

Anyagvizsgálati módszerek a bűnüldözésben

Kábítószerek II.

2019. február 19.

Csesztregi Tamás

Nemzeti Szakértői és Kutató Központ

Kábítószervizsgáló Szakértői Intézet

Leggyakoribb szakkérdések

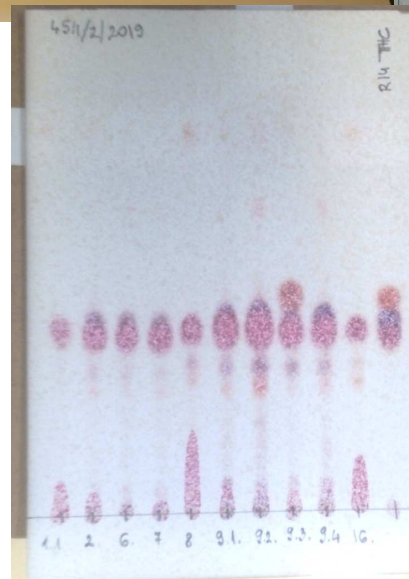
- A lefoglalt anyag tartalmaz-e kábítószer új pszichoaktív anyagot kábítószer prekuzort?

kvalitatív analízis

- Ha igen, mennyit?

kvantitatív analízis

Kábítószeresek kvalitatív analízise



Kábítószer-vizsgálatok módszerei

- „Tartalmaz-e kábítószer?”
- **Kvalitatív** analitikai módszerek
 - egyszerű fizikai/kémiai elővizsgálatok
 - oldhatóság, pH, olvadáspont, törésmutató, égetési próba
 - színreakciók
 - cseppreakciók, gyorsteszték
 - kromatográfia
 - réteg-, gáz-, folyadékkromatográfia, kapillárelektroforézis
 - spektroszkópia/spektrometria
 - infravörös, Raman, UV/látható, tömegspektrometria, NMR

Az NSZKK-ban rutinszerűen alkalmazott módszerek aláhúzással jelölve

Alapelvek

- **Ha nem mutatunk ki kábítószeret vagy új pszichoaktív anyagot, nincs kábítószerrel vagy új pszichoaktív anyaggal való visszaélés!**
- Pozitív eredmény:
 - (lehetőleg) két független mintavételből végzett
 - független vizsgálatok
 - egybehangzó pozitív eredménye
- Vizsgálatok „megkülönböztető ereje” (azonosító-képesség)
 - „A”: MS, IR, NMR, ...
 - „B”: GC, LC, TLC, CE, ...
 - „C”: színreakció, immunoassay, UV, olvadáspont, ...

Mintavételi stratégia

- Vizsgálatok mintaigénye
 - ~1-100 mg
- Homogenitás:
 - külső megjelenésre homogénnek látszó anyagok - durva összekeverés
 - több fázisú folyadékok esetén a fázisokat célszerű külön kezelni
- Egy kiszerezési egység:
 - szükséges minta kivétele tetszőleges helyről
- Több kiszerezési egység:
 - azonos külső megjelenésű egységek közül csak meghatározott számú egységet vizsgálunk (pl. $N = 10.000$ tablettá)
 - vizsgálandó egységek számának (n) meghatározása önkényesen vagy statisztikai alapon:
 - maximum n egység
 - $n = \sqrt{N}$, de legalább 10
 - hipergeometrikus eloszlás alapján
 - Bayes statisztika alapján

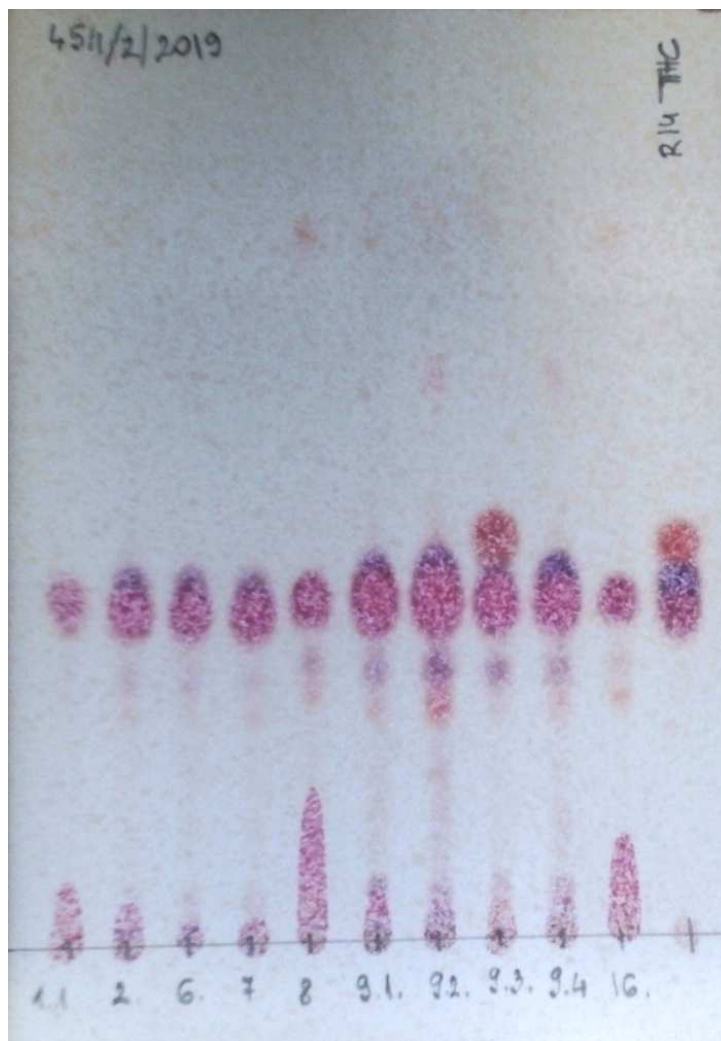
Elővizsgálatok

- Cseppreakció / színreakció
 - molekularészletre / funkciós csoportra jellemző reakciók
 - pl. Marquis reagens ($\text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_3\text{H}$ +formaldehid)



- Oldhatóság/elegyedés
 - oldhatóság pl. vízben, metanolban kloroformban
 - szerves folyadék vs. vizes oldat
- Égetés
 - elszenesedés (szerves anyag), lángfestés

Vékonyréteg-kromatográfia

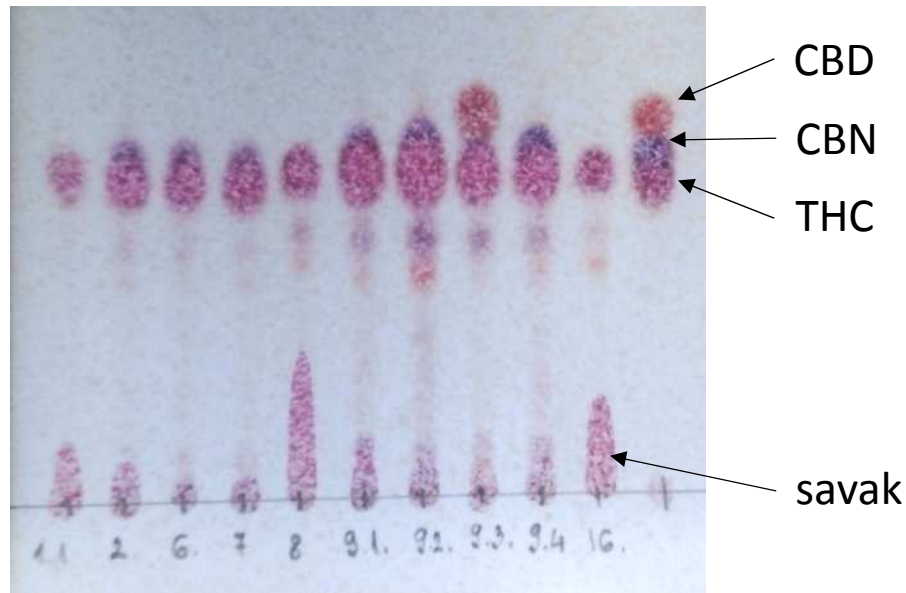


Vékonyréteg-kromatográfia

- Elve:
 - anyagok elválasztása kötött állófázison, folyadék mozgófázis alkalmazásával
 - előhívás színreagenssel vagy UV elnyelés alapján
 - pozitív, ha a minta kromatogramja a referenciaanyaggal azonos retenciójú és azonos színreakciót adó foltot tartalmaz
- Azonosítás:
 - a minta mellé felvitt megfelelő referenciaanyaggal (előzetes információ szükséges)
 - szelektív színreagens esetén egyértelmű
 - a réteglap szélein a foltok feljebb vándorolhatnak (szélhatás)
 - a kimutatási határ a felvitt oldat töménységével/mennyiségével javítható
- Alkalmazások:
 - marihuána, hasis hatóanyagainak azonosítása (szelektív színreakció)
 - izomerek elválasztása/azonosítása (pl. orto-, meta-, para-klórfenil-piperazin)
 - több kiszerezési egységben lévő anyag összetételének összehasonlítása

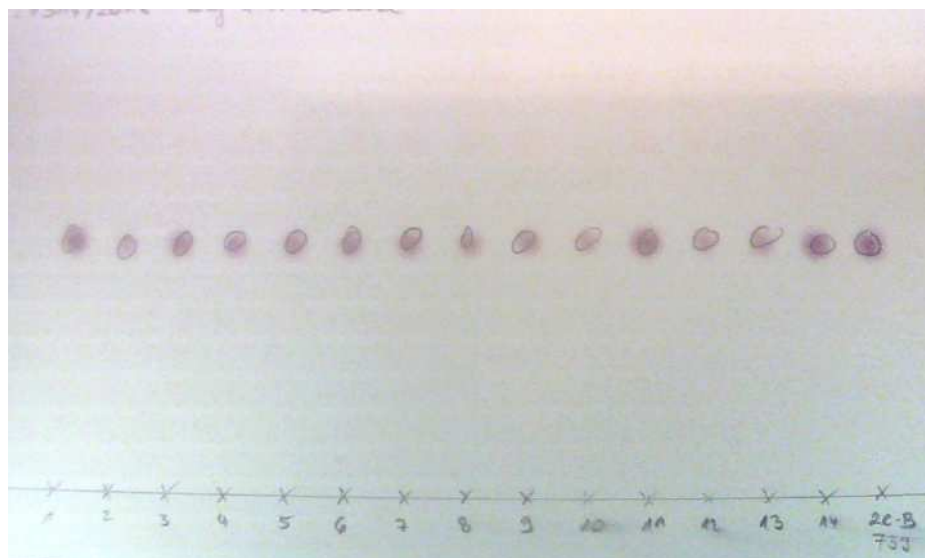
Marihuána hatóanyagai

- Célvegyület: THC (kábítószer), CBD, CBN, savak
- Réteg: Kieselgel 60 F₂₅₄
- Mozgófázis: toluol vagy hexán:diizopropil-éter (5:2)
- Detektálás: Fastblue-B só 2N NaOH oldata
- **szelektív színreagens + elválasztás = egyértelmű azonosítás**



„10.000 db tabletta”

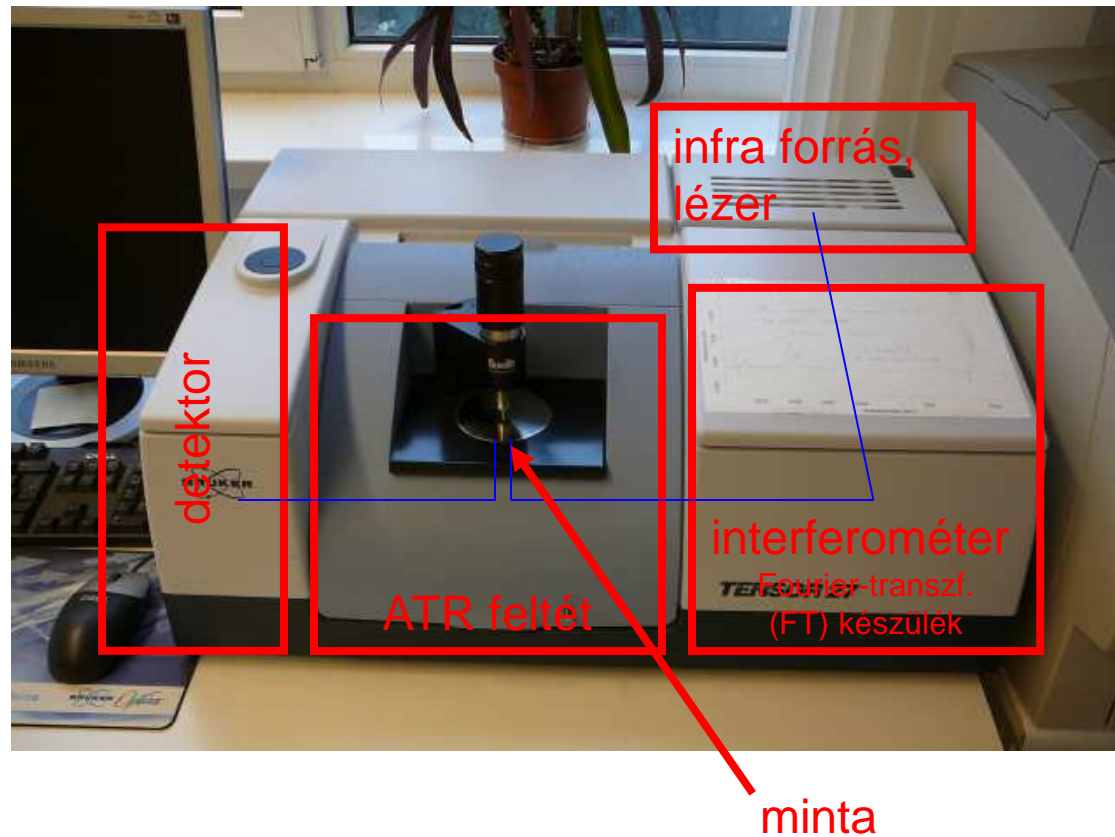
- Célvegyület: pl. amfetamin, MDMA, 2C-B
- Réteg: Kieselgel 60 F₂₅₄
- Mozgófázis: Etil-acetát:Metanol:25% ammónia
10:1:1
- Detektálás: UV; Dragendorff reagens; 10% kénsav
(Amfetaminra: ninhidrin)



„10.000 db tabletta”

- Hipergeometrikus eloszlás alapján ($k=0,9$; $\alpha=0,95$):
29 db tabletta vizsgálata
 - egyforma:
 - 95% bizonyossággal kijelenthető, hogy
 - a tabletták legalább 90%-a „egyforma”
 - (a tapasztalati adatok alapján ennél nagyobb bizonyosság; ld. Bayes)
 - nem egyforma:
 - „Nézzük meg jobban a tablettákat!”
 - általában a színárnyalat vagy a lenyomat különböző

Infravörös spektroszkópia

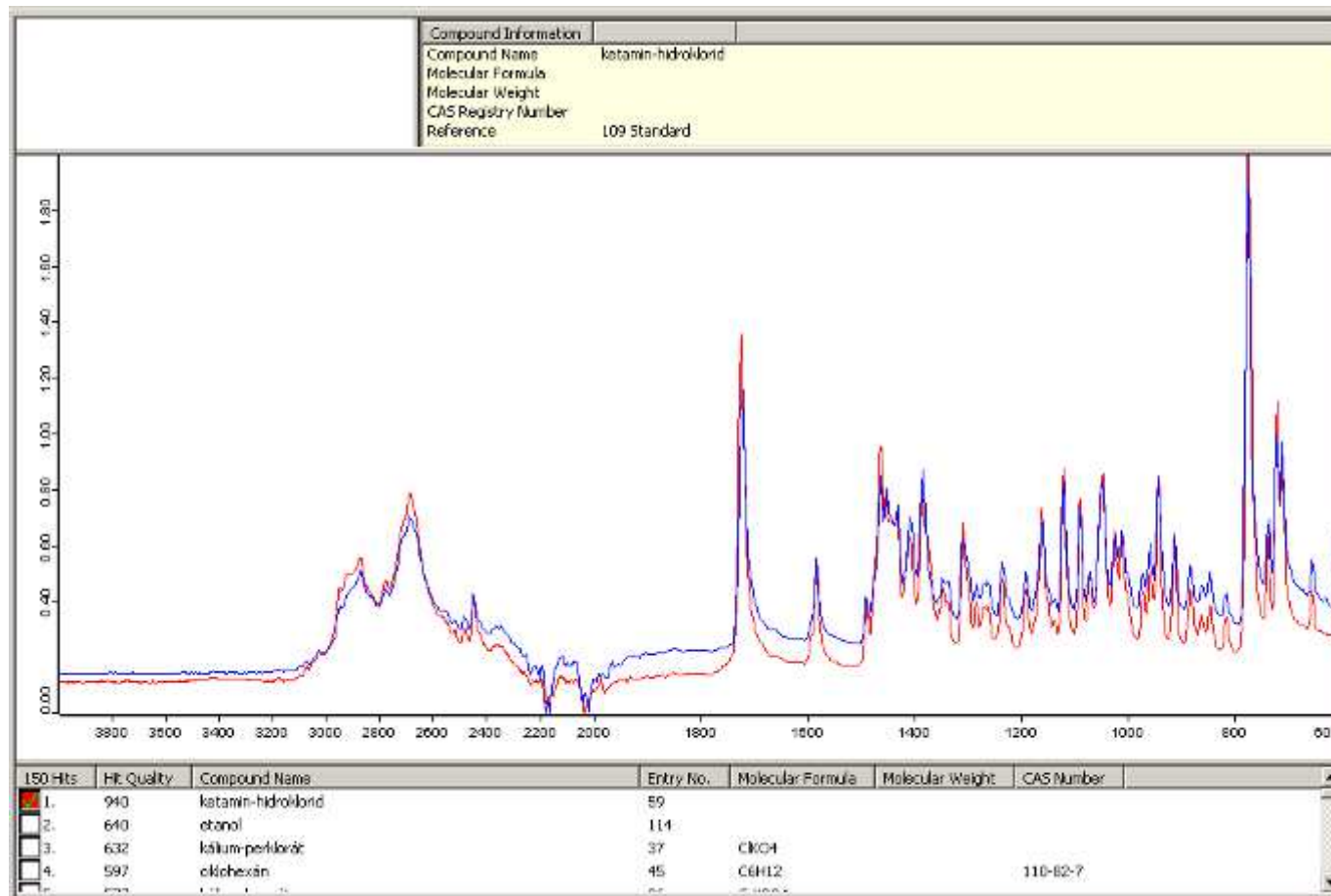


Infravörös spektroszkópia

- Elve:
 - molekula rezgéseinek megfelelő sávok
 - elegyekben a komponensekre összeadódik
- Azonosítás:
 - tiszta anyagokra egyértelmű (pl.: ketamin, kokain, GBL, designer drogok!!!)
 - nagy koncentrációban, legfeljebb néhány komponens
 - nincs elválasztás, a komponensek „zavarhatják” egymás jelét
 - csak néhány szervesen sónak nincs elnyelése
 - víz jelenléte módosíthatja egyes rezgések frekvenciáját (H-híd)
 - bázis és különböző sóformák megkülönböztetése
- ATR feltét jellemzői:
 - nem igényel minta-előkészítést (!)
 - vizes oldatok, illékony folyadékok is vizsgálhatók (!)
 - mintaigény ~1 mg (inhomogenitás problémás lehet)
 - mérés, kiértékelés időigénye ~ 2 perc / minta

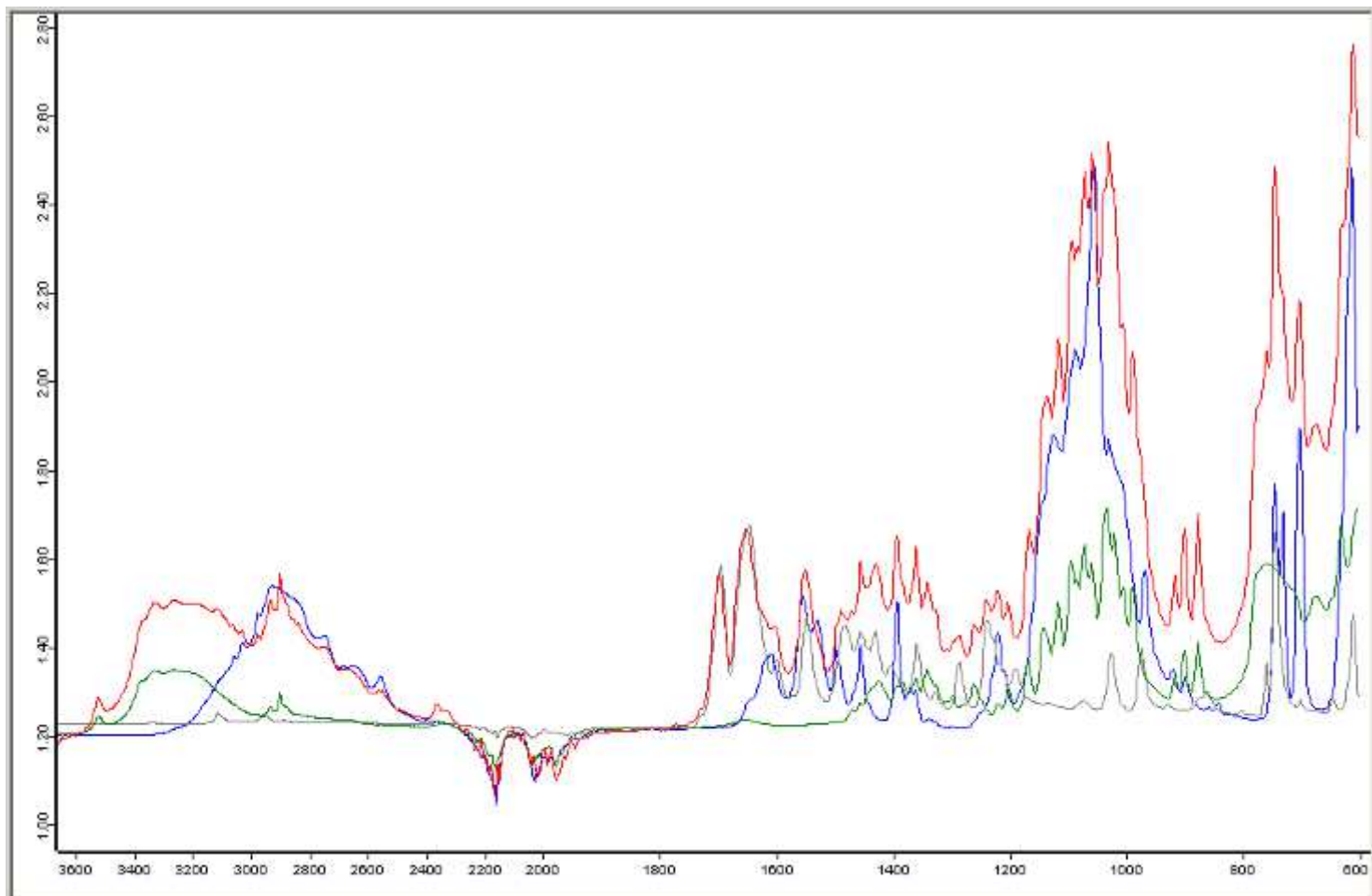
Tiszta anyag azonosítása

- Ketamin-hidroklorid



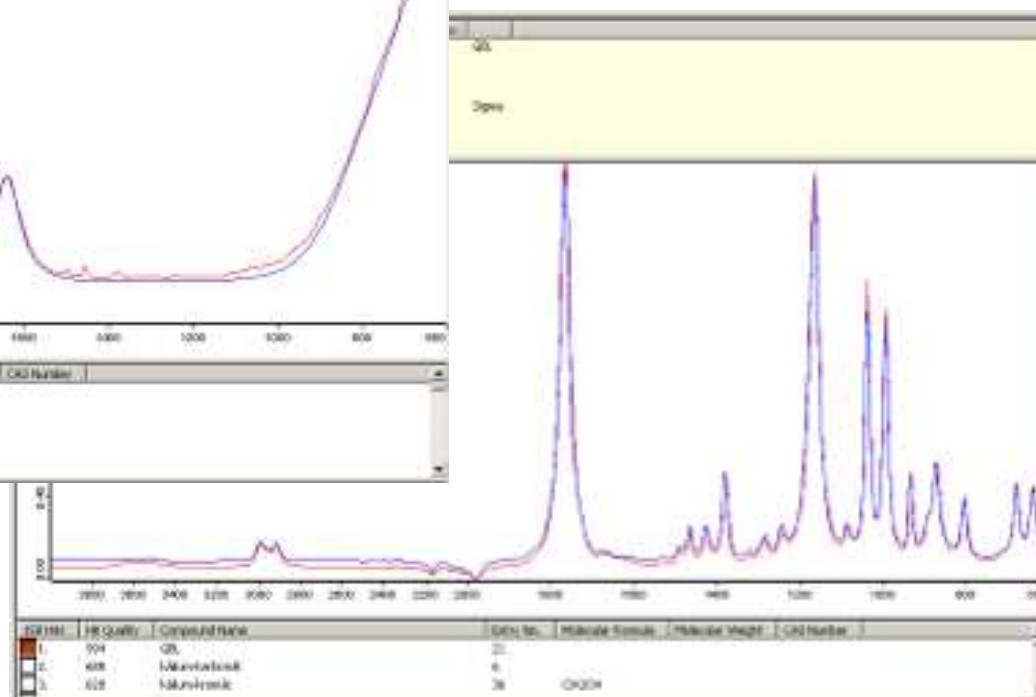
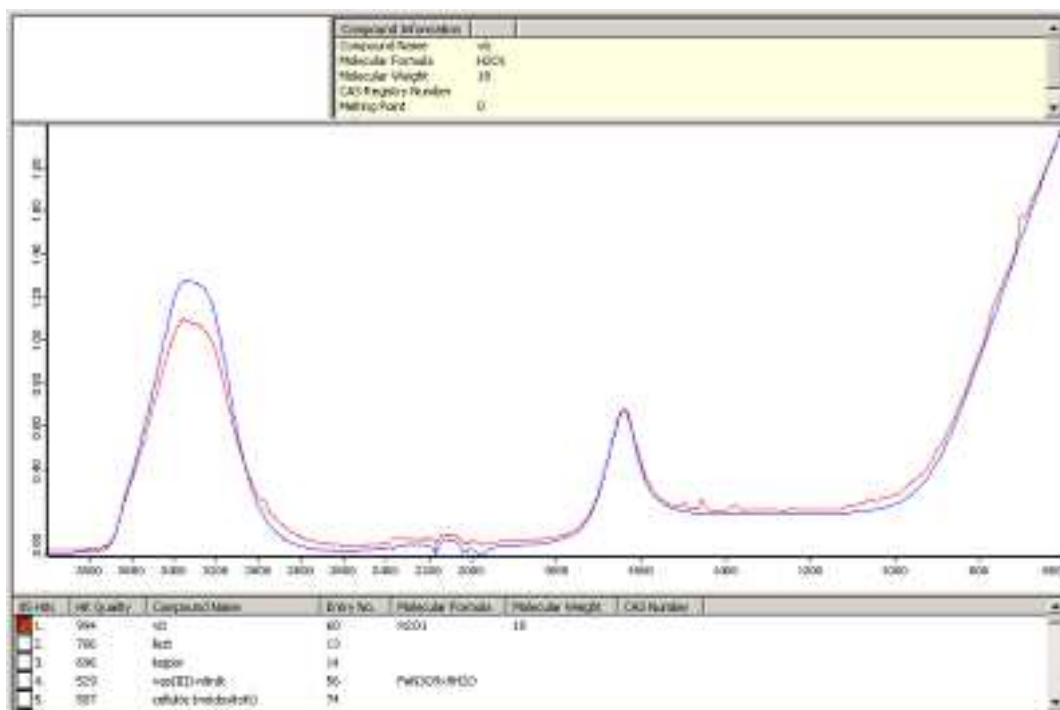
Többkomponensű keverék

- „Speed” = amfetamin + koffein + laktóz



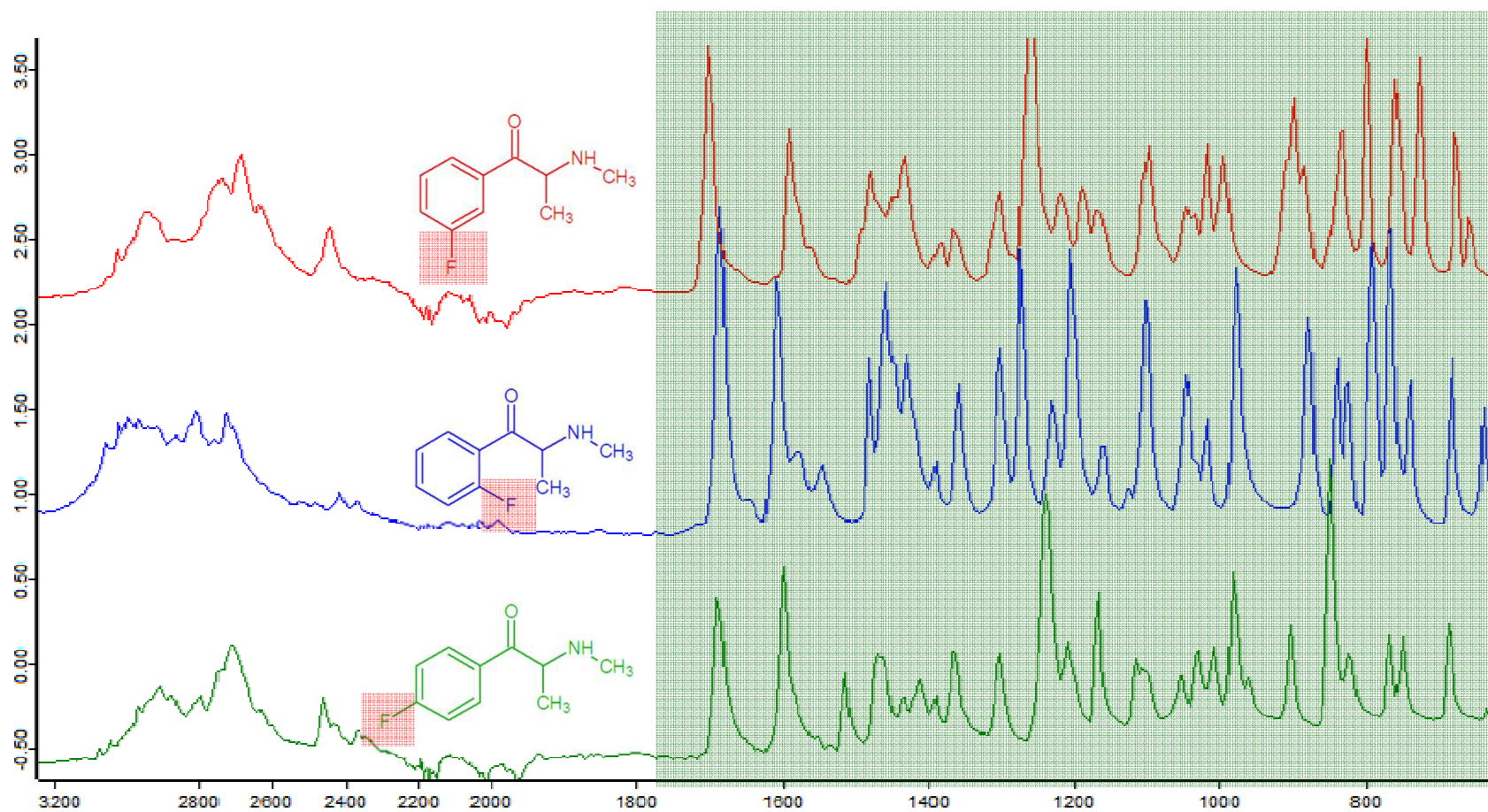
Víz vagy szerves folyadék

- Vizes oldat vs. GBL (színtelen, szagtalan folyadékok)

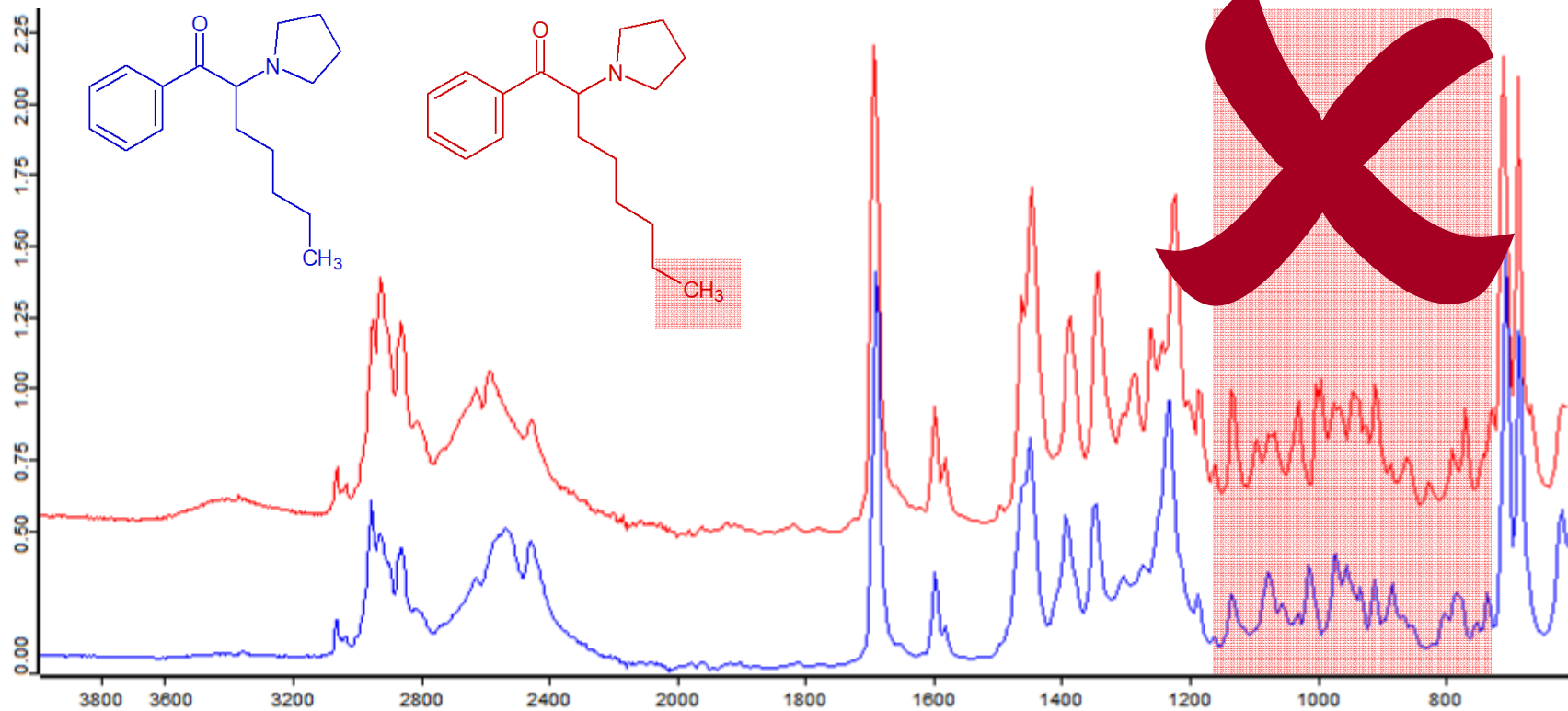


Szerkezeti izomerek

- orto, meta, para

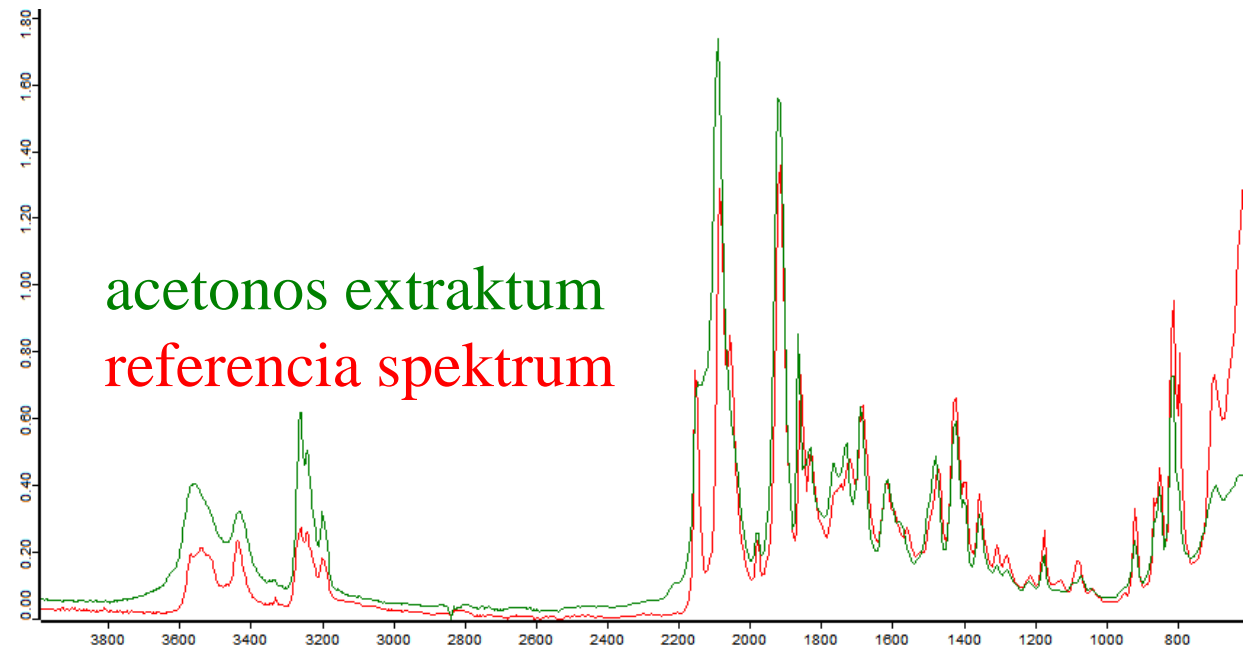


Homológok



Extraktumok vizsgálata

- Szintetikus kannabinoidok növényi anyagon
 - extrakció acetonnal vagy hexánnal
 - oldószer elpárologtatása az ATR feltéten



GC-IR technikák

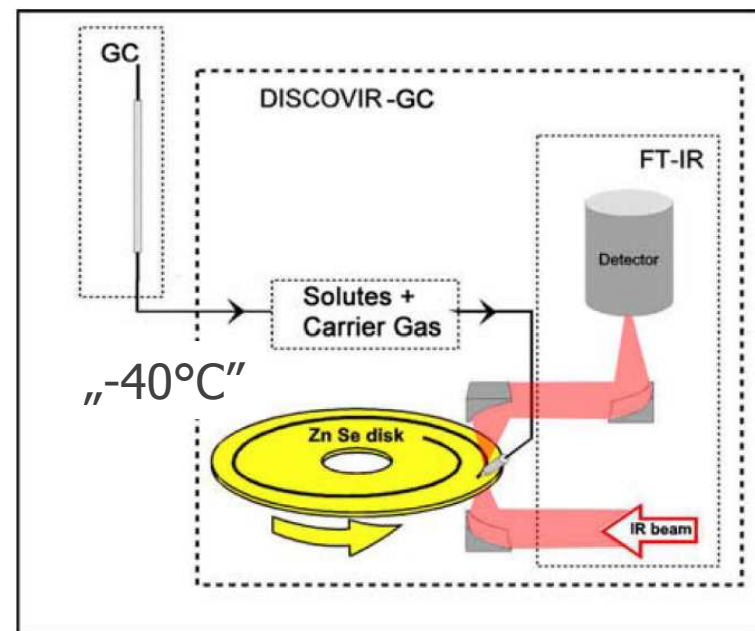
- Gázkromatográf kapcsolása IR detektorral
 - Gázfázisú IR detektálás
 - Mérés IR gázcellában a GC kolonnához kapcsolva
 - Gázfázisú és kondenzált fázisú spektrumok különbözők
 - Több laborban régóta rutin módszer



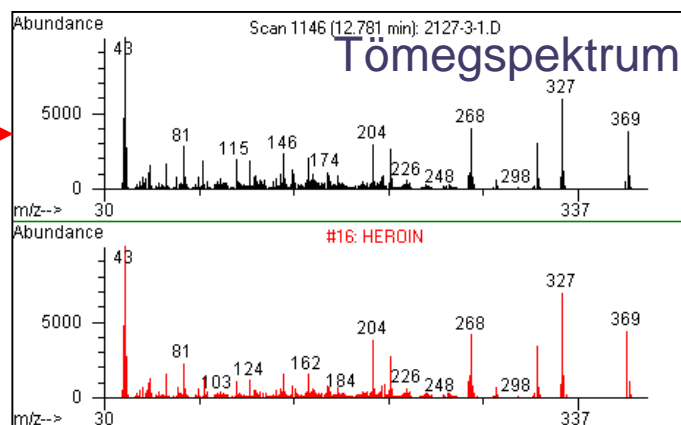
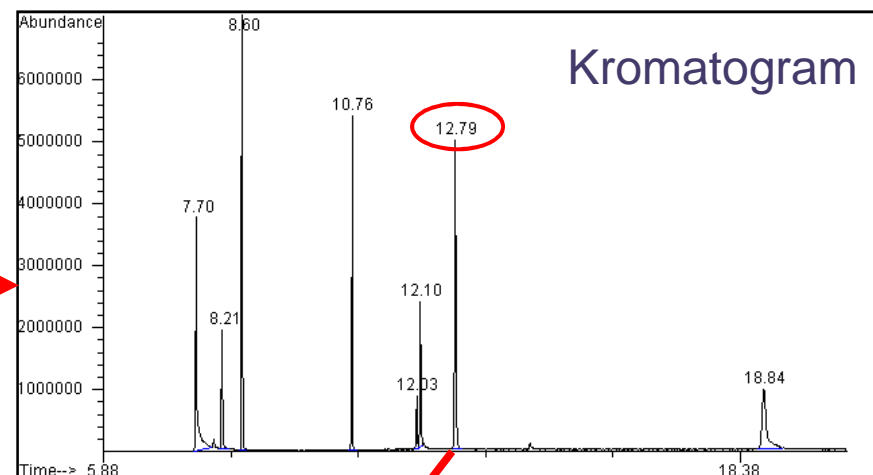
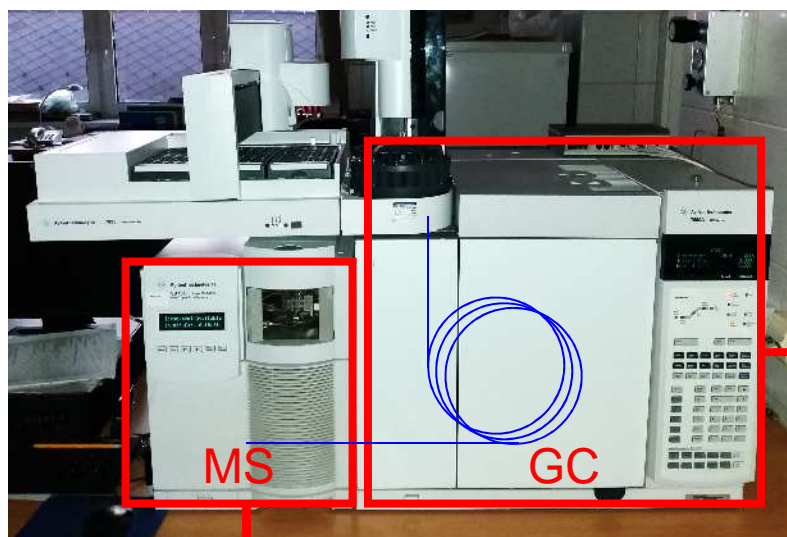
www.bruker.com

GC-IR technikák

- Gázkromatográf kapcsolása IR detektorral
 - Kondenzált fázisú IR detektálás
 - A GC-vel elválasztott komponensek kondenzált fázisban történő mérése
 - Bázis forma kondenzált spektruma
 - A spektrumok az ATR-hez hasonlóak



Gázkromatográfia-tömegspektrometria (GC/MS)



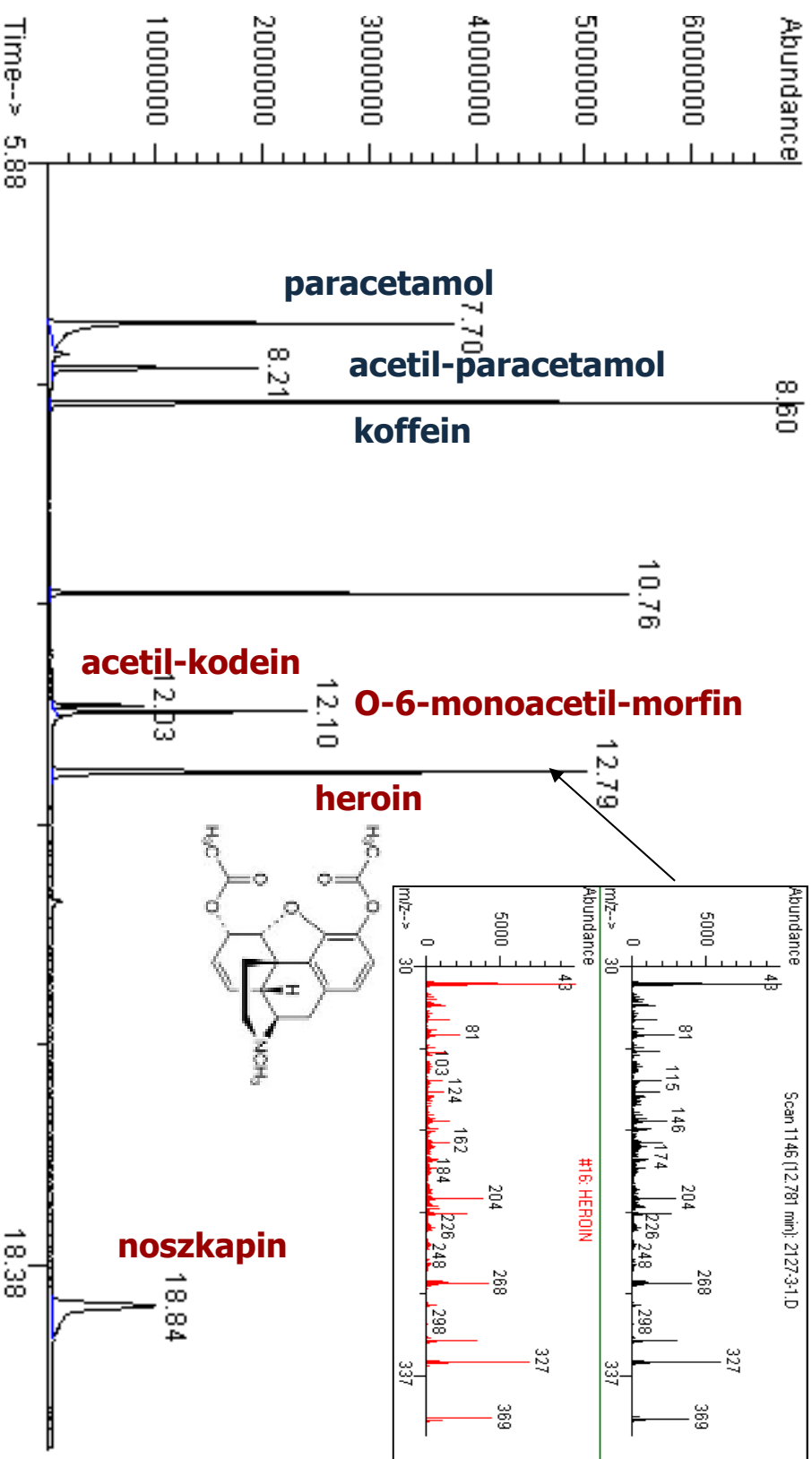
Gázkromatográfia-tömegspektrometria

- Elve:
 - elpárologtatott komponensek elválasztása illékonyság/polaritás alapján
 - vivőgáz mozgófázis, általában kapilláris belső falára felvitt állófázis
 - molekulák ionizálása/fragmentálása (általában elektronütköztetéses ionizációval), keletkezett ionok m/z arány szerinti detektálása
- Jellemzők:
 - azonosítás kromatográfias retenciós idő + tömegspektrum alapján
 - sok komponens (akár >100) elválasztása egy méréssel
 - keresés spektrumkönyvtár alapján (>100.000 vegyület)
 - izomerek retenciós ideje és spektruma hasonló lehet
 - kémiai reakciók történhetnek az injektorban

Gázkromatográfia-tömegspektrometria

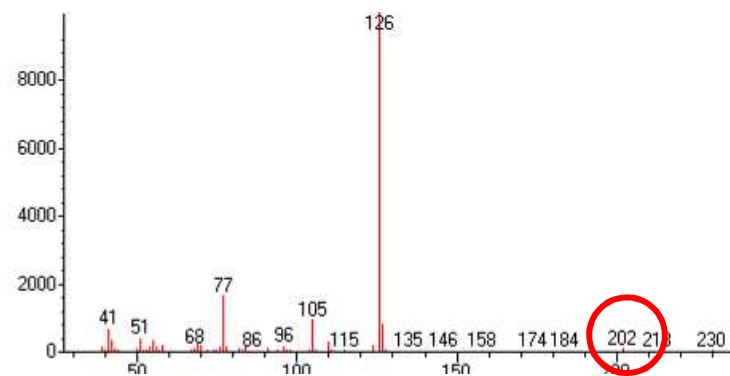
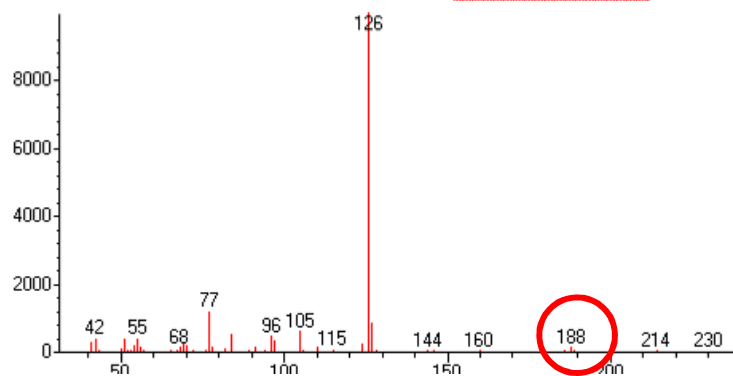
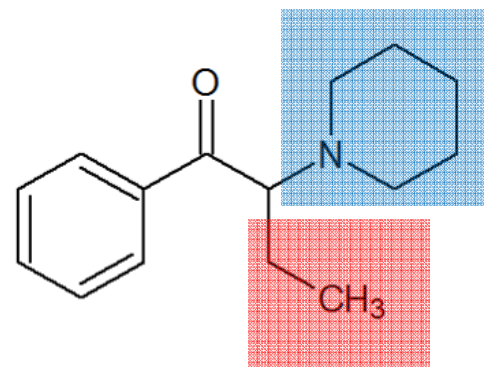
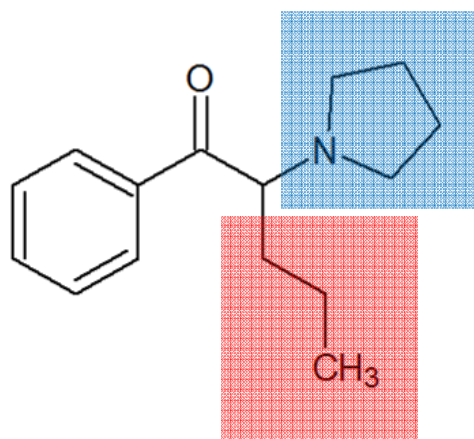
- **Alapvető azonosítási módszer az illegális kábítószeres vizsgálatában (a napi gyakorlatban)**
- Több kábítószer/gyógyszer spektrumkönyvtár
 - kereskedelmi forgalomban kapható könyvtárak
 - európai laborok (ENFSI) saját spektrumkönyvtára
 - saját fejlesztésű spektrumkönyvtár
- Egyszerű információcsere a laborok között
 - új anyagok

Feketepiiaci heroin



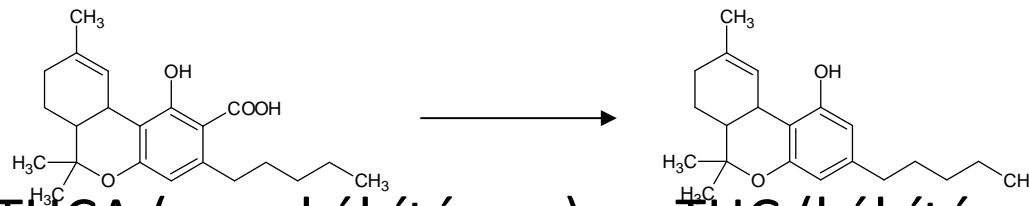
Azonosítási problémák

- Konstitúciós izomerek hasonló GC-MS eredményei
 - retenciós idő
 - tömegspektrum



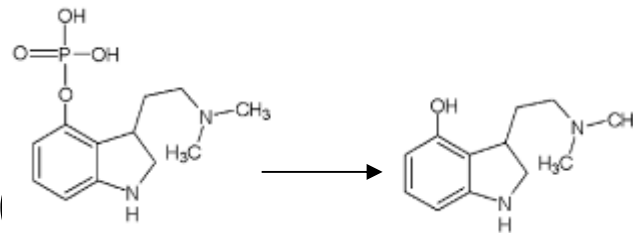
Átalakulások az injektorban

- delta-9-THC-sav dekarboxileződés



- THCA (nem kábítószer) => THC (kábítószer)

- pszilocibin bomlása



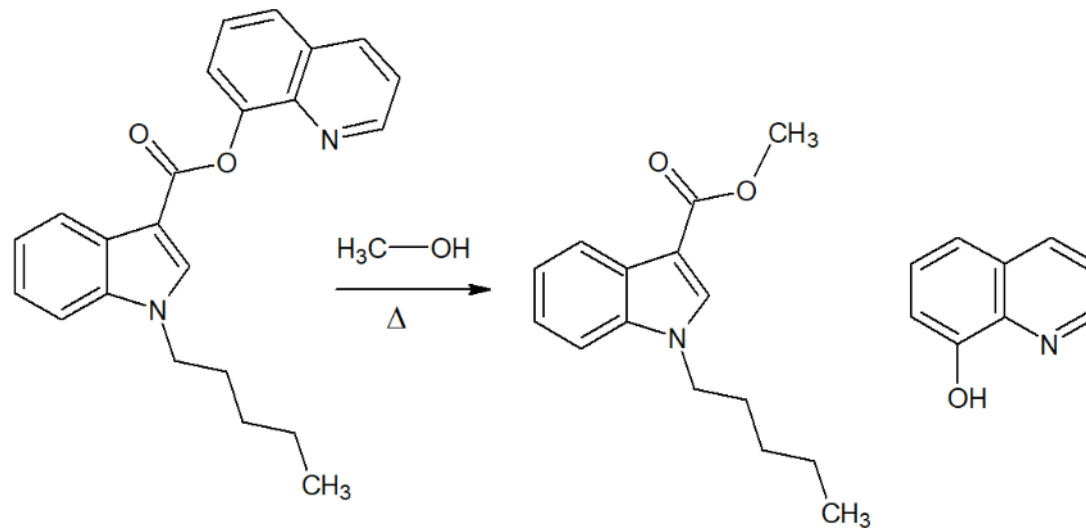
- pszilocibin (kábítószer) => pszilocin (kábítószer)

- heroin (diacetil-morfin) átésztereződése

- paracetamol + heroin => Ac-morfin + Ac-paracetamol

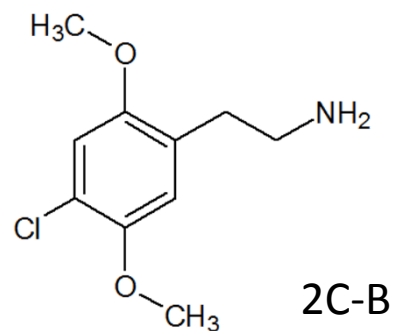
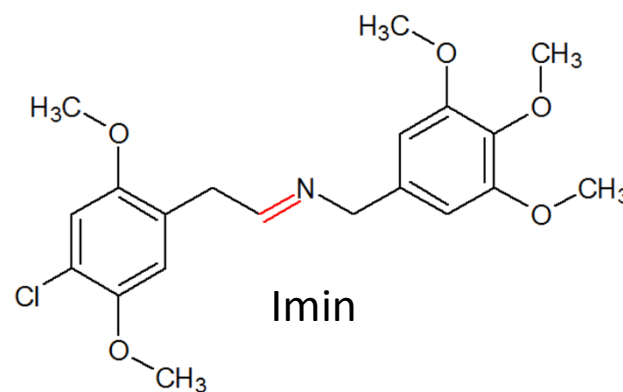
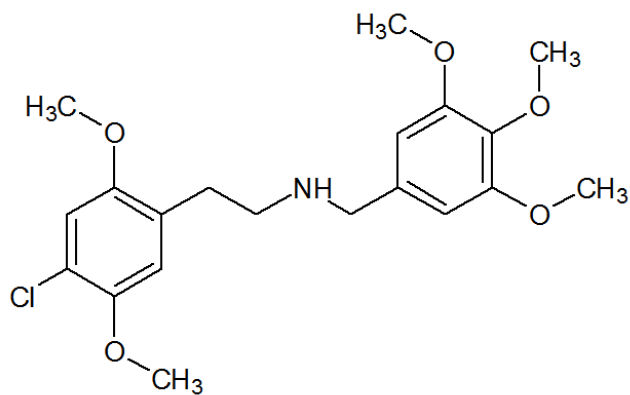
Átalakulások az injektorban

- **Átésztereződés**
 - Minta oldására használt oldószer (MeOH, EtOH)
 - lecserélhető
 - Oldószermaradvány a vizsgált anyagban



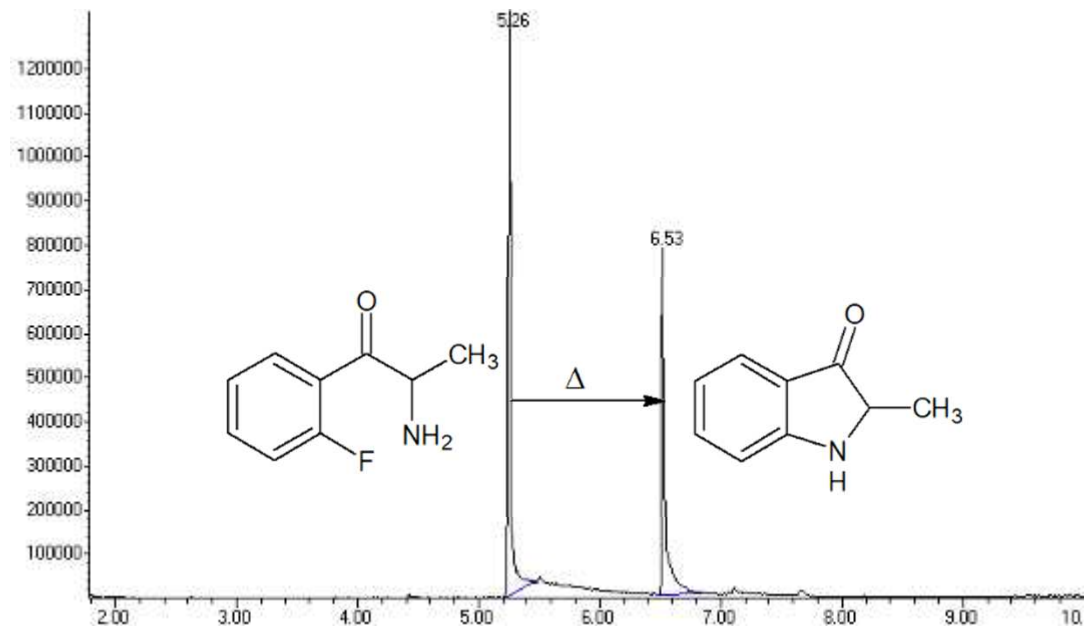
Átalakulások az injektorban

- dehidrogéneződés
- bomlás
 - a célvegyület „eltűnik”
 - a bomlástermék kábítószer(!)



Átalakulások az injektorban

- Gyűrűzárás
 - Orto izomer markere

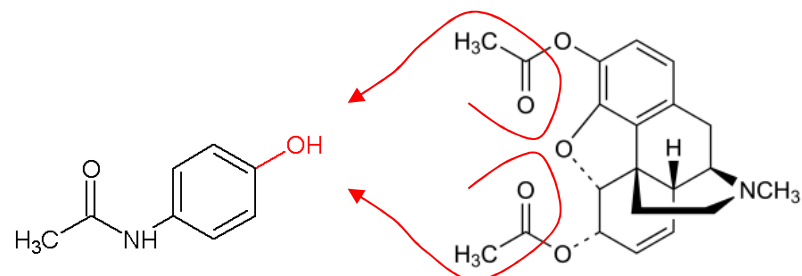


GC/MS további lehetőségei

- Automatizált kiértékelés
 - vegyületre jellemző ionok, a várt retenciós időnél
- Származékképzés
 - leggyakrabban szililezés, acetilezés/trifluoracetilezés
 - illékonyság növelése (cukrok)
 - karakterisztikusabb tömegspektrum (amfetamin)
 - mellékreakciók megakadályozása (heroin+paracetamol)
- Kvantitatív, féلكvantitatív vizsgálatok
 - megfelelő mintaelőkészítés, belső standard
 - SIM; SIM/Scan technikák

Származékképzés

- Heroin+paracetamol: átészterezés az injektorban
 - a heroin „elbomlik”



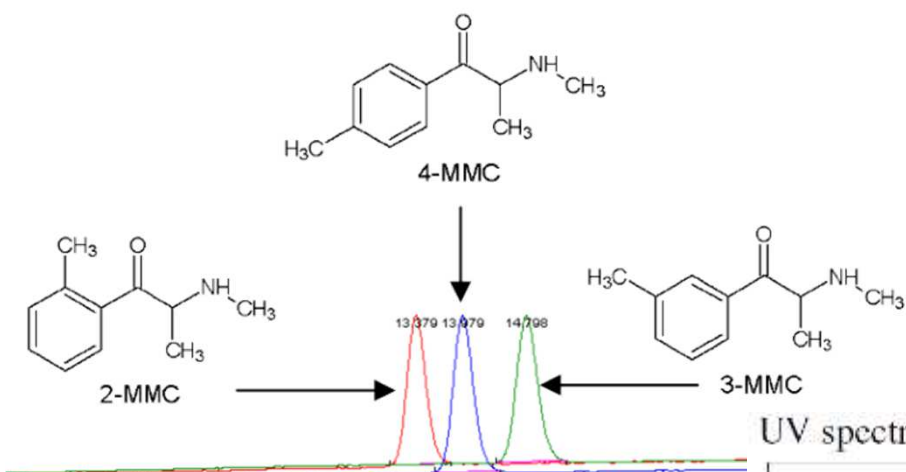
- Szililezéssel kiküszöbölhető:



További spektroszkópai módszerek

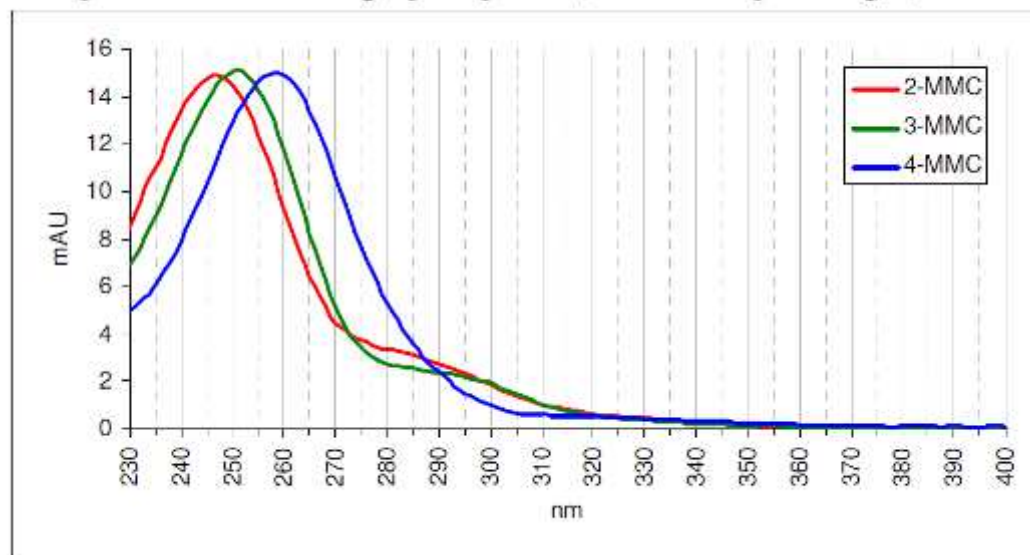
- Folyadékkromatográfiás elválasztással kombinálható módszerek:
 - UV/látható spektroszkópia
 - Molekula elektronrendszerének gerjesztése
 - Gerjesztés során elnyelt energia mérése
 - Átmeneteknek megfelelő energiájú elnyelési sávok
 - Fluoreszcencia spektroszkópia
 - Molekula elektronrendszerének gerjesztése
 - Gerjesztett állapotból alapállapotba való visszatérés során kibocsájtott energia mérése
 - detektálás a gerjesztés fényútjára merőlegesen

Orto, meta, para izomerek megkülönböztetése



Column: Eclipse XDB-C18 5 μ m; 4,6 \times 250 mm
Temperature: 30 $^{\circ}$ C
Eluent: A: 1ml triethylamine/1000 ml water;
B: acetonitrile:tetrahydrofuran=1:1;
%B=20%; flow: 1.5 ml/min
Detection: 256nm

UV spectra of chromatographic peaks (scaled to equal height):



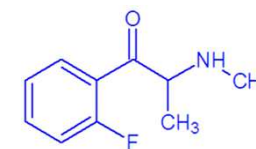
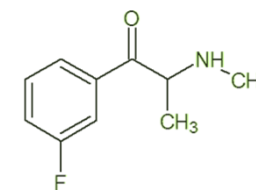
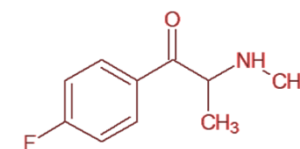
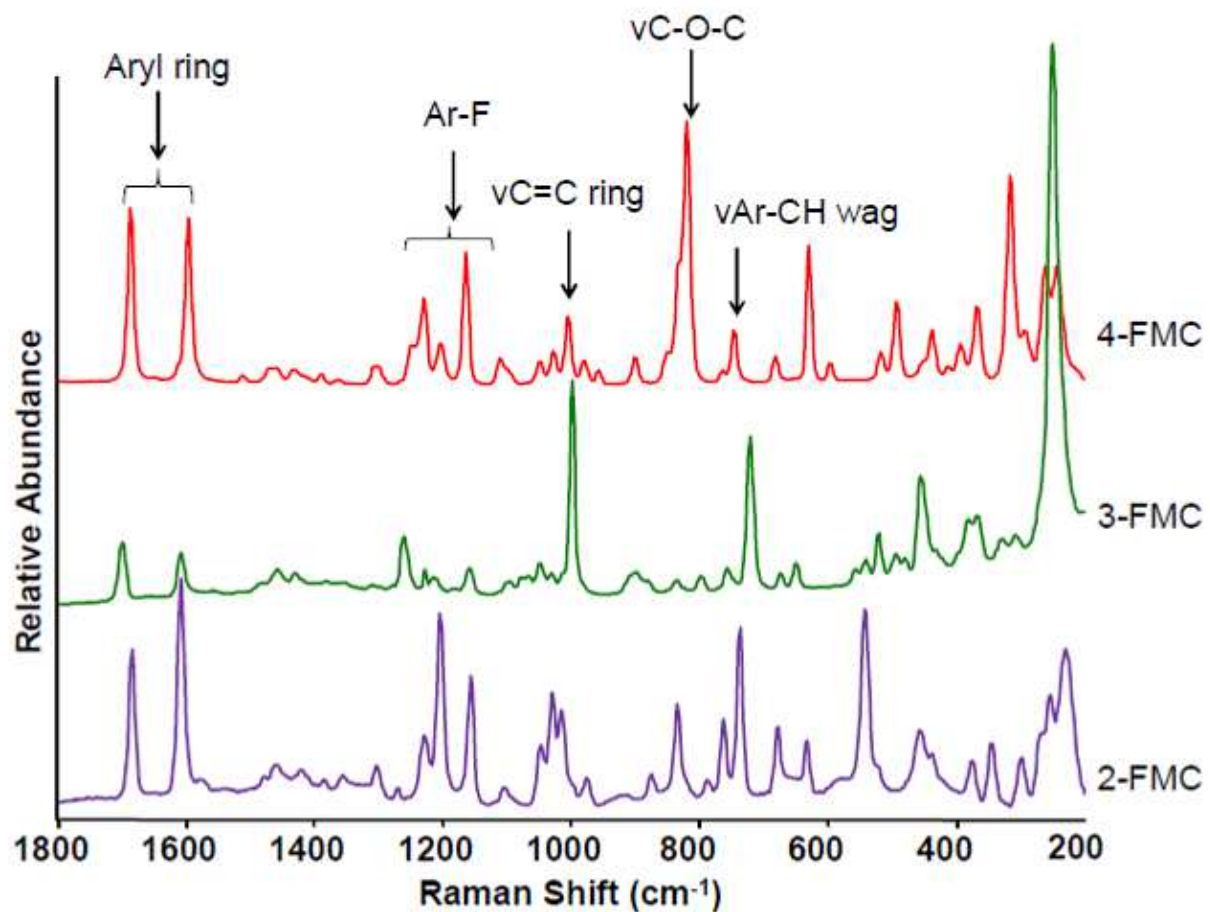
Terjedő technikák - Raman

- Raman spektroszkópia
 - Az IR technika komplementer módszere
 - Tiszta anyagok gyors, helyszíni vizsgálata
 - Folyadékok, oldatok is mérhetők
 - Műszerspecifikus spektrumkönyvtárak
 - Széleskörűen alkalmazott módszer hordozható műszerekben



Raman

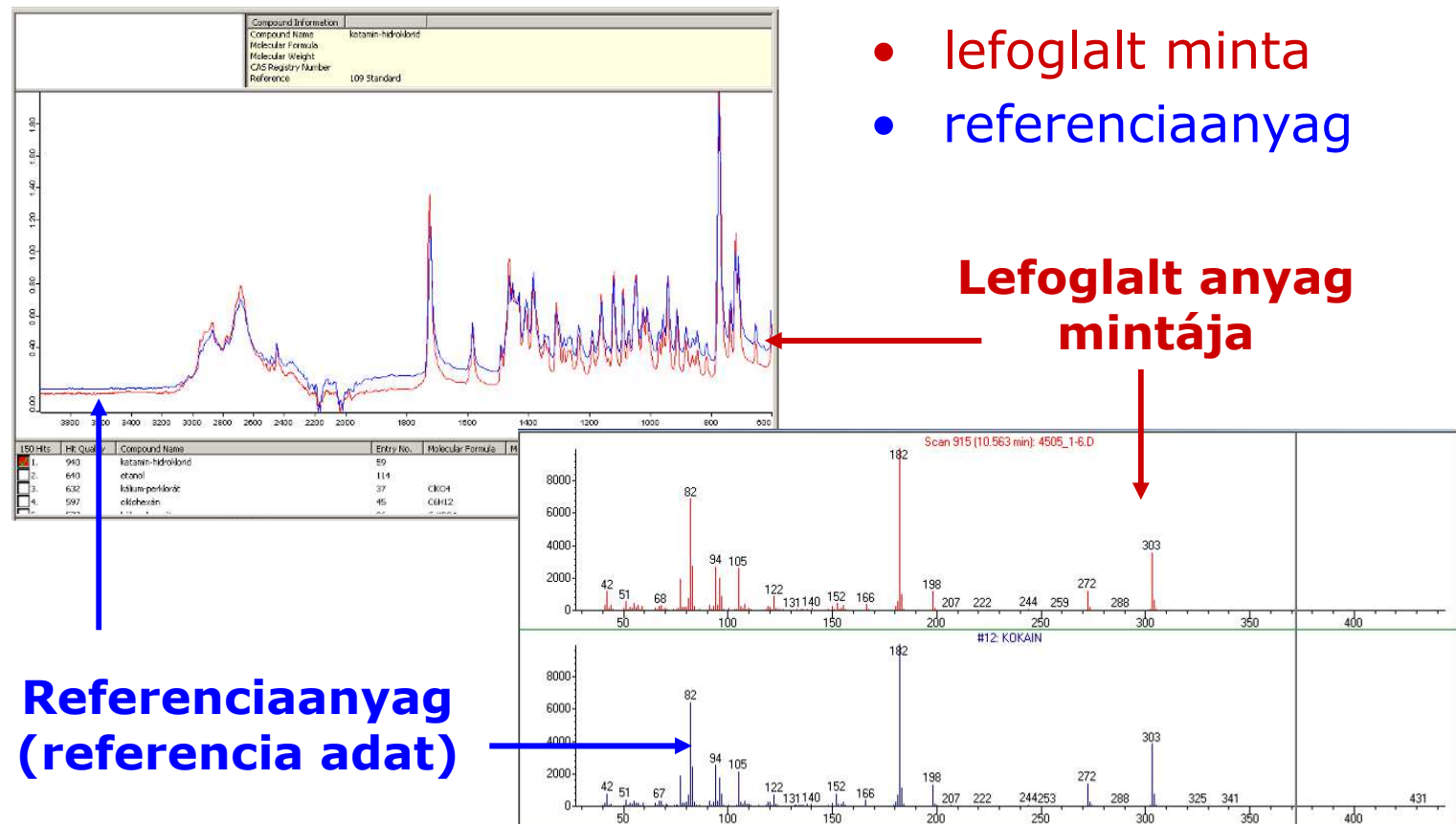
- FMC izomerek Raman spektruma



Rutinszerű azonosítás

Összehasonlítás:

- lefoglalt minta
- referenciaanyag



Rutinszerű azonosítás

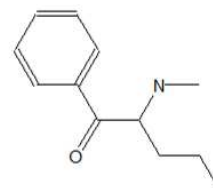
- Referenciaanyagok
 - Összehasonlító minta
 - ismert, igazolt összetétel
 - Klasszikus kábítószeresek
 - kereskedelmi forgalomban elérhető
 - általában megfelelő minőség
 - drága (0,005 gramm ~ 10-50 ezer Ft!)
 - Designer drogok
 - a legújabb anyagok nem kaphatók
 - nem mindig megbízható a minőség
 - Drága
 - Beszerzés, engedélyeztetés – 3-6 hónap

Referenciaanyagok ellenőrzése

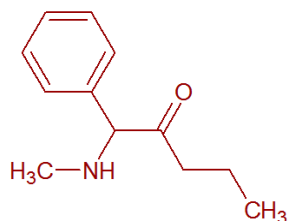
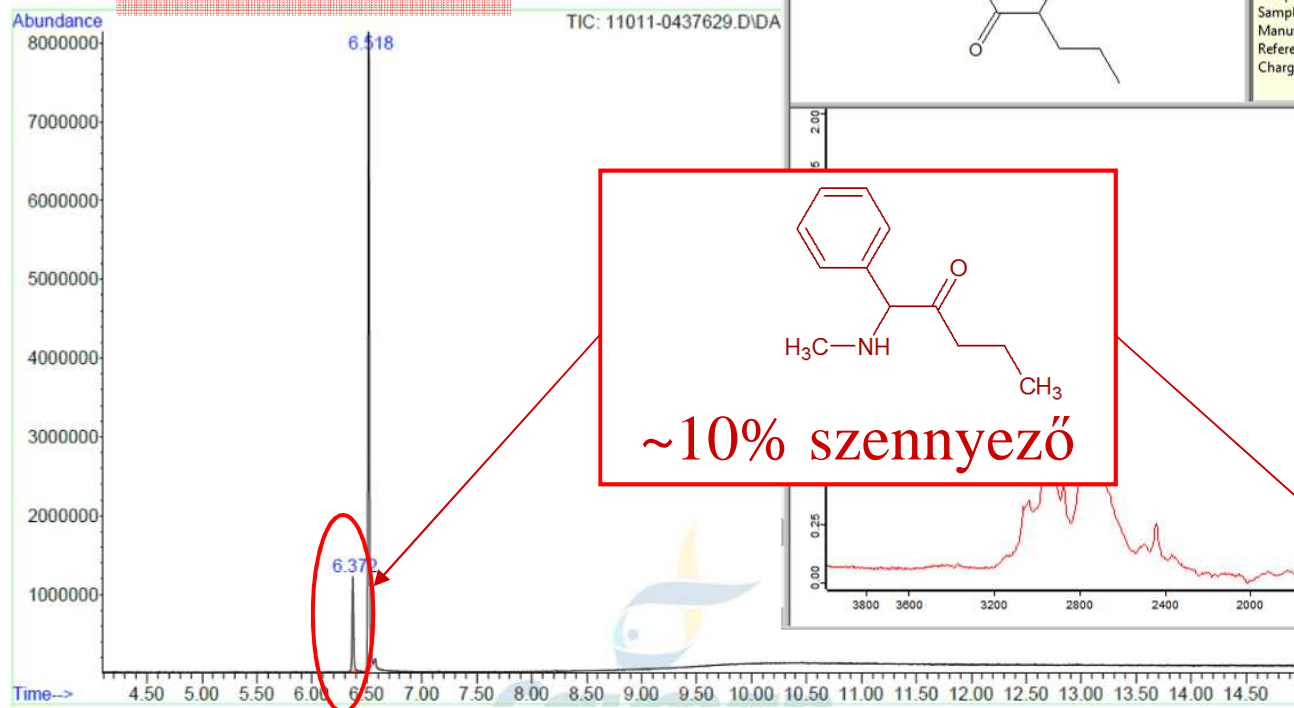
Pentedrone (hydrochloride)
2-(methylamino)-1-phenyl-1-pentanone, monohydrochloride

Item number:11011
Batch number ...:0437629
Purity Specification:≥98%

Molecular F
CAS Numbe



Compound Information	
Compound Name	pentedrone-HCl
Molecular Formula	C ₁₂ H ₁₇ N ₁ O ₁ *HCl
Molecular Weight	227.7
CAS Registry Number	879669-95-1
Sample Preparation	white crystalline powder
Sample Quantity	>98%
Manufacturer	Cayman
Reference	577. standard
Charge Number	Batch No.: 0437629



~10% szennyező

Referenciaadat

- Információk nemzetközi megosztása



Európai Kábítószer Monitorozó ügynökség

- Új anyagok korai jelzőrendszere és adatbázisa (EWS/EDND)



EUROPEAN PROJECT
RESPONSE
to challenges in forensic drugs analysis

EU finanszírozású projekt, Szlovén vezetéssel

- Új anyagokra azonosításához szükséges információk gyűjtése és megosztása

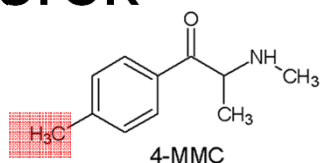


Európai szakértői intézetek hálózata

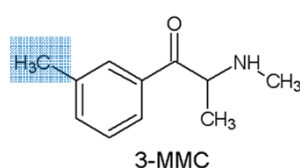
- Kábítószer és designer drog infravörös spektrumkönyvtár fejlesztés koordinálása a Nemzetbiztonsági Szakszolgálat laboratóriumának közreműködésével

Azonosítás

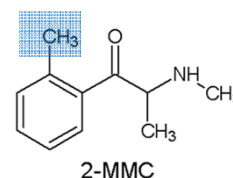
- Hasonló vegyületek, hasonló eredmények
- ## Izomerek



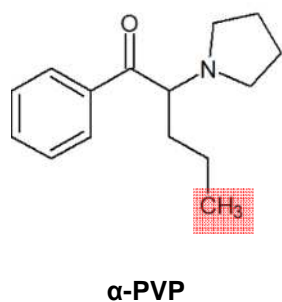
Kábítószer



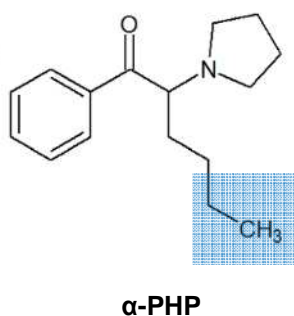
Új pszichoaktív anyagok



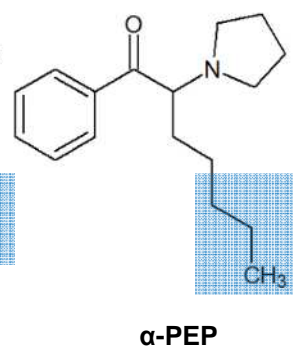
Homológok



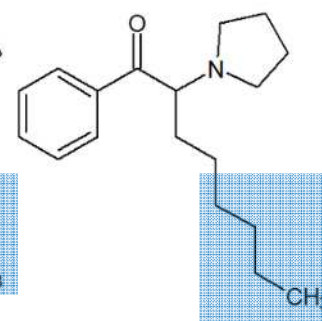
Kábítószer



Új pszichoaktív anyagok









α -POP



Azonosítás

- Vizsgálati technikák az azonosításhoz

			Izomerek	Homológok	Elegyek	Anyag- maradványok
	GC-MS	\$\$\$	+/-	+	+	+
	HPLC-MS	\$\$\$\$\$\$	-/+	+	+	+
	HPLC-DAD	\$\$	+/-	+/-	+	+
	IR (ATR)	\$	+	-/+	-	-
	GC-IR	\$\$\$\$\$	+	+	+	+/-
	NMR	\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$\$	+	+	-/+	-

Kábítószerek hatóanyag-tartalom meghatározása



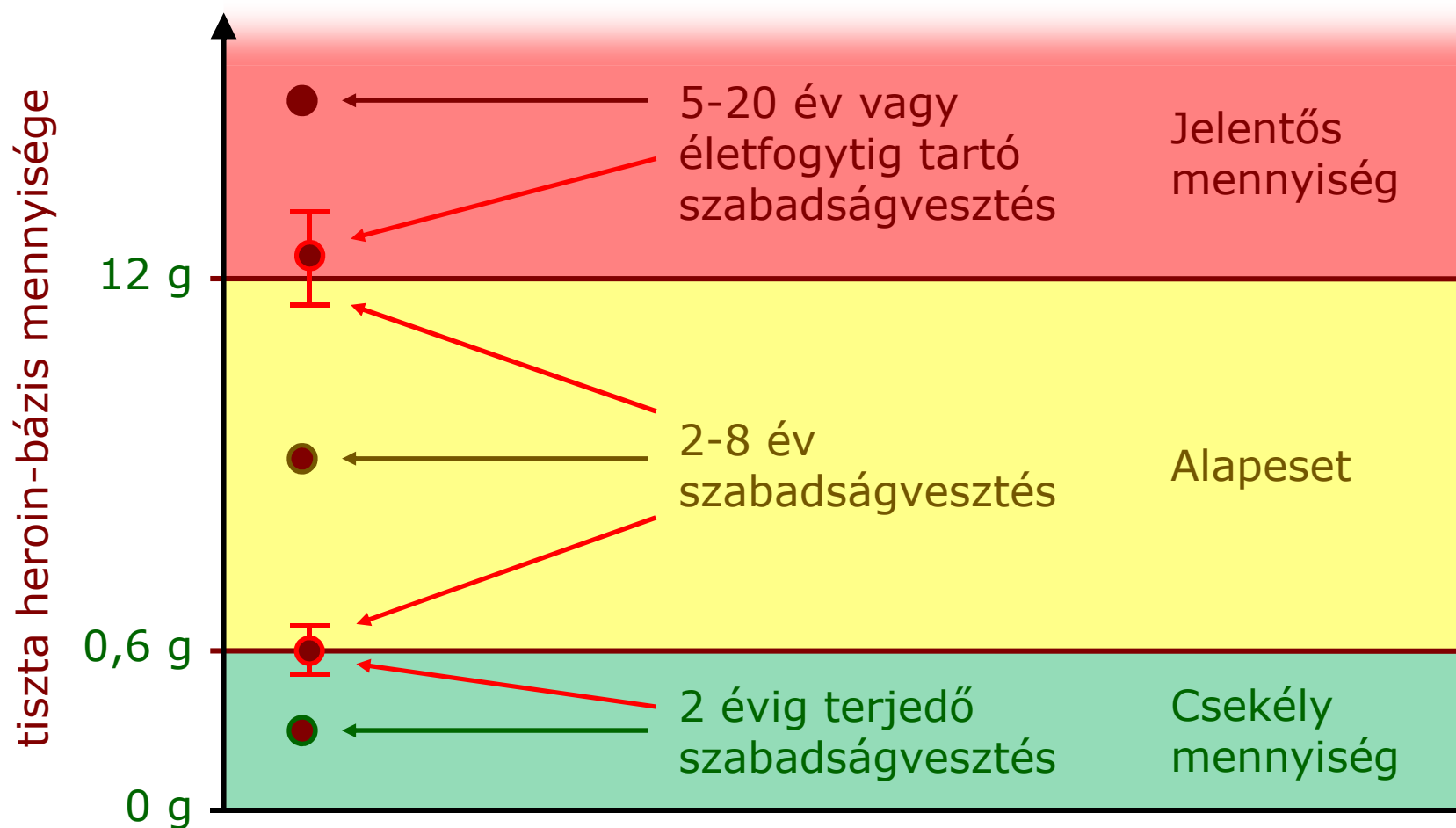
Kábítószer vizsgálatok módszerei

- „Milyen mennyiségben?”
- Kvantitatív analitikai módszerek
 - kromatográfia
 - gáz-, folyadékkromatográfia
 - spektroszkópia/spektrometria
 - UV/látható, tömegspektrometria, NMR

Az NSZKK-ban rutinszerűen alkalmazott módszerek aláhúzással jelölve

A pontosság jelentősége

Büntetési tétel terjesztés esetén



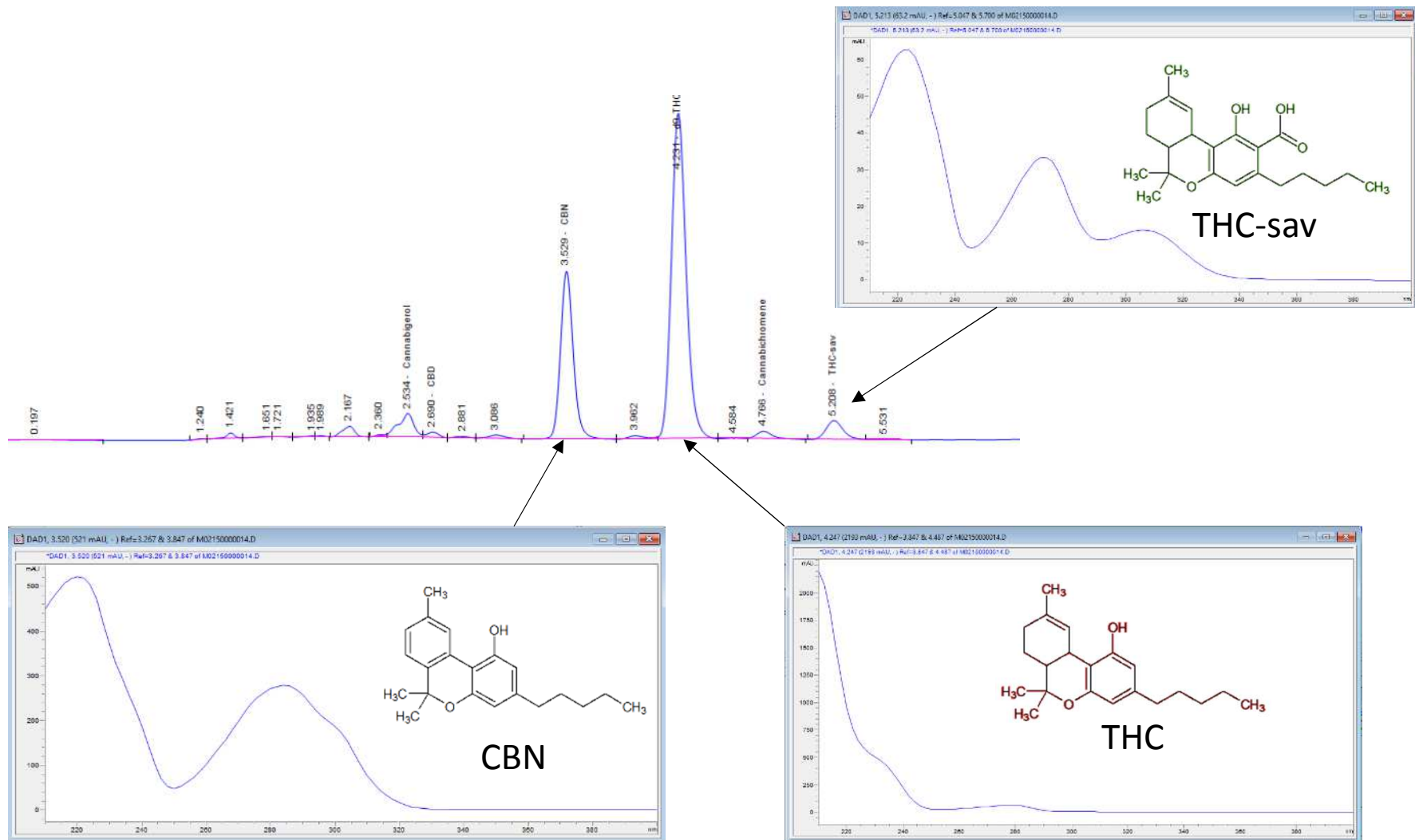
Módszer kiválasztása

- A mérési módszer kiválasztásának legfőbb kritériumai:
 - Szelektivitás
 - mátrix, gyártási melléktermékek, izomerek, homológok
 - Pontosság (accuracy), precizitás (precision)
 - mérés során lezajló kémiai átalakulások kiküszöbölése

Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

- Elve:
 - anyagok elválasztása kis szemcseméretű hordozóra felvitt állófázison, folyadék mozgófázis alkalmazásával, nagy nyomáson
 - az elválasztott komponensek detektálása általában UV elnyelés alapján
- Értékelés:
 - komponensek azonosítása retenciós idő (és UV spektrum) alapján
 - a kromatográfiás csúcsterület arányos a komponens mennyiségével
- Jellemzők:
 - külső standard kalibráció használatával is megbízható eredmény
 - flexibilis módszer, sok változtatható paraméter (állófázis, mozgófázis összetétele, pH, ionpárképző, hőmérséklet, áramlási sebesség, detektálás hullámhossza, ...)
 - tömegspektrométerrel is összekapcsolható (megfelelő mozgófázis)

Marihuána/hasis – HPLC-DAD



Mintavételi stratégia

- 1. Homogenizáljuk a teljes anyagmennyiséget, ha lehet**
- 2. Ha nem lehet, méretcsökkentés megfelelő mintavétellel**
 - minden anyag heterogén – különféle részecskékből áll
 - mintavétel során másképp viselkednek!



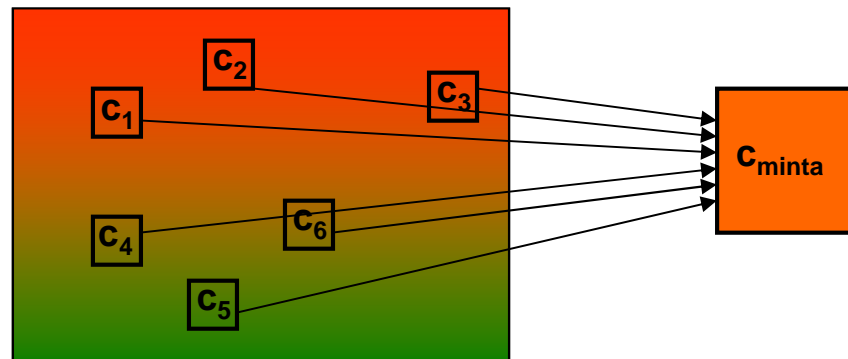
Mintavétel - marihuána

- Átlós negyedelés
- Részecskeméret csökkentés
- Mintavétel
- ...



Mintavétel - porok

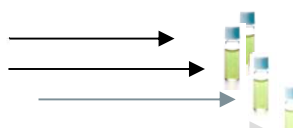
- Mintavétel több helyről („incremental sampling”)
- A kivett mintarészek egyesítése, homogenizálása



$$C_{\text{minta}} \approx (C_1 + C_2 + \dots + C_n) / n$$

Hatóanyag-tartalom mérés

Kritikus pontok:



Mintavétel



Mérési
módszer

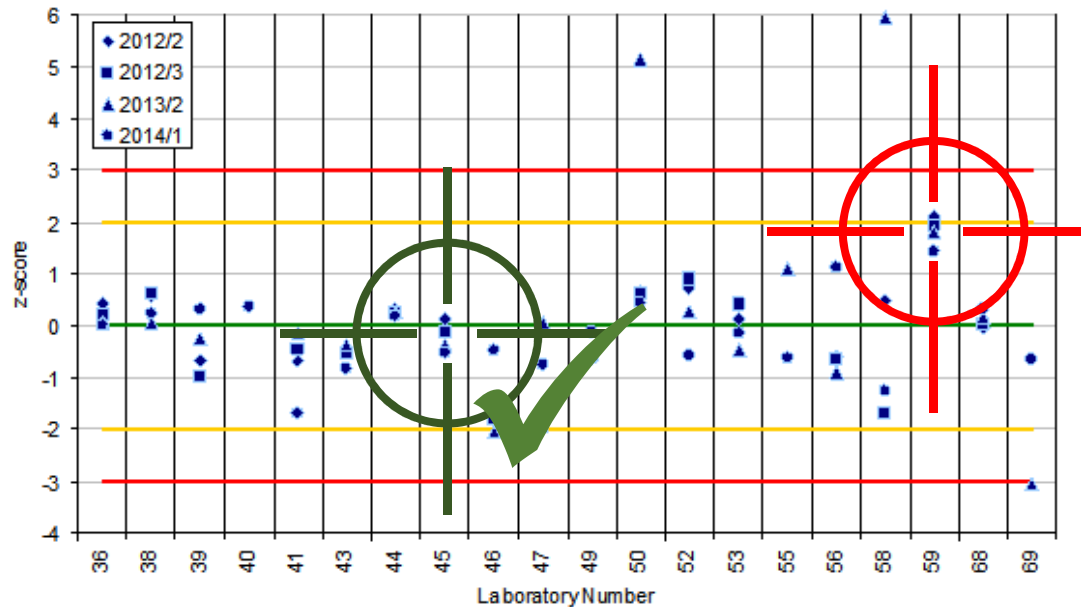


Referencia-
anyag



Jártassági teszt

- Minőségügyi követelmény
- **Összevetés más laboratóriumok eredményeivel**
- **Eredmények független ellenőrzése**
- Konzisztens, de hibás eredmények kiküszöbölése



Minősegbiztosítás

Mire jó a minőségbiztosítás?

- A teljes munkafolyamat átvizsgálása és szabályozása
 - a vizsgálati minta befogadásától
 - az eredmény kiadásáig
 - az eredmények minőségének folyamatos ellenőrzése
- Felelősségek, feladatok tisztázása
 - „így szoktuk” helyett
 - írott belső szabályozás kialakítása
- Külső átvilágítás
 - évenkénti felülvizsgálat (audit)
 - kockázatok felmérése

Minősegbiztosítás területei

- Irányítási követelmények
- Műszaki követelmények
 - Személyzet
 - Elhelyezés, környezet
 - Vizsgálati módszerek és ellenőrzésük (validálás)
 - Alkalmazott berendezések, (mérő)eszközök
 - Eredmények visszavezethetősége
 - Mintavétel
 - Vizsgálati tárgyak kezelése
 - Eredmények minősegbiztosítása
 - Eredmények kiadása

Módszer validálása

- Validálási terv
 - az alkalmazás szempontjából jelentős teljesítményjellemzők kiválasztása
 - az alkalmazás során elvárt értékek megállapítása
- Validálás
 - teljesítményjellemzők kimérése/ellenőrzése
- Nehéz témakörök
 - kimutatási határ
 - mérési bizonytalanság (mintavétel?)

Kihívások a minőségbiztosításban

- Milyen szabványt alkalmazunk?
 - MSZ EN ISO/IEC 17025:2005
- Új rendszerszabvány:
 - ISO/IEC 17025:2017
 - kötelező átállás 3 éven belül
 - kockázat szemléletű rendszer
- Mit akkreditálunk?
 - adott tárgy/anyag (mátrix)
 - adott jellemzőjének
 - adott módszerrel történő meghatározását

Kihívások a minőségbiztosításban

- Ritkán alkalmazott vizsgálatok
 - ritkán előforduló komponensek, mátrixok vizsgálata
 - nehéz tervezni (a bejövő minták jellegétől függ)
 - nehéz a megfelelőség folyamatos bizonyítása
- Rugalmas akkreditáció
 - az akkreditálási periódusban bővíthető pl. a mátrix vagy a mérendő komponensek köre
 - a bővítés módját kell szabályozni

Köszönöm a figyelmet!

cseztregi.tamas@nszkk.gov.hu