



Co-funded by the Prevention of and Fight
against Crime Programme of the European Union

PRIMERJALNE PREISKAVE DROG TER DOKAZNA VREDNOST PRIMERJALNIH PREISKAV

Dr. Katja Benčina, Mojca Janežič, Dr. Tomaž Gostič in Dr. Sonja Klemenc

Nacionalni forenzični laboratorij, 07. junij 2016



primerjava primerjava -e ž (â) **1. ugotavljanje enakosti, podobnosti ali različnosti med dvema ali več lastnostmi, značilnostmi** [SSKJ]

podobnost oz. enakost se ocenjuje glede na maso zaseženega materiala, teksturo, barvo, vrsto droge ter rezultate preliminarnih testov in kvalitativnih preiskav.

Heroin (po kemični sestavi diatecilmorfin) se pridobiva iz glavice rastline maka (*Papaver somniferum*) in sicer se ga z enostavnim kemičnim postopkom prideluje iz morfina, ki je opijeva glavna aktivna sestavina. Poznamo ga v obliki prahu, ki je različnih barvnih odtenkov.



SPLOŠNI PROFIL VZORCA



HEROIN

SPREMLJAJOČE SPOJINE HEROINA

DODATKI

BARVNI ODTENKI

ENAKOST oz. PODOBNOST vzorcev- površinska enakost vzorcev

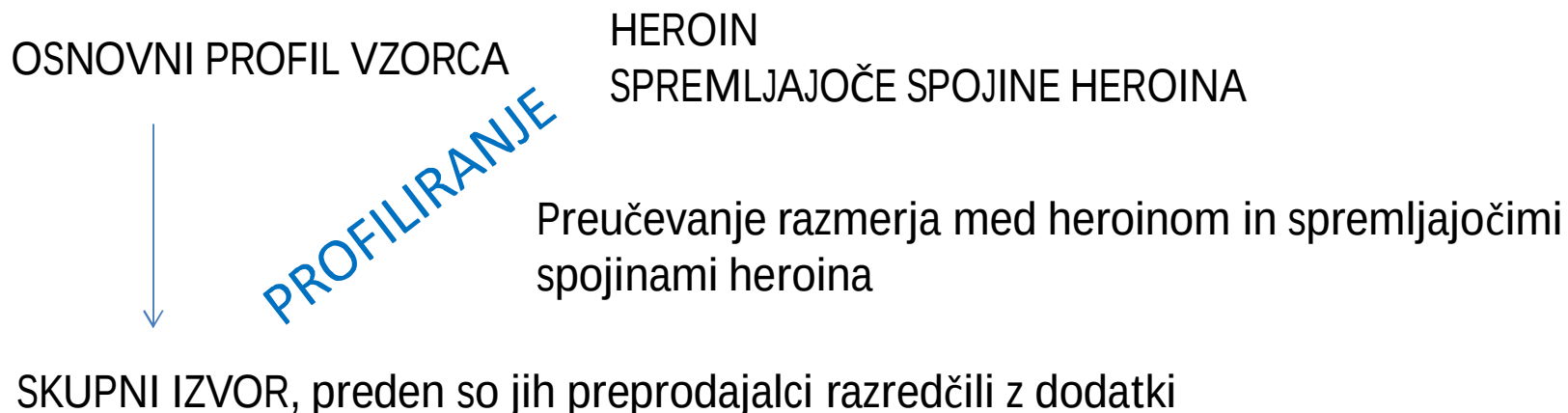


SPREMLJAJOČE SPOJINE HEROINA- izhajajo iz opija oz. morfina

Mekonin, hidrokotarnin , kodein, morfin , 3-acetilmorfin , acetilkodein, 6-acetilmorfin , acetiltebain, papaverin , noskapin

DODATKI- povečanje zaslužka

Nikotinamid, piracetam, paracetamol , fenacetin , kofein , antipirin, strihnin.....



Teoretično je odvisen izključno od surovin in postopkov priprave vzorca.

Razredčevanje vzorcev ne vpliva na osnovni profil vzorca.

PRIMERJAVA VZORCEV

Primerjava temelji na primerjavah osnovnega kemijskega profila heroinskih mešanic. Za osnovni kemijski profil smo izbrali heroin (diacetilmorfin) in glavne spremljajoče spojine (mekonin, acetilkodein, acetiltebaol, monoacetilmorfin, papaverin in noskapin), ki izhajajo iz opija. Razredčevanje vzorcev z dodatki (paracetamol, kofein...) ne vpliva na osnovni kemijski profil vzorcev.



PROFILIRANJE

POSTOPEK profiliranja:

1. KVALITATIVNA ANALIZA vzorca (GC MS)

Potrditev, da je heroinska mešanica.

2. KVANTITATIVNA ANALIZA heroinske mešanice (GC MS)

Določitev vsebnosti heroina v heroinski mešanici, zaradi omejitev primerjalne analize. (8%)

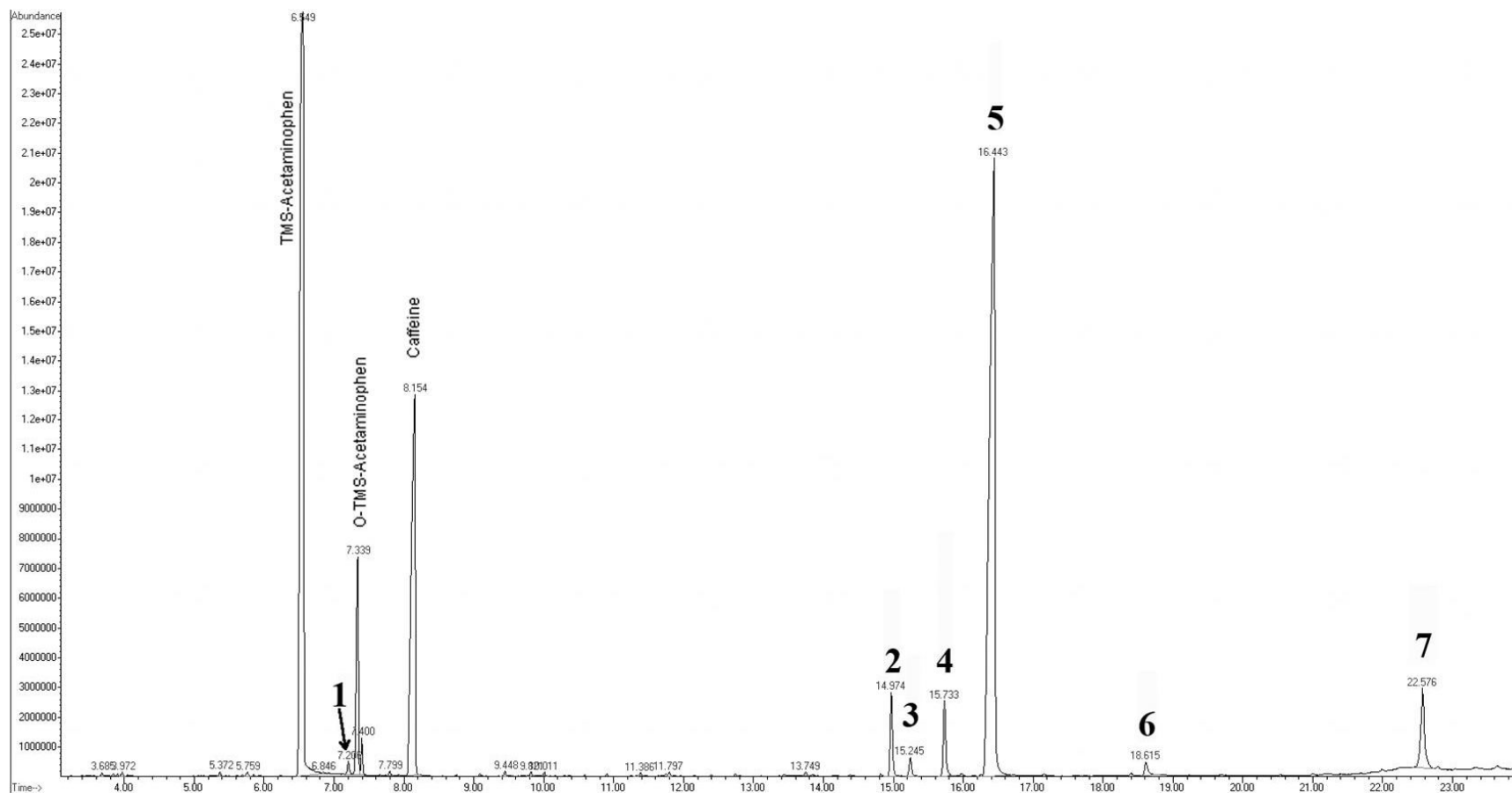
3. PROFILIRANJE- primerjalna analiza osnovnega profila heroinske mešanice (GC MS)

Določanje mekonina, acetilkodeina, acetiltebaola, monoacetilmorfina, diacetilmorfina, papaverina in noskapina.

4. KEMOMETRIČNA OBDELAVA kromatografskih rezultatov

Matematična obdelava kromatografskih rezultatov: določanje razmerja med komponentami osnovnega profila.

2. PRIMERJALNA ANALIZA heroinske mešanice (GC MS)



Oznake vrhov na kromatogramu: (1) meconin (MEC), (2) acetycodeine (COD), (3) acetythebaol (THEB), (4) TMS—6-monoacetylmorphine (6-MAM), (5) diacetylmorphine (DAM), (6) papaverine (PAP), and (7) noscapine (NOS).

4. KEMOMETRIČNA OBDELAVA kromatografskih rezultatov

Primerjavo osnovnega kemijskega profila vzorcev po primerjalni analizi z GC-MS opravimo s kemometrično obdelavo ploščin kromatografskih vrhov spojin osnovnega kemijskega profila. Za primerjavo so pomembna razmerja med ploščinami kromatografskih vrhov merjenih spojin.

Primerjamo lahko posamične pare vzorcev, lahko pa tudi večje število vzorcev.

Ozko grlo postane hitra interpretacija rezultatov.

Načini interpretacije analiznih rezultatov so lahko različne, vendar pripeljejo do enakih ugotovitev.

4. KEMOMETRIČNA OBDELAVA kromatografskih rezultatov

PEARSONOVA KORELACIJA

Za primerjavo osnovnih kemijskih profilov vzorcev smo izračunali Pearsonove korelacijske koeficiente, ki so matematična in statistična številska mera, ki je merilo za podobnost med vzorci. Za izračune uporabljamo matematični algoritem, ki smo ga izdelali s programsko opremo (Microsoft Office Excel).

Pearsonov korelacijski koeficient z vrednostjo 1 (100) kaže na popolno enakost primerjanih osnovnih kemijskih profilov vzorcev. Manjši kot je korelacijski faktor, manjša je podobnost med osnovnimi kemijskimi profili primerjanih vzorcev.

PEARSONOVA KORELACIJA

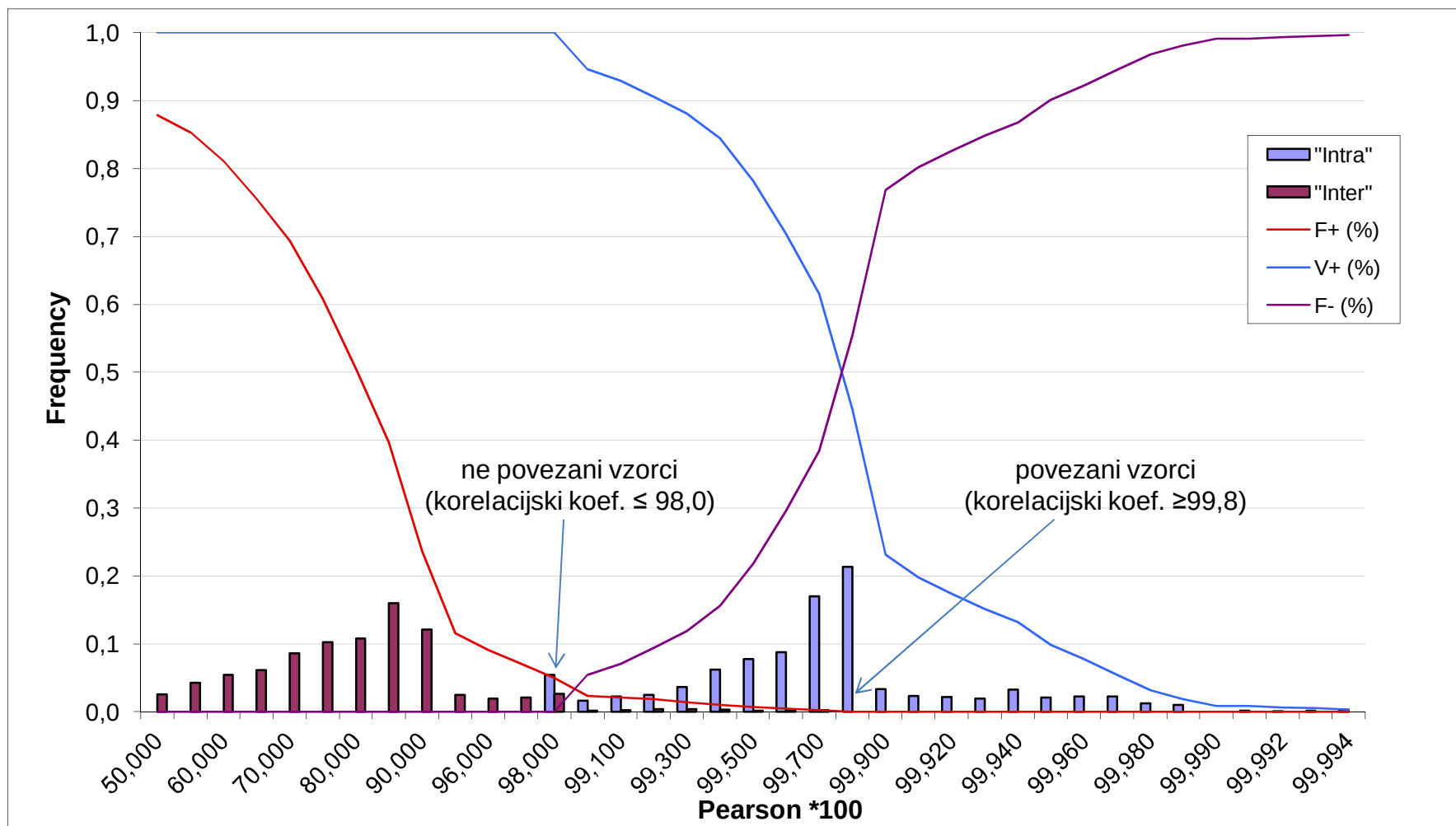
Primerjava 7 vzorcev

Oznaka vzorca

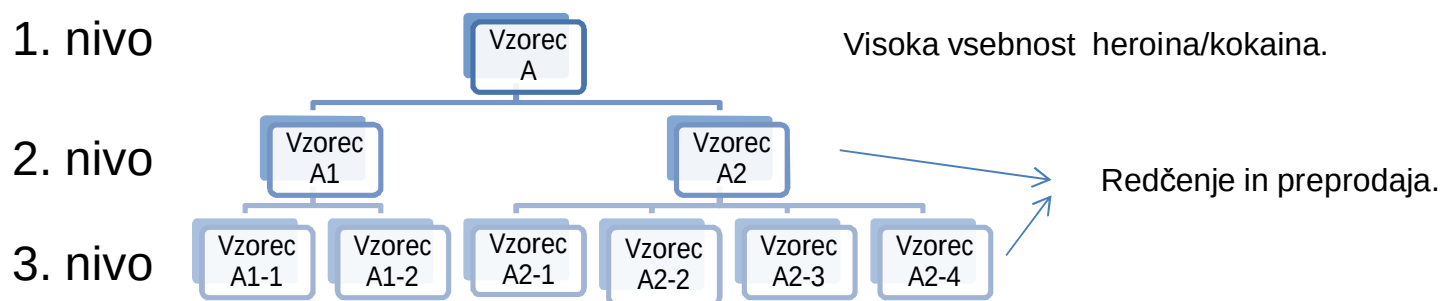
	4901_4-12-15_1	4901_4-12-15_2	4902_4-12-15_1	4902_4-12-15_2	4904_4-12-15_1	4904_4-12-15_2	4905_4-12-15_1	4905_4-12-15_2	4908_4-12-15_1	4908_4-12-15_2	4910_4-12-15_1	4910_4-12-15_2	4811_3-12-15_1	4811_3-12-15_2
4901_4-12-15_1	100,00													
4901_4-12-15_2	99,60	100,00												
4902_4-12-15_1	99,70	99,25	100,00											
4902_4-12-15_2	99,69	98,87	99,90	100,00										
4904_4-12-15_1	74,14	75,93	73,98	73,24	100,00									
4904_4-12-15_2	78,46	79,09	78,29	78,10	99,07	100,00								
4905_4-12-15_1	77,56	78,92	77,44	76,88	99,80	99,65	100,00							
4905_4-12-15_2	76,39	77,81	76,26	75,70	99,85	99,57	99,96	100,00						
4908_4-12-15_1	75,50	74,14	74,72	75,59	92,87	96,53	94,19	93,90	100,00					
4908_4-12-15_2	74,92	73,76	74,14	74,92	93,73	97,06	94,91	94,66	99,96	100,00				
4910_4-12-15_1	79,54	80,91	79,00	78,50	99,49	99,49	99,79	99,69	94,48	95,13	100,00			
4910_4-12-15_2	80,32	81,55	79,83	79,40	99,34	99,59	99,78	99,69	94,66	95,28	99,96	100,00		
4811_3-12-15_1	78,24	79,35	78,08	77,70	99,00	99,31	99,45	99,58	93,61	94,33	99,22	99,47	100,00	
4811_3-12-15_2	80,59	81,67	80,27	79,91	98,89	99,39	99,48	99,51	93,98	94,62	99,50	99,73	99,89	100,00

Korelacijski koeficient x100

Porazdelitev korelacijskih koeficientov povezanih in nepovezanih vzorcev



DOKAZNA VREDNOST



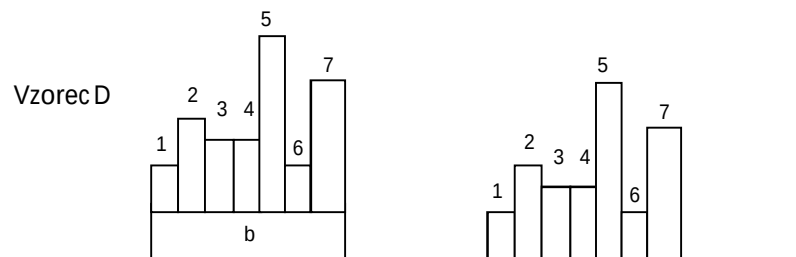
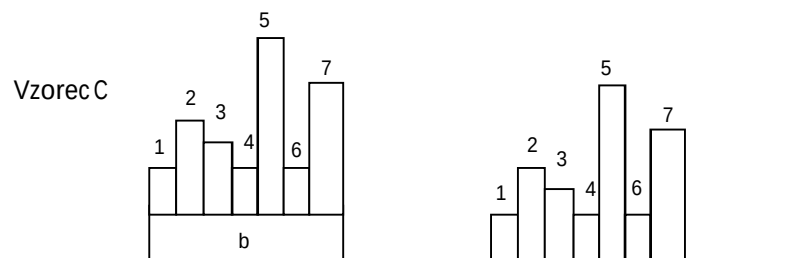
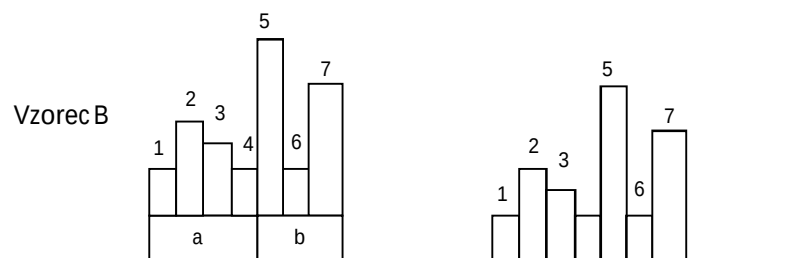
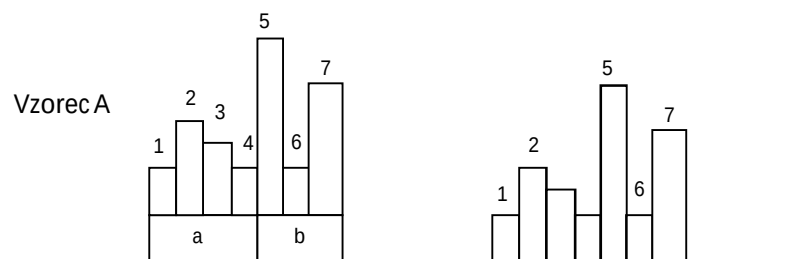
Osnovni kemijski profili zaseženih vzorcev na vseh nivojih so enaki.

S kemijskimi preiskavami ne podajamo povezav med osumljenci- preprodajalci.

splošni profil vzorca

profiliranje

Primerjave



vzorca A in B:

- se ujemata v »splošnem profilu« in imata enak »osnovni profil«



enaka vzorca

vzorca A in C

(in tudi B in C):

- se v »splošnem profilu« razlikujeta, a imata enak »osnovni profil«



glede na dodatke različna – »opijski del« vzorca pa iz istega izvora

vzorca D in C:

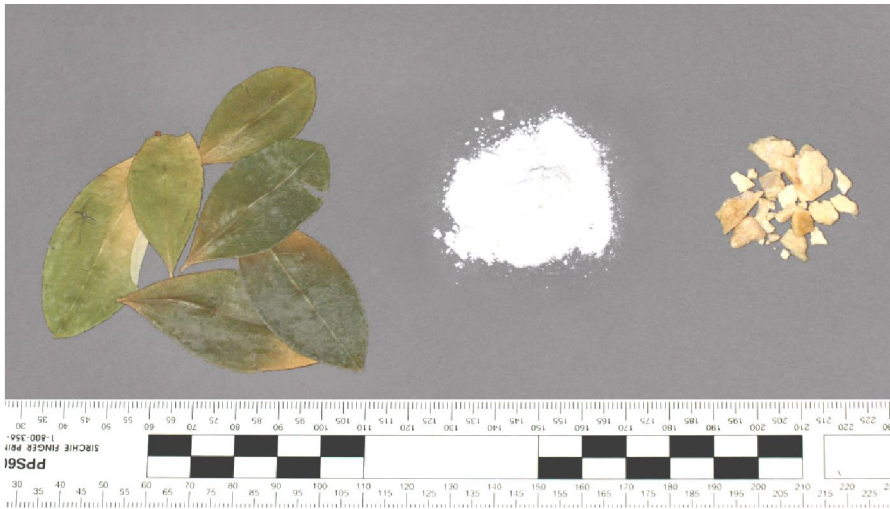
- se razlikujeta v »splošnem« in »osnovnem« profilu



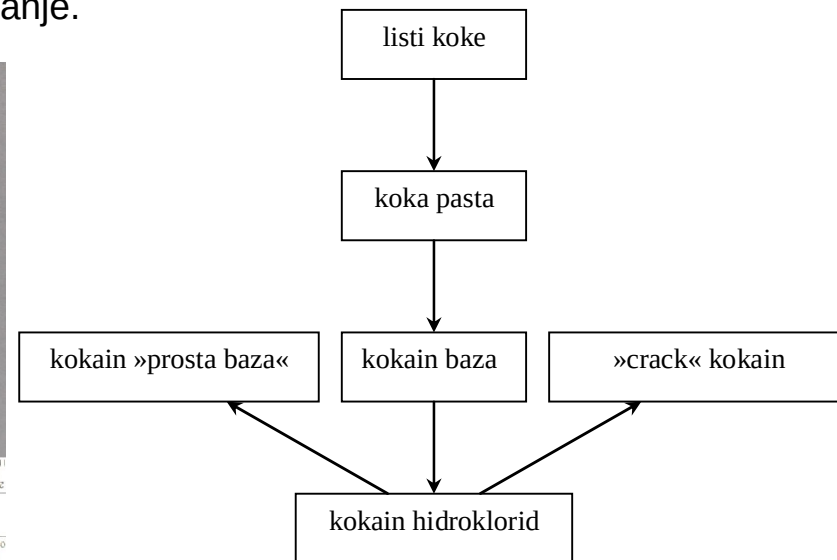
kemijsko različna – skupni izvor ni možen

Nekaj osnovnih podatkov o kokainu

- Kokain je naravna droga. Pridobivajo ga iz listov grma "koka".
- Glede na postopek izolacije je lahko v obliki baze ali soli (največkrat v obliki hidroklorida), kar vpliva na fizikalno kemijske lastnosti snovi.
- Pri postopku izolacije se s kokainom izločijo še nekatere druge spojine, ki jih lahko dokažemo tudi v ilegalnih vzorcih.
- Na ilegalnem trgu so kokainu pogosto primešane različne spojine, ki jih uporabljajo za razredčevanje oz. modificirano delovanje osnovne droge.
- Kokain spada med najbolj znane stimulatивne droge in ga uživajo predvsem v višjih družbenih slojih.
- Načini uživanja so različni: njuhanje, kajenje in injiciranje.



Slika: Posušeni listi koka rastline, kokain v obliki hidroklorida in vzorec »crack« kokaina



Slika: Postopek proizvodnje (priprave) kokaina za različne načine uživanja.

Primesi v nezakonitih kokainskih mešanicah

- Primesi so ključnega pomena za kemijske primerjave vzorcev.
- Glede na izvor lahko primesi razvrstimo v tri kategorije, in sicer: naravne primesi, namenoma dodane primesi in nečistoče iz postopkov pridobivanja.

Naravne primesi

- Med naravne primesi štejemo tiste, ki se ekstrahirajo pri postopku izolacije kokaina iz listov rastline koka. V vzorcih nezakonitega kokaina se pogosto pojavljajo s kokainom ko-ekstrahirani alkaloidi, med katerimi prevladujejo truksilini (11 izomer, njihova skupna vsebnost je glede na spojino kokain tudi do 10 %). Razmerje in vsebnost alkaloidov sta edinstvena in odvisna od sorte rastlin, pogojev gojenja, geografskega področja rasti in deloma tudi od načina postopka izolacije kokaina iz listov koke.

Namenoma dodane primesi

- Običajno se na ilegalnem trgu kokainu dodajajo primesi zaradi večjega zaslužka (povečanje mase snovi), pa tudi zaradi iskanja novih učinkov (modificirano delovanje osnovne droge). Tovrstne primesi delimo na neaktivne in aktivne dodatke. Večina aktivnih dodatkov se popolnoma legalno uporablja v farmacevtskih pripravkih. Poleg lokalnih anestetikov, ki pri uživalcih simulirajo anestetične lastnosti kokaina, lahko med aktivne dodatke uvrstimo tudi stimulanse (enako kot kokain stimulirajo centralni živčni sistem). Kot neaktivni dodatki se pogosto uporabljajo predvsem ogljikovi hidrati (npr. laktoza, glukoza, saharoza, manitol, redkeje pa škrob) in druge snovi (npr. snovi na bazi karbonatov).

Nečistoče iz postopka izolacije kokaina

- V vzorcih lahko dokažemo ostanke nekaterih topil (dietil eter, aceton, metil etil keton, etil acetat, heksan, toluen, diklorometan...), ujetih v kristalni strukturi kokaina ter sledi anorganskih snovi in mikroelementov, ki izvirajo tako iz osnovnih surovin kot tudi iz reagentov, ki so jih uporabili v postopku pridobivanja.

Primerjave kokainskih mešanic

Kemijska primerjava dveh vzorcev kokaina

Uporaba različnih priprav vzorcev in instrumentalnih tehnik (npr. FT-IR, GC-MS)

Možni rezultati analiz in ugotovitve (skrajna primera):

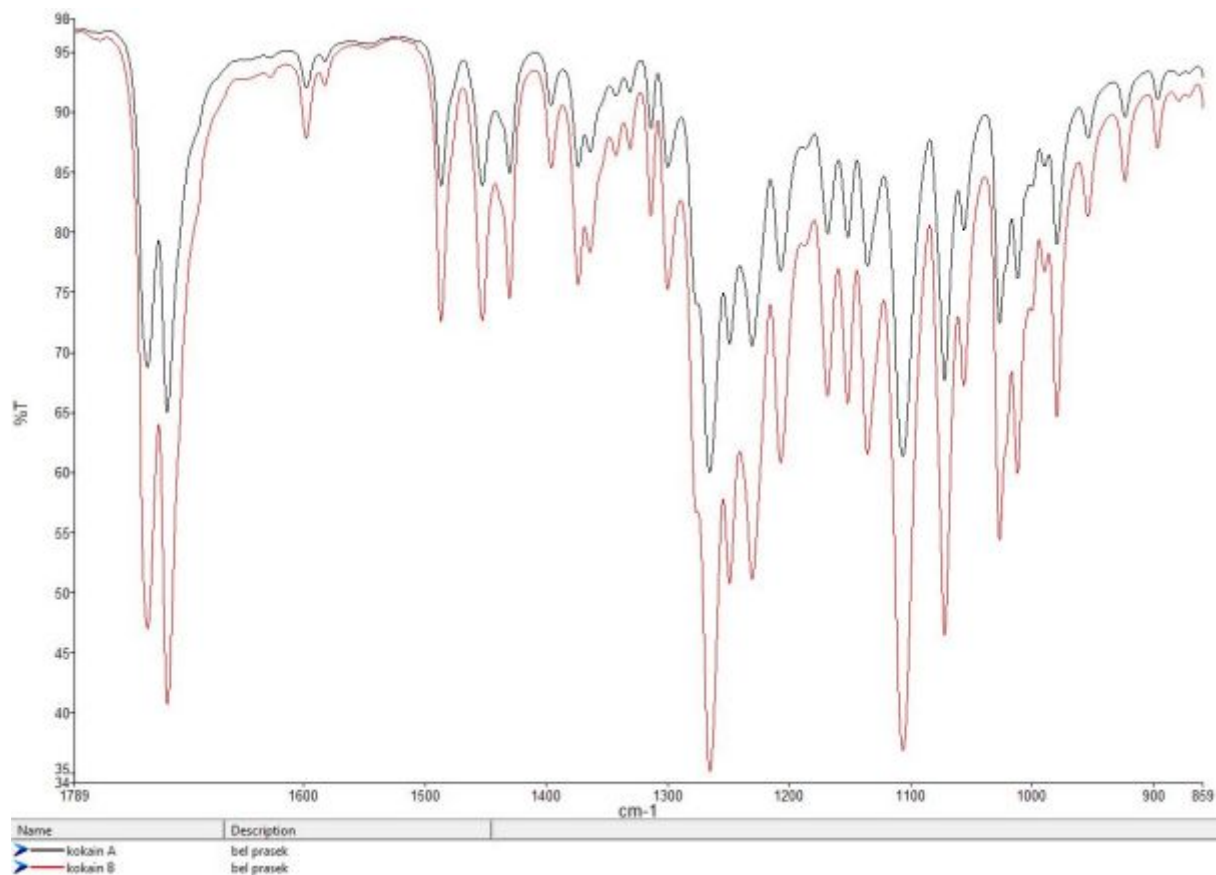
1. primer: vzorca iz zadev A in B imata drugačni kemijski sestavi,
2. primer: med vzorcema nismo opazili razlik v kemijski sestavi. Podobnost ni statistično ovrednotena (ocenjena je na podlagi kvalitete ujemanja kromatogramov/spektrov in zaključki podani na osnovi izkušenj oz. mnenja izvedenca).

Vzorca z enakim splošnim profilom:

neposredna povezava vzorcev (preprodaja vzorcev) **ali** posredna povezava (vzorca iz zadev A in B nista neposredno povezana, ampak izvirata od skupnega dobavitelja)

Vzorca z različnim splošnim profilom

čeprav imata vzorca iz zadev A in B drugačni splošni kemijski sestavi, ni nujno, da nimata skupnega izvora (eden od vzorcev je bil lahko pred preprodajo rečen z dodatki, osnovni profil vzorcev je enak).



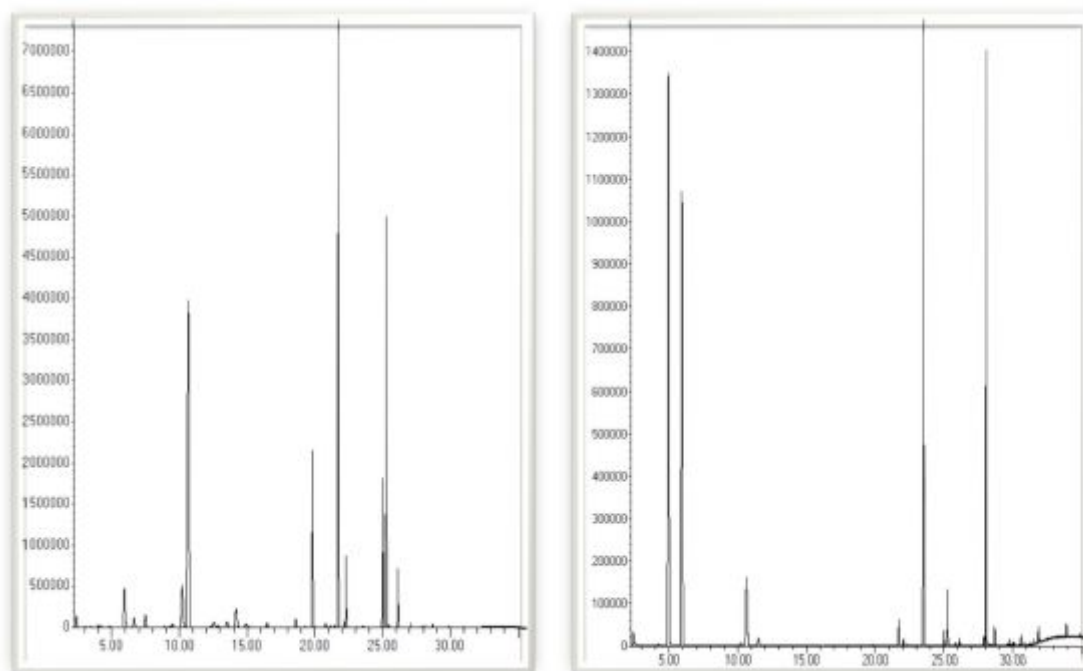
Slika: Primerjava FT-IR spektrov dveh vzorcev kokainskih mešanic, z enakim splošnim profilom

Primerjave kokainskih mešanic

Profiliranje vzorcev kokaina – korelacije osnovnih kemijskih profilov vzorcev (izdelava baze podatkov) – zahteva: nad 5g vzorca

Princip metode: Določevanje razmerji kromatografskih površin ostankov topil, uporabljenih pri proizvodnji kokaina iz listov koka (analiza s Headspace-GC-MS) – kemijsko in časovno zelo zahtevne in drage preiskave)

- Kreiranje in validacija metode.
- Kvantitativna in kvalitativna analiza vzorcev.
- Izračun Pearsonih korelacij za povezane in nepovezane vzorce.
- Študija korelacij
- Končna selekcija tarčnih spojin ostankov topil.
- Določitev mejne vrednosti korelacije za povezane vzorce (Threshold determination).



Slika: TIC kromatograma vzorcev kokaina (HS-GC-MS analiza)

Možni rezultati analiz in ugotovitve:

1. primer: vzorec iz zadeve A ima drugačen kemijski profil kot profili vzorcev v bazi podatkov (ni povezav s prehodno profiliranimi vzorci),
2. primer: vzorec A ima z določeno gotovostjo (npr. Korelacijski faktor večji od 99) enak kemijski profil kot vzorec B iz baze podatkov (skupni izvor).

Dokazna vrednost: povezujemo vzorce – vendar ne nujno tudi osebe