

# Infrared spectral analysis of drugs in human saliva

*A dissertation submitted to*

ETH Zurich

*for the degree of*

Doctor of Sciences

*presented by*

Kerstin Meta-Catherina Hans  
Dipl. Phys., University of Konstanz  
born April 20 1983  
citizen of Germany

*accepted on the recommendation of*

Prof. Dr. Markus W. Sigrist  
Prof. Dr. Jérôme Faist  
PD Dr. Heinz-Detlef Kronfeldt

2013

# Abstract

Infrared spectroscopy is gaining more importance in analyzing biological samples and monitoring environmental parameters. The analysis of environmental gases or investigation of cancer tissue are examples for the application of infrared spectroscopy. This thesis addresses three research questions with impact on society: the analysis of cocaine in saliva, the detection of caffeine in saliva and beverages and the investigation of saliva from patients with generalized aggressive periodontitis.

The first project regarding the detection of cocaine in saliva aims for a table-top set-up with the possibility to be miniaturized to pave the path to a hand-held, compact device. Such a device would allow for (semi-)quantitative, on-site analyses of cocaine and would provide risk assessment, e.g. people driving under the influence of cocaine. This research question was examined in detailed studies to first explore the optimum wavelength: regions of strong cocaine absorption and minimum spectral interference with every day products, masking agents, common medicine, cutting agents of cocaine and saliva in different situations. The most suitable spectral range was found around  $1750\text{ cm}^{-1}$ . A one-step extraction technique was developed and evaluated to reduce the large background absorption by saliva. Samples were analyzed with Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy and a quantum cascade laser (QCL) set-up. In addition, transmission and attenuated total reflectance (ATR) spec-

troscopy were used for the analysis. The limit of detection (LOD) for the FTIR-ATR spectroscopy is  $\sim 1 \mu\text{g ml}^{-1}$  and can be further improved by preconcentration to a few  $100 \text{ ng ml}^{-1}$ . This LOD is necessary to identify a person abusing cocaine. The newly designed QCL set-up has a current LOD for transmission and ATR spectroscopy of  $< 10 \mu\text{g ml}^{-1}$  and  $\sim 3 \mu\text{g ml}^{-1}$ , respectively. Further stabilization of the QCL set-up is required to lower these detection limits.

The second topic is directed toward the detection of caffeine in fluids. The influence of caffeine on many diseases, such as Alzheimer's and Parkinson's disease, is currently under investigation. So far, test-persons in studies analyzing the correlation between Alzheimer's or Parkinson's disease have to abstain from caffeine-containing beverages, which is problematic due to the social relevance of coffee and tea. The number of test persons might increase significantly if caffeine intake could be monitored with a hand-held, compact device instead. Therefore, a minaturizable one-step extraction technique for caffeine from beverages and saliva was developed. The extracts were investigated with FTIR-ATR spectroscopy. Even without any pH stabilization qualitative data on caffeine concentrations in various beverages could be derived.

The third project concerns the study of patients suffering from generalized aggressive periodontitis (G-AgP). Periodontitis is a disease with high prevalence. But until today, a method predicting the individual progress of the disease has not been found. Such a method should estimate the risk of a patient for bone loss within a certain time. The identification of spectral differences in saliva between patients with G-AgP and healthy volunteers might allow early diagnostics and could lead to improved prognoses. The investigations were conducted with FTIR-ATR spectroscopy and potential differences in the spectra were evaluated with principle component analysis (PCA) in the spectral range from  $1230$  to  $1180 \text{ cm}^{-1}$ . In addition, the difference between the absorbance at  $1206$  and  $1196 \text{ cm}^{-1}$

was analyzed with the analysis of variance (ANOVA). Although the number of test persons with 10 persons in total was still small, both methods yield promising results to differentiate between the sample groups. Since the investigated spectral range is rather narrow a quantum cascade laser based device could be built for chair-side tests.

In conclusion, the analysis of all three research questions showed promising potential for miniturisation and future on-site applications.

# Zusammenfassung

Die Infrarotspektroskopie wird immer häufiger zur Charakterisierung von biologischen Proben und von wichtigen Umweltparametern angewendet. Zum Beispiel können mit dieser Methode Krebszellen charakterisiert und die Konzentration von Umweltgasen wie CO<sub>2</sub> bestimmt werden. In dieser Arbeit wird Infrarotspektroskopie genutzt um die folgenden drei gesellschaftsrelevanten Themen genauer zu untersuchen: Der Nachweis von Kokain im Speichel, der Nachweis von Koffein im Speichel und in Getränken und die Charakterisierung von Speichel von Patienten mit generalisierter aggressiver Parodontitis.

Für das erste Thema, welches den Nachweis von Kokain in Speichel betrachtet, soll ein Versuch aufgebaut werden, dessen Komponenten gegebenenfalls miniaturisiert werden können. Dies könnte zu einem tragbaren, kompakten und einfach zu bedienenden Analysergerät führen. Ein solches Gerät könnte vor Ort Diagnosen ermöglichen, z.B. für die Polizei oder Ambulanz. Für diese Untersuchungen wurde zuerst nach einem geeigneten Wellenlängen Bereich für den Nachweis von Kokain im Speichel gesucht. Der Wellenlängenbereich soll eine hohe Absorption von Kokain und möglichst wenig Absorption von anderen Substanzen aufweisen. Um diesen Bereich zu identifizieren wurden Alltagsprodukte, Schnittmittel von Strassenkokain, gebräuchliche Medikamente, maskierende Substanzen<sup>1</sup> und

---

<sup>1</sup>Substanzen die von Drogenkonsumenten genommen werden, um Dorgentests

Speichel von Testpersonen in unterschiedlichen Situationen untersucht. Die Untersuchungen ergaben, dass der Wellenlängenbereich um  $1750\text{ cm}^{-1}$  am Besten zum Nachweis von Kokain im Speichel geeignet ist. Ferner wurde eine einstufige Extraktionsmethode entwickelt und untersucht, die die Nachweisgrenze von Kokain im Speichel deutlich senkt. Alle Proben wurden mit einem Fourier-Transform-Infrarot- (FTIR) Spektrometer oder einem Quantenkaskadenlaser- (QCL) Aufbau untersucht. Die spektroskopischen Methoden der gedämpften Totalreflektion (engl. attenuated total reflection - ATR) und Transmission wurden verwendet. Die gemessene Nachweisgrenze für Kokain im Speichel unter Verwendung von FTIR-ATR Spektroskopie liegt bei  $\sim 1\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  und kann durch Aufkonzentrierung auf einige  $100\text{ ng ml}^{-1}$  verbessert werden. Diese Nachweisgrenze ist notwendig, um Menschen die unter direktem Einfluss von Kokain stehen zu identifizieren. Für den QCL-Aufbau wurde eine Nachweisgrenze von  $< 10\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  für die Transmissionsmessungen und von  $\sim 3\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$  für die ATR-Messungen ermittelt. Um tiefere Nachweisgrenzen zu erreichen, müsste der QCL-Messaufbau besser stabilisiert werden.

Das zweite Thema beschäftigt sich mit dem Nachweis von Koffein im Speichel und Getränken. Der Einfluss von Koffein auf den Krankheitsverlauf von z.B. Alzheimer- und Parkinson-Krankheit ist Gegenstand aktueller Forschung. Für diese Studien müssen die Testpersonen für gewöhnlich auf den Konsum von Koffein verzichten. Dieser Verzicht stellt ein großes Problem dar, da das Konsumieren von Getränken, wie Kaffee und Tee, von großer sozialer Bedeutung ist. Die Anzahl der Testpersonen für solche Studien könnte sich erheblich vergrößern, falls anstatt eines Verzichts auf Koffein, der Konsum gemessen werden könnte. Für solche Studien wird ein tragbares, kompaktes Analysegerät benötigt, um die Koffeinkonzentration des jeweiligen Getränkes zu messen. Wiederum wurde ein Versuchsaufbau realisiert, dessen Komponenten gegebenenfalls minia-

---

zu verfälschen.

turisiert werden könnten. Zur Erhöhung der Nachweisgrenze von Koffein wurde ferner ein einstufiges Koffeinextraktionsverfahren entwickelt. Alle Extrakte wurden mittels FTIR-ATR Spektroskopie analysiert. Die Messergebnisse waren auch ohne pH-Stabilisation qualitative wertvoll. Der Koffeingehalt der untersuchten Extrakte aus Kaffee, Tee und Guarana wurde erfolgreich bestimmt. Eine Stabilisation der pH-Werte wird zu quantitativen Ergebnissen führen.

Das dritte Thema beschäftigte sich mit dem Speichel von Patienten mit generalisierter aggressiver Parodontitis (G-AgP). Parodontitis ist eine Krankheit mit hoher Prävalenz. Jedoch gibt es noch keine Methode die zuverlässige Prognosen über den Krankheitsverlauf einer Einzelperson machen kann. Von besonderem Interesse bei dem Krankheitsverlauf ist die Risikoabschätzung bezüglich eines raschen Knochenverlustes. Ein messbarer Unterschied in den Speichelspektren von gesunden und an G-AgP erkrankten Menschen könnte zu einer früheren Diagnose der Krankheit und verbesserten Prognose ihres Verlaufs führen. Der Speichel wurde mit FTIR-ATR Spektroskopie untersucht. Die Spektren wurden in dem Intervall von 1230 bis  $1180\text{ cm}^{-1}$  mit der Hauptkomponentenanalyse (engl. principal component analysis - PCA) untersucht, welche Hinweise auf eine Unterscheidung der beiden Gruppen identifizierte. Des Weiteren wurde die Differenz in der Absorption für die Wellenlängen 1206 und  $1196\text{ cm}^{-1}$  bestimmt und mit der Varianzanalyse (engl. analysis of variance - ANOVA) diskriminiert. Diese Analyse bestätigte, dass die beiden Gruppen sich signifikant unterscheiden trotz der geringen Anzahl (10) der Testpersonen. Auf Grund der geringen spektralen Intervallbreite, kann ein QCL-Messaufbau für zukünftige Untersuchungen. eingesetzt werden. Dadurch könnte der Messaufbau zu einem tragbaren Gerät verkleinert werden, welches für den Einsatz in Arztpraxen geeignet wäre.

Alle drei untersuchten Themen zeigten vielversprechende Resultate. Die verwendeten Analysemethoden besitzen das Potential zur Verkleinerung des Messaufbaus in ein kompaktes, tragbares und ein-

fach zu bedienendes Gerät für den Einsatz vor Ort.