

## **IR/UV/VIS-Spektralphotometrie**

### **Nachweis aufgetragener Substanzen –**

### **zur Detektion von dopingrelevanten Stoffen im Pferdesport.**

(Das Verfahren ist geeignet für Veterinär- und Humananwendungen.)

Ein Arbeitsverfahren der optischen Spektroskopie, das auf der charakteristischen Absorption von Strahlung im sichtbaren und nicht sichtbaren infrarot- und ultravioletten Spektralbereich durch anorganische und organische Verbindungen beruht. Detektiert werden dabei für die entsprechenden Substanzen charakteristische Elektronenübergänge und UV Reflexionen. Absorbiert ein Stoff Licht im sichtbaren Bereich, so ist dieser gefärbt. Reflektiert ein Stoff Licht im UV Bereich, so ist dies der Nachweis über die Existenz eines Stoffes. Wird die spektrale Eigenschaft und die Wellenlänge anhand einer geeigneten UV Kamera bestimmt (gemessen), kann der Stoff anhand des Vergleiches mit bekannten spektralen Eigenschaften bestimmter Stoffe identifiziert werden.

Das neue Verfahren erlaubt die kurzfristige/sofortige Detektion und Identifizierung „nicht körpereigener“ Stoffe (dopingrelevanter Substanzen), gegenüber körpereigener Substanzen wie z.B. Blut, Lympheflüssigkeit, Tränenflüssigkeit, Wasser und Schweiß auf der Haut oder auf/im Fell.

Die nachfolgende konventionelle Dopingprobe (Blut, Urin) ist bei positiver Detektion eines dopingrelevanten Stoffes mit diesem Verfahren indiziert.

### **Erläuterung des Verfahrens:**

Das Spektrum einer Substanz im UV/VIS-Spektralbereich ist häufig charakteristisch. So ist z.B. bei organischen Molekülen das Vorhandensein von UV-Absorption der Nachweis eines  $\pi$ -Elektronensystem und die Stärke und die Lage der Absorption ein Maß für seine Ausdehnung. Bei bekanntem Grundmolekül können Substituenten durch ihren Einfluss auf das Spektrum erkannt werden. Die Prominenz der Reflexion kann ebenso Aufschluss über die Intensität geben.

Ein UV/VIS-Spektrum ist jedoch nur selten alleinig interpretativ analysierbar und kann damit nicht ohne ergänzende geeignete Verfahren wie IR-, MS oder NMR-Spektren die alleinige Grundlage einer Substanz-Identifizierung sein. Das leicht und mit wenig Substanz messbare UV/VIS-Spektrum kann alleinig jedoch eine gute Bestätigung einer anderweitigen Substanzidentifizierung darstellen. (Schneller Nachweis über die Detektion einer nicht körpereigenen Substanz.)

Die geringe alleinige Aussagekraft eines UV/VIS-Spektrums ist vor allem darin begründet, dass das UV/VIS-Spektrum nur einen Teil der Moleküle eines Stoffes abbildet. UV/VIS-Spektren können zudem sehr stark lösemittelabhängig sein und auch durch andere elektromagnetische Störeinflüsse verfälscht werden. UV/VIS-Spektren bieten also in der Regel nur in einem kleinen Teil des Gesamtspektralbereiches auswertbare Informationen über einen bestimmten Stoff, mit nur aus wenigen Absorptions- und Reflexionsbanden gewonnenen, bildgebend dargestellten Messwerten.

## **Erfindung:**

Die Kopplung von drei einzelnen bildgebenden Verfahren in einen Systemaufbau, der Aufzeichnung, Bildüberlagerung, Kontrollfunktionen und Auswertung zeitgleich ermöglicht.

Die Kopplung einer UV/VIS Kamera mit einer Infrarotkamera und einer visuellen Kamera unter gleicher Triggerung bietet erstmalig die vollständige Detektions- und Identifizierungsmöglichkeit aufgetragener Substanzen durch nicht invasive bildgebende Verfahren, mit sofortigem Auswertungsergebnis. Die gewonnenen Daten und Bildergebnisse aus diesem neuen Verfahren sind vollständig reproduzierbar. Das System kann analog sowie automatisch detektieren.

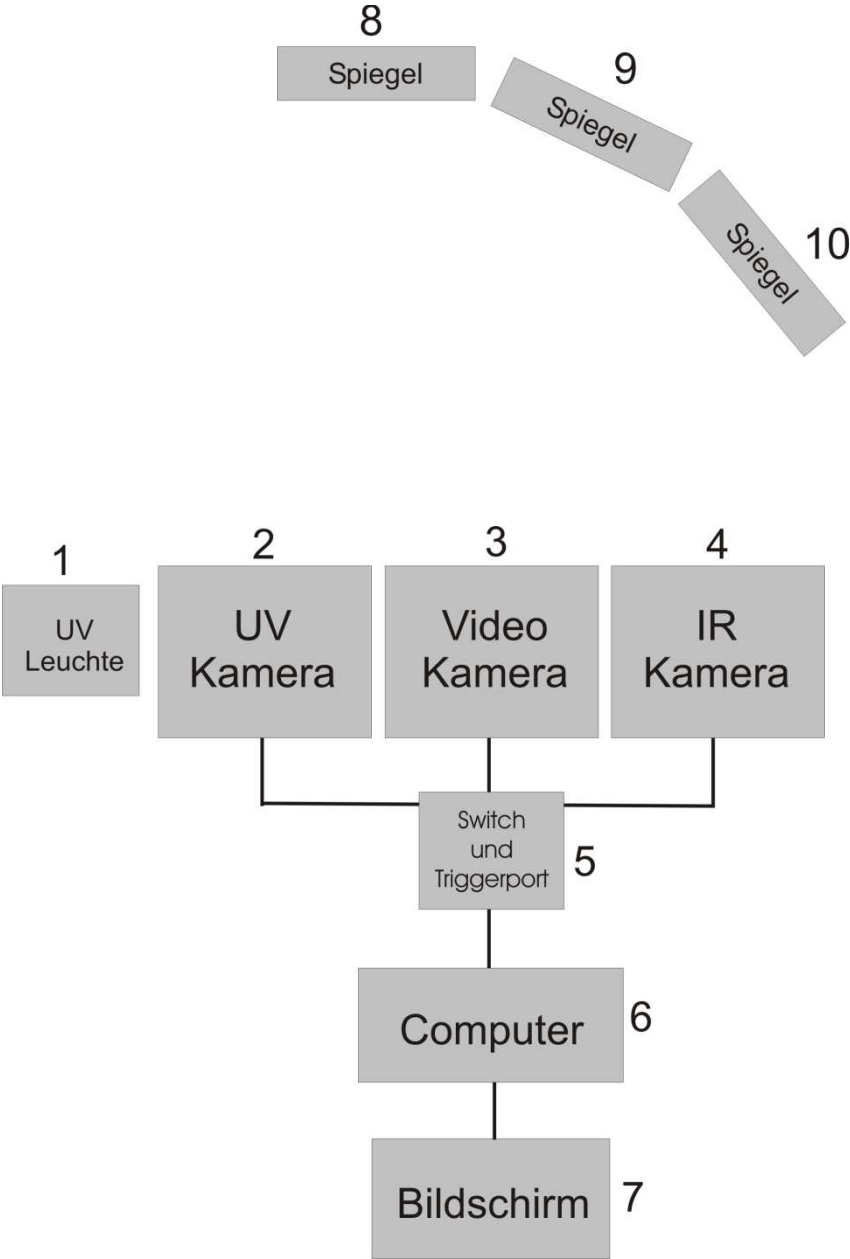
Das Verfahren ist gekennzeichnet dadurch, dass

- jedes einzelne bildgebende Verfahren seiner spektralen Eigenschaft und Empfindlichkeit entsprechend aufgeschlüsselt auf einem Bildschirm dargestellt und ablesbar ist,
- der gesamte Spektralbereich von  $<100\text{nm}$  bis  $14\mu$  vollständig detektiert und abgebildet wird,
- eine Software die Speicherung der übertragenen Daten aller Systemeinheiten entlang eines für alle System-Einheiten gleichen timecodes zulässt,
- eine Auswertesoftware die sofortige analoge oder automatische Erkennung bestimmter Spektren oder spektralspezifischer Eigenschaften aufgetragener Substanzen im bildgebenden Verfahren ermöglicht,
- alle Kameras, Sensoren und Detektoren in einem Gehäuse zusammengefasst, abgeschirmt und gegen Manipulation gesichert montiert sind,
- die Optiken der Kameras geometrisch synchronisiert montiert sind.

Wobei

- die in das System integrierte Infrarotkamera (*thermische Kamera*) dem Spektralbereich entsprechend Flüssigkeiten (*auch Creme, Gel, etc*) detektiert, die durch ihre Wirkungsweise (*Wirkstoffe*) eine Dichteänderung der Haut bewirken, wodurch die thermische Strukturänderung der Oberfläche im Infrarotbild sichtbar gemacht wird,
- die in das System integrierte UV-Kamera (UV/VIS) dem Spektralbereich entsprechend Flüssigkeiten (*auch Creme, Gel, etc*) detektiert, die durch ihre Wirkungsweise und chemische Zusammensetzung (*Wirk- und Hilfsstoffe*) präparatspezifische spektrale reflektive Eigenschaften besitzen (*Reflexionen verursachen*), die hiermit unter Verwendung eines geeigneten UV Leuchtmittels (*handelsüblich*) sichtbar gemacht, identifiziert und zugeordnet werden können,
- die in das System integrierte visuelle Kamera (*Videokamera*) als integriertes Kontrollverfahren wirkt, das den am timecode manifestierten justiziablen Videobeweis sicher stellt. Sichere Erkennung des gemessenen Objektes (Tier/Mensch), Farbtiefen, Oberflächenabweichungen, Inhomogenitäten und Differenzen in der Oberflächenstruktur (*durch Verletzungen, Narben, fehlendes Fell etc*), Pulveraufträge, sonstige Anhaftungen und Fremdkörper die die Messungen beeinflussen können aufgezeichnet und zur Fehlererkennung und Beweisführung hinzugezogen werden kann. Umgebungsbedingungen und etwaige für die Optiken, Sensoren und Detektoren relevante Störeinflüsse werden im Bild (*RGB/VGA*) festgehalten.
- durch Verwendung eines oder mehrerer geeigneter Spiegel in der Anordnung des Messaufbaus (*Prüf- oder Detektionslauf*) auch der Kameraoptik abgewandte Seiten und Bereiche des Messobjektes sichtbar gemacht werden.

**Skizze:**



### **Systemfunktionsweise:**

Die UV Kamera (2), die visuelle Kamera (3) und die Infrarotkamera (4) nehmen zeitgleich mit einer aneinander angepassten Bildrate das sich im Focus befindende Messobjekt auf. Während der Aufzeichnung/Messung wird die UV Leuchte (1) auf das Messobjekt gerichtet, bzw. geschaltet. Die Ausgangssignale der Kameras (Daten) werden im Switch/Triggerport (5) zusammengefasst und über eine Datenleitung zum Computer (6) übertragen. Der Computer (6) übernimmt die weitere Verarbeitung der Signale als Auswerteeinheit mittels der installierten Auswertesoftware für jede Kamera. Über den Computer (6) werden die Kameras (2,3,4) gesteuert und programmiert. Der Bildschirm (7) stellt online in Echtzeit alle aufgenommenen Kamerabilder sowie ein Histogramm der aktuellen UV Kamera-Daten dar. Die Auswerteeinheit fungiert also ebenso als Kontroll- und Bedieneinheit. Die Spiegel (8,9,10) sind im Bedarfsfall zur Ergänzung und Erweiterung des Focus anzuordnen.

### **Anwendung/Zweck:**

Das Verfahren soll vorrangig im Pferdesport verwendet werden. Hier werden konventionelle Dopingproben (Blut, Urin) genommen. Seit 01/2009 gibt es die Vorschrift der FEI (Fédération Équestre Internationale) ebenfalls Infrarot-Prüfungen aller im Wettbewerb/Turnier antretenden Pferde durchzuführen, um etwaige aufgetragene Substanzen detektieren zu können. Diese Vorschrift hat internationale Gültigkeit für alle Profi- und Olympia Pferdesportwettbewerbe und Turniere. Wie beschrieben deckt jedoch die alleinige Prüfung mittels einer Infrarotkamera nur einen Teil des relevanten Spektralbereiches ab. Die Erweiterung des Prüfbereiches gibt also größere Sicherheit in der Detektion von aufgetragenen Substanzen und dient somit auch der Einhaltung der internationalen Tierschutzgesetze. Schon die Veröffentlichung über die Existenz geeigneter Prüfverfahren konnte in der Vergangenheit als Präventivmaßnahme gewertet werden.

Die IR/UV/VIS-Spektralphotometrie als Dopingprüfung im Pferdesport bzw. Ergänzendes Verfahren wird sich mit hoher Wahrscheinlichkeit wegen der vielfältigen neuen Detektionsvarianten durchsetzen.

## Literatur UV/Vis-Spektrometrie: Spektrenbibliotheken

Die UV/VIS-Spektrometrie hat einen sehr reichen Erfahrungsschatz, da sie lange Zeit die einzige, praktisch verfügbare Methode der instrumentellen Analytik war. Besonders in den fünfziger Jahren befassten sich sehr viele wissenschaftliche Beiträge mit den qualitativen Aspekten der UV/VIS-Spektrometrie, was in einer Vielzahl von gedruckten Spektrensammlungen resultierte. Zum Teil handelt es sich nur um Literatursammlungen, zum Teil um Tabellen von Absorptionsmaxima mit den jeweiligen  $\epsilon$ -Werten - auch zusammen mit anderen Daten. Besonders hervorzuheben ist der große Sadtler Spektrenkatalog mit über 100.000 abgebildeten Spektren. Gute Überblicke geben aber auch der kompakte Sadtler Katalog und der Atlas von Perkampus. Ebenso stehen für begrenzte Anwendungsgebiete Sammlungen zur Verfügung, wie z.B. der Spektrenkatalog pharmazeutischer Wirk- und Hilfsstoffe von Dibbern oder die Datensammlungen zu den UV/VIS-Spektren von Proteinen oder Naturstoffen. Digitale UV/Vis-Spektrensammlungen werden selten geführt; dementsprechend gibt es auch nur wenige Ansätze, Software zur Spektrenbibliothekssuche zu entwickeln und anzubieten.

Die aufgeführten Datensammlungen zur qualitativen UV/VIS-Spektroskopie stellen einen Überblick über die im deutschen Sprachraum besonders in Universitätsbibliotheken zugänglichen Monographien dar. Sicher sind in speziellen Monographien und in anderen Sprachräumen weitere, umfangreiche Datensammlungen vorhanden; viele Beispiel-Spektren sind auch in den Lehrbüchern der UV/VIS-Spektrometrie enthalten. Aber auch in der Originalliteratur gehört das UV/VIS-Spektrum in aller Regel zur Dokumentation einer neuen Verbindung.

Spektrenbibliotheken:

P. Grammaticakis

Spectres d' Absorption Ultraviolets de Compose Organiques Azotes Correlations Spectrochimiques, Part 1-3

Technique et Documentation, Paris, 1979

Aufgeführt sind 4000 verschiedene Spektren organischer Stickstoff-Verbindungen

Sadtler Standard Ultraviolet Spectra

Sadtler Research Laboratories Inc., Philadelphia 1972

William W. Simons

The Sadtler Handbook of Ultraviolet Spectra

Sadtler Research Laboratory Inc., Philadelphia

API Research Project 44 Ultraviolet and Visible Data

Carnegu Institute and U.S. National Bureau of Standards

W. Neudert, H. Röpke

Steroid Spektrenatlas

Springer Verlag, Berlin 1965

IR-Spektren und UV-Peak-Daten von 1111 Verbindungen.

Hans-Werner Dibbern

UV- und IR-Spektren wichtiger pharmazeutischer Wirkstoffe

Editio Cantor, Aulendorf 1978

I. Sandemann, H.H. Perkampus

DMS UV-Atlas organischer Verbindungen, Vol. I-V

Verlag Chemie, Weinheim; Butterworth, London, 1966

Zusammenstellung von 1000 repräsentativen UV-Spektren

Autor: Thomas Zimmermann, geb. 12.08.1971 in Berlin, Ilsensteinweg 6, 14129 Berlin  
Erste Niederschrift: 07.01.2009  
Entwurf 1.4: 29.01.2009

---

J.G. Graselli, W.M. Ritchey  
Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds  
CRC Press, Cleveland, Ohio, USA, (2nd ed), Vol. I  
Aufgeführt sind die UV/VIS-Maxima, das Lösungsmittel und die Sadtler Referenz Nr.

W. Karcher, R.J. Fordham, et.al  
Spectral Atlas of Polycyclic Aromatic Compounds  
D.Reidel Publishing Company, Dordrecht/Boston/Lancaster

R.A. Friedel, M. Orchin  
Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds  
Wiley + Sons, 1951

H.M. Hershenson  
Ultraviolet and Visible Absorption Spectra  
Academic Press New York 1956, etc.  
Index von (1930-1954) 1961, Index von (1955-1959) 1962, Index von (1959-1961)

L. Lang  
Absorption Spectra in the Ultraviolet and Visible Region  
Adademiai Kiado, Budapest 1958-84  
26 Bände mit je 200 lg  $\epsilon$  -Spektren, jeweils mit Registrierbedingungen

J.Pliva, M.Horak, V.Herout, F.Sorm  
Die Terpene, Sammlung der Spektren und physikalischen Konstanten Teil I+II  
Akademie Verlag Berlin, 1960  
Aufgeführt sind die IR-Spektren und Extinktionskoeffizienten der UV-Maxima

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)  
Tables of Spectrophotometric Absorption Data of the Compounds used for the Colorimetric  
Determination of Elements  
Butterworth, London 1963

J.Holubek, O.Stroufs  
Spectral Data and Physical Constants of Alkaloids  
Heyden + Sons, London 1965

H.E. Ungnade, M.J. Kamlet  
Organic Electronic Spectral Data  
Interscience Publishers, New York 1946-1984 (cont.)  
Bibliographie von 400 000 Spektren, repräsentieren annähernd 95 % aller veröffentlichten Spektren

K. Hirayama  
Handbook of Ultraviolet and Visible Adsorption Spectra of Organic Compounds  
Plenum Press Data Division, New York 1967  
Aufgeführt sind 13 000 typische chromophore Verbindungen

K. Yamaguchi  
Spectral Data of Natural Products  
Elsevier Publ. Comp. Amsterdam, 1970, Vol I  
UV, IR und andere Referenz-Spektrendaten von Naturstoffen

Autor: Thomas Zimmermann, geb. 12.08.1971 in Berlin, Ilsensteinweg 6, 14129 Berlin  
Erste Niederschrift: 07.01.2009  
Entwurf 1.4: 29.01.2009

---

D.M.Krschbaum

Molar Absorptivity and  $A(1/1)$  values for Proteins at Selected Wavelengths of the Ultraviolet and Visible Regions XVI

Anal. Biochem. 90(1978), 309-330

Charakteristische Wellenlängen von mehr als 150 Proteinen, Zitierung von 15 früheren Veröffentlichungen

Deutsche Forschungsgemeinschaft

Farbstoffe für Lebensmittel, 2. Auflage

Verlag Chemie, Weinheim 1988

IR + UV-Spektren von Lebensmittelfarbstoffen

H.H.Perkampus

UV/VIS Adas of Organic Compounds, Band 1+ 2

Verlag Chemie, Weinheim (2nd edition 1992)

LW.Robinson

Handbook of Spectroscopy

CRC Press, Cleveland, Ohio, USA