die Methode mit geringen Anpassungen gut geeignet (3).

Für den Vergleich von Heroinproben werden vorteilhaft die Verhältniszahlen aus den Konzentrationen von Diacetylmorphin (inklusive seiner Zersetzungsprodukte Acetylmorphin und Morphin: "Gesamtmorphin") und seiner natürlichen, herstellungsbedingten Begleitstoffe Acetylcodein, Papaverin und Narcotin sowie das Verhältnis Papaverin/Narcotin verwandt, da diese Werte durch nachträglichen Verschnitt mit anderen Stoffen nicht verändert werden (4). Sie sind somit charakteristische Kennzahlen für das Basisheroin. Für weiterführende Untersuchungen bezüglich der organischen Spurenbestandteile von Heroin nach extraktiver Probenvorbereitung hat sich ebenfalls die Kapillar-GC bewährt (5,6).

Geräteparameter und Arbeitsvorschrift

Detektor	FID
Säule	Fused-silica-Säule 25 m x 0.32 mm ID, belegt mit OV-1 CB, Filmdicke 0.2 µm
Trägergas	Helium
Injektionstechnik	Split (Splitverhältnis ca. 1/15)
Flußrate	4.7 ml/min (gemessen bei 150 °C Ofentemperatur)
Make-up Gas	Argon mit ca. 25 ml/min
Betriebstemperaturen	Injektor: 250 °C Detektor: 290 °C Temperaturprogramm für Ofen: 1. Start bei 150 °C 2. Aufheizen mit 9 °C/min bis 280 °C 3. 0.5 min isotherm

Probenvorbereitung:

Zur quantitativen Bestimmung von Diacetylmorphin, Acetylcodein, Monoacetylmorphin, Morphin, Codein, Papaverin und Narcotin, sowie zur Identifizierung weiterer Inhaltsstoffe werden ca. 5 mg einer illegalen Heroinprobe sowie 1 mg Tetracosan eingewogen, mit 1 ml Chloroform und 0,2 ml Pyridin versetzt und nach Zugabe von 0,15 ml MSTFA 10 min bei 70 °C im Sandbad derivatisiert. Nach 1 weiteren Stunde bei Raumtemperatur erfolgt die Injektion von 1 µl der Lösung. Bei Proben, die viel Zucker enthalten, empfiehlt es sich die Lösung vor der Injektion 1 Tag bei Raumtemperatur zu belassen.

Literatur

- (1) M. Gloger & H. Neumann: Analyse von Heroinproben mit der Kapillargaschromatographie. Vergleich von Glaskapillartrennsäule und gepackter Säule. *Forensic Sci. Int.* 22 (1983) 63 - 74.
- (2) H. Neumann: Comments on the Routine Profiling of Illicit Heroin Samples. *Forensic Sci. Int.* 44 (1990) 85 - 87.
- (3) H. Neumann: Analysis of Opium and Crude Morphine Samples by Capillary Gas Chromatography. *J. Chromatogr.* 315 (1984) 404 - 411.
- (4) E. M. Müller, H. Neumann, G. Fritschi, T. Halder & E. Schneider: Vergleichende gaschromatographische Untersuchungen von Heroinproben. *Arch. Kriminol.* 173 (1984) 29 - 35.
- (5) H. Neumann & M. Gloger: Profiling of Illicit Heroin Samples by High-Resolution Capillary Gas Chromatography for Forensic Application. *Chromatographia* 16 (1982) 261 - 264.
- (6) A. C. Allen, D. A. Cooper, J. M. Moore, M. Gloger & H. Neumann: Illicit Heroin Manufacturing Byproducts: Capillary Gas Chromatographic Determination and Structural Elucidation of Narcotine- and Norlaudanosine-Related Compounds. *Anal. Chem.* 56 (1984) 2940 - 2947.

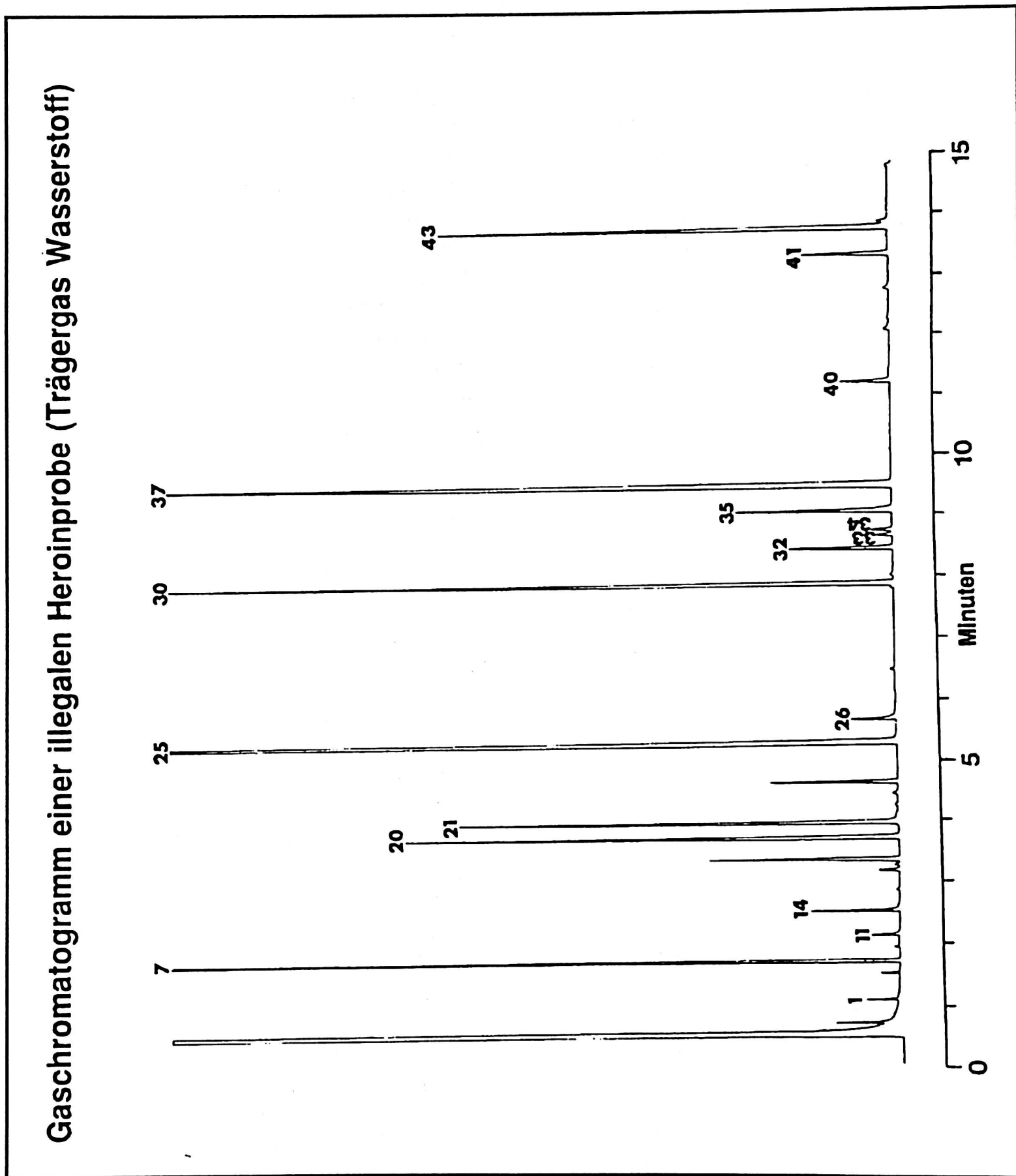
Inhaltsstoffe illegaler Heroinproben

Relative Retentionszeiten bezogen auf Tetracosan

Proben derivatisiert mit MSTFA

Peak	RRT	Name
1	0.142	Nicotinamid
2	0.162	Glycin
3	0.193	Salicylsäure
4	0.193	Acetylsalicylsäure
5	0.198	Phenacetin
6	0.208	Barbital
7	0.237	Paracetamol
8	0.243	Weinsäure
9	0.253	Phthalsäure
10	0.258	Allobarbital
11	0.264	Meconin
12	0.277	Salicylamid
13	0.305	Lidocain
14	0.329	Coffein
15	0.357	Antipyrin
16	0.389	Phenazon
17	0.392	Citronensäure
18	0.412	Theophyllin
19	0.413	Fructose*
20	0.497	Glucose*
21	0.498	Phenobarbital
22	0.541	Ascorbinsäure
23	0.557	Mannit/Sorbit*
24	0.594	Aminophenazon
25	0.651	Methaqualon
26	0.713	N-Phenyl-2-naphthylamin
27	0.750	Cocain
28	0.774	Procain
29	0.781	Bisphenol-A*
30	1.000	TETRACOSAN (I. S.)
31	1.016	Codein
32	1.063	Acetylcodein
33	1.086	Acetylthebaol
34	1.104	Morphin
35	1.145	6-O-Acetylmorphin
36	1.147	3-O-Acetylmorphin
37	1.188	Diacetylmorphin
38	1.215	Chinin
39	1.350	Lactose/Saccharose*
40	1.394	Papaverin
41	1.640	Phenolphthalein
42	1.644	Strychnin
43	1.688	Narcotin

* Hauptpeak



Standardisierte Methoden für die dringliche klinisch-toxikologische Analytik: 4. Mitteilung

Hochleistungsflüssigchromatographie

H.-G. Eigendorf, R. Budde, H. König, G. Möschwitzer, R. Scholz

Eingegangen am 21.10.91

Prinzip

Toxikologisch relevante Arzneistoffe werden aus Extraktionsrückständen bzw. feststoff- und weitgehend eiweißfreien Lösungen von Körperflüssigkeiten mittels Umkehrphasen - Hochleistungsflüssigchromatografie isochratisch isoliert und UV-spektrofotometrisch detektiert. Die Signalidentifizierung erfolgt durch Ermittlung der relativen Retentionen (r_x/M_{ppH}) gegenüber der Bezugssubstanz 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenylhydantion (MPPH).

Untersuchungs- und Prüfmaterial

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

Prüflösungen

a) Das Prüfmaterial wird, wie unter "Extraktion aus Körperflüssigkeiten" angegeben, behandelt. Die Extraktionsrückstände oder Teile davon werden in je 100 μ l Fluidphase I bzw. II (je nach chromatografischen Bedingungen) gelöst und als Prüflösungen verwendet.

b) Die durch Zentrifugation oder Filtration von Magenspülflüssigkeit oder Mageninhalt erhaltene klare Flüssigkeit wird direkt oder nach Verdünnung mit Fluidphase I bzw. II als Prüflösung verwendet.

c) In Abhängigkeit von der zur Verfügung stehenden Materialmenge und der zeitlichen Situation (akute Intoxikationen) kann auch wie folgt verfahren werden:

saure Extraktion

500 μ l Prüfmaterial werden in einen Eppendorfbecher (1,5 ml) pipettiert, mit 100 μ l Schwefelsäure (1 mol/l) und 400 μ l Methylphenylphenylhydantoin-RL* versetzt und 2 min. kräftig geschüttelt. Anschließend wird mit einer Hämatokritzentrifuge (Eppendorf-Rotor) 2 min zentrifugiert.

Es werden 200 μ l der organischen Phase entnommen, in einem zweiten Eppendorfbecher (1,5 ml) übergeführt und nach Zugabe von 10 μ l Salzsäure (2 mol/l) durch Einblasen von Stickstoff bei Raumtemperatur zur Trocknung ge-

bracht. Der Rückstand wird in 100 µl Fluidphase I bzw. II gelöst und als Prüflösung verwendet.

basische Extraktion

500 µl Prüfmateriale werden in einem Eppendorfbeker (1,5 ml) pipettiert, mit 100 µl Tris-Puffer II und 400 µl Methylphenylphenylhydantoin-RL** versetzt und wie unter "saure Extraktion" angegeben, weiterbehandelt.

Ausführung

Mittels Schleifendosiergerät werden 20 µl Prüflösung in den Chromatografen injiziert und die Detektorsignale über einen Zeitraum von mindestens der 3fachen Retentionszeit des Methylphenylphenylhydantoin registriert. In einem vor- oder nachgestellten Run, mindestens jedoch einmal in der Serie wird durch Injektion von 20 µl Natriumnitrat-RL* bzw. Natriumnitrat-RL** die "Mobilzeit" t_m des Trennsystems ermittelt. Die Gesamtretentionszeit von MPPH in Fluidphase I bzw. Fluidphase II wird durch Injektion von jeweils 20 µl MPPH-Fluidphase-I-RL bzw. MPPH-Fluidphase-II-RL vor oder nach der Prüflösung (nach a, b oder c hergestellt) gemessen.

Chromatografische Bedingungen

Trennsäule

Glassäule CGC 150 mm x 3,2 mm oder Glassäule 150 mm x 4,0 mm (Innenmaße) in Verbindung mit einer Vorsäule bis 30 mm Länge oder ähnlich dimensionierte Glas- bzw. Stahlsäulen.

Säulenfüllung: Kiesgel Si 100 RP-C18 sphärisch, (Encapharm RP-18), Körngröße ca. 7 µm bis 8 µm.

Fluidphasen

Die nachfolgend angeführten Fluidphasen repräsentieren in Kombination mit der RP-C18-Trennphase zwei unabhängige Trennsysteme, die wahlweise verwendet werden können.

Fluidphase I: Acetonitril-Phosphat-Puffer XV (200/340) (V/V)

Fluidphase II: Methanol/Essigsäure (500 mmol/l)/

Ammoniumacetat (500 mmol/l)

(105/60/10) (V/V/V)

Der Fluß der Fluidphasen ist in Abhängigkeit von der Säulengeometrie so zu regeln, daß sich für MPPH Gesamtretentionszeiten von 4 bis 7 min ergeben.

Säule

Temperatur: 22 °C ± 3 K

Detektion

254 nm UV-Detektor oder Detektor mit höherer Leistungsfähigkeit

Probengabe

Volumen: 20 µl

Systemkontrolle:

Zur Kontrolle der Stabilität des Trennsystems wird täglich eine Test-RL chromatografiert. Nach Ermittlung der "Mobilzeit" durch Injektion von Natriumnitrat-RL* bzw. Natriumnitrat-RL** werden die errechneten relativen Retentionen der Testsubstanzen der Test-RL gegenüber MPPH mit den Sollwerten der Datenliste (siehe Tabelle) verglichen. Abweichungen über 7 % sind nicht erlaubt und erfordern eine Überprüfung des Systems.

Berechnung und Auswertung

Aus den Gesamtretentionszeiten $t_R(x)$ der zu identifizierenden Arzneistoffe und des Standards MPPH werden die relativen Retentionen nach folgender Formel berechnet

$$r_{x/MPPH} = \frac{t_R(x) - t_m}{t_R(MPPH) - t_m}$$

$t_R(x)$	= Gesamtretentionszeit des zu identifizierenden Arzneistoffs
$t_R(MPPH)$	= Gesamtretentionszeit des Standards MPPH
t_m	= Gesamtretentionszeit von Natriumnitrat-RL* bzw. Natriumnitrat-RL** ("Mobilzeit")

und durch Vergleich mit der Datenliste (siehe Tabelle) in Frage kommenden Arzneistoffen zugeordnet. Bei relativen Retentionen zwischen 0,10 und 0,20 wird ein Suchfenster von $\pm 10\%$, ab 0,21 von $\pm 7\%$ zugelassen. Relative Retentionen $< 0,1$ können nur bedingt zugeordnet werden (siehe Hinweise).

Hinweise

1. In speziellen Fällen kann als Prüfmaterial auch Erbrochenes oder Reste von Trinkflüssigkeiten verwendet werden.
2. Beim Aufnehmen der Extraktionsrückstände in der Fluidphase können unlösliche Partikel verbleiben. In diesem Fall muß nochmals zentrifugiert werden und die Prüflösung vorsichtig aus dem Oberstand entnommen werden.
3. Die Fluidphase ist vor dem chromatografischen Prozeß gründlich zu entgasen, am besten durch Hindurchströmen von Helium in einer Frittenflasche.

4. Bei Meßwellenlängen < 230 nm sind Lösungsmittel höherer Reinheit (HPLC-grade, UV-Qualität) zu verwenden.

5. Die Zuordnung von relativen Retentionen $< 0,10$ ist wegen des größeren Fehlers und häufiger Matrixstörungen oft erschwert und nicht möglich. Zum Ausschluß oder zur Identifizierung von Arzneistoffen in diesem Elutionsbereich ist die Untersuchung im zweiten, gegebenenfalls in einem dritten nichtkorrelativen Trennsystem erforderlich.

6. Zur Gewährleistung der laborexternen Vergleichbarkeit von relativen Retentionen sind RP-C18-Chargen zu verwenden, die der Leitcharge 356/3570388 (ZIOC 1988) in der Herstellung und den Eigenschaften entsprechen. Es ist nicht auszuschließen, daß chargenabhängige geringe Differenzen der relativen Retentionen auftreten, sie müssen gegebenenfalls durch laborinterne Korrekturen der Datei berücksichtigt werden.

7. Kurzfristige Wechsel der Fluidphase auf einer Trennsäule sind zu vermeiden. Sie wirken sich negativ auf die Stabilität der Retentionsdaten aus. Insbesondere bei Einsatz der Fluidphase II nach Fluidphase I - Zwischenspülung mit Wasser - ist eine mehrstündige Säulenkonditionierung erforderlich, bevor wieder tabellengerechte Werte gemessen werden können.

	Reagenzien	
Acetonitril C ₂ H ₃ N (41,05)		p.a.
Ammoniumacetat C ₂ H ₇ N ₂ (77,08)		puriss.
Ammoniumacetatlösung (500 mmol/l) 38,54 g/l		
Chloroform CH ₃ Cl (119,4)		puriss.
Diazepam 7-Chlor-2,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin-2-on C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ (284,7)		AB-DDR
Essigsäure, konzentrierte C ₂ H ₄ O ₂ (60,05) Gehalt mindestens 99 % C ₂ H ₄ O ₂ Gehalt mindestens 17,4 mol C ₂ H ₄ O ₂ /l		puriss. TGL 34713
Essigsäure (500 mmol/l) 28,75 ml konzentrierte Essigsäure werden mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.		
Ethanol Gehalt 96 Vol.-% C ₂ H ₆ O (46,07)		puriss.
Fluidphase I 200 Volumenteile Acetonitril und 340 Volumenteile Phosphat-Puffer XV werden gemischt.		
Fluidphase II 105 Volumenteile Methanol, 60 Volumenteile Essigsäure (500 mmol/l) und 10 Volumenteile Ammoniumacetatlösung (500 mmol/l) werden gemischt		

Imipraminhydrochlorid 5-(3-Dimethylaminopropyl)-10,11-dihydro-SH-dibenz-(b.f)-azepin-hydrochlorid (C ₁₉ H ₂₄ N ₂) HCl (316,9)	AB-DDR
Kalium-dihydrogen-phosphat KH ₂ PO ₄ (136,1)	Puffersubstanz nach SÖRENSEN oder puriss.
Säulenfüllung für die Hochdruckflüssigkeitschromatografie	
Kieselgel Si 100-RP-C18,7 µm sphärisch Charge 356/3570388 bzw. eigenschaftsgleiche Chargen	Zentralinstitut für Organische Chemie der Akademie der Wissenschaften puriss.
Methanol CH ₄ O (32,04)	
Methylenchlorid Dichlormethan CH ₂ Cl ₂ (84,93)	puriss.
5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin (MPPH) C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ (266,3)	puriss. Serva
Methylphenylphenylhydantoin-RL* 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 94 µmol/l 25,0 mg 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin werden in Chloroform zu 1,000 l gelöst.	
Methylphenylphenylhydantoin-RL** 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 188 µmol/l 50,0 mg 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin werden in Methylenchlorid zu 1,000 l gelöst.	
(MPPH-Fluidphase-I-RL) Methylphenylphenylhydantoin-Fluidphase-I-RL 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 188 µmol/l 50,0 mg 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin werden in Fluidphase I zu 1,000 l gelöst.	
(MPPH-Fluidphase-II-RL) Methylphenyl phenylhydantoin-Fluidphase-II-RL 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 188 µmol/l 50,0 mg 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin werden in Fluidphase II zu 1,000 l gelöst.	
MPPH-Fluidphase-I-RL MPPH-Fluidphase-II-RL Als MPPH-Fluidphase-I-RL bzw. MPPH-Fluidphase-II-RL sind zu verwenden: Methylphenylphenylhydantoin-Fluidphase-I-RL bzw. Methylphenylphenylhydantoin-Fluidphase-II-RL	
Natriumnitrat NaNO ₃ (84,99)	puriss.
Natriumnitrat-RL* Natriumnitrat: 35 mmol/l 2,975 g Natriumnitrat werden in Fluidphase I zu 1,000 l gelöst.	
Natriumnitrat-RL ** Natriumnitrat: 35 mmol/l 2,975 g Natriumnitrat werden in Fluidphase II zu 1,000 l gelöst.	
Phenobarbital-Natrium 5-Ethyl-5-phenylbarbitursäure, Natrium-Salz C ₁₂ H ₁₁ N ₂ NaO ₃ (254,2)	AB-DDR
Phosphat-Puffer XV	pH-Wert: 2,3 ± 0,1

Phosphat: 662 mmol/l

Kalium-dihydrogen-phosphat: 489 mmol/l

6,66 g Kalium-dihydrogen-phosphat werden in 500 ml Wasser gelöst.

Nach Zusatz von 9,0 ml konzentrierter Phosphorsäure wird die Lösung mit Wasser zu 900 ml aufgefüllt. Der pH-Wert ist potentiometrisch zu bestimmen und mit konzentrierter Phosphorsäure einzustellen. Anschließend wird die Lösung mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.

Phosphorsäure, konzentrierte

H₃P₀₄ (98,00)

Gehalt 85 % H₃P₀₄ Gehalt 14,7 mol H₃P₀₄/l

puriss.

TGL 29495

Propranolol-hydrochlorid

DL-1-Isopropylamino-3-(naphthyl-(1)-oxy)-propanol-(2)-hydrochlorid
(C₁₆H₂₁NO₂)HCl (295,8)

AB-DDR

Salzsäure (2 mol/l)

Salzsäure (100 mmol/l)

Schwefelsäure (1 mol/l)

Stickstoff, reinst

N₂ (28,01)

Test-RL

Stammlösung:

Diazepam: 87,8 µmol/l

Imipramin-hydrochlorid: 126 µmol/l

5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 752 µmol/l

Phenobarbital-Natrium: 787 µmol/l

Propranolol-hydrochlorid: 507 µmol/l

Tolbutamid: 1,85 mmol/l

Reagenzlösung:

Diazepam: 8,78 µmol/l

Imipramin-hydrochlorid: 12,6 µmol/l

5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin: 75,2 µmol/l

Phenobarbital-Natrium: 78,7 µmol/l

Propranolol-hydrochlorid: 50,7 µmol/l

Tolbutamid: 185 µmol/l

Stammlösung: 25,0 mg Diazepam, 40,0 mg Imipramin-hydro-chlorid, 200,0 mg 5-(4-Methyl-phenyl)-5-phenyl-hydantoin, 200,0 mg Phenobarbital-Natrium, 150,0 mg Propranolol-hydro-chlorid und 500,0 mg Tolbutamid werden in 500 ml Ethanol gelöst und mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.

Reagenzlösung: 100,0 ml Stammlösung werden mit Fluidphase I oder II (wahlweise je nach chromatografischen Bedingungen) zu 1,000 l aufgefüllt.

Tolbutamid

N-(4-Methyl-benzensulfonyl)-N-butyl-harnstoff

C₁₂H₁₈N₂O₃S (270,4)

AB-DDR

Tris (hydroxymethyl)aminomethan

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

C₄H₁₁N₃ (121,1)

p.a.

Trislösung (200 mmol/l)

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

Tris-Puffer II

Tris(hydroxymethyl)aminomethan: 150 mmol/l

750,0 ml Trislösung (200 mmol/l) werden mit 159,0 ml Salzsäure (100 mmol/l) gemischt und mit Wasser zu 1,000 l aufgefüllt.

Tabelle: Relative Retentionen von Arzneistoffen gegenüber MPPH in den Trennsystemen RP-C18/Fluidphase I und RP-C18/ Fluidphase II

Fluidphase I		Fluidphase II	
Wirkstoff	$r_x/MPPH$	Wirkstoff	$r_x/MppH$
Acetylsalicylsäure	0,26	Acetylsalicylsäure	0,14
Ajmalin	0,08	Ajmalin	0,23
Aminophenazon	0,00	Aminophenazon	0,27
Amitriptylin	0,56	Amitriptylin	1,48
Amphetaminil	0,66	Amphetaminil	0,51
Aprobarbital	0,27	Aprobarbital	0,38
Atropin	0,04	Atropin	0,08
Barbital	0,12	Barbital	0,17
Bromhexin	0,43	Bromhexin	1,96
Bromisoval	0,30	Bromisoval	0,43
Buformin	0,03	Buformin	0,06
Butaperazin	0,39	Butaperazin	5,35
Carbamazepin	0,52	Carbamazepin	0,70
Chinidin	0,00	Chinidin	0,24
Chinin	0,00	Chinin	0,25
Chloramphenicol	0,29	Chloramphenicol	0,29
Chlordiazepoxid	0,09	Chlordiazepoxid	1,60
Chloroquin	0,00	Chloroquin	0,07
Chlorphenethazin	0,50	Chlorphenethazin	1,83
Chlorpromazin	0,75	Chlorpromazin	2,37
Chlorprothixen	0,87(1,07)	Chlorprothixen	2,56
Clomethiazol	0,52	Clomethiazol	0,72
Clomipramin	0,92	Clomipramin	2,51
Clonazepam	0,89	Clonazepam	0,78
Clonidin	0,03	Clonidin	0,07
Clozapin	0,06	Clozapin	0,74
Codein	0,01	Codein	0,02
Coffein	0,05	Coffein	0,12
Crotylbarbital	0,28	Crotylbarbital	0,36
Cyclobarbital	0,40	Cyclobarbital	0,50
Desipramin	0,40	Desipramin	1,34
Detajmium	0,00	Detajmium	0,10
Diazepam	1,63	Diazepam	2,28
Diclofenac	5,68	Diclofenac	4,50
Dihydralazin	0,00	Dihydralazin	0,03
Diphenhydramin	0,24	Diphenhydramin	0,52
Disulfiram	13,10	Disulfiram	4,25
Ephedrin	0,02	Ephedrin	0,08
Etoloxamin	0,57	Etoloxamin	1,22
Furosemid	0,61	Furosemid	0,20
Gl ibenclamid	6,62	Gl ibenclamid	4,17
Glutethimid	0,84	Glutethimid	0,69
Haloperidol*	0,36(0,48)	Haloperidol	0,70
Hexobarbital	0,69	Hexobarbital	0,69
Imipramin	0,47	Imipramin	1,30
Indometacin	5,87	Indometacin	5,10
Kebuzon	1,39	Kebuzon	0,43
Levomepromazin	0,57	Levomepromazin	1,40
Meclofenoxat	0,09	Meclofenoxat	0,30

Fortsetzung Tabelle

Fluidphase I		Fluidphase II	
Wirkstoff	r_x /MPPH	Wirkstoff	r_x /MppH
Medazepam	0,24	Medazepam	2,90
MPPH	1,00	MPPH	1,00
Meprobamat	0	Meprobamat	0
Metamizol	0,00	Metamizol	0,06
Methaqualon	0,97	Methaqualon	1,08
Methylphenobarbital	0,79	Methylphenobarbital	0,67
Metoclopramid	0,08	Metoclopramid	0,08
Metofenazat	3,51	Metofenazat	10,54
Metronidazol	0,06	Metronidazol	0,09
Nicotin	0,00	Nicotin	0,02
Nitrazepam	0,66	Nitrazepam	0,83
Nitrofurantoin	0,17	Nitrofurantoin	0,08
Norpseudoephedrin*	0,00(0,08)	Norpseudoephedrin	0,07
Noxiptylin	0,38	Noxiptylin	1,02
Oxytetracyclin	0,03	Oxytetracyclin	0,14
Paracetamol	0,06	Paracetamol	0,05
Phenacetin	0,33	Phenacetin	0,39
Phenazon	0,12	Phenazon	0,15
Phendimetrazin	0,03	Phendimetrazin	0,12
Phenobarbital	0,30	Phenobarbital	0,31
Phenprocoumon	4,86	Phenprocoumon	1,99
Phenylbutazon	7,79	Phenylbutazon	2,19
Phenytoin	0,60	Phenytoin	0,58
Pholedrin	0,00	Pholedrin	0,22
Primidon	0,11	Primidon	0,22
Promazin	0,40	Promazin	1,18
Promethazin	0,34	Promethazin	1,07
Propranolol	0,15	Propranolol	0,50
Propyphenazon	0,83	Propyphenazon	0,72
Pyrithyldion	0,17	Pyrithyldion	0,23
Reserpin	0,78	Reserpin	1,17
Salicylamid	0,19	Salicylamid	0,20
Salicylsäure	0,40	Salicylsäure	0,13
Sulfamerazin	0,12	Sulfamerazin	0,05
Sulfacetamid	0,09	Sulfacetamid	0,03
Strychnin	0,03	Strychnin	0,10
Talinolol	0,13	Talinolol	0,45
Theophyllin	0,02	Theophyllin	0,09
Thioridazin	1,37	Thioridazin	3,37
Tolbutamid	1,30	Tolbutamid	0,82
Trimethoprim	0,03	Trimethoprim	0,06
Trimipramin	0,64	Trimipramin	1,53
Verapamil	0,52	Verapamil	0,56
Warfarin	2,68	Warfarin	2,02

Bei der Chromatografie der mit * gekennzeichneten Verbindungen erscheint im Trennsystem I regelmäßig ein zweiter Peak.

Kommentar zur Standardvorschrift Hochleistungsflüssigchromatographie

H.-G. Eigendorf, Bad Saarow

Allgemeines

Die der Dünnschichtchromatografie vergleichbare Variabilität der Trennsysteme und die der Kapillargaschromatografie nahestehende Trennleistung bei relativ anspruchsloser Probenvorbereitung hat der Hochleistungsflüssigchromatografie (HPLC) eine Vorrangstellung bei der Arzneimittelanalytik im biologischen Material verschafft. Dabei sind forensische und klinisch-toxikologische Aufgabenstellungen in prinzipiell ähnlicher Weise zu lösen. Die Schnelligkeitsvorteile der HPLC sind durch die Möglichkeit raschen Datenzugriffs zu stützen. Unter Verzicht auf wirkstofforientierte Optimierung der Trennsysteme wird ein universelles Vorgehen zur Identifizierung von Arzneimittelwirkstoffen angeboten. Der vorliegende Methodenvorschlag ist für Laboratorien mit einfachster wie modernster HPLC-Ausstattung gleichermaßen nutzbar. Lediglich die Trennsysteme sind wegen der Bindung an die Retentionsdaten festgeschrieben. Neben einer Erweiterung der erfaßten Arzneistoffpalette (auch auf Nichtarzneimittel) ist laborintern in Abhängigkeit von der Geräteausstattung Spielraum bezüglich Nachweisempfindlichkeit und Präzision.

Prinzip

Die Umkehrphasenchromatografie auf RP-C18 Trennphasen dominiert bei der HPLC-Analytik von Arzneistoffen /1/. Im Gegensatz zur "normalen" Chromatografie auf polaren silikatischen Trägern, bei der polare Wirkstoffe stärkerer Retention unterliegen, kehren sich die Verhältnisse durch die Einführung unpolarer Octadecylketten idealisiert gesehen um.

Bei dieser Modifizierung der Kieselgeloberflächen ist jedoch keine Vollständigkeit erreichbar. Ausgehend von den verbleibenden Silanolgruppen wird die Umkehrphasenchromatografie deshalb in Abhängigkeit von pH-Wert, der Fluidphase und der chemischen Struktur des einzelnen Arzneistoffes von ionischen und anderen Wechselwirkungen beeinflusst /2/. Von verschiedenen Herstellern angebotene RP-C18 Trennphasen werden zur Minimierung solcher Nebeneffekte einem nachträglichen Endcapping unterzogen. Allgemein bleiben jedoch erhebliche Unterschiede nicht nur zwischen den Produkten verschiedener Hersteller, sondern auch zwischen einzelnen Chargen eines Herstellers bestehen /3/4/5/. Solche wechselnden Eigenschaften erschweren den Aufbau einer langzeitstabilen und möglichst laborübergreifend verwendbaren Datei für ein Arzneistoffscreening.

Die in den Vorschlag eingebrachte RP-C18 Trennphase erwies sich in mehrjährigem Routineeinsatz in Kombination mit den Fluidphasen I und II datenstabil. Durch Verwendung von gepufferten Fluidphasen werden die Trennsysteme robuster gegen äußere Einflüsse. Dies ermöglicht z.B. die Arbeit mit relativ

billigen Lösungsmitteln üblicher p.a.-Qualität und gestattet sogar eine Mehrfachnutzung der Fluidphase im Routinebetrieb ohne Beeinflussung der Retentionsdaten. Acetonitril-Phosphatpuffergemische (Fluidphase I) werden wegen ihrer bemerkenswerten Selektivität seit längerer Zeit für die Arzneistoffanalytik verwendet /6/. Beim Einsatz von Methanol-Puffergemischen wurde für basische Wirkstoffe neben der pH-Abhängigkeit des Retentionsverhaltens eine Beziehung zwischen Ionenstärke und Peakqualität festgestellt, wie sie auch schon früher beschrieben wurde /7/. Mit der für die Fluidphase II angegebenen Zusammensetzung konnten jedoch reproduzierbare, für eine Datenbasis geeignete $r_x/MPPH$ erzielt werden. Die unüblich hohe Pufferkonzentration in Fluidphase II führte auch im Langzeitbetrieb zu keinen technischen oder Korrosionsproblemen.

Prüflösung

Zur Vermeidung von Schäden an Trennsäulen und Schleifendosiergeräten sind die Prüflösungen durch Zentrifugieren und/oder Filtration vor der Injektion von jeglichen mechanischen Verunreinigungen zu befreien. Die injizierten Prüflösungen sollten zur Erzielung optimaler Trennleistungen der jeweiligen Fluidphase in ihrer Lösungsmittelzusammensetzung möglichst "ähnlich" sein. Die Chromatografie eines für die GC oder DC vorbereiteten rein alkoholischen Extraktes in der Fluidphase I führt zu erheblichen Peakdepressionen bei verminderter Auflösung und ist daher keinesfalls zu empfehlen /8/. Der vorstehenden Forderung wird durch Lösen der Extraktionsrückstände in der jeweiligen Fluidphase am ehesten entsprochen. Die im Methodenvorschlag unter "Prüflösung" Pkt.3 angeführte Probenvorbereitung stellt eine HPLC-spezifische Variante dar, deren Vorteil im geringen Zeitbedarf für die Notfalldiagnostik besteht. Durch Veränderung der Volumenverhältnisse bei der Probenvorbereitung kann der Anreicherungsfaktor weiter erhöht werden.

Technische und chromatische Bedingungen

Grundbedingung für die Reproduzierbarkeit der relativen Retentionsdaten ist die technische Stabilität der Anlage, insbesondere die Sicherung eines konstanten Volumenstroms der Fluidphase. Geringfügige Temperaturschwankungen und gerätespezifische Varianten werden durch den Bezug auf die Substanz MPPH weitgehend ausgeglichen. Änderungen von mehr als 3 K führen jedoch bei einzelnen Arzneistoffen zu unzulässigen Abweichungen von den bei 22 °C ermittelten relativen Retentionswerten. Raumklimatisierung oder Säulenofen zur Einhaltung einer Arbeitstemperatur von $295 \text{ K} \pm 3 \text{ K}$ sind zur Vermeidung von Korrosion an den Säulenkartuschen einer Wassermanteltemperierung der Säulen vorzuziehen.

Der Informationsgehalt der Detektorsignale wird erheblich von der Leistungsfähigkeit des Detektors beeinflusst. Die Kombination eines Festwellenlängendetektors 254 nm/Integrator ist als niedrigste Leistungsstufe anzusehen. Neben der Ermittlung von Retentionszeiten ergeben sich damit eingeschränkte Möglichkeiten zur quantitativen Bewertung. Anzustreben ist die Ausstattung mit ei-

nem spektrenregistrierenden Detektor (Photodiodenarraydetektor, Wave Scan...) einschließlich Software zur Peakreinerkennung und -identifizierung mittels entsprechender Datenspeicher.

Auswertung

Die Berechnung der relativen Retention r_x/MPPH aus Detektorsignalen (Peaks) setzt intraseriell die Messung der Gesamtretentionszeiten der Bezugssubstanz MPPH und von Nitrat voraus. Nur so werden erfahrungsgemäß auftretende geringfügige Schwankungen der Gesamtretentionszeiten von Serie zu Serie nivelliert. Die Gesamtretentionszeit von Nitrat ($t_R(\text{Nitrat})$) entspricht strenggenommen nicht exakt der theoretischen Mobilzeit (t_m) einer inerten Komponente, da Wechselwirkungen zu Restsilanolgruppen nicht auszuschließen sind. Aus praktischen Erwägungen wurde jedoch näherungsweise

$$t_R(\text{Nitrat}) = t_m$$

in die Berechnung eingeführt. Der relative Fehler der errechneten r_x/MPPH nimmt mit kleiner werdender Gesamtretentionszeit eines Analyten zu. Entsprechend kritisch sind niedrige r_x/MPPH zu werten. Bei Detektoren mit Spektrenregistrierung können, jedoch auch Werte $<0,10$ durchaus sichere Informationen liefern.

Systemkontrolle

Neben der unerläßlichen intraseriellen Kontrolle der Trennsysteme bezüglich der Stabilität von r_x/MPPH (vgl. unter Chromatografische Bedingungen im Methodenvorschlag) ist eine gelegentliche Überprüfung der Leistungsfähigkeit der Trennsäule zu empfehlen.

Geeignete praxisorientierte Parameter sind die zeitnormierte effektive Bodenzahl N_{eff} und der Asymmetriefaktor $A/9$. Bei einfacher Geräteausstattung können die erforderlichen Meßgrößen $Z_{1/2}$ a und b mittels Meßlupe aus einem Schreiberchromatogramm entnommen werden (Abb. 1). Die Berechnung wird aus den Gleichungen (1) und (2) ersichtlich. In Tabelle 1 werden Richtwerte wiedergegeben, wie sie von den Methodenbearbeitern mit der Fluidphase I auf einer selbstgefüllten Trennsäule CGC 3,2 mm x 150 mm im Routinebetrieb erreicht wurden. Die Ergebnisse im Bereich der Mindestwerte deuten auf eine mißlungene Säulenfüllung, Schäden oder Undichtheiten am Säulenkopf oder andere technische Mängel hin. Tabelle 2 zeigt die entsprechenden Werte für die Fluidphase II. Die Bodenzahlen sind in diesem System deutlich niedriger. Der Vorteil dieses zweiten Systems liegt in seiner außerordentlichen Robustheit, die es gestattet, die Fluidphase (z.B. 500 ml in einer Frittenflasche) über 2 bis 4 Wochen (!) im geschlossenen Kreislauf zu nutzen, ohne daß Sollwertüberschreitungen bei den r_x/MPPH auftreten.

Tabelle 1

Arzneistoff	zeitnormierte effektive Bodenzahl N_{eff}		Asymmetriefaktor A	
	Richtwert (min^{-1})	Mindestwert (min^{-1})	Richtwert	Maximalwert
Propranolol: HCl	250	150	2,00	2,50
Phenobarbital	470	280	2,00	2,50
Imipramin: HCl	420	250	2,30	2,80
MPPH	580	350	1,20	1,50
Tolbutamid	540	330	1,15	1,50
Diazepam	470	300	1,10	1,50

$$(1) \quad N_{eff} = \frac{5,545 (t_{Ri} - t_m)^2}{t_{Ri} * (Z_{1/2})^2}$$

$$(2) \quad A = \frac{b}{a}$$

t_{Ri} = Gesamtretentionszeit der Komponente i (min)

t_m = Mobilzeit Nitrat (min)

$z_{1/2}$ = Peakbreite in halber Höhe (min)

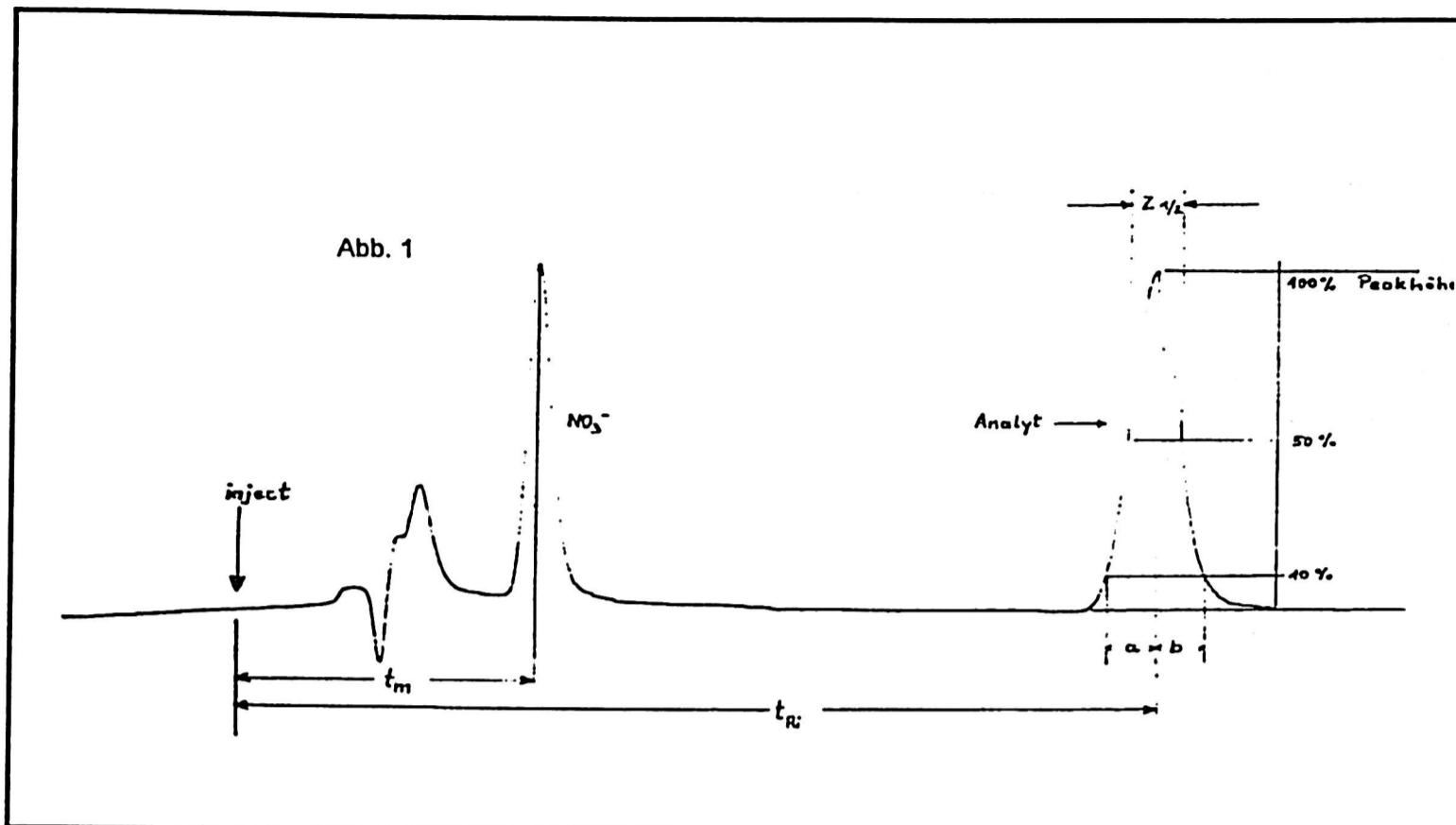
a = Abstand zwischen Peakspitzenlot und Peakfront bei 10 % Peakhöhe (min)

b = Abstand zwischen Peakspitzenlot und Peakrücken bei 10 % Peakhöhe (min)

Tabelle 2

Arzneistoff	zeitnormierte effektive Bodenzahl N_{eff}		Asymmetriefaktor A	
	Richtwert (min^{-1})	Mindestwert (min^{-1})	Richtwert	Maximalwert
Propranolol: HCl	140	120	1,70	2,30
Phenobarbital	110	90	1,90	2,50
Imipramin: HCl	100	80	3,00	3,50
MPPH *	210	180	1,30	1,50
Tolbutamid	190	170	1,30	1,50
Diazepam	200	170	1,20	1,50

* 5-(4-Methylphenyl)-5-phenylhydantoin



Literatur

- /1/ R. ERGE, R.K. MÜLLER, H.-J. WEHRAN, Die Pharmazie 40, (1985), S. 153 - 173
- /2/ E. BAYER, A. PAULUS, J. Chrom. (Amst.) 400 (1987), S. 1 - 4
- /3/ H. ENGELHARDT, B. DREYER, H. SCHMIDT, Chromatographie (1982) 16, S. 11
- /4/ T. DALDRUP, B. KARDEL, Chromatographie 18 (1984), S. 81 - 83
- /5/ T. DALDRUP, Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 40 (1986), S. 58 - 60
- /6/ T. DALDRUP, P. MICHALKE, Angewandte Chromatographie 37 (1981), S. 1 - 21
- /7/ R.M. SMITH, T.G. HURDLEY, R. GILL, M.D. OSSELTON, J. Chrom. (Amst.) 398 (1987), S. 73 - 87
- /8/ H.-G. EIGENDORF, Krim. forens. Wiss. 69/70 (1988), S. 116 - 122
- /9/ G. EPPERT, Einführung in die Schnelle Flüssigchromatographie (Hochdruckflüssigchromatographie), Akademie-Verlag Bln. 1979

Personalia

Neue Mitglieder

Herr Dr. Peter Bell
10th Medical Laboratory, Department of Toxicology
Kirchberg 3809, W-6790 Landshut
Tel.: 06371-15223

Herr Dr. Manfred Hochmeister
Institut für Rechtsmedizin
Bühlstraße 20, CH-3012 Bern
Tel.: (00)41-31-658412 FAX: -653833

Herr Rolf Hofer
Institut für Rechtsmedizin
Bühlstraße 20, CH-3012 Bern
Tel.: (00)41-31-658407 FAX: -653833

Herr Dr. Krumbach
Landeskriminalamt Brandenburg
Prenzlauerstraße 66-70, O-1293 Basdorf

Herr Dipl.-Chem. Frank Michallek
Landeskriminalamt Mecklenburg - Vorpommern
Retgendorferstraße 2, O-2711 Schwerin/Rampe
Tel.: 084-812156 FAX: -869420

Herr Dr. Jörg Röhrich
Institut für Rechtsmedizin
Kennedyallee 104, W-6000 Frankfurt am Main 70
Tel.: 069-63017561 FAX: -63015882

Herr Dr. Bernd Quednow
Landeskriminalamt Sachsen - Anhalt, Abt. 7, Dez. 71
Georg Kaiserstraße 4, O-3037 Magdeburg
Tel.: 0391-6612249

Kündigung der Mitgliedschaft

Herr Dr. Schneider, Leiter des Chemischen und Lebensmitteluntersuchungsamt der Stadt Duisburg. Er teilte mit, daß er 1993 aus dem Dienst der Stadt Duisburg ausscheiden wird.

Förderpreis für junge Wissenschaftler/-innen der GTFCh

Die Förderpreis wird an junge Wissenschaftler/-innen der GTFCh verliehen, die nicht älter als 40 Jahre sind und die eine oder mehrere Arbeiten aus den Fachgebieten der GTFCh veröffentlicht haben und sich dabei durch besondere Leistungen ausgezeichnet haben. Die Publikationen sollen neue und originelle Ideen enthalten und Anstöße zu neuen Erkenntnissen geben.

Mitglieder der GTFCh können sich jederzeit unter Einreichung der entsprechenden Publikationen und Erläuterungen bewerben. Auch steht es jedem Mitglied der GTFCh frei, andere für diesen Preis vorzuschlagen. Bewerbungen oder Vorschläge können an eines der Kommissionsmitglieder oder den Vorstand der GTFCh gerichtet werden.

Neues vom Büchermarkt

Th. Daldrup, Düsseldorf

Ich möchte auf vier Neuerscheinungen aufmerksam machen:

Eine wahre Fundgrube stellt das Buch

"HPLC Methods on Drug Analysis"

von MANTU K. GHOSH dar. Für 232 (nicht 650, wie auf dem Umschlag des Buches zu lesen ist) Stoffe werden, alphabetisch geordnet, in der Regel mehrere der Literatur entnommene Nachweisverfahren nach einem einheitlichen Schema beschrieben. Insgesamt werden ca. 1300 Methoden angeführt. Bekanntlich gibt es fast keinen Stoff, den man nicht auch mit der HPLC bestimmen kann. Vor diesem Hintergrund könnte die Zahl der Stoffe, deren Analytik incl. Probenvorbereitung in diesem neuen Buch beschrieben werden, als völlig unzureichend bezeichnet werden. Daß dieses Buch dennoch ein Fundgrube gerade für den Analytischen Toxikologen darstellt, liegt an der Auswahl der Stoffe; in der Mehrzahl handelt es sich nicht um die zentralwirkenden, toxikologisch relevanten Stoffe, die jeder von uns sowieso mehr oder weniger routinemäßig bestimmt, und somit für deren Nachweis nicht auf eine Zusammenstellung wie diese angewiesen ist, sondern um sonstige, häufig in Arzneimittelzubereitungen vorhandene Wirk- und Zusatzstoffe, auf die man, wenn, dann nur in speziellen Einzelfällen Proben zu untersuchen hat. Für diese Fälle bietet es sich an, bevor man eine aufwendige Literaturrecherche startet, erstmals in dem Buch von GHOSH nachzuschauen, ob er eine Methode für genau diese Substanz oder für eine ähnliche erwähnt hat.

Das Buch ist im Springer-Verlag erschienen (1992. 585 Seiten. Softcover DM 198,-. ISBN: 3-540-53824-0).

Während das oben vorgestellte Buch ein reines Nachschlagewerk darstellt, welches am Laborarbeitsplatz seinen festen Platz hat, kann ich aus eigener Erfahrung das Buch von SIGMUND F. ZAKREZEWSKI mit dem Titel

"Principles of Environmental Toxicology"

auch als Reise-Fachlektüre empfehlen. Das Buch basiert auf der einsemestrigen Vorlesung Umwelttoxikologie, die der Autor, der übrigens in Hamburg studiert und promoviert hat und der nunmehr am Departement of Pharmacology der State University of New York in Buffalo tätig ist, insbesondere für Chemiestudenten anbietet. Wie sooft bei Lehrbüchern aus den USA fällt auch bei diesem Buch positiv das didaktische Geschick auf, mit dem Fachwissen vermittelt wird. Alle Grundlagen, die zum Verständnis toxikologischer Abläufe bekannt sein müssen, werden gut verständlich vermittelt, ohne hierbei in eine die Lust am Lesen und Lernen lähmende Oberflächlichkeit zu verfallen. Alle wichtigen

Aspekte in Zusammenhang mit umweltrelevanten Stoffen, deren Veränderungen in und Wirkungen auf biologische Systeme werden ebenso behandelt wie deren Entstehung und Aufnahme. Für denjenigen, der nicht hauptberuflich mit der Umwelttoxikologie zu tun hat, der aber, wie viele Mitglieder der GTFCh, immer wieder aufgefordert wird, auch zu ökologischen Fragen Stellung zu nehmen, hat durch das Studium dieses Buches die Möglichkeit, sich ein solides Grundwissen auf diesem Fachgebiet anzueignen.

Das Buch aus der ACS Professional Reference Book Reihe wurde von der American Chemical Society, Washington, verlegt (1991. 270 Seiten. Broschur \$44.95; ISBN 0-8412-2170-7).

Eine weitere interessante Neuerscheinung ist das Buch

"Kosmetische Färbemittel"

von der Farbstoffkommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Die Farbstoffkommission war die älteste Senatskommission der DFG (Gründungsjahr 1949, von der DFG übernommen: 1951). Sie hat Ende 1989 die Tätigkeit beendet. Es kann deshalb angenommen werden, daß die nun vorliegende 3. Auflage auch möglicherweise die letzte sein wird. Folgerichtig wurde statt der bisher üblichen Loseblattsammlung ein gebundenes Buch herausgebracht. Aufgenommen wurden alle Färbemittel der EG-Kosmetik Richtlinie. Für die meisten Färbemittel werden ausführliche Angaben über die chemischen und toxikologischen Eigenschaften gemacht, so daß der Analytische Toxikologe die für evtl. Untersuchungen von Färbemitteln benötigten Daten vorfindet. Weiterhin ist sehr häufig auch ein IR-Spektrum abgebildet worden. Diese von der Farbstoffkommission erarbeitete Datensammlung, die auf zahlreiche firmeninterne und damit schwer zugängliche Untersuchungen zurückgreift, kann zweifelsohne als einmalig bezeichnet werden und wird auch vermutlich noch lange einmalig bleiben, da kaum vorstellbar ist, daß in naher Zukunft jemand gefunden wird, der bereit ist, die Arbeit der Kommission fortzusetzen. Deshalb lohnt es sich nach meinem Dafürhalten auch für jedes chemisch-toxikologische Labor, sich gerade dieses Buch in die eigene Bibliothek zu stellen, um so im Bedarfsfall, wenn es z.B. zu einer (fraglichen) Vergiftung mit einem Farbstoff gekommen ist, sofort das für Europa vermutlich umfassendste Nachschlagewerk zum Thema Toxizität von kosmetischen Farbstoffen konsultieren zu können.

Das Buch ist im VCH-Verlag erschienen (1991. 3. Aufl. 657 Seiten. DM 280,-, ISBN 3-527-27020-5).

Als letzte Neuvorstellung möchte ich die

"MAK- und BAT-Werte-Liste 1992"

erwähnen. Die Liste wird von der DFG-Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe regelmäßig aktualisiert und erweitert. Leider ist es nach wie vor unmöglich, auf einen Blick die Qualität der vorgenommenen Änderungen zu erkennen. Im Buch sind lediglich zahlreiche "Sternchen" verteilt worden, was soviel bedeuten soll, daß hier Änderungen an der (toxi-

schen) Bewertung eingetreten seien. Wenn man aber z.B. als Verantwortlicher für ein Labor wissen möchte, was denn nun konkret verändert wurde und ob man möglicherweise zusätzliche Vorkehrungen zum Schutze der Mitarbeiter treffen muß, so muß man mühsam in der alten und neuen Liste gleichzeitig blättern, um Neues zu erfahren; hier fehlt ein entsprechend sorgfältig ausgearbeitetes Kapitel, welches den Leser auf die der Kommission vorliegenden neuen Erkenntnisse, die die Grundlagen für die Änderungen waren, hinweist. Ohne ein solches Kapitel lohnt es kaum, sich regelmäßig die neueste Liste anzuschaffen; die eine blaue Seite im Anhang ist unvollständig, teilweise fehlerhaft und reicht in keiner Weise aus. Es sollte zumindest die vom Verlag erarbeitete "Presse-Information" jedem Buch beigelegt werden, da hierin die Änderungen eindeutig und klar genannt werden. So erfährt man u.a., daß die MAK-Werte von Dimethylformamid, Diphenylmethan-4,4'-diisocyanat, Furfurylalkohol und Phthalsäureanhydrid gesenkt wurden.

Die MAK- und BAT-Werte Liste ist im VCH-Verlag erschienen (1992. 136 Seiten. Broschur. DM 27,- ISBN 3-527-27553-3).

Buchbesprechung

Gefahrstoffe an Hochschulen

Textausgabe der TRGS 451 - Umgang mit Gefahrstoffen im Hochschulbereich mit zusätzlichen Erläuterungen von Peter Rinze. Herausgegeben von der Gesellschaft Deutscher Chemiker. VCH Verlagsgesellschaft Weinheim-New York-Cambridge-Basel 1992. VII, 50 Seiten, Broschur. DM 25,00. ISBN 3-527-28482-6

C. Heller, Düsseldorf

Vor kurzem haben wir in dieser Zeitschrift¹⁾ über die Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)²⁾ und ihre Relevanz für die chemisch-toxikologischen Abteilungen an rechtsmedizinischen Instituten berichtet. Die dort angekündigte Technische Regel (TRGS) 451 "Gefahrstoffe an Hochschulen", die die Anwendung der GefStoffV im Universitätsbereich zum Inhalt hat, ist inzwischen realisiert und im Okt. 1991 vom Bundesminister für Arbeit und Sozialordnung im Bundesarbeitsblatt bekanntgegeben worden.

Nun liegt auch eine kommentierte Textausgabe dieser Technischen Regel vor, in der Peter Rinze, Mitautor der Vorgängerschrift "Gefahrstoffe an Hochschulen" der Gesellschaft Deutscher Chemiker³⁾, die Ausführung erläutert. Viele drängende Probleme in der Chemikerausbildung, die teilweise auch für die toxikologischen Labors von Bedeutung sind, werden hier kompetent besprochen und Lösungswege aufgezeigt.

Am Anfang wird eine sehr wesentliche Frage beantwortet, nämlich die nach der Verantwortung. Das geschieht juristisch auf der Basis des Arbeitgeber/Arbeitnehmer-Verhältnisses und der dafür geltenden Vorschriften. Studenten, Doktoranden oder Stipendiaten, auch solche ohne Arbeitsvertrag, sind rechtlich den Arbeitnehmern gleichgestellt. Für Arbeitsschutz und Unfallverhütung ist primär der Dienststellenleiter verantwortlich (im Fall der Universität der Präsident, Rektor oder Kanzler), er trägt also die Arbeitgeberverantwortung für die Einhaltung und Durchführung der GefStoffV. Eine Delegation der Verantwortung bedarf besonderer Vereinbarung und der Schriftform. Dagegen trägt jeder Hochschullehrer eine solche Arbeitgeberverantwortung, der über Privatarbeitsverträge Mitarbeiter oder Studierende, z.B. in Drittmittelprojekten, beschäftigt, und zwar ohne, daß hierzu ein besonderer Auftrag erteilt wird. Wer also an einem Hochschulinstitut Vorgesetzter von im Labor tätigen Personen ist, wird gut daran tun, sich näher mit der GefStoffV und der TRGS 451 zu beschäftigen. Hierzu werden ihm die Ausführungen von Peter Rinze eine wertvolle Hilfe sein.

Daß einige Bestimmungen im Forschungsbereich immer noch eine Gratwanderung nötig machen, wird nicht verschwiegen. Andererseits weist der Autor auf eine ganze Reihe von "Knackpunkten" hin, die in manchen Labors relativ lax gehandhabt wurden oder noch werden und die bei etwas Überlegung und gutem Willen der Beteiligten änderungsfähig sind. Hierhin gehört etwa die Thematik der Betriebsanweisungen oder die Lagerung und der Einsatz von Chemikalien.

Angesprochen wird beispielsweise die Anwesenheit von Fremdpersonal im Institut, ein Punkt, der sicherheitstechnisch einige Brisanz aufweist. Das betrifft z.B. den Handwerkereinsatz oder Putzkolonnen, die sehr oft in Abwesenheit der Labormannschaft die Labors reinigen, oder die Anlieferung durch Fahrdienste oder Fremdfirmen im nicht streng vom Laborbereich getrennten Institutsbereich. Da für bestimmte Gefahrstoffe, die u.U. aber Allerweltschemikalien darstellen und deren Gefahrenpotential dann leicht vernachlässigt wird, besondere Lagerungsvorschriften gelten ("dem direkten Zugriff durch Betriebsfremde nicht zugänglich" oder "unter Verschuß aufzubewahren"), sind hier spezielle Vorsichtsmaßnahmen zu ergreifen.

Ein anderes Kapitel sind die Betriebsanweisungen (s. hierzu auch die Ausführungen in¹⁾). Auch für das Laborpersonal genügt es nicht, "sowieso alles schon zu wissen", weil man es früher vielleicht einmal gelernt hat. Eine Arbeitsanweisung ersetzt deshalb keine Betriebsanweisung, solange sie nur eine reine Experimentalvorschrift darstellt und keine Hinweise auf Gefahrenpotential und Entsorgung der zum Einsatz kommenden Chemikalien und Hinweise auf Maßnahmen zur Ersten Hilfe enthält. Für die Erstellung von Betriebsanweisungen gibt die Broschüre recht sinnvolle Ratschläge. Dazu findet man als Anlage 1 und 2 der TRGS 451 einen Auszug von in der GefStoffV behandelten Stoffen, die im Hochschulbereich von größerer Relevanz sind und aufgrund ihrer besonderen gefährlichen Eigenschaften gesonderte stoff(gruppen)bezogene Betriebsanweisungen erfordern. Sie sind zusätzlich nach Stoffklassen bezeichnet, die die Erstellung von gemeinsamen Gruppenbetriebsanweisungen ermöglichen, und in einer weiteren Spalte sind Hinweise zur Entsorgung und zur Ersten Hilfe enthalten.

Weitere Fragen, die behandelt werden, beziehen sich etwa auf Lagerung, Kennzeichnung und Inventarisierung (Katastererstellung) von Laborchemikalien, Unterweisungen und persönliche Schutzmaßnahmen des Laborpersonals sowie arbeitsmedizinische Aspekte (Schadstoffmessungen etc.), soweit sie die Auslegung der gesetzlichen Vorschriften für den Hochschulbereich betreffen. Detaillierte Anweisungen zur Ausführung erhält man allerdings weniger, da diese in der GefStoffV bereits vorgegeben sind. (Hierfür empfiehlt sich eher das Buch von Hörath²⁾ oder die "Sicherheitsfibel Chemie" von Roth/Weller⁴⁾).

Insgesamt ist die TRGS 451 in der hier vorliegenden Form eine erfreuliche Handreichung für Labor- und Institutsleiter, deshalb sollte die Broschüre, die auch zu einem erschwinglichen Preis angeboten wird, in keinem Universitätsinstitut fehlen, in dem mit Chemikalien hantiert wird. Sie wird zwar noch nicht sämtliche Fragen im einzelnen beantworten können, die die Ausführungsbestimmungen der GefStoffV am Arbeitsplatz in der Universität betreffen. So werden auch weiterhin Diskrepanzen zwischen den Forderungen der GefStoffV und den praktischen Durchführungsmöglichkeiten im konkreten Fall nicht völlig zu vermeiden sein. Immerhin wird so aber eine grundsätzliche Lücke geschlossen, denn erstmals liegt eine verbindliche Regelung speziell für den Hochschulbereich vor, der völlig anderen Aufgaben gerecht werden muß als die Industrie, auf die die GefStoffV wie auch das Chemikaliengesetz ursprünglich zugeschnitten waren. Damit ist nun eine Basis vorhanden, von der aus spezifische Lösungsansätze erarbeitet werden können bzw. auf der ein kompetenter Dialog mit den aufsicht-

führenden Behörden und anderen für die Arbeitsplatzsicherheit zuständigen Gremien geführt werden kann.

Gerade solche Abteilungen, die wie die chemisch-toxikologische Analytik an rechtmedizinischen oder pharmakologischen Instituten täglich mit Chemikalien umgehen müssen und innerhalb der medizinischen Fakultät bisher ein mehr oder weniger unerkanntes "chemisches Mauerblümchendasein" geführt haben, sollten hier von selbst initiativ werden und sich frühzeitig und umfassend informieren, um nicht eines Tages von bürokratischen Vorschriften, die von Betriebsfremden aufgestellt wurden, "überrollt" zu werden.

- 1) C. Heller, Toxichem + Krimtech (1991) 58 (3) 48-50
- 2) "Verordnung über gefährliche Stoffe - Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)", Deutscher Bundesverlag GmbH, Bonn 1988; H. Hörath, "Giftige Stoffe", Wissenschaftl. VerlagsGmbH, 3. Aufl., Stuttgart 1991
- 3) "Gefahrstoffe an Hochschulen", Informationsschrift der GDCh, Frankfurt /M. 1989
- 4) L. Roth, U. Weller, "Sicherheitsfibel Chemie", ecomed, Landsberg /Lech 1991

Buchbesprechung

Occupational Toxicants

Critical Evaluation for MAK Values and Classification of Carcinogens. Volume 3

Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical. Compounds in the Work Area (Chairman: D. Henschler), VCH Publishers Weinheim, Basel, Cambridge, New York 1992, ISBN 3-527-27019-1 379 S.

R. K. Müller, Leipzig

Der dritte Band der Reihe zur Toxikologie gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe behandelt in 28 Kapiteln wie die beiden vorausgegangenen Bände sowohl Einzelstoffe als auch Stoffgruppen, die (im Buch alphabetisch angeordnet) sich etwa in folgende Kategorien einteilen lassen:

Anorganische Stoffe

- Beryllium und -verbindungen
- Chrom und -verbindungen
- Cobalt und -verbindungen
- Lithiumhydrid
- Salpetersäure

Chlororganische Verbindungen

- o-, m- und p-Chloranilin
- Chlordifluormethan
- Chlorethan
- Chlorparaffine
- 1.2-Dichlorethan
- Pentachlorphenol
- Tetrachlorethen
- Trichlorbenzen-Isomere
- 1.1.2-Trichlor-1.2.2-trifluorethan

Organische Einzelstoffe

- Acetaldehyd
- Acrylamid
- 3.3'-Diaminobenzidin
- N.N-Dimethylanilin
- Dimethylsulfoxid

- Formaldehyd
- Methylmethacrylat
- 2-Nitropropan
- Tetraethylsilicat
- o- und p-Toluidin.

Acetaldehyd hat sich als etwa 150 mal weniger toxisch (bzw. biologisch aktiv) erwiesen als Formaldehyd, - beruhigend, auch für den forensischen Toxikologen, obwohl CH_3CHO ohnehin nicht wie HCHO direkt inhalativ, sondern nur nach Biotransformation im Gefolge indirekten "Inhalierens" ethanolhaltiger Lösungen unsere Beachtung findet.

Für Formaldehyd, das wegen seines cancerogenen Potentials an Versuchstieren im letzten Dezennium viel Aufregung verursacht hat, konnten für Menschen die erwarteten Schädigungen nicht bestätigt und als Schlußfolgerung die MAK auf $0,5 \text{ ml/m}^3$ vorläufig festgelegt werden.

Direkt relevant sind für forensische Aspekte wohl vor allem die gelegentlich zu beurteilenden Metalle sowie die Organohalogenverbindungen. Das Buch ist aber wie die Vorgängerbände insgesamt ein gründliches, informatives Nachschlagewerk mit einer sehr guten Übersicht der relevanten Literatur (10 bis über 140 Zitate je Kapitel).

Publikationsreihe der GTFCh

1980

Symposium PSYCHOPHARMAKA UND SUCHTSTOFFE
GTFCh (vergriffen)

1981

Symposium PESTIZIDE UND BRÄNDE/EXPLOSIONEN
GTFCh (vergriffen)

1982

ENTWICKLUNG UND FORTSCHRITTE DER FORENSISCHEN CHEMIE
Verlag D. Helm, Heppenheim (vergriffen)

1983

Symposium ANORGANISCHE STOFFE IN DER TOXIKOLOGIE UND KRIMINALISTIK.
Verlag D. Helm, Heppenheim (vergriffen)

1985

Symposium FORENSISCHE PROBLEME DES DROGENMIßBRAUCHS
Verlag D. Helm, Heppenheim (vergriffen)

1987

Symposium FORENSISCHE UND HUMANTOXIKOLOGISCHE ASPEKTE DER UMWELT-
ANALYTIK
211 S. Verlag D. Helm, Heppenheim (DM 20,-/35,-)

1988

Symposium (Göttingen) Sonderpublikation aus der Reihe:
Biologie der Sucht: Arnold, W., Poser, E., M.R. Möller (Hrsg.) SUCHTKRANKHEITEN.
DIAGNOSE, THERAPIE UND ANALYTISHER NACHWEIS.
Springer-Verlag

1989

Symposium ARZNEISTOFFMIßBRAUCH.
ANALYTISCHE UND TOXIKOLOGISCHE ASPEKTE
Verlag D. Helm, Heppenheim (vergriffen)

1990

1. Gesamtdeutsches Symposium BEITRÄGE ZUR TOXIKOLOGISCHEN CHEMIE.
GTFCh und AGTC (DM 20,-/35,-)

1991

Symposium (Hamburg) RECHTSMEDIZIN UND FORENSISCHE TOXIKOLOGIE.
NEUE ANALYTISCHE METHODEN.
204 S, Verlag D. Helm, Heppenheim (DM 20,-/35,-)

1992

Symposium SPURENANALYTIK IM HUMAN- UND UMWELTBEREICH.
141 S, Verlag D. Helm, Heppenheim (DM 20,-/35,-)



