

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
(Direktorin: Prof. Dr. med. Johanna Preuß-Wössner)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**MORPHINKONZENTRATIONEN IM SPEICHEL NACH EXZESSIVEM
MOHNSAMENVERZEHR IN EINEM KONTROLLIERTEN ESSVERSUCH –
RELATION ZU KONZENTRATIONEN IM BLUTSERUM**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
DANIEL GHEORGHU
aus Düsseldorf

Kiel 2023

1. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Johanna Preuß-Wössner
2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. Dr. Ingolf Cascorbi
Tag der mündlichen Prüfung: 03.08.2023
Zum Druck genehmigt, Kiel, den 27.04.23

gez.: Prof. Dr. Franziska Theilig
(Vorsitzende der Prüfungskommission)

Morphinkonzentrationen in Speichel nach exzessivem Mohnsamenverzehr in einem kontrollierten Essversuch – Relation zu Konzentrationen im Blutserum

1. Einleitung und Fragestellung: Prinzipielle Mohnproblematik.....	1
1.1 Mohnsamenverzehr als Ursache positiver Opiatbefunde	1
1.2 Zielsetzung	2
1.3 Allgemeines über den Schlafmohn und seine Verwendung	3
1.4 Chemische Struktur und Metabolismus der für die Fragestellung relevanten Opiate	10
1.4.1 Morphin	10
1.4.2 Heroin.....	12
1.4.3 Codein.....	13
1.5 Bedeutung von Drogen-Vortests im Urin und Speichel	14
1.6 Bestimmung von Opiaten im Speichel mit dem Dräger DrugTest®-System	16
1.6.1 Allgemeines zum Speichel	16
1.6.2 Dräger DrugTest®-System.....	16
1.6.3 Kreuzreaktivität	17
1.6.4 Probenvorbereitung.....	19
2. Material und Methoden	
2.1 Eingesetzte Probenaufarbeitungs- und Analyseverfahren	20
2.1.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion	21
2.1.2 Festphasenextraktion (SPE)	21
2.1.3 Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)	22
2.2 Methodenübertragung von der manuellen zur automatisierten Festphasenextraktion	23
2.3 Untersuchung der für die Studie zur Verfügung stehenden Mohnchargen hinsichtlich ihres Morphin- und Codeingehaltes	25
2.3.1 Material	25
2.3.2 Probenvorbereitung.....	28
2.3.3 Übersicht der Morphingehalte der zur Verfügung stehenden Mohnchargen	29
2.3.4 Abnahme der Morphinkontamination durch küchentechnische Zubereitung.....	30

2.4	Bestimmung von Morphin in Speichel und Urin mittels GC/MS nach vorausgegangener automatisierter Festphasenextraktion	32
2.4.1	Untersuchung von Speichel	32
2.4.2	Untersuchung von Urin	34
2.5	Systematische Untersuchungen der Morphinkonzentrationen in Speichel- und Urinproben von 20 Probanden nach einmaligem exzessiven Mohnsamenverzehr	35
2.5.1	Vorbereitung des kontrollierten Essversuchs.....	36
2.5.2	Durchführung des kontrollierten Essversuchs.....	37
3.	Ergebnisse	39
3.1	Ergebnisse der Methodenübertragung auf die automatisierte Festphasenextraktion	39
3.2	Übersicht der Einzelergebnisse des kontrollierten Mohn-Essversuchs	39
3.3	Speichelkonzentration von Morphin im Verhältnis zur absolut aufgenommenen Morphinmenge	46
3.4	Speichelkonzentration von Morphin im Verhältnis zur relativ zum Körpergewicht aufgenommenen Morphinmenge	48
3.5	Zusammenhang zwischen Morphinkonzentration im Speichel und Konzentration von freiem Morphin im Serum	52
3.6	Ergebnisse der Untersuchung mit dem Dräger DrugTest®-System.....	54
3.7	Ergebnisse der Urinalysen.....	56
3.8	Symptomatik	57
4.	Diskussion	59
5.	Zusammenfassung.....	72
6.	Literaturverzeichnis	75
7.	Anhang	
8.	Danksagung	

Glossarium

AUC	Fläche unter der Kurve, engl.: area under curve
d3	3fach deuteriertes Molekül
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
i.D.	Innendurchmesser
KG	Körpergewicht
6-MAM	6-Monoacetylmorphin
PFPA	Pentafluoropropionsäureanhydrid
PFPOH	2,2,3,3,3-Pentafluoropropanol
p.a.	„pro analysi“
SIM-Modus	Selected Ion Monitoring-Modus
SPE	Festphasenextraktion (engl.: solid phase extraction)
Speichel	vereinfachend für Mundhöhlenflüssigkeit, „oral fluid“ (vgl. Kap. 2.4.1)
StVG	Straßenverkehrsgesetz
UPT	Up-Converting Phosphor Technology
v/v	Volumenverhältnis

1. Einleitung und Fragestellung: Prinzipielle Mohnproblematik

1.1 Mohnsamenverzehr als Ursache positiver Opiatbefunde

Die Samen des Schlafmohns (*Papaver somniferum*) dienen vor allem als Backzutaten zur Erzeugung von Bäckereiprodukten. Während die Samen selbst fast keine Opiumalkaloide, wie z.B. Morphin und Codein enthalten, können die Samen mit dem Milchsaft der Pflanze kontaminiert werden, der seinerseits wegen des hohen Opiat-Gehaltes zur Gewinnung von Morphin und damit auch zur Herstellung von Heroin dient. Eine Unterscheidung der Herkunft des Morphins in menschlichen Körperflüssigkeiten aus kontaminierten Mohnsamen oder als Abbauprodukt von Heroin ist nur dann möglich, wenn für Heroin der Marker 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) nachgewiesen werden kann, was jedoch nur bei sehr zeitnahe Heroinkonsum zu erwarten ist. Eine Unterscheidung über die vorliegenden Begleitalkaloide, z.B. Thebain oder Papaverin ist nach heutigem Kenntnisstand nicht möglich (Fritschi und Prescott 1985, Girod und Staub 2001, Meadway et al. 1998, Mulé und Casella 1988, Andresen und Schmoldt 2004, ElSohly et al. 1988).

In Deutschland wurde der Mohnanbau 1978 in das Betäubungsmittelgesetz einbezogen und führte dazu, dass die gegenwärtig einzige zugelassene Mohnsorte in Deutschland die morphinarme Blaumohnsorte Przemko ist, die nicht für Drogenkonsum geeignet ist. Der Handel mit Mohnsamen hingegen unterliegt bislang keinen Beschränkungen und die Qualitätskontrollen der Samen werden durch die Großhändler bzw. Importeure durchgeführt. Insofern ist es für den Verbraucher unklar, welche Opiat-Gehalte in käuflichen Mohnsamen vorhanden sind. Das Phänomen, dass Mohnsamengenuss häufig zu positiven Opiat-Befunden im Blut und Urin führen kann, wurde in zahlreichen Studien untersucht (Fritschi und Prescott 1985, Meadway et al. 1998, ElSohly et al. 1988, Beck et al. 1990, Cassella et al. 1997, Grove et al. 1976, Lo und Chua 1992, Pelders und Ros 1996, Pettitt et al. 1987, Struempfer 1988, Thevis et al. 2003, Leinenkugel 2010). Ob eine eventuelle Korrelation zwischen Speichelkonzentrationen und Blutserumkonzentrationen nach Mohnsamenverzehr besteht, wurde bislang nicht systematisch betrachtet. Im Rahmen von Drogenscreenings und „on-site“-Tests der Polizei bei Straßenverkehrskontrollen wird allerdings immer häufiger Speichel als Untersuchungsmedium eingesetzt. Dafür ist es wichtig zu wissen, wie viel Morphin der Speichel nach Mohnsamenverzehr enthalten kann, ob immunchemische Vortests in solchen Fällen ansprechen und inwieweit Rückschlüsse auf Blutkonzentrationen gezogen werden können.

1.2 Zielsetzung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte systematisch überprüft werden, ob es nach exzessivem Mohnsamenkonsum zu eindeutig positiven Morphinbefunden in Speichelproben kommen kann und inwieweit deren Ergebnisse mit denen im Blut korrelieren. Dazu sollte die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) nach Festphasenextraktion eingesetzt werden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob Mohnsamenverzehr beim Drogenscreening mittels eines immunchemischen Speichelvortests zu positiven Opiat-Ergebnissen führen kann.

Hierzu sollte ein Essversuch mit 20 freiwilligen Probanden durchgeführt werden, die große Mengen im Handel erhältlicher stark kontaminierter Mohnsamen verzehrten.

Von diesen Probanden sollten in regelmäßigen Abständen Blut- und Speichelproben entnommen und mittels GC/MS untersucht werden sowie – zur Einordnung der Studie in die bereits bestehende Literatur – auch Morphinkonzentrationen in Urinproben mitbestimmt werden. Dadurch sollte ein möglichst umfassendes Bild über die Nachweisbarkeit von Morphin in verschiedenen für analytische Zwecke gängigen Körperflüssigkeiten nach Mohnsamenverzehr gewonnen werden. Weiterhin sollten Erkenntnisse über die Validität eines immunchemischen Speichel-Vortests im Vergleich zur gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bestimmung in der Speichelprobe und Voraussagewahrscheinlichkeiten zum positiven Ausfall einer gleichzeitig entnommenen Blutprobe erhalten werden.

1.3 Allgemeines über den Schlafmohn und seine Verwendung

Der einjährige Schlafmohn (*Papaver somniferum*) gehört zur Familie der Mohngewächse (*Papaveraceae*) und ist eine alte in verschiedenen Regionen der Erde weit verbreitete Kulturpflanze, deren Nutzung sich nachweislich bis in die Frühgeschichte der Menschheit zurückverfolgen lässt. Der Schlafmohn verfügt über eine starke Pfahlwurzel und kann eine Höhe von 1,50 m erreichen. Am Stängelende bildet er eine rote, violette oder weiße Blüte mit einem dunklen Zentralfleck aus. Der Blühtermin in Deutschland ist etwa Anfang Juli, die Blühdauer der Bestände beträgt 10-14 Tage. Nach der Blüte entsteht eine runde oder eiförmige Kapsel, deren Inneres durch radiär-symmetrisch angeordnete, unvollständige Scheidewände unterteilt ist, an denen in zahlreichen Fächern viele kleine, nierenförmige Samen mit einem Tausendkorngewicht (Trockenkornmasse von 1000 Körnern) von 0,25 bis 0,70 g heranwachsen. Entsprechend der Samenfarbe bezeichnet man die verschiedenen Sorten als Blau-, Grau- und Weißmohn. Der Erntezeitpunkt ist erreicht, wenn die Samen in der Kapsel beim Schütteln rascheln. Auf Grund der Kapseltypen wird außerdem zwischen Schüttmohn (unter den Narbenstrahlen der Kapsel öffnen sich kurz vor der Reife kleine Löcher) und Schließmohn (Kapsel bleibt verschlossen und muss zur Ernte der Samen zerdrückt werden) unterschieden (Broszat 1992). Der Schließmohn gilt als die vom primitiveren Schüttmohn abgeleitete Rasse des Schlafmohns. Er besitzt im Gegensatz zum Schüttmohn entscheidende Vorteile für den erwerbsmäßigen Anbau: Seine Fruchtkapseln bleiben auch im reifen Zustand geschlossen. Damit entfällt ein Verlust der Samenkörner durch Selbstaussaat bei Wind und damit auch ein finanzieller Verlust. Die Mohnsamen werden in Europa vor allem zu Speisezwecken und zur Ölgewinnung genutzt. Besonders in den 30iger und 40iger Jahren des letzten Jahrhunderts diente die Mohnpflanze in Deutschland als wichtige Quelle für Speiseöl. Die weitaus größte Bedeutung für legale Zwecke kommt damit der Nutzung der Mohnsamen als Backmohn im Bäckerhandwerk bzw. in der Backwarenindustrie zu. Der deutsche Mohnbedarf für Back- und Speisezwecke von jährlich etwa 7 000 bis 8 000 t wird vorwiegend durch Importe gedeckt. Morphinreiche Mohnsorten werden außerdem, vor allem in Australien, zur legalen Opiumgewinnung für pharmazeutische Zwecke angebaut. Neben dem Anbau für legale Zwecke dient ein großer Anteil des weltweit angebauten Schlafmohns der illegalen Opiumgewinnung. Wie in Tabelle 1 gezeigt wird, wurde im wichtigsten Herkunftsland Afghanistan im Jahr 2018 auf einer

gesamten Fläche von geschätzt rund 263 000 Hektar Schlafmohn angebaut. Auch in Myanmar, Mexiko und Laos beispielsweise werden große Flächen für den Anbau von Schlafmohn genutzt (Radtke 2019).

Tabelle 1: Geschätzte Anbaufläche von Schlafmohn in Afghanistan, Myanmar, Mexiko und Laos in den Jahren 2008 bis 2018 (in Hektar), nach Radtke 2019

Jahr	Afghanistan (in ha)	Myanmar (in ha)	Mexiko (in ha)	Laos (in ha)
2008	157 000	28 500	15 000	1 600
2009	123 000	31 700	19 500	1 900
2010	123 000	38 100	14 000	3 000
2011	131 000	43 600	12 000	4 100
2012	154 000	51 000	10 500	6 800
2013	209 000	57 800	11 000	3 900
2014	224 000	57 600	17 000	6 200
2015	183 000	55 500	26 100	5 700
2016	201 000	keine Angabe	25 200	keine Angabe
2017	328 000	41 000	30 600	keine Angabe
2018	263 000	37 300	keine Angabe	keine Angabe

In Europa wurde im Jahr 2017 insgesamt auf einer Gesamtfläche von 80 479 Hektar Mohn für die Samengewinnung angebaut. Wie in Tabelle 2 dargestellt, liegt Deutschland hinter Tschechien, Spanien, Frankreich und Kroatien mit einer Gesamtanbaufläche für Mohn von 5 657 Hektar an fünfter Stelle in Europa.

Tabelle 2: Mohnanbau zur Samengewinnung in Europa im Jahre 2017 (in Hektar), nach FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2017

Land	Anbaufläche in ha
Tschechien	32 586
Spanien	11 000
Frankreich	9 119
Kroatien	5 966
Deutschland	5 657
Ungarn	3 900
Rumänien	3 349
Slowakei	3 144
Österreich	3 012
Bulgarien	961
Serbien	932
Niederlande	778
Nord-Mazedonien	75

In Deutschland wurde der Mohnanbau 1978 in das Betäubungsmittelgesetz einbezogen, um dem Missbrauch seines zentralwirksamen Inhaltsstoffes Morphin vorzubeugen. Dies bedeutete faktisch das Ende der landwirtschaftlichen Nutzung des Mohns in Deutschland. Der Anbau von Schlafmohn ist derzeit nur noch auf kleinen Flächen mit betäubungsmittelrechtlicher Erlaubnis der Bundesopiumstelle des Bundesinstituts für Arzneimittel und Medizinprodukte möglich und mit hohen Auflagen verbunden. Die gegenwärtig einzige zugelassene Mohnsorte in Deutschland ist die morphinarme Blaumohnsorte Przemko. Obwohl die Sorte Przemko als morphinarme Sorte für Drogenzwecke nicht geeignet ist, ist der Anbau weiterhin genehmigungspflichtig. Der Handel mit Mohnsamen hingegen unterliegt bislang keinen Beschränkungen. Die Qualitätskontrollen der Samen werden durch die Großhändler bzw. Importeure durchgeführt, der Alkaloidgehalt wurde zum Zeitpunkt der praktischen Untersuchung für diese Arbeit nicht geprüft. Inzwischen finden freiwillige Kontrollen statt (Bundesinstitut für Risikobewertung 2005). Obwohl bekannt ist, dass der Morphingehalt der Mohnsamen zum Beispiel nach Waschen der Samen abnimmt, gibt es keine Richtlinien dazu, wie Mohnsamen behandelt werden sollten, bevor sie dem Handel zur Verfügung gestellt werden (Lopez et al.

2018).

In 2019 untersuchte die Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) in einer Schwerpunktaktion den Gehalt an Morphin und Codein von Mohnsamen zur Datenerhebung. Es wurden 25 Proben aus ganz Österreich untersucht. Bei einer Probe wurde ein Morphingehalt von 36,9 mg/kg und ein Codeingehalt von 2,2 mg/kg festgestellt. Bei dieser Probe ist die akute Referenzdosis (Gruppen-ARfD) für Morphin und Codein von 10 µg/kg Körpergewicht bereits durch den plausiblen Verzehr von ca. acht Gramm Mohn ausgeschöpft (AGES 2019).

Die ARfD bezeichnet die Dosis, bei deren Aufnahme innerhalb einer Mahlzeit oder über den Tag verteilt keine unerwünschten Effekte erwartet werden (BfR 2018).

Tabelle 3 listet weitere in der Literatur angegebene Morphinkonzentrationen von verschiedenen Mohnsamenchargen auf.

Tabelle 3: In der Literatur angegebene Morphinkonzentrationen von Mohnsamen-
chargen aus unterschiedlichen bekannten und unbekanntem Herkunftsländern

Herkunftsland	Morphingehalt (mg/kg)	Herkunftsland	Morphingehalt (mg/kg)	Herkunftsland	Morphingehalt (mg/kg)
Unbekannt (Drasch et al. 1996)	620	Unbekannt (Bjerver et al. 1982)	85,5	Unbekannt (Kollias-Baker und Sams 2002)	7,3
Unbekannt (Beck et. al 1990)	450	Unbekannt (Lo und Chua 1992)	84,5	Ungarn (Thevis et al. 2003)	6,9
Unbekannt (Hayes et al. 1987)	294	Unbekannt (Kollias-Baker und Sams 2002)	69,3	Türkei (EISOhly et al. 1988)	5,1
Spanien (Pelders und Ros 1996)	251	Osteuropa (Möller et al. 2004)	67	Türkei (Pelders und Ros 1996)	5
Australien (Andresen und Schmoltdt 2004)	206	Unbekannt (Hayes et al. 1987)	63	Unbekannt (Mulé und Casella 1988)	4,5
Australien (Fritschi und Prescott 1985)	200	Unbekannt (Lo und Chua 1992)	62,2	Unbekannt (Thevis et al. 2003)	4,1
Unbekannt (Fritschi und Prescott 1985)	175	Spanien (Fritschi und Prescott 1985)	60	Niederlande (Pelders und Ros 1996)	4
Unbekannt (EISOhly et al. 1990)	169	Unbekannt (Bjerver et al. 1982)	60,4	Polen (Hauck 1990)	2,7
Indien (Paul et al. 1996)	167	Unbekannt (Lo und Chua 1992)	58,4	Unbekannt (Bjerver et al. 1982)	2,6
Unbekannt (Casella et al. 1997)	164	Unbekannt (Clausnitzer et al. 1991)	58	Unbekannt (Petitt et al. 1987)	2,1
Unbekannt (Thevis et al. 2003)	151,6	Ungarn (Pelders und Ros 1996)	46	Dänemark (Beck et. al 1990)	2
Osteuropa (Möller et al. 2004)	151	Niederlande (EISOhly et al. 1988)	19	Tschechien (Pelders und Ros 1996)	2
Australien (Fritschi und Prescott 1985)	120	Unbekannt (Hayes et al. 1987)	17	Unbekannt (Selavka 1991)	1,1
Australien (EISOhly et al. 1990)	108	Polen (Fritschi und Prescott 1985)	12	Ungarn (Möller et al. 2004)	1
Unbekannt (Bjerver et al. 1982)	107	Ungarn (Fritschi und Prescott 1985)	12	Türkei (Thevis et al. 2003)	0,9
Australien (EISOhly et al. 1988)	106	Dänemark (Fritschi und Prescott 1985)	10	Türkei (Thevis et al. 2003)	0,8
Niederlande (Möller et al. 2004)	100	Dänemark (Thevis et al. 2003)	8,4	Asien (Kapoor 1995)	0,6
Australien (Pelders und Ros 1996)	90	Türkei (Fritschi und Prescott 1985)	8,0	Türkei (Möller et al. 2004)	0,5

In einer Studie in 2020 untersuchten Carlin et al. den Morphingehalt von acht Mohnchargen aus verschiedenen Herkunftsländern. Aus jeder Charge wurden mindestens sechs Proben entnommen und analysiert. Die Ergebnisse zeigten nicht nur eine Variation des Morphingehaltes zwischen den einzelnen Herkunftsländern, sondern auch zwischen den einzelnen Proben einer Charge.

In einer Mohncharge konnte zum Beispiel in keiner der verschiedenen Proben Morphin nachgewiesen werden, wogegen in einer anderen Mohncharge ein Morphingehalt von 2,6mg/kg bis 63,9 mg/kg nachgewiesen werden konnte. Das Herkunftsland beider Mohnchargen war Unbekannt (Carlin et al. 2020).

Der Milchsaft der Kapseln von *Papaver somniferum* (Schlafmohn) enthält je nach Rasse und Anzuchtbedingungen unterschiedlich große Mengen der Hauptalkaloide. So fanden Lüllmann et al. bei einer Untersuchung die Phenanthrene Morphin (10 %), Codein (0,5 %) und Thebain (0,2 - 1 %) sowie die Benzylisochinolone Noscapin (6 %) und Papaverin (0,8 - 1 %) und Narcein (0,1 - 1 %) (Lüllmann et al. 2003). Auch in den Mohnsamen sind etwas geringere Mengen von Morphin und Codein enthalten, im Vergleich zu den milchsafführenden Pflanzenteilen von *Papaver somniferum* liegen dort aber deutlich geringeren Konzentrationen vor. Werden die Mohnkapseln etwa 2 Wochen nach Abwurf der Blütenblätter in noch grünem Zustand angeritzt, tritt dieser Milchsaft aus.

Innerhalb von 8 - 14 Stunden erreicht der ausgetretene Milchsaft seine gewünschte Konsistenz, wird zähflüssig und klebrig und wird nun als Rohopium bezeichnet.

Wird die Kapsel am Vormittag nach dem Verdunsten des Morgentaus angeritzt, kann Rohopium am Abend geerntet werden. In diesem Fall ist es von klarer Beschaffenheit, was unter anderem bei Opiumrauchern besonders beliebt ist. Wird am Abend angeritzt, erfolgt die Ernte am nächsten Vormittag. Durch den Tau der Nacht entsteht ein eher trüber Stoff, der eher für medizinische Zwecke Verwendung findet. Allerdings wird das Rohopium den verschiedensten Verwendungszwecken zugeführt. Nach einer Aufbereitung durch Lösen, Filtern und Eindampfen entsteht Opium, das geraucht werden kann. Es wird erhitzt und die aufsteigenden Dämpfe werden mittels Pfeifenstiel oder Röhrchen eingeatmet.

In Laboratorien kann Opium durch Acetylierung zu Roh-Heroin umgewandelt werden. Dieses Roh-Heroin, das neben Heroin noch die weiteren Alkaloide in natürlich vorkommender und acetylierter Form enthält, wird nach Strecken mit Coffein, Paracetamol und/oder weiteren Substanzen subkutan oder intravenös gespritzt oder

geraucht. Der Konsum von Heroin kann schnell zur Abhängigkeit führen (Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V. 2009).

Morphin ist das wichtigste Alkaloid des Schlafmohns und gleichzeitig das pharmakologisch wichtigste aller Opiumalkaloide, allerdings kann auch Codein aus Opium isoliert werden (Jurna 2003).

Neben der analgetischen Hauptwirkung resultieren aus dem Angriff an den zentralen Opioid-Rezeptoren eine Reihe weiterer Wirkungen, die bei therapeutischer Dosierung als unerwünschte Begleitwirkungen – besonders initial – auftreten können (Mutschler 2001, Forth et al. 1992, Brayfield 2020, Ammon et al. 2005).

Dies sind vor allem:

1. Atemdepressive Wirkung: Dämpfung des Atemzentrums im Gehirn mit Verminderung der Atemfrequenz und der Tiefe der Atmung. Säuglinge und Kinder reagieren besonders empfindlich. Dies ist die wichtigste und zugleich die gefährlichste Nebenwirkung von Morphin und Codein.
2. Sedative Wirkung: Reduktion der geistigen Aktivität. Dies kann unter anderem dazu führen, dass die Fähigkeit zur aktiven Teilnahme am Straßenverkehr oder zum Bedienen von Maschinen beeinträchtigt oder nicht mehr gegeben ist.
3. Emetischer Effekt: Vor allem zu Beginn einer Therapie mit Morphin oder Codein können häufig Übelkeit und Erbrechen ausgelöst werden.
4. Miotische Wirkung: Verengung der Pupillen und dadurch Verschlechterung der Sehfähigkeit.

Werden Morphin oder Codein kurz vor der Geburt in therapeutischen Dosen der Mutter gegeben, kann es beim Neugeborenen zu Atemdepression kommen. Bei längerer, regelmäßiger Einnahme von Morphin oder Codein am Ende der Schwangerschaft können nach der Geburt beim Neugeborenen Entzugserscheinungen auftreten.

Die akute Opiatvergiftung ist durch tiefes Koma mit oberflächlicher bis fast fehlender Atmung und maximaler Verengung der Pupillen gekennzeichnet (typische Trias von Bewusstlosigkeit, Atemdepression und Miosis). Der Tod tritt meist durch zentrale Atemlähmung ein. Die Letaldosis für Morphin beim Gesunden nicht Opiatabhängigen wird mit 100 mg bei parenteraler Gabe und 300 bis 1000 mg bei oraler Aufnahme angegeben (Bundesinstitut für Risikobewertung 2005).

In Übereinstimmung mit dem Bewertungsansatz des BfR aus dem Jahr 2005 hatte die Europäische Lebensmittelbehörde (EFSA) in 2011 eine akute Referenzdosis

(ARfD) von 10µg Morphin / kg Körpergewicht (KG) abgeleitet und in 2018 bestätigt. Die ARfD bezeichnet die Dosis, bei deren Aufnahme innerhalb einer Mahlzeit oder über den Tag verteilt keine unerwünschten Effekte erwartet werden (BfR 2018). Obwohl die meisten Nebenwirkungen nach Mohnsamenverzehr den Opioid Alkaloiden zugeschrieben wird, können auch die Mohnsamen selbst zu schwerwiegend Nebenwirkungen führen. So berichteten Schuppener und Corliss in 2018 von dem Fall einer 54 jährigen Frau die große Mengen an Mohnsamen verzehrt hatte bevor sie verstarb. Bei der Autopsie wurde allerdings nur eine Konzentration von unter 10ng/ml Morphin im Blut festgestellt, womit eine Morphintoxizität als Todesursache von den Autoren ausgeschlossen wurde. Allerdings zeigte sich bei der weiteren Autopsie ein Darmverschluss (Ileus), verursacht von ca. 900mg Mohnsamen. Als Todesursache wurden Komplikationen eines Ileus nach Mohnsamenverzehr angegeben (Schuppener und Corliss 2018).

1.4 Chemische Struktur und Metabolismus der für die Fragestellung relevanten Opiate

1.4.1 Morphin

Im Jahre 1804 isolierte der deutsche Apotheker F.W. Sertürner Morphin aus Opium (Abbildung 1). Bis zur Aufklärung der Struktur vergingen 77 Jahre. Heute wird Morphin in erster Linie synthetisch hergestellt (Devereaux et al. 2018). Die Ausgangsstoffe dazu sind Phenylalanin und 4-Hydroxyphenyl-azetaldehyd (Jantzen 2009).

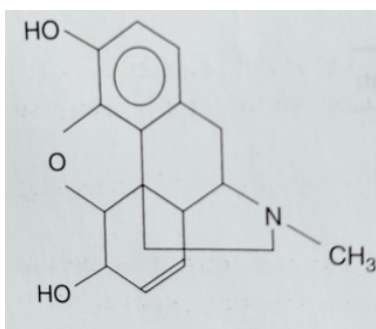


Abbildung 1: Strukturformel von Morphin (Peck et al. 2021)

Die Summenformel von Morphin lautet: $C_{17}H_{19}NO_3$. Die phenolische OH-Gruppe ist für die Stärke der Wirkung verantwortlich. Analgetische Potenz und suchterzeugende Wirkung nehmen ab, wenn diese Gruppe alkyliert wird, wie z.B. beim Codein. Dagegen wird die Wirkung verstärkt durch eine Veresterung. Besonders deutlich wird

diese analgetische und suchterzeugende Wirkung, wenn nicht nur die phenolische, sondern auch die alkoholische OH-Gruppe mittels Essigsäureanhydrid oder Essigsäurechlorid acetyliert wird, nämlich zu Diacetylmorphin (Heroin).

In welchem Ausmaß Morphinmetabolite gebildet werden, hängt stark von der Darreichungsform, der Absorptionsrate und der Verteilung ab. So muss unterschieden werden zwischen intravenöser, intramuskulärer, subkutaner und oraler Aufnahme. In Tabelle 4 sind die Blutkonzentrationen von freiem und gebundenem Morphin nach 20 min, nach 1 h und nach 3 bzw. 24 h dargestellt. In ihrer Studie gaben Brunk und Delle den Testpersonen 5,75 mg Morphinsulfat pro m² Körperoberfläche, was bei einer durchschnittlichen Größe (1,73 m²), 10 mg Morphinsulfat entsprach (Brunk und Delle 1974).

Tabelle 4: Blutkonzentrationen von freiem und konjugiertem Morphin nach Gabe von 10 mg Morphinsulfat. Werte nach Brunk und Delle 1974

	Zeit (h)	Morphinkonzentration im Blut in ng/mL			
		i.v	i.m.	s.c.	oral
Freies Morphin	0,3	54	76	71	10
	1	21	34	33	9
	3	11	13	14	4
Konjugiertes Morphin	0,3	148	65	44	44
	1	152	130	126	161
	24	14	13	14	17

Intravenös verabreichtes Morphin unterliegt einer schnellen Verteilung, Metabolisierung und Ausscheidung, womit der Plasmaspiegel von freiem Morphin nach intramuskulärer oder subkutaner Gabe schon nach ca. 20 min wesentlich höher als bei intravenöser Injektion der gleichen Dosis ist. Bei allen Darreichungsformen zeigt sich allerdings, dass der Spitzenwert der Konzentration an freiem Morphin schon nach 1 h längst überschritten ist. Die orale Applikation erzeugt deutlich geringere Konzentrationen an freiem Morphin im Blut und damit eine geringere Wirkung. Morphin wird nach oraler Aufnahme relativ rasch aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und umverteilt. (EFSA 2018). Die Wirkung einer Einzeldosis hält in der Regel 4 bis 6 Stunden an, wobei die maximale Wirkung 30 bis 90 Minuten nach oraler Aufnahme eintritt (Bundesinstitut für Risikobewertung 2005). Als basisches

Amin wird Morphin aus dem Blut in die Gewebe Niere, Milz, Lunge, Muskulatur und besonders Leber umverteilt, was an Hunden, Ratten und Affen ermittelt wurde (Mellett und Woods 1956, Woods 1954). Dort wird der größte Teil (65 %) zu Morphin-3-Glucuronid umgewandelt, was die geringe Bioverfügbarkeit von Morphin (20 bis 40 %) bei oraler Gabe erklärt (Herdegen 2019). Morphin-3-Glucuronid hat zudem keine analgetische Wirkung. Ein kleiner Teil (5 %) wird zu Normorphin demethyliert, das sowohl frei (1 %), als auch konjugiert (4 %) im Urin vorkommt (Baselt 2020). Außerdem entsteht Morphin-6-Glucuronid (10 %), das pharmakologisch wirksam ist und eine höhere analgetische Potenz als die Ausgangssubstanz besitzt (Lüllmann et al. 2003, Herdegen 2019).

Die Plasmahalbwertszeit von Morphin ist individuell verschieden. In einem Versuch nach Säwe et al. lag die Spanne nach parenteraler intravenöser Gabe bei 0,9 bis 2,2 Stunden und nach oraler Gabe bei 1,9 bis 5,0 Stunden (Säwe et al. 1985). Nach intramuskulärer Gabe betrug die Plasmahalbwertszeit durchschnittlich 2,9 Stunden bei Männern und 1,8 Stunden bei Frauen (Rigg et al. 1978).

Ca. 80 % des oral aufgenommenen Morphins werden im Urin wiedergefunden (10 % unverändertes Morphin, 65 % als Glucuronide und 5 % Normorphin). Etwa 10 % der Morphin-Glucuronide werden über die Galle mit den Faeces ausgeschieden und unterliegen einem enterohepatischen Kreislauf (Lepper 2005).

1.4.2 Heroin

Heroin wurde erstmals 1874 aus Morphin synthetisiert.

Es wird vorwiegend halbsynthetisch durch Acetylierung der aus Rohopium gewonnenen Morphin-Base hergestellt. Nach Einweichen und Filtration des Rohopiums unter Hinzufügung von Löschkalk und Ammoniumchlorid besteht der wichtigste Produktionsschritt in einer Acetylierung der so entstandenen Morphin-Base. Dies wird meist durch Verkochen der Morphin-Base mit Essigsäureanhydrid erreicht. Das nach der Acetylierung erhaltene Zwischenprodukt wird als Heroin-Base (Heroin Nr. 2) bezeichnet. Es folgen noch weitere Aufreinigungsschritte, bis letztendlich das Heroin (Diacetylmorphin) durch Natriumcarbonat ausgefällt wird. Der letzte Produktionsschritt besteht im Hinzufügen von Salzsäure zur Salzbildung (Heroin-HCl) und von Kalk während des Trocknens (Geschwinde 2007).

Durch die Acetylierung der Hydroxy-Gruppen des Morphins wird die Lipophilie der Substanz erhöht. Je lipophiler ein Stoff ist, desto leichter kann die Blut-Hirn-Schranke

überwunden werden, was zu einer schnelleren Anflutung im ZNS führt. Dies führt bei Heroin im Vergleich zu Morphin zu einem größeren Rauscheffekt und höherem Abhängigkeitspotenzial. Im Körper wird Heroin über 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) zu Morphin deacetyliert. Die erste Reaktion wird im Blut durch Esterasen katalysiert, die zweite Reaktion, also die Deacetylierung von 6-Monoacetylmorphin zu Morphin, findet in der Leber statt (Baselt 2020). Als Plasmahalbwertszeit für Heroin wird in der Literatur ein Wert von ca. 2 bis 9 min nach intravenöser Applikation angegeben (Iten 1994).

Der Nachweis von 6-MAM wird daher zum Beweis für den Heroinkonsum in der klinischen und forensischen Medizin benutzt (Dinis-Oliveira 2019). Das Problem dabei ist dessen kurze Halbwertszeit im Serum von 7 bis 34 min, sodass in der Praxis ein Heroinkonsum oft nicht mehr zu beweisen ist. Da der Ausgangsstoff von Heroin, das Rohopium, auch Codein enthält, wird dieses bei der Herstellung ebenfalls acetyliert, sodass nicht aufgereinigtes Heroin stets auch Acetylcodein enthält, das zu Codein abgebaut wird. Nach Aufnahme von Straßenheroin findet sich somit auch Codein im Blut der Konsumenten. Ebenfalls als ein Metabolit des Heroins ist Normorphin bekannt. Es entsteht jedoch nur zu einem geringen Prozentsatz (4 %) (Baselt 2020, Iten 1994).

1.4.3 Codein

Codein wird nach oraler Aufnahme rasch aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert. Die maximale Plasmakonzentration ist nach ca. 1 Stunde erreicht. Die Wirkungsdauer beträgt 4 bis 6 Stunden. Die durchschnittliche Halbwertszeit von Codein liegt bei 2,9 Stunden (Musshoff et al. 2004)

Codein kann zur Behandlung von milden bis zu moderaten Schmerzen verwendet werden, da ca. 10 % des aufgenommenen Codeins zu Morphin demethyliert wird, was zur analgetischen Wirkung des Codeins beiträgt. Hauptsächlich wird Codein aber als Hustenstillendes (antitussives) Medikament verabreicht. Diese antitussive Wirkung ist der Unterdrückung des Hustenreflexes in der medulla oblongata zuzuschreiben. Zudem hat Codein noch eine leicht sedative Wirkung (Brayfield 2020, EFSA Contam Panel 2018).

Weitere Hauptmetabolite sind Norcodein sowie Morphin- und Codeinkonjugate. Die Ausscheidung von Codein erfolgt im Wesentlichen über die Nieren in Form der

Codein- und Morphinkonjugate. Etwa 10 % des Codeins werden unverändert renal ausgeschieden. Die unerwünschten Wirkungen des Codeins sind denen des Morphins ähnlich, jedoch in therapeutischen Dosierungen weniger ausgeprägt (Bundesinstitut für Risikobewertung 2005).

1.5 Bedeutung von Drogen-Vortests im Urin und Speichel

Bis heute steigt die Zahl der Personen, die illegale Drogen zu sich nehmen, stetig an. Neben der gesundheitlichen Gefährdung dieser Personen ist auch immer mehr die Gefährdung von anderen durch Fahruntüchtigkeit im Straßenverkehr ein Problem, da sich Drogen negativ auf die fahrerischen Leistungen niederschlagen. Es gibt zwar typische Verhaltensmuster und Auffälligkeiten als Hinweise für einen Drogenkonsum, es ist aber für die Polizei sehr hilfreich, einen Drogen-Vortest ähnlich dem Atem-Alkohol-Test zur Verfügung zu haben, um weitere unabhängige Anhaltspunkte für die Aufnahme von Drogen kurz vor der Fahrt erhalten zu können. Nach deutschem Recht muss die Droge im Blut nachgewiesen werden, damit es zu einer Ahndung nach § 24a StVG oder gar § 315c oder § 316 StGB kommen kann. Da es bislang keine vorort einzusetzenden Drogen-Schnelltests für Blut gibt und die Blutentnahme durch einen Arzt durchgeführt werden muss, kommen für „on-site“-Tests am Straßenrand bislang nur Urin und Speichel als Vortestmedium in Betracht, wobei Urin bis jetzt das bevorzugte Testmedium darstellt (Tamama 2021). Die Entnahme einer Urinprobe ist oftmals aus drogenspezifischen Gründen (Morphin hemmt z.B. die Miktion) erschwert, es kann aber auch sein, dass der Verdächtige keine Urinprobe abgeben will, wozu er nach deutschem Recht nicht gezwungen werden kann. Außerdem kann die Abgabe einer Urinprobe unter Aufsicht schon als entblößend empfunden werden. Gibt man dagegen dem Verdächtigen die Möglichkeit, eine Urinprobe unter Wahrung seiner Intimsphäre abzugeben, so besteht die Gefahr der Manipulation der Urinprobe durch den Verdächtigen. Es werden allerdings seit mehreren Jahren Urin-Schnelltests mit Zustimmung der Betroffenen durchgeführt, z.B. bei der Behandlung und Kontrolle Drogenabhängiger und bei der Arbeitsplatzüberwachung.

Der Nachteil des Urin-Schnelltests für die Straßenverkehrsüberwachung liegt in der relativ langen Zeitspanne, in der bestimmte Drogen im Urin nachweisbar sind. So können Urinproben nach Aufnahme bestimmter Drogen mehrere Tage, nach exzessiver Aufnahme z.B. von Cannabis auch noch Wochen nach der Aufnahme

positive Urin-Schnelltest bewirken, obwohl zu diesem Zeitpunkt keine psychoaktiven Blutkonzentrationen mehr nachzuweisen sind. Aus diesen Gründen wird neuerdings die Testung von Speichel mit einem Schnelltest diskutiert und in den Bundesländern Brandenburg, Saarland und Thüringen auch schon durchgeführt (Ettmüller 2009). Die Entnahme einer Speichelprobe kann leicht und direkt bei „on-site“-Tests erfolgen und stellt keine Entblößung des Verdächtigen dar. Weiterhin kann die Probenentnahme von der Polizei überwacht werden, was eine Verfälschung der Probe fast unmöglich macht.

Die Gewinnung der Speichelprobe ist nicht invasiv und birgt auch keine Gefahren der Infektion des Verdächtigen oder des Entnehmenden wie bei einer Blutentnahme. Die analytischen Zeitfenster zur Detektierung verschiedener Substanzen in Speichel und Serum entsprechen sich relativ genau (siehe Abbildung. 2).

	Minuten	Stunden	Tage	Wochen	Monate	Jahre
Blut	→					
Speichel	→					
Urin	→					
Schweiß	→					
Haare und Nägel	→					

Abbildung 2: Zeitfenster für illegale Drogen in verschiedenen Matrices (modifiziert nach Caplan und Goldberger 2001)

Ein positiver Befund bedeutet aber nur, dass in der Probe eine Substanz vorhanden ist, die eine Kreuzreaktivität mit dem immunchemischen Test besitzt. Für die beweissichere Identifizierung und Quantifizierung einer bestimmten Droge ist eine weitere Untersuchung der Probe mittels eines Verfahrens nötig, das Chromatographie und Spektroskopie koppelt, wie z.B Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC/MS). Ein negatives Speichel-Testergebnis bedeutet, dass entweder keine Substanz in der Probe enthalten ist, oder die Substanz in einer Menge vorliegt, die den Cut-Off-Wert unterschreitet. Für die anschließenden

Untersuchungen mittels GC/MS braucht dafür aber keine weitere Speichelprobe entnommen werden, da der Schwamm am Speichelprobennehmer nach der Analyse z.B. am Dräger DrugTest®-System noch 200 µl von der originalen Speichelprobe enthält.

1.6 Bestimmung von Opiaten im Speichel mit dem Dräger DrugTest®-System

1.6.1 Allgemeines zum Speichel

Mundhöhlenflüssigkeit („oral fluid“), in der vorliegenden Arbeit vereinfachend als Speichel bezeichnet, bietet sich neben Blut und Urin an, um auf körpereigene und körperfremde Substanzen untersucht zu werden. Es werden pro Tag etwa 0,5 – 1,5 l Speichel produziert (Xu et al. 2019).

Die Hauptproduktion erfolgt in der Glandula submandibularis, gefolgt von der Glandula parotis und der Glandula sublingualis. Es handelt sich um tubuloaziniöse Drüsen, die sich aus Azini (Drüsenendstücken), Schaltstücken und Ausführungsgang zusammensetzen. Die Azini werden von spezialisierten einschichtigen Drüsenzellen gebildet, die in einem dichten Geflecht von Kapillaren liegen (Dierich 2007).

Aus dem Blut müssen Substanzen und Flüssigkeit die Kapillarwand, den interstitiellen Raum und das einschichtige Drüsenepithel überwinden, um in den Speichel zu gelangen (Pötsch und Skopp 1997).

Wie schon weiter oben erwähnt und in Abbildung 2 dargestellt, entspricht das analytische Zeitfenster zur Detektion von illegalen Drogen im Speichel auch in etwa dem im Blut (Zimmermann 2003).

1.6.2 Dräger DrugTest®-System

Speichel ist ein ideales Ausgangsmaterial für sogenannte „on-site“-Tests. Diese werden z.B. bei Straßenverkehrskontrollen eingesetzt, da nicht – wie bei Blutproben – ein Arzt bemüht werden muss und auch keine Toilette zur Verfügung stehen muss, wie dies bei einer Urinabgabe der Fall ist (Steinmeyer et al. 2005). Diese Schwierigkeiten entfallen bei der Entnahme von Speichelproben als Untersuchungsmaterial. In der vorliegenden Studie wurde das Dräger DrugTest®-System verwendet, welches seit Ende 2005 nicht mehr erhältlich ist. Seit Mai 2008 wurde es von dem Nachfolgemodell „Dräger DrugTest 5000“ ersetzt. Das Dräger DrugTest®-System basiert auf einem immunochemischen Testprinzip der kompetitiven Hemmung und kann wegen der außerordentlichen Spezifität der

Immunantwort in vitro zum Nachweis von Drogen in Speichelproben benutzt werden. Mit dem Dräger DrugTest®-System lassen sich verschiedene Substanzklassen – Cannabis, Amphetamin, Methamphetamin, Kokain, Opiate und Phencyclidin – nachweisen (Ettmüller 2009). Mit dem Nachfolgemodel “Dräger DrugTest 5000”, lassen sich derzeit - Amphetamin, Benzodiazepine, THC, Kokain, Methamphetamine, Opiate, Methadon und Ketamin - nachweisen (Draeger 2017). Das Dräger DrugTest®-System benutzt hierzu hochspezifische Antikörper für die verschiedenen Substanzklassen. Drogen oder deren Metabolite in dem zu testenden Speichel stehen durch eine limitierte Anzahl von Drogen-Antikörper-Bindungsstellen in einer kompetitiven Wechselwirkung mit den immobilisierten Drogen-Derivaten. Der Grad der Bindung, d.h die Anzahl der von Antikörper und Testsubstanz gebildeten Komplexe, hängt dabei von der Konzentration der Testsubstanz im Speichel ab (Steinmeyer et al. 2005). Die Hauptkomponente des Dräger DrugTest®-Systems sind Antikörper, die eine spezifische Bindungsstelle für ein Antigen besitzen und zusätzlich noch an UPT (Up-Converting Phosphor Technology)-Partikel gebunden sind. UPT-Partikel sind anorganische, kristalline Nano-Partikel mit einem Durchmesser von ungefähr 300 nm, welche Elemente der seltenen Erdmetalle in sich enthalten. Ein Hauptmerkmal dieser Partikel ist, dass sie lumineszierendes Licht ausstrahlen, welches mit Hilfe eines optischen Systems mit einer hohen Sensitivität detektiert werden kann (Hampl et al. 2001, Niedbala et al. 2001 b).

1.6.3 Kreuzreaktivität

Kreuzreaktivität beschreibt die Neigung eines Antikörpers, nicht nur mit seinem Antigen sondern auch mit einem Antigen zu binden welches ein strukturell identisches oder sehr ähnliches Bindungsepitop verfügt (Fiedler 2019). Metabolite oder strukturähnliche Substanzen können eine höhere oder niedrigere Kreuzreaktivität mit dem Antikörper als die Zielsubstanz aufweisen. Diese Unspezifität ist teilweise sogar beabsichtigt, um möglichst viele ähnliche Substanzen und deren Metabolite in einem Test zu erfassen. Somit sagt ein positiver Opiatbefund lediglich aus, dass dem Morphin ähnliche Substanzen vorliegen. Es lässt sich allerdings nicht zwischen Morphin, Heroin, Codein oder Dihydrocodein unterscheiden (Freye 2004, Bruhn und Fölsch 2008). Die Kreuzreaktivitäten für den Opiat-Test des Dräger DrugTest®-Systems sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Kreuzreaktivitäten für den Opiat-Test des Dräger DrugTest®-Systems
(entnommen aus der Testbeschreibung)

Eingesetzte Substanz	Getestete Konzentration (ng/ml)	Kreuzreaktivität in %	Morphin-Äquivalente (ng/ml)	Kritische Konzentration (positives Testresultat möglich)
Morphin	5	100	5	5
Buprenorphin	10 000	< 0,1	---	---
6-Monoacetylmorphin	5	127,9	6,1	4
Codein	1	281,4	2,8	2
Dextromethorphan	5 000	< 0,1	---	---
Diacetylmorphin	5	79,4	4	6
Dihydrocodein	1	243,8	2,4	2
Hydrocodon	5	122,3	6,1	4
Hydromorphon	5	124,4	6,2	4
Levorphanol	100	5,0	5,0	100
Meperidin	5 000	< 0,1	---	---
Morphin-3-β-D-Glucuronid	5	70,3	3,5	7
Morphin-6-β-D-Glucuronid	10	51,3	5,1	10
Nalorphin	5	45,6	2,3	11
Normorphin	1 000	0,6	6,2	809
Oxycodon	50	5,2	2,6	96
Oxymorphon	500	1,3	6,6	382
Pholcodein	5	164,1	8,2	3
Thebain	10	18,3	1,8	27

1.6.4 Probenvorbereitung

Das für die vorliegende Untersuchung verwendete Dräger DrugTest®-System besteht aus 3 Teilen (Abbildung. 3):

1. Dräger DrugTest® Analyser
2. Dräger DrugTest® Kit für Speichel mit Speichelprobennehmer, Pufferkartusche und Testkassette
3. Software, die ein Datenmanagementsystem ermöglicht



Abbildung 3: Dräger DrugTest®-System (mit freundlicher Genehmigung der Dräger Safety AG & Co. KGaA). Hinweis: Das Gerät ist in der abgebildeten Form seit Ende 2005 nicht mehr erhältlich. Seit Mai 2008 wurde es von dem Nachfolgemodel "Dräger DrugTest 5000" ersetzt.

Der gesamte Prozess von der Probenentnahme bis hin zum Ergebnis dauert ca. 15 Minuten. Für den Test wird der Speichel im Mund des Probanden von der Schaumstoffspitze des Speichelsammlers aufgesaugt.

Nach ca. einer Minute enthält der Schwamm dann $330 \pm 130 \mu\text{L}$ Speichel.

Die Schaumstoffspitze wird in dem aufgesetzten Extraktionsgitter des

Aufnahmeröhrchens ausgedrückt, und der Speichel fließt in das Röhrchen. Das Gitter mitsamt dem darin arretierten Sammler wird danach verworfen. Anschließend wird die Substanzprofilkarte in das Aufnahmeröhrchen platziert. Nun finden immunchemische Reaktionen zwischen dem Probenspeichel, dem mit Antikörpern überzogenen Mikropartikeln und dem Drogenkonjugat der Profilkarte statt. Ist keine Droge vorhanden, reagiert der Antikörper mit dem Drogenkonjugat, und dies wird als rosarotfarbener Streifen auf der Profilkarte in Höhe des Schriftzuges für die entsprechende Droge/Substanzklasse sichtbar. Liegt in der Probe eine Droge in ausreichender Konzentration vor, werden die Mikropartikel daran gehindert, mit dem Drogenkonjugat zu reagieren. Es bildet sich kein Streifen, d.h. bei einer solchen vorläufig positiven ("nicht negativen") Probe bleibt der entsprechende Erfassungsbereich auf der Profilkarte leer. Das Ergebnis des durchgeführten Tests wird nach 10 bis 15 Minuten ausgewertet (Manns et al. 2006). Für die Detektion von z.B. Morphin im Speichel, sind in einer Testkassette Morphinmoleküle (Antigene) in einer reaktiven Zone auf der Teststreifenmembran fixiert. Weiterhin befinden sich in der Testkassette Morphin-spezifische Antikörper, die an UPT-Partikel gekoppelt sind. Gibt man nun Speichel dazu, der kein Morphin enthält, können die Morphin-spezifischen Antikörper ungehindert mit der Bindungsstelle des fixierten Morphins in Wechselwirkung treten und einen Antigen-Antikörper-Komplex formen. Es gelangen keine Antikörper bis an das Ende der Testkassette. Befindet sich allerdings Morphin in der Speichelprobe, dann formt dieses einen Komplex mit den Antikörpern, welche wiederum nicht weiter an das an die Testmembran fixierte Morphin binden können und an das Ende der Testkassette gelangen. Nach Auswertung der Probe bleiben ca. 200 µL der Original-Speichelprobe erhalten, welche zur weiteren Analyse mittels GC/MS zum Labor transportiert werden können (Steinmeyer et al. 2005). Für die vorliegende Arbeit wurden die Speichelproben von den Probanden durch Spucken in eine Serummonovette der Firma Sarstedt als Kollektionsbehälter abgegeben.

2. Material und Methoden

2.1 Eingesetzte Probenaufarbeitungs- und Analyseverfahren

In der toxikologischen Analytik kommt der Probenaufarbeitung eine entscheidende Bedeutung zu, da die in der biologischen Matrix in großen Mengen enthaltenen Bestandteile, wie Fettsäuren und Eiweiße bei der chromatographischen Trennung stören und die spektroskopische Identifizierung der nachzuweisenden Substanzen

erschweren können. Zudem liegen viele Substanzen in so geringen Konzentrationen in den Proben vor, dass sie vor ihrer Bestimmung angereichert werden müssen.

In dieser Arbeit wurden die Flüssig-Flüssig- und die Festphasenextraktion als Probenvorbereitungsverfahren eingesetzt. Die enthaltenen Extrakte wurden mittels GC/MS analysiert.

2.1.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Das zugrunde liegende Prinzip der Flüssig-Flüssig-Extraktion - zum Beispiel mittels eines Scheidetrichters - ist, dass sich eine Substanz zwischen zwei nicht miteinander mischbaren Lösungsmitteln verteilt. Die in den beiden Lösungsmitteln vorhandenen Anteile der gelösten Substanz stehen dabei entsprechend ihrer Löslichkeit in dem jeweiligen Lösungsmittel in einem dynamischen Gleichgewicht. Die gesuchte Substanz wird gewonnen, indem man das dynamische Gleichgewicht mehrere Male zwischen frischem Lösungsmittel und der zweiten alten Phase herstellt. Die alte substanzarme Phase wird nach ca. 3-4 Durchgängen verworfen, und die Teile der substanzreichen Phase werden vereinigt.

2.1.2 Festphasenextraktion (SPE)

Bei der Festphasenextraktion findet eine Adsorption der Substanz an die poröse Oberfläche einer festen Phase statt. Als feste Phase dienen unterschiedlich derivatisierte Kieselgele. Neben polaren und unpolaren Phasen werden auch Ionenaustausch- und Mischphasen verwendet. In der vorliegenden Arbeit wurden Säulen mit Mischphasen verwendet, deren Oberfläche einerseits unpolare Oktylketten und andererseits Alkyl-Phenyl-Sulfonsäure (kationische Komponente) als Bindungsstellen enthält. Über diese Bindungsstellen können Moleküle aus der flüssigen Phase pH-selektiv gebunden werden. Die Bindung an die feste Phase erfolgt über hydrophobe Wechselwirkungen (Oktylketten) bzw. über elektrostatische Wechselwirkungen mit der Alkyl-Phenyl-Sulfonsäure. Es werden jedoch keine kovalenten Bindungen ausgebildet. Mit dieser Technik ist man in der Lage, unerwünschte Verunreinigungen aus der Probe zu entfernen, entweder indem man die Verunreinigungen an die feste Phase bindet und die gesuchte Substanz eluiert oder indem man die gesuchte Substanz bindet und dann in einem ersten Schritt die Verunreinigungen und im zweiten Schritt die gesuchte Substanz eluiert. Bei der SPE werden zunächst die verwendeten Säulen konditioniert, um eine Benetzbarkeit zu

gewährleisten. Nach Einstellung eines geeigneten pH-Wertes wird die Probe aufgetragen. Nach einem Waschschrift zum Entfernen von Verunreinigungen werden (im Idealfall) nur die Analyten eluiert. Zur Beschleunigung der einzelnen Schritte wird entweder ein Vakuum angelegt oder mit Überdruck gearbeitet (Schäfer 2008, Leinenkugel 2010).

2.1.3 Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)

Unter GC/MS versteht man die Kopplung eines Gaschromatographen (GC) mit einem Massenspektrometer (MS). Dabei dient der GC zur Auftrennung des zu untersuchenden Stoffgemisches und das MS zur Identifizierung und gegebenenfalls auch Quantifizierung der einzelnen Komponenten.

Verdampfbare Substanzgemische werden in einem Gaschromatographen getrennt. Ein Gaschromatograph besteht aus einer druckkontrollierten Trägergasversorgung, dem Probeneinlass- und Verdampfungssystem (Injektor) und einer in einem Ofen befindlichen Trennsäule. Als Trennsäule wird eine Kapillarsäule benutzt, die sich wegen ihres geringeren Platzbedarfs und ihrer höheren Trennleistung im Gegensatz zu einer gepackten Säule auszeichnet. In der Trennsäule dient ein Gas als mobile Phase, während eine hochsiedende Flüssigkeit, die sich auf der Innenwand der Kapillarsäule befindet, als stationäre Phase verwendet wird. Durch Einstellung eines Gleichgewichts zwischen diesen Phasen kommt es zur Auftrennung der Substanzen auf molekularer Ebene. Bei der hier verwendeten Kopplung des Gaschromatographen gelangen die aus der Trennsäule austretenden Substanzen direkt in ein Quadrupol-Massenspektrometer.

Beim Eintritt in das Massenspektrometer werden die über die Säule getrennten Moleküle im Hochvakuum (bis zu 10^{-7} Torr) durch Elektronenbeschuss bei einer Energie von 70 eV ionisiert. Die hohe Überschussenergie führt zu einem Auseinanderbrechen der Moleküle und zu charakteristischen positiv geladenen Bruchstücken. Diese Ionen können dann – nach ihrem Verhältnis Masse zu Ladung (m/z) aufgetrennt – in ihrer Intensität gemessen werden. Für ein Quadrupol-Massenspektrometer sind verschiedene Betriebsmodi möglich. Wird es im Full-scan-Modus betrieben, so werden vorgegebene Massenbereiche innerhalb eines gewissen Zyklus' Masse für Masse registriert und die jeweiligen Intensitäten gemessen. Durch die Darstellung der Ionenintensitäten auf einer m/z -Achse erhält man die vollständigen Massenspektren. Im sensitiveren SIM-Modus (Selected Ion

Monitoring) werden nur einzelne, für die Substanz charakteristische Ionen registriert. Hierbei wird die Empfindlichkeit der Messung auf Kosten eines Informationsverlustes erhöht.

Die Identifikation einer Verbindung erfolgt über das charakteristische Massenspektrum bzw. das charakteristische Ionenverhältnis bei SIM-Messungen sowie zusätzlich über die Laufzeit auf der Trennsäule (Retentionszeit). Um eine quantitative Bestimmung zu ermöglichen, wird eine definierte Menge eines internen Standards in den Proben mitgeführt und eine Kalibrierkurve erstellt. Dabei sollte der interne Standard ähnliche chemische Eigenschaften wie die gesuchte Substanz haben, um ein möglichst gleichartiges Extraktions-, Trenn- und Fragmentierungsverhalten sicherzustellen. Daher werden heute zumeist deuterierte interne Standards verwendet, in denen einzelne oder mehrere Wasserstoffatome der nachzuweisenden Verbindung durch Deuterium ersetzt sind. Deuterium ist ein Isotop des Wasserstoffs mit einem Proton und einem Neutron im Kern. Es ist doppelt so schwer wie Wasserstoff, dessen Kern nur aus einem Proton besteht. Der deuterierte interne Standard besitzt daher eine höhere Molekülmasse bei sonst praktisch gleichen chemischen Eigenschaften wie die nachzuweisende Verbindung (Schäfer 2008, Leinenkugel 2010).

2.2 Methodenübertragung von der manuellen zur automatisierten Festphasenextraktion

Methode der manuellen Festphasenextraktion

Es wurde eine manuelle Methode zur Bestimmung von freien Opiaten, Cocain und Cocainmetaboliten in Serum als Ausgangsmethode verwendet, die im Folgenden wiedergegeben wird.

Manuelle Aufarbeitung von Serumproben

Nach dem langsamen Auftauen von Serumproben werden jeweils Aliquots des Serums in Schraubdeckelgläser abgefüllt. Diese werden jeweils mit internen Standards von Morphin-d3 und Codein-d3 versetzt. Nach Zugabe von Puffer wird das Gemisch auf dem Vibrationsmischer geschüttelt. Anschließend wird mit dem gepufferten Serum eine Festphasenextraktion durchgeführt, welche sich in folgende Teilschritte aufgliedert: 1. Konditionieren, 2. Probenaufgabe, 3. pH-Wert-Umstellung, 4. Waschen, 5. Trocknen und 6. Eluieren.

Diese Schritte werden bei der manuellen Aufarbeitung an einem Festphasenextraktionsgerät der Firma Baker durchgeführt. Zur schnelleren Aufarbeitung wird bei den einzelnen Schritten ein Vakuum angelegt. Der genaue Ablauf ist folgendem Fließschema zu entnehmen (Abbildung. 4). Bezüglich des eingesetzten Materials vergleiche auch Kap. 2.7.1.

Manuelle Festphasenextraktion über Bond Elut Certify® Säulen
Säule konditionieren mit 2 ml MeOH 2 mL dest. Wasser 1 mL Sörensen-Puffer (1 – 2 mL/min) WICHTIG: Säule darf nicht trocken laufen!
▼
Probe auftragen (1 mL/min)
▼
pH-Wert-Umstellung: 1 mL Acetatpuffer (0,0745 M / pH 4,6)
▼
Waschen: 2 ml Methanol
▼
5 min trockensaugen
▼
Elution in Auffanggläser: 2 x 1 mL frisch angesetztes Elutionsgemisch (Dichlormethan / Isopropanol / 32 %iger Ammoniak) (39:10:1 v/v/v)

Abbildung 4: Fließschema der manuellen Festphasenextraktion

Entwicklung einer Methode zur automatisierten Festphasenextraktion

Bei der automatisierten Festphasenextraktion wurden dieselben Mengen wie bei der manuellen SPE eingesetzt. Nach Versetzen der Proben mit internem Standard und Puffer wurden sie auf den entsprechenden Bereich des automatisierten Festphasenextraktionsgerätes Aspec XL gestellt. Alle Teilschritte der manuellen Festphasenextraktion wurden in die Software (735 Sampler Software V 6.10) des Aspec XL programmiert. Nach der Programmierung arbeitete das Gerät die einzelnen Proben seriell von der Säulenconditionierung bis zur Probeneelution automatisiert ab.

Da das Gerät nicht mit Vakuum sondern Überdruck arbeitet, mussten alle einzelnen Schritte in Vorversuchen optimiert werden, um eine bestmögliche Ausbeute an Analyt und Reinheit des Extraktes bei zügigem Arbeitstempo zu erreichen. Die verschiedenen Aufarbeitungen wurden untereinander und mit den Ergebnissen der manuellen Aufarbeitung verglichen. Die Einstellungen der Software sind dem Anhang zu entnehmen. Diese automatisierte Festphasenextraktion wurde für Serumproben basisvalidiert (Leinenkugel 2010) und auf die Aufarbeitung von Speichel und Urin übertragen.

Die bei der Handaufarbeitung oder der automatisierten Festphasenextraktion erhaltenen Eluate mussten dann manuell auf den Abdampfer gebracht werden, dort im Luftstrom bei 30°C eingedampft und wie bei der Handaufarbeitung derivatisiert werden.

2.3 Untersuchung der für die Studie zur Verfügung stehenden Mohnchargen hinsichtlich ihres Morphin- und Codeingehaltes

2.3.1 Material

Mohn

Um für die Studien einen Mohn mit möglichst hohem Morphingehalt zu finden, wurden neun Mohnchargen aus unterschiedlichen Anbaugebieten auf ihre Morphin- und Codeinkonzentration hin untersucht. Alle Mohnsamen waren frei verkäuflich erhältlich. Bei den im Raum Kiel erhältlichen Mohnsamenprodukten handelte es sich um Mohnbackmischungen der Kette „Hertie“ bzw. der Großbäckerei „Günther“.

Weiterhin wurden Bio-Mohnsamen der Einzelhandelskette „Reformhaus“ und der

Kette „Sky“ auf ihren Opiatgehalt untersucht. Bei allen vier Mohnproben war das Ursprungsland unbekannt. Weiterhin waren ungarischer, tschechischer und türkischer Mohn sowie zwei australische Mohnchargen aus unterschiedlichen Regionen erhältlich.

Reagenzien

- Schwefelsäure p.a. (Firma Merck)
- Schwefelsäure 2 n
- Destilliertes Wasser (aus der Aufarbeitungsanlage des Hauses, 2. Reinheitsstufe)
- Natriumhydroxid p.a. (Firma Merck)
- Natriumhydroxidlösung 10 n
- Kaliumhydroxid p.a. (Firma Merck)
- Chloroform (Firma Merck)
- Isopropanol/Chloroform-Mischung (10:90 v/v)
- Natriumcarbonat (Firma Merck)
- Natriumsulfat (wasserfrei, Firma Merck)
- Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat (Firma Merck)
- Essigsäureethylester p.a. (Essigester/Ethylacetat, Firma Merck)
- Kaliumdihydrogenphosphat (Firma Fluka)
- Methanol p.a. (Firma Merck)
- Pentafluoropropionsäureanhydrid (PFPA, Firma Fluka)
- 2,2,3,3,3-Pentafluoropropanol (PFPOH, Firma Fluka)
- 2-Propanol p.a. (Firma Merck)
- Salzsäure p.a. (37 %, Firma Merck)
- Salzsäure 2 n
594 mL destilliertes Wasser wurden mit 146 mL konzentrierter Salzsäure vermischt
- Codein-hydrochlorid-dihydrat-d3 (Firma Sigma-Aldrich)
- Morphin-hydrochlorid-trihydrat-d3 (Firma Sigma-Aldrich)
- IS-Stammlösung für Morphin-d3 (228,3 µg/mL)
0,6 mg Morphin-hydrochlorid-trihydrat-d3 in 2 mL Methanol gelöst
- IS-Stammlösung für Codein-d3 (242,0 µg/mL)
0,6 mg Codein-hydrochlorid-trihydrat-d3 in 2 mL Methanol gelöst

Geräte und Messparameter

- Automatisches Festphasenextraktionsgerät: Aspec XL-Work-up-device der Firma Gilson, Bad Camberg
- GC/MS: GC 6890 mit MSD 5973, Agilent, Waldbronn
- GC/MS Software: MSD Chemstation, Version D01.02.16
- Zentrifuge (Megafuge 10, Firma Heraeus, Hanau)
- Vibrationsmischer (Mona-Mixer, MM1, Firma Desaga GmbH Sarstedt-Gruppe)
- Waage (MC1, Analytic AC 210 S, Firma Sartorius)
- Mörser
- Druckluftbetriebene Abblasvorrichtung
- Regelbarer Heizblock (Labortechnik Barkey)

Zur Messung der Extrakte wurde das GC/MS unter folgenden Messbedingungen eingesetzt:

Trärgas Helium, konstante Flussrate 1,0 mL/min, druckprogrammiert, Injektionsvolumen 1 µL (splitless), Injektortemperatur: 250 °C, Transferline: 280 °C, Chrompack CP7860 Säule (CP-Sil 5 CB, 30 m, 250 µm i.D., 0,33 µm Filmdicke, Varian Darmstadt), Temperaturprogramm: 80 °C 1 min, 20 °C/min bis 200 °C, 10 °C/min bis zur Endtemperatur 280 °C, Haltezeit: 10 min, Gesamtanalysendauer: 25 min; Ionisationsenergie 70 eV. Der GC/MS lief im SIM-Modus. Wie in Tabelle 6 dargestellt, wurde nach Ionen mit folgenden Masse/Ladung-Verhältnissen gesucht:

Tabelle 6: Im SIM-Modus gemessene Ionen (m/z)

Substanz	Ionen (m/z)	Interner Standard	Ionen (m/z)
Codein	445, 446, 282	d3-Codein	448, 449, 285
Morphin	577, 414, 361	d3-Morphin	580, 417, 418

Hilfsmittel

Von der üblichen Ausstattung eines toxikologischen Labors wurden insbesondere folgende Hilfsmittel verwendet:

- 10 mL Schraubdeckelgläser (Pyrex) mit Teflondichtung
- Bond Elut Certify® Säulen, endcapped, 130 mg, 3 mL, Varian, Darmstadt
- 10 mL Spitzgläser

- Pipetten (5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL, Firma Biohit)
- Messkolben (10, 100, 1000 mL)
- GC-Gläschen mit Glaseinsätzen und Deckeln
- Verschiedene Glasgeräte (Bechergläser, Messzylinder etc.)
- Parafilm

2.3.2 Probenvorbereitung

Mohnsamen

Von den in Kiel erhältlichen Mohnsamenchargen der Ketten „Sky“ und „Reformhaus“ wurde jeweils eine Stichprobe entnommen. Ebenso wurde mit dem Mohn aus Ungarn, Tschechien und der Türkei verfahren. Von beiden australischen Mohnchargen wurden jeweils 6 Stichproben entnommen.

Pro Stichprobe wurden 0,5 g Mohnsamen in einem Mörser zerrieben und mit 2 mL einer 2 normalen Schwefelsäure in einem Schraubdeckelglas für 2 h bei 30°C inkubiert. Das Gemisch wurde über einen mit Filterpapier ausgelegten Trichter in einen 20 mL Messkolben gefüllt und die abgefilterten Mohnsamen zweimal mit je 0,5 mL der 2 normalen Schwefelsäure abgespült. Der pH-Wert wurde dann mit ca. 600 µL einer 10 normalen Natriumhydroxidlösung zwischen 7 und 8 eingestellt. Anschließend wurde der Messkolben bis an die Messmarke mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Diese Lösung wurde in Doppelbestimmung untersucht. Dazu wurden jeweils 0,5 mL dieser Lösung mit 50 µL deuterierten internen Standards (Codein-d3 und Morphin-d3) und 1 mL Sörensenpuffer versetzt und automatisch über eine Festphase (Bond Elut Certify®) extrahiert.

Danach wurden die Extrakte eingedampft und für die Derivatisierung mit 40 µL PFPA und 20 µL PFPOH versetzt. Das Reagenzglas wurde mit Parafilm luftdicht verschlossen und für 30 min bei 65°C inkubiert. Die Lösung wurde eingedampft, in 15 µL wasserfreiem Essigester auf dem Vibrationsmischer gelöst und in GC/MS-Gläschen mit Einsatz pipettiert.

Mohnbackmischungen

Aus den Mohnbackmischungen „Günther“ und „Hertie“ wurden jeweils 2 Stichproben entnommen. Pro Stichprobe wurden 0,5 g Mohnbackmischung mit 3 mL methanolischer Kaliumhydroxidlösung in einem Schraubdeckelglas versetzt und bei 60°C für 2 h inkubiert. Gelegentliches Schütteln war notwendig, um das Anhaften der

Mohnbackmischung an der Glaswand zu verhindern.

Nach Abkühlen wurde das Gemisch abfiltriert und in einem Becherglas mit 2,5 mL destilliertem Wasser verdünnt. Der pH-Wert wurde mit 2 normaler Salzsäure auf 8,5 eingestellt und das Gemisch in einem Messkolben mit destilliertem Wasser auf 10 mL aufgefüllt. Davon wurden 50 µL abgenommen und 50 µL des deuterierten internen Standards hinzugefügt. Das Gemisch wurde mit destilliertem Wasser auf 2,5 mL aufgefüllt. Die Lösung enthielt neben den gesuchten Alkaloiden auch Zucker, Süßmolkepulver, Milchfett, Mehl und noch weitere Backzutaten in gelöster Form. Zur Aufreinigung der Substanzen aus der wässrigen Lösung erfolgte eine Flüssig-Flüssig-Extraktion mit 2,5 mL einer Isopropanol/Chloroform-Mischung (10:90 v/v). Die zwei Phasen wurden durch einen Scheidetrichter getrennt. Um die Ausbeute an Alkaloiden zu erhöhen, wurde die wässrige Phase insgesamt dreimal in analoger Weise extrahiert, anschließend wurden die organischen Phasen vereinigt und die wässrige Phase verworfen. Die gesuchten Opiate wurden aus dem organischen Lösungsmittel durch dreimaliges Zusetzen von 2,5 mL der 2 normalen Salzsäure rückextrahiert. Die Salzsäureextrakte wurden in einem Becherglas vereinigt und mit Natriumcarbonatlösung auf einen pH-Wert von 9,5 eingestellt. Wiederum wurden die gesuchten Substanzen durch Extraktion mit 2,5 mL der Isopropanol/Chloroform-Mischung in die unpolare Phase überführt. Der Vorgang wurde dreimal durchgeführt, die organischen Phasen vereinigt und die wässrige Phase verworfen. Zu der organischen Phase wurde wasserfreies Natriumsulfat gegeben, um den Wasseranteil zu eliminieren. Die Lösung wurde eingedampft und anschließend mit 1,5 mL Sörensenpuffer aufgenommen. Es folgte eine automatisierte Festphasenextraktion. Analog der Mohnsamenaufarbeitung wurde die Derivatisierung und die Messung mittels GC/MS durchgeführt.

2.3.3 Übersicht der Morphingehalte der zur Verfügung stehenden Mohnchargen

Die Mohnsamenproben der Kette „Sky“ und die der Kette „Reformhaus“ wiesen bei der Doppelbestimmung Morphingehalte von 7,6 mg/kg bzw. 1,1 mg/kg auf. Aufgrund der niedrigen Ergebnisse wurde keine zweite Stichprobe untersucht.

Die Mohnsamen aus Ungarn, Tschechien und aus der Türkei ergaben vergleichbar niedrige Werte, die zwischen 0,66 mg/kg und 13,2 mg/kg rangierten. Die Mohnsamenbackmischung der Bäckerei „Günther“ ergab einen Morphingehalt von 3,9 mg/kg, und die Backmischung von „Hertie“ hatte einen Morphingehalt von

7,5 mg/kg (Tabelle 7). Zwei verschiedene Chargen von Mohnsamen australischer Herkunft vom Frühjahr/Sommer 2004 wiesen die höchsten Morphingehalte auf. Die erste Charge wurde direkt aus Australien importiert (Firma Spencers, Freemantle), die zweite stammte von einem Großhändler (Firma aga SAAT, Neukirchen-Vluyn). Die Morphingehalte der verwendeten Mohnsamenchargen (siehe Tabelle 7) wurden nach Mahlen der Samen mit einem Mörser zu 72,4 mg/kg (erste Charge) bzw. 114,3 mg/kg (zweite Charge) bestimmt.

Beide australische Mohnsamenchargen wurden für den Mohnessversuch verwendet (Leinenkugel 2010).

Tabelle 7: Übersicht des Morphin- und Codeingehalts der neun Mohnsamenproben

Mohncharge	Morphinkonzentration [mg/kg]	Codeinkonzentration [mg/kg]
Türkei	0,66	nicht nachweisbar
„Reformhaus“	1,1	0,5
Ungarn	2,6	0,2
„Günther“ (Backmischung)	3,9	1,4
„Hertie“ (Backmischung)	7,5	1,5
„Sky“	7,6	2,5
Tschechien	13,2	1,6
1. australischer Mohn	72,4	3,4
2. australischer Mohn	114,3	13,1

2.3.4 Abnahme der Morphinkontamination durch küchentechnische Zubereitung

Wie in Kapitel 2.7.3 beschrieben, wurden für den Essversuch im Rahmen dieser Studie verschiedene Mohnchargen auf ihren Morphingehalt hin untersucht und die zwei australischen Chargen verwendet. Für die Auswertung des Essversuches ist allerdings nicht nur der Morphingehalt der jeweiligen Charge, sondern auch die Erkenntnis wichtig, dass es zu einer Abnahme des Morphingehaltes je nach küchentechnischer Zubereitung kommen kann. Nach Sproll et al.

berücksichtigen auch aktuell veröffentlichte Studien nicht, dass eine drastische Morphin-Eliminierung durch übliche küchentechnische Zubereitungsmethoden bei der Herstellung von mohnhaltigen Lebensmitteln erfolgt, obwohl dies seit langem bekannt ist (Sproll et al. 2007). So berichten sie in einer systematischen Literatursichtung über eine Studie von 1985, bei der ein Morphin-Verlust von 90 %, bezogen auf den Ausgangsgehalt der verwendeten Mohnsaat, durch Backen festgestellt wurde (Brenneisen und Borner 1985). Weiterhin berichteten Meadway et al. 1998 von Unterschieden der Opiatkonzentrationen zwischen gekochten, gesiebten und unbehandelten Mohnsamen (Meadway et al. 1998).

2006 und 2007 konnten Sproll et al. in umfangreichen Studien, die mit statistischer Versuchsplanung durchgeführt wurden, diese Ergebnisse bestätigen. Es zeigte sich eine Abnahme des Morphingehalts beim Mahlen, Erhitzen und Waschen (Tabelle 8). Diese Ergebnisse konnten durch Shetge et al. in 2020 bestätigt werden, allerdings zeigte sich hier eine höhere Abnahme des Morphingehalts der Mohnsamen beim Waschen mit 50-80 % und nur bis zu 50 % beim Backen (Shetge et al. 2020).

Tabelle 8: Abnahme des Morphingehalts nach Mohnbehandlung
(Sproll und Lachenmeier 2007)

Prozess	Morphinabnahme	Literatur
Abwaschen des Mohns mit heißem Wasser (2 min)	73 +/- 13 %	<i>Sproll et al. 2007</i>
Mahlen des Mohns mit Labormühle	34 +/- 5 %	<i>Sproll et al. 2006</i>
Mahlen des Mohns mit Mohnmühle	25 +/- 15 %	<i>Sproll et al. 2007</i>
Mohnkuchenherstellung (180 °C, 20 min) (Mahlen und Backen)	50-84 %	<i>Sproll et al. 2006</i>
Mohnbrötchenherstellung (220 °C)	80-90 %	<i>Sproll et al. 2006</i>
Kommerzielle Herstellung von Mohnbackmischungen	100 %	<i>Bjerver et al. 1982</i>

Sproll et al. erklärten den Abbau des Morphins beim Mahlen von bis zu 34 % durch oxidative Effekte und die Freisetzung Sauerstoff tragender Verbindungen aus den Samen. Den Verlust von bis zu 90 % bei der Mohnbrötchenherstellung (Backtemperatur 220 °C) erklärten Sproll et al. durch temperaturkatalysierte Oxidation des Morphins, wohingegen der Mohn in einem Mohnkuchen zum einen nicht so hohen Temperaturen ausgesetzt ist (180 °C) und zum anderen auch im Inneren des Kuchens vor Oxidation besser geschützt ist. Dies erklärt den geringeren Verlust von insgesamt 50-84 % bei der Mohnkuchenherstellung (Sproll et al. 2007).

2.4 Bestimmung von Morphin in Speichel und Urin mittels GC/MS nach vorausgegangener automatisierter Festphasenextraktion

2.4.1 Untersuchung von Speichel

Reagenzien

- Morphin-hydrochlorid-trihydrat (Firma Merck)
- Codein-hydrat (Firma Merck)
- Stammlösung für Morphin (1 mg/mL)
13,3 mg Morphin-hydrochlorid-trihydrat wurden in 10 mL Methanol gelöst
- Stammlösung für Codein (1 mg/mL)
10,6 mg Codeinhydrat wurden in 10 mL Methanol gelöst.
- Arbeitslösung 1 mit Morphin und Codein (je 10 µg/mL)
je 100 µL jeder Stammlösung wurde auf 10 mL Methanol aufgefüllt
- Arbeitslösung 2 mit Morphin und Codein (je 1 µg/mL)
1 mL von Arbeitslösung 1 wurde auf 10 mL Methanol aufgefüllt
- Arbeitslösung 3 mit Morphin und Codein (je 0,1 µg/mL)
1 mL von Arbeitslösung 2 wurde auf 10 mL Methanol aufgefüllt
- IS-Arbeitslösung mit Morphin-d3 (913 ng/mL) und Codein-d3 (968 ng/mL)
je 40 µL der IS-Stammlösungen von Morphin-d3 und Codein-d3 (vgl. Kap. 2.7.1) wurden auf 10 mL Methanol aufgefüllt
- Sörensen-Puffer (pH 7,6)
9,08 g Kaliumdihydrogenphosphat (Lösung A) und 11,88 g Dinatriumhydrogenphosphat-dihydrat (Lösung B) wurden in jeweils 1 L destilliertem Wasser gelöst. Davon wurden 13,2 mL der Lösung A mit 86,8 mL der Lösung B vermischt.
- Ammoniaklösung (32 %, Firma Merck)
- Isopropanol (Firma Merck)
- Dichlormethan (Firma Merck)
- Eluatmischung
Dichlormethan, Isopropanol und Ammoniak (32 %) im Verhältnis 78:20:2 (v/v/v)
- Natriumacetat (Firma Merck)
- Essigsäure (100 %, Firma Merck)
- Acetat-Puffer (pH 4,6)
25,5 mL einer 0,1 molaren Essigsäure wurden mit 24,5 mL der 0,2 molaren Natriumacetatlösung auf 100 mL mit destilliertem Wasser aufgefüllt
- Kontrollseren (Firma Medichem, Steinenbronn)

Geräte

- Zentrifuge (Megafuge 10, Firma Heraeus, Hanau)
- Vibrationsmischer (Mona-Mixer, MM1, Firma Desaga GmbH Sarstedt-Gruppe)
- Aspec XL, Aufarbeitungsgerät der Firma Gilson mit Bond Elut Certify-Säulen (endcapped, 130 mg, 3 mL, Varian, Darmstadt)
- Regelbarer Heizblock mit druckluftbetriebener Abblasvorrichtung
- Gaschromatograph/Massenspektrometer: GC/MS-Gerät der Firma Agilent, Waldbronn (GC 6890 mit MSD 5973)
- GC-Säulen: Chrompack CP7860 Säule (CP-Sil 5 CB, 30 m x 250 µm i.d., 0,33 µm Filmdicke, Varian, Darmstadt)

Für die Aufarbeitung von Speichelproben wurde eine für Serumproben validierte Methode eingesetzt. Die tiefgekühlt (-20 °C) gelagerten Speichelproben wurden nach dem langsamen Auftauen jeweils in 0,5 mL-Portionen in Schraubdeckelgläser abgefüllt. Aufgrund der vorhandenen Probenplätze des automatischen Extraktionsgerätes konnten bis zu 20 Proben in einer Serie aufgearbeitet werden. Es wurden jeweils 50 µL der Arbeitslösung des deuterierten internen Standards von Morphin-d3 und Codein-d3 hinzugefügt. Nach Zugabe von 1 mL Sörensenpuffer wurde das Gemisch auf dem Vibrationsmischer geschüttelt. Anschließend wurde mit dem gepufferten Speichel eine Festphasenextraktion durchgeführt.

Festphasenextraktion

Die Festphasenextraktion wurde nach Entwicklung einer entsprechenden automatisierten Methode (vgl. Kap. 2.6) auf dem Aspec XL Aufarbeitungsgerät der Firma Gilson mit Bond Elut Certify-Säulen durchgeführt. Gemäß der Programmierung wurden die Säulen zunächst mit 2 mL Methanol, dann mit 2 mL destilliertem Wasser und schließlich mit 1 mL Sörensenpuffer konditioniert. Es folgte die automatische Probenaufgabe. Als nächstes wurde der pH-Wert mit 1 mL eines 0,0745 molaren Acetat-Puffers (pH 4,6) umgestellt und anschließend wurden die Säulen mit 2 mL Methanol gewaschen. Die Säulen wurden getrocknet und mit 2 mL einer Dichlormethan/Isopropanol/Ammoniaklösung in Auffanggläser eluiert. Das Eluat wurde bei 30 °C im Luftstrom bis zur Trockne eingedampft.

Derivatisierung

Zum Rückstand wurden 40 µL PFPA und 20 µL PFPOH zugegeben. Die Auffanggläser wurden mit Parafilm abgedeckt und die Proben bei 65 °C für 30 min inkubiert. Danach erfolgte das Eindampfen unter Druckluft bei 30 °C. Der getrocknete Rückstand wurde in 15-20 µL wasserfreiem Essigester aufgenommen und in ein GC/MS-Gläschen überführt. Jeweils 1 µL jeder Probe wurde in das GC/MS-System injiziert.

Zur Messung wurde dasselbe Programm wie zur Untersuchung der Mohnchargen verwendet (vgl. Kap. 2.7). Für die Erstellung der Kalibrationskurven wurden Kalibratoren von 0, 10, 20, 30, 40 und 50 ng/mL eingesetzt. Um auch extrem geringe Konzentrationen erfassen zu können, wurde zusätzlich eine Kalibrationskurve mit Kalibratorkonzentrationen von 0, 2, 4, 6, 8, 10 und 20 ng/mL aufgestellt. Die durchgeführten Messungen wurden auf diese Kalibratoren bezogen.

2.4.2 Untersuchung von Urin

Bezüglich des eingesetzten Materials siehe Kap. 2.7.1. Zusätzlich wurden für die Bestimmung von Gesamtopiat folgenden Reagenzien eingesetzt:

- Ammoniaklösung (25 %, Firma Merck)
- Trichloressigsäure p.a. (Firma Merck)
- Trichloressigsäure 10 %

10 g Trichloressigsäure wurden auf 100 g mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Die im Urin vorliegenden Konzentrationen an freiem und gebundenem Morphin wurden in zwei unterschiedlichen Messungen bestimmt. Zunächst wurde die Konzentration an freiem Morphin gemessen. Dazu wurden die tiefgekühlt (-20°C) gelagerten Urinproben nach dem Auftauen kräftig auf dem Vibrationsmischer geschüttelt und anschließend 5 min lang bei 4000 UpM zentrifugiert und hierbei die festen Bestandteile, also das Urinsediment, von der flüssigen Phase getrennt. Wie sich aus Voruntersuchungen ergeben hatte, konnten extrem hohe Morphinkonzentrationen im Urin erwartet werden. Um möglichst genaue quantitative Ergebnisse zu erhalten, wurden nicht 0,5 mL, wie bei Serum- und Speichelproben, sondern nur 5 µL der Probe zur Untersuchung verwendet.

Die weiteren Schritte entsprachen denen der Aufarbeitung und Messung von Blut- und Speichelproben. Lagen die Messwerte trotz der geringen eingesetzten Probenmenge über dem höchsten Kalibrator, so wurden die Urinproben vor der

Messung noch einmal verdünnt, um Messwerte innerhalb des kalibrierten Bereiches zu erhalten. Die Festphasenextraktion, Derivatisierung und die Messung mittels GC/MS wurden analog der Beschreibung in Kap. 2.8.1 durchgeführt.

Zur Untersuchung auf Gesamtmorphin, das sich aus dem Anteil aus freiem Morphin und dem mit Glucuronsäure konjugierten Anteil zusammensetzt, wurde ein Hydrolyseschritt vorangestellt, um die vorhandenen Glucuronide zu spalten.

Dazu wurden 5 µL Urin nach Zugabe der deuterierten internen Standards mit 0,5 mL 10 %iger Trichloressigsäure und 1,5 mL 2 molarer Salzsäure versetzt. Diese Mischung wurde intensiv auf dem Vibrationsmischer geschüttelt und bei 100 °C für 45 min inkubiert. Mit 0,3 mL einer 25 %igen Ammoniaklösung und 1 mL Sörensenpuffer wurde der pH-Wert auf ca. 7,6 eingestellt und eine Festphasenextraktion durchgeführt.

Für sehr hohe Urinkonzentrationen wurde eine zusätzliche Kalibrierkurve erstellt mit Kalibratorkonzentrationen von 0, 50, 100, 250, 500, 750 und 1000 ng/mL.

2.5 Systematische Untersuchungen der Morphinkonzentrationen in Speichel- und Urinproben von 20 Probanden nach einmaligem exzessiven Mohnsamenverzehr

Zur Durchführung des Essversuchs verwendete Nahrungsmittel

- 1. australischer Mohn, Firma Spencers, Freemantle:
Morphinkontamination: 72,4 mg/kg
Das Mahlen der Mohnsamen erfolgte mit einer sauberen, elektrischen Kaffeemühle. Dieser Mohn wurde für die Probanden A-E verwendet.
- 2. australischer Mohn, Firma aga SAAT, Neukirchen-Vluyn:
Morphinkontamination: 114,3 mg/kg
Das Mahlen der Mohnsamen erfolgte mit einer Körnermühle der Kette „Körnermarkt“ in Kiel. Dieser Mohn wurde für die Probanden F-T verwendet.
- Kuchen: selbstgebackener Mohnkuchen mit 400 g gemahlene Mohnsamen pro Kuchen, sowie Butter, Zucker, Mehl und Milch (Backzeit: 1 h bei 160°C).
- Milchreis: kommerziell erhältlicher „Müllers Milchreis Original“ 250 g, eine Portion wurde mit jeweils 100 g gemahlenem Mohn versetzt.

Zur Probeentnahme verwendete Hilfsmittel

Peha-soft, puderfreie Untersuchungshandschuhe aus Naturkautschuklatex

- Universal Urinbehälter, Sarstedt
- Serum Monovette, Sarstedt

2.5.1 Vorbereitung des kontrollierten Essversuchs

Ein Antrag an die Ethikkommission des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, zur Genehmigung des Versuchs wurde positiv beschieden.

Weiterhin wurde das Projekt vom „Bund gegen Alkohol und Drogen im Straßenverkehr“ (BADs) finanziell unterstützt.

Alle Probanden standen bis mindestens 8 h nach Verzehrende unter ärztlicher Aufsicht und wurden dazu verpflichtet, am Versuchstag kein Kraftfahrzeug zu lenken. Weiterhin wurden die Probanden schriftlich darauf aufmerksam gemacht, 14 Tage vor dem Versuch Mohnbackwaren sowie codeinhaltigen Hustensaft und Schmerzmittel zu meiden. Die Probanden wurden über die Studie informiert und auf mögliche Risiken hingewiesen. Es wurden Aufklärungs- und Konsensbögen an alle Probanden ausgeteilt, die unterschrieben von den Probanden zurückgegeben wurden. Die oben genannten Formulare sind im Anhang wiedergegeben.

Nach Beer et al. soll Mohn bei gefülltem Magen länger im Magen-Darm-Trakt verbleiben, was möglicherweise zu einem Anstieg der Resorptionsrate von Morphin führt (Beer et al. 1994). Um den Einfluss des Füllungszustandes des Magens miteinzubeziehen, wurde die Hälfte der Probanden gebeten, vor der Mohnaufnahme zu frühstücken, die restlichen Probanden wurden angehalten, den Essversuch im nüchternen Zustand anzutreten.

Vor Beginn des Mohnsamenverzehr wurde von jedem Probanden eine Urinprobe abgegeben, um eine vorausgegangene Einnahme opiathaltiger Substanzen und damit eine Verfälschung des Versuchsergebnisses auszuschließen. Weiterhin wurden von den Probanden das Alter, das Körpergewicht und die Körpergröße abgefragt.

Alle diese Daten wurden in einem Probanden-Erfassungsprotokoll von den jeweiligen zuvor bestimmten Gruppenleitern dokumentiert. Dieses Protokoll umfasste weiterhin die Form und Zeitdauer der Mohnaufnahme, die Zeiten der zufälligen Urinabgaben sowie die im Einzelfall beobachtete Symptomatik.

2.5.2 Durchführung des kontrollierten Essversuchs

Die Studie wurde mit insgesamt 20 freiwilligen Probanden durchgeführt, die an einem Vormittag innerhalb von maximal 90 min große Mengen stark mit Morphin kontaminierte australische Mohnsamen verzehrten. Es nahmen 12 Frauen und 8 Männer im Alter zwischen 19 und 45 Jahren (im Mittel 26 Jahre) teil. Die ersten fünf Probanden (A-E) nahmen im Rahmen des ersten Teils des Versuchs schwächer kontaminierte Mohnsamen auf als die Probanden F-T des zweiten Teiles des Versuchs, da die stärker kontaminierte Mohnsamencharge erst zu einem späteren Zeitpunkt zur Verfügung stand, eine möglichst hohe Exposition aber nur mit möglichst stark kontaminierten Mohnsamen zu erreichen war. Der Mohn wurde in gemahlenem Zustand als Kuchen und mit Milchreis verrührt als Brei angeboten. Die Probanden mussten sich für eine dieser Aufnahmeformen entscheiden und sollten zügig möglichst viel dieser Produkte essen. Ein Kuchen wurde jeweils mit 400 g gemahlene Mohnsamen gebacken und in Vierteln dargereicht. Die Probanden wurden gebeten, mindestens ein Stück zu essen und damit 100 g Mohn aufzunehmen. Bei jedem weiteren angebrochenen Stück Kuchen wurde der aufgenommene Anteil durch Wiegen der nicht verzehrten Reste errechnet.

Als Alternative wurden jeweils 100 g gemahlene Mohnsamen mit einer Portion von „Müllers Milchreis“ (250 g) verrührt. Die Probanden wurden aufgefordert, mindestens eine solche Portion Milchreis zu essen und damit 100 g Mohn aufzunehmen. Bei nicht aufgegessenen Portionen konnte der übrig gelassene Anteil abgewogen und somit der aufgenommene Anteil kalkuliert werden. Um den Versuchsablauf bei 20 Probanden reibungslos zu gestalten, wurden vier Probandengruppen gebildet, denen jeweils ein Arzt oder Medizinstudent als Gruppenleiter zugeteilt wurde. Die Gruppenleiter nahmen selbst nicht am Versuch teil. In dieser Studie sollte der Verlauf der Morphinkonzentration in Speichel über 8 h und in Urin bis zu 24 h untersucht werden. Die Speichelproben wurden dementsprechend nach 15, 30 und 45 min sowie nach 1, 1,5, 2, 4 und 8 h nach jedem individuellen Verzehr abgenommen und der jeweilige Entnahmezeitpunkt dokumentiert. Die Speichelproben wurden hierzu von den Probanden direkt in die Serum-Monovetten (Sarstedt) abgegeben. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die Probe keine Mohnspeisereste enthielt und eine möglichst große Menge abgegeben wurde, um später mehrfache Messungen mittels des Dräger DrugTest®-Systems und mittels GC/MS zu ermöglichen. Weiterhin wurden die Probanden aufgefordert, in den 24 h nach Mohnverzehr

mindestens zwei Mittelstrahl-Urinproben abzugeben und deren Zeitpunkt zu dokumentieren. Insgesamt wurden von jedem Probanden acht Speichelproben und – einschließlich der Leerprobe vor Versuchsbeginn – mindestens drei Urinproben abgegeben. Alle Speichel- und Urinproben wurden bis zur späteren Analyse bei -20 °C tiefgefroren. Für die Untersuchung der Speichelproben mit dem Dräger DrugTest®-System wurden die Speichelproben aufgetaut und der Speichelsammler direkt in die Serum-Monovette (Sarstedt) eingetaucht. Um einen genauen Wert der entnommenen Speichelmenge zu erhalten, wurden alle Serum-Monovetten vor und nach der Entnahme des Speichels gewogen. Die Differenz der Werte ergab die zur Messung verwendete Speichelmenge. Durchschnittlich wurden 0,6 g (von 0,14 bis 0,71 g) der Speichelproben zur Messung verwendet. Die Speichelproben wurden weiterhin mittels GC/MS auf freies Morphin und die Urinproben auf freies Morphin und zusätzlich auf Gesamtmorphin untersucht. Die Quantifizierung von freiem Morphin in den Proben wurde, sofern genügend Material vorhanden war, jeweils mindestens in Doppelbestimmung durchgeführt, Gesamtmorphin wurde jeweils in Einfachbestimmung gemessen.

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Methodenübertragung auf die automatisierte Festphasenextraktion

Bei der Methodenübertragung von der manuellen auf die optimierte automatisierte Festphasenextraktion wurden jeweils die Intensitäten charakteristischer Ionen für deuteriertes Morphin, Codein und 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) betrachtet. Es zeigte sich, dass mit Ausnahme von 6-MAM jeweils bessere Ergebnisse bei der automatisierten Festphasenextraktion als bei der Handaufarbeitung erzielt wurden; 6-MAM lieferte praktisch gleichwertige Ergebnisse. In Tabelle 9 ist beispielhaft für jeweils eine Probe eine Gegenüberstellung der manuellen mit der optimierten automatisierten Festphasenextraktion wiedergegeben.

Tabelle 9: Intensitäten charakteristischer Ionen für deuteriertes Morphin, Codein und 6-MAM bei Vergleich der manuellen und der optimierten automatisierten Festphasenextraktion

Substanz	Ion (m/z)	Intensität (manuelle SPE)	Intensität (automatisierte optimierte SPE)
Morphin-d3	580	50	70
Codein-d3	448	65	80
MAM-d3	417	35	35

Da es sich zeigte, dass die optimierte automatisierte Festphasenextraktion insgesamt bessere Ausbeuten lieferte und zudem wesentlich schneller und reproduzierbarer ablief, wurden im Folgenden alle Proben des kontrollierten Mohn-Essversuchs mittels der automatisierten Festphasenextraktion bearbeitet.

3.2 Übersicht der Einzelergebnisse des kontrollierten Mohn-Essversuchs

Beurteilung der Methode auf ihre Einsetzbarkeit

Da sich mit den kleinen Kalibratorkonzentrationen Nachweisgrenzen für Morphin von 0,74 ng/mL und für Codein von 0,64 ng/mL sowie Bestimmungsgrenzen für Morphin von 2,82 ng/mL und für Codein von 2,60 ng/mL (bei $k=3$ und einem

Vertrauensintervall von 90 % für die Nachweisgrenzen und 99 % für die

Bestimmungsgrenzen) ergeben hatten und die relative Standardabweichung und der Bias für die Richtigkeit deutlich unter 15 % lagen (Leinenkugel 2010), konnten mit der eingesetzten Methode die Proben des kontrollierten Essversuchs bearbeitet werden.

Überprüfung der „Drogenfreiheit“ vor Versuchsbeginn

Um zu überprüfen, dass die Probanden vor Versuchsbeginn keine Opiate zu sich genommen hatten, wurde eine Urinprobe unmittelbar vor Versuchsbeginn entnommen. Alle diese Proben waren sowohl ohne als auch mit Hydrolyse negativ auf die untersuchten Opiate.

Gesamtübersicht

Die für freies Morphin und Gesamtmorphin im Speichel jeweils gemessenen Werte lagen, unter Beachtung der Fehlerbreite der Methode, so dicht beieinander, dass sie wie eine Doppelbestimmung gewertet und gemittelt wurden (Rohwerte sind dem Anhang zu entnehmen). Diese Ergebnisse und die Werte für freies Morphin und Gesamtmorphin in den Urinproben werden zusammen mit den übrigen erhobenen Daten in der nachstehenden Tabelle 10 dargestellt. Als positiv (pos) werden Werte angegeben, die zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze liegen. Lag der ermittelte Wert unterhalb der Nachweisgrenze, ist er als negativ (neg) gekennzeichnet. Tabelle 10 zeigt für alle Probanden A-T das Geschlecht, Alter und Körpergewicht, die aufgenommene Mohnmenge, den absoluten Morphingehalt der gemahlene Mohnsamen in mg, die Form der Aufnahme als Kuchen oder in Milchreis gerührt, soweit dokumentiert, die nach küchentechnischer Zubereitung abgeschätzte aufgenommene Morphinmenge in mg (bezeichnet als Morphinaufnahme korrigiert), die pro kg Körpergewicht (KG) aufgenommene Morphinmenge in $\mu\text{g}/\text{kg}$, Angaben zur Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn, die Dauer der Mohnsamenaufnahme in min, sowie Angaben über eine Mundspülung vor der ersten Speichelabgabe. Es sind die Morphinkonzentrationen im Speichel nach 15, 30, 45 min und 1, 1,5, 2, 4, 8 h nach Verzehr sowie die Zeitintervalle der Urinabgaben nach Verzehr und die ermittelten Konzentrationen von freiem Morphin und Gesamtmorphin im Urin angegeben.

Außerdem sind zu Vergleichszwecken die im Rahmen einer anderen Arbeit ermittelten Morphinkonzentrationen im Blut nach 1, 2, 4, 8 und 24 h vorangestellt (Leinenkugel 2010).

Tabelle 10: Übersicht der Ergebnisse des kontrollierten Mohn-Essversuchs; Probanden A - J

Proband	A		B		C		D		E			
Geschlecht / Alter [Jahre]	m / 26		m / 22		w / 24		m / 27		m / 22			
Körpergewicht (KG) [kg]	76		74		56		73		66			
aufgenommene Mohnmenge [g]	115		200		200		180		250			
Morphingehalt absolut [mg] gemahlen	8,3		14,5		14,5		13,0		18,1			
Form der Aufnahme	unbekannt		unbekannt		unbekannt		unbekannt		unbekannt			
Morphinaufnahme [mg] korrigiert	?		?		?		?		?			
Morphinaufnahme/KG [µg/kg] korrigiert	?		?		?		?		?			
Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn	nein		nein		ja		nein		ja			
Aufnahmedauer [min]	75		75		55		90		30			
Mundspülung	ja		nein		ja		ja		nein			
Morphin im Blut [ng/ml]	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt		
1 h nach Verzehr	8,8	107	11,2	147	6,3	149	6,5	109	n.b.	124		
2 h nach Verzehr	8,1	113	6,3	108	5,3	139	8,3	126	7,1	128		
4 h nach Verzehr	4,7	81,2	8,7	353	4,9	n.b.	5,2	113	6,7	157		
8 h nach Verzehr	pos	60,9	3,4	91	pos	135	3,5	78,7	6,2	188		
24 h nach Verzehr	pos	10,3	neg	15,8	neg	n.b.	neg	3,7	pos	34,3		
Morphin im Speichel [ng/ml]												
1/4 h nach Verzehr	54,1		172,6		51,4		120,3		627,7			
1/2 h nach Verzehr	27,7		91,3		39,1		56,8		80,8			
3/4 h nach Verzehr	40,5		19,2		25,8		49,8		67,3			
1 h nach Verzehr	16,8		16,5		18,4		44,8		50,6			
1 1/2 h nach Verzehr	30,2		25,1		6,9		46,7		24,7			
2 h nach Verzehr	7,3		30,2		6,1		23,2		26,5			
4 h nach Verzehr	5,0		7,7		8,9		17,4		10,5			
8 h nach Verzehr	3,4		6,6		2,9		8,6		8,2			
Morphin im Urin [ng/ml]	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt
unmittelbar vor Versuchsbeginn		neg	neg		neg	neg		neg	neg		neg	neg
x h:min nach Verzehr	00:45	4741	47421	00:30	3848	36964	03:00	6321	12551	06:00	8394	160364
x h:min nach Verzehr	02:00	11545	207888	06:00	4720	32541	07:00	6804	219648	12:00	5593	76760
										24:00	8825	111107

Proband	F		G		H		I		J			
Geschlecht / Alter [Jahre]	w / 45		w / 24		w / 19		w / 25		w / 20			
Körpergewicht (KG) [kg]	85		75		60		65		70			
aufgenommene Mohnmenge [g]	100		125		100		150		100			
Morphingehalt [mg] gemahlen	11,4		14,3		11,4		17,1		11,4			
Form der Aufnahme	Kuchen		Milchreis		Kuchen		Milchreis		Kuchen			
Morphinaufnahme absolut [mg] korrigiert	5,0		14,3		5,0		17,1		5,0			
Morphinaufnahme/KG [µg/kg] korrigiert	59,2		190,7		83,3		263,1		71,4			
Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn	ja		ja		nein		nein		ja			
Aufnahmedauer [min]	20		45		25		45		15			
Mundspülung	nein		nein		ja		nein		nein			
Morphin im Blut [ng/ml]	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt		
1 h nach Verzehr	4,2	13,7	11,4	274	5,7	51,2	11,9	86,1	6,1	24,7		
2 h nach Verzehr	5,4	41,1	9,8	187	4,9	68,3	10,9	106	8,9	68,6		
4 h nach Verzehr	4,0	76,8	7,8	130	5,7	82,8	9,7	63,2	7,8	75,9		
8 h nach Verzehr	3,5	100	3,4	63,4	pos	47,7	3,7	33,9	6,6	69,5		
24 h nach Verzehr	neg	60,8	pos	15,2	neg	18	neg	8,3	pos	12		
Morphin im Speichel [ng/ml]												
1/4 h nach Verzehr	90,7		44,7		8,5		13,6		19,6			
1/2 h nach Verzehr	36,4		17,3		7,4		11,3		6,4			
3/4 h nach Verzehr	17,2		15,1		3,1		6,2		6,5			
1 h nach Verzehr	19,4		21,7		7,0		6,0		9,4			
1 1/2 h nach Verzehr	17,8		13,4		2,8		4,7		8,4			
2 h nach Verzehr	14,2		6,1		6,6		3,5		8,4			
4 h nach Verzehr	12,4		3,9		n.a.		pos		5,2			
8 h nach Verzehr	6,4		neg		neg		pos		3,8			
Morphin im Urin [ng/ml]	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt
unmittelbar vor Versuchsbeginn		neg	neg		neg	neg		neg	neg		neg	neg
x h:min nach Verzehr	01:15	1379	16147	01:40	17000	131065	02:10	2034	32395	01:45	14788	131651
x h:min nach Verzehr	20:30	1644	24670	02:20	4708	20916	07:30	5105	5392	07:30	15101	215535
x h:min nach Verzehr				24:00	2673	73490	24:00	540	6298	12:30	3084	82380
x h:min nach Verzehr										24:00	2338	30464

Tabelle 10 (Fortsetzung): Übersicht der Ergebnisse des kontrollierten Mohn-Essversuchs; Probanden K - T

Proband	K		L		M		N		O						
Geschlecht / Alter [Jahre]	m / 30		m / 39		m / 21		m / 31		w / 20						
Körpergewicht (KG) [kg]	80		75		75		72		61						
aufgenommene Mohnmenge [g]	100		175		100		200		100						
Morphingehalt absolut [mg] gemahlen	11,4		20,0		11,4		22,9		11,4						
Form der Aufnahme	Kuchen		Kuchen		Kuchen		Milchreis		Kuchen						
Morphinaufnahme [mg] korrigiert	5,0		8,8		5,0		22,9		5,0						
Morphinaufnahme/KG [µg/kg] korrigiert	62,5		117,3		66,7		318,1		82,0						
Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn	nein		nein		ja		nein		nein						
Aufnahmedauer [min]	45		45		15		28		23						
Mundspülung	nein		nein		ja		nein		ja						
Morphin im Blut [ng/ml]	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt					
1 h nach Verzehr	3,1	80,7	3,1	25,3	3,5	23,3	11,0	166	5,2	20,4					
2 h nach Verzehr	3,8	86,3	4,1	44,6	4,8	66,8	13,1	214	6,4	38,6					
4 h nach Verzehr	pos	105	4,9	66,2	5,3	122	12,8	288	6,8	24,3					
8 h nach Verzehr	pos	60,8	4,8	75,5	3,5	160	8,4	182	4,0	26,1					
24 h nach Verzehr	neg	76,7	pos	30,5	neg	75,6	pos	18,6	neg	6,7					
Morphin im Speichel [ng/ml]															
1/4 h nach Verzehr	22,6		61,1		47,6		104,0		10,8						
1/2 h nach Verzehr	11,9		17,0		22,1		60,9		8,4						
3/4 h nach Verzehr	4,7		13,9		17,0		31,2		5,3						
1 h nach Verzehr	4,8		13,8		6,2		23,1		8,1						
1 1/2 h nach Verzehr	3,6		10,0		11,1		16,9		4,0						
2 h nach Verzehr	3,1		4,3		10,1		10,5		4,0						
4 h nach Verzehr	pos		4,6		6,8		10,5		4,9						
8 h nach Verzehr	pos		4,1		3,1		5,4		pos						
Morphin im Urin [ng/ml]	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt			
unmittelbar vor Versuchsbeginn		neg	neg		neg	neg		neg	neg		neg	neg			
x h:min nach Verzehr	00:30	520	1103	01:45	9989	26908	00:45	520	1834	00:45	1389	6353	01:15	1092	5038
x h:min nach Verzehr	01:45	1018	5822	07:45	2392	156211	07:00	1018	27693	02:10	3333	30486	07:30	6105	119157
x h:min nach Verzehr	04:00	1856	19504							24:10	1548	9502	24:30	827	10599
x h:min nach Verzehr	09:30	4892	104596												
x h:min nach Verzehr	24:00	1156	15248												

Proband	P		Q		R		S		T						
Geschlecht / Alter [Jahre]	w / 22		m / 29		m / 27		m / 27		m / 25						
Körpergewicht (KG) [kg]	61		100		75		67		71						
aufgenommene Mohnmenge [g]	150		200		100		100		25						
Morphingehalt absolut [mg] gemahlen	17,1		22,9		11,4		11,4		2,9						
Form der Aufnahme	Milchreis		Milchreis		Kuchen		Kuchen		Kuchen/Milchreis						
Morphinaufnahme [mg] korrigiert	17,1		22,9		5,0		5,0		2,1						
Morphinaufnahme/KG [µg/kg] korrigiert	280,3		229,0		66,7		74,6		29,6						
Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn	ja		ja		ja		nein		ja						
Aufnahmedauer [min]	45		11		15		22		40						
Mundspülung	nein		ja		ja		ja		nein						
Morphin im Blut [ng/ml]	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt	frei	gesamt					
1 h nach Verzehr	10,2	54,8	17,3	146	5,0	35,4	3,7	13,8	pos	36,5					
2 h nach Verzehr	13,6	71,3	13,8	252	7,6	69	6,3	31,8	pos	27,8					
4 h nach Verzehr	13,6	109	11,3	294	4,9	89,5	9,4	74	pos	17,2					
8 h nach Verzehr	7,0	59,5	8,3	114	3,0	49,7	3,8	73	neg	10,7					
24 h nach Verzehr	pos	15	pos	9,3	neg	8,9	neg	14,1	neg	3,8					
Morphin im Speichel [ng/ml]															
1/4 h nach Verzehr	77,2		141,9		57,9		11,4		4,7						
1/2 h nach Verzehr	51,6		35,9		12,9		14,1		3,9						
3/4 h nach Verzehr	27,5		15,1		8,0		8,3		2,2						
1 h nach Verzehr	24,9		32,1		14,5		5,4		2,1						
1 1/2 h nach Verzehr	19,5		19,1		15,8		15,2		neg						
2 h nach Verzehr	12,6		22,7		11,8		12,6		2,9						
4 h nach Verzehr	5,9		7,8		8,9		4,7		neg						
8 h nach Verzehr	3,2		10,9		3,8		7,6		neg						
Morphin im Urin [ng/ml]	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt	Zeit x	frei	gesamt			
unmittelbar vor Versuchsbeginn		neg	neg		neg	neg		neg	neg		neg	neg			
x h:min nach Verzehr	00:40	1856	7954	02:00	20759	175954	07:00	4296	95652	02:30	1379	6114	01:00	2587	7759
x h:min nach Verzehr	02:20	3582	32911	24:00	3333	3387	09:00	3571	89299	05:00	4015	52625	03:00	1315	n.a
x h:min nach Verzehr	24:15	1474	20477				24:00	1304	20822						

Zwanzig Probanden (8 weiblich/ 12 männlich) im Alter von 19 bis 45 Jahren hatten zwischen 100 und 250 g Mohn als Kuchen und/oder als Milchreiszubereitung verzehrt. Nur ein Proband nahm lediglich 25 g Mohn zu sich (Tabelle 10, Proband T). Die Hälfte aller Probanden hielt vor Versuchsbeginn Nahrungskarenz ein, die anderen Probanden nahmen jeweils ein leichtes Frühstück ihrer Wahl maximal 2 Stunden vor Versuchsbeginn zu sich. Für die Ergebnisauswertung war es wichtig, zwischen „Kuchenessern“ und „Milchreissessern“ zu differenzieren, da diese mit der gleichen Absolutmenge von Mohnsamen unterschiedliche Mengen an Morphin

aufnahmen (siehe Kapitel 2.7.4). Die „Milchreisesser“ verzehrten gemahlene Mohn, dessen Gehalt mit 114,3 mg/kg bestimmt wurde und der direkt in den kalten Milchreis eingerührt wurde. Bei den „Kuchenessern“ mussten aufgrund von Morphinverlusten während des Backvorgangs ca. 50-84 % (gemittelt 67 %) von dem errechneten Ausgangsmorphingehalt des Mohns abgezogen werden, was zu einem errechneten Morphingehalt der Mohnsamen im Kuchen von 50,3 mg/kg führte. Da die Aufnahmeform des Mohns (Milchreis oder Kuchen) bei den Probanden A bis E im ersten Teil des Versuchs nicht dokumentiert wurde, konnte die absolute Menge der Morphinaufnahme bei diesen Probanden nicht retrospektiv bestimmt werden, so dass diese Probanden in die nachfolgende differenzierte Auswertung nicht einbezogen werden konnten.

Die Diagramme 1-3 zeigen die Morphinkonzentration im Speichel in ng/mL gegen die Zeit in h nach Ende des Mohnsamenverzehr zunächst bei allen 20 Probanden und dann differenziert für „Kuchenesser“ und „Milchreisesser“.

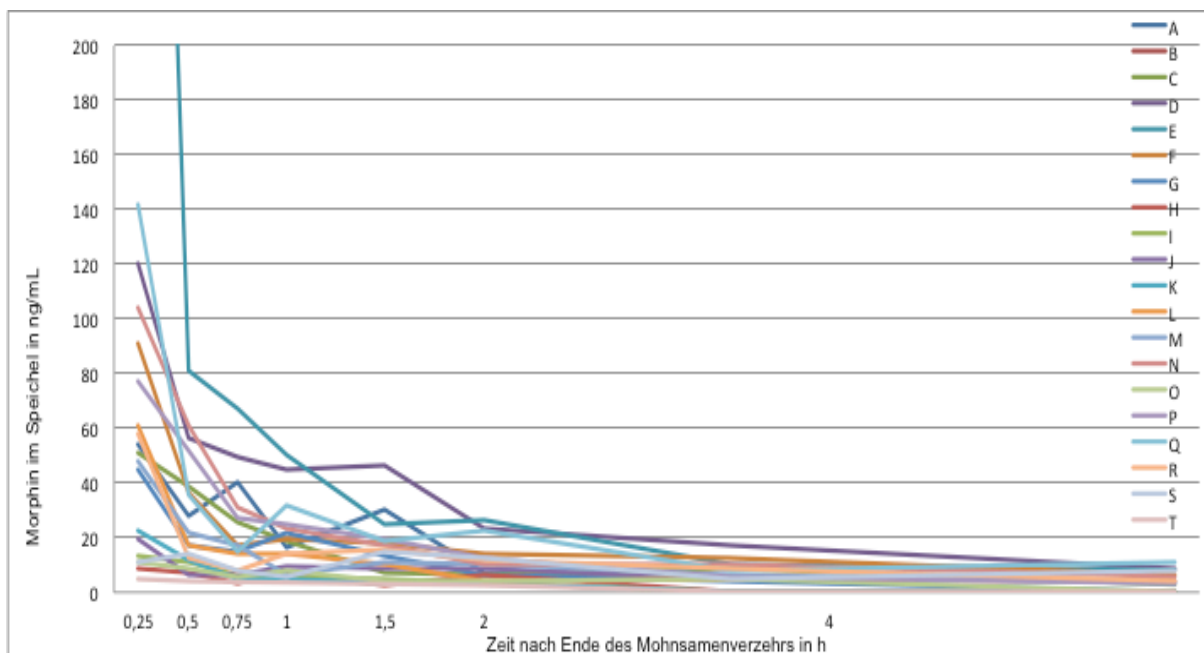


Diagramm 1: Morphinkonzentration im Speichel (ng/mL) aller Probanden A-T im zeitlichen Verlauf (h). Hinweis: Zur besseren Darstellung wurde ein maximaler Wert von 200 ng/mL auf der y-Achse gewählt, womit der 0,25 h-Wert von Proband E (627,7 ng/mL) hier nicht abgebildet ist. Auch der Endpunkt von 8 h auf der x-Achse wurde zur besseren Darstellung nicht abgebildet.

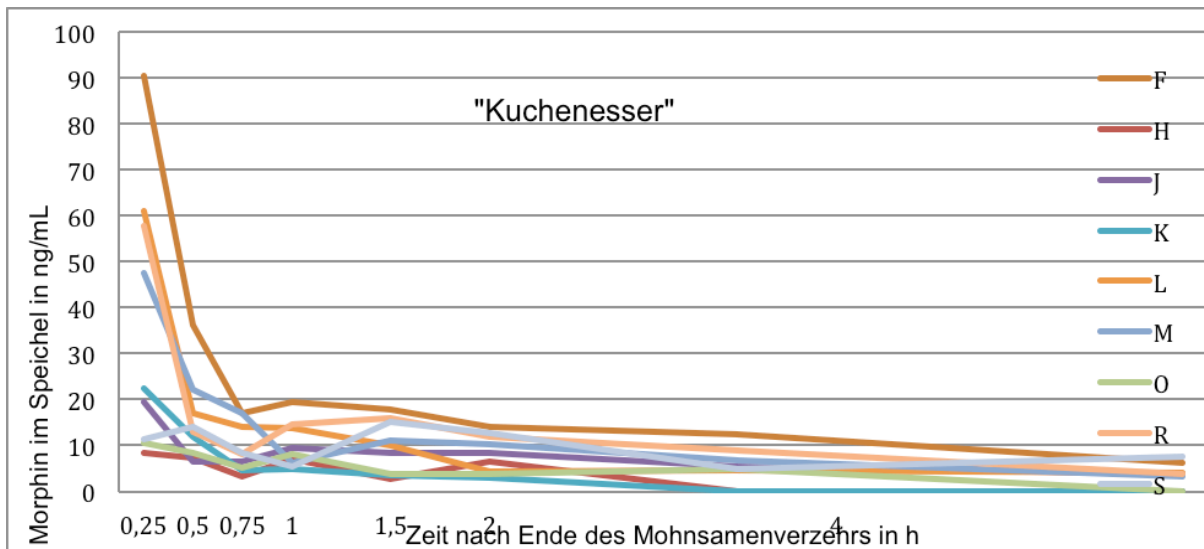


Diagramm 2: Morphinkonzentration im Speichel (ng/mL) der „Kuchenesser“ im zeitlichen Verlauf (h). Der Endpunkt von 8 h auf der x-Achse wurde zur besseren Darstellung nicht mit abgebildet.

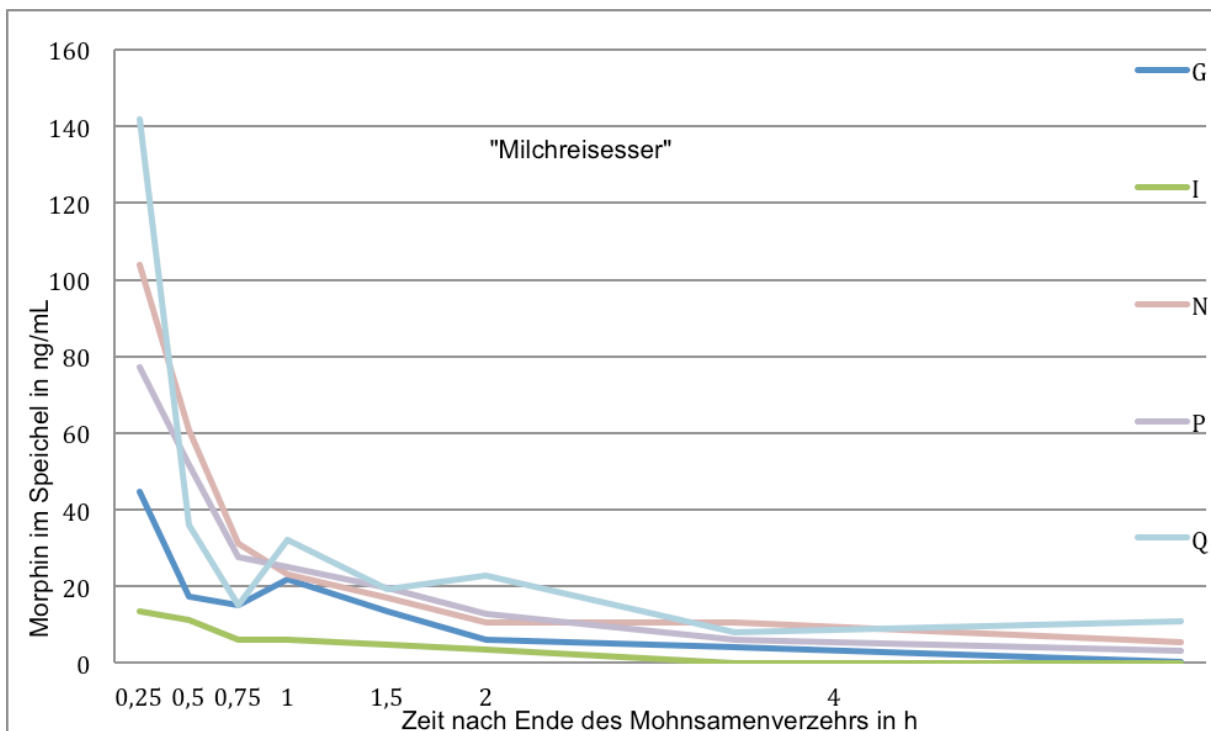


Diagramm 3: Morphinkonzentration im Speichel (ng/mL) der „Milchreisesser“ im zeitlichen Verlauf (h). Der Endpunkt von 8 h auf der x-Achse wurde zur besseren Darstellung nicht mit abgebildet.

Die höchsten Speichelkonzentrationen von Morphin (in ng/mL) wurden bei allen Probanden in der ersten Probe beobachtet, mit Ausnahme von Proband S, dessen zweite Speichelprobe eine gering höhere Konzentration als die erste Speichelprobe

aufwies. Alle Probanden bis auf Proband T, der extrem wenig Mohnsamen zu sich genommen hatte, zeigten positive Morphinspeichelkonzentrationen bis 4 h nach der Aufnahme, mit Ausnahme von zwei Probanden (G und H) sogar bis 8 h nach der Aufnahme. Eine längere Zeitspanne wurde nicht untersucht. Die allerhöchste individuelle Morphinspeichelkonzentration von 627,7 ng/mL wurde von Proband E, der keine Mundspülung vorgenommen hatte, erreicht. Da es sich um einen Probanden aus dem ersten Teilversuch handelte, wurde die Aufnahmeform nicht dokumentiert. Die zweithöchste Konzentration von 172,6 ng/mL wurde von Proband B erreicht, der ebenfalls keine Mundspülung vorgenommen hatte. Die dritthöchste Konzentration von 141,9 ng/mL erreichte Proband Q, ein Milchreisesser, der seinen Mund vor Speichelabgabe gespült hatte. Tendenziell ließ sich eine Abnahme der Morphinkonzentration im Speichel mit der Zeit nach Verzehr beobachten. Auffallend war weiterhin bei vielen Probanden ein starker Abfall der Morphinkonzentration in den ersten 45 min, was sowohl bei der Gesamtdarstellung als auch bei den Einzelverläufen der „Milchreisesser“ und „Kuchenesser“ zu sehen ist.

Im Folgenden werden die Speichelkonzentrationen von Morphin ins Verhältnis zu den oral aufgenommenen absoluten (mg) und relativen ($\mu\text{g}/\text{kg KG}$) Morphinmengen gesetzt. Weiterhin werden Vergleiche zu den parallel bestimmten Serumkonzentrationen von Morphin gezogen, die im Rahmen einer anderen Dissertation ausgewertet wurden (Leinenkugel 2010). Bei diesen Blutproben lagen alle Spitzenwerte nach 1, 2 oder 4 h vor, so dass es beim Blut sinnvoll war, „4 h-Mittelwerte“ aus den Konzentrationen nach 1, 2 und 4 h zu berechnen. Diese „4 h-Mittelwerte“ konnten ähnlich wie die AUC („area under the curve“) als Maß für die aufgenommene Morphinmenge betrachtet werden (Leinenkugel 2010). Zur besseren Vergleichbarkeit wurden beim Speichel ebenfalls alle Werte zwischen 1 und 4 h (d.h. für 1, 1,5, 2 und 4 h) gemittelt. Dieses Vorgehen scheint beim Speichel ebenso sinnvoll, da nur bei 2 Probanden (Proband Q und S), die Morphinspeichelkonzentrationen nach 8 h die Morphinspeichelkonzentrationen nach 4 h leicht überschritten. Die „4 h-Mittelwerte“ für freies Morphin sind in Tabelle 11 zusammen mit der absolut und relativ zum Körpergewicht aufgenommenen Morphinmenge dargestellt. Bei Proband T, der nur 25 g Mohnsamen verzehrt hatte, lagen die Speichelkonzentrationen für Morphin nach $\frac{3}{4}$ und 1 h zwischen der Nachweis- und Bestimmungsgrenze (zwischen 0,74 und 2,82 ng/mL). In diesem Fall wurden ausnahmsweise die (vom Zahlenwert relativ unsicheren) gemessenen Werte

gemittelt (vgl. Anhang E) und mit ca. angegeben.

Tabelle 11: „4 h-Mittelwerte“ für Morphin im Speichel und für freies Morphin im Serum sowie absolut und relativ zum Körpergewicht aufgenommene Morphinmenge für die einzelnen Probanden und Form der Aufnahme (K=Kuchen, M=Milchreis)

Proband	Form der Aufnahme	„4 h-Mittelwert“ für Morphin im Speichel (ng/mL)	„4 h-Mittelwert“ des freien Morphins im Serum (ng/mL)	Korrigierte absolute Morphin-aufnahme (mg)	Relative (pro kg/KG) Morphin-aufnahme (µg/kg)
F	K	15,9	4,5	5,0	59,2
G	M	11,3	9,7	14,3	190,7
H	K	5,5	5,4	5,0	83,3
I	M	4,1	10,8	17,1	263,1
J	K	7,9	7,6	5,0	71,4
K	K	3,3	3,4	5,0	62,5
L	K	8,2	4,1	8,8	117,3
M	K	8,6	4,5	5,0	67,7
N	M	15,2	12,3	22,9	318,1
O	K	5,2	6,1	5,0	82,0
P	M	15,7	12,3	17,1	280,3
Q	M	20,4	14,1	22,9	229,0
R	K	12,8	5,8	5,0	66,7
S	K	9,4	6,5	5,0	74,6
T	K/M	ca. 1,3	ca. 2,0	2,1	29,6

3.3 Speichelkonzentration von Morphin im Verhältnis zur absolut aufgenommenen Morphinmenge

Da nicht klar war, ob die gemessenen Morphinspeichelkonzentrationen auf Kontamination der Mundhöhle oder auf Diffusionsprozessen bei der Speichelbildung beruhten, wurden unterschiedliche Darstellungen gewählt und deren Korrelation betrachtet. Im Diagramm 4 wurden die Morphinkonzentrationen im Speichel 0,25 h nach Mohnsamenverzehr auf die absolut aufgenommene Morphinmenge bezogen. Es ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $R^2 = 0,4571$.

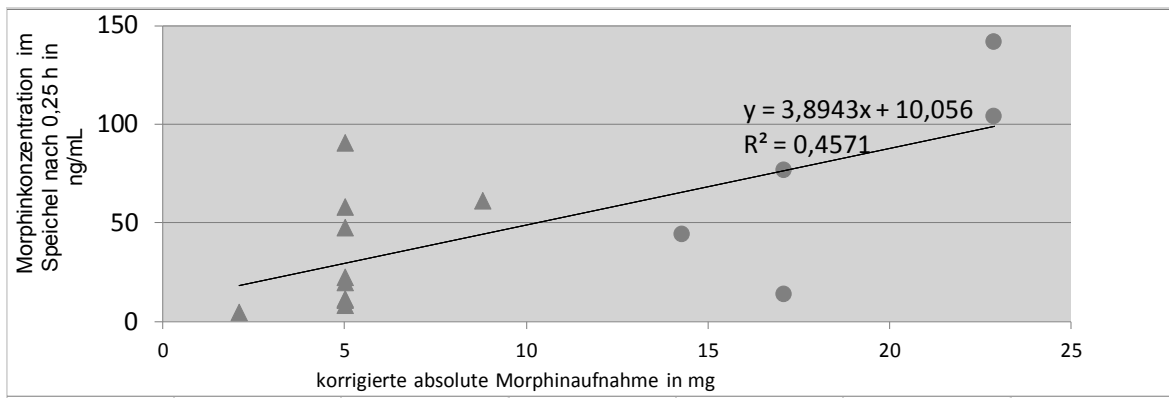


Diagramm 4: Morphinkonzentration im Speichel nach 0,25 h gegen die korrigierte absolute Morphinaufnahme; ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Im nächsten Diagramm 5 sind die Werte der Morphinkonzentration im Speichel nach einer Stunde gegen die absolut aufgenommene Morphinmenge dargestellt. Nach einer Stunde ist mit größerer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass die Kontamination der Mundhöhle einen untergeordneten Einfluss hat. Es zeigte sich mit $R^2 = 0,5701$ eine bessere Proportionalität der zwei Größen.

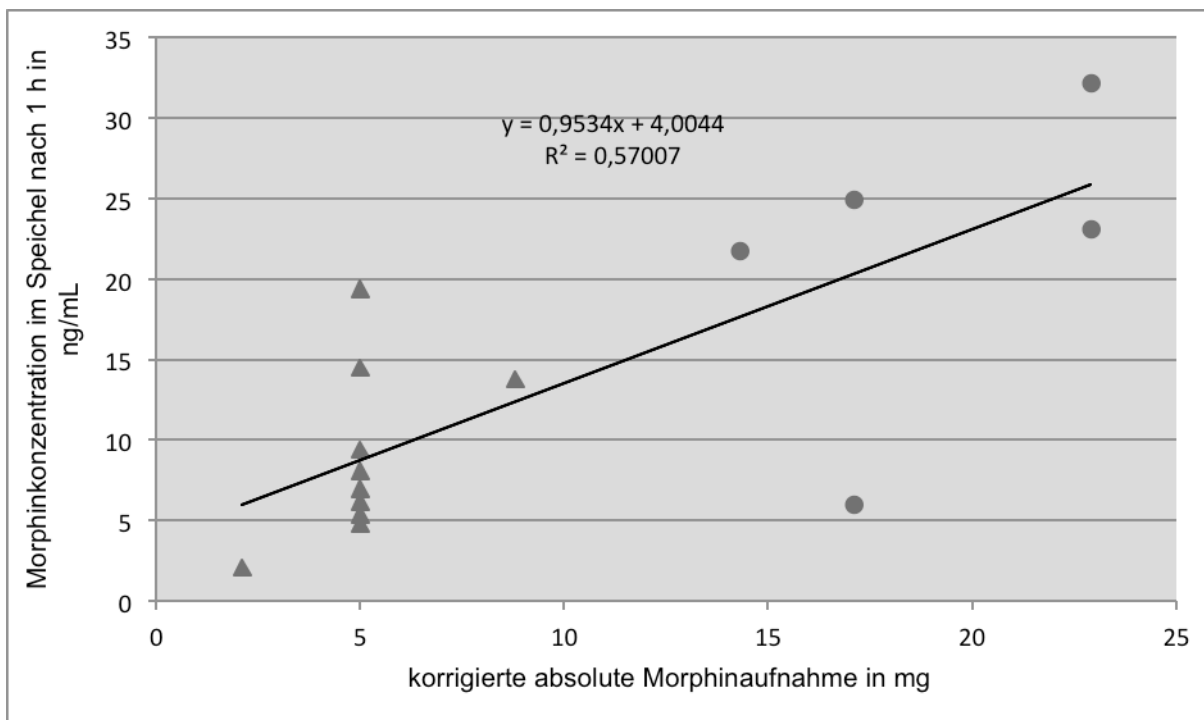


Diagramm 5: Morphinkonzentration im Speichel 1 h nach Mohnsamensverzehr gegen die korrigierte absolute Morphinaufnahme; ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Um eine vergleichbare Darstellung wie beim Blut zu erhalten, wurden außerdem die „4 h-Mittelwerte“ im Speichel gegen die absolut aufgenommene Morphindosis aufgetragen (Diagramm 6).

Dies zeigte mit einem Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0,3675$ eine schlechtere Proportionalität als bei der Betrachtung der Morphinkonzentration im Speichel zu Einzelzeitpunkten.

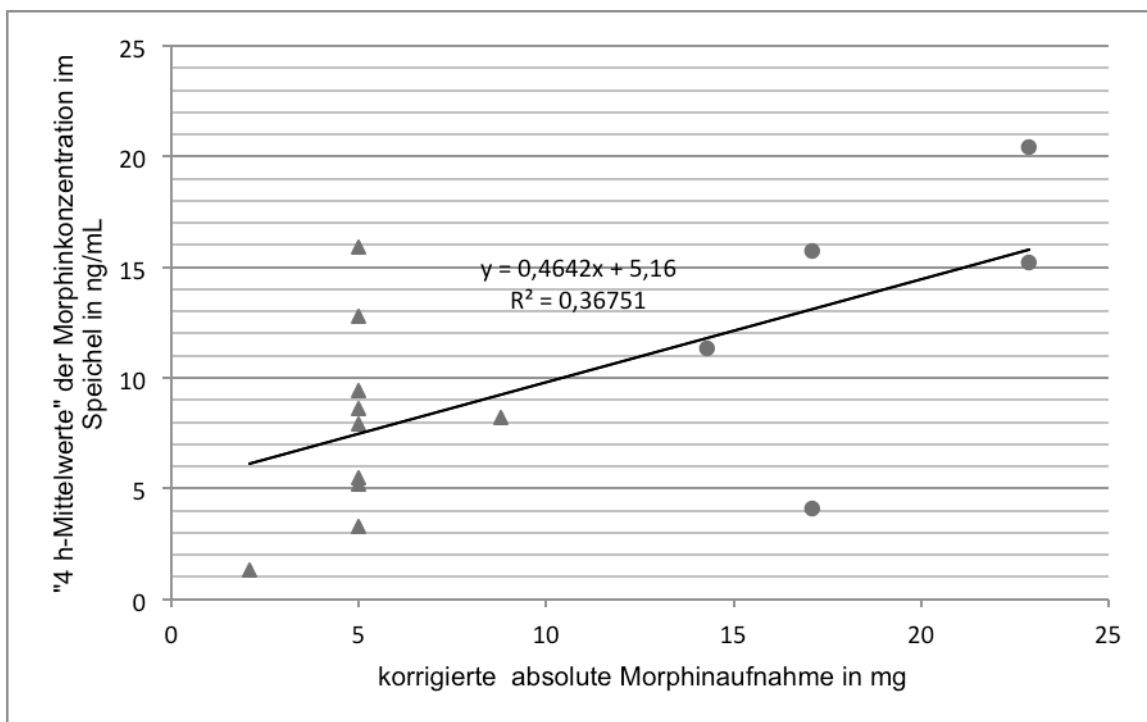


Diagramm 6: Morphinkonzentration im Speichel („4 h-Mittelwerte“) gegen die korrigierte absolute Morphinaufnahme; ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Obwohl die „Milchreisesser“ unter Einbeziehung der küchentechnischen Vorbereitung absolut wesentlich mehr Morphin als die „Kuchenesser“ aufgenommen und im Durchschnitt mehr Morphin im Speichel hatten, ließen sich die beiden Aufnahmeformen bei den einzelnen Probanden anhand der Speichelkonzentrationen nicht unterscheiden, der überlappende Bereich war zu groß.

3.4 Speichelkonzentration von Morphin im Verhältnis zur relativ zum Körpergewicht aufgenommenen Morphindosis

Im Hinblick auf die großen Differenzen des Körpergewichts der Probanden (zwischen 56 und 100 kg) wurde die individuell aufgenommene Morphindosis unter Berücksichtigung der Vorbehandlung der Mohnsamen auf das Körpergewicht des

jeweiligen Probanden bezogen und als μg Morphin/kg Körpergewicht (KG) angegeben. Mit dieser errechneten Größe wurden die gleichen Betrachtungen wie unter Punkt 3.3 angestellt. Zunächst wurden die jeweiligen Morphinkonzentrationen im Speichel 0,25 h nach Mohnsamenverzehr gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht aufgetragen (Diagramm 7). Es ergab sich ein Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0,2786$.

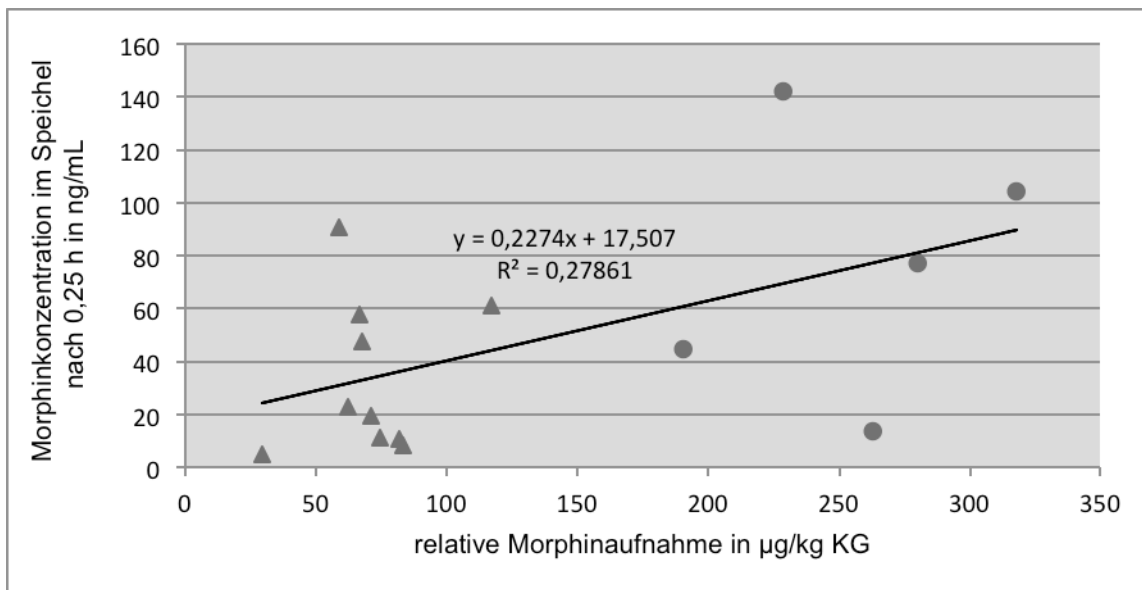


Diagramm 7: Morphinkonzentration im Speichel 0,25 h nach Mohnsamenverzehr gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht; \blacktriangle „Kuchenesser“, \bullet „Milchreisesser“

Dann wurden die Werte der Morphinkonzentrationen im Speichel nach einer Stunde gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht dargestellt (Diagramm 8). Es fand sich ein R^2 von 0,4212.

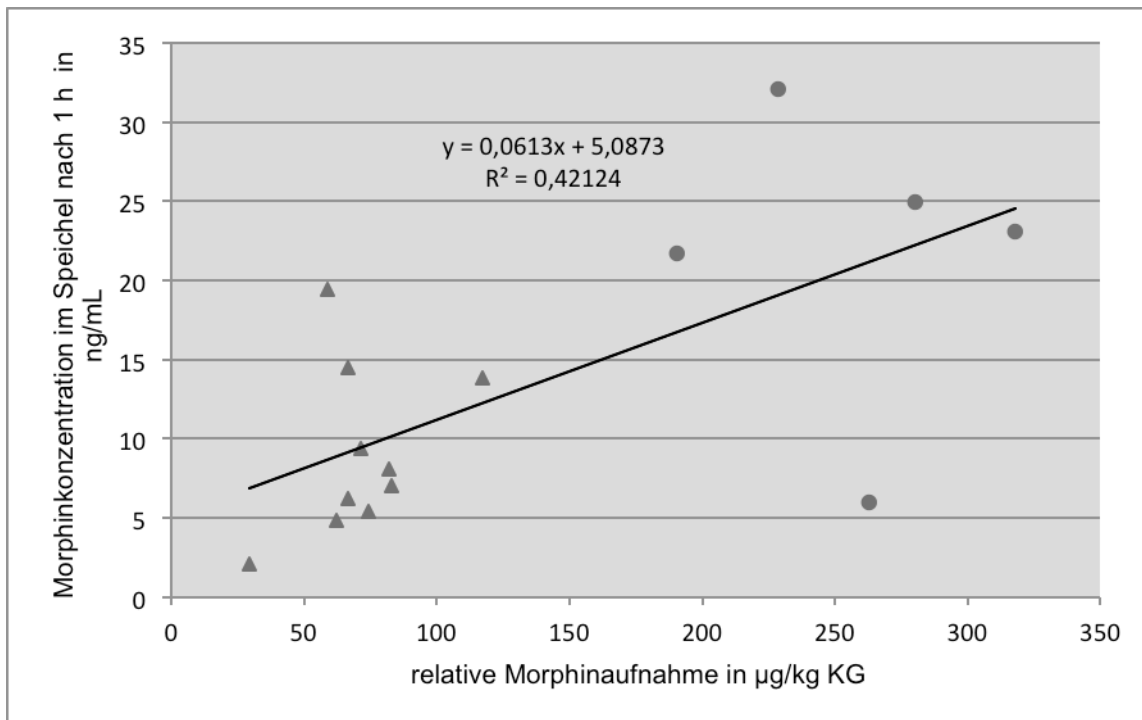


Diagramm 8: Morphinkonzentration im Speichel 1 h nach Mohnsamenverzehr gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht; ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Abschließend wurden die „4 h-Mittelwerte“ der Morphinkonzentrationen des jeweiligen Probanden gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht aufgezeichnet (Diagramm 9).

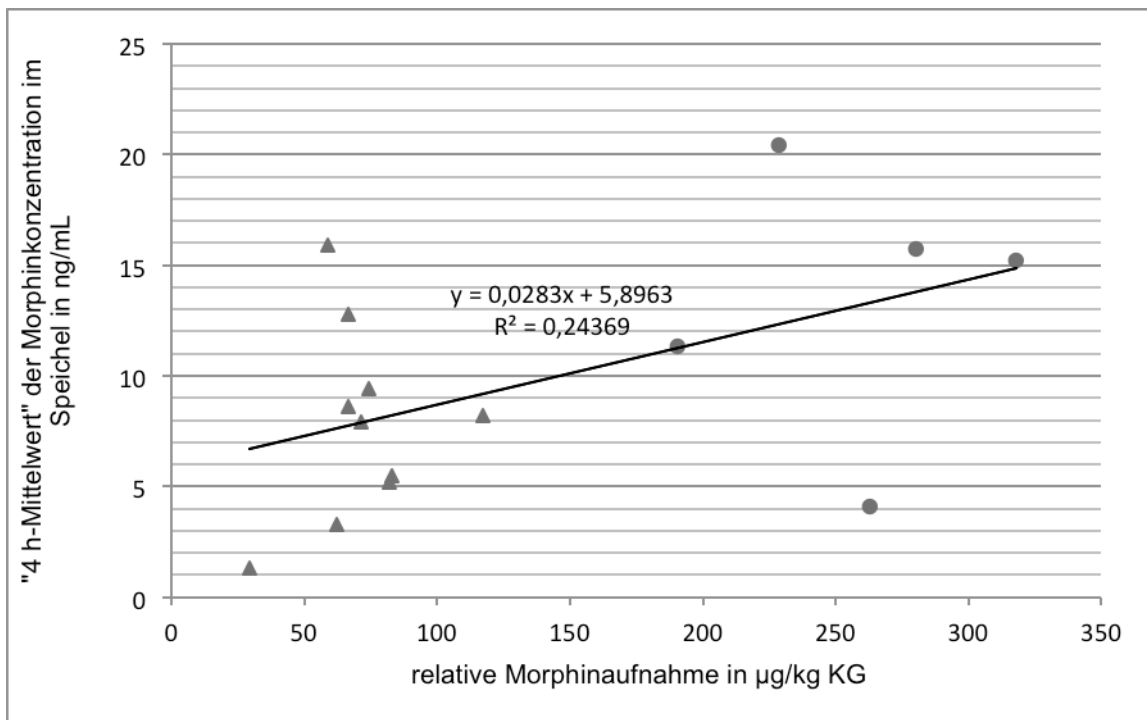


Diagramm 9: Morphinkonzentration im Speichel („4 h-Mittelwerte“) gegen die relative Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht; ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Auch hier zeigte sich mit einem R^2 von 0,2437 eine schlechtere Proportionalität zwischen den „4 h-Mittelwerten“ im Speichel und der relativen Morphinaufnahme pro kg Körpergewicht als bei der Betrachtung der Morphinkonzentrationen im Speichel zu Einzelzeitpunkten. Der Bezug der Morphinkonzentration im Speichel auf die konsumierte Menge pro kg Körpergewicht brachte in keinem Fall eine bessere Proportionalität als der Bezug auf die absolute Morphinaufnahme. Obwohl die „Milchreisesser“ im Durchschnitt, auch unter Berücksichtigung des Körpergewichts, wesentlich mehr Morphin aufgenommen hatten und im Durchschnitt auch höhere Speichelkonzentrationen aufwiesen, ließen sich die einzelnen „Milchreisesser“ und die einzelnen „Kuchenesser“ anhand ihrer Speichelkonzentrationen nicht eindeutig einer dieser Gruppen zuordnen.

3.5 Zusammenhang zwischen Morphinkonzentration im Speichel und Konzentration von freiem Morphin im Serum

In Diagramm 10 sind die freien Morphinkonzentrationen im Serum als „4 h-Mittelwerte“ gegen die korrigierte relative Morphinaufnahme in $\mu\text{g}/\text{kg KG}$ dargestellt (vgl. Leinenkugel 2010).

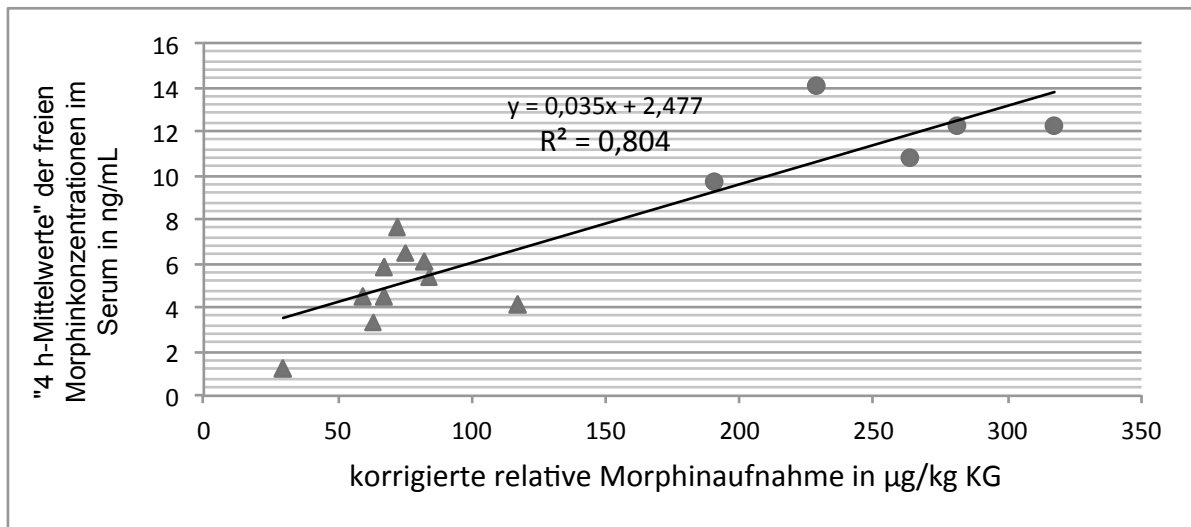


Diagramm 10: Konzentrationen von freiem Morphin im Serum („4 h-Mittelwerte“ in ng/mL) gegen die korrigierte relative Morphinaufnahme (in $\mu\text{g}/\text{kg KG}$); ▲ „Kuchenesser“, ● „Milchreisesser“

Hier zeigte sich mit $R^2 = 0,804$ eine etwas bessere Proportionalität als beim Speichel. Im Folgenden werden die Speichelmorphinkonzentrationen und die zeitlich zugehörigen Konzentrationen von freiem Morphin im Serum betrachtet, um eventuelle Zusammenhänge beider Messwerte darzustellen. Hierzu wurden in Diagramm 11 alle korrespondierenden Messwerte für 1, 2, 4 und 8 h der Serum- und Speichelmorphinkonzentrationen dargestellt. Es zeigte sich, dass keine direkte Proportionalität zwischen diesen zwei Größen bestand. Mit $R^2 = 0,18683$ war lediglich ein Trend zu erkennen.

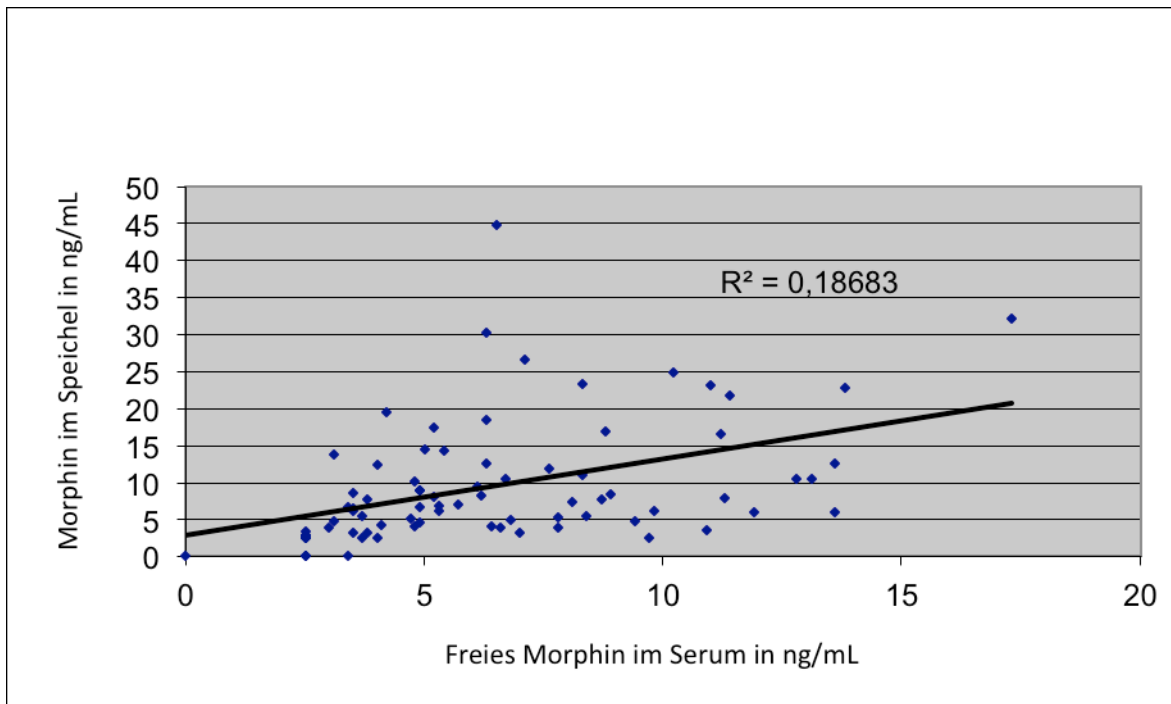


Diagramm 11: Konzentrationen von Morphin im Speichel gegen Konzentrationen von freiem Morphin im Serum

Auch wenn für die Speichel- und Serumkonzentrationen die „4 h-Mittelwerte“ der Morphinkonzentrationen benutzt wurden, zeigte sich keine direkte Proportionalität dieser zwei Größen. R^2 betrug lediglich 0,127 (Diagramm 12).

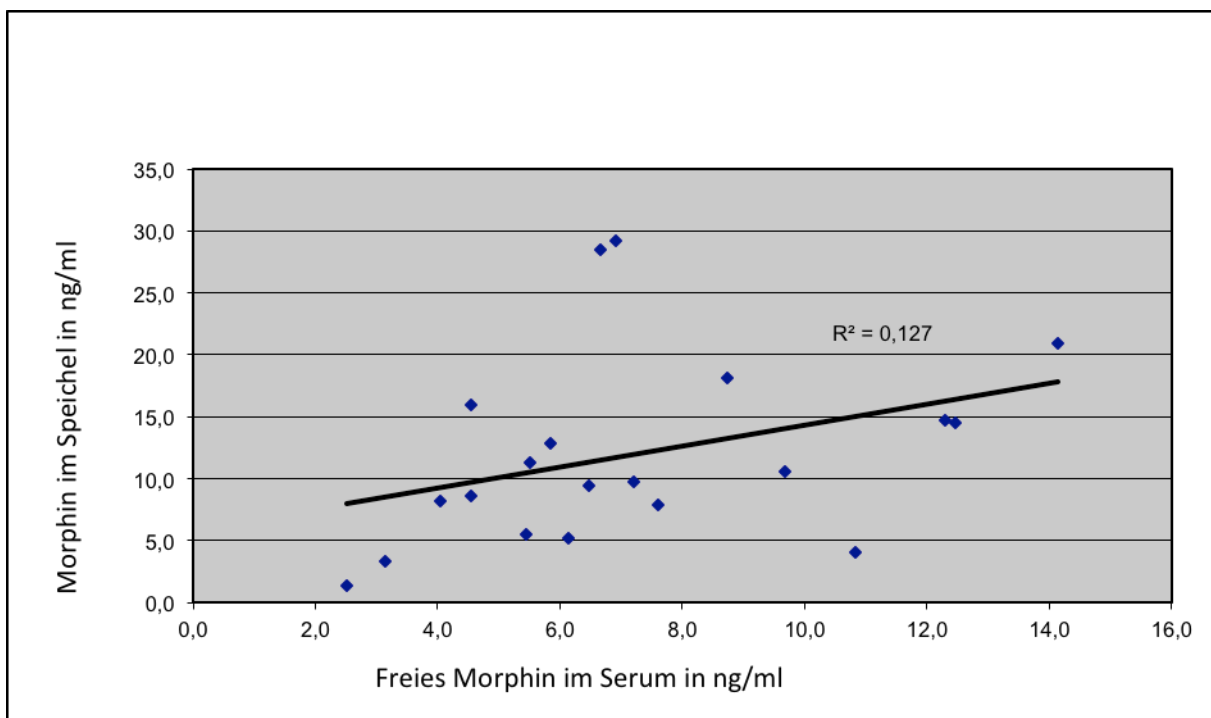


Diagramm 12: „4 h-Mittelwerte“ der Konzentrationen von Morphin im Speichel gegen „4 h-Mittelwerte“ der Konzentrationen von freiem Morphin im Serum

Auch wenn keine direkte Proportionalität der Werte im Blut und Speichel zu beobachten war, so stimmten die qualitativen Aussagen über ein positives oder negatives Ergebnis sehr gut überein. Von den 80 zeitlich korrespondierenden Probenpaaren ließen sich nur eine Probe im Speichel und eine im Serum nicht auswerten, so dass die Ergebnisse von 78 Wertepaaren gegenübergestellt werden konnten. Proband T war nach 8 h in beiden Untersuchungsmaterialien negativ und nach 4 h im Serum schwach positiv und im Speichel negativ. Zwei weitere Probanden (G und H) hatten nach 8 h sehr kleine Konzentrationen von freiem Morphin im Serum, waren aber in den zugehörigen Speichelproben negativ. Die restlichen Proben waren jeweils im Serum und Speichel positiv. Somit war selbst nach 8 h in 17 Fällen sowohl im Blut als auch im Speichel noch Morphin nachweisbar.

3.6 Ergebnisse der Untersuchung mit dem Dräger DrugTest®-System

Alle Speichelproben der Probanden F bis T wurden mit dem Dräger DrugTest®-System auf Opiate untersucht. Hierzu wurden die eingefrorenen Probenröhrchen aufgetaut und geschüttelt bevor die Speichelprobennehmer in diese eingetaucht wurden. Insgesamt wurden hierbei 120 Proben ausgewertet, wovon 2 (1,6 %) als nicht auswertbar (n.a.) eingestuft wurden. Bei 118 gültigen Proben, gab es 114 positive Proben (96,6 %) und 4 negative Proben (3,4 %). Eine Übersicht der Ergebnisse für die einzelnen Probanden ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Einzelergebnisse des Dräger DrugTest®-Systems für die Speichelproben der Probanden F bis T. Alle positiven Ergebnisse sind mit +, negativ gemessene Proben mit – und nicht auswertbare Proben mit n.a. gekennzeichnet.

Zeit nach Mohnsamenverzehr	Proband														
	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
¼ Std	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
½ Std	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
¾ Std	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 Std	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
1,5 Std	+	+	-	+	+	+	-	n.a.	+	+	+	+	+	+	+
2 Std	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 Std	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	n.a.

Proband L nach 1, 1,5, und 4 h und Proband H nach 1,5 h wiesen negative Messergebnisse im Dräger DrugTest®-System auf. Die Proben von Proband M nach 1,5 h und Proband T nach 4 h waren nicht auswertbar. Sonst ergaben sich für alle Proben positive Messergebnisse, auch nach Speichelsammlung direkt nach Mundspülung (Proband H, M, O, Q, R und S).

Sensitivität und Spezifität

Von den 118 im Dräger DrugTest®-System auswertbaren Speichelproben konnten 117 Proben auch mittels GC/MS ausgewertet werden. Die „richtig positiven“ und „richtig negativen“ beziehungsweise die „falsch positiven“ und „falsch negativen“ Ergebnisse der gültigen Proben wurden in eine sogenannte Vier-Feldertafel eingetragen (Tabelle 12), aus der – bei entsprechend angelegtem Versuchsdesign – die Spezifität und Sensitivität eines Tests ermittelt wird.

Tabelle 12: Vergleich der Ergebnisse des Speichel Dräger DrugTest®-Systems mit den Ergebnissen der GC/MS-Untersuchung im Speichel anhand einer Vier-Feldertafel

	Positiv Speichel (GC/MS)	Negativ Speichel (GC/MS)
Positiv Speichel (Dräger DrugTest®)	109 <i>(richtig positiv)</i>	4 <i>(falsch positiv)</i>
Negativ Speichel (Dräger DrugTest®)	4 <i>(falsch negativ)</i>	0 <i>(richtig negativ)</i>

Als „richtig“ wird ein Vortestergebnis bezeichnet, das sich mit einem beweissicheren Verfahren, wie z.B. der GC/MS, bestätigen lässt. Die Sensitivität berechnet sich aus den „richtig positiven“ Proben im Verhältnis zur Summe von „richtig positiven“ und „falsch negativen“ Proben, in diesem Falle:

$$\text{Sensitivität} = 109 / (109 + 4) = 96 \%$$

Mit einer Sensitivität von 96 % besteht hierbei eine sehr gute Korrelation der Ergebnisse des Dräger DrugTest®-Systems mit denen der GC/MS im Speichel.

Die Spezifität berechnet sich aus den „richtig negativen“ Proben im Verhältnis zur Summe von „richtig negativen“ und „falsch positiven“ Proben.

Aufgrund des Versuchsdesigns lagen keine richtig negativen Ergebnisse vor, so dass keine Aussage über die Spezifität des Tests gemacht werden kann.

3.7 Ergebnisse der Urinalysen

Aus Voruntersuchungen zu dieser Studie war hervorgegangen, dass sich schon kurz nach Mohnsamenverzehr sehr hohe Konzentrationen an freiem und gebundenem Morphin im Urin nachweisen lassen. Die Einzelergebnisse der jeweiligen Probanden für freie- und Gesamtmorphinkonzentration im Urin sind mit in Tabelle 10 aufgeführt. Alle Urinproben vor Aufnahme der Mohnsamen waren negativ auf Morphin und Codein, was eine Beeinflussung des Versuchs durch eine vorangegangene

Medikamenten-, Drogen- oder Mohnaufnahme ausschließt. Nach Mohnaufnahme waren alle Urinproben positiv auf freies Morphin und Gesamtmorphin, wobei der längste im Rahmen des Versuchs überblickte Zeitraum bei dem Probanden O bei 24,5 h lag. Die höchste nachgewiesene Konzentration an freiem Morphin im Urin lag bei ca. 20 800 ng/mL. Diese Probe wies ca. 176 000 ng/mL an Gesamtmorphin auf (Proband Q 2 h nach Verzehr). Die höchste Gesamtmorphinkonzentration von ca. 220 000 ng/mL lag bei Proband C nach 7 h vor. Die niedrigste Konzentration an freiem Morphin im Urin wiesen die Probanden K und M 30 bzw. 45 min nach Verzehr mit jeweils 520 ng/mL auf. Die zugehörigen Gesamtmorphinkonzentrationen betragen ca. 1 100 ng/mL bei Proband K und ca. 1 830 ng/mL bei Proband M. Ein vergleichbar niedriger Wert von 540 ng/mL für freies Morphin fand sich bei Proband H nach 24 h; hier lag die Gesamtmorphinkonzentration mit ca. 6 300 ng/mL deutlich höher als bei den beiden anderen Probanden, bei denen der niedrige Wert am Beginn der Ausscheidung erhalten wurde. Damit lagen bei dem vorliegenden Versuch die Höchstkonzentrationen von freiem Morphin und Gesamtmorphin im oberen Bereich der in der Literatur bei anderen Studien beschriebenen Werte. Weitere Auswertungen erschienen für die Urinproben nicht sinnvoll, da durch verschiedene Flüssigkeitsaufnahmen in der Zeit nach der Morphinaufnahme sehr unterschiedlich verdünnte Urinproben vorlagen.

3.8 Symptomatik

Die im Versuch geschilderte Symptomatik nach dem Mohnsamenverzehr stellte sich wie folgt dar: Die niedrigste Morphindosis, bei der über unerwünschte Wirkungen, nämlich Kraftlosigkeit und Müdigkeit, berichtet wurde, lag bei Proband T vor, der nur 25 g Mohnsamen essen wollte. Er hatte eine Morphinaufnahme von nur ca. 2,1 mg absolut und ca. 29,6 µg/kg KG. Aufgrund der niedrigen Mengen ist anzuzweifeln, ob die Symptome auf die Wirkung von Morphin zurückzuführen sind.

Es nahmen 8 Versuchsteilnehmer 5,0 mg Morphin absolut auf (100 g Mohnsamen). Davon stellten Proband J und O kein Unwohlsein fest, von den restlichen 6 Probanden beschrieben 5 (Proband F, H, M, S und R) Übelkeit ohne Erbrechen, wobei Proband F noch über Mundtrockenheit (Xerostomie) klagte. Weiterhin bemerkte ein Proband (K) Müdigkeit, Kopfschmerzen sowie Schwindel bei den Blutentnahmen. Die meisten der oben beschriebenen Symptome wie Völlegefühl, Übelkeit und Müdigkeit konnten nicht als spezifische Morphinwirkungen gedeutet

werden, da sie auch allein durch den Verzehr großer Mengen fetthaltiger Lebensmittel verursacht worden sein könnten.

Jedoch könnte zumindest die Mundtrockenheit von Proband F direkt mit der Morphinaufnahme in Verbindung stehen.

Bei der nächsthöheren Mohnsamenaufnahmemenge von 115 g bemerkte Proband A keine unerwünschten Wirkungen.

Bei noch größerer Mohnsamenaufnahme bemerkten die drei Probanden G (125 g), D (180 g) und B (200 g) keine Wirkung an sich. Mit einer Mohnsamenaufnahme von 200 g spürte Proband C leichte Benommenheit, zunehmende Übelkeit und 8 h nach dem Verzehr Erbrechen und Schluckauf.

Während Proband E mit einer Mohnsamenaufnahme von 250 g keine Wirkungen empfand, bemerkte Proband I mit 150 g aufgenommenen Mohnsamen (17,1 mg Morphin absolut) 7 h nach Aufnahme Kopfschmerzen im Stirnbereich, leichte Übelkeit, Müdigkeit und Kreislaufschwäche. Ein weiterer Proband P mit gleich großer Morphinbelastung von 17,1 mg (150 g Mohnsamen) klagte über Bauchschmerzen und Übelkeit.

Auch die Probanden L, N und Q zeigten morphinbedingte Effekte: Proband L (175 g Mohnsamen, 8,8 mg Morphin absolut) beschrieb leichte Übelkeit, Benommenheit sowie anhaltende Mundtrockenheit bis 10 h nach Aufnahme. Proband N (200 g Mohnsamen, 22,9 mg Morphin absolut) berichtete über steigende Müdigkeit bis 9 h nach Aufnahme, leichte Blickfeldeinschränkung und eine schwere Zunge. Bei Proband Q (200 g Mohnsamen, 22,9 mg Morphin absolut) wurde eine Stunde nach Verzehr der höchste freie Morphinwert im Blut mit 17,3 ng/mL gemessen. Die korrespondierende Speichelkonzentration lag mit 32,1 ng/mL für diesen Zeitpunkt ebenfalls im hohen Bereich. Er hatte unmittelbar nach der Aufnahme enge Pupillen und starkes Schwitzen gezeigt sowie neben Müdigkeit und Antriebslosigkeit eine sich nach 6 Stunden entwickelnde starke Übelkeit.

Der Versuch zeigt die große Schwankungsbreite der individuellen Reaktionen auf Mohnsamen- bzw. Morphinaufnahmen. Dennoch ist tendenziell eine dosisabhängige Zunahme des Schweregrades der Effekte zu erkennen (z. B. von Müdigkeit bis hin zur Benommenheit, von Übelkeit bis hin zum Erbrechen).

4. Diskussion

Der Genuss von Alkohol und Drogen im Straßenverkehr oder am Arbeitsplatz kann weitreichende Konsequenzen haben. Werden bei einer Straßenverkehrskontrolle „berauschende“ Mittel im Blut festgestellt und gleichzeitig Ausfallerscheinungen, die sich auf den Konsum zurückführen lassen, so kann eine Bestrafung nach § 316 StGB oder - bei gleichzeitiger Gefährdung anderer - nach § 315c StGB erfolgen. Es kann zu Geldstrafen oder sogar Haftstrafen und Führerscheineintzug kommen. Bei Nachweis bestimmter Drogen oder einer Blutalkoholkonzentration von 0,5 ‰ oder mehr kann auch ohne Ausfallerscheinungen eine Sanktionierung nach § 24a StVG erfolgen. Neben einer Geldbuße und Punkten in der Verkehrssünderkartei wird ein Fahrverbot auferlegt. Zusätzlich prüfen die Führerscheinstellen bei nachgewiesenem Alkohol-, Drogen- oder Medikamenteneinfluss die charakterliche Eignung und entziehen häufig die Fahrerlaubnis. Um dann die Fahrerlaubnis zurückzuerlangen, muss man sich einer Medizinisch-Psychologischen Untersuchung (MPU) unterziehen und mit Abstinenzkontrollen beweisen, dass man den Konsum eingestellt hat. Abstinenzkontrollen werden neben der Nachweiserbringung in einer MPU und als Arbeitsplatzkontrolle auch im Rahmen einer Substitutionsbehandlung, einer Kontrolle der Drogenentzugsbehandlung und bei der Überwachung von Bewährungsaufgaben verlangt. Dazu steht neben Blut, Urin und Haaren auch Speichel als Untersuchungsmaterial zur Verfügung. Speichel ist die biologische Matrix des Körpers, die vergleichbare qualitative Ergebnisse zum Blut liefern kann (Samyn und van Haeren 2000). Hierbei sollte Speichel allerdings nicht als Ersatz der anderen Untersuchungsmaterialien betrachtet werden, da sich zum Beispiel mit einer Haaranalyse bei günstigen Bedingungen ein Zeitraum von mehreren Monaten überblicken lässt. Sollen allerdings kürzere Zeiträume begutachtet werden, bieten sich eher Blut, Urin und Speichel als Untersuchungsmaterial an. Wie schon in Punkt 2.3 erwähnt, ergeben sich dabei gewisse Vorteile der Speicheluntersuchung gegenüber der Blut- und Urinanalyse.

Schon 1997 untersuchten Cone und Jenkins die pharmakokinetischen Eigenschaften von Morphin im Speichel und im Serum nach oraler Aufnahme von Morphin. Prinzipiell muss davon ausgegangen werden, dass Morphin auf zwei Wegen in den Mundraum gelangen kann und dann im Speichel nachweisbar wird. So kann es entweder als Kontamination nach oraler Aufnahme von morphinhaltigen Stoffen im Mundraum und Speichel zurückbleiben oder Morphin und seine Metabolite gelangen

bei der Speichelbildung durch passive Diffusion aus dem Blut in den Speichel (Cone und Jenkins 1997). Studien von Schramm et al. sowie von Cone zeigten, dass Morphin auch nach Aufnahme intravenösen Heroins im Speichel vorkommt, was ausschließt, dass Morphin ausschließlich durch Kontamination in den Speichel gelangt (Schramm et al. 1992, Cone 1993).

Bei der vorliegenden Untersuchung hatten 9 Probanden (A, C, D, H, M, O, Q, R, S) eine Mundspülung und 11 Probanden (B, E, F, G, I, J, K, L, N, P, T) keine Mundspülung vor der ersten Speichelabgabe durchgeführt. Es ließ sich erkennen, dass bei beiden Gruppen die Speichelspitzenkonzentrationen von Morphin bei der ersten Probe nach 15 min erreicht wurden, lediglich Proband S hatte seine Spitzenkonzentration im Speichel erst nach 1,5 h. Danach folgte bei vielen Probanden ein relativ starker Abfall der Konzentrationen von Morphin im Speichel bis 45 min nach Mohnsamenaufnahme (Diagramme 13 und 14).

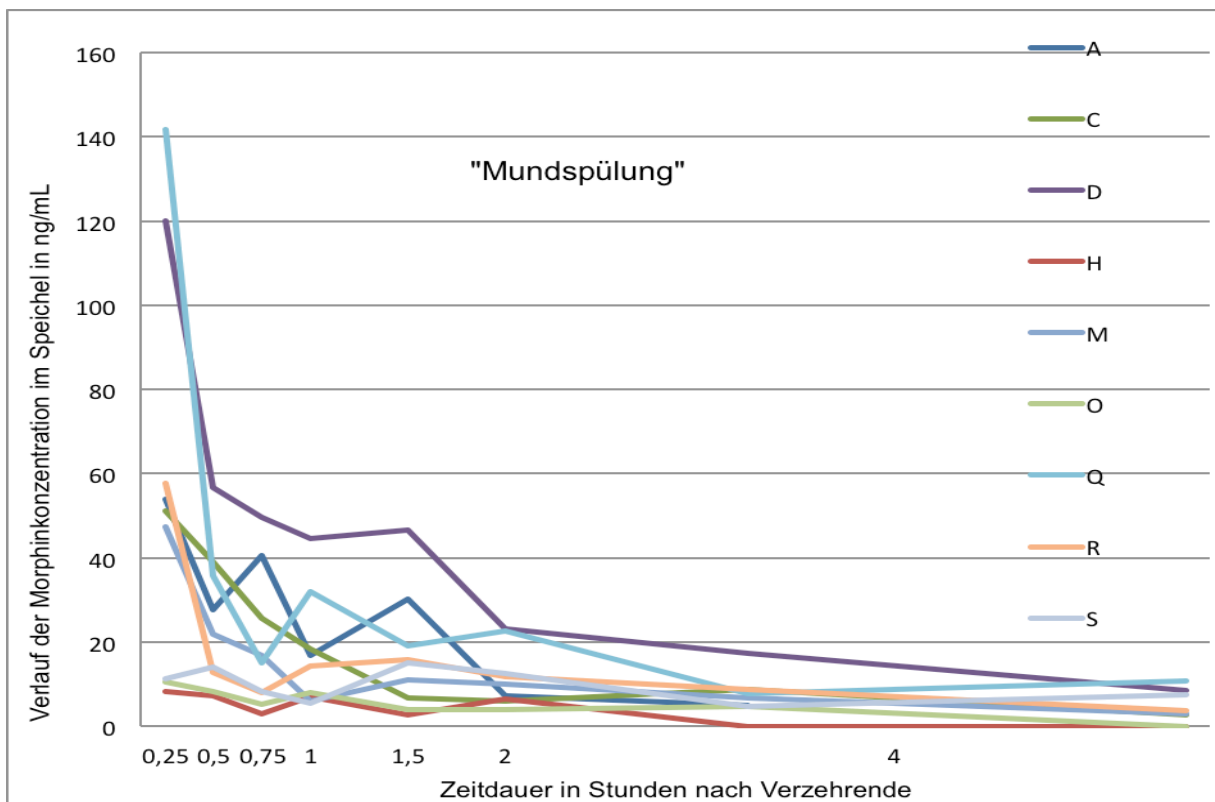


Diagramm 13: Morphinkonzentration im Speichel (ng/mL) der Probanden mit Mundspülung vor Speichelabgabe im zeitlichen Verlauf (h). Der Endpunkt von 8 h wurde zur besseren Darstellung nicht mit abgebildet.

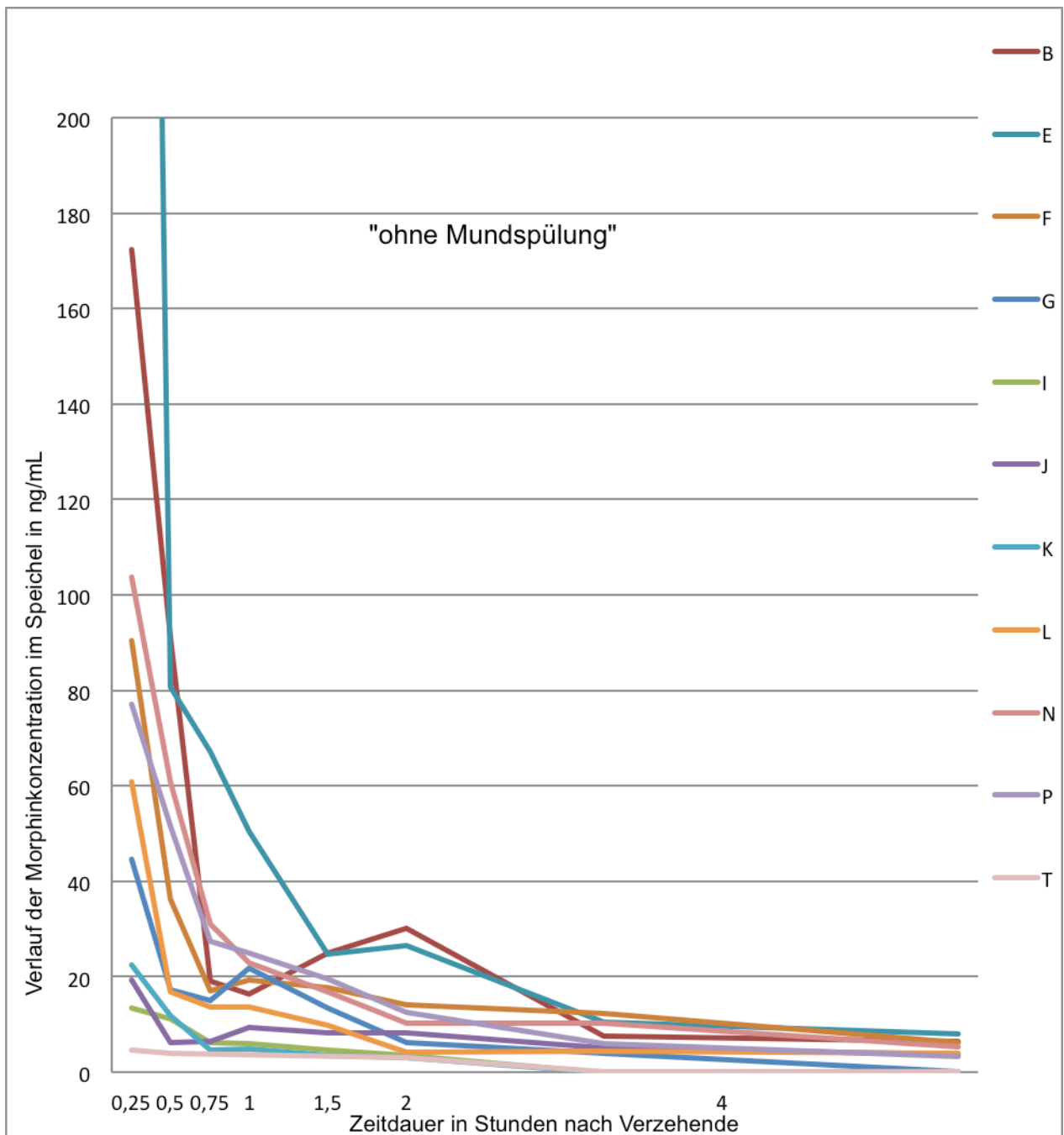


Diagramm 14: Morphinkonzentration im Speichel (ng/mL) der Probanden ohne Mundspülung vor Speichelabgabe im zeitlichen Verlauf (h). Zur besseren Darstellung wurde ein maximaler Wert von 200 ng/mL auf der y-Achse gewählt, weswegen der 0,25 h-Wert von Proband E (627,7 ng/mL) hier nicht abgebildet ist. Auch der Endpunkt von 8 h wurde zur besseren Darstellung des Diagramms nicht mit abgebildet.

Vergleicht man die Spitzenkonzentrationen von Morphin im Speichel mit denen im Serum, so lässt sich erkennen, dass die Serumspitzenwerte individuell nach 1, 2 oder 4 h erreicht wurden. Damit lässt sich nicht ausschließen, dass bei den ersten drei Speichelabgabezeitpunkten (15, 30, 45 min) die Morphinkonzentration durch eine Kontamination der Mundhöhle zustande kam. So wurden auch die insgesamt höchsten Speichelspitzenkonzentrationen von Morphin bei zwei Probanden gefunden, die keine Mundspülung durchgeführt hatten (Proband E: 627,7 ng/mL, Proband B: 172,6 ng/mL). Der dritt- und vierthöchste Wert war dann jedoch bei zwei Probanden mit Mundspülung zu beobachten (Proband Q: 141,9 ng/mL, Proband D: 120,3 ng/mL). Bei der Untersuchung der Speichelproben auf freies Morphin und Gesamtmorphin lagen, wie schon oben erwähnt (Kap 3.2), die Werte so dicht beieinander, dass sie wie eine Doppelbestimmung gewertet und gemittelt wurden. So waren nach saurer Hydrolyse nicht, wie erwartet, höhere Werte für die Morphinkonzentration im Speichel zu messen. Daraus lässt sich folgern, dass keine Glucuronide im Speichel vorlagen, die sich hätten spalten lassen können. Dennoch lässt sich nicht herleiten, ob das im Speichel detektierte Morphin von einer Kontamination der Mundhöhle herrührt oder durch Diffusionsprozesse bei der Speichelbildung in diesen gelangte.

Im Jahre 1997 wurde eine Immunoassay-Methode zum Drogennachweis im Speichel von Röhrich et al. untersucht und als durchaus geeignet befunden (Röhrich et al. 1997). Immunchemische Ergebnisse allein haben jedoch vor Gericht noch keinen Beweiswert. Die Immunoassays müssen daher in jedem Fall durch den Einsatz beweiskräftiger Verfahren höherer Spezifität, wie z.B. durch GC-MS, bestätigt werden. Außerdem ist in Deutschland bei Straßenverkehrsdelikten der Nachweis im Blut vorgeschrieben, so dass eine Bestätigungsanalyse aus einer Blutprobe erfolgen muss (Ettmüller 2009).

Im Jahr 2000 wurde in Zusammenarbeit mit der Hessischen Autobahnpolizei eine Studie an Speichel von Kraftfahrern mit Verdacht auf Drogenbeeinflussung (137 Fälle) durchgeführt, die gleichzeitig die obligate Blutentnahme und (freiwillige) Urinabgabe beinhaltete. Die Proben wurden mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC/MS) analysiert und die Speichelbefunde mit denen des Blutes verglichen. Bei den Opiaten wurden hohe bis extrem hohe Speichel/Serum-Quotienten aufgefunden, die sich allerdings nicht ausschließlich durch Rückdiffusion

erklären ließen, sondern bei den Aufnahmewegen Schlucken, Schnupfen oder Rauchen auf orale Kontaminationen schließen ließen. Daher folgerte der Autor, dass Speichel unter den damaligen Bedingungen sich (noch) nicht als problemloses und einfach zu handhabendes Untersuchungsmaterial für den polizeilichen Einsatz eignete (Kauert 2000). In der Rosita 2-Studie (Roadside Testing Assessment), die von 2003 bis 2005 von der EU und den USA gemeinsam durchgeführt wurde, wurden neun Drogenschnelltestgeräte untersucht, die mit Speichelproben arbeiteten. Die globalen Ergebnisse zeigten für Opiate eine Sensitivität von 51 % bis 100 % und eine Spezifität von 86 % bis 100 % (Verstraete und Raes 2006).

Im Jahr 2005 untersuchten Möller et al. die Verwendbarkeit von Speicheltests unter Substitutionstherapie als Drogenscreening-Methode im Praxisalltag und zeigten für Opiate eine Genauigkeit von 94,1 %, eine Sensitivität von 92,3 % und eine Spezifität von 94,4 % im Vergleich zu GC/MS (Möller et al. 2005).

Ebenfalls 2005 untersuchten Toennes et al. 177 Speichelproben und korrelierten die Ergebnisse mit denen des Blutes. Im Rahmen dieser Studie wurden bei Individuen, bei denen Drogenkonsum im Straßenverkehr von der Polizei vermutet wurde, Speichel- und Blutproben entnommen und mittels GC/MS analysiert. Hier zeigte sich bei Morphin eine Spezifität von 87 % und somit wurde Speichel durchaus als brauchbares Untersuchungsmaterial für das Screening auf Drogenmissbrauch im Straßenverkehr eingestuft (Toennes et al. 2005).

Ettmüller zeigte 2009 im Rahmen einer Dissertation, dass beim Vergleich der GC/MS-Ergebnisse im Speichel mit denen im Serum sich insgesamt eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden untersuchten Matrices ergab. Sie postulierte, dass Speichel durchaus geeignet ist, Fahrer zu identifizieren, die Drogen im Blut haben (Ettmüller 2009).

Somit gibt es zahlreiche Studien, die zu dem Ergebnis kommen, dass sich Speichel neben Urin als Untersuchungsmaterial im Rahmen von „on-site“-Tests eignet, um Drogenmissbrauch zu detektieren.

Es ist hierbei allerdings zu Beachten, dass der Entnahmezeitpunkt einer Speichelprobe mindestens 10 bis 15 min nach Abschluss vorheriger Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme stattfinden sollte. Allgemein wird davon ausgegangen, dass die Effekte von Speisen und Getränken nach 10 bis 15 min keinen Einfluss mehr haben und somit nach Ablauf dieser Zeit eine Speichelkontamination durch Speise- und Getränkereste extrem gering ist (Spiehler 2011).

An dieser Stelle sollte allerdings auch darauf Aufmerksam gemacht werden, dass Reichardt et al. in 2013 in ihrer Studie zeigten, dass ein Speichelschnelltest für Amphetamine positiv war, nachdem die Probanden (alle waren vor Versuchsbeginn Drogenfrei) lediglich Essig für 30 Sekunden in der Mundhöhle hielten und dann ausspuckten. Speichelproben wurden direkt nach dem Ausspucken ($t=0$) und 10 min ($t=10$) danach entnommen. Im Speichelschnelltest fielen alle Proben positiv aus, wurden allerdings mittels GC/MS als falsch positiv bestätigt. Der Speichelschnelltest für Opiate fiel hingegen nur bei zwei Probanden falsch positiv aus ($t=0$), nachdem diese Kaffee und Fruchtsaftgetränke, ähnlich wie beim Essig, in der Mundhöhle vor Speichelabgabe hielten. Alle Proben waren nach 10 min richtig negativ (Reichardt et al. 2013).

Schon um die Jahrhundertwende wurde in der Literatur wiederholt darauf hingewiesen, dass es auch nach Mohnsamenverzehr zu positiven Morphinbefunden im Urin und Blut kommen kann und auch im Speichel positive Befunde möglich sind (Niedbala et al. 2001a , Rohrig und Moore 2003).

Hayes et al. ließen in einer Teilstudie 4 Personen jeweils 7,5 mg Morphin über Mohnsamen zu sich nehmen. Sie fanden nach Hydrolyse Morphin im Blut in Konzentrationen von 3-10 ng/mL, das bis 24 h nach Ende der Mohnaufnahme nachweisbar war. In einer anderen Teilstudie nahmen 2 Personen je 2,5 mg Morphin über Mohnsamen auf. Hier konnte freies Morphin noch 3 h nach Versuchsbeginn im Blut nachgewiesen werden (Hayes et al. 1987).

Möller et. al. berichteten über 5 Probanden, die im Rahmen eines Fernsehauftritts verschiedene Arten von Mohnbackwaren zu sich nahmen. Der verwendete Mohn hatte eine Morphinkontamination von 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Die einmalig abgenommenen Serumproben waren mittels GC/MS-Analyse alle negativ auf freies Morphin, jedoch zeigten zwei Proben nach Hydrolyse Werte von bis zu 24 ng/mL Gesamtmorphin (Möller et al. 2004).

2004 untersuchten Rochholz et al. Serumproben, die 4, 20 bzw. 26 h nach Mohnsamenverzehr bei 3 Probanden abgenommen wurden. Die Menge der aufgenommenen Mohnsamen und damit des Morphins war nicht bekannt. Alle Serumproben waren mittels GC/MS-Analyse negativ auf freies Morphin, allerdings nach Hydrolyse positiv auf Gesamtmorphin. Bei einem Probanden, der zwei Mohn-Baguette-Brötchen und ein Stück Mohnkuchen zu sich genommen hatte, war noch nach 26 h Gesamtmorphin nachzuweisen (Rochholz et al. 2004).

Ebenfalls im Jahre 2004 führten Andresen und Schmoldt 12 Probanden 9 - 55 g Mohnsamen mit einem Morphingehalt von 0,6 – 206 µg/g zu. Bei zwei Probanden wurden Blutproben asserviert, die nach jeweils 4 und 4,5 h positive Ergebnisse für freies Morphin zeigten (Andresen und Schmoldt 2004).

Aufgrund dieser kontroversen Ergebnisse bezüglich der Nachweisbarkeit von freiem Morphin im Blut nach Mohnsamenverzehr wurde die vorliegende systematische Untersuchung geplant, die neben der Untersuchung von Blutproben auf freies Morphin und Gesamtmorphin auch die Analyse von Urin- und Speichelproben einschließen sollte. Es gab zwar etliche Studien, in denen Urinproben nach Mohnsamenverzehr untersucht wurden (Andresen und Schmoldt 2004, Fritschi and Prescott 1985, Möller et al. 2004, Beck et al. 1990, Hayes et al. 1987, ElSohly et al. 1990, Casella et al. 1997), doch fanden sich nur wenige Berichte über Untersuchungen von Speichelproben nach Mohnsamenverzehr.

Niedbala et al. ließen in einer Teilstudie 5 Probanden 5,2 bis 40 g Mohnsamen zu sich nehmen, untersuchten den Speichel mit einer Immunoassay-Methode und fanden bei einem Probanden einen positiven Befund für Morphin 15 Minuten nach Aufnahme der Mohnsamen. Spätere Proben nach 1, 2, 3, 8 und 24 h wurden als negativ getestet (Niedbala et al. 2001a).

Im Jahr 2003 untersuchten Rohrig und Moore an zwei unterschiedlichen Institutionen Morphinkonzentrationen im Urin und Speichel nach Mohnsamenverzehr. An der ersten Institution (Site 1) nahmen vier Probanden innerhalb einer Stunde drei kommerziell zubereitete Mohnbagel zu sich. In der zweiten Institution (Site 2) waren es drei Probanden. Dabei nahm Proband 1 14,82 g, Proband 2 9,82 g und Proband 3 20,82 g Mohnsamen auf. Alle Proben wurden mittels GC/MS untersucht, wobei sich bei „Site 1“ keine positiven Morphinergebnisse im Speichel sondern nur im Urin fanden. Bei „Site 2“ waren alle Speichel- und Urinproben positiv für Morphin, wobei bei zwei der Probanden sogar noch eine Stunde nach Verzehr Morphinkonzentrationen von ca. 40 ng/mL im Speichel nachgewiesen werden konnten (Rohrig und Moore 2003).

Weder Niedbala et al. noch Rohrig und Moore machten Angaben zu dem Morphingehalt der Mohnsamen und somit zu der aufgenommenen Morphinmenge, sondern lediglich zu der aufgenommenen Menge von Mohnsamen. Bis heute gibt es neben dieser Arbeit nur wenige neuere Studien, die den Morphingehalt der verzehrten Mohnsamen und damit die aufgenommene Morphinmenge nach

Mohnsamenverzehr angeben.

In 2015 untersuchten Concheiro et al. Morphin- und Codein- Konzentrationen in Speichel nach kontrolliertem Mohnsamenverzehr. 17 Probanden nahmen hierzu rohe Mohnsamen zu sich. Eine Einzeldosis bestand aus 45 g Mohnsamen, die den Probanden in einem Abstand von 8 Stunden dargereicht wurden. Eine Einzeldosis enthielt 15.7 mg Morphin und 3.1 mg Codein. Um einen Verlust des Morphingehaltes durch küchentechnische Aufarbeitung zu verhindern, nahmen die Probanden rohe Mohnsamen zu sich, die lediglich zur leichteren Aufnahme in 40 ml Ora-Plus® und 10ml Ora-Sweet® Lösung dargereicht wurden (Paddock Laboratories, Inc., MN, USA). Speichelproben wurden den Probanden vor und bis zu 32 h nach der ersten Mohnsamenaufnahme entnommen und mit dem Dräger DrugTest® 5000 analysiert und mittels Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie (LC/MS) bestätigt und verglichen. Alle Proben wiesen nach 0.5 h ein positives Testergebnis für Opiate auf. Das längste positive Testergebnis wurde nach 13 h nach Mohnsamenverzehr nachgewiesen. Insgesamt betrug die ermittelte Sensitivität des Dräger DrugTest® 5000 im Speichel beim Vergleich zu den LC/MS-Ergebnissen im Speichel 95 bis 98 % (Concheiro et al. 2015).

Ebenfalls in 2015 veröffentlichten Samano et al. die Ergebnisse Ihrer Studie, in der 12 Probanden in zwei Teilstudien jeweils 15 g Mohnsamen zu sich nahmen. Im ersten Teil der Studie wurden 15 g Mohnsamen mit einem Morphingehalt von 3.2 mg küchentechnisch aufbereitet und in Form einer traditionellen ukrainischen Mohnsamenrolle den Probanden dargereicht. Im zweiten Teil der Studie nahmen die Probanden 15 g rohe Mohnsamen zu sich, die ebenfalls 3.2 mg Morphin enthielten. Nach Aufnahme der rohen Mohnsamen waren die mittels eines Speichelvortests analysierten Speichelproben bis zu 3 h positiv auf Opiate und zeigten mittels GC/MS ermittelte Spitzenwerte von Morphin von bis zu 600 ng/ml im Speichel. Nach Aufnahme der Mohnsamen im ersten Teilversuch ergaben sich allerdings geringere Spitzenwerte für Morphin im Speichel von bis zu 143 ng/ml und auch nur positive Schnelltestergebnisse bis zu 1.5 h nach Verzehr (Samano et al. 2015).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ergänzen die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse. Für 1, 2, 4 und 8 h nach Mohnsamenverzehr lagen bei den 20 Probanden Proben von Speichel und Serum vor, so dass insgesamt 80 Probenpaare vergleichend betrachtet wurden. Da insgesamt 2 Proben, einmal im Blut und einmal

im Speichel, bei der Analyse nicht auswertbar waren, blieben 78 korrespondierende Probenpaare zum Vergleich übrig. Diese wurden dahingehend ausgewertet, ob sich das Ergebnis der Speichelprobe zur Voraussage des Ergebnisses der Blutprobe eignet. Insgesamt ergaben sich daraus 74 "richtig positive", eine "richtig negative" und 3 "falsch negative" Voraussagen. Tabelle 13 stellt die Ergebnisse von Serum- und Speichelproben in einer Vier-Feldertafel gegenüber.

Tabelle 13: Vergleich der GC/MS-Ergebnisse im Speichel mit den GC-MS-Ergebnissen im Serum anhand einer Vier-Feldertafel

	Positiv Serum (GC/MS)	Negativ Serum (GC/MS)
Positiv Speichel (GC/MS)	74 <i>(richtig positiv)</i>	0 <i>(falsch positiv)</i>
Negativ Speichel (GC/MS)	3 <i>(falsch negativ)</i>	1 <i>(richtig negativ)</i>

Diese Gegenüberstellung zeigt den großen Wert einer Analyse von Speichelproben für die Voraussage positiver Serumproben nach der Aufnahme von Mohnsamen. Der sogenannte positive prädiktive Wert (PPV) lässt sich nach folgender Formel berechnen:

$$\text{PPV} = \text{„richtig positiv“} / (\text{„richtig positiv“} + \text{„falsch positiv“})$$

Der PPV lag im vorliegenden Fall bei 100 %.

Somit lassen sich nach Mohnsamenaufnahme mit Speichelproben positive Fälle, die nachfolgend im Serum bestätigt werden können, herausfiltern.

Die im vorliegenden Fall ermittelte Spezifität (vgl. Kapitel 3.6) von 100 % muss jedoch kritisch betrachtet werden, da aufgrund des Versuchsdesigns nur eine "richtig negative" Voraussage vorlag, was aus statistischen Überlegungen unzureichend ist.

Trotz der guten qualitativen Übereinstimmung von Serum- und Speichelproben ist anhand der quantitativen Ergebnisse im Speichel keine Voraussage über die zu

erwartenden Werte im Serum möglich, weder was die Einzelbetrachtungen zu verschiedenen Zeiten noch was die "4 h-Mittelwerte" angeht.

Auch muss darauf hingewiesen werden, dass das eingesetzte Versuchsdesign keine Aussage darüber zulässt, ob Speichelproben zur Voraussage positiver Serumproben geeignet sind, wenn die Opiataufnahme nicht über Mohnsamen erfolgt.

Dräger DrugTest®-System

Die generelle Problematik von Drogenschnelltests besteht in der Möglichkeit, "falsch negative" oder "falsch positive" Ergebnisse zu erzeugen. Unter „falsch negativ“ (geringe Sensitivität) versteht man den negativen Ausfall eines Tests, obwohl der betreffende Analyt im Untersuchungsmaterial vorhanden ist. Somit kann es dazu kommen, dass Drogenfreiheit vorgetäuscht wird und die Drogenaufnahme nicht von dem Test erfasst wird. Unter „falsch positiv“ (geringe Spezifität) versteht man, wenn die zu detektierende Substanz im Test als positiv angezeigt wird, obwohl sie gar nicht vorhanden ist (Magiera 2008). Dies kann beträchtliche Konsequenzen haben, wie folgendes Beispiel zeigt (Magiera 2008):

Ein 35-Jähriger klagte über Beschwerden im Oberbauch, woraufhin der Hausarzt den Harn auf Giftstoffe untersuchen ließ. Die Analyse durch einen Drogenschnelltest erbrachte ein positives Testergebnis auf Opiate, wobei sogar eine konkrete Konzentration von 20 ng/mL genannt wurde. Als Konsequenz leitete der Staatsanwalt ein Ermittlungsverfahren gegen die Schwägerin wegen des Verdachts der Giftbeibringung und des Verstoßes gegen das BtMG ein. Da noch Reste des Untersuchungsmaterials vorhanden waren, erfolgte eine Bestätigungsanalyse mittels GC/MS, bei der weder Opiate noch andere Giftstoffe nachgewiesen werden konnten. Bei der Speichelanalyse mittels Immunoassay auf Opiate ist weiterhin die Tatsache problematisch, dass sich z.B. nicht das eigentlich konsumierte Heroin nachweisen lässt, sondern lediglich das Abbauprodukt Morphin. Dieses könnte jedoch auch von dem Verzehr von Mohnsamen, einer Schmerzmedikation oder von dem Gebrauch des Hustenstillers Codein, welches ebenfalls zum Teil zu Morphin abgebaut wird, stammen (Vollrath et al. 2002). Daher sollte, wie schon weiter oben erwähnt, ein positiver Schnelltestbefund immer noch durch eine valide Methode, wie z.B. GC/MS, bestätigt und weiter differenziert werden. Resultiert daraus ein gesicherter positiver Speichelbefund für Morphin ohne Nachweis anderer Opiate, kann dies nach Cone und Huestis daher nur als Aufnahme von Heroin, Morphin oder Mohnsamen

interpretiert werden (Cone und Huestis 2007).

Das Dräger DrugTest®-System wurde von der Lübecker Drägerwerk AG entwickelt und seit 2000 als Drogenscreening-Test für "on-site"-Untersuchungen u. a. auf Morphin durch zahlreiche Studien evaluiert. Klinische Untersuchungen bzw. polizeiliche Kontrolleinsätze wurden seit September 2000 zur Leistungsbewertung mit diesem damals neuen System durchgeführt, und auf diese Weise wurde das Testverhalten sukzessive verbessert. Im November 2002 konnten dadurch folgende statistische Parameter für Opiate ermittelt werden: Spezifität 91 %, Sensitivität 88 %, Genauigkeit 91 % (n = 278) (Steinmeyer et al. 2003).

2003 wurde das Dräger DrugTest®-System im Rahmen der Rosita 2-Studie im Hinblick auf die praktische Einsetzbarkeit durch Polizeibeamte vor Ort und auf der Wache, auf die Verlässlichkeit der Tests, basierend auf dem Vergleich der Ergebnisse des Schnelltests mit denen der Bestätigungsanalysen aus Speichel mittels GC/MS, auf die Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den Blutanalysen und auf die Korrelation der Werte in Blut und Speichel zur Feststellung von kurz zurückliegendem Drogenkonsum analysiert. In Deutschland wurde das Dräger DrugTest®-System von den Polizeibeamten hinsichtlich seiner Handhabung als sehr gut bewertet und erlangte gegenüber den Speichel-GC/MS-Analysen bei den Opiaten eine Sensitivität von 52,6 % und eine Spezifität von 100 % (Verstraete und Raes 2006). Etmüller analysierte fast dreimal so viele Speichelproben, wie in der Rosita 2-Studie untersucht wurden, ermittelte allerdings nur eine Sensitivität von 45,5 %. Die ermittelte Spezifität lag bei 100 %. Hierbei ist zu beachten, dass in beiden Studien sehr geringe positive Fallzahlen vorlagen. So fanden sich bei Etmüller von 136 Proben nur elf Proben, die mittels GC/MS Opiate enthielten und von diesen wurden nur 5 richtig von dem Vortest erkannt. Es gab allerdings auch keine „falsch positiven“ Ergebnisse, was die hohe Spezifität in den beiden Studien erklärt (Etmüller 2009). Im Hinblick darauf, dass im Straßenverkehr in Deutschland der positive Nachweis im Blut erfolgen muss, damit es zu strafrechtlichen Konsequenzen oder der Feststellung einer Ordnungswidrigkeit kommen kann, ist es auch interessant zu betrachten, inwieweit das Dräger DrugTest®-System eine Voraussage darüber zulässt, ob im Serum Morphin nachweisbar sein kann. Daher wurden auch die mittels des Dräger DrugTest®-Systems im Speichel erhaltenen Ergebnisse mittels einer Vier-Feldertafel den GC/MS-Ergebnissen im Serum gegenübergestellt (Tabelle 14). Es lagen damit 60 Probenpaare von Speichel und

Serum vor, die zu gleichen Zeitpunkten entnommen wurden (1 h, 2 h, 4 h und 8 h nach Ende des Mohnsamenverzehr). Die Speichelproben wurden mit dem Dräger DrugTest®-System untersucht, die Blutproben mittels GC/MS. Eine Speichelprobe war nicht auswertbar, so dass 59 Probenpaare gegenübergestellt werden konnten. Davon waren 56 in beiden Matrices positiv („richtig positive“ Speicheltests), ein Probenpaar war nur im Speichel positiv und im Serum negativ („falsch positiver“ Speicheltest), kein Probenpaar war in beiden Matrices negativ („richtig negative“ Speicheltests) und zwei Probenpaare waren im Serum positiv, im Speichel negativ („falsch negative“ Speicheltests).

Tabelle 14: Vergleich der Ergebnisse des Speichel Dräger DrugTest®-Systems mit den Ergebnissen der GC/MS-Untersuchung im Serum anhand einer Vier-Feldertafel. Die Bewertungen sind jeweils in Anführungszeichen wiedergegeben, da es sich um prädiktive Werte handelt.

	Positiv Serum (GC/MS)	Negativ Serum (GC/MS)
Positiv Speichel (Dräger DrugTest®)	56 <i>(„richtig positiv“)</i>	1 <i>(„falsch positiv“)</i>
Negativ Speichel (Dräger DrugTest®)	2 <i>(„falsch negativ“)</i>	0 <i>(„richtig negativ“)</i>

Aus Tabelle 14 lässt sich der für die Polizeiarbeit sehr wichtige positive prädiktive Wert (PPV) für die Verwendung des Dräger DrugTest®-Systems berechnen, der im vorliegendem Fall 98,2 % beträgt.

Allerdings kann mit diesem Versuchsdesign, bei dem kein „richtig negatives“ Ergebnis erhalten wurde, keine Auskunft über die Spezifität des Tests gegeben werden. In der Rosita 2-Studie ergaben sich in Deutschland beim Vergleich des Speichel Dräger DrugTest®-Systems mit den GC/MS-Ergebnissen im Serum eine Sensitivität von 57,1 % und beim Vergleich des Dräger DrugTest®-Systems mit den Ergebnissen der GC/MS-Speichelanalyse eine Sensitivität von 33,3 %.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Sensitivität des Dräger DrugTest®-Systems im Speichel liegt beim Vergleich zu den GC/MS-Ergebnissen im Speichel bei 96 %, der positive prädiktive Wert (PPV) des Dräger DrugTest®-Systems im Speichel liegt beim Vergleich mit den GC/MS-Ergebnissen im Serum bei 98,2 %. Damit schneidet der Test besser ab als bei anderen Studien, was beim vorliegenden Versuchsdesign mit der Kontamination der Mundhöhle zusammenhängen könnte.

Obwohl die Ergebnisse für das Dräger DrugTest®-System gut ausfielen, muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass die Drägerwerk AG das System Ende 2005 vom Markt nahm, um an einer neueren, zuverlässigeren Version zu arbeiten. Seit Mai 2008 ist dieses modernere System unter dem Namen Dräger DrugTest® 5000 im Saarland im polizeilichen Einsatz, und es wurde im Rahmen des DRUID-Projektes (Driving Under the Influence of Drugs, Alcohol and Medicines) der Europäischen Union die sehr gute Einsetzbarkeit international bestätigt (Ettmüller 2009). Das Dräger DrugTest® 5000 erreichte Höchstwertungen im Bereich Hygiene, Glaubwürdigkeit und Zuverlässigkeit und erzielte bei den Opiaten die besten Gesamtergebnisse bei der analytischen Aussagekraft mit einer Sensitivität von 85 % und einer Spezifität von 86 % (Nadzeika und Weddern 2012).

Seitdem gibt es zahlreiche weitere in der Literatur beschriebene Studien, die das Dräger DrugTest® 5000 und weitere Schnelltests evaluierten und deren Einsatz als Speichelvortest mit guten Ergebnissen bestätigten.

Unter anderen veröffentlichten Musshoff et al. in 2014 die Ergebnisse, die im Rahmen normaler Polizeitätigkeit im Raum Nordrhein-Westfalen über einen Zeitraum von 11 Monaten zur Verfügung standen. Es wurden 1.212 Autofahrern Urin und Speichelproben entnommen, die dann mittels verschiedener Schnelltests analysiert und mit den Ergebnissen im Blut verglichen wurden. Hierbei erreichte der Speichelvortest Dräger DrugTest® 5000 eine Sensitivität von 95 % (Musshoff et al. 2014, Rohrig et al. 2018, Strano-Rossi et al. 2012).

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, herauszufinden, ob es nach exzessivem Mohnsamenverzehr zu positiven Morphinbefunden im Speichel kommen kann und welche Speichelkonzentrationen dabei erreicht werden können. Dazu sollte die Gaschromatographie/Massenspektrometrie nach Festphasenextraktion als Untersuchungsmethode eingesetzt werden. Außerdem sollten alle Speichelproben mit einem Speichelvortest (Dräger DrugTest®-System) untersucht werden, um herauszufinden, ob Mohnsamenverzehr beim Drogenscreening mittels Speichelvortest zu positiven Opiat-Ergebnissen führen kann.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde ein kontrollierter Essversuch durchgeführt. Zwanzig Probanden (8 weiblich/12 männlich) im Alter von 19 bis 45 Jahren verzehrten zwischen 100 und 250 g Mohn entweder als Kuchen und/oder als Milchreiszubereitung. Nur ein Proband nahm lediglich 25 g Mohn zu sich. Mit Hilfe einer für Serum validierten und für andere Matrices angepassten Methode wurden Speichel- und Urinproben der Probanden untersucht und die Ergebnisse im Speichel den in einer anderen Dissertation erhaltenen Ergebnissen im Blut gegenübergestellt. Um besser reproduzierbare Ergebnisse bei schnellerem Arbeitstempo zu erhalten, wurde zuvor eine manuelle Festphasenextraktion automatisiert und optimiert.

Es wurden zwei Mohnsamenchargen verwendet, in denen Morphingehalte von 72,4 mg/kg bzw. 114,3 mg/kg nach Mahlen bestimmt wurden. Im Durchschnitt entsprach der Mohnsamenverzehr der Probanden einer – aufgrund küchentechnischer Vorbereitung korrigierten – absoluten Morphinaufnahme von 9,68 mg (von 2,1 bis 22,9 mg).

Mit Ausnahme von drei Probanden (G, H, T) zeigten alle Probanden positive Morphinspeichelkonzentrationen bis 8 h nach Ende des Mohnsamenverzehrs. Eine längere Zeitspanne wurde nicht untersucht. Die mittlere Spitzenkonzentration von Morphin im Speichel lag bei 87,1 ng/mL, wies allerdings eine große Varianz von 4,7 ng/mL bis 627,7 ng/mL auf. Mögliche Ursachen hierfür waren, wie oben beschrieben, die Verwendung zweier Mohnsamen-Chargen, der Verlust von Morphin durch die küchentechnische Vorbereitung, der maximale Verzehr der Mohnspeisen nach Belieben und dass teilweise Mundspülungen vor der Speichelentnahme erfolgten, in anderen Fällen jedoch nicht, sodass auch Speisereste den Speichel kontaminieren konnten. Dadurch ergab sich ein extrem heterogenes Bild der Morphinaufnahme und Verteilung im Körper.

Bei der Betrachtung der Morphinspeichelkonzentrationen zu verschiedenen Zeiten (0,25 h und 1 h nach Verzehr sowie „4 h-Mittelwerte“) im Verhältnis zur absolut (mg) und relativ zum Körpergewicht ($\mu\text{g}/\text{kg KG}$) aufgenommenen Morphinmenge fanden sich Korrelationskoeffizienten von $R^2 = 0,4571$ (nach 0,25 h; absolut), $R^2 = 0,5701$ (nach 1 h; absolut) und $R^2 = 0,3675$ (4 h-Mittelwert; absolut) bzw. von $R^2 = 0,2786$ (nach 0,25 h; relativ), $R^2 = 0,4212$ (nach 1 h; relativ) und $R^2 = 0,2437$ (4 h-Mittelwert; relativ).

Damit lässt sich lediglich ein Trend ableiten, dass eine größere durch Mohnsamen aufgenommene Morphinmenge zu einer höheren Konzentration im Speichel führt. Dies steht im Gegensatz zu den Konzentrationen im Blutserum, die der durch Mohnsamen aufgenommenen Morphinmenge deutlich besser proportional waren (Leinenkugel 2010).

Weiterhin fand sich bei der Gegenüberstellung der Morphinkonzentrationen im Speichel gegen die im Serum mit $R^2 = 0,1868$ keine Proportionalität.

Daher lassen sich keine quantitativen Aussagen über die Konzentration von Morphin im Speichel und seiner Korrelation zur Serumkonzentration erheben, allerdings stimmten die qualitativen Aussagen über ein positives oder negatives Ergebnis sehr gut überein.

Bei der Untersuchung der Speichelproben mit dem Dräger DrugTest®-System und dem Vergleich der erhaltenen Positiv/Negativ-Ergebnisse mit den qualitativen GC/MS-Ergebnissen im Speichel ergab sich mit einer Sensitivität von 96 % eine sehr gute Übereinstimmung des Speichel-Vortests auf Opiate mit der beweissicheren Bestätigungsanalyse mittels GC/MS auf Morphin, so dass sich der Speichel-Vortest als Screening-Methode nach Mohnsamenverzehr eignet, um potentiell positive Proben herauszufiltern. Außerdem ließen sich aus dem Dräger DrugTest®-Ergebnis im Speichel sehr gute Voraussagen darüber treffen, ob im Blut ein Nachweis möglich sein würde. Der positive prädiktive Wert (PPV) lag bei 98,2 %. Bei einem positiven GC/MS-Ergebnis im Speichel ließ sich sogar in allen Fällen ein positives GC/MS-Ergebnis im Blut erhalten (PPV = 100 %). Allerdings fehlten für eine umfassende Aussage negative Speichelproben.

Alle Urinproben waren vor Aufnahme der Mohnsamen negativ auf Morphin, was eine Beeinflussung des Versuchs durch eine vorangegangene Medikamenten-, Drogen- oder Mohnaufnahme ausschließt. Nach Mohnaufnahme waren alle Urinproben positiv auf freies Morphin und Gesamtmorphin, wobei der längste überblickte

Zeitraum bei 24,5 h nach Ende des Mohnsamenverzehr lag. Die höchste nachgewiesene Konzentration an freiem Morphin im Urin lag bei ca. 20 800 ng/mL und damit im oberen Bereich der in der Literatur bei anderen Studien beschriebenen Werte.

Da im Speichel die Aufarbeitung auf Gesamtmorphin nicht zu durchweg höheren Werten als die Aufarbeitung auf freies Morphin führte (vgl. Anhang E), kann gefolgert werden, dass im Speichel keine Glucuronide vorlagen und die geringen Diskrepanzen der beiden Messwerte auf Messunsicherheiten zurückzuführen sind.

Obwohl die erste Speichelprobe erst nach 15 min abgegeben wurde, also nachdem das Risiko einer Kontamination durch Speisereste eher gering ist, konnte im Rahmen des Versuchs nicht geklärt werden, ob das im Speichel detektierte Morphin von einer Kontamination der Mundhöhle herrührte oder durch Diffusionsprozesse bei der Speichelbildung in diesen gelangte.

Auch die Frage, ob die Zutaten des Kuchens oder des Milchreis selbst zu eventuell positiven Speichelschnelltest-Ergebnissen führten, konnte hier aufgrund des Studiendesigns nicht geklärt werden. Zur Klärung dieser Fragen bedarf es weiterer systematischer Untersuchungen.

Abschließend muss darauf hingewiesen werden, dass bei der vorliegenden Untersuchung keine Kontrollgruppe miteinbezogen wurde, die morphinfreie Mohnsamen verzehrte, so dass bei der Symptomatik nicht unterschieden werden kann, ob die beobachteten Effekte allein auf den Morphingehalt der Mohnsamen oder auch auf deren Fettgehalt zurückzuführen sind. Außerdem wären bei Einbeziehung einer derartigen Kontrollgruppe auch negative Speichel-, Urin- und Blutergebnisse erhalten worden, die die Studie abgerundet hätten.

6. Literaturverzeichnis

1. **AGES** Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, <https://www.ages.at/mensch/schwerpunkte/schwerpunktaktionen/detail/morphin-in-mohnsamen-monitoring>. Zuletzt abgerufen 2022
2. **Ammon, H.P.T., Mutschler, E., Scholz, H.** (2005), Arzneimittelinformation und -beratung in der Apotheke. 4. Erg. Lfg., Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart
3. **Andresen, H., Schmoldt, A.:** Führt der Verzehr von Mohnsamen zu positiven Opiat-Befunden in Urin, Blut und Haaren? Blutalkohol 2004; 41: 191-202
4. **Baselt, R.C.** (2020): Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 12th Ed., Biomedical Publications, Seal Beach, California
5. **Beck, O., Vitols, S., Stensiö, M.:** Positive urine screening for opiates after consumption of sandwich bread with poppy seed flavoring. Ther. Drug Monit. 1990; 12: 585-586
6. **Beer, J.H., Vogt, A., Bernhard, W. :** Gourmet restaurant syndrome. Lancet 1994; 343: 13
7. **BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung)** (2005), BfR empfiehlt vorläufige maximale tägliche Aufnahmemenge und einen Richtwert für Morphin in Mohnsamen, Gesundheitliche Bewertung Nr. 012/2006
8. **BfR** (2018), Gehalte an pharmakologisch aktiven Opiumalkaloiden in Mohnsamen sollten auf das technologisch erreichbare Mindestmaß gesenkt werden, Mitteilung Nr. 018/2018
9. **Bjerver, K., Jonsson, J., Nilsson, A., Schuberth, J., Schuberth, J.:** Morphine intake from poppy seed food. J. Pharm. Pharmacol. 1982; 34: 798-801
10. **Brayfield, A.** (2020): In Martindale, The complete Drug reference, 40th ed. S. 3-143, Pharmaceutical Press, London
11. **Brenneisen, R., Borner, S.:** Psychotrope Drogen IV. Zur Morphinalkaloidführung von Papaver somniferum und Papaver bracteatum. Pharm. Acta. Helv. 1985; 60: 302-310
12. **Broszat, W.:** Der Mohn (Papaver somniferum L.) - Anbau und Markt einer wiederentdeckten Kulturpflanze. Der Tropenlandwirt 1992; 47
13. **Bruhn, H.D., Fölsch, U.R., Schäfer, H.** (2008): Labormedizin: Indikationen, Methodik und Laborwerte, Pathophysiologie und Klinik, 162, Schattauer Verlag, Stuttgart

14. **Brunk, S.F., Delle, M.:** Morphine metabolism in man. *Clin Pharmacol Ther.* 1974;16:51-7
15. **Caplan, Y.H., Goldberger, B.A.:** Alternative specimens for workplace drug testing. *Journal of Analytical Toxicology.* 2001 Jul 1;25(5):396-9.
16. **Carlin MG, Dean JR, Ames JM.** Opium Alkaloids in Harvested and Thermally Processed Poppy Seeds. *Front Chem.* 2020 Aug 27;8:737
17. **Cassella, G., Wu, A.H., Shaw, B.R., Hill, D.W.:** The analysis of thebaine in urine for the detection of poppy seed consumption. *J. Anal. Toxicol* 1997; 21: 376-383
18. **Clausnitzer, C., Grosse, J., Neitzel, P. :** Mohnkuchen als mögliche Ursache von positiven Befunden bei Dopingkontrollen. *Med. Sport (Berl.)* 1991, 31, 92-94
19. **Concheiro M, Newmeyer MN, da Costa JL, Flegel R, Gorelick DA, Huestis MA.** Morphine and codeine in oral fluid after controlled poppy seed administration. *Drug Test Anal.* 2015 Jul; 7(7): 586-91
20. **Cone, E.J., Jenkins A.J. (1997):** Saliva Drug Analysis. In: Wong SHY, Sunshine I, eds. *Handbook of Analytical Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology.* Boca Baton, Florida: CRC Press, 303-33
21. **Cone, E.J.:** Saliva testing for drugs of abuse. *Ann. N Y Acad. Sci.* 1993; 694: 91-127
22. **Cone, E.J., Huestis, M.A.:** Interpretation of oral fluid tests for drugs of abuse. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1098: 51–103
23. **Devereaux, A.L., Mercer, S.L., Cunningham, C.W.:** DARK Classics in Chemical Neuroscience: Morphine. *ACS Chem Neurosci.* 2018; 9(10): 2395-2407
24. **Dierich, O. (2007):** Speichel als alternatives Untersuchungsmaterial zur Drogenanalytik mittels Immunoassay: Ein Vergleich zu verschiedenen Nachweisverfahren im Urin in drogentherapeutischen Einrichtungen. *Med. Diss., München*
25. **Dinis-Oliveira RJ.** Metabolism and metabolomics of opiates: A long way of forensic implications to unravel. *J Forensic Leg Med.* 2019 Feb; 61:128-140
26. **Draeger, Dräger DrugTest® 5000, © 2017 Drägerwerk AG & Co. KGaA**
https://www.draeger.com/en_uk/Products/DrugTest-5000#technical-data
zuletzt abgerufen 02.10.2020
27. **Drasch, G., v. Meyer, L., Sachs, H., Roider, G. (1996):** Morphin-Gehalt in Mohnsamen (Blaumohn). Vortrag auf der 75. DGRM-Jahrestagung in Zürich

- 28. EFSA CONTAM Panel** (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), Update of the Scientific Opinion on opium alkaloids in poppy seeds. Knutsen HK, Alexander J, Barregard L, Bignami M, Bruschweiler B, Ceccatelli S, Cottrill B, Dinovi M, Edler L, Grasl-Kraupp B, Hogstrand C, Hoogenboom LR, Nebbia CS, Oswald IP, Petersen A, Rose M, Roudot A-C, Schwerdtle T, Vollmer G, Wallace H, Benford D, Calo G, Dahan A, Dusemund B, Mulder P, Nemeth-Zamborin E, Arcella D, Baert K, Cascio C, Levorato S, Schutte M and Vleminckx C. *EFSA Journal* 2018;16(5):5243,119 pp
- 29. ElSohly, H.N., ElSohly, M.A., Stanford, D.F.:** Poppy seed ingestion and opiates urinalysis: a closer look. *J. Anal. Toxicol.* 1990; 14: 308-310
- 30. ElSohly, H.N., Stanford, D.F., Jones, A.B., ElSohly, M.A., Snyder, H., Pedersen, C.:** Gas chromatographic/mass spectrometric analysis of morphine and codeine in human urine of poppy seed eaters. *J. Forensic Sci.* 1988; 33: 347-356
- 31. Etmüller, K.** (2009): Evaluation von immunochemischen Testverfahren für das „Roadside Testing“ von Missbrauchsdrogen in Speichel, *Med. Diss., Homburg/Saar*
- 32. FAO (Food and Agriculture Organization),** Anbaustatistik Schlafmohn 2017. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>, zuletzt abgerufen 01.01.2020.
- 33. Fiedler, H.** (2019). Kreuzreaktivität. In: Gressner, A.M., Arndt, T. (eds) *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik.* Springer Reference Medizin. Springer, Berlin, Heidelberg
- 34. Forth, W., Henschler, D., Rummel, W., Starke, K.** (1992): *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* 6. Auflage, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim
- 35. Freye, E.** (2004): *Opioide in der Medizin,* S. 369, Springer, Berlin und Heidelberg
- 36. Fritschi, G., Prescott, W.R.:** Morphine levels in urine subsequent to poppy seed consumption. *Forensic Sci. Int.* 1985; 27(2): 111-117
- 37. Geschwinde, T.** (2018): *Rauschdrogen: Marktformen und Wirkungsweisen.* 8. Aufl., Springer Verlag, Heidelberg
- 38. Girod, C., Staub, C.:** Acetylcodeine as a marker of illicit heroin in human hair: method validation and results of a pilot study. *J Anal Toxicol.* 2001; 25: 106-111

- 39. Grove, M.D., Spencer, G.F., Wakeman, M.V., Tookey, H.L.:** Morphine and codein in poppy seed. *J Agric Food Chem.* 1976 ; 24(4): 896-897
- 40. Hampl, J., Hall, M., Mufti, N.A.:** Upconverting phosphor reporters in immunochromatographic assays. *Analytical Biochemistry* 2001; 288:176 -187
- 41. Hauck, C.** (1990): Zum Opiatgehalt von Körperflüssigkeiten nach dem Genuß von Mohnsamen. *Med. Diss., München*
- 42. Hayes, L.W., Krasselt, W.G., Mueggler, P.A.:** Concentrations of morphine and codeine in serum and urine after ingestion of poppy seeds. *Clin. Chem.* 1987; 33: 806-808
- 43. Herdegen, T.** (2019): *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*, S. 376-394, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- 44. Iten, P.X.** (1994): *Fahren unter Drogen- oder Medikamenteneinfluss- Forensische Interpretation und Begutachtung*. 1. Aufl. Institut für Rechtsmedizin der Universität Zürich, Zürich
- 45. Jantzen, T.:** *Klinische Pharmakologie und Anwendung von Morphin, Ketamin und Midazolam*. *Notarzt* 2009; 25(1): 11-16
- 46. Jurna, I.:** Sertürner and morphine- a historical vignette. *Schmerz.* 2003; 17(4): 280-3
- 47. Kapoor, L.D.** (1995): *Opium poppy: botany, chemistry, and pharmacology*. Haworth Press, London
- 48. Kauert, G.F.:** *Drogennachweis im Speichel vs. Serum. Blutalkohol* 2000; 37: 76-83
- 49. Kollias-Baker, C., Sams, R.:** Detection of morphine in blood and urine samples from horses administered poppy seeds and morphine sulfate orally. *J Anal. Toxicol.* 2002 ; 26: 81-86
- 50. Leinenkugel, A.S.** (2010): *Systematische Untersuchung zur Bestimmung maximal möglicher Morphinkonzentrationen im Serum nach Konsum von Mohnsamen*. *Med. Diss., Kiel*
- 51. Lepper, H.:** *Bayrisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit*. https://www.lgl.bayern.de/lebensmittel/warengruppen/wc_23_huelsenfruechte_sc_halenobst/morphin_speisemohn_risikoanalyse.htm, Dokument aktualisiert am 28.09.2005, zuletzt abgerufen am 02.10.2020
- 52. Lo, D.S., Chua, T.H.:** Poppy seeds: implications of consumption. *Med. Sci. Law.* 1992; 32: 296-302

- 53. López, P., Pereboom-de Fauw, DPKH., Mulder, PPJ., Spanjer, M., de Stoppelaar, J., Mol, HGJ., de Nijs, M.:** Straightforward analytical method to determine opium alkaloids in poppy seeds and bakery products. *Food Chem.* 2018; 242: 443-450
- 54. Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M.** (2003): *Pharmakologie und Toxikologie Arzneimittelwirkungen verstehen - Medikamente gezielt einsetzen*, Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- 55. Magiera, E.S.** (2008): *Kritische Untersuchungen zur Bedeutung der Bestätigungsanalyse bei Drogen-Immunoassays und zu Risiken von Sparmaßnahmen beim Drogenscreening*. Med. Diss., Gießen
- 56. Manns, A., Steinmeyer, S., Polzius, R.:** Dräger DrugCheck™ – Drogennachweis in Speichelproben. Ein einfacher und präziser Schnelltest zur Anwendung vor Ort. *Suchtmed* 2006; 4: 215 – 216
- 57. Meadway, C., George, S., Braithwaite, R.:** Opiate concentrations following the ingestion of poppy seed products - evidence for 'the poppy seed defence'. *Forensic Sci. Int.* 1998; 96, 29-38
- 58. Mellett, L.B., Woods, L. A.:** The distribution and fate of morphine in the non-tolerant and tolerant monkey. *J Pharmacol Exp Ther.* 1956 Jan; 116(1):77-83
- 59. Möller, G., Meyer, S., Bauer, K., Hönic, U., Manns, A., Steinmeyer, S.:** Evaluierung des Einsatzes von Speicheltests zur Beigebrauchskontrolle in einer Schwerpunktpraxis für Substitution. *Suchtmed.* 2005; 7: 138
- 60. Möller, M.R., Hammer, K., Engel, O.:** Poppy seed consumption and toxicological analysis of blood and urine samples. *Forensic Sci. Int.* 2004; 143: 183-186
- 61. Mulé, S.J., Casella, G.A.:** Rendering the "poppy-seed defense" defenseless: identification of 6-monoacetylmorphine in urine by gas chromatography/mass spectroscopy. *Clin. Chem.* 1988; 34: 1427-1430
- 62. Musshoff, F., Lachenmeier, D., Madea, B.,** (2004): *Haaranalytik- Technik und Interpretation in Medizin und Recht. Opiate*. Deutscher Ärzte- Verlag, Köln
- 63. Musshoff F, Hokamp EG, Bott U, Madea B.** Performance evaluation of on-site oral fluid drug screening devices in normal police procedure in Germany. *Forensic Sci Int.* 2014 May; 238:120-4.
- 64. Mutschler, E.** (2001): *Arzneimittelwirkungen*. 8. Auflage, WVG mbH, Stuttgart

- 65. Nadzeika, J., Weddern, O.** (2012): Sicherheit im Straßenverkehr, Alkohol - Drogen – Medikamente, Reihe: Polizei und Sicherheitsmanagement Bd. 9. Lit, Münster – Hamburg - London
- 66. Niedbala a, R.S., Kardos, K., Waga, J., Fritch, D., Yeager, L., Doddamane, S., Schoener, E.:** Laboratory analysis of remotely collected oral fluid specimens for opiates by immunoassay. *J. Anal. Toxicol.* 2001; 25: 310-315
- 67. Niedbala b, R.S., Feindt, H., Kard Bourdelle, K., Vallejo, R.:** Detection of analytes by immunoassay using up-converting phosphor technology. *Analytical Biochemistry* 2001; 293: 22-30
- 68. Paul, B.D., Dreka, C., Knight, E.S., Smith, M.L.:** Gas chromatographic/mass spectrometric detection of narcotine, papaverine and thebaine in seeds of papaver somniferum. *Planta Med.* 1996: 62; 544-547
- 69. Peck, T.E., Harris, B.** (2021): Pharmacology for Anaesthesia and Intensive Care. 5th ed., S.127-156, Cambridge University Press, Cambridge
- 70. Pelders, M.G., Ros, J.J.:** Poppy seeds: differences in morphine and codeine content and variation in inter- and intra-individual excretion. *J. Forensic Sci.* 1996; 41: 209-212
- 71. Pettitt, B.C., Dyszel, S.M., Hood, L.V.:** Opiates in poppy seed: effect on urinalysis results after consumption of poppy seed cake-filling. *Clin.Chem.* 1987; 33: 1251-1252
- 72. Pötsch, L., Skopp, G.:** Zu Möglichkeiten und Grenzen chemisch-toxikologischer Untersuchungen an nicht konventionellen Asservaten. Tagungsband GTFCh-Symposium Mosbach 1997; 70-88
- 73. Radtke, R., Statista:**
<https://de.statista.com/statistik/daten/studie/37256/umfrage/anbauflaeche-fuerschlafmohn/>, veröffentlicht 27.06.2019, zuletzt abgerufen 01.01.2020
- 74. Reichardt, E.M., Baldwin, D., Osselton, M.D.:** Effects of oral fluid contamination on two oral fluid testing systems. *J Anal Toxicol.* 2013; 37(4): 246-9
- 75. Rigg, JR., Browne, RA., Davis, C., Khandelwal, JK., Goldsmith, CH.:** Variation in the disposition of morphine after i.m. administration in surgical patients. *Br J Anaesth.* 1978; 50:1125-30
- 76. Rochholz, G., Westphal, F., Wiesbrock, U.O., Schütz, H.W.:** Opiat-Nachweis in Urin, Blut und Haaren nach Verzehr mohnsamenhaltiger Backwaren. *Blutalkohol* 2004; 41: 319-329

- 77. Röhrich, J., Schmidt, K., Kauert, G.:** Drogennachweis im Speichel mit dem Immunoassay Triage. *Blutalkohol* 1997; 34
- 78. Rohrig, T.P., Moore, C., Stephens, K., Cooper, K., Coulter, C., Baird, T., Garnier, M., Miller, S., Tuyay, J., Osawa, K., Chou, J., Nuss, C., Collier, J., Wittman, K.C.:** Roadside drug testing: An evaluation of the Alere DDS-2 mobile test system. *Drug Test Anal.* 2018; 10(4): 663-670
- 79. Rohrig, T.P., Moore, C.:** The determination of morphine in urine and oral fluid following ingestion of poppy seeds. *Journal of Analytical Toxicology* 2003; 27: 449-452
- 80. Samano, K.L., Clouette, R.E., Rowland, B.J., Sample, R.H.:** Concentrations of Morphine and Codeine in Paired Oral Fluid and Urine Specimens Following Ingestion of a Poppy Seed Roll and Raw Poppy Seeds. *J Anal Toxicol.* 2015; 39: 655-61
- 81. Samyn, N., van Haeren, C.:** On-site testing of saliva and sweat with Drugwipe and determination of concentrations of drugs of abuse in saliva, plasma and urine of suspected users. *International Journal of Legal Medicine* 2000; 150-154
- 82. Säwe, J., Kager, L., Svensson, Eng JO., Rane, A.,:** Oral morphine in cancer patients: in vivo kinetics and in vitro hepatic glucuronidation. *Br J Clin Pharmacol.* 1985;19:495-501
- 83. Schäfer, J. (2008):** Bestimmung von Amphetaminderivaten und verwandten Designer-Drogen im Serum – Screening, Identifizierung und Quantifizierung mittels Immunchemie und Gaschromatographie/ Massenspektrometrie. *Med. Diss., Kiel*
- 84. Schuppener, LM., Corliss, RF.:** Death Due to Complications of Bowel Obstruction Following Raw Poppy Seed Ingestion. *J Forensic Sci.* 2018; 63(2): 614-618.
- 85. Schramm, W., Smith, R.H., Craig, P.A., Kidwell, D.A.:** Drugs of abuse in saliva: a review. *J. Anal. Toxicol.* 1992; 16: 1-9
- 86. Selavka, C.M.:** Poppy seed ingestion as a contributing factor to opiate-positive urinalysis results: the pacific perspective. *J. Forensic Sci.* 1991; 36: 685-696
- 87. Shetge SA, Dzakovich MP, Cooperstone JL, Kleinmeier D, Redan BW.** Concentrations of the Opium Alkaloids Morphine, Codeine, and Thebaine in Poppy Seeds are Reduced after Thermal and Washing Treatments but are Not

- Affected when Incorporated in a Model Baked Product. *J Agric Food Chem.* 2020 May 6;68(18):5241-5248
- 88. Spiehler, V.** (2011): Drugs in saliva. In Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B. (Hrsg.), *Clarke's analysis of drugs and poisons*, 4th edition, 308–322, Pharmaceutical Press, London
- 89. Sproll, C., Perz, R.C., Lachenmeier, D.W.:** Optimized LC/MS/MS analysis of morphine and codeine in poppy seed and evaluation of their fate during food processing as a basis for risk analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 5292-5298
- 90. Sproll, C., Perz, R.C., Buschmann, R., Lachenmeier, D.W.:** Guidelines for reduction of morphine in poppy seed intended for food purposes. *Eur. Food Res. Technol.* 2007; 226(1-2): 307-310
- 91. Sproll, C., Lachenmeier, D.W.:** Methodische Fehler bei der forensischen Interpretation der Folgen des Konsums von mohnhaltigen Lebensmitteln. *Blutalkohol*, 2007; 44: 360-369
- 92. Steinmeyer, S., Polzius, R., Fritch, D., Niedbala, S., Manns, A.:** Einsatz des Dräger DrugTest für den Drogen-Nachweis vor Ort. Tagungsvortrag bei der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin. 2003
- 93. Steinmeyer, S., Polzius, R., Manns, A.** (2005): Dräger DrugTest®: Test for illegal Drugs in Oral-Fluid Samples. In: Wong, R.C., Tse, H.Y. (Hrsg.) *Drugs of abuse: body fluid testing*. S. 133–145, Totowa, NJ: Humana Press
- 94. Strano-Rossi, S., Castrignanò, E., Anzillotti, L., Serpelloni, G., Mollica, R., Tagliaro, F., Pascali, JP., di Stefano, D., Sgalla, R., Chiarotti, M.:** Evaluation of four oral fluid devices (DDS®, Drugtest 5000®, Drugwipe 5+® and RapidSTAT®) for on-site monitoring drugged driving in comparison with UHPLC-MS/MS analysis. *Forensic Sci Int.* 2012 Sep 10;221(1-3):70-6
- 95. Struempfer, R.E.:** Excretion of codeine and morphine following the ingestion of poppy seeds. *J Anal Toxicol.* 1988; 11(3): 97-99
- 96. Tamama K.:** Advances in drugs of abuse testing. *Clin Chim Acta.* 2021 Mar;514:40-47
- 97. Thevis, M., Opfermann, G., Schänzer, W.:** Urinary concentrations of morphine and codeine after consumption of poppy seeds. *J. Anal. Toxicol.* 2003; 27: 53-56

- 98. Toennes, S.W., Steinmeyer, S., Maurer, H.J., Moeller, M.R., Kauert, G.F.:** Screening for drugs of abuse in oral fluid--correlation of analysis results with serum in forensic cases. *Journal of Analytical Toxicology* 2005; 29: 22-27
- 99. Verstraete, A.G., Raes E.** (2006): Rosita-2 project, Final Report [Bericht] - Ghent University, Belgium
- 100. Vollrath, M., Sachs, H.: Bernwald, B., Krüger, H.-P.,** "Drogen im Straßenverkehr", Bundesanstalt für Straßenwesen 2002; bast (eds) M 145
- 100. Woods, L.A.:** Distribution and fate of morphine in non-tolerant and tolerant dogs and rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1954; 112:158-75
- 101. Xu F, Laguna L, Sarkar A.** Aging-related changes in quantity and quality of saliva: Where do we stand in our understanding? *J Texture Stud.* 2019 Feb;50(1):27-35
- 101. Zimmermann, J.** (2003): Nachweis von Amphetaminderivaten im Speichel mittels immunchromatographischer Teststreifen und enantioselektiver Kapillarelektrophorese. *Med. Diss., Hamburg*

7. Anhang

A. Ethikantrag

Universitätsklinikum S-H; Campus Kiel
Arnold-Hellerstr.12, 24105 Kiel
Postf. 4325, 24042 Kiel
Institut für Rechtsmedizin
Tel.: (0431) 597-3600/01
Direktor: Prof. Dr. med. M. Oehmichen

Kiel, 18. Dezember 2003

Herrn Prof. Dr. J. Schaub
Vorsitzender der Ethikkommission
der Medizinischen Fakultät der CAU zu Kiel
Schwanenweg 20
24105 Kiel

Wissenschaftliches Projekt
„Bestimmung der Morphinkonzentration im Blut nach Verzehr mohnsamenhaltiger
Lebensmittel“

Sehr geehrter Herr Professor Schaub,

am Institut für Rechtsmedizin ist unter meiner Leitung geplant, die Morphinkonzentration im Blut nach Aufnahme von mohnsamenhaltigen Backwaren (Mohnkuchen) zu bestimmen, da es Hinweise darauf gibt, dass es nach Aufnahme von mohnsamenhaltigen Lebensmitteln zu positiven Opiat-Bestimmungen im Blut kommen kann.

Prof. Dr. med. M. Oehmichen

B. Versuchsprotokoll

Wissenschaftliches Projekt

„Nachweis von Morphin im Blut, Urin und Speichel nach Genuss von Mohnsamen“

Versuchsprotokoll:

Projektleiter:

Prof. Dr. med. M. Oehmichen (Direktor des Instituts für Rechtsmedizin im Universitätsklinikum, Campus Kiel)

Mitarbeiter:

- Frau Dr. rer. nat. G. Rochholz,
- Dr. rer. nat F. Westphal
- Dr. rer. nat. H.W. Schütz
- U. Wiesbrock, Arzt
- Frau cand. med. A. Leinenkugel
- Herr cand. med. D. Gheorghiu

Ziel der geplanten Untersuchung

Im Rahmen von verkehrsmedizinischen Fragestellungen soll geklärt werden, ob nach Genuss großer Mengen von Mohnsamen (deren absoluter Morphingehalt sich zuvor als sehr hoch erwiesen hat) ein positiver Morphin-Nachweis im Blut möglich ist, da allein der Nachweis von freiem Morphin zu einer Ahndung nach § 24a StVG führen kann. Parallel dazu sollen Speichelproben untersucht werden, um herauszufinden, inwieweit deren Ergebnisse mit denen im Blut korrelieren. Die zusätzliche Untersuchung von Urinproben soll dazu dienen, die Studie in der Gesamtheit der bisher vorliegenden Literatur einordnen zu können.

Hintergrund

Die Samen des Schlafmohns (*Papaver somniferum* L.) dienen vor allem als Backzutaten zur Erzeugung von Bäckereiprodukten. Während die Samen selbst keine Opiumalkaloide, wie z.B. Morphin und Codein enthalten, können die Samen mit dem Milchsaft der Pflanze kontaminiert sein, der seinerseits wegen des hohen Opiat-Gehaltes zur Gewinnung von

Morphin und damit auch zur Herstellung von Heroin dient. Eine Unterscheidung der Herkunft des Morphins in menschlichen Körperflüssigkeiten aus kontaminierten Mohnsamen oder als Abbauprodukt von Heroin ist nur dann möglich, wenn der Heroinmarker 6-Monoacetylmorphin (6-MAM) nachgewiesen werden kann, was jedoch nur bei sehr zeitnahe Heroinkonsum zu erwarten ist. Eine Unterscheidung über die vorliegenden Begleitalkaloide, z.B. Thebain oder Papaverin ist nach heutigem Kenntnisstand nicht möglich.

Das Phänomen, dass Mohnsamengenuss häufig zu positiven Opiat-Befunden im Urin führt, ist eingehend untersucht. Ob sich korrespondierend zu positiven Morphin-Befunden im Urin freies Morphin im Blut nachweisen lässt, wird hingegen kontrovers diskutiert. Bei der Aufnahme großer Mengen stark kontaminierter Mohnsamen mit Gehalten $>100 \mu\text{g/g}$ ist dies theoretisch denkbar, bislang aber nicht systematisch geklärt. Auch die Speichelkonzentrationen nach Mohnsamenverzehr wurden bislang nicht systematisch betrachtet.

Konzept der geplanten Untersuchungen

Es sollen Essversuche mit 20 freiwilligen Probanden durchgeführt werden, die große Mengen im Handel erhältlicher stark kontaminierter Mohnsamen verzehren. Von diesen Probanden sollen in regelmäßigen Abständen Blut- und Speichelproben und ergänzend einige Urinproben entnommen und untersucht werden, um ein möglichst umfassendes Bild über die Körperpassage von Morphin nach Mohnsamenverzehr und auch Aussagen über die Validität von Vortests aus verschiedenen Körperflüssigkeiten zu erhalten. Ein Einzelprojekt soll sich mit der Blutanalytik und der erforderlichen Methodvalidierung befassen, das zweite Einzelprojekt mit der Speichel- und Urinanalytik. Im Rahmen des zweiten Einzelprojektes soll ein Vergleich mit den Ergebnissen der Blutanalytik gezogen und auch auf einen Speichelvortest eingegangen werden.

Relevanz der Untersuchungen

Sollte sich die Annahme, dass der Genuss von Mohnbackwaren unter bestimmten Bedingungen zu einem Nachweis von freiem Morphin im Blut führen kann, bestätigen, wäre dies für die juristische Bewertung, ob §24a StVG Anwendung finden kann, durchaus relevant. Dann wäre auch interessant, inwieweit sich aus leicht zugänglichen Speichelproben Schlüsse auf die Blutkonzentrationen ziehen lassen.

Ein- und Ausschlusskriterien zur Studienbeteiligung:

Einschlusskriterien für Probanden

- ° volljährige Probanden beiderlei Geschlechts, die sich freiwillig an dem Versuch beteiligen.

- ° Bei den Probanden ist keine Gerinnungsstörung bekannt und es besteht keine Neigung zur Thrombose

- ° Die Probanden stehen unter keiner immunsuppressiven Medikation

- ° bestehende Einwilligungsfähigkeit bei der Aufnahme (Feststellung durch den versuchsleitenden Arzt)

Abbruch der Studienbeteiligung

- ° Komplikationen bei der Blutentnahme
- ° jederzeitige Beendigung auf Wunsch des Probanden

Risiken und Schutzmaßnahmen

Komplikationen könnten bei den Probanden bei der Blutentnahme entstehen . Dabei kann es zu einer Unterblutung/Hämatom oder Thrombosebildung kommen. Auch bakterielle Infektionen könnten als Komplikation auftreten. Diese Komplikationen sind jedoch extrem selten, gut behandelbar und in der Regel ungefährlich.

Die Blutentnahme der Probanden wird unter Aufsicht eines Arztes durchgeführt, der bei eventuell auftretenden Komplikationen den Probanden von der Studie ausschließt, wobei eventuell erforderlich werdende Behandlungsmaßnahmen sichergestellt sind. Weiterhin besteht während der gesamten Versuchsdauer eine ärztliche Überwachung.

In Anbetracht der Ungefährlichkeit einfacher Blutentnahmen erscheint eine Versicherung der Probanden entbehrlich.

Dieser Antrag ist bisher bei keiner anderen Ethik-Kommission gestellt worden.

C. Aufklärungsbogen

Wissenschaftliches Projekt „Bestimmung der Blutmorphinkonzentration nach Verzehr mohnsamenhaltiger Lebensmittel“

Aufklärungsbogen (Proband/Probandin)

Sehr geehrte Versuchsteilnehmerin, sehr geehrter Versuchsteilnehmer,
Sie sind bereits von uns angesprochen worden, wir möchten Sie hiermit schriftlich um
Mithilfe bei einem wissenschaftlichen Projekt bitten.

Wer sind wir?

Wir sind eine wissenschaftliche Arbeitsgruppe am Institut für Rechtsmedizin des
Universitätsklinikum S-H, Campus Kiel. Falls Sie mit uns persönlich Kontakt aufnehmen
möchten stehen Ihnen der Projektleiter Prof. Dr. med. M. Oehmichen, Frau Dr. rer. nat. G.
Rochholz bzw. U. Wiesbrock gerne für ein Gespräch zur Verfügung (0431/5973600 oder-
3606).

Welches sind die Ziele unseres wissenschaftlichen Projektes?

Ein Nachweis von freiem Morphin im Blut nach Verzehr mohnsamenhaltiger Lebensmittel
hätte erhebliche Auswirkungen im Hinblick auf die Anwendbarkeit des § 24a StVG.
Danach handelt ordnungswidrig, wer unter der Wirkung z.B. von Morphin oder Heroin im
Straßenverkehr ein Kraftfahrzeug führt. Von einer Wirkung wird ausgegangen, wenn
Morphin im Blut nachgewiesen wird. Wir wollen überprüfen ob sich nach Verzehr
mohnsamenhaltiger Lebensmittel (z.B. Mohnkuchen) freies Morphin im Blut nachweisen
lässt. Es ist beabsichtigt, 20 Probanden
(Medizinstudenten/Kommilitonen/Kommilitoninnen) in die Studie einzubeziehen. Alle
Probanden verzehren zum gleichen Zeitpunkt (10.00 Uhr) eine definierte Menge Mohn in
Form von Mohnkuchen oder vermischt mit Milchreis.
Dazu werden Sie in zwei Gruppen eingeteilt, wobei die eine Gruppe (15 Probanden) vor
der Mohnaufnahme frühstücken darf, während die zweite Gruppe (5 Probanden) gebeten
wird den Essversuch im nüchternen Zustand anzutreten.

Sie werden gebeten direkt vor dem Verzehr des Mohnkuchens eine Urinprobe abzugeben. Im Folgenden werden Sie drei Stücke Mohnkuchen ohne größere Pausen zu sich nehmen. Sie bleiben dann unter Aufsicht, wobei nach der ersten, zweiten, vierten und achten Stunde nach Verzehr jeweils 10 mL Blut entnommen werden. Am folgenden Tag ist geplant genau 24 Stunden nach Projektstart noch einmal 10 mL Blut von Ihnen zu entnehmen. Insgesamt handelt es sich dabei um 5 Blutentnahmen mit jeweils 10 mL Blut mit einem Endvolumen von 50 mL. Dies würde ca. 2-3 Esslöffeln entsprechen. Die Blutentnahmen werden entweder durch das Legen eines Venen-Verweil-Katheters oder durch direkte Venenpunktion durchgeführt.

Mögliche Komplikationen:

Die Blutentnahme stellt das einzige Risiko dar:

Es kann beim Legen eines Venen-Verweil-Katheters bzw. durch wiederholte Blutentnahmen zu leichten Unterblutungen an der Einstichstelle kommen, wie auch zur Thrombenbildung (d.h. Verlegung eines Blutgefäßes durch ein Blutgerinnsel). Weiterhin kann es durch die Blutentnahme zu bakteriellen Infektionen kommen. Diese Komplikationen sind als äußerst selten einzustufen und gut behandelbar. Einzelne Venenpunktionen tragen ein geringeres Risiko bezüglich Thrombenbildung und Infektionen. Eine bekannte Gerinnungsstörung oder eine erhöhte Thromboseneigung, genauso wie eine Immunsuppression führen zu einem erhöhtem Risiko, so dass diese Dispositionen zum Ausschluss von der Studie führen.

Datenschutz:

Die Angaben zu den Blutproben werden anonymisiert bearbeitet, d.h. die Erhebung der Daten und die Auswertung erfolgen ohne Angaben personenbezogener Daten wie Name und Geburtsdatum. Ein späterer Rückschluss auf Ihre Person ist daher ausgeschlossen. Falls Sie etwas nicht verstanden haben oder genauere Auskünfte über Einzelheiten wünschen, fragen Sie bitte vor Beginn des Projektes.

D. Einverständniserklärung

Universitätsklinikum S-H, Campus Kiel
Institut für Rechtsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. M. Oehmichen

Arnold-Hellerstr.12, 24105Kiel
Postf. 4325,24042 Kiel
Tel.: (0431) 597-3600/01

„Wissenschaftliches Projekt“

Nachweis von Morphin im Blut, Urin und Speichel nach Genuss von Mohnsamen

Einverständniserklärung (Proband/Probandin)

Ich nehme freiwillig an einer Untersuchung des Institutes für Rechtsmedizin an dem Universitätsklinikum S-H, Campus Kiel teil, bei der die Morphinkonzentration im Blut nach Verzehr von mohnsamenhaltigen Lebensmitteln (Mohnkuchen, Joghurt usw.) gemessen wird.

Dazu wird mir nach Verzehr des Mohnkuchens nach der ersten Stunde, nach der zweiten, nach 4 Stunden und nach 6 Stunden jeweils eine Blutprobe von jeweils 10 mL entnommen. 24 Stunden nach Beginn der Versuchsreihe wird mir dann erneut eine letzte Blutprobe von 10 mL entnommen.

Insgesamt handelt es sich dann um 5 Blutproben mit einem Gesamtvolumen von 50 mL (entspricht ca. 2-3 Esslöffeln), die mir abgenommen werden. Die Abnahme des Blutes erfolgt mittels Venenpunktion oder mittels eines Venen-Verweil-Katheters. Weiterhin gebe ich nach 15 min, 30min, 60 min, 90 min, 120 min und nach 4 und 8 Stunden jeweils eine Speichelprobe von ca. 1,5 mL ab. Weiterhin werde ich vor Beginn des Versuchs eine Urinprobe abgeben und im weiteren Verlauf des Versuchs mir mögliche Urinproben abgeben. Das Blut, die Speichel- und die Urinproben werden dann auf freies und gebundenes Morphin, sowie auf weitere Opioidalkaloide (Codein, Noscapin, Meconin, Papaverin, Thebain) untersucht. Bei der Datenauswertung wird kein Rückschluss auf meine Person möglich sein, da zur Probenkennzeichnung keine personenbezogenen Daten wie Name und Geburtsdatum verwendet werden und damit auch nicht zu einem späteren Zeitpunkt erscheinen können.

- ° Ich nehme freiwillig an dem Versuch teil. Es besteht keine Abhängigkeitsbeziehung zum Projektleiter.
- ° Ich bin darüber informiert, dass die Erhebung und Auswertung der Blut -, Speichel- und Urinproben im Zusammenhang mit meinen Daten ausschließlich anonym erfolgt.
- ° Mir sind keine Gerinnungsstörungen/ Thromboseneigungen bekannt; weiterhin ist mir keine Immunsuppression bekannt.

- ° Ich bin darüber unterrichtet worden, dass ich jederzeit ohne Angaben von Gründen von der Untersuchung zurücktreten kann, ohne dass mir dadurch Nachteile entstehen. Die Untersuchung endet ebenfalls, wenn Komplikationen auftreten sollten.
- ° Zu der Untersuchung habe ich ausführliche Informationen erhalten und meine Fragen wurden ausreichend beantwortet.
- ° Den Inhalt des Aufklärungsbogens habe ich verstanden.
- ° Ein Formular des Aufklärungsbogens und die Zweitschrift der Einwilligungserklärung wurden mir ausgehändigt.

Name _____

Adresse _____

Ort, Datum

Unterschrift des Probanden

Einwilligungsfähigkeit und Informiertheit des Probanden festgestellt:

Ort, Datum

Unterschrift des versuchsbegleitenden Arztes (U. Wiesbrock)

E. Gemessene Rohwerte der Konzentrationen an freiem Morphin und Gesamtmorphin im Blut und Speichel für alle Probanden des kontrollierten Mohn-Essversuchs sowie Mittelwerte aus freiem Morphin und Gesamtmorphin im Speichel

Proband	A			B			C			D			E		
	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
Morphin im Blut [ng/mL]	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
1 h nach Verzehrende	8,8	107		11,2	147		6,3	149		6,5	109		n.b.	124	
2 h nach Verzehrende	8,1	113		6,3	108		5,3	139		8,3	126		7,1	128	
4 h nach Verzehrende	4,7	81,2		8,7	353		4,9	n.b.		5,2	113		6,7	157	
8 h nach Verzehrende	pos	60,9		3,4	91		pos	135		3,5	78,7		6,2	188	
24 h nach Verzehrende	pos	10,3		neg	15,8		neg	n.b.		neg	3,7		pos	34,3	
Morphin im Speichel [ng/mL]	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel
1/4 h nach Verzehrende	64,5	43,6	54,1	153,5	191,6	172,6	35,7	67,0	51,4	105,5	135,1	120,3	648,6	606,7	627,7
1/2 h nach Verzehrende	26,1	29,2	27,7	97,5	85,0	91,3	39,6	38,6	39,1	56,1	57,5	56,8	28,1	133,5	80,8
3/4 h nach Verzehrende	40,8	40,2	40,5	19,1	19,3	19,2	25,7	25,9	25,8	n.a.	49,8	49,8	82,3	52,3	67,3
1 h nach Verzehrende	18,6	15,0	16,8	15,8	17,1	16,5	15,8	21,0	18,4	38,9	50,6	44,8	47,0	54,1	50,6
1 1/2 h nach Verzehrende	30,2	n.b.	30,2	24,5	25,6	25,1	9,9	3,8	6,9	46,7	n.b.	46,7	24,4	25,0	24,7
2 h nach Verzehrende	6,8	7,7	7,3	27,1	33,2	30,2	4,8	7,3	6,1	20,4	26,0	23,2	14,0	38,9	26,5
4 h nach Verzehrende	4,9	5,0	5,0	7,2	8,2	7,7	7,9	9,8	8,9	13,3	21,4	17,4	11,5	9,4	10,5
8 h nach Verzehrende	3,1	3,6	3,4	6,2	7,0	6,6	ca. 2,1	3,6	2,9	6,4	10,7	8,6	6,6	9,7	8,2

Proband	F			G			H			I			J		
	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
Morphin im Blut [ng/mL]	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
1 h nach Verzehrende	4,2	13,7		11,4	274		5,7	51,2		11,9	86,1		6,1	24,7	
2 h nach Verzehrende	5,4	41,1		9,8	187		4,9	68,3		10,9	106		8,9	68,6	
4 h nach Verzehrende	4,0	76,8		7,8	130		5,7	82,8		9,7	63,2		7,8	75,9	
8 h nach Verzehrende	3,5	100		3,4	63,4		pos	47,7		3,7	33,9		6,6	69,5	
24 h nach Verzehrende	neg	60,8		pos	15,2		neg	18		neg	8,3		pos	12	
Morphin im Speichel [ng/mL]	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel
1/4 h nach Verzehrende	85,2	96,2	90,7	43,0	46,4	44,7	8,4	8,5	8,5	11,2	16,0	13,6	19,0	20,2	19,6
1/2 h nach Verzehrende	35,6	37,2	36,4	18,9	15,7	17,3	8,2	6,6	7,4	11,5	11,0	11,3	5,0	7,8	6,4
3/4 h nach Verzehrende	15,0	19,3	17,2	17,2	13,0	15,1	3,1	n.a.	3,1	6,0	6,3	6,2	8,8	4,2	6,5
1 h nach Verzehrende	19,0	19,7	19,4	23,1	20,3	21,7	6,3	7,6	7,0	6,1	5,9	6,0	9,4	n.a.	9,4
1 1/2 h nach Verzehrende	10,1	25,5	17,8	13,3	13,5	13,4	2,8	2,8	2,8	5,0	4,4	4,7	8,4	n.a.	8,4
2 h nach Verzehrende	14,3	14,0	14,2	6,1	n.a.	6,1	6,6	n.a.	6,6	3,7	3,2	3,5	9,2	7,6	8,4
4 h nach Verzehrende	11,5	13,3	12,4	3,9	n.a.	3,9	n.a.	n.a.	n.a.	ca. 2,1	ca. 2,2	ca. 2,2	5,2	n.a.	5,2
8 h nach Verzehrende	5,8	7,0	6,4	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ca. 2,1	ca. 2,1	ca. 2,1	n.a.	3,8	3,8

Proband	K			L			M			N			O		
	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
Morphin im Blut [ng/mL]	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
1 h nach Verzehrende	3,1	80,7		3,1	25,3		3,5	23,3		11,0	166		5,2	20,4	
2 h nach Verzehrende	3,8	86,3		4,1	44,6		4,8	66,8		13,1	214		6,4	38,6	
4 h nach Verzehrende	pos	105		4,9	66,2		5,3	122		12,8	288		6,8	24,3	
8 h nach Verzehrende	pos	60,8		4,8	75,5		3,5	160		8,4	182		4,0	26,1	
24 h nach Verzehrende	neg	76,7		pos	30,5		neg	75,6		pos	18,6		neg	6,7	
Morphin im Speichel [ng/mL]	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel
1/4 h nach Verzehrende	24,2	21,0	22,6	61,4	60,8	61,1	45,9	49,2	47,6	137,4	70,6	104,0	10,2	11,4	10,8
1/2 h nach Verzehrende	10,6	13,1	11,9	18,0	15,9	17,0	21,2	23,0	22,1	58,1	63,6	60,9	9,2	7,6	8,4
3/4 h nach Verzehrende	4,7	n.b.	4,7	14,8	12,9	13,9	16,0	17,9	17,0	29,9	32,5	31,2	5,0	5,5	5,3
1 h nach Verzehrende	4,3	5,3	4,8	13,8	13,7	13,8	6,4	6,0	6,2	23,1	n.a.	23,1	8,2	7,9	8,1
1 1/2 h nach Verzehrende	3,7	3,5	3,6	9,4	10,6	10,0	13,4	8,8	11,1	16,0	17,8	16,9	2,9	5,0	4,0
2 h nach Verzehrende	2,9	3,2	3,1	n.a.	4,3	4,3	n.a.	10,1	10,1	10,8	10,2	10,5	3,6	4,4	4,0
4 h nach Verzehrende	n.a.	ca. 1,3	ca. 1,3	4,6	n.a.	4,6	6,8	n.a.	6,8	10,0	10,9	10,5	5,3	4,5	4,9
8 h nach Verzehrende	ca. 1,7	n.a.	ca. 1,7	3,8	4,4	4,1	n.a.	3,1	3,1	n.a.	5,4	5,4	ca. 1,5	ca. 1,7	ca. 1,6

Proband	P			Q			R			S			T		
	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
Morphin im Blut [ng/mL]	frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt		frei	gesamt	
1 h nach Verzehrende	10,2	54,8		17,3	146		5,0	35,4		3,7	13,8		ca. 2,5	36,5	
2 h nach Verzehrende	13,6	71,3		13,8	252		7,6	69		6,3	31,8		ca. 2,1	27,8	
4 h nach Verzehrende	13,6	109		11,3	294		4,9	89,5		9,4	74		ca. 1,5	17,2	
8 h nach Verzehrende	7,0	59,5		8,3	114		3,0	49,7		3,8	73		neg	10,7	
24 h nach Verzehrende	pos	15,0		pos	9,3		neg	8,9		neg	14,1		neg	3,8	
Morphin im Speichel [ng/mL]	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel	frei	gesamt	Mittel
1/4 h nach Verzehrende	92,9	61,4	77,2	142	n.b.	141,9	n.a.	57,9	57,9	9,9	12,9	11,4	n.a.	4,7	4,7
1/2 h nach Verzehrende	54,6	48,6	51,6	41,0	30,8	35,9	13,6	12,1	12,9	11,8	16,4	14,1	n.a.	3,9	3,9
3/4 h nach Verzehrende	25,6	29,4	27,5	15,1	n.b.	15,1	8,0	n.a.	8,0	8,3	n.b.	8,3	ca. 2,4	ca. 1,9	ca. 2,1
1 h nach Verzehrende	23,1	26,6	24,9	33,7	30,4	32,1	12,9	16,1	14,5	5,8	5,0	5,4	ca. 2,2	ca. 1,9	ca. 2,1
1 1/2 h nach Verzehrende	18,2	20,7	19,5	21,7	16,4	19,1	15,3	16,3	15,8	16,0	14,3	15,2	neg	neg	neg
2 h nach Verzehrende	13,1	12,0	12,6	22,3	23,0	22,7	10,0	13,6	11,8	11,7	13,4	12,6	n.a.	2,9	2,9
4 h nach Verzehrende	5,9	5,9	5,9	7,8	n.a.	7,8	9,6	8,2	8,9	4,8	4,5	4,7	neg	neg	neg
8 h nach Verzehrende	ca. 2,7	3,7	ca. 3,2	9,1	12,6	10,9	n.a.	3,8	3,8	7,0	8,2	7,6	neg	n.a.	neg

8. Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. jur. Dr. med. Kaatsch, Herrn Prof. Dr. med. M. Oehmichen, Frau Prof. Dr. med. Johanna Preuß-Wössner und Frau Dr. rer. nat. Rochholz für die freundliche Überlassung des Themas.

Herrn Dr. rer. nat. Schütz und Herrn Dr. rer. nat. Westphal danke ich für das Heranführen an das wissenschaftliche Arbeiten sowie für eine hervorragende Betreuung bei der Einarbeitung in die Labortechnik.

Einen ganz besonderen Dank spreche ich an Frau Dr. rer. nat. Rochholz aus, für Ihre Anregungen und hilfreichen Hinweise beim Ausarbeiten der Dissertation. Sie stand mir mit Rat und Tat zur Seite, obwohl etliche Jahre zwischen Beginn und Fertigstellung der Arbeit lagen.

Ferner danke ich Herrn Wiesbrock für die Mitwirkung am Versuchsentwurf und Herrn Steinmeyer der Firma Dräger für die freundliche theoretische und praktische Unterstützung.

Ich möchte mich auch noch herzlich bei meinen Eltern für das rege Interesse am Stand der Dinge und für die ewig wählende Hoffnung auf eine fertiggestellte Arbeit bedanken.

Ein besonderer Dank spreche Ich auch an Andrea Leinenkugel aus, ohne die „Alles“ nicht möglich gewesen wäre und an unsere drei Kindern Amelie, Luc und Ylva die Tatkräftig dazu beigetragen haben, dass die Fertigstellung der Dissertation so lange gedauert hat.