

Forensische Analyse von Drogen mit dem Agilent 8890 GC-System

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Zusammenfassung

Diese Application Note stellt eine Methode für die genaue Identifizierung von häufig getesteten Drogen vor. Der Arbeitsablauf umfasste ein Agilent 8890 GC-System, ein Agilent 5977A MSD-System, einen Agilent 7693A automatischen Flüssigprobengeber und eine Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert-Hochleistungssäule. Diese Methode ermöglicht eine ausgezeichnete Auflösung gängiger Drogen und ist in hohem Maße reproduzierbar.

Einführung

Die analytische Bestätigung von Rauschgift-Substanzen erfordert ein hohes Konfidenzniveau der Daten und eine extrem niedrige Fehlergrenze. Das Vorhandensein von Straßendrogen und missbräuchlich verwendeten verschreibungspflichtigen Arzneimitteln in forensischen Proben wird häufig mittels Gaschromatographie (GC) zusammen mit Single-Quadrupol-Massenspektrometern (MS), sogenannten GC/MS-Systemen, bestätigt. Die Analyse sichergestellter Drogen umfasst häufig nicht die Quantifizierung, sondern basiert auf Massenspektren von hoher Qualität, für die eine Übereinstimmung mit der Bibliothek vorliegt. Für die beste Übereinstimmung der Peakspektren muss die Chromatographie optimiert und müssen Systeme routinemäßig gewartet werden. Agilent hat viele Veröffentlichungen, die bei Verwendung von Säulen mit MS-Standarddimensionen erfolgreiche Analysebedingungen belegen – sowohl bei der Analyse beschlagnahmter Drogen¹ als auch in forensischen oder klinischen Studien^{2,3}. In dieser Application Note wurde eine Hochleistungssäule zur Evaluation auf dem 8890 GC-System ausgewählt. Hochleistungssäulen erfordern aufgrund ihres kleineren Innendurchmessers und ihrer höheren Restriktion eine ausgezeichnete Druckregelung. Die auf dem 8890 GC-System verfügbare elektronische Pneumatiksteuerung (EPC) der sechsten Generation zeigt eine außergewöhnliche Steuerung und Präzision, wenn eine Druckzufuhr für GC/MS-Flüsse unter 2 ml/min erforderlich ist. Das 8890 GC-System kann durch den Bediener konfigurierbare Wartungszähler, Diagnoseereignisse und andere Systemparameter implementieren und protokollieren, wodurch die Zuverlässigkeit der erfassten Daten weiter erhöht wird. Das 8890 GC-System integriert außerdem Funktionen der GC-Systeme früherer Generationen von Agilent, wie z. B. Retention Time Locking, inert behandelte Verbrauchsmaterialien und eine vertraute Software-Oberfläche.

Experimentelles

Der Arbeitsablauf umfasste ein 8890 GC-System, einschließlich eines Split/Splitless-Einlasses, zusammen mit einem 5977 GC/MSD-System und einem 7693A automatischen Flüssigprobengeber (ALS). Die Daten wurden mit der Agilent MassHunter GC/MS-Software erfasst und verarbeitet. Der bei der Untersuchung verwendete 5-µg/ml-Standard war eine Agilent GC/MS Testmischung für forensische Toxikologie (Best.-Nr. 5190-0471). Diese Mischung mit 28 Verbindungen enthält Amphetamine, Opiate, Benzodiazepine und andere Drogen,

auf die häufig getestet wird. Es wurde eine Ultra Inert(UI)-Hochleistungssäule verwendet, um auf die Analyten zu testen, und ein UI-Liner für geringen Druckabfall, um die Einlass-Diskriminierung zu minimieren¹. Im Allgemeinen muss bei Hochleistungssäulen eine viel geringere Probemenge injiziert werden, da sie schnell überladen werden können. Dies kann am einfachsten implementiert werden, indem ein höheres Splitverhältnis auf die Methode angewendet wird. Alternativ kann bei der Trennung auf einer Hochleistungssäule eine weitere Verdünnung der Proben nützlich sein.

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien für die Datenakquisition der Drogenproben.

Artikel	Beschreibung
ALS-Spritze	Agilent ALS-Spritze, 10 µl, Blue Line (Best.-Nr. G4513-80204)
Probenflaschen, MS-zertifiziert	5182-0716
Septa	Advanced Green (Best.-Nr. 5183-4761)
Liner	Einlass-Liner, UI, geringer Druckabfall (Best.-Nr. 5190-2295)
Säule	Agilent J&W DB-5ms UI, 30 m × 180 µm × 0,18 µm (Best.-Nr. 121-5522UI)
Extraktorlinse	9 mm (Best.-Nr. G3870-20449)

Tabelle 2: Methodenparameter für Drogenanalysen auf dem 8890 GC-System.

Parameter	Wert
Spritzengröße	10 µl
Injektionsvolumen	1 µl
Art des Einlasses	Split/Splitless
Einlassmodus	Split
Einlasstemperatur	250 °C
Splitfluss	30 ml/min
Splitverhältnis	20:1
Gassparzeit	Aus min
Septumspülungsmodus	Standard
Septumspülung	3 ml/min
Trägergas	Helium
Säule	J&W DB-5ms UI, 20 m × 180 µm, 0,18 µm
Säulendurchfluss	1,5 ml/min
Ofenäquilibration	1 min
Temperaturprogramm Ofen	95 °C, 20 °C/min bis 300 °C, 3,5 Minuten halten
GC-Analysendauer	13,75 Minuten
MSD-Übertragungsleitung	280 °C

Tabelle 3: Analysebedingungen für Drogen auf einem 5977 GC/MSD-System (Extraktor).

5977 GC/MSD-Parameter	
Parameter	Wert
Quelle	Extraktor, 9-mm-Linse
Hochvakuumpumpe	Turbo
Modus	Scan
Bereich	m/z 40 bis 500
Tuning-Algorithmus	Etune
Temperatur der Quelle	250 °C
Quadrupoltemperatur	175 °C

Ergebnisse und Diskussion

Während der Methodenoptimierung war eine Überladung bei den Amphetaminverbindungen am ausgeprägtesten, weshalb das Splitverhältnis hinsichtlich ihrer Peakform optimiert wurde. Es mussten Abstriche bei der Detektion von Lorazepam, Oxazepam und Trazodon gemacht werden, da diese Verbindungen schon beim Vergleich mit anderen Drogen in der Mischung eine geringe Response erzielen. Bestätigungsanalysen werden meist bei relativ hohen Konzentrationen durchgeführt, was zu höheren Splitverhältnissen führt, als denen, die für diese Probe im mittleren Konzentrationsbereich gezeigt wurden. Bei einem Split von 20:1 war die Response ausreichend, um Peaks erfolgreich zu integrieren, Spektren zu extrahieren und eine Übereinstimmung von hoher Qualität für Lorazepam, Oxazepam und Trazodon unter diesen Bedingungen zu erzielen; deren geringere Response erfordert jedoch eine Erklärung.

Mit der Hochleistungssäule wurde eine ausgezeichnete Auflösung erreicht. Alle 28 Peaks waren einfach zu identifizieren und bei Verarbeitung der resultierenden Spektren mit einer NIST-Bibliothek wurde jeder Peak richtig als beste Übereinstimmung mit ausgezeichneten Übereinstimmungswerten identifiziert. Durch die Implementierung einer Hintergrundsubtraktion, insbesondere bei der höheren Temperatur, verbesserte sich die Qualität der Übereinstimmung erheblich. Abbildung 1 zeigt ein repräsentatives Totalionen-Chromatogramm (TIC) und Tabelle 4 eine Zusammenfassung der Verbindungen.

Es wurden Reproduzierbarkeitsstudien durchgeführt und die relative Standardabweichung (RSD) der Retentionszeit für alle Verbindungen lag im Bereich von 0 bis 0,08 %, ausgenommen D-Amphetamin und Phentermin. Die meisten Verbindungen hatten bei der Retentionszeit eine relative

Standardabweichung von 0,03 % für 25 Wiederholungsinjektionen. Diese beiden Verbindungen wurden, aufgrund ihrer begrenzten Wechselwirkung mit den Phasen und da sie unmittelbar nach dem Lösemittel-Tailing eluieren, von der statistischen Analyse ausgeschlossen. Größere Splitverhältnisse verbessern die Reproduzierbarkeit der früh

eluierenden Amphetamine - allerdings auf Kosten der Response von Oxazepam, Lorazepam und Trazodon. Es wurde daran gearbeitet, die Response dieser Verbindungen⁴ unter Verwendung von herkömmlichen GC/MS-Säulen mit einem Durchmesser von 250 µm zu verbessern. Diese Vorgehensweise ist auch für Hochleistungssäulen hilfreich.

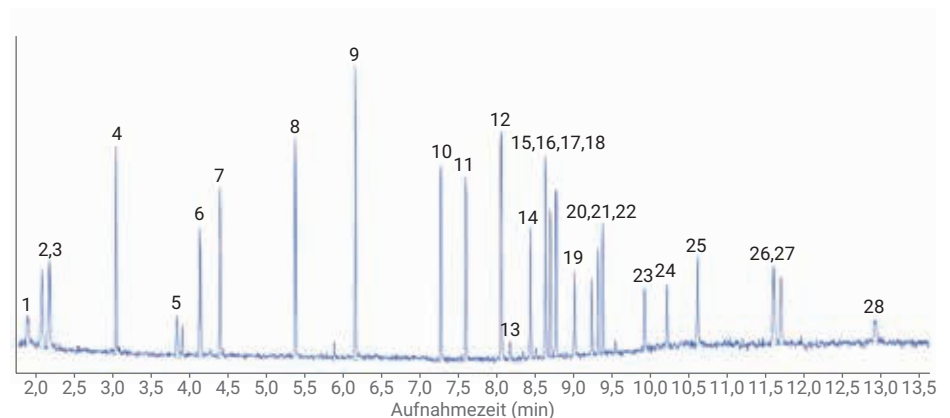


Abbildung 1: TIC der Injektion einer Drogenmischung (20:1 Split von 5 µg/ml, vollständiger Scanbereich m/z 40 bis 500).

Tabelle 4: Zusammenfassung der Verbindungen.

Index	Verbindung	RT
1	d-Amphetamin	1,85
2	Phentermin	2,05
3	Methamphetamin	2,14
4	Nikotin	3,03
5	MDA	3,83
6	MDMA	4,14
7	MDEA	4,40
8	Meperidin	5,40
9	Phencyclidin	6,19
10	Methadon	7,35
11	Kokain	7,68
12	Proadifen	8,14
13	Oxazepam	8,26
14	Codein	8,53
15	Lorazepam	8,61
16	Diazepam	8,73
17	Hydrocodon	8,79

Index	Verbindung	RT
18	THC	8,86
19	Oxycodon	9,10
20	Temazepam	9,33
21	Flunitrazepam	9,41
22	Heroin	9,47
23	Nitrazepam	10,02
24	Clonazepam	10,31
25	Alprazolam	10,72
26	Verapamil	11,71
27	Strychnin	11,81
28	Trazodon	13,04

Abschließende Bemerkungen

Diese Methode erzielte eine ausgezeichnete Auflösung der analysierten Drogen, wobei alle 28 Komponenten genau identifiziert wurden. Die Retentionszeiten waren über 25 Injektionen ebenfalls reproduzierbar, mit einer relativen Standardabweichung von 0,03 % für die meisten Verbindungen. Der Split/Splitless-Einlass für das 8890 GC-System bietet eine präzise Temperatur- und Pneumatiksteuerung, um qualitativ hochwertige Daten mit GC- und GC/MS-Hochleistungssäulen zu erzeugen. Bei der Implementierung von Hochleistungssäulen ist Säulenüberladung das Hauptproblem; daher sind diese eine ideale Option für folgende Anwendungen:

- Applikationen, bei denen hohe Splitverhältnisse möglich sind.
- Injektionsvolumen können verringert werden.
- Verbindungen von Interesse sind Verunreinigungen oder liegen bekanntermaßen in geringer Konzentration vor.

Häufig kommt es bei einer Umstellung auf Hochleistungssäulen zu Verbesserungen bei der Geschwindigkeit, jedoch müssen die Injektionsmenge, der Kalibrierungsbereich und die gewünschte Auflösung bei der Umstellung berücksichtigt werden. Der Agilent Methodentranslator⁵ ist ein ideales Tool für die Beurteilung und den Vergleich von Gaschromatographie-Sollwerten und beinhaltet eine Berechnung der Säulenkapazität. Das 8890 GC-System ist ein Mainframe der nächsten Generation, das intelligente technische Funktionen und zugleich Kompatibilität mit allen in Arbeitsabläufen bewährten Verbrauchsmaterialien von Agilent bietet.

www.agilent.com/chem

Für forensische Zwecke.

Änderungen vorbehalten.

Literatur

1. Zhao, L.; Quimby, B., Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Agilent Technologies Application Note*, Veröffentlichungsnummer 5990-7596EN, **2011**.
2. Quimby, B. Improved Forensic Toxicology Screening Using a GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database. *Agilent Technologies Application Note*, Veröffentlichungsnummer 5989-8582EN, **2008**.
3. Churley, M.; Rodriguez, L. C. Screen More Drugs with the Agilent GC/MS Toxicology Analyzer with a High Efficiency Source. *Agilent Technologies Application Note*, Veröffentlichungsnummer 5991-6294EN, **2017**.
4. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Agilent Technologies Application Note*, Veröffentlichungsnummer 5991-5303EN, **2016**.
5. Agilent YouTube-Kanal, Schulungsreihe zum Methodentranslator, <https://www.youtube.com/watch?v=Q-359Q4qD-Q>.