

## VII. Évfolyam 2. szám - 2012. június

**Kocsis György – Halász László – Boldis Ottó – Mátyus Mária**  
[colonel1971@freemail.hu](mailto:colonel1971@freemail.hu) – [halasz.laszlo@uni-nke.hu](mailto:halasz.laszlo@uni-nke.hu) – [ottoboldis@citromail.hu](mailto:ottoboldis@citromail.hu) –  
[matyum@freemail.hu](mailto:matyum@freemail.hu)

### ÓPIÁT ÉS AMFETAMIN SZÁRMAZÉKOK MEGHATÁROZÁSA HAJBÓL GÁZ-KROMATOGRÁFIÁS TANDEM TÖMEGSPEKTROMETRIÁS MÓDSZERREL

#### *Absztrakt*

*Egy analitikai eljárás került kidolgozásra az Ópiátok és Amfetamin származékok emberi hajból történő meghatározására gázkromatográf-tömegspektrometriás (GC/MS) mérési elven alapuló, szelektív ionmonitorozás technikával. Az eljárással belső (surrogate) standardként a vizsgált Ópiát vegyület (Heroin) metabolitjainak deutériummal jelölt molekuláit alkalmaztuk. Az Amfetaminok esetében a kísérő standard az MDMA-D5 volt.*

*Az Amfetamin származékokat, a felaprított, őrölt hajból, sósavval történő bontást, majd semlegesítést követően, folyadék-folyadék extrakcióval nyertük ki. A kalibrációhoz natív (üres) humán haját használtunk úgy, hogy azt, a vizsgált anyagnak a kalibrációhoz szükséges koncentrációjú elegyével jelöltük meg.*

*An analytical method is presented here for the assessment of opiates and amphetamine derivatives in hair by employing mass spectrometry in the selective ion monitoring mode following its separation with gas chromatography.*

*Deuterated (marked with heavy water) analogies of the analytes were used as surrogate internal standards. The common surrogate standard for amphetamine derivatives was MDMA-D5 and 6-mam-D3 for opiates.*

*Before the extraction the samples were digested with methanol for opiates and with the solution of hydrochloric acid for amphetamine derivatives. Calibration was accomplished employing blank human hair spiked with the analytes at various concentrations.*

**Kulcsszavak:** *tiltott kábítószer, anyagcsere termékek, haj, GC/MS, heroin, 6-mam, amfetamin, MDMA, krónikus fogyasztás, illicit drugs, metabolites, hair, GC/MS, heroine, 6-mam, amphetamine, MDMA, chronic consumption*

## 1. BEVEZETÉS

A 19.-ik század óta ismert, hogy a hajban a szervesen alkotórészek, mint pl. a fémionok beépülnek. A haját igazságügyi vizsgálati anyagként 1857-ben von Casper a "Praktisches Handbuch der gerichtlichen Medicin" [1] művében említi meg. Az írásában Hoppe-Seyler-t idézi, aki egy 11 éve eltemetett és exhumált hulla hajában arzént mutatott ki (1856). Mintegy 100 évvel később Goldblum és munkatársainak [2] (1954) sikerült először a hajban szerves anyagokat meghatározni. Barbiturát tartalmú takarmánnyal végzett etetési kísérletekben részt vett patkányok szőrében a gyógyszert meghatározták. Emberi hajból pedig 1979-ben sikerült először kábítószerket (Ópiát) meghatározni, Baumgartner és munkatársainak [3,4] radio-immunoassay módszerrel.

Ma már számos országban a hajvizsgálatok eredményeit az igazságügyi szakvéleményekben nem csak elfogadják, de sokszor megkövetelik, és ugyancsak alkalmazzák azokat a érvizsgálatok mellett, a közúti balesetek körülményeinek felderítésében pl. Németországban.

A hajvizsgálatok jelentősége a kábítószer vizsgálati eljárásokon belül az alábbiak miatt is egyre növekszik:

- A kábítószer és metabolitjaik a hajba történő kiválasztódása által a krónikus fogyasztás bizonyíthatóvá válik;
- A hajvizsgálatok eredményeiből egyértelmű következtetés vonható le a fogyasztott kábítószer milyenségére;
- A hatóanyagok és metabolitjaik viszonya stabilabb, mint a vizeletben;
- Az apoláros vegyületek és a hatóanyagok (Heroin, Kokain, amelyek sem a vérben, sem a vizeletben nem mutathatók ki.) nagyobb mértékben kerülnek kiválasztásra, mint a vízoldhatóak.

A korreláció a bevett hatóanyag és a hajban kimutatott kábítószer mennyisége között szorosabb, mint más minták esetében és a haj vizsgálatok időablaka a legnagyobb, mivel 1cm hosszú hajtincs bizonyítottan kb. egy hónapos időtartamot fed le.

## 2. KÍSÉRLETI RÉSZ

A hajból, mint vizsgálati mátrixból a legtöbb kábítószer (Ópiátok, THC, Cocain, Amfetamin származékok) krónikus fogyasztása egyértelműen bizonyítható [5]. Vizsgálatainkat azért szűkítettük az Ópiát és Amfetamin származékok kimutatására, mivel ez az a két leggyakrabban fogyasztott kábítószer típus, amelybe sorolható vegyületek időablaka rövid, ezért a vérből és vizeletből [6] való kimutatása, még krónikus fogyasztás esetén is nehézségekbe ütközik. A gyakorlatban ez azt jelenti, hogy ezek a vegyületek, többek között csekély zsírolldhatóságuk miatt is, a szervezetből a vizelettel 1-4 nap alatt kiürülnek. A vérből, illetve szérumból való kimutatásuk, azaz a befolyásoltság bizonyítása még nehezebb, mivel egyszeri fogyasztást követően, nemcsak az általunk vizsgált, hanem szinte mindegyik kábítószer-fajta, órák alatt kiürülhet. Magyarországon már magát a fogyasztás tényét is törvényileg szankcionálják. Különösen igaz ez a NATO tagországok hadseregeire, így a Magyar Honvédségre [7,8] is, ahol zéró tolerancia van érvényben. A kábítószer fogyasztás tényének vizeletből való bizonyítása esetén az érintett katonát méltatlanság miatt a Honvédségből azonnali hatállyal elbocsájtják, súlyosabb esetekben pedig büntetőjogilag is felelősségre vonhatják. Magyar Honvédséghez, illetve egyéb fegyveres testületekhez csatlakozni kívánó, illetve a már ott szolgálatot teljesítő szolgálati személyek közül a rendszeres fogyasztók kiszűrése, a szervezetből gyorsan ürülő Ópiát és Amfetamin származékok esetében, az általunk kidolgozott, hajvizsgálati módszerrel, nagyobb hatékonysággal hajtható vége.

### 3. A VIZSGÁLATOKHOZ HASZNÁLT MÉRŐMŰSZER

A műszeres mérést Agilent 6890 típusú gáz-kromatográfhoz (GC) kapcsolt Agilent 5973 single quadrupol tömegspektrométerrel (MS; Agilent Technologies, Wilmington, DE) tömegszelektív detektálással hajtottuk végre. A minták adagolásához (GC-be való injektálásához) az Agilent által gyártott automata minta-adagolót használtuk. Az analitok szilárd fázisú extrakcióját Bond Elute Certify oszlopon (CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary) hajtottuk végre. A hajminták őrléséhez pedig MM 400 típusú RETSCH golyósmalmot használtunk. Ahol lehetséges volt, minden esetben egyszer használatos eszközöket használtunk a minta-előkészítések során, beleértve a pipetta hegyeket (Gilson, positive displacement), a szilanizált üvegedényeket és mintaszűkítőket, zárókupakokat és az extrakcióhoz használt oszlopokat is.

#### 3.1. Az alkalmazott gáz-kromatográfiás körülmények

Az 1.0 µL térfogatú splitless injektálások 280 °C hőmérsékletű injektorba lettek beadagolva. Vivőgázként 6.0 minőségű Hélium gázt (Messer Hungarogáz Kft., Budapest, Hungary) használtunk, amelynek a térfogatárama (flow rate) 1.0 mL/min volt. A gáz-kromatográfiás elválasztás Varian FactorFour™ VF-5MS capillaris kolonnán történt (hosszúság: 30 m, belső átmérő: 0.25 mm, film vastagság: 0.25 µm; CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary). A fűtési programokat és a fennmaradó paramétereket a vizsgált drog típusoktól (Ópiát vagy Amfetaminok) függően változtattuk (1-2. táblázat).

Hőmérsékletprogram:	100 °C (1,0 min)   40 °C/min   220 °C (0 min)   5 °C/min   240 °C (0 min)   7 °C/min   310 °C (4 min)
Injektor-hőmérséklet:	280 °C
Injektálási technika:	Splitless, idő 1,5 min

1. táblázat. Az ópiátok mérésénél alkalmazott fűtési program és paraméterek

Hőmérsékletprogram:	60 °C (1,0 min)   40 °C/min   200 °C (0 min)   5 °C/min   300 °C (0 min)
Injektor-hőmérséklet:	250 °C
Injektálási technika:	Splitless, idő 0,75 min

2. táblázat. Az ópiátok mérésénél alkalmazott fűtési program és paraméterek

#### 3.2. Az alkalmazott tömegspektrometriás körülmények

A transfer line hőmérsékletét konstans 280 °C hőmérsékleten tartottuk. Az elektron-ütközéses ionizációt 70eV energián hajtottuk végre, ahol az ion-forrás hőmérséklete az Ópiátok esetében 250, az Amfetamin származékoknál 230 °C volt, a Quadrupole hőmérsékletét pedig 200 °C (Ópiátok) és 150 °C (Amfetamin származékok) hőmérsékletre állítottuk. A tömeg-spektrométert (MS) szelektív ion monitoring (SIM) módban üzemeltettük.

A tömeg-spektrometriás detektálás során SIM módszerrel figyelt ionokat és paramétereiket az Ópiátokra, illetve Amfetamin származékokra az alábbi 3-4. táblázat tartalmazza.

Vegyület	Retenciós idő (min)	Cél (target) ion	Q1* [% Resp.]	Q2* [% Resp.]
Morfín-(PFP)/analit	9.98	414,1	577,1 [20,1]	361,1 [7,0]
Morfín-D <sub>3</sub> -(PFP)/belső std.	9.92	417,1	580,1 [21,1]	364,1 [6,10]
6-acetilmorfín-(PFP)/analit	11.35	414,1	473,1 [67,8]	361,1 [42,8]
6-acetilmorfín-D <sub>3</sub> -PFP/belső std	11.29	417,1	476,1 [57,8]	364,1 [33,8]

**3. táblázat.** Az analitok és a belső (surrogate) standardok SIM módszerrel figyelt ionjai

*\*Q1 ÉS Q2 a vizsgált vegyület két legjellemzőbb qualifier ionjai koromatográfias csúcsterületének a cél (target) ion 100%-nak vett csúcsterületéhez viszonyított százalékos aránya.*

Vegyület	Retenciós idő (min)	Cél (target) ion	Q1* [% Resp.]	Q2* [% Resp.]
Amfetamin-(TFAA)/analit	4.40	140	118 [85]	91 [55]
Metamfetamin-(TFAA)/analit	4.90	154	110 [35]	118 [25]
MDMA-D <sub>5</sub> (TFAA)/belső std.	6.68	164	158 [170]	136 [85]
MDMA-(TFAA)/analit	6,70	162	154 [175]	135 [85]
MDA-(TFAA)/analit	5.90	135	162 [36]	275 [3]
MDEA-(TFAA)/analit	7.00	168	162 [60]	135 [44]

**4. táblázat.** Az analitok és a belső (surrogate) standardok SIM módszerrel figyelt ionjai

*\*Q1 ÉS Q2 a vizsgált vegyület két legjellemzőbb qualifier ionjai koromatográfias csúcsterületének a cél (target) ion 100%-nak vett csúcsterületéhez viszonyított százalékos aránya.*

### 3.3. A mért adatok gyűjtése és kiértékelése

A mért adatok gyűjtése Agilent Chemstation Software (Kromát Kft., Budapest, Hungary) segítségével történt. A mennyiségi meghatározásokhoz a mért csúcsok területét vettük alapul. Az analitikai eredmények feldolgozása a B.E.N. Software segítségével történt (a program Windows Excel<sup>TM</sup> alatt futott a GC-MS mérések analitikai paramétereinek és értékeinek könnyebb kiértékelhetősége és kompatibilitás miatt) [9].

## 4. ALKALMAZOTT ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4.1. Vegyszerek

A következő oldatokat használtuk: 6-mam [100µg/mL metanolban], 6-mam-D<sub>3</sub> [100µg/mL metanolban], Amphetamine [100µg/mL metanolban], Metamphetamine [100µg/mL metanolban], MDMA [100µg/mL metanolban], MDMA-D<sub>5</sub> [100µg/mL metanolban], MDA [100µg/mL metanolban] és MDEA [100µg/mL metanolban]. Az oldatokat a Cerilliant Company-tól (Austin, TX) szereztük be.

A Pentafluoropropionsav-anhidrid (PFPA) és a Trifluoroecetsav-anhidrid beszerzése a Sigma Aldrich Hungary Kft-n keresztül történt (Budapest, Hungary). A natív emberi haj

beszerzése a Wella cégtől történt. A többi, analitikai minőségű vegyszert és oldatot a Merck Kft.-től (Budapest, Hungary) vásároltuk.

#### 4.2. Oldatok

*A 9-es pH-jú karbonát puffer oldat készítése:* 20 mL 0.2 mól/L koncentrációjú Nátrium-karbonát vizes oldatát, 230 mL 0.2 mól/L koncentrációjú Nátrium-hidrogén-karbonát vizes oldatával összekeverjük, majd a kapott elegyet desztillált vízzel (LichroSolv® grade) 1000 mL-re jelig felhígítunk.

*A 5%-os Nátrium-lauril-szulfát oldat készítése:* 50 gramm Nátrium-lauril-szulfát pasztillát (500 mg / 100 darab; CEFADROXIL 500MG; MERCK) dörzsmozsárba elporítunk, 200 mL desztillált vízzel (LichroSolv® grade) egy 1000 mL-es jódszám-lombikba átmosunk, majd az így kapott oldatot desztillált vízzel (LichroSolv® grade) 1000 mL-re jelig felhígítunk.

A 6-mam, morfin, amfetamin, metamfetamin, MDA, MDMA és MDEA kémiai standardjainak visszamérése által kapott (számított) koncentráció értékek alapján a visszanyerés határfoka 100%-os nagyságúnak volt tekinthető

*100 ng/mL kocentrációjú (kémiai standard) KSTD<sub>Opi</sub> oldat készítése:* 1000 ng/mL koncentrációjú 6-mam és morfin, Cerilliant által gyártott, standard oldataiból 100-100 µL térfogatokat 2 mL térfogatú szalianizált üvegedénybe (vial / CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary) mérünk, majd 800 µL metanol hozzáadásával az eredeti koncentráció értékek 10-szeresére hígítjuk. Az oldat -20°C-on tárolva 1 hétig felhasználható.

*10 ng/mL kocentrációjú (belső-, surrogate standard) ISTD<sub>Opi</sub> oldat készítése:* 100 ng/mL koncentrációjú 6-mam-d3 és morfin-d3, Cerilliant által gyártott, standard oldataiból 100-100 µL térfogatokat 2 mL térfogatú szalianizált üvegedénybe (vial / CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary) mérünk, majd 800 µL metanol hozzáadásával az eredeti koncentráció értékek 10-szeresére hígítjuk. Az oldat -20°C-on tárolva 1 hétig felhasználható.

*10 ng/mL kocentrációjú (kémiai standard) KSTD<sub>Amp</sub> oldat készítése:* 1000 ng/mL koncentrációjú amfetamin, metamfetamin, MDA, MDMA és MDEA, Cerilliant által gyártott, standard oldataiból 10-10 µL térfogatokat 2 mL térfogatú szalianizált üvegedénybe (vial / CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary) mérünk, majd 950 µL metanol hozzáadásával az eredeti koncentráció értékek 100-szorosára hígítjuk. Az oldat -20°C-on tárolva, 48 órán belül felhasználható.

*10 ng/mL kocentrációjú (belső-, surrogate standard) ISTD<sub>Amp</sub> oldat készítése:* 100 ng/mL koncentrációjú MDMA-d5, Cerilliant által gyártott, standard oldatból 100 µL térfogatnyit 2 mL térfogatú szalianizált üvegedénybe (vial / CP-Analitika Kft., Budapest, Hungary) mérünk, majd 900 µL metanol hozzáadásával az eredeti koncentráció értékek 10-szeresére hígítjuk. Az oldat -20°C-on tárolva, 48 órán belül felhasználható.

A kalibrációhoz natív emberi haját használtunk fel, amelyet a vett mintával párhuzamosan vittünk át a minta-előkészítési fázison. A natív emberi haját és a vett haj-mintákat kémiai standard oldatokkal (KSTD) és surrogate belső standard oldatokkal (ISTD) spike-oltuk az 5-6. táblázat szerint.

#### 4.3. Haj-mintavétel és tárolás

A fej hátsó részéről közvetlenül a fejbőrrel óvatosan levágunk egy 5 mm vastagságú és maximum 6 cm hosszúságú tincset oly módon, hogy a hajszálak ne csússzanak el egymáson. Az így nyert mintát két végén rögzítjük és a fejbőr felé eső részét megjelöljük. A mintavételi adatlapon a donorra vonatkozó adatokon kívül dokumentáljuk a haj állapotát, súlyát, hosszát, valamint a mintavétel helyén, a fejbőrön maradt haj hosszát is. A mintavételi adatlapon feltüntetjük az esetlegesen használt haj festék típusát is, mivel a színezék anyaga és a festés során alkalmazott H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bontja az S-S és C-S kötések. A festés során alkalmazott vegyszerek, pedig hatással lehetnek a mérési eredményre [10].

		Haj (mg)	*KSTD <sub>Opi</sub>	**ISTD <sub>Opi</sub>	6-mam, morfin	6-mam-d3, morfin-d3
			bemért térfogat (µl)		Koncentrációja (ng/mg)	
1.	Kontroll	50	-	10	-	-
2.	Kalibrátor 1	50	1	10	2	2
3.	Kalibrátor 2	50	2	10	4	2
4.	Kalibrátor 3	50	5	10	10	2
5.	Kalibrátor 4	50	10	10	20	2
6.	Kalibrátor 5	50	15	10	30	2
7.	Minta 1	50	-	10	-	2
8.	Minta 2	50	-	10	-	2

**5. táblázat.** Az Ópiát kalibrátorok, minták és standard oldatok összemérése

*\*KSTD<sub>Opi</sub> : a 6-MAM és morfin 100-100 ng/uL metanolos oldata.*

*\*\*ISTD<sub>Opi</sub> : a 6-MAM-d3 és morfin-d3 és 10-10 ng/uL metanolos oldata.*

		Haj (mg)	*KSTD <sub>Amp</sub>	**ISTD <sub>Amp</sub>	(met)amfetamin, MDA MDMA, MDEA	MDMA-d5
			bemért érfogat (µl)		Koncentrációja (ng/mg)	
1.	Kontroll	50	-	10	-	-
2.	Kalibrátor 1	50	1	10	2	2
3.	Kalibrátor 2	50	2	10	4	2
4.	Kalibrátor 3	50	5	10	10	2
5.	Kalibrátor 4	50	10	10	20	2
6.	Kalibrátor 5	50	15	10	30	2
7.	Minta 1	50	-	10	-	2
8.	Minta 2	50	-	10	-	2

**6. táblázat.** Az Amfetamin kalibrátorok, minták és standard oldatok összemérése

*\*KSTD<sub>Amp</sub>: az amfetamin, metamfetamin, MDMA, MDA és MDEA 10-10 ng/uL metanolos oldata.*

*\*\*ISTD<sub>Amp</sub>: az MDMA-d5 10 ng/uL metanolos oldata.*

A két végén összekötött mintát alufóliába jó szorosan becsomagoljuk és egy zárható, fényt át nem eresztő kóddal ellátott tokba helyezük. Az UV-sugárzás ugyanis, károsítja a hajban található aromás vegyületeket tartalmazó fehérjéket, csökkenti a koleszterin szintet és oxidálja a szabad zsírsavakat is. A nem megfelelő tárolás pedig a vizsgálati eredményeket meghamisíthatja. A fent leírt módon előkészített és dokumentált minta, szállításra kész.

A mintát száraz, sötét és zárható helységben vagy páncélszekrényben tároljuk úgy, hogy ahhoz jogosulatlan személy ne férjen hozzá. Az alkalmazott biztonságtechnikai, munka- és környezetvédelmi intézkedéseknek ki kell zárni, de legalábbis minimális szintre kell csökkenteni a minta elszennyeződésének, hamisításának és bomlásának lehetőségét.

#### 4.4. Hajminta mosása, dekontaminációja

A haj vizsgálatok egyik legvitatottabb kérdésköre a mintára került külső (fizikai) szennyeződések eltávolítása, melyek nagyrészt a külső környezetből, illetve izzadságából kerülnek a hajra. A hajminta szennyezettség mértékének egzakt megállapítására - a probléma bonyolultsága miatt - egységes álláspont nem alakult ki. Jelenleg több kutató csoport foglalkozik a probléma megoldásával. A laboratóriumok szerint a mintát feldolgozása előtt szennyeződésre is vizsgálni kell, azaz meg kell teremteni a lehetőségét annak, hogy a szennyeződés utólag kizárható legyen [11].

Mérlegelni kell a haj mosás módját, lépéseit annak érdekében, hogy a minta csak, a minimálisan szükséges tisztítással feldolgozható legyen. Sok laboratóriumban a mosó folyadékot a mintával párhuzamosan megvizsgálják, majd a vizsgálat eredményeket összehasonlítva zárják ki vagy állapítják meg annak elszennyeződését, illetve a kontamináció mértékét. Több laboratóriumban a mintát elektronmikroszkóppal vizsgálják, de vannak laboratóriumok, amelyek különböző festési eljárásokat alkalmaznak a kontamináció mérésére.

A leggyakrabban, alkalmazott tisztítási eljárás [12] során a haj mintát 5%-os Na-laurilszulfáttal történő mosást követően, desztillált vízzel 3x-szor átöblítik. Ebben az esetben a hajban előforduló drogvegyületek és metabolitjaik kimosódásának vesztesége kisebb, mint 30%. Vizsgálataim során ezt a dekontaminációs eljárást alkalmaztam, a mosó folyadékot pedig nem vizsgáltam.

### 5. MINTAELŐKÉSZÍTÉS ÉS SZÁRMAZÉKOLÁS

#### 5.1 Ópiátok kivonása hajból

A natív emberi haját és a vett hajmintákat 2 cm-es darabokra való aprítást követően, golyósmalomban liszt-finomságúra őröljük. Az őrleményből 50-50 mg-ot spike-olunk meg a kémiai, illetve a belső (surrogate) standard oldatokkal az 5. táblázatban megadott arányok szerint. Így kapjuk meg a minta-előkészítéshez és kivonáshoz használt kalibrátorokat és mintákat.

A kalibrátorokat és a mintákat 4 mL-es, zárható reakcióedényekbe mérjük össze, majd 2 mL metanol hozzáadását követően légmentesen lezárjuk. A mintát tartalmazó edényeket 30 másodpercen át vortexeljük majd 2 órára ultrahang fürdőbe helyezük. Az edényeket szobahőmérsékletre való hűlésüket követően asztali centrifugában 5 percig 14 000 1/min fordulaton centrifugáljuk. A centrifugálás után az edényeket felnyitjuk, és a felülúszót 2 ml-es krimperelhető (légmentesen lezárható) szilanizált üvegedénybe visszük át, majd 40°C-ra felfűtött blokktermosztáton, nitrogénáram alatt szárazra pároljuk. A száraz párlatot 3 mL karbonát-pufferban (0,1 M és pH=9.1) felvesszük, vortexeljük és Bond Elute Certify oszlopon tisztítjuk. Az oszlop kondicionálását 3 ml metanollal és 3 ml karbonát-pufferrel végezzük. A kondicionálás után a mintaoldatot az oszlopra visszük és 1 ml/perc sebességgel (cseppenként) az oszlopon átszívátjuk. A kondicionálás és a mintafelvétel alatt az oszlopnak állandóan folyadék alatt kell lennie. A minta felvitele után az oszlopot 3 ml desztillált vízzel mossuk a mintamátrix eltávolítása érdekében. Ezután az oszlopot 35 percen keresztül 25 Hgmm nagyságú vákuum alatt tartjuk, majd 150 µL hexánnal szárítjuk. A mintát az oszlopról 2 x 0.9 ml eluáló oldattal 2 ml-es légmentesen zárható, szilanizált üvegedénybe oldjuk le 1 ml/perc (cseppenkénti) sebességgel. Az extraktumot 36°C-ra felfűtött blokk-termosztáton nitrogén gázáram alatt szárazra pároljuk.

#### 5.2. A hajból kivont Ópiátok származékolása.

A száraz maradékhoz 50 µl PFPA- és 50 µl PFPOH-oldatokat adunk, az edényt lezárjuk és 30 percig 70°C-on (Reacti-Therm™ Heating Module) blokk-termosztáton melegítjük. A mintákat szobahőmérsékletűre hűtjük, majd blokk-termosztáton nitrogén gázáram alatt

szárazra pároljuk. A száraz maradékot 75 µl diklór-metán és propan-2-ol 90 : 10 arányú elegyében felvesszük és az oldatot 100 µl-es szilanizált, minta-szűkítőbe visszük át, amelyet előzőleg 2 ml-es üvegedénybe (vialba) helyezünk. Az edényeket légmentesen lezárjuk, és a mintákat a mérésig hűtőszekrényben tároljuk +2-+8 °C-on.

### 5.3. Amfetamin származékok kivonása hajból

A natív emberi hajat és a vett hajmintákat 2 cm-es darabokra való aprítást követően, golyósmalomban liszt-finomságúra őröljük. Az őrleményből 50-50 mg-ot spike-olunk meg a kémiai, illetve a belső (surrogate) standard oldatokkal az 6. táblázatban megadott arányok szerint. Így kapjuk meg a minta-előkészítéshez és kivonáshoz használt kalibrátorokat és mintákat.

A kalibrátorokat és a mintákat 4 mL-es, zárható reakcióedényekbe mérjük össze, majd 1 mL 0.1 mólos sósavat (HCL) adunk hozzájuk. Az edényeket, 30 másodpercen át vortexeljük, majd 30 percre 100°C szárítószekrénybe helyezük. Az edényekbe tartalmuk lehülése után 0.12 mL 1 mol-os NaOH-ot és 1 mL ciklohexánt adunk, ezt követően pedig 2 percig vortexeljük, majd végül asztali centrifugában 10 percen át 14 000 1/min fordulaton centrifugáljuk. A centrifugálás után az edényeket felnyitjuk, és a felső szerves fázist (extraktum) 2 ml-es szilanizált, légmentesen záródó üvegedénybe visszük át. Az átvitt extraktumhoz 100 µl 1%-os sósavat tartalmazó metanol oldatot adunk és 30°C-ra felfűtött blokk termosztáton, nitrogénáram alatt szárazra pároljuk.

### 5.4. A hajból kivont Amfetamin vegyületek származékolása.

A száraz maradékhoz 100 µl TFAA-oldatot adunk, az edényt lezárjuk és 30 percig 60°C-ra beállított blokk-termostáton melegítjük. A mintákat szobahőmérsékletűre hűtjük, majd a származékot 100 µl-es üveg mintaszűkítő-betétbe visszük át, amelyet előzőleg egy 2 ml-es, légmentesen záródó szilanizált üvegedénybe helyeztünk. Az edényt lezárjuk, és a műszeres mérést 24 órán belül elvégezzük. A mérés megkezdéséig az előkészített mintákat hűtőszekrényben tároljuk + 2-+8 °C-on.

## 6. AZ EREDMÉNYEK KIÉRTÉKELÉSE ÉS TÁRGYALÁSA

Az illegálisan fogyasztott kábítószeres és pszichotróp anyagok problematikája a modern társadalom legégetőbb gondjai közé tartozik. A specifikus és szenzitív minőségi azonosítás és mennyiségi meghatározás valamint egy egységes analitikai adatbázison alapuló megerősítő eljárás, mely révén az akut, alkalmi vagy krónikus fogyasztók elkülöníthetőek, napjainkban is nagy kihívást jelent. Számos módszer áll rendelkezésre az illegális drog-fogyasztók kiszűrésére. A vizelet a leggyakrabban alkalmazott mátrix az ilyen vizsgálatok során [13-14]. Azonban a minta vétel nem mindig valósítható meg a vizsgálati alany privát szférájának megsértése nélkül. Ezen túlmenően az egyszeri, illetve alkalmi fogyasztás nem minden esetben bizonyítható a vizelet analízisével a gyors metabolizmus miatt. A legnagyobb probléma viszont nem az alkalmi fogyasztók kiszűrése, hanem az olyan krónikus droghasználóké, akik annak érdekében, hogy negatív eredményt produkáljanak, a minta vételt megelőző egy két napban nem vesznek magukhoz kábítószer, ezáltal a vizeletben található metabolitok koncentrációja akár 1-2 nap múltán a kimutatási határ alá (Limit of Detection/LOD) csökkenhet [15].

Mindemellett a folyadék bevitel, étkezési szokások, különféle gyógyszerek fogyasztása, az alany egészségi állapota, különösképp a keringési és vizelet kiválasztási rendellenességek, növelik a fals negatív eredmények számát. Ezeket a hibákat, hiányosságokat lehet a hajvizsgálatokkal kiküszöbölni, mivel a hajanalízis időablaka a vizelet- és a vérvizsgálatokhoz [6, 16] képest nagy, amelyet az alábbi, 7-8. táblázat szemléltet.



A kifejlesztett mérési eljárás alkalmas, a szervezetből gyorsan ürülő, Ópiát és amfetamin származékok hajból történő kimutatására, rendszeres fogyasztás esetén.

A linearitás dinamikus tartománya a Heroin és az Amfetamin származékok minden egyes vizsgált komponensére 1 től 30 ng/mg-ig volt tartható. A kalibrációs görbék felfektetéséhez, kivétel nélkül, öt különböző koncentrációjú kalibrátort használtunk. A regressziós egyenesek számítása (9. táblázat) a DIN 32645 szabályainak megfelelően történt [17].

Drog típusa	A kimutathatóság ideje		
	Vizelet	Vér	Haj
Kokain	3-7 nap	4-6 óra	6-12 hónap
Ópiátok/Heroin	2-3-nap	3-4 óra	6-12 hónap
THC*	7-28 nap	3-7 óra	6-12 hónap
Amfetaminok	1-2 nap	2-3 óra	2-6 hónap

7. táblázat. A drog típusok kiürülésének ideje biológiai mintákban

Drog típusa	Az egyes metabolitok jelenléte és egymáshoz viszonyított ürülésének sorrendje		
	Vizelet	Vér	Haj
Kokain	BeEcg>*MeEcg	BEcg**>MeEcg**	Kokain>BeEcg
Ópiátok/Heroin	Morfin>6-mam	Morphine>6-mam	6-mam>Morfin>Heroin
THC	THC-COOH***	THC-COOH>THC	THC>THC-COOH
Amfetaminok	MDMA/Amfetamin	MDMA/Amfetamin	MDMA/Amfetamin

8. táblázat. A drog metabolitok jelenléte és ürülési sorrendje biológiai mintákban

\*: amelyik nagyobb (>) az tovább jelen van a biológiai mintában.

\*\* : BEcg: Benzoyl-ecgonine, MeEcg: Metil-ecgonine

\*\*\*: THC-COOH: 11-Nor- $\Delta$ -9-THC-9-COOH

Vegyület	Intra-assay kalibrációs görbe	Korrelációs koeficiens ( $r^2$ )	Intra-assay kalibrációs görbe	Korrelációs koeficiens ( $r^2$ )
6-mam	$y=0,1085x-0,0399$	0,99999	$y=0,1059x-0,0019$	0,99998
Morfin	$y=0,1029x+0,0634$	0,99999	$y=0,1021x+0,395$	0,99999
Amfetamin	$y=0,1025x-0,0154$	0,99999	$y=0,1028x-0,0173$	0,99999
Metamf.	$y=0,1027x-0,0182$	0,99999	$y=0,1030x-0,0205$	0,99999
MDA	$y=0,1030x-0,0202$	0,99999	$y=0,1020x-0,0162$	0,99998
MDMA	$y=0,1024x-0,0134$	0,99999	$y=0,1021x-0,0113$	0,99999
MDEA	$y=0,1017x-0,0083$	0,99999	$y=0,1014x-0,0101$	0,99998

9. táblázat. A regressziós görbék illesztésének eredményei (n=5)

A statisztikai értékelések 95%-os konfidencia szinten kerültek végrehajtásra. A mennyiségi meghatározás határértékei 6-mam-ra 8.85 ng/mg, morfinra 0.9 ng/mg, amfetaminra 0.91 ng/mg, metamfetaminra 0.92 ng/mg, MDA-ra 0.90 ng/mg, MDMA-ra 0.88 ng/mg és MDEA-ra 0.89 ng/mg voltak. A kalibrációs görbék korrelációs koeficienseinek ( $r^2$ ) minden vizsgált komponens esetében elérte vagy meghaladta a 0.9999 értéket. A Heroin mindkét vizsgált komponenséből 10 ng/mg koncentrációnak megfelelő mennyiséggel spike-olt három darab minta nyomonkövetésével megbecsültük az analitok visszanyerési hatásfokát a szilárd fázisú extrakció esetében [18, 19]. Az Amfetamin származékoknál az öt vizsgált komponens 10 ng/mg koncentrációban három darab minta nyomonkövetésével pedig a folyadék fázisú

extrakció visszanyerési hatásfokát becsültük meg [19]. A visszanyerési hatásfok 10 ng/mg koncentrációknál, 6-mam esetében 70-80% a morfinnál 75-85% volt. Az Amphetamin származékoknál pedig a következő visszanyerési hatásfokokat kaptuk 10 ng/mg koncentrációk esetén: amfetamin: 60-70%; metamfetamin: 60-70%; MDMA: 75-80%; MDMA-D<sub>5</sub>: 75-80%; MDA: 70-80 %; 70-80%. Az vizsgált vegyületek és a belső (surrogate) standardjainak visszanyerési százalécai között szignifikáns eltérések (p=0.05) nem voltak. A standard oldatok alkalmazásával (6-7.táblázat) lehetővé vált minden egyes (kalibrációs) minta szekvencia a visszanyerési hatásfokokának nyomonkövetése.

Az analízis specifikusságának fenntartása érdekében a következő intézkedéseket tettük. A minta-előkészítés során ahol, az lehetséges volt, egyszer használatos eszközöket használtunk, beleértve a pipetta hegyeket, (szilanizált) üvegedényeket (vialokat), záró-kupakokat és a szilárd fázisú extrakcióhoz használt töltetes oszlopokat. A kalibrációhoz szükséges minta-szekvenciákkal (6-7.táblázat) egyidejűleg futtatott szérum standardok segítségével kizártuk a zavaró (interferáló) csúcsok jelenlétét.

A vizsgált fragmens ionok kromatográfiai csúcsainak egybevágóságát és tisztaságát, a csúcsok retenciós idejének és formájának, valamint a qualifier ionok területének a target (cél) ionok területéhez viszonyított arányával ellenőriztük (10. táblázat).

A csúcsok szimetriája is a követelmények közé tartozott. Erőfeszítéseink eredményeként, az analitok és a belső (surrogate) standardok detektálása, a gáz-kromatográfiai elválasztást követően specifikus maradt. A vak (blank) minta méréséből származó adatok kiértékelését követően megállapítottuk, hogy a mátrix (haj) anyaga nem tartalmaz zavaró (interferáló) csúcsokat. Annak érdekében, hogy a későbbiekben is kizárjuk az analit retenciós idejének téves megállapítását eredményező csúcs-interferenciákat, szűk referencia csúcs ablakokat ( $\pm 0.5\%$ ) alkalmaztunk [20].

A vizsgált vegyületek deuteráljait alkalmaztuk belső (surrogate) standardként. Ennek eredményeként mind a mátrix komponens diverzitásából, mind pedig az extrakciónál fellépő veszteségeket minimálisra csökkentettük. A kapott eredmények függetlenek a minta-előkészítési és injektálási hibáktól. Kritikus pontja a megfelelő belső-standard kiválasztása, mely fizikailag és kémiaiilag is megfelelően jellemzi a mérendő vegyület-csoportot.

Az analit molekula és a belső standardként alkalmazott vegyület moláris tömege közötti minimális az eltérés, illetve a túlnyomórészt azonos fizikai és kémiai tulajdonságaik eredményeként, az analit és deuterált analógjának retenciója a kromatográfiai oszlopon gyakorlatilag majdnem megegyezik. Az interferáló (zavaró) csúcsok felbukkanásának valószínűsége ez által csökkenthető, mint ahogy bármely pontatlanság, amely a minta előkészítés során szükségszerűen fellép. A standardizálást úgy valósítottuk meg, hogy a standardként alkalmazott haj kalibrátorokat a vizsgált haj mintákkal párhuzamosan készítettük elő. Így elimináltuk az analitok és a szérumban, normál esetben is jelenlevő, molekulák között kialakuló ártalmas reakciók következtében fellépő hibalehetőségeket. A belső (surrogate) standardok alkalmazásával lehetővé vált az analit koncentrációk egy lépésben történő meghatározása oly módon, hogy a kalibráció során az analit és a belső standard cél (target) ion csúcsok arányát vettük figyelembe.

Vegyület megnevezés	Retenciós Idő (perc)	Target (cél) és a Qualifier#1 ion aránya és hibája (%)	Target (cél) és a Qualifier#2 ion aránya és hibája (%)
Morfin-pentafluor-propionsav észter	9.98	20.1±4	7.0±2
Morfin-pentafluor-propionsav észter-D <sub>3</sub>	9.92	21.1±4	6.1±2
6-acetilmorfin-pentafluor- propionsav észter	11.35	67.8±6	42.8±3
6-acetilmorfin-pentafluor- propionsav észter-D <sub>3</sub>	11.29	57.8±6	33.8±3
Amfetamin-trifluoro-ecetsav- anhidrid	4.40	85±10	55±8
Metamfetamin-trifluoro- ecetsav-anhidrid	4.90	35±10	25±8
MDMA-trifluoro-ecetsav- anhidrid-D <sub>5</sub>	6.68	170±9	85±7
MDMA-trifluoro-ecetsav- anhidrid	6,70	175±9	85±7
MDA-trifluoro-ecetsav- anhidrid	5.90	36±8	3±2
MDEA-trifluoro-ecetsav- anhidrid	7.00	60±9	44±7

**10. táblázat.** A target (cél) és qualifier ionok elfogadott százalékos aránya.

A kimutatás (detektálás)-, minőségi meghatározás (identifikálás)- és a mennyiségi meghatározás (kvantifikálás) határértékek meghatározásánál az egy napon (intra-assay), valamint különböző napokon (inter-assay) végzett mérések eredményeit vettük alapul (11. táblázat).

Határértékek (n=5)	Intra-assay (Inter-assay)		
	6-mam, Morfin	Met/ Amfetamin	MDA/MDMA/MDEA
Kimutatás (LOD)*	0,12 (0,14) ng/mg	0,025 (0,03) ng/mg	0,025 (0,03) ng/mg
Minőségi meghatározás (LOI)*	0,12 (0,14) ng/mg	0,05 (0,06) ng/mg	0,05 (0,06) ng/mg
Mennyiségi meghatározás (LOQ)*	0,21 (0,23) ng/mg	0,09 (0,10) ng/mg	0,08 (0,10) ng/mg

**11. táblázat.** A kimutatás-, illetve a mennyiségi és minőségi meghatározás határértékei.

\*[LOD]=Limit of Detection, [LOI]=Limit of Identification, [LOQ]=Limit of Quantification

A fenti az értékeket a DIN 32645 meghatározott módon végrehajtott számítások elvégzésével kaptuk. A kísérlet célja az analitikai eljárás analitikai paramétereinek

meghatározása volt [21]. A vizsgálatokat a 2-30 ng/mg koncentráció tartományban (6-mamra, morfinra, met/amfetaminra, MDA-ra, MDMA-ra és MDEA-ra; ha n=5) hajtották végre.

A névleges koncentráció 2 ng/mg volt minden egyes vegyületre vonatkozólag. A számított koncentrációkat olyan koncentrációk révén határoztuk meg, amelyeket 5 egymást követő napon lefuttatott mérésekből nyertünk (n=5). A hiba %-ok a számított és a névleges koncentrációk eltéréseiből számítottuk ki. Az eltérések kivétel nélkül 9%-nál kisebbek voltak a legkisebb koncentrációjú kalibrátorok esetében. A mérések pontossága 4.5% és 9% értékek között mozgott [22-23].

A Heroin esetében a PFPA [24, 25, 26], az Amfetamin származékoknál pedig a TFAA származékolószerek alkalmazása számos előnyt nyújtott [26, 27]. Az alkalmazott vegyszerek nagy reakcióképességgel bírnak, melynek következtében lehetővé válik mind az analitok, mind pedig a belső (surrogate) standardok gyors és megbízható származékolása. A származékolás eredményeként kapott illékony vegyületek molekula tömege az analitok tömegénél nagyobb volt.

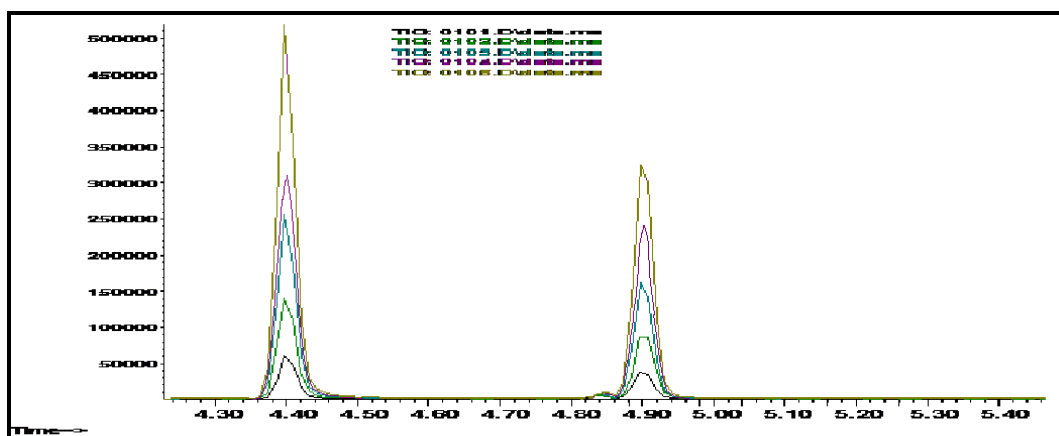
Az analitikai eljárás pontosságát 2-2 ng/mg koncentrációknál vizsgáltuk, amelynek eredményeit 12. táblázat tartalmazza.

A megszármazékolott vegyületek elektron ionizáció során nyert tömeg spektrumai minden megfigyelt vegyület esetében szimmetrikus (tisztá) volt és mérendő molekula ionokat tartalmazott. A származékok fluorid tartalma lehetővé teszi a negatív kémiai ionizációs mérést, amelynek az érzékenysége pg/mL értéktartományban van.

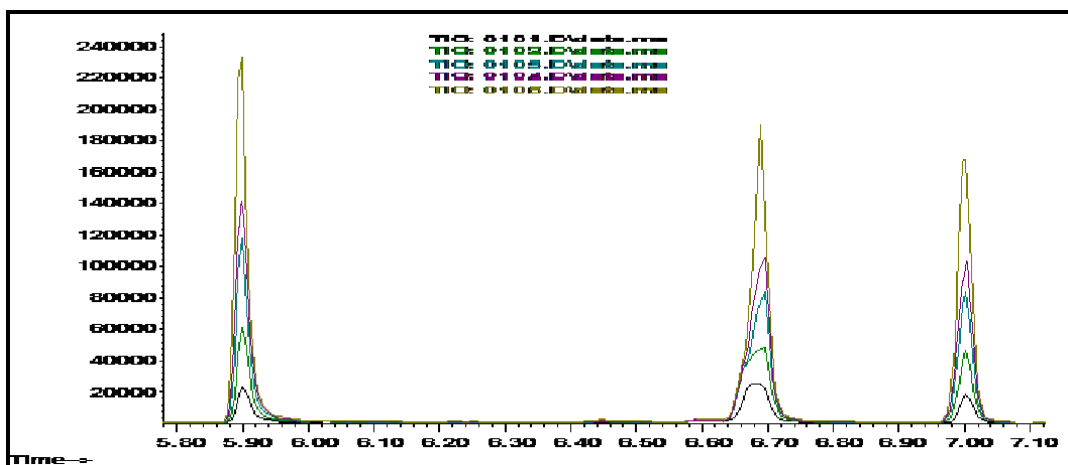
A rendszer alkalmazhatóságának vizsgálatai azt mutatták, hogy az itt felvázolt feladatunk GC/MS mérőrendszer alkalmazásával megvalósítható [28], ezért ezt a technikát választottuk (1-3. ábra).

Vizsgált vegyület	Számított koncentráció (ng/mg)	Relatív standard deviáció (%)	Hiba (%)
6-mam	1.84	10.5	8
morfin	2.18	11.0	9
Amfetamin	2.18	10.9	9
Metamfetamin	2.09	11.0	4.5
MDA	1.84	10.9	8
MDMA	1.86	10.7	7
MDEA	1.88	10.5	6

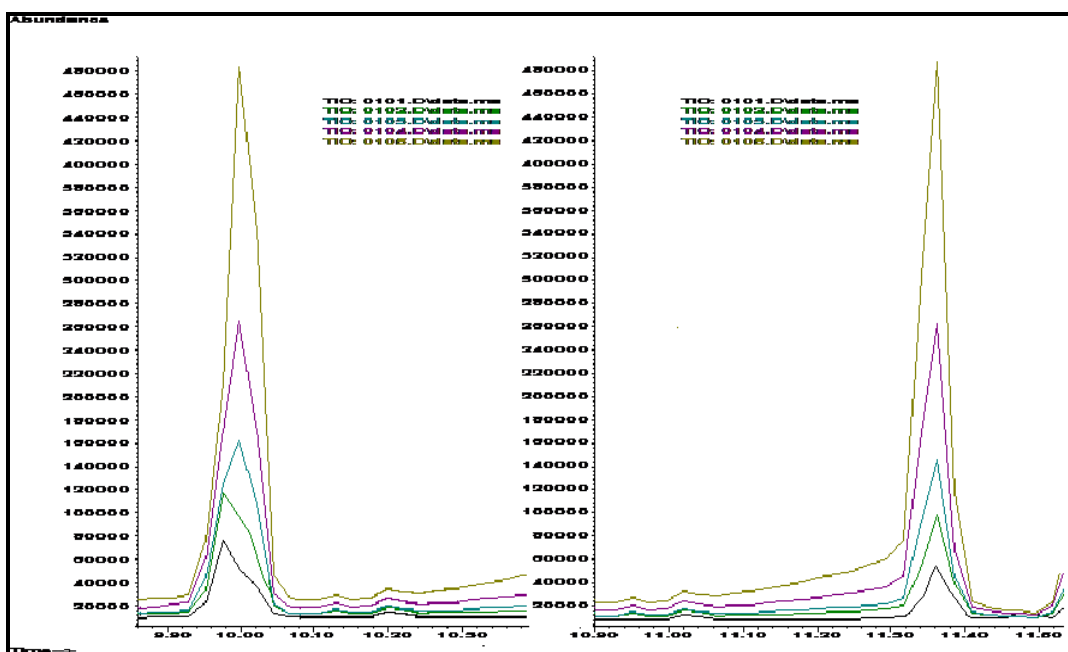
12. táblázat. Az inter-assay mérések pontossága vizsgálatának eredményei (n=5).



1. ábra. Az amfetamin és metamfetamin, azonos kalibrációs sorhoz tartozó, egymásra fektetett (overlay) kromatogramjai.



2. ábra. Az MDA, MDMA és MDEA, azonos kalibrációs sorhoz tartozó, egymásra fektetett (overlay) kromatogramjai.



3. ábra. A 6-mam és morfin, azonos kalibrációs sorhoz tartozó, egymásra fektetett (overlay) kromatogramjai.

## 7. KÖVETKEZTETÉSEK

A bemutatott eljárás tökéletesen alkalmas az opiátok és amfetamin származékok hajból történő gyors és pontos kimutatására. Az eljárás megfelel a GLP (Good Laboratory Practice) követelményeinek, amely a nem klinikai egészségügyi és környezetbiztonsági vizsgálatok szervezésével és lefolytatásával foglalkozik; magába foglalja azok tervezését, végrehajtását, ellenőrzését, dokumentálását, archiválását és zárójelentés kibocsátását. A kifejlesztett módszer rutinszerű sorozatmérésekre alkalmas, könnyen elsajátítható, gazdaságos, környezetbarát, kis anyagmennyiségekkel dolgozik és az analitikai jellemzői a mai technikai szintnek megfelelnek. A hajból történő kivonás során kapott jel-zaj arány sokkal jobb, mint a vizelet esetében, azonban vér és a szérum jel-zaj arányától elmarad. A nem invazív mintavételi technika megfelel az humán-etikai követelményeknek és nem szükséges hozzá orvosi végzettség. A mintavételt megfelelő kiképzés után középfokú végzettséggel szakszerűen végrehajtható. A vizsgált vegyületek deuterált analógjainak belső (surrogate)

standardként való alkalmazása lehetővé tette, hogy a minta-előkészítés során fellépő számos hibát az analízis során kiküszöböljünk. A haj kalibrátorok és a minta mátrixa azonos (mindkettő haj), így a mátrixok különbözőségéből adódó hiba gyakorlatilag elhanyagolható.

Az amfetaminoknál alkalmazott, sósavas feltárást követő folyadék-folyadék kivonás rövid idő alatt valósítható meg. Azonban a mintaoldat tisztasága és kinyerési hatásfoka elmarad a szilárd fázisú kivonáshoz képest.

Az analízis teljesen számítógép által vezérelt módon történt, automata minta adagolóval felszerelt GC-MS rendszerrel.

Az általunk kidolgozott eljárás révén, a szervezetből gyorsan ürülő opiát és amfetamin származékokat nagy gyakorisággal fogyasztó droghasználók hatékonyan kiszűrhetők.

Ezáltal az alkalmi drog-használók a krónikus fogyasztóktól jól elkülöníthetők, A kifejlesztett módszerek a következő területeken alkalmazhatók:

- bűnesetek kivizsgálásánál (a bűnöző drogozott-e vagy sem),
- munkaalkalmassági vizsgálatoknál,
- gyógyszermonitorozás pszichiátriás betegeknél,
- igazságügyi szakvélemények készítésénél,
- doppingolás felderítésénél,
- kábítószer adagolással elkövetett bűnesetek felderítésénél,
- előzetesen szabadlábra helyezett személyek drog monitorozásánál,
- erőszakos halálesetek kivizsgálásánál,
- és felderítetlen bűnesetek újravizsgálatánál.

## Felhasznált irodalom

- [1] CASPER, J.L. 1857-1858. Praktisches handbuch der gerichtlichen medizin, (2 vol.).
- [2] GOLDBLOOM, R.W., L.R. GOLDBLOOM and W.N. PIPER 1954 *J. Invest. Dermatol* 22: 121-128
- [3] BAUMGARTNER, A.M., JONES, P.F., BAUMGARTNER, W.A. and C.T. BLACK 1979, Radioimmunoassay of hair for determining opiate-abuse histories, *J. Nucl. Med.* 20 (7), S. 748-752
- [4] BAUMGARTNER, W.A., HILL, V.A. and W.H. PATIL 1977, Hair analyses for drugs of abuse, *J. Forensic Sci.* 34, S. 1433-1453
- [5] SKENDER, L., KARACIĆ, V., BRCIĆ, I. and A. BAGARIĆ 2002, Quantitative determination of amphetamines, cocaine, and opiates in human hair by gas chromatography/mass spectrometry, *Forensic Sci. Int.* 125 (2-3), S. 120-126
- [6] CONE, E.J. 1990, Testing human hair for drugs of abuse. I. Individual dose and time profiles of morphine and codeine in plasma, saliva, urine, and beard compared to drug-induced effects on pupils and behavior, *J. Anal. Toxicol.* 14 (1), S. 1-7
- [7] 7/2006. (III. 21.) HM rendelet a hivatásos és szerződéses katonai szolgálatra, valamint a katonai oktatási intézményi tanulmányokra való egészségi, pszichikai és fizikai alkalmasság elbírálásáról, továbbá az egészségügyi szabadság, a szolgálatmentesség és a csökkentett napi szolgálati idő engedélyezésének szabályairól
- [8] A honvédelmi miniszter 13/2009. (VIII. 26.) HM rendelete a hivatásos és szerződéses katonai szolgálatra, valamint a katonai oktatási intézményi tanulmányokra való egészségi, pszichikai és fizikai alkalmasság elbírálásáról, továbbá az egészségügyi

szabadság, a szolgálatmentesség és a csökkentett napi szolgálati idő engedélyezésének szabályairól szóló 7/2006. (III. 21.) HM rendelet módosításáról

- [9] M. HERBOLD and G. SCHMITT. B.E.N. Program. Institut für Rechts und Verkehrsmedizin, Heidelberg, Germany, 1999.
- [10] GARY L. HENDERSON, MARTHA R. HARKEY, and REESE T. JONES 1995, Analysis of hair for cocaine, International Research on Standards and Technology, Hair Testing for Drugs of Abuse, NIH Publication No. 95-3727, 91-120.
- [11] JOSEPH, R.E., SU, T.P. and E.J. CONE 1996, In vitro binding studies of drugs to hair: influence of melanin and lipids on cocaine binding to Caucasoid and Africoid hair, J. Anal.Toxicol. 20 (6), S. 338-344
- [12] SCHAFFER, M.I., WANG, W.L. and J. IRVING 2002, An evaluation of two wash procedures for the differentiation of external contamination versus ingestion in the analysis of human hair samples for cocaine, J. Anal. Toxicol. 26 (7), S. 485-488
- [13] O. BOLDIS, Gy. KOCSIS, A. GACHÁLYI, and J. FÜRÉSZ: Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Single Ion Monitoring Measurement of 11-Nor- $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-Carboxylic Acid in Urine. Journal of Chromatographic Science. 41: 190-194 (2003)
- [14] J. FÜRÉSZ, G. KOCSIS, A. GACHÁLYI, G. KARVALY, and O. BOLDIS: Mass Selective Detection of Amphetamine, Methamphetamine, and Related Compounds in Urine. Journal of Chromatographic Science. 42: 259-262 (2004)
- [15] SUZUKI, S., INOUE, T., HORI, H. and S. INAYAMA 1989, Analysis of methamphetamine in hair, nail, sweat, and saliva by mass fragmentography, J. Anal.Toxicol. 13 (3), S. 176-178
- [16] SCHULZ, M. and A. SCHMOLDT 2003, Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics, Pharmazie 58 (7), S. 447-474
- [17] Deutsches Institut für Normung 32645. Nachweis-, Erfassung- und Bestimmungsgrenze. Beuth Verlag, Berlin, Germany, 1994.
- [18] GAILLARD, Y. and G. PÉPIN 1997, Simultaneous solid-phase extraction on C18 cartridges of opiates and cocaine for an improved quantitation in human hair by GC-MS: oneyear of forensic applications, Forensic Sci. Int. 86 (1-2), S. 49-59
- [19] CIRIMELE, V., KINTZ, P. and P. MANGIN 1996, Comparison of different extraction procedures for drugs in hair of drug addicts, Biomed. Chromatogr. 10 (4), S. 179-182
- [20] BLAU, K. and HALKET, J.M. 1994, Handbook of Derivatives for Chromatography, JohnWiley& Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore
- [21] MUBHOFF, F., SACHS, H. and D. THIEME 2004, Anlage zu den Richtlinien der GTFChzur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen von 1998, Anhang B: Qualitätsstandards für spezielle Analyte, Toxicchem. +
- [22] Harmonized guidelines for singlelaboratory validation of methods of analysis, Pure Appl. Chem., Vol 74. No. pp. 835-855, 2002. IUPAC
- [23] Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, Document No. SANCO/2007/3131
- [24] NAKAHARA, Y., TAKAHASHI, K., SHIMAMINE, M. and A. SAITOH 1992, Hair analysis for drugs of abuse. IV. Determination of total morphine and confirmation of 6-

acetyl-morphine in monkey and human hair by GC/MS, Arch. Toxicol. 66 (9), S.669-674

- [25] GOLDBERGER, B.A., CAPLAN, Y.H., MAGUIRE, T. and E.J. CONE 1991, Testing human hair for drugs of abuse. III. Identification of heroin and 6-acetylmorphine as indicators of heroin use, J. Anal. Toxicol. 15 (5), S. 226-231
- [26] CORDERO, A. and S. PATERSON 2000, Simultaneous quantification of opiates, amphetamines, cocaine and metabolites and diazepam and metabolite in a single hair sample using GC-MS, J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci. 850 (1-2), S. 423-431
- [27] RÖHRICH, J. and G. KAUERT 1997, Determination of amphetamine and methylenedioxyamphetamine-derivatives in hair, Forensic Sci. Int. 84 (1-3), S. 179-188
- [28] SCHMITT, G., HERBOLD, M. and F. PETERS, Methodvalidierung im forensisch-toxikologischen Labor. Auswertung von Validierungsdaten nach den Richtlinien der GTFCh mit Valistat., Arvecon GmbH, Walldorf (Hrsg.), S. 1-86 Krimtech.71(3), S. 140