

Gaschromatographische Bestimmung von Cathinon in Khat-Pflanzenmaterial nach extraktiver Derivatisierung

Giselher Fritschi, Holger Martin, Birgit Klein

Hessisches Landeskriminalamt, Hölderlinstr. 1-5, 65187 Wiesbaden

1. Einleitung

Pflanzen der Gattung Catha z.B. Catha edulis kommen verbreitet in Regionen Afrikas wie in Äthiopien, Somalia, aber auch im Jemen vor [1-6]. Von der Pflanze werden junge Astspitzen und Blätter abgenommen, gebündelt und zum Schutz gegen Austrocknung z.B. in Bananenblätter gehüllt und in gekühlter Form versandt. So gelangt die Ware möglichst frisch zum Konsumenten. Im Falle größerer Sicherstellungen (in der Regel $\geq 20\text{-}30\text{ kg}$), ist eine Quantifizierung des Hauptwirkstoffs Cathinon (als Base), der in der Anlage 1 zum BtMG aufgeführt ist, notwendig, da sehr gutes Khatmaterial Cathinonanteile um 1 % aufweisen kann.

Im Folgenden wird eine Methode zur quantitativen gaschromatographischen Bestimmung des Cathinonbasen-Gehaltes in Khat-Pflanzenmaterial beschrieben. Die Methode wird auch im miniaturisierten Maßstab für die rein qualitative Anwendung genutzt. Das Prinzip der Probenvorbereitung besteht in einer wässrigen Extraktion des homogenisierten Materials mit einer anschließenden extraktiven Derivatisierung eines Aliquots (Bildung von Hexoxycarbonyl-Cathinon aus Cathinon).

2. Experimenteller Teil

Geräte

- Retsch-Mühle SM2000
- Gaschromatograph : Agilent 6890 mit FID und NP-Detektor
- Graphpack- Micro-Kreuzstück 0,45 mm Anschlüsse (aufgebohrt auf 0,5 mm)
Fa. Gerstel Nr. 0790245
- Trennsäule: 15m BPx50 FS- Kapillarsäule (Fa. SGE), 0,32mm i. D., 0,25 μ Phasenstärke
- Autosampler GC Pal CTC Analytics
- Software GC Chem Station Rev. B. 01. 01. [164] Agilent Technologies
- MSI Minishaker, z.B. Vortex (Fa. IKA)

Gaschromatographische Bedingungen

- Trägergas: pressure 7,72 psi Wasserstoff bei 130°C, Total Flow 46,9 mL/min
- Injektionsmethode: injection pulse pressure 10 psi bis 0,48 min, split (Split ca. 7/1), Fluss 34,4 ml/min, Injektortemperatur: 295 °C, Detektortemperatur (FID/ NPD) 350/ 350°C
- Temperaturprogramm: 0,5min. 130°C isotherm, 100°C/min. bis 150°C, 0,2min. isotherm, 25°C/min. bis 280°C, 30°C/min. bis 353°C, 2min. Endisotherme

Methode

Herstellung der Kalibrier- und Internstandardlösungen

Ca. 3,1 mg Cathinonhydrochlorid (Firma Sigma) werden in einem 25-mL Messkolben in 0,1 N HCl gelöst. Die resultierende Konzentration dieser Mutterlösung beträgt ca. 100 $\mu\text{g/mL}$ Cathinonbase. Durch Verdünnung der Mutterlösung werden 4 Kalibrierlösungen in 0,1 N HCl hergestellt, s. Tabelle 1.

Tabelle 1: Konzentrationen der Kalibrierlösungen

Kalibrierlösung (Verdünnung)	Resultierende Konzentration Cathinonbase [$\mu\text{g/mL}$]
1 (1/50)	2
2 (1/10)	10
3 (4/10)	40
4 (8/10)	80

Als Interner Standard wird Amphetaminsulfat gelöst in dest. Wasser (Konzentration ca. 100 mg/L Amphetaminbase) verwendet. Ein Aliquot des Internen Standards (100 μL \approx 10 μg) wird bei der Derivatisierung der Kalibrier- bzw. Probelösung (jeweils 500 μL) zugesetzt.

Aufarbeitung des Khatmaterials

Das tiefgefrorene Khatmaterial: Diverse Bündel aus einer Sicherstellung wird zur Gänze, inklusive Bananenblattumhüllung, Verschnürung usw. in einer Retsch-Mühle SM2000 mit Siebgröße 4 mm (diese Größe erwies sich in Vorversuchen in mechanischer Hinsicht, wie auch von der späteren Effizienz der Extraktion als gut geeignet) unter Kühlung mit fl. Stickstoff zerkleinert. Das anfallende Mahlgut wird in einem Gefäß aufgefangen, in dem anschließend eine Durchmischung erfolgen kann.

Aus diesem Homogenisat werden Teilproben abgenommen, ohne Trocknungsschritt direkt weiterverarbeitet oder unmittelbar 2-fach eingeschweißt (um eine Feuchte aufrecht zu erhalten, wie sie bei den direkt zur Extraktion eingesetzten Teilproben vorliegt). Die eingeschweißten Proben werden bei -20°C gelagert.

Sind Nachanalysen nötig, werden Proben in der noch verschlossenen Verpackung aufgetaut und weiterverarbeitet.

Zur Extraktion wird 10 g frisches Homogenisat (s.o.) in einen 250-mL Messkolben eingewogen (Standardextraktionsbedingungen für quant. Bestimmung). Die Einwaage von 10 g orientiert sich dabei am Cathinonbasen-Gehalt üblicher Sicherstellungsproben. Anschließend wird mit 0,1 N HCl aufgefüllt, eine Stunde im Ultraschallbad extrahiert und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt.

Nach Zentrifugieren des Überstandes (3 min bei 3000 U/min) wird ein Aliquot von 500 μL des wässrigen Extrakts entnommen, in einem Autosamplergefäß mit 100 μL Internstandardlösung, 500 μL Tribenzylaminlösung (30 $\mu\text{g/ml}$ in Essigsäureethylester mit 3% Pyridin) und 400 μL Phosphatpuffer (wässrige K_2HPO_4 -Lösung gesättigt, pH ca. 10,85) versetzt und 0,5 min „gevortext“. Anschließend werden 10 μL HCF (Hexylchloroformat, Firma Aldrich Nr. 252778-5 G) zugegeben und 15 min auf dem Vortex-Schüttler geschüttelt.

Nach Zugabe von 15 μL Methanol wird 0,5 min „gevortext“ und so der Überschuss an HCF zerstört. Nach Zentrifugieren (3 min bei 3000 U/min) wird die überstehende klare organische Phase abgenommen (ca. 0,35 ml) und direkt der gaschromatographischen Analyse zugeführt.

Im Arbeitsbereich von umgerechnet 2 bis 80 $\mu\text{g/mL}$ Cathinonbase (entspricht bei der beschriebenen Probenvorbereitung einem Gehalt von 0,05 – 2 ‰ Cathinon im frischen homogenisierten Khat) konnte die Linearität der Bestimmung nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenze lag bei ca. 1,2 $\mu\text{g/mL}$ (0,03 ‰) Cathinonbase, die Erfassungsgrenze bei ca. 2,4 $\mu\text{g/mL}$ (0,06 ‰) und die Bestimmungsgrenze bei ca. 4,9 $\mu\text{g/mL}$ (0,12 ‰).

Als Auswerte-Detektor wurde der FID verwendet. Prinzipiell ist auch die Verwendung des NP-Detektors möglich. Hier ist zwar eine höhere Selektivität gegeben; es ist jedoch mit größeren Messschwankungen zu rechnen.

3. Ergebnisse

In einem Versuch zur Reproduzierbarkeit der Methode wurden mehrere Kilogramm Khatbündel einer Sicherstellung mit Hilfe der angegebenen Retsch-Mühle homogenisiert, wie unter Kapitel 2 beschrieben aufgearbeitet und analysiert. Es wurden dabei von 10 Einwaagen/Extrakten jeweils 2 Teilmengen abgenommen, die zu unterschiedlichen Zeiten analysiert wurden. Die Einzelproben wurden dabei jeweils 3-fach injiziert.

Die Mittelwerte der Cathinonbasengehalte des ausgewählten Khatmaterials lagen bei den beiden Messreihen bei 0,509 ‰ mit einer Standardabweichung von $\pm 0,023$ ‰ bzw. 0,530 ‰ mit einer Standardabweichung von $\pm 0,024$ ‰.

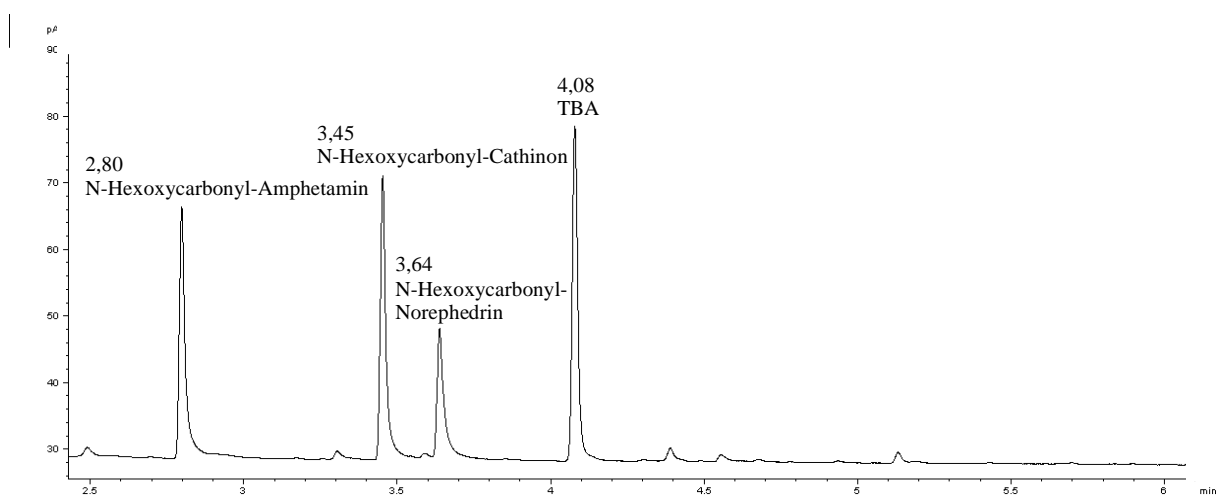


Abb. 1: Typisches FID-Chromatogramm von N-Hexoxycarbonylderivaten der Khat-Inhaltsstoffe und Amphetamin, sowie des Internen Standards Tribenzylamin (TBA)

In der Abbildung 1 ist ein typisches GC-FID-Chromatogramm wiedergegeben. Die HCF-Derivate von Amphetamin und Cathinon werden unter den angegebenen Bedingungen für quantitative Bestimmungen geeignet getrennt. Die entsprechenden Norephedrin- und Norpseudoephedrinderivate sind unter den angegebenen Bedingungen nur unzureichend getrennt.

In Abbildung 2 sind die Massenspektren der Derivate der Stoffe Cathinon, Norephedrin und Amphetamin dargestellt. Massenspektroskopisch ist das Spektrum von Cathinon-HCF durch das typische Fragment bei m/z 105 (Benzoylteilstruktur für Cathinon) von den entsprechenden Norephedrin-HCF-Derivaten mit dem typischen Fragment bei m/z 107 zu unterscheiden.

4. Diskussion

Im Regelfall liegt nur ein Teil des sichergestellten Materials zur Untersuchung vor, da weder die Untersuchungsstelle noch die Dienststellen ausreichende Lagerkapazitäten mit Kühlung besitzen, um das voluminöse pflanzliche Probenmaterial weitgehend zersetzungsfrei lagern zu können. Eine wirklich exakte Hochrechnung auf der Basis des übersandten Materials ist daher

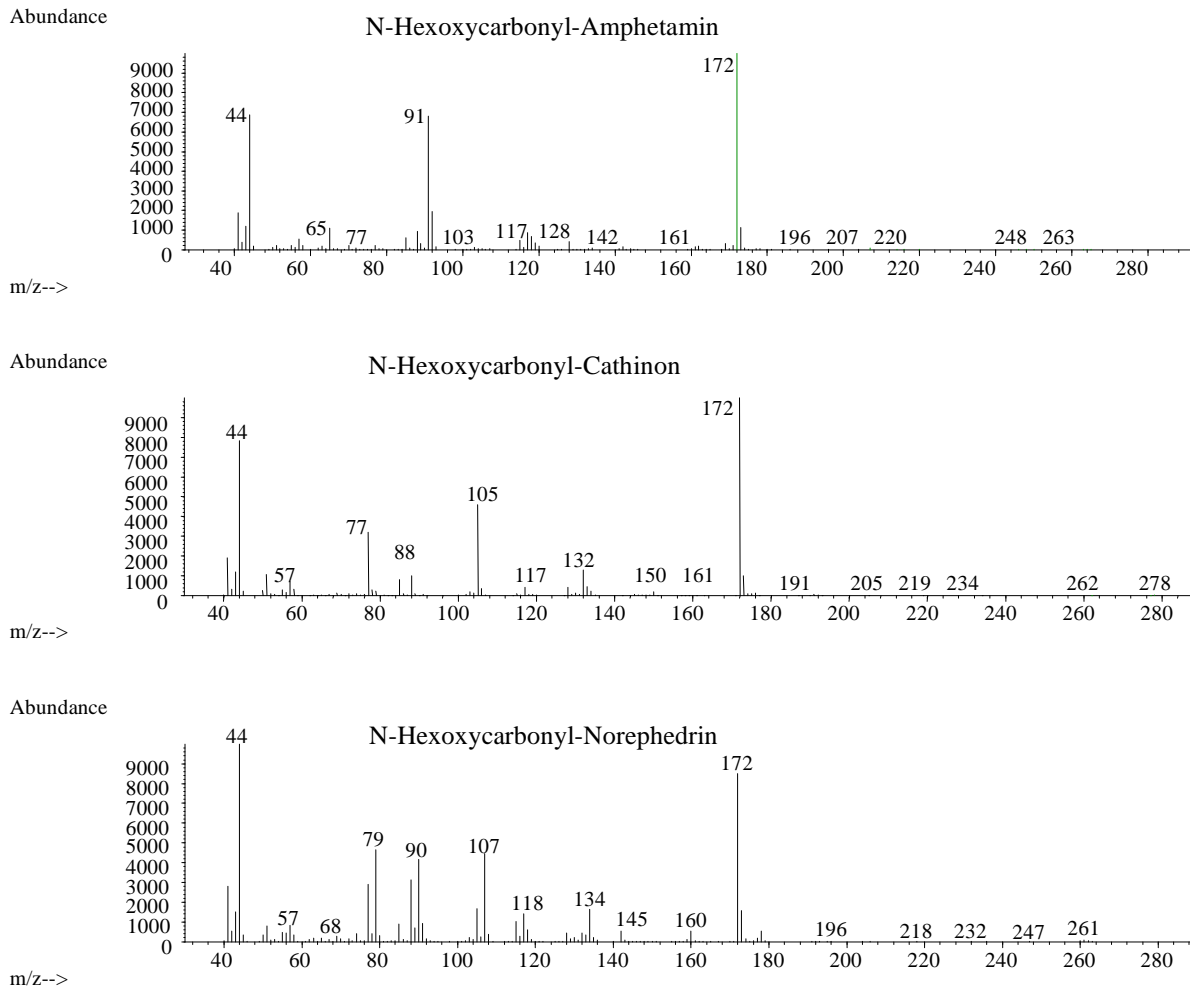


Abb. 2: Massenspektren der N-Hexoxycarbonylderivate der Khat-Inhaltsstoffe Cathinon und Norephedrin sowie von Amphetamin

nicht möglich, da nur Stichproben entnommen werden können. Variable Feuchtigkeitsgehalte bedingt durch Lagerungs- und Transportvorgänge und Homogenisierung beeinträchtigen zusätzlich eine genaue Gewichtsbestimmung. Materialverluste bei der Homogenisierung von größeren Probenmengen (mit < 1 % bestimmt) sind eher zu vernachlässigen und der beschriebene analytische Fehler mit ca. 5 % rel. Standardabweichung tolerabel.

Mit der beschriebenen Methode wird der Cathinonbasen-Gehalt der Sicherstellung (Khatbündel inclusive Bananenblatt usw.) nicht aber der Cathinonbasen-Gehalt der Einzelprobe(n) bestimmt, der durch den nicht unerheblichen Anteil der Umhüllung deutlich höher liegt. Der Verzicht auf das extrem zeitaufwändige und trotzdem nicht befriedigende, fehlerträchtige Abtrennen von Umhüllung, Verschnürungen, portionsweise Homogenisieren in kleinen Labormühlen führt zu einer erheblichen Verkürzung der Probenvorbereitung. Dies ist allerdings nur mit einer geeigneten Mühle (z.B. Schneidmühle) zu bewerkstelligen und führt letztlich zu zuverlässigeren Befunden.

Generell ist zu bemerken, dass die wesentlichen Fehlerquellen im Bereich der Probengewinnung und Probenvorbereitung liegen. Betrachtet man die bislang vorliegenden analytischen Ergebnisse und Resultate aus kleineren Ringversuchen, die von einem Homogenisat ausgehen, so sind die Resultate trotz unterschiedlicher angewandter Methodiken vielversprechend.

5. Literatur

- [1] Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis Band 4 Drogen A-D , Springer-Verlag.
 - [2] R. Brenneisen, S. Geisshüsler, Pharm. Acta Helv. 60, Nr. 11 (1985), Psychotropic Drugs, III. Analytical and Chemical Aspects of Catha edulis Forsk, 290-301.
 - [3] M.M. Lee, The Identification of Cathinone in Khat (Catha Edulis): A Time Study, Journal of Forensic Sciences, JFSCA, Vol. 40, No. 1, January 1995, pp. 116-121.
 - [4] H.X. Schorno, Khat, Suchtdroge des Islams, Pharmazie in unserer Zeit, 11. Jahrg. 1982, Nr. 3, S 65-73.
 - [5] S. Geisshüsler, R. Brenneisen, „The Content Of Psychoactive Phenylpropyl And Phenylpentenyl Khatamines. In: Catha Edulis Forsk of Different Origin, Journal of Ethnopharmacology, 19 (1987), pp. 269-277.
 - [6] T. Lehmann, S. Geisshüsler, R. Brenneisen, „Rapid TLC Identification Test For Khat (Catha Edulis)“, Forensic Science International, 45 (1990), pp. 47-51.
-



Polizei Niedersachsen

Die Polizei des Landes Niedersachsen sucht für das Kriminaltechnische Institut (KTI) des Landeskriminalamtes (LKA) zum nächstmöglichen Zeitpunkt eine/n

Diplom-Chemiker/-in mit Promotion als Leiter/-in des Dezernats Chemie

(Besoldungsgruppe A 15 BBesO; Entgeltgruppe 15 TV-L)

Das LKA hat seinen Sitz in Hannover und nimmt kriminalpolizeiliche Aufgaben auf Landesebene wahr. Im KTI werden auf höchstem wissenschaftlichen Standard kriminaltechnische und -wissenschaftliche Untersuchungen durchgeführt und Gutachten erstellt.

Sie sollten über ein hohes Maß an Fachkompetenz sowie Führungs- und Sozialkompetenz, praktische Erfahrungen auf dem Gebiet der instrumentellen Analytik, mit vorrangigem Schwerpunkt im Bereich Massenspektrometrie mit Kopplungstechniken an Flüssigkeitschromatographen sowie Gaschromatographen und ein hohes Maß an Belastbarkeit, Stresstabilität und Einsatzbereitschaft verfügen.

Neben der Dezernatsleitung übernehmen Sie zugleich die Leitung der Fachgruppe „Betäubungsmittel, Giftstoffe und Körperflüssigkeiten“ und werden hier auch als Sachverständige/r tätig.

Weitere Informationen finden Sie im Internet unter www.polizei.niedersachsen.de „Stichwort Stellenbörse“

Bewerbungen richten Sie bitte bis zum 30.09.2008 an das Niedersächsisches Ministerium für Inneres, Sport und Integration, Referat P 25 (Personal), Lavesallee 6, 30169 Hannover