

Mikroślady narkotykowe. Analiza śladów kontaktowych

Wstęp

Termin mikroślady, czyli materialne substancje niewidoczne gołym okiem, kojarzony był zwykle z zupełnie inną dziedziną badań kryminalistycznych, m.in. lakierów samochodowych (np. otarcia), szkieł, włókien, gleby oraz całego spektrum śladów pochodzenia biologicznego.

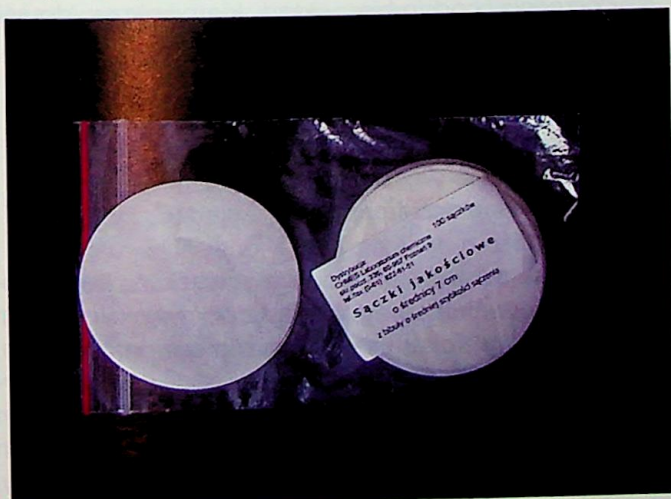
Od pewnego czasu w Wydziale Fizykochemii Centralnego Laboratorium Kryminalistycznego KGP określenie mikroślady zaczęto stosować również do substancji, związanych z narkotykami i ich produkcją, których analizę przeprowadza się z wykorzystaniem chromatografii gazowej z detekcją mas. W codziennej pracy używa się sformułowania mikroślady narkotykowe.

W roku 2004 zaobserwowano istotny wzrost liczby spraw dotyczących wykrywania śladowych ilości środków odurzających i substancji psychotropowych na powierzchniach różnych obiektów, takich jak szkło laboratoryjne, wagi, wyposażenie pomieszczeń lub wnętrza pojazdów. Konieczność udzielenia odpowiedzi na pytania z postanowień odnośnie do miejsc, przedmiotów, ludzi itp. w kontekście posiadania, styczności z narkotykami bądź ich produkcją w przeszłości, gdy nie zabezpieczono bądź nie ujawniono ewidentnych dowodów świadczących o tych zdarzeniach, wymogła na pracownikach Wydziału Fizykochemii wypracowanie określonych zachowań, sposobów zabezpieczania i pobierania próbek i przystąpienia do opracowania metody analitycznej do ich identyfikacji.

Wiązało się to z koniecznością przeprowadzenia szeroko zakrojonych badań, obejmujących wszystkie etapy postępowania, od momentu pobierania próbki do interpretacji wyników analiz instrumentalnych. W szczególności należało:

- określić najlepszy rodzaj materiału probierczego do pobierania próbek z różnych podłoży, technikę pobierania próbek, rodzaj stosowanego rozpuszczalnika oraz sposób zabezpieczenia pobranej próbki,
- wybrać technikę analityczną najlepiej spełniającą wymagania analizy śladowej, a następnie opracować optymalny sposób przetworzenia próbki dowodowej w próbkę analityczną, stanowiącą wsad do aparatury instrumentalnej,
- stworzyć odpowiednią metodę analityczną, obejmującą ustawienia sprzętowe aparatury oraz ewentualną dalszą obróbkę uzyskanych wyników.

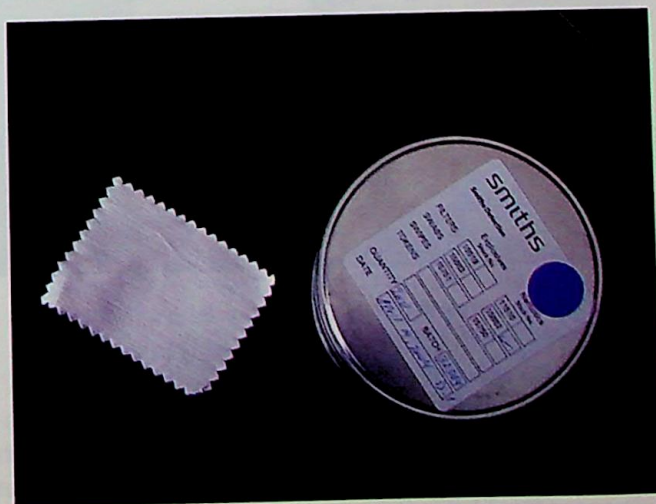
Do zbierania mikrośladów narkotykowych mogą być użyte różne nośniki, którymi w danej chwili dysponuje prowadzący czynności. Podstawowym warunkiem, jaki muszą one spełniać, jest aby były fabrycznie czyste i nie nosiły śladów wcześniejszego użycia. Wśród takich nośników można wymienić watę higieniczną, chusteczki higieniczne, bibułowe sączi laboratoryjne, szmatki Barringera do analiz narkotyków, wymazówki itp. W Centralnym Laboratorium Kryminalistycznym KGP, na potrzeby badań, mikroślady narkotykowe zwykle zabezpiecza się na bibułowych sączkach laboratoryjnych (są stosunkowo trwałe – podczas pobierania śladów nie ulegają przypadkowemu zniszczeniu, są ła-



Ryc. 1. Bibułowe sączi laboratoryjne

Fig. 1. Filter papers

źródło (ryc. 1–9): autorzy



Ryc. 2. Szmatka Barringera

Fig. 2. Barringer wipe

twe w użyciu oraz są ogólnie dostępne za przystępną cenę) (ryc. 1) oraz szmatek Barringera do analiz narkotyków (ryc. 2). Charakteryzują się one bardzo dużą trwałością i łatwością użycia. Wprawdzie jako nośniki dedykowane są do analiz z wykorzystaniem aparatu ION-SCAN, niemniej ze względu na wspomniane cechy doskonale sprawdzają się w tym zakresie. Jedyną wadą szmatek jest ich dość wysoka cena. Pozostałe nośniki wymienione powyżej, jak już wspomniano, również mogą być wykorzystane do zbierania tego typu śladów, jednak z punktu widzenia interpretacji chemicznej są one dość „uciążliwe”, ze względu na bardzo bogatą matrycę. Poza tym na chropowatych powierzchniach szczególnie wata higieniczna kłaczy, a inne materiały mogą łatwo ulec zniszczeniu. Za wyborem szmatek Barringera bądź sączków laboratoryjnych przemawia również fakt, iż są one fabrycznie podzielone i gotowe do użycia, podczas gdy watę kosmetyczną przed pobraniem należy podzielić na mniejsze porcje, co może prowadzić do łatwego jej zanieczyszczenia, a w następstwie zafałszowania wyniku analizy.

Jeżeli miejsce, z którego należy pobrać ślady, jest stosunkowo obszerne (np. mieszkanie, przestrzeń bagażowa w samochodzie itp.), jednocześnie wyczuwalna jest woń substancji chemicznych, można użyć specjalnych pochłaniaczy zapachowych, które po odpowiednim czasie adsorpcji umieszcza się w szklanych słoikach szczelnie zakręcanych (zestawy stosowane w osmologii) (ryc. 3).



Ryc. 3. Zestaw do pobierania śladów osmologicznych
Fig. 3. Odour traces collection kit

Pobieraniu mikrośladów towarzyszą zaostrzone reguły postępowania. Oprócz ogólnie obowiązujących zasad przy zabezpieczaniu mikrośladów z podłoża, na szczególne podkreślenie zasługują:

- brak wcześniejszego kontaktu prowadzącego czynności z narkotykami,

- przy nasączeniu nośnik nie powinien dotykać naczynia z rozpuszczalnikiem (najbardziej uniwersalnym i najczęściej stosowanym do przeprowadzenia tych czynności jest metanol. Użycie innych rozpuszczalników takich jak chloroform, acetonitryl, octan n-butyłu powoduje wypłukanie dużej ilości dodatkowych związków z nośników, a co za tym idzie, utrudnioną interpretację wyników. Do zabezpieczania śladów ze skóry ludzkiej poleca się etanol),
- używanie jednorazowych rękawiczek,
- nośnik z naniesionymi śladami należy umieścić w woreczku foliowym z zamknięciem strunowym lub zakręcaniej fiolce,
- zabezpieczenie ślepej próbki, tj. nośnika nasączonego czystym rozpuszczalnikiem. Rozpuszczalnik ten wraz z nośnikami z tego samego opakowania używane są przy pobieraniu śladów. Jest to bardzo istotne ze względu na wykluczenie możliwości przypadkowego naniesienia śladów przez osobę prowadzącą, zanieczyszczenie nośników bądź rozpuszczalnika stosowanego do ich nasączenia. Próbkę tę zwyczajowo oznacza się numerem 0.

Na potrzeby czynności procesowych zabezpieczenia dokumentuje się w protokołach oględzin, gdzie dokładnie opisuje się miejsca, z których pobrano ślady.

W pracowni badań narkotyków Wydziału Fizykochemii CLK KGP wypracowano algorytmy postępowania podczas oględzin pomieszczeń i przedmiotów oraz wytypowano miejsca, z których należy pobrać próbki do analizy. Najczęściej analizowane są wymazy z różnego rodzaju pojazdów, m.in. samochodów osobowych, półciężarówek, a nawet quadów. Kolejność postępowania w przypadku samochodów osobowych jest następująca:

- lewe przednie siedzenie pojazdu,
- lewe przednie drzwi pojazdu,
- przednie podszybie, układ kierowniczy, drążek zmiany biegów,
- prawe przednie siedzenie pojazdu,
- prawe przednie drzwi pojazdu,
- lewe tylne drzwi pojazdu,
- tylna kanapa pojazdu,
- prawe tylne drzwi pojazdu,
- bagażnik.

Podczas pobierania śladów z mieszkań, lokali, komórek szczególną uwagę należy poświęcić układom wentylacyjnym, okapom, urządzeniom kuchennym, miejscom trudno dostępnym lub tym, które ciężko wyczyścić – włącznikom światła, kontaktom, framugom okien, drzwi itp. W przypadku ubrań przede wszystkim ogląda się kieszenie w różnych częściach garderoby, mankiety przy rękawach, miejsca często dotykane (np. kołnierzyki, stan w spodniach itp.) oraz różnego rodzaju zabrudzenia.

Niemniej sposób postępowania i miejsca, z których zbiera się ślady, zależą od wyglądu pomieszczeń, przedmiotów oraz od zapotrzebowania podmiotu zlecającego badanie i w różnych sytuacjach może się różnić nieznacznie od przedstawionego powyżej schematu.

Oto niektóre z pytań towarzyszących przeprowadzaniu badań tego typu śladów:

„Czy w zabezpieczonych w toku oględzin samochodu marki ... śladach kryminalistycznych, zabezpieczonych na sączkach jakościowych, nasyconych metanolem znajdują się związki chemiczne świadczące o przechowywaniu lub przewożeniu amfetaminy bądź innych środków odurzających lub psychotropowych, lub ich prekursorów?”

„Czy na zabezpieczonych sączkach (bibułach filtracyjnych) oznaczonych jako ślad nr 1; nr 2 i nr 3 znajdują się ślady związane z syntezą amfetaminy?”

„Czy na ubraniu zabezpieczonym od ... znajdują się pozostałości związków kontrolowanych ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii bądź prekursorów?”

„Czy w próbkach, pobranych w dniu ... na szmatki Barringera, podczas oględzin samochodów marki ... o numerze rejestracyjnym ... oraz marki ... o numerze rejestracyjnym ... znajdują się ślady substancji psychotropowych lub środków odurzających?”

W zależności od tego jakie związki zostaną zidentyfikowane podczas analizy, można wysnuć różnego rodzaju wnioski, np.: „...na dowodowych sączkach bibułowych, na które pobrano ślady z wewnętrznej części przewodu wentylacyjnego pomieszczenia kuchennego oraz wewnętrznej części powierzchni pokrywy kucharki gazowej, stwierdzono obecność związków powstających podczas przeprowadzania syntezy amfetaminy metodą Leuckarta. Obecność tego typu związków może wskazywać, że w pomieszczeniu, z którego pobierano te ślady, prowadzona była synteza amfetaminy tą metodą”.

Nie zawsze w wyniku analizy uzyskuje się potwierdzenie obecności narkotyków, np. po stwierdzeniu obecności związków niekontrolowanych, ale związanych bezpośrednio z syntezą najbardziej popularnego narkotyku w Polsce – amfetaminy, można przypuszczać, że w danym miejscu produkowano tę substancję.

Opinia taka może posłużyć skojarzeniu osób bądź miejsc z tematyką narkotykową.

Warto wspomnieć, że analiza mikrośladów należy do bardzo czasochłonných i niełatwych. Dlatego też, aby zdecydowanie przyspieszyć proces analizy, opracowano odpowiedni komputerowy program obliczeniowy „makro” celem automatycznego poszukiwania związków w bogatej matrycy z użyciem wspomnianej już chromatografii gazowej z detekcją mas.

Wybór techniki analitycznej

Wykrywanie i identyfikacja substancji obecnych w próbce w ilościach śladowych, tj. w stężeniach mniejszych niż 0,01%, zwykle związane jest ze specyficznymi problemami, niewystępującymi przy wyższych poziomach stężeń. Do najważniejszych można zaliczyć konieczność wprowadzenia i przestrzegania procedur chroniących badany materiał przed kontaminacją oraz wymóg stosowania techniki analitycznej zapewniającej dostatecznie niską granicę wykrywalności i wysoką selektywność, pozwalającą odróżnić wykrywaną substancję od różnych zanieczyszczeń.

Praca w pobliżu granicy wykrywalności wiąże się z ryzykiem popełnienia jednego z dwóch błędów: uzyskania wyniku fałszywie negatywnego (błąd I rodzaju) lub wyniku fałszywie pozytywnego (błąd II rodzaju). Drugi z tych błędów, polegający na stwierdzeniu obecności analitu w próbce, w sytuacji gdy w rzeczywistości jest on tam nieobecny, jest szczególnie niebezpieczny przy badaniach kryminalistycznych. Podstawową przyczyną błędów w technikach chromatograficznych stanowi nieunikniony szum tła, zawsze towarzyszący sygnałowi analitycznemu (por. ryc. 4). Zjawisko szumu nierozdzielnie łączy się z pojęciem granicy wykrywalności zależnością (1), której elementy graficznie zilustrowano na rycinie 4.

$$L_D = Y + kSD \quad (1)$$

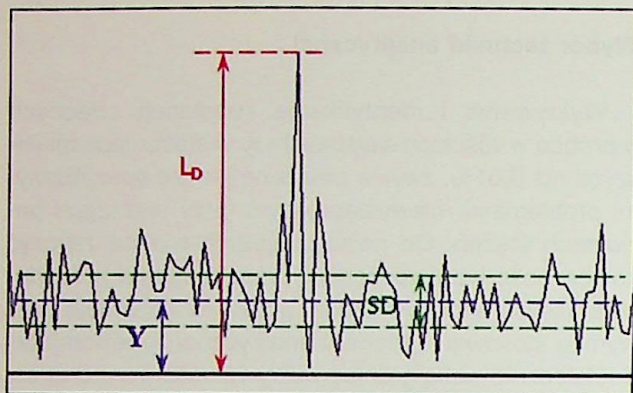
L_D – intensywność sygnału analitycznego (piku) odpowiadająca granicy wykrywalności (granica wykrywalności (wykrywalność) – najmniejsza ilość analitu, która może być stwierdzona w próbce z zadanyą prawdopodobieństwem),

Y – średni poziom szumu tła,

SD – odchylenie standardowe szumu tła.

Wartość parametru k z równania (1) determinuje prawdopodobieństwo popełnienia wspomnianych błędów: przyjmując wartości małe, zwiększamy ryzyko błędu II rodzaju, a duże – błędu I rodzaju. W obrazowy sposób znaczenie tego parametru można również przedstawić następująco: $k = 0-3$ – znaczna niepewność wyniku, $k = 3-6$ – znaczna pewność, $k = 6-10$ – pewność, $k > 10$ – możliwość analizy ilościowej [1].

Równanie (1) pokazuje, że czynnikiem ograniczającym wykrywalność jest nie tyle średnia wartość szumu tła, ile natężenie fluktuacji szumu mierzone odchyleniem standardowym. W praktyce te dwie wielkości są ze sobą powiązane i wszystkie starania ograniczające poziom szumu poprawiają wykrywalność. W tym celu w technice GC stosuje się np. filtrowanie gazu nośnego i niskoszumne (*low-bleed*) kolumny. Kolejną ważną



Ryc. 4. Przykładowy wygląd pików chromatograficznych na granicy wykrywalności metody

Fig. 4. Exemplary peak at detection threshold within chromatogram

sprawą jest to, że granicę wykrywalności określa się na podstawie wysokości pików, a nie na podstawie pola powierzchni, które jest proporcjonalne do stężenia analitu. W związku z tym warto dołożyć starań, aby dla danego stężenia badanej substancji rejestrowany pik był jak najwyższy, tj. posiadał jak największy stosunek wysokości do szerokości połowkowej. W technikach chromatograficznych osiągnięciu tego celu pomaga stosowanie kolumn o polarności dostosowanej do polarności analitów, co zmniejsza ogonowanie pików, oraz zwiększanie długości i redukcja średnicy kolumny powodująca wzrost liczby tzw. pól teoretycznych.

Opracowanie metody GC/MS

Uznano, że spośród dostępnych analitycznych technik separacyjnych jedyną, która może w warunkach analizy śladowej w zadowalający sposób spełnić wymagania dotyczące selektywności i wykrywalności, jest technika GC/MS. Założenie to staje się w pełni zrozumiałe, kiedy spojrzysz na typowy chromatogram, będący wynikiem analizy próbki pobranej z drewnianej futryny okna znajdującego się w aneksie kuchennym (ryc. 5a). Bogata matryca i niskie stężenie poszukiwanego związku (w tym przypadku amfetaminy) powodują, że poszczególne piki zlewają się w całe pasma, a interpretacja oparta wyłącznie na danych retencyjnych jest zupełnie nieskuteczna. Zastosowanie detektora MS umożliwia nie tylko wykorzystanie do identyfikacji związku jego charakterystycznego widma masowego, ale również częściową eliminację szumu tła, poprzez wyświetlenie wyniku analizy w postaci chromatogramów prądów jonowych, dla jonów o odpowiednich wartościach m/z (ryc. 5b).

Za punkt wyjścia przyjęto metodę „Narkotyk”, stosowaną do analizy stężonych roztworów badanych substancji, wprowadzając następnie do niej szereg modyfi-

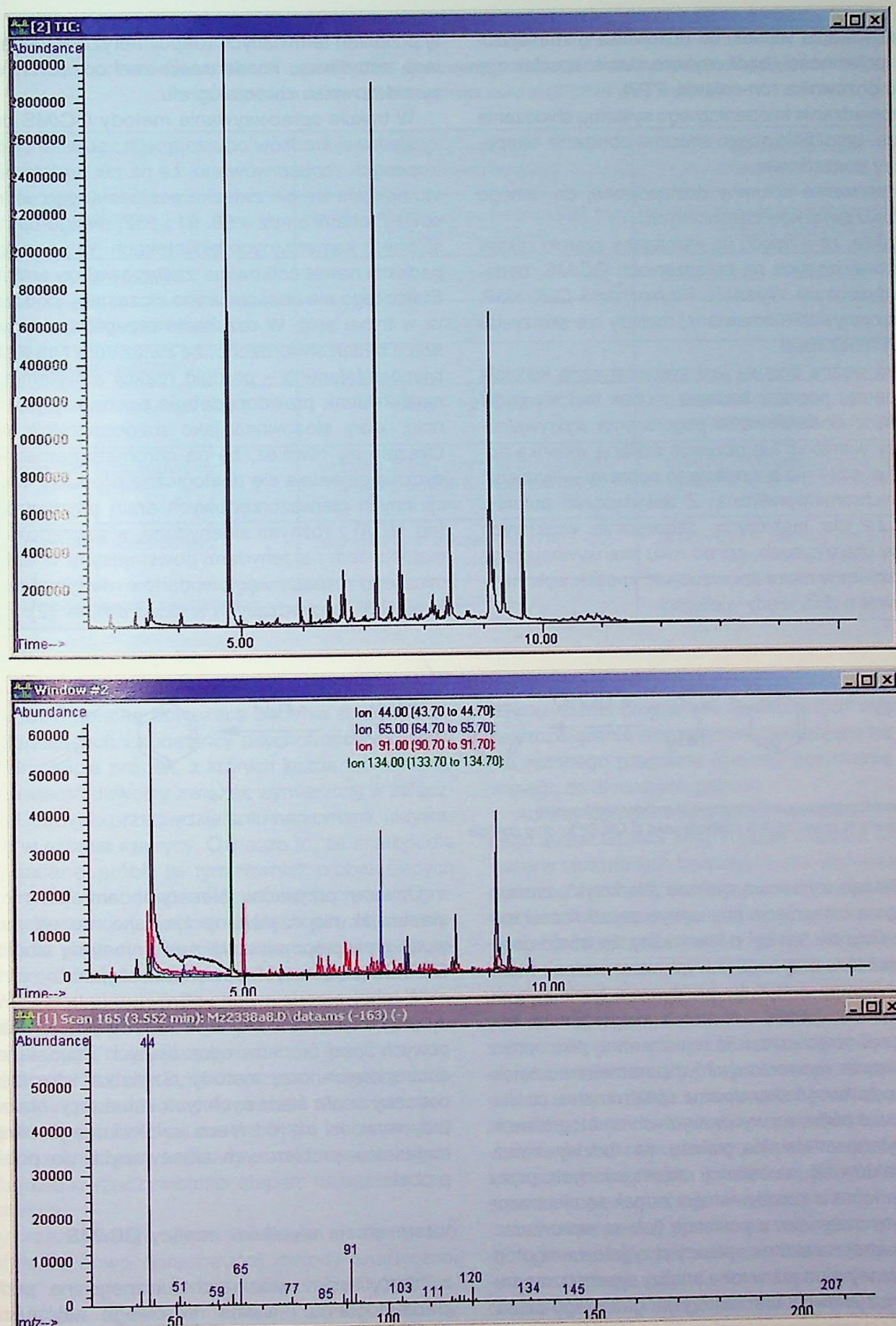
kacji, w celu stworzenia metody odpowiedniej do analizy środków odurzających i substancji psychotropowych w ilościach śladowych. Zasadniczym celem zmian było uzyskanie jak najniższych granic wykrywalności, co zgodnie z uprzednio przedstawionymi rozważaniami równoznaczne jest dążeniu, aby rejestrowane piki chromatograficzne charakteryzowały się maksymalną wysokością i smukłością, przy zachowaniu jak największego stosunku wysokości pików do odchylenia standardowego szumu tła.

Proste przestawienie trybu pracy dozownika z trybu *split* (z podziałem strumienia) w tryb *splitless* (bez dzielenia strumienia), w przypadku analizy lotniejszych związków, tj. o niskich czasach retencji, najczęściej nie przynosi oczekiwanych rezultatów. Piki chromatograficzne bowiem rozdławiają się, rozciągają w postrzępione pasma, co przy danym polu powierzchni znacznie zmniejsza wysokość pików oraz powoduje nakładanie się sygnałów analitycznych od różnych związków obecnych w próbce.

Rozwiązanie tego problemu jest możliwe, zwykle na zasadzie kompromisu, z jednej strony poprzez zmniejszenie ilości analitu wprowadzanego na kolumnę, dzięki ograniczeniu czasu próbkowania (*sampling time*, *time to purge*), z drugiej zaś poprzez prekoncentrację analitu na wlocie kolumny, wskutek zmniejszenia początkowej temperatury pieca i wykorzystania tzw. efektu rozpuszczalnikowego. Efekt uzyskuje się, gdy temperatura wrzenia zastosowanego rozpuszczalnika jest niższa od początkowej temperatury pieca. Oczywiście obniżanie temperatury początkowej ma swoje granice, wiąże się bowiem z wydłużeniem czasu chłodzenia chromatografu, co tym samym obniża wydajność pracy mierzoną liczbą próbek zbadanych w jednostce czasu.

Poza wymienionymi technikami korzystne również bywa zastosowanie zmiennego przepływu gazu nośnego, z chwilowym maksimum bezpośrednio po nastrzyku – wiele programów obsługujących chromatografy oferuje opcję *pressure surge* ułatwiającą to zadanie. Warto tutaj zaznaczyć, że znaczne zwiększanie objętości nastrzyku, o ile nie dysponuje się specjalnym dozownikiem typu PTV umożliwiającym kontrolowane odparowanie rozpuszczalnika, raczej nie spowoduje istotnego polepszenia wykrywalności, bowiem jeśli objętość par rozpuszczalnika przekracza pojemność dozownika, następuje wyrzucenie ich poza aparat razem z częścią analitu. Szczególnie dotyczy to pracy z rozpuszczalnikami o małej masie cząsteczkowej np. z metanolem.

Jeżeli aparat ma być stosowany wyłącznie do analiz śladowych, oprócz modyfikacji programowych można również wprowadzać modyfikacje sprzętowe, takie jak:



Ryc. 5a–b. Chromatogram z analizy próbki pobranej z drewnianej futryny okna znajdującego się w aneksie kuchennym w postaci zapisu całkowitego prądu jonowego (TIC) – 5a oraz prądów jonowych amfetaminy $m/z = 44, 65, 91, 134$ – 5b

Fig. 5a–b. Chromatogram of sample recovered from wooden window frame in kitchenette (TIC) – 5a and amphetamine ion currents $m/z = 44, 65, 91, 134$ – 5b

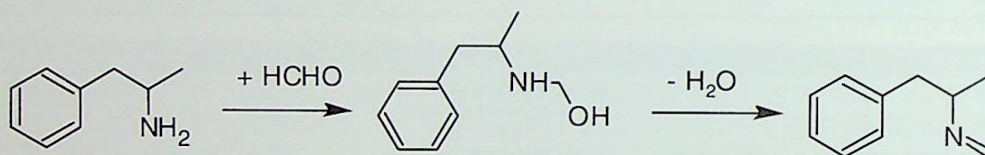
- zastosowanie wkładki do dozownika o zmniejszonej pojemności, bądź wykorzystanie specjalnego typu dozownika (*on-column*, PTV),
- wprowadzenie kriogenicznego systemu chłodzenia pieca, umożliwiającego znaczne obniżenie temperatury początkowej,
- zastosowanie kolumny dostosowanej do danego rodzaju związków chemicznych.

Jednakże, ze względu na wymagany szeroki zakres analiz prowadzonych na urządzeniach GC/MS, będących w dyspozycji Wydziału Fizykochemii CLK KGP, przy opracowywaniu omawianej metody nie skorzystano z tych możliwości.

Bardzo ważną sprawą jest systematyczna kontrola stanu aparatu poprzez badanie próbek testowych. W przypadku zaobserwowania pogorszenia wykrywalności należy wymienić lub oczyścić szklaną wkładkę dozownika, a jeżeli nie przyniesie to poprawy – wymienić kolumnę chromatograficzną. Z doświadczeń autorów wynika, że dla niektórych, szczególnie wrażliwych związków chemicznych, już po roku intensywnej pracy zużycie kolumny może spowodować spadek wykrywalności nawet o dwa rzędy wielkości.

ty przemian termicznych (depolimeryzacji, dekarboksylacji, estryfikacji, kondensacji) zachodzących w gorącym dozowniku chromatografu.

W trakcie opracowywania metody GC/MS do analizy śladowej środków odurzających i substancji psychotropowych zaobserwowano, że na pik amfetaminy często nakłada się pik związku posiadającego widmo masowe z jonami o $m/z = 56$, 91 i 132 , niefigurujące w dostępnych komercyjnych bibliotekach. W pewnych przypadkach nawet całkowicie zastępował on amfetaminę. Efektu tego nie obserwowano wcześniej, podczas analiz w trybie split. W rezultacie przeprowadzonych dalszych badań stwierdzono, że związkiem tym jest N-metylenoamfetamina – produkt reakcji amfetaminy z formaldehydem, prawdopodobnie pochodzącym z metanolu, który stosowano jako rozpuszczalnik (ryc. 6). Okazało się również, że na chromatogramach sporadycznie pojawiają się analogiczne produkty kondensacji innych pierwszorzędowych amin psychotropowych (np. MDA) z różnymi aldehydami, w szczególności formaldehydem i aldehydami powstającymi w trakcie termicznego rozpadu węglowodanów (metylogliksal, furfural, HMF) wchodzących w skład próbek [2].



Ryc. 6. Schemat przemiany amfetaminy w N-metylenoamfetaminę
Fig. 6. Comparison of two GC/MS methods used in CFLPP for drug analysis

Modyfikując wyjściową metodę „Narkotyk”, zwrócono uwagę na osiągnięcie jak najwyższej zdolności rozdzielczej. Czynnikiem ten był o tyle ważny, że wśród docelowych analitów, przy wyjściowych ustawieniach metody, istniały grupy związków praktycznie koeluujących, np. amfetamina – BMK – N-metylenoamfetamina. Aby chociaż częściowo rozdzielić rejestrowane piki, oprócz manipulowania wymienionymi już parametrami, zwiększono częstotliwość skanowania spektrometru, co ułatwiło rozdział pików na wynikowych chromatogramach.

N-metylenoamfetamina należy do rodziny związków-artefaktów, tj. substancji rejestrowanych przez aparaturę, które w rzeczywistości jednak są nieobecne w badanym materiale, a powstają (lub są wprowadzane z zewnątrz) na skutek operacji przygotowania próbki analitycznej, albo już w toku analizy wewnątrz aparatu. Każdy użytkownik chromatografu gazowego często spotyka się z tego typu związkami, wymienić można tutaj na przykład cykliczne siloksany, których źródłem jest faza stacjonarna kolumny, septum lub kapsel naczynka chromatograficznego, a także wszelkie produk-

Opisany przypadek N-metylenoamfetaminy uzmysławia, jak nieoczekiwane zjawiska można napotkać w trakcie opracowywania nowej metody analitycznej GC/MS na śladowych poziomach stężeń.

W tabeli przedstawiono porównanie ustawień metody „Narkotyk”, stosowanej do identyfikacji makroskopowych ilości środków odurzających i substancji psychotropowych, oraz metody „Szmątka” utworzonej na potrzeby analiz śladowych tych substancji. Nazwa metody wywodzi się od nieco kolokwialnego określenia materiałów probierczych stosowanych do pobierania próbek.

Interpretacja wyników analizy GC/MS

Identyfikacja związku chemicznego na podstawie chromatogramu i widma masowego najczęściej nie stwarza większych trudności, o ile dysponuje się odpowiednią biblioteką widm oraz znajomością danych retencyjnych. Problemem może być natomiast nakład czasu potrzebnego do przeanalizowania wyników ba-

Tabela

Porównanie dwóch metod GC/MS stosowanych w CLK KGP do badania narkotyków
Comparison of two GC/MS methods used in CFLP for drug analysis

Parametr	Metoda „Narkotyk” (badania identyfikacyjne)	Metoda „Szmatka” (analiza śladowa)
kolumna	Rtx-5MS, długość 30 m, średnica 0,25 mm, grubość filmu 0,25 µm	Rtx-5MS, długość 30 m, średnica 0,25 mm, grubość filmu 0,25 µm
tryb dozowania	split 1:80	splitless; czas próbkowania – 0,3 min
temperatura dozownika	250°C	250°C
objętość nastrzyku	1 µl	2 µl
przepływ gazu nośnego (He)	stały – 1,2 ml/min	zmienny – 2 ml/min przez 0,25 s, następnie redukcja do 1,2 ml/min
program temperaturowy	izoterma 100°C przez 0,5 min; gradient 15°C/min do 290°C; izoterma 290°C przez 10 min	izoterma 70°C przez 0,5 min; gradient 25°C/min do 290°C; izoterma 290°C przez 8,7 min
tryb pracy spektrometru	skanowanie w zakresie m/z = 40,5–550 z częstotliwością 0,75 s ⁻¹	skanowanie w zakresie m/z = 40,5–550 z częstotliwością 2,87 s ⁻¹
opóźnienie rozpuszczalnikowe	2,5 min	2,5 min

źródło: opracowanie własne

dań. Typowa sprawa dotycząca badania śladów środków odurzających i substancji psychotropowych obejmuje kilkanaście próbek, z których każda teoretycznie może zawierać dowolny związek wymieniony w załączniku do Ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii, ukrywający się w szumie matrycy. Oznacza to, że analytyk dla każdej badanej próbki (w tym również próbek ślepych i kontrolnych) musi dokonać oceny wielu chromatogramów prądów jonowych, obejmujących jony charakterystyczne dla przynajmniej kilkunastu najczęściej spotykanych środków odurzających, substancji psychotropowych i ich prekursorów. Powinien mieć przy tym świadomość, że często będzie się spotykał z sygnałami bardzo słabymi, mieszczącymi się na granicy wykrywalności aparatu, dla których przydatne byłoby przeprowadzenie pracochłonnych obliczeń stosunku wysokości pików do poziomu szumu tła. Może się zatem okazać, że pozornie łatwy końcowy etap procesu analitycznego będzie w rzeczywistości etapem najbardziej czasochłonnym.

Aby przezwyciężyć opisane trudności, podjęto próbę uzupełnienia nowo opracowanej metody analitycznej „Szmatka” o system automatycznej obróbki uzyskiwanych wyników analiz. W technice GC/MS systemy wspomagające pracę analityka na etapie interpretacji wyników nie są niczym nowym, wystarczy chociażby wspomnieć program AMSDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System*). Zamiast

wykorzystania programów komercyjnych wybrano jednak rozwiązanie alternatywne, polegające na utworzeniu własnego programu (makra), optymalnie dostosowanego do aktualnych potrzeb.

Autorzy oprogramowania „Chemstation”, obsługującego aparat GC/MS firmy Hewlett Packard wykorzystywany w omawianych badaniach, dali użytkownikom pożyteczną możliwość łatwego uzupełniania oprogramowania o własne podprogramy – makra, wykonujące operacje nieprzewidziane w wersji standardowej. Ponadto zaawansowany użytkownik może dokonywać modyfikacji pierwotnej wersji „Chemstation”, gdyż prawie całe oprogramowanie ma postać otwartego zbioru makr obsługiwanych przez centralną aplikację. Przez pojęcie makro należy tutaj rozumieć zespół komend, takich samych, jakie wydajemy za pomocą myszy lub klawiatury (np. otwarcie pliku z wynikiem analizy, wyświetlenie widma masowego dla wybranego skanu, powiększenie fragmentu okna), zapisanych w postaci uporządkowanego ciągu w pliku tekstowym. Ciąg komend może zostać dodatkowo wzbogacony o elementy logiczne, takie jak pętle czy instrukcje warunkowe, oraz o operacje na zmiennych liczbowych lub tekstowych. Po uruchomieniu makra wszystkie komendy wykonywane są automatycznie w zadanej kolejności. Analytyk może więc zlecić maszynie przeprowadzenie wszystkich czynności związanych z interpretacją wyniku analizy, które do tej pory wykonywał ręcznie, łącznie

z wydrukiem odpowiednio przygotowanego raportu. Oczywiście nawet najlepszy program nie może zastąpić wiedzy i doświadczenia eksperta, do którego zawsze należy podjęcie ostatecznej decyzji, czy realizowana ekspertyza będzie miała wynik pozytywny, z pewnością jednak może stanowić cenne narzędzie pomocnicze.

Makro napisane przez autorów artykułu przeszukuje uzyskane wyniki analiz, pod kątem obecności uprzednio określonych związków chemicznych, wykorzystując zarówno dane spektralne, jak i retencyjne, wykonując również przy tym stosowne obliczenia statystyczne. Efektem jego pracy jest wydruk, którego przykład przedstawiono na rycinie 7. Obok informacji dotyczących próbki (nazwa, data analizy itd.) wydruk zawiera:

- nazwy poszukiwanych związków chemicznych,
- wynik poszukiwań („+” – pozytywny, „-” – negatywny, „?” – niepewny),
- zarejestrowany czas retencji (RT),
- odchylenie RT od czasu oczekiwanego (dRT),
- odchylenie standardowe szumu tła dla jonu podstawowego poszukiwanego związku (SD),
- parametr k z równania (1), dla jonu podstawowego,
- liczbę jonów (od 0 do 4), dla których $k > 3$.

Fragment kodu przedmiotowego makra przedstawiono na rycinie 8. Zorientowany czytelnik zauważy, że z językowego punktu widzenia mamy tu do czynienia z modyfikacją znanego języka programowania BASIC – makro stanowi w istocie pojedynczą procedurę, zakończoną słowem *return*.

Dla prawidłowego funkcjonowania makra niezbędne są odpowiednie dane dotyczące poszukiwanych związków chemicznych – oczekiwane czasy retencji, wartości m/z dla czterech najsilniejszych lub najbardziej charakterystycznych jonów z każdego z widm, względne intensywności tych jonów oraz, rzecz jasna, nazwy związków. Dane te zawarto w czterech plikach tekstowych, które są z kolei tworzone i uzupełniane półautomatycznie, z wykorzystaniem makra pomocniczego (zasada jego działania nie będzie tu rozpatrywana), na podstawie wyników analiz próbek odniesienia w danej metodzie analitycznej. Należy podkreślić, że omawiane makro może współpracować z dowolną metodą analityczną i dowolnym zestawem substancji (mogą to być np. materiały wybuchowe) – program automatycznie odczytuje nazwę metody i wybiera stosowne pliki źródłowe z odpowiednimi danymi. Niestety makro działa jedynie w środowisku „Chemstation”, co sprawia, że służyć może tylko użytkownikom aparatów GC/MS obsługiwanych przez ten program.

Poniżej przedstawiono w punktach uproszczony algorytm działania makra. Wykonanie wszystkich operacji trwa kilka – kilkanaście sekund.

Plik: C:\
Operator: IP
Nazwa próbki:
Utworzony: 7 Oct 2005 17:14
Metoda: SZMATKA.M

nazwa związku	wynik	RT	d.RT	SD	k	jony
BMK:	+	3.5	-0.01	34.2681	23.284	4
cyjanek benzylu:	+	3.55	-0.01	21.632	10.5376	3
amfetamina:	-			25.5637	1.33588	0
metamfetamina:	-			12.7456	3.07165	1
efedryna:	-			39.849	0.942307	0
4-met.-5-fen.pir.:	?	5.46	-0.01	0		2
4-benzylpir.	-			22.8887	2.88351	0
imina(BMK+amfet-:	-			9.39149	4.78093	1
di(fen.iprop)amina +	7.55	0.08		0		3
di(fen.iprop)metan+	8.01	0.04		0		3
di(fen.iprop)form.:	8.99	-0.01		21.8629	817.423	4
safrol:	-			0		1
metadon:	-			91.435	40.8973	1
kodeina:	-			0		0
acetylkod.:	-			24.5346	1.81581	0
6-mam:	-			19.211	1.78543	0
diacetylmorf.:	-			10.0623	4.74543	1
papaweryna:	-			0		0
kokaina:	-			25.5719	-0.463399	0
THC:	-			0		0
CBN:	-			9.8387	4.75673	1
MDMA:	-			50.6258	-0.174812	0
PCP:	-			0		0

wykonano: Fri Nov

z użyciem makra >szukaj.mac<

RT - czas retencji [min]; d.RT - odchylenie RT od czasu wzorcowego
SD - odchyl. stand. szumu tła; k - stos. sygnału do SD
jony - liczba pasujących jonów (0-4)

Ryc. 7. Raport – efekt końcowy działania makra analizującego wynik badań

Fig. 7. Report – final outcome of using result analysis macro

```

A=ARRAYSTAT(baza,20)
IF (A[5]-A[6]) > 1000 THEN
  i=1
  WHILE i <= 20 DO
    SCAN (Val(skan$)+i,60),X
    GETSCALARS POINT,(jony[1]-0.3):(jony[1]+0.3)
    baza[i]=Yval
    i=i+1
  ENDWHILE
  B=ARRAYSTAT(baza,20)
  IF (A[5]-A[6]) > (B[5]-B[6]) THEN
    A=B
  ENDIF
ENDIF

strprint Val$(A[2]),46,(6+k)
IF A[2] > 0 THEN
  strprint Val$((plik - A[1])/A[2]),56,(6+k)
ENDIF

j=0
IF pik > (A[1]+3*A[2]) THEN
  j=1
  pik=pik-(A[1])
  n=1
  WHILE n<=3 DO
    IF j>=1 THEN
      i=1
      WHILE i <= 20 DO
        SCAN (Val(skan$)+i),X
        GETSCALARS POINT,(jony[n+1]-0.3):(jony[n+1]+0.3)
        baza[i]=Yval
        i=i+1
      ENDWHILE
      A=ARRAYSTAT(baza,20)
    
```

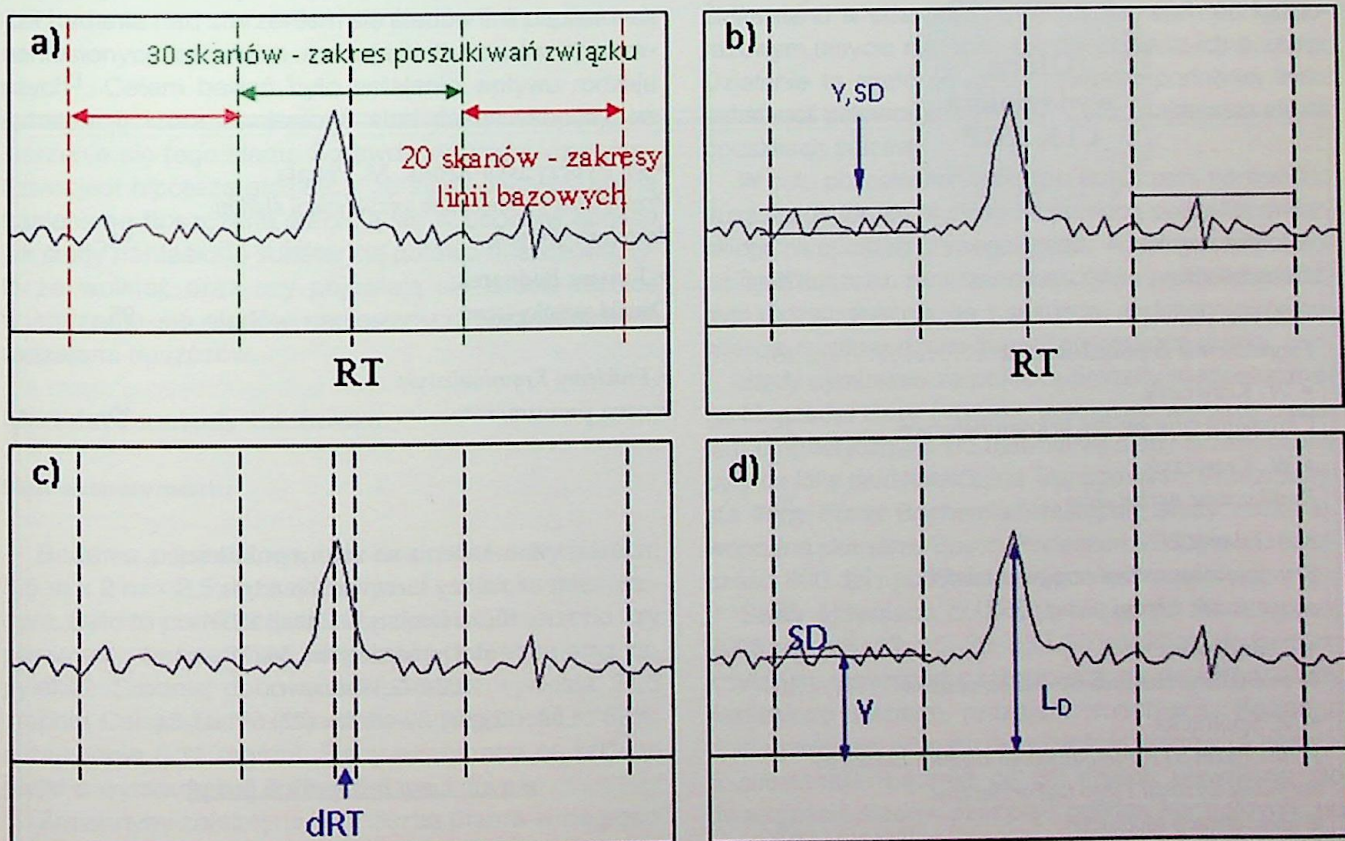
Ryc. 8. Fragment kodu makra do analizy wyników badań
Fig. 8. Result analysis macro code (fragment)

1. Pobierać z plików niezbędne dane dla pierwszego (lub kolejnego) związku z listy.
2. Otworzyć chromatogram prądu jonowego dla wybranego jonu (pierwszego/kolejnego) danego związku i określić przedział obliczeniowy (w oparciu o wartość RT z pliku) – rycina 9a.
3. Określić rozrzut sygnału w obu zakresach linii bazowej; wybrać zakres o mniejszym rozrzucie do obliczenia wartości SD i Y – rycina 9b.
4. Przeszukać środkowy obszar w poszukiwaniu skanu o najsilniejszym sygnale (wierzchołek domyślnego pik), określić odchylenie RT – rycina 9c.
5. Oblicz parametr k z równania (1), odrzucić rozpatrywany jon jeżeli $k < 3$ – rycina 9d.
6. Jeżeli rozpatrywany jon jest drugim, trzecim lub czwartym, określić względne intensywności w stosunku do jonu pierwszego; odrzucić rozpatrywany jon w przypadku zbyt dużej rozbieżności z wartością wzorcową (z pliku).
7. Wybrać kolejny jon i wrócić do punktu 2. Jeśli ten jon był ostatnim (czwartym) – przejść do punktu 8.
8. Podsumować poszukiwania związku według liczby zatwierdzonych jonów: 0–1 – wynik negatywny, 2 – wynik niepewny, 3–4 – wynik pozytywny.

9. Wybrać następny związek z listy i wrócić do punktu 1. Jeśli ten związek był ostatni – przejść do punktu 10.
10. Drukowanie raportu. Koniec pracy programu.

Podsumowanie

Obecnie coraz więcej laboratoriów kryminalistycznych komend wojewódzkich Policji może prowadzić badania chemiczne techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC/MS). Dzięki temu laboratoria te mogą wykonywać szereg ekspertyz, których realizacja do niedawna leżała w gestii CLK KGP. Dotyczy to w szczególności ekspertyz z zakresu analizy śladowej różnych związków organicznych, takich jak materiały wybuchowe, substancje drażniące, czy wreszcie środki odurzające i substancje psychotropowe. Ostatnia z wymienionych grup substancji ma procentowo największy udział w całej puli analiz śladowych prowadzonych w CLK KGP, nawet jeżeli wyłączy się z niej badania płynów ustrojowych. Ponieważ analogicznej sytuacji należy się spodziewać w każdym LK KWP podejmującym badania techniką GC/MS, autorzy niniejszego artykułu przedstawili własne doświadcze-



Ryc. 9a–d. Graficzne zobrazowanie wybranych etapów pracy makra – objaśnienia w tekście
Fig. 9a–d. Graphic illustration of selected stages of macro operation – see explanations in the article

nia w zakresie opracowywania metodyki wykrywania śladowych ilości środków odurzających i substancji psychotropowych, mając nadzieję, że będą one pomocne dla wszystkich osób zamierzających wdrożyć podobne metody badawcze w swoich pracowniach, bo, tak jak w przypadku większej ilości substancji poddawanej analizie, posiadając nawet najdrobniejsze cząstki materii, można pokusić się o wykonanie pełnej identyfikacji materiału.

Iwona Perkowska
Łukasz Matyjasek

BIBLIOGRAFIA

1. Hulanicki A.: Współczesna chemia analityczna – wybrane zagadnienia, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001.
2. Matyjasek Ł.: Azometinowe pochodne amfetaminy w analizie metodą GC/MS, 2004, praca niepublikowana.

Streszczenie

W artykule omówiono możliwości identyfikacji narkotyków występujących w skali mikro pobieranych z różnych miejsc, obiektów, przedmiotów. Określono najlepszy rodzaj materiału probierczego (nośników) do pobierania próbek z różnych podłoży, technikę pobierania próbek, rodzaj stosowanego rozpuszczalnika oraz sposób zabezpieczenia pobranej próbki. Wybrano technikę analityczną najlepiej spełniającą wymagania analizy śladowej oraz stworzono odpowiednią metodę analityczną, obejmującą ustawienia sprzętowe aparatury oraz dalszą obróbkę uzyskanych wyników.

Słowa kluczowe: metoda GC/MS, mikroślady narkotykowe, nośniki śladów

Summary

The article presents the possibilities of identification of drugs found in micro volumes that may be recovered from various locations and objects. The Authors point out the best material for collection of samples from various substrates, solvent used, as well as the collection method. The analytical technique that meets best the requirements of trace analysis was selected and respective method of analysis was elaborated with inclusion of instrument settings and further processing of results.

Keywords: GC/MS method, drug traces, substrates

Oferta
wydawnicza
CLK KGP

- J. Moszczyński
Daktyloskopia26,-
- Z. Ruszkowski
Fizykochemia kryminalistyczna15,-
- W. Krawczyk
Chromatografia gazowa w kryminalistyce25,-
- W. Krawczyk
Profilowanie narkotyków25,-
- A. Filewicz
*Kryminalistyczne badania pozostałości
po wystrzale z broni palnej (GSR)*35,-
- L. Rodowicz
Kryminalistyczne badanie śladów obuwia10,-
- M. Spólnicka
*Polimorfizm STR niekodującego regionu ludzkiego
hormonu wzrostu i jego wykorzystanie
w identyfikacji osobniczej*26,-

- M. Rybczyńska-Królik, M. Pękała
*Przewodnik po metodach wizualizacji śladów
daktyloskopijnych*54,-
- Tomasz Bednarek
Dowód osmologiczny95,-
- Problemy Kryminalistyki
roczna prenumerata40,-

Zamówienia na zakup publikacji
należy kierować na adres:
Biuro Logistyki Policji KGP
ul. Domaniewska 36/38
02-672 Warszawa
tel. (22) 601-29-45, fax (22) 601-41-24

e-mail: l.maszer@policja.gov.pl