

Nachweis und quantitative Bestimmung einiger Lösemittel und anderer flüchtiger Substanzen durch HPLC mit Photodiodenarray-Detektor

M. Herzler, M. Witteweg und F. Pragst

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

Zusammenfassung

Eine Reihe von Lösemitteln und anderen flüchtigen Reagenzien weist oberhalb 195 nm eine UV-Absorption auf. Diese Verbindungen lassen sich daher in das toxikologische Screening von Blutproben durch Proteinfällung mit Acetonitril und HPLC mit Photodiodenarray-Detektor einbeziehen. Orientierende Versuche zeigten, dass je nach Substanz auf relativ einfache Weise eine Identifizierung und semiquantitative Bestimmung bis herab zu 3 bis 0,3 µg/ml möglich ist. Bei akuten Vergiftungen beschriebene Konzentrationen werden daher mit Sicherheit erfasst. Die Anwendung der Methode wird am Beispiel eines Tötungsverbrechens beschrieben, bei dem das noch lebende Opfer mit Benzin übergossen und angezündet wurde und noch Benzin aspiriert hat.

1. Einleitung

Die wichtigste Methode der Analyse von Lösemitteln und anderen flüchtigen Substanzen aus Blut, anderen Körperflüssigkeiten oder Gewebeproben ist nach wie vor die Headspace-Gaschromatographie [1]. Durch die Einführung der Headspace-Festphasenmikroextraktion in Kopplung mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (HS-SPME) ist darüber hinaus eine erhebliche Verbesserung der Sicherheit der Identifizierung und der Empfindlichkeit möglich geworden [2,3]. Dennoch fordert die Untersuchung von Vergiftungen mit Lösemitteln oder anderen flüchtigen Substanzen wegen ihrer Seltenheit in der Regel einen erhöhten Aufwand in toxikologischen Laboren, die mit ihrer Methodik im wesentlichen auf relativ schwer flüchtige organische Analyte eingestellt sind. Insbesondere ist die quantitative Headspace-Analyse durch einen beträchtlichen Matrixeinfluß belastet und fordert zusätzliche Maßnahmen bei der Quantifizierung [4].

Während ein großer Teil der Lösemittel (Alkane, aliphatische Alkohole, Ether, Ester oder Ketone) im zugänglichen UV-Bereich keine Absorption aufweist, gibt es doch eine größere Anzahl ungesättigter oder aromatischer Solvenzien, die in der Praxis eine große Rolle spielen und der UV-Messung zugänglich sind. In solchen Fällen bietet die HPLC mit Photodiodenarray-Detektor (HPLC-DAD) nach Proteinfällung und in Kombination mit einer UV-Spektrenbibliothek [5] eine einfache, empfindliche und verlustfreie Untersuchungsmöglichkeit, die gegenüber dem üblichen Medikamenten- und Drogenscreening mit dieser Methode keinen zusätzlichen Aufwand bedeutet und auch in der Notfalldiagnostik anwendbar ist.

2. Literaturangaben zu Konzentrationen einiger UV-absorbierender Lösemittel und flüchtiger Reagenzien bei akuten Vergiftungen

Eine notwendige Bedingung für die Anwendung der HPLC/DAD ist, dass die bei Vergiftungen festgestellten Blutkonzentrationen auch durch die Methode sicher festgestellt werden können. Dabei muß zwischen akuten Vergiftungen nach Aufnahme hoher Dosen und chronischen Vergiftungen bei regelmäßiger Einatmung von Spuren am Arbeitsplatz oder aus der Umwelt unterschieden werden. Die vorgesehene Anwendung der HPLC-DAD bezieht sich auf die erstgenannten Fälle von akuten Vergiftungen. Einige aus der Literatur entnommene Konzentrationen sind in Tabelle 1 aufgeführt [6,7]. Wie weiter unten gezeigt wird, sind Normkonzentrationen mit dieser Methode nicht messbar, jedoch können einige höhere Arbeitsplatzkonzentrationen und mit Sicherheit akut-toxische und komatös-letale Konzentrationen gemessen werden.

Tab. 1: Konzentrationen von UV-absorbierenden Lösemitteln im Blut [6,7].

Lösemittel	Konzentration, µg/ml			Todesfälle
	Normal	Arbeitsplatz	Toxisch	
Benzol	0,0001 – 0,006	0,008 – 0,2		0,9 – 120 (8 Fälle)
Benzylalkohol			66-148	
Dimethylsulfoxid		0,5 – 0,6 (dermal)	1,6 – 3,0	
Styrol	bis 0,0009	0,0005 – 0,004	0,05 – 4,8	
Tetrachlorethylen		0,0004 – 0,003	22	44, 115
Toluol	0,005 – 0,001	0,4 – 1,2	0,3 – 30; 0,8 – 7,7	10 – 48, 50 – 79
Trichlorethylen			16 – 57	3 – 110 (20 Fälle)
Xylol	0,0017	1 – 2,1		3 – 40, 110

In Tabelle 2 sind einige in der Literatur beschriebene Unfälle oder Suizide mit UV-absorbierenden Lösemitteln zusammengestellt. Soweit Konzentrationen gemessen wurden, erfolgte dieses in der Regel gaschromatographisch. Auch hier liegen die Konzentrationen in der Regel deutlich oberhalb 1 µg/ml und sollten daher gut erfassbar sein.

Tab. 2: In der Literatur beschriebene Unfälle oder Suizide mit UV-absorbierenden Lösemitteln

Vergiftungsfall	Lösemittel	Konzentration in µg/ml *	Literatur
Sturz eines Malers aus der Höhe bei akuter Toluol-Vergiftung	Toluol	B 48	[8]
Suizid durch Trinken von Lack-Verdünner	Toluol	HB li 308; re 226	[9]
Tödliche Vergiftung mit Benzol auf einen Cargoschiff	Benzol	B 31,7; U 2,26	[10,11]
Sturz eines Arbeiters in ein Trichlorethylen-Entfettungsbad	Trichlorethylen	B 31,4	[12]
Suizid nach Ingestion von Xylol	Xylol	n. g.	[13]
Tödliche Inhalation von Verdünner-Dämpfen im Kofferraum	Toluol Xylol Ethylbenzol	B 56,4 B 4,5 B 6,8	[14]
Suizidversuch durch Injektion von 8 ml Xylol	Xylol	n. g.	[15]
Ingestion von Schwefelkohlenstoff	CS ₂	n. g.	[16]
Ingestion von Rapsöl, das mit Anilin denaturiert war	Anilin	n. g.	[17,18]
2 Fälle von Toluol-Vergiftung beim Parkettlegen	Toluol	B 17 und 16	[19]
Trichlorethylenvergiftung bei drei Männern	Trichlorethylen	B 0,38 – 0,70	[20]
Akute Tetrachlorethylenvergiftung	Tetrachlorethylen	B 21,5	[21]
Todesfall durch versehentliche Benziningestion	Kohlenwasserstoffe	B 51	[22]
2 Vergiftungsfälle mit nitromethanhaltigem Treibstoff	Nitromethan	n. g.	[23]
Vergiftung nach Ingestion von 30 – 40 ml Nitrobenzol	Nitrobenzol	n. g.	[24]

* B = Blut, HB = Herzblut, U = Urin, n. g. = nicht gemessen

3. Experimentelles

3.1 Lösemittel und Herstellung der Messlösungen

Die für die Untersuchungen verwendeten Lösemittel und Reagenzien wurden in möglichst hoher Reinheit von der Firma Merck/Darmstadt bezogen. Die für die Messungen verwendeten Stammlösungen der Konzentration 1 mg/ml in der mobilen Phase oder in Acetonitril wurden durch Pipettieren mittels Mikroliterspritze unter Berücksichtigung der Dichte hergestellt. Entsprechende Volumina dieser Lösungen wurden zur Erprobung der Nachweisbarkeit zu Serum hinzugefügt.

3.2 HPLC-Bedingungen

Die Messungen wurden mit einer HPLC-Anlage der Firma Biotek gemessen, die aus einem Autosampler (SA 560), einer Pumpe (Pump system 52 X), einem Entgaser (3493) und einem Photodiodenarray-Detektor (DAD 540) bestand. Anlage und Detektor wurden von einem Computer aus gesteuert (Software: Kroma System 2000 V.1.8.1). Hinter diese Anlage war zusätzlich auch ein Photodiodenarray-Detektor der Firma Shimadzu (SDP-M 10 AVP) geschaltet. Der Shimadzu-Detektor wurde von einem zweiten Computer aus mit der Software Class-VP 5.1 betrieben.

Es wurden die allgemein bei der Erstellung und Anwendung der Spektrenbibliothek gewählten Messbedingungen benutzt [5]. Die Trennsäule war eine CC 250/4 Lichrospher 100-5-RP-8 ec Säule mit einer CC 8/4 Lichrospher 100 RP 8 ec 5 µm Vorsäule.

Es wurden zwei mobile Phasen verwendet, die sich im Mengenverhältnis Acetonitril/Phosphatpuffer unterschieden:

- Eluent A: 1020 ml Phosphatpuffer pH 2,3 und 600 ml Acetonitril (UV-Qualität, Merck/Darmstadt)
- Eluent B: 450 ml Phosphatpuffer pH 2,3 und 750 ml Acetonitril.

Die Fließgeschwindigkeit betrug 1 ml/min, es wurde bei Raumtemperatur (20–25 °C) gemessen.

3.3 Probenvorbereitung

500 µl Serum oder Vollblut wurden in ein Eppendorf-Gefäß pipettiert, mit 500 µl Acetonitril versetzt und 2 min am Vortexer vermischt. Das dabei gefällte Eiweiß wurde durch Zentrifugieren abgetrennt. Von dem klaren Überstand wurden 100 µl in ein HPLC-Vial zur Messung abgenommen und an der HPLC-Anlage unter den für das jeweilige Lösemittel geeigneten Bedingungen gemessen.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 UV-Spektren und Retentionszeiten einiger Lösemittel

In Tabelle 3 sind für 38 Lösemittel und andere flüchtige Reagenzien die relativen Retentionszeiten und charakteristischen UV-Daten aufgeführt. Die Spektren von acht flüchtigen aromatischen Verbindungen sind in Abb. 1 und die von acht andersartigen Lösemitteln in Abb. 2 dargestellt.

Tabelle 3: HPLC-DAD-Daten einiger Lösemittel und anderer flüchtiger Reagenzien

Substanz	Mobile Phase	Korr. RRT	UV-Maxima nm	UV-Minima nm	Schultern nm	LL _{UV}	LL _{UV+RRT}
Aniline	A	0,06	233, 260, 282	218, 258, 267	254	1	1
Anisole	A	1,20	218, 270, 276	206, 238, 274	263	5	1
Benzaldehyde	A	0,59	200, 247, 281	217, 276		1	1
Benzene	A	1,26	200, 209, 248, 254	202, 245, 251, 258		1	1
Benzonitrile	B	0,22	222, 264, 270, 277	206, 244, 266, 275	227, 231	1	1
Benzyl acetate	B	1,20	205, 257	259		1	1
Benzyl alcohol	A	0,35	205, 257	202		22	2
Benzylamine	A	0,05	205, 251, 256, 261	229, 252, 259, 265		2	2
Bromobenzene	B	2,66	210, 254, 260	209, 258	215, 222	1	1
Carbon disulfide	A	1,16	206			5	5
Chlorobenzene	A	2,21	209, 257	203, 236	213	1	1
Cumene	B	0,67	206, 254, 260, 267	202, 231, 255, 265	216, 245	22	1
Dimethylformamide	A	0,06			226	2	1
Dimethylphthalat	B	1,90	225, 275	216, 261		1	1
Dimethylsulfoxide	A	0,03	207	203		3	1
Ethyl benzoate	A	1,93	229, 273	209		2	1
Ethylbenzene	B	0,58	206, 254, 261, 268	202, 232, 255, 266		21	1
Isobutyl nitrite	A	0,01	200			4	1
Isopentyl nitrite	A	0,02	200			4	3
Methyl iodide	A	0,66	250	216		1	1
Naphthalene	B	0,55	220, 266, 275, 284	236, 270, 281	247, 256	1	1
Nitrobenzene	A	1,03	264	227	212	1	1
Nitromethane	A	0,17	200			5	2
Phenyl acetate	A	0,88	258, 264	243, 263	200	1	1
1-Phenylethanol	A	0,39	205, 251, 257, 263	202, 254, 261		25	1
2-Phenylethanol	A	0,39	206, 253, 258, 267	202, 254, 266		22	3
Phenylacetone	A	0,74	252, 258	255	211	3	1
Propyl benzoate	B	0,54	228, 272, 279	209, 259, 278	265	2	1
Pyridine	A	0,03	200, 255	220, 282	250, 261	1	1
Styrene	A	2,70	203, 247, 281, 290	221, 278, 287	206, 212	1	1
Tetrachloroethylene	B	0,63			211, 217	1	1
Toluene	A	2,12	206, 261	202		22	2
Trichloroethylene	B	0,43			210	3	1
Vinyl chloride	A	0,74				2	1
o-Xylene	B	0,57	263, 270	233, 268	212	2	1
m-Xylene	B	0,60	264, 272	237, 270	215	1	1
p-Xylene	B	0,60	264, 272	237, 270	217, 222	1	1

Korr. RRT = Relative bezüglich der Totzeit korrigierte Retentionzeit, bezogen auf 5-p-Methylphenyl-5-phenylhydantion (mobile Phase A) bzw. p-Phenylbenzophenon (mobile Phase B)

LL_{UV} = Länge der Liste positiver Suchergebnisse in der Spektrenbibliothek ([5], 2682 Substanzen) bei ausschließlicher Verwendung des UV-Spektrums

LL_{UV+RRT} = Länge der Liste positiver Suchergebnisse bei ausschließlicher Verwendung des UV-Spektrums und der Retentionszeit

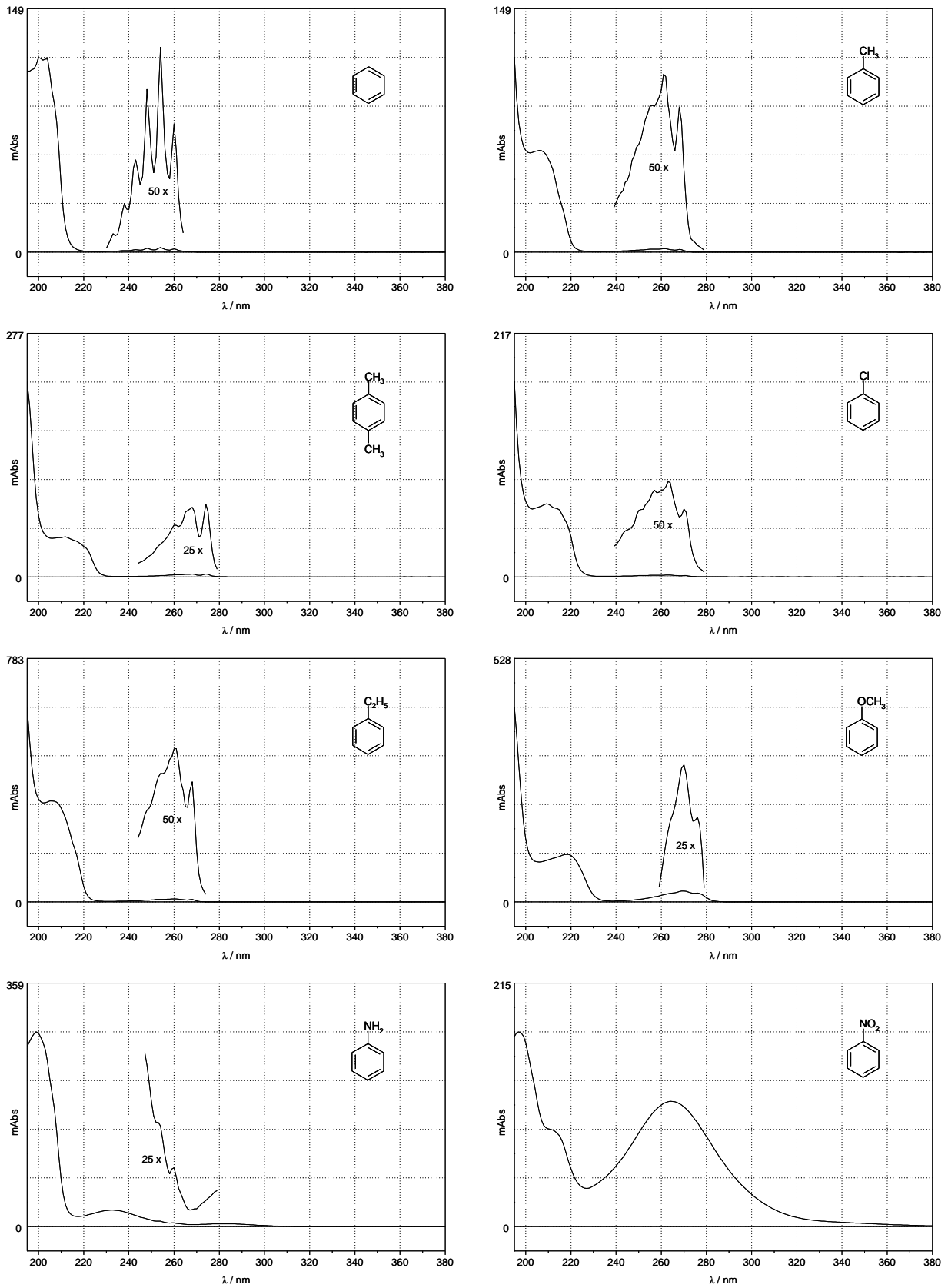


Abb. 1. UV-Spektren einiger flüchtiger aromatischer Verbindungen: Von oben links nach unten rechts: Benzol, Toluol, p-Xylol, Chlorbenzol, Ethylbenzol, Anisol, Anilin, Nitrobenzol.

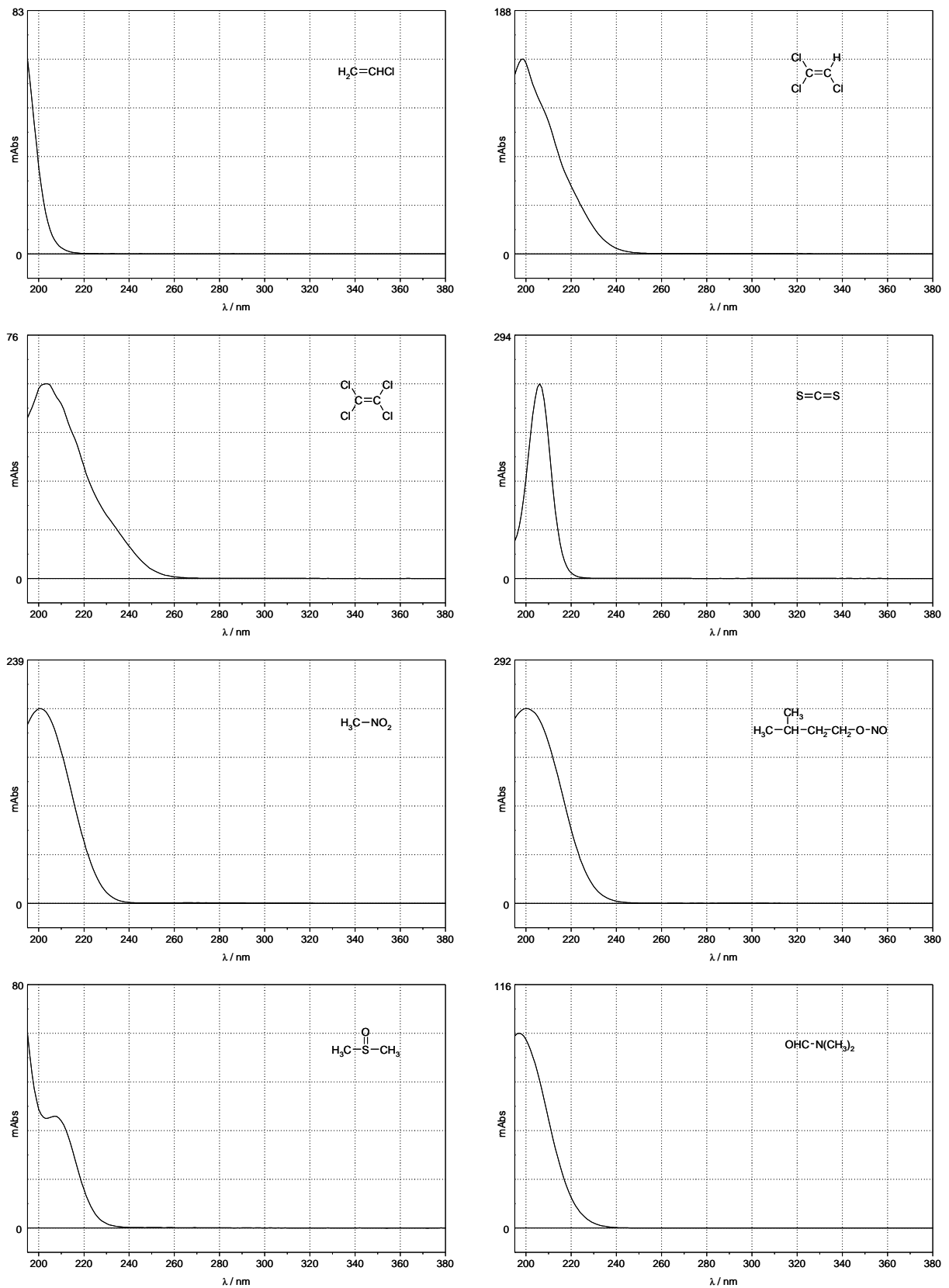


Abb. 2 UV-Spektren einiger nichtaromatischer UV-absorbierender Lösemittel und Reagenzien. Von oben links nach unten rechts: Vinylchlorid, Trichlorethylen, Tetrachlorethylen, Schwefelkohlenstoff, Nitromethan, Isoamylnitrit, Dimethylsulfoxid, Dimethylformamid.

Weiterhin wurden einige weitere toxikologisch relevante Lösemittel und Inhalationsnarkotika überprüft, für die aufgrund von mehreren geminalen C-Halogenbindungen eine UV-Absorption zwar nicht auszuschließen war, die aber auch bei Injektion vom 10 µg und einer Detektionswellenlänge von 195 nm kein ausreichendes HPLC-Signal lieferten (Tab. 4).

Tabelle 4: Toxikologisch relevante Lösemittel und Inhalationsnarkotika, die nach Überprüfung auch bei 195 nm kein ausreichendes HPLC-DAD-Signal lieferten.

Chloroform	Desfluran	1,2-Dichlorethan
Dichlormethan	Dimethylsulfat	Isofluran
Sevofluran	Tetrachlorkohlenstoff	Trichlorethanol

Aufgrund ihrer Lipophilie haben die meisten Lösemittel trotz der geringen Molmasse in der mobilen Phase A eine genügend lange Retentionszeit, um von den nach Proteinfällung auftretenden Matrixpeaks gut abgetrennt zu werden. Einige der alkylierten Benzolderivate und Naphthalin werden sogar günstiger in der acetonitrilreicheren mobilen Phase B eluiert. Die sehr hydrophilen Lösemittel Dimethylsulfoxid und Dimethylformamid sowie die stark basischen Reagenzien Pyridin und Anilin, die bei pH 2,3 protoniert vorliegen, lassen sich nach dem hier beschriebenen Verfahren nicht von den Matrixpeaks abtrennen. Wegen der kurzwelligen Absorption empfiehlt es sich, die quantitativen Messungen bei 200–210 nm vorzunehmen, um genügende Empfindlichkeit zu erreichen.

Die Spektren erscheinen z. T auf den ersten Blick unspezifisch. Eine genauere Überprüfung durch systematischen Spektrenvergleich in der gesamten Bibliothek zeigt aber [25], dass Spektren wie die von Nitromethan oder Tetrachlorethylen mit Listenlängen von 2 oder 1 (vgl. Tab. 3) keineswegs sehr häufig sind und dass unter Einbeziehung der Retentionszeiten sehr deutliche Hinweise auf ihre Anwesenheit erhalten werden.

Diese Listenlängen geben an, wieviel positive Suchergebnisse einschließlich des richtigen für die einzelnen Spektren bei Anwendung der 2682 Verbindungen enthaltenden Spektrenbibliothek mit oder ohne Einbeziehung der Retentionszeit erhalten werden.

4.2 Möglichkeiten der Konzentrationsbestimmung

Problem bei der Konzentrationsbestimmung flüchtiger Verbindungen aus Körperflüssigkeiten oder Organproben sind einerseits Verdunstungsverluste bei der Handhabung der Proben und andererseits erhebliche Matrixeinflüsse auf die headspace-gaschromatographischen Signale, die zusätzlichen Aufwand bei der Kalibrierung erfordern. In diesem Sinne erweist sich die Bestimmung von UV-absorbierenden flüchtigen Verbindungen als eine sehr einfache und vergleichsweise sichere Methode.

Zur Prüfung der Nachweisempfindlichkeit wurden unbelastete Serumproben mit 0,3, 1, 3 und 10 µg/ml von 12 flüchtigen Verbindungen versetzt, nach der unter Punkt 3.3 angegebenen Vorschrift durch Proteinfällung bearbeitet und mittels HPLC-DAD gemessen. Für die erhaltenen Peaks wurde jeweils die Nachweisbarkeit der Substanzen durch Überlagerung mit dem Bibliotheksspektrum überprüft. Als Beispiel sind in Abb. 3 die Spektren der vier Konzentrationen von Anisol dargestellt. Bis herab zu 1 µg/ml ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung, während bei 0,3 µg/ml bereits Rauschen und matrixbedingte Abweichungen erkennbar sind. Tabelle 5 fasst die Ergebnisse für die 12 Verbindungen zusammen. Es zeigt sich, daß die aromatischen Lösemittel bis herab zu 0,3 µg/ml, Schwefelkohlenstoff bis herab zu 1 µg/ml und die übrigen Substanzen bis herab zu 3 µg/ml meßbar sind. Diese Werte liegen deutlich unter den bei akuten Vergiftungen in der Literatur beschriebenen Konzentrationen (Tab. 1 und 2). Die Überprüfung bei einigen der Verbindungen zeigte erwartungsgemäß einen linearen Zusammenhang zwischen der Konzentration und der Peakfläche.

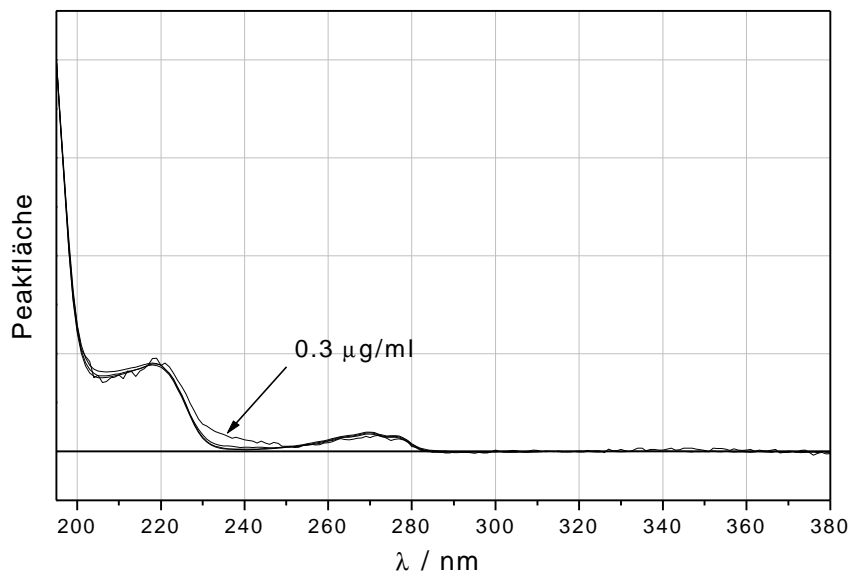


Abb. 3: Normierte UV-Spektren von Anisol bei 10 – 0,3 µg/ml

Tab. 5: Nachweisbarkeit von im Serum gemessenen Lösemitteln. Die Zahl in Klammern gibt die Wellenlänge an, bei der das Chromatogramm aufgenommen wurde.

Lösemittel	Nachweisbarkeit bei			
	10 µg/l	3 µg/ml	1 µg/ml	0,3 µg/ml
Anisol (225)	+	+	+	+
Benzylalkohol (206)	+	+	+	+
Benzol (206)	+	+	+	+
Chlorbenzol (206)	+	+	+	+
Nitromethan (200)	+	+	-	-
2-Phenylethanol (206)	+	+	+	+
Schwefelkohlenstoff (200)	+	+	+	-
Tetrachlorethylen (200)	+	+	-	-
Trichlorethylen (200)	+	+	-	-
Toluol (206)	+	+	+	+
Vinylchlorid (200)	+	-	-	-
p-Xylol (206)	+	+	+	+

Im Rahmen der Notfalldiagnostik ist im allgemeinen eine orientierende 'semiquantitative' Konzentrationsangabe ausreichend. Diese kann leicht dadurch erfolgen, daß man unter den gewählten HPLC-Bedingungen zunächst die Peakfläche für eine bestimmte Substanzmenge (z. B. 1 µg) aus einer Lösung in der mobilen Phase bestimmt. Die in der Probe vorhandene Konzentration c_x kann danach aus der dort gemessenen Fläche durch Gl. (1) berechnet werden.

$$c_x = \frac{\text{Peakfläche in der Probe} \cdot 2000}{\text{Peakfläche (1 µg)} \cdot \text{Injiziertes Volumen in µl}} \quad (1)$$

Der Faktor 2000 ergibt sich aus dem Verdünnungsverhältnis bei der Proteinfällung (1 + 1) und der Umrechnung von ml auf µl. Bei der häufig bevorzugten Proteinfällung mit dem doppelten Volumen Acetonitril wäre 3000 einzusetzen.

Dieses vereinfachte, allgemein anwendbare Verfahren geht von einer gleichmäßigen Verteilung des Analyten zwischen der nach der Fällung erhaltenen Flüssigkeit und dem gefällten Protein aus. Letzteres wird aber in der Regel weniger Lösemittel enthalten, so daß leicht zu hohe Werte gemessen werden. Für genauere Messungen ist daher eine richtige Kalibrierung vorzunehmen, oder, wenn es sich um Einzelproben handelt, die Methode des Kalibrierzusatzes anzuwenden.

4.3 Anwendungsbeispiel

Die Methode wurde am Beispiel eines Tötungsverbrechens (SN 006/00) angewendet. Der zunächst unbekannt und später identifizierte 22jährige Betroffene wurde von einem Spaziergänger in der Nähe einer Mülldeponie in unbedeutendem Zustand tot aufgefunden. Der Leichnam habe Verletzungen an Hals und Kopf sowie Verbrennungen aufgewiesen. Bei der Obduktion sei Geruch nach Benzin auffällig gewesen. Offensichtlich war das Opfer mit Benzin übergossen und angezündet worden.

Die Herzblutprobe wurde entsprechend Abschnitt 3.3 durch Acetonitrilfällung und HPLC-DAD untersucht. Das Chromatogramm ist in Abb. 3 dargestellt. Mit Hilfe der Bibliothek konnten Benzol, Toluol, die drei Xylole und Naphthalin identifiziert werden. Die nach Gl. (1) „semiquantitativ“ berechneten Konzentrationen sind in Tab. 6 aufgeführt. Die Zusammensetzung des Gemisches weist auf Fahrbenzin hin, das einen erheblichen Anteil aromatischer Bestandteile enthält.

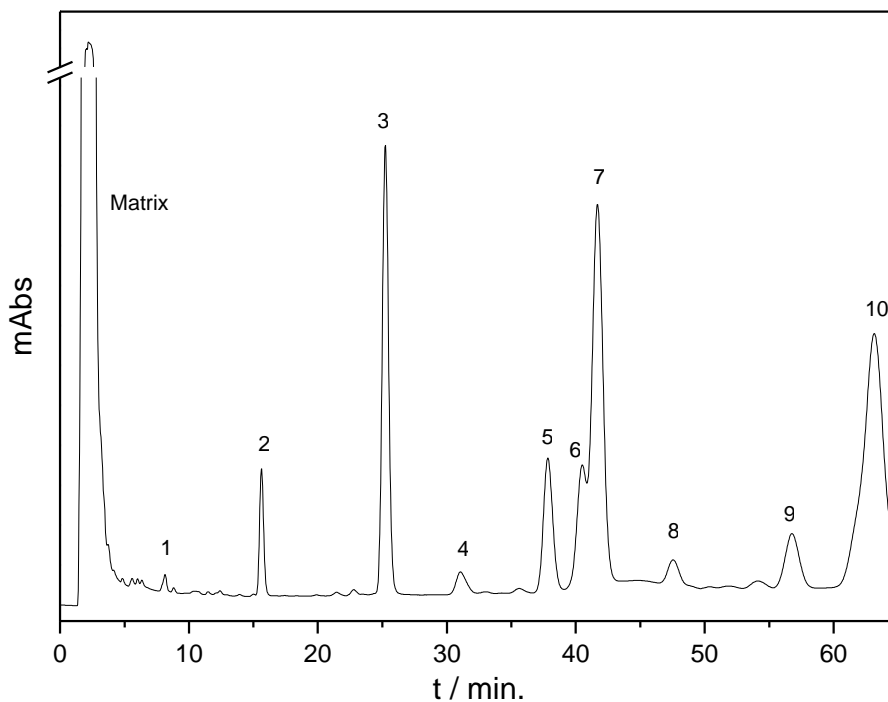


Abb. 3: Chromatogramm der Herzblutprobe im Fall SN006/00. Detektion bei 206 nm.

Das Ergebnis lässt den Schluss zu, dass das Opfer zum Zeitpunkt des Übergießens mit Benzin noch am Leben war. Derart hohe Konzentrationen im Herzblut, die im komatös-letalen Bereich liegen, können durch Aspiration des Benzins in die Lunge erklärt werden, von wo aus sie mit den letzten Schlägen noch ins Herz gelangten. Dieser Ablauf wurde später bei der Vernehmung der Täter bestätigt. In der Venenblutprobe wurden keine Benzinbestandteile nachgewiesen.

Tab. 6: Semiquantitative Ergebnisse der HPLC-DAD-Untersuchung der Herzblutprobe im Fall SN 006/00 (vgl. Abb. 3).

Peak Nr.	Verbindung	Konzentration in µg/ml
2	Benzol	44
3	Toluol	180
5	o-Xylol	66
6	Naphthalin	42
7	m-Xylol + p-Xylol	Ca. 240

5. Schlussfolgerungen

Obwohl die Analyse flüchtiger Verbindungen nach wie vor eine Domäne der Gaschromatographie ist, erweist sich bei akuten Vergiftungen mit UV-absorbierenden Lösemitteln und anderen flüchtigen Reagenzien die HPLC-DAD als eine einfache Alternative. Insbesondere bei gezieltem Verdacht lässt sich mit vergleichsweise geringem Aufwand eine näherungsweise Konzentrationsangabe erreichen, wobei Verdunstungsverluste und Matrixeinflüsse weitgehend vermieden werden.

Literaturverzeichnis

- [1] B. Kolb; L. S. Ettre: *Static Headspace-Gaschromatography Theory and Praxis*. Wiley VCH (1997).
- [2] J. Pawliszyn: *Solid Phase Microextraction – Theory and Practice*. Wiley-VCH, Weinheim 1997.
- [3] J. Pawliszyn (Ed.): *Applications of Solid Phase Microextraction*. RSC Chromatography Monographs, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1999.
- [4] F. Pragst, M. Prügel und S. Schulze: Use of the Multiple Headspace Extraction Gaschromatography for the Quantitative Investigation of Intoxications by Volatile Compounds. In R. K. Müller (Ed.): *Contributions to Forensic Toxicology*. Proceedings of the 31st International Meeting of TIAFT, Molinapress, Leipzig 1994, pp. 408-14.
- [5] F. Pragst, M. Herzler, S. Herre, B.-T. Erxleben, M. Rothe: *UV-Spectra of Toxic Compounds. Database of Photodiode Array UV Spectra of Illegal and Therapeutic Drugs, Pesticides, Ecotoxic Substances and Other Poisons*. Verlag Dieter Helm, Heppenheim 2001.
- [6] R.C. Baselt, R.H. Cravey: *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, Fourth Edition, Chemical Toxicology Institute (1995).
- [7] E.G.C. Clark: *Clarke's Isolation and Identification of drugs*, Second Edition, The Pharmaceutical Society of Great Britain (1986).
- [8] S. Takeichi, T. Yamada, I. Shikata: *Acute toluene poisoning during painting*, *Forensic Sci. Int.* 32 (1986) 109-15.
- [9] M. Yoshida, A. Akane, Y. Okii, S. Yoshimura: *Analysis of organic compounds in a case of suicide by ingestion with lacquer thinner*, *Nippon Hoigaku Zasshi* 49 (1995) 472-7.
- [10] N. Barbera, G. Bulla, G. Romano: A fatal case of benzene poisoning, *J. Forensic Sci.* 43 (1998) 1250-1.
- [11] S.P. Avis, C.J. Hutton: Acute benzene poisoning: a report of three fatalities, *J. Forensic Sci.* 38 (1993) 599-602.
- [12] M. Yoshida, S. Fukabori, K. Hara, H. Yasa: Concentrations of trichloroethylene and its metabolites in blood and urine after acute poisoning by ingestion, *Hum. Exp. Toxicol.* 15 (1996) 243-8.
- [13] I.D. Watson, D. McBride, K.R. Paterson: Fatal xylene self-poisoning, *Postgrad Med. J.* 62 (1986) 411-2
- [14] Y. Iwasaki, T. Miyazaki, M. Yashiki, T. Kojima: Analysis of thinner components using the Curie-point pyrolyser-gas chromatographic method in the tissues of a victim fatally poisoned, *Nippon Hoigaku Zasshi* 46 (1992) 271-5.
- [15] P. Sevcik, A. Hep, M. Peslova: Intravenous xylene poisoning, *Intensive Care Med* 18 (1992) 377-8.
- [16] Y. Yamada: A case of acute carbon disulfide poisoning by accidental ingestion (author's trans.), *Sangyo Igaku* 19 (1977) 140-1.
- [17] C. De Zorzi, A. Marchiori: Suicidal poisoning by ingestion of aniline oil, *Zacchia* 4 (1968) 553-62.

- [18] E. Casado de Frias, P.H. Andujar, F. Oliete, I.S. Diaz: Intoxication caused by ingestion of rape oil denatured with aniline, *Am. J. Dis. Child.* 137 (1983) 988-91.
- [19] W.P. Tan, E. Seow: Case reports on acute toluene poisoning during parquet flooring, *Ann. Acad. Med. Singapore* **26** (1997) 138-40.
- [20] P. Kostrewski, M. Jakubowski, Z. Kolacinski: Kinetics of trichloroethylene elimination from venous blood after acute inhalation poisoning, *J. Toxicol. Clin. Toxicol* 31 (1993) 353-63.
- [21] C. Köppel, I. Arndt, U. Arendt, P. Koeppel: *Acute tetrachloroethylene poisoning - blood elimination kinetics during hyperventilation therapy*, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 23 (1985) 103-15.
- [22] A. Carnevale, M. Chiaretti, N. De Giovanni: *Accidental death by gasoline ingestion. Case report and toxicological study*, *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 4 (1983) 153-7.
- [23] M. E. Mullins, C. A. Hammett-Stabler: Intoxication with nitromethane –containing fuels: Don't be "fueled" by the creatinine. *Clin. Toxicol.* 36 (1998) 315-320.
- [24] A. Kumar, R. Chawla, S. Ahuja, K. K. Girdhar, B. Bhattacharya: Nitrobenzene poisoning and spurious pulse oximetry. *Anaesthesia* 45(1990) 949-951.
- [25] M. Herzler, S. Herre and F. Pragst: Selectivity of substance identification by HPLC-DAD in toxicological analysis using a UV spectra library of 2682 compounds. *J. Anal. Toxicol.*, zur Publikation eingereicht.

Änderungen im Betäubungsmittelrecht

Benno Rießelmann, Berlin

Durch Veröffentlichung im Bundesgesetzblatt (s. BGBl. I, Nr. 64, S. 3338 vom 07.12.2001 und BGBl. I, Nr. 9, S. 612 vom 15.02.2002) wurden drei Stoffe neu dem Betäubungsmittelgesetz (BtMG) unterstellt. Es handelt sich um:

1. **Isocodein** (4,5 α -Epoxy-3-methoxy-17-methylmorphin-7-en-6 β -ol) wurde in die Anlage II des BtMG aufgenommen.
2. **Zolpidem** wurde in die Anlage III des BtMG eingefügt.
Betroffen sind jedoch nicht Zubereitungen zur oralen Anwendung, die ohne einen weiteren Stoff der Anlagen I bis III je abgeteilter Form bis zu 8,5 mg Zolpidem, berechnet als Base, enthalten.
3. ***g*-Hydroxybuttersäure (GHB)** wurde ebenfalls in die Anlage III des BtMG eingefügt. Ausgenommen sind die Ester und Ether dieser Säure sowie Zubereitungen zur Injektion, die je abgeteilter Form weniger als 2 g und weniger als 20 % GHB (berechnet als Säure) sowie keinen weiteren Stoff der Anlagen I bis III des BtMG enthalten.

Diese Regelungen sind zum 1. März 2002 in Kraft getreten.