

Agilent QuickProbe GC/MS システムによる 未処理証拠サンプルの 法医学スクリーニングのスループット向上

著者

Melissa Churley and
Luis Cuadra-Rodriguez
Agilent Technologies, Inc.

Erin Shonsey
Alabama Department of
Forensic Sciences

概要

Agilent QuickProbe GC/MS システムを法医学分析のプレスクリーニングに用いることで、サンプル前処理の必要のない、シンプルかつ迅速な分析ワークフローを実現できます。クロマトグラフィーによる分離をライブラリ検索が可能な質量スペクトルへと超高速で変換する技術により、法医学的に健全なスクリーニングプロセスが可能になります。QuickProbe GC/MS では確認試験前の前処理や試薬ベースの分析が不要なため、ラボの生産性を大幅に向上させることができます。Alabama Department of Forensic Science (ADFS) では、法廷における防御可能性の向上のため、再調査可能なデータの作成が法医学分析の全段階で義務付けられています。そして、この要件を、QuickProbe GC/MS によるスクリーニングで満たすことができます。

はじめに

従来、刑事司法ラボでは、目視、重量測定をはじめとするさまざまな推定試験で構成されるサンプル分析ワークフローを実行したうえで、抽出や GC/MS 分析による確認試験に進むという方法が一般的です。NAS レポートへの対応と ISO 17025 認証取得準備のため、ADFS は操作手順を作成し直し、再調査可能なデータの作成を法医学分析の全段階で義務付けました。QuickProbe GC/MS (図 1) の評価から、押収したサンプルを、何ら抽出の必要なく、質量スペクトル結果によってプレスクリーニングする手法が示されました。これは、スルーポットの最大化につながる手法です。

実験方法

GC/MS システムの GC 機器上部にある検出器スロットに、QuickProbe ユニットを取り付けました (図 2)。QuickProbe には、大気に開放された加熱注入口があり、一定のヘリウムパージにより空気の流入を防ぎます。このシステムは、短いキャピラリーカラム (Agilent J&W DB-1ht, 1.5 m × 0.25 mm, 0.10 μm) を高速加熱 (最高 16 °C /秒、960 °C /分) することで、1 分未満でクロマトグラフィー分離を行います。サンプル別 (液体、固体、粉末) にガラス製プローブ (図 3) を当てて QuickProbe 注入口に 3 ~ 6 秒で取り込んで気化させた後、GC/MS でデータを収集しました。サンプル前処理は、ほぼ必要ありませんでした。ガラス製プローブは初めはプローブホルダに挿入されていますが、ロード位置 (図A 3) で、液体サンプルの場合はプローブを液体に浸け、固形サンプルや植物の場合はプローブでそれらのサンプルを削り取りました。粉末サンプルや粒状のサンプルの場合は、カップ状の先端に小さな刻み目のあるポケットチッププローブを使用しました。最初にガラス製プローブをホルダに格納して、サンプルを QuickProbe ユニットに導入しました。QuickProbe ユニット上の開始ボタンとプローブホルダ上のプランジャを同時に押し下げて分析を開始し、プローブを注入口の加熱部分に配置して加熱しました。



図 1. Agilent 5977 GC/MS システムに取り付けられた Agilent QuickProbe ユニット (G3971A)

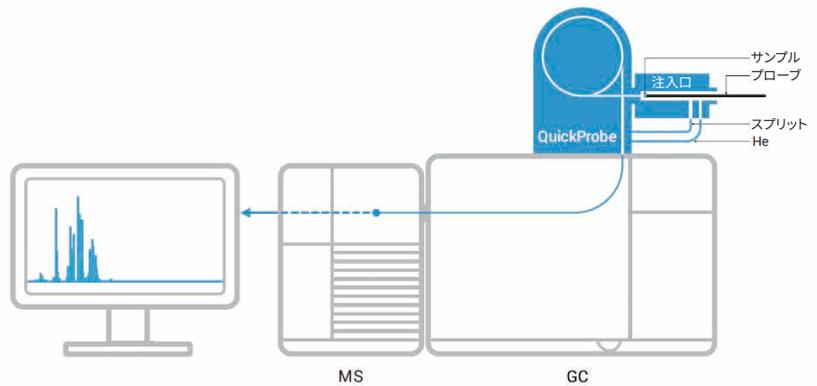


図 2. QuickProbe が組み込まれた GC/MS 機器の略図



図 3. タッチレスパッケージ (A) とプローブホルダ (B) に収まるサンプル採取用プローブ

挿入時間は通常 5 秒ですが、必要に応じて変更しました。化合物の同定は、標準 GC/MS データ分析パッケージ (Agilent ChemStation、MassHunter Qualitative Analysis、Quantitative Analysis および Unknowns Analysis ソフトウェア) を使用し、検索することによって実行しました。American Academy of Forensic Sciences (AAFS) と Cayman Chemical (Cayman) の薬物ライブラリ検索で用いた、マッチファクターの最小値は 80 でした。

結果と考察

本実験の証拠サンプルには、すでに分析が行われ、裁定も下り、研究サンプルとされているものを使用しました。サンプル処理は法医学的に健全な分析にとって欠かせない要素であり、プローブによる取り込み技術は、サンプルタイプおよび目標とするスクリーニングによって変わってきます。推奨されるワークフローは次のとおりです。1) システムブランクの実行、2) プローブブランクの実行、3) サンプルの分析、4) ブランクの実行。システムブランク完了後にプローブホルダーブランクを行えば、ホルダーチップに汚染がないことを確認できます。ホルダーチップは水または溶媒ですすいで洗浄します。バルク材料や押収した薬物などのサンプルタイプはそれぞれ異なる特性を持っているため、ロジスティックな手法で所定のスクリーニングを行わなければならない場合もあります。たとえば、錠剤の外部と内部両方のサンプリングによって、錠剤の成分やどのような処理が行われたか、また、保管環境に関する情報を得られる場合もあります。場合によっては、外科用メスで外部表面を削り取って、内部成分を露出させることもできます。

大麻などの植物の場合は、プローブの先で削ったり、こすったりしてサンプリングする場合もあります。大麻の場合は通常、THC がクロマトグラムで最も強いピークを示します。THC やカンナビジオールは識別できても、その植物が産業用大麻かマリファナか (後者の場合、乾燥重量で $\text{THC} \geq 0.3\%$ と定義される) を見極めるために、さらなるサンプル評価が必要な場合もあります。QuickProbe GC/MS は、より正確な定量分析が有用かどうか明らかになっていない場合でも、主要成分である THC を分離して同定できます。

サンプルの採取と採取の間には、コカインなどの特定の粉末サンプルの静的特性に起因する汚染を避けるため、プローブホルダーを水ですすぎました。あるいは、粉末を 1 mL のメタノールに溶解する方法もあります。押収サンプルに対して選択した方法は、図 4 および 5 に示すとおりです。



図 4A. 粉末コカインの押収サンプル。これを、ポケットチッププローブで採取しました。採取後、プローブをきれいな葉包紙に、ポケットチップを下にして置き、プローブをメタノールで 2 回すすぎました。プローブが乾いてから、あらかじめ水洗いし、実験用の化学布巾で水気を拭き取ったホルダーに挿入しました。

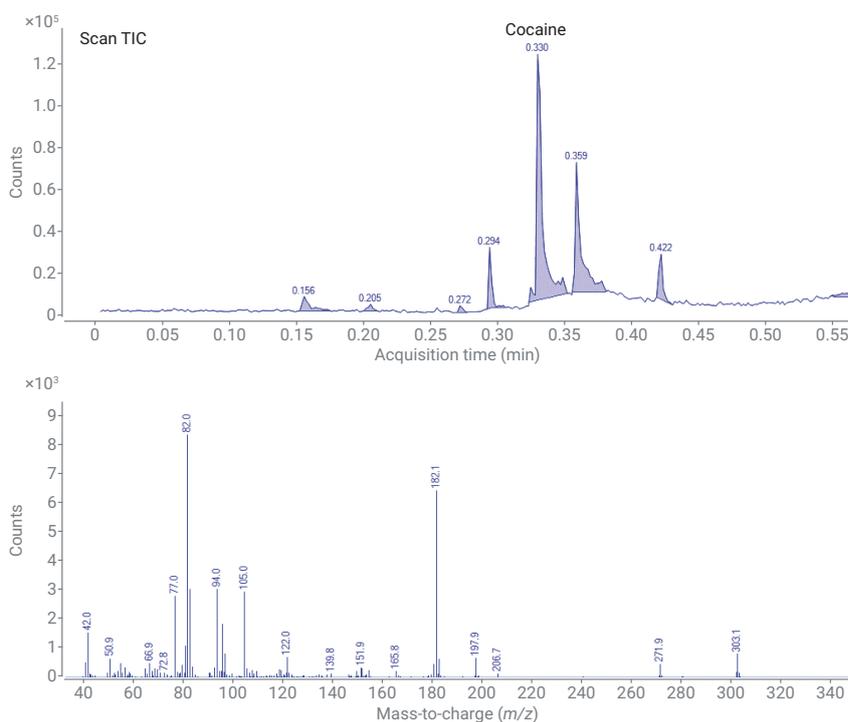


図 4B. 粉末コカインの同一サンプルのクロマトグラフィー結果とスペクトル結果。0.330 分で溶出するコカインピーク。AAFS ライブラリー致スコアは 99

未加工または溶解したサンプルから得られたスペクトルを、AAFS と Cayman の薬物ライブラリに照らした場合、極めて高い一致スコアが得られました。したがって、スクリーニングプロセスから抽出ステップを完全に排除できました。サンプルの典型的な分析時間は 1 分、総分析時間は適切なブランク（システム、プローブ、使用する場合は溶媒も）の分析を含めて 3～4 分のため、サンプルスループットは大幅に向上しました。

薬物化学ラボに QuickProbe による GC/MS 分析を導入することで、証拠スクリーニングのための再調査可能なスペクトルの生成や、かつては利用できなかった合成カンナビノイドなどのサンプルをスクリーニングできる可能性など、定量的結果を得られます。

表 1 は、この実験で評価したライブラリー一致スコアを含む、証拠サンプルの結果をまとめたものです。黄色の強調表示は、同定された化合物と、証拠サンプル（すでに裁定が下り、この実験のテストサンプルに使用）の既知の同定とが一致しなかった結果を示しています。見逃された同定のなかには、容易に説明できるものもあります。たとえば、クロナゼパムは溶出が遅く、GC/MS では分析が困難です。GHB は、誘導体化してから GC/MS 分析する必要があり、軽液中ではメタンフェタミンよりもプロパンのピークの方が勝ります。ニコチン酸アミドは、偽エフェドリンを削減する働きを持つ物質です（幾分か偽エフェドリンがサンプル中に認められる場合もあります）。しかし QuickProbe は、実験したサンプルのうち 83 % を正確に同定しました。

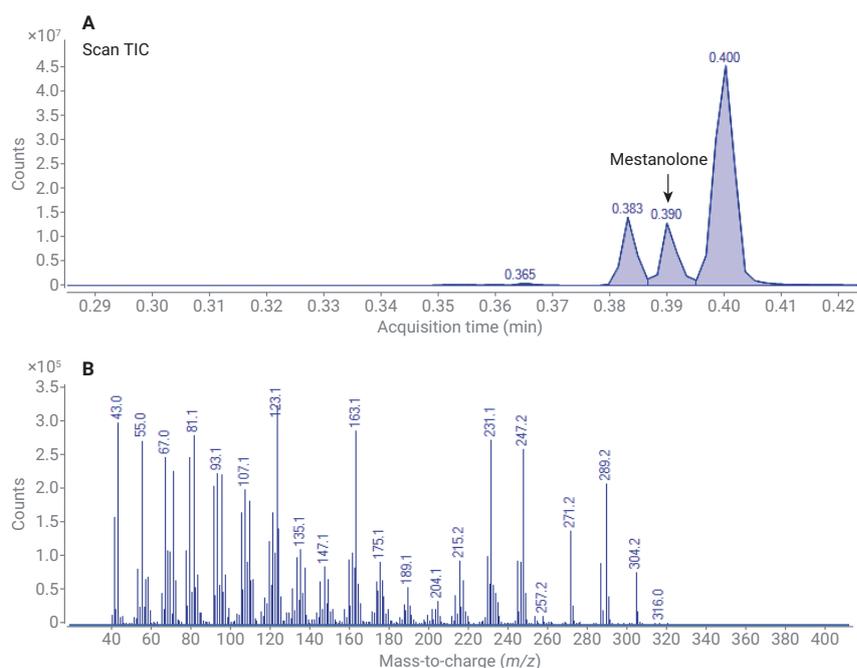


図 5. サンプル含有メスタロンンのクロマトグラフィー結果（拡大図）とスペクトル結果。0.390 分で溶出するメスタロンンピーク。AAFS ライブラリー一致スコアは 91

表 1. (すでに裁定が下っている) 証拠サンプルの結果（ライブラリー一致スコア併記）

サンプル	同定された主要化合物	同定
13HQ00031-1	アモバルビタール (91)、セコバルビタール (91)	アモバルビタールナトリウム
13HQ00048-1	クロルジアゼポキシド (87)	クロルジアゼポキシド
13HQ00114-1	ヘキサニン酸 (93)	植物
13HQ00128-1	ステアリン酸 (89)	クロナゼパム
13HQ00170-1	ロラゼパム (99)	ロラゼパム
13HQ00180-1	オキサゼパム (72)	オキサゼパム
13HQ00289-1	JWH250 (80)	JWH 250
13HQ00411-1	モルヒネ (98)	モルヒネ
13HQ00434-1	フェノバルビタール (96)	フェノバルビタール
13HQ00505-1	ペントバルビタール (72)	ペントバルビタール
13HQ00522-1	PCP (フェンシクリジン) (92)、シクロヘキセン (95)	フェンシクリジン
13HQ00525-1	ケタミン (97)	メタンフェタミン、ケタミン
13HQ00552-1	ジメチルスルホン (90)、ニコチン酸アミド (96)、メタンフェタミン (64)	メタンフェタミン、ニコチン酸アミド
13HQ00581-1	テマゼパム (99)	テマゼパム
13HQ00584-1	PCP (フェンシクリジン) (96)	フェンシクリジン
13HQ00591-1	ペントバルビタール (91)	ペントバルビタール
13HQ00611-1	安息香酸 (90)、コカイン (99)、 アンヒドロエコニンメチルエステル (98)、ベンゾイルエコニン (96)	コカイン
13HQ00615-1	コカイン (99)	コカイン HCl

サンプル	同定された主要化合物	同定
13HQ00622-1	ジメチルスルホン (76)、ニコチン酸アミド (96)、メタンフェタミン (93)	メタンフェタミン、ニコチン酸アミド
13HQ00866-2	アジピン酸 (47)	GHB/H ₂ O/CHCl ₃
13HQ00869-1	偽エフェドリン (83)	偽エフェドリン
13HQ00881-1	グアイフェネシン (98)	グアイフェネシン
13HQ00893-1	メスタノロン (91)	メスタノロン
13HQ00912-1	ヘキサニ酸 (86)	炭酸水素ナトリウム
13HQ00933-1	プロピオン酸テストステロン (99)、エナント酸テストステロン (72)	ステロイド
13HQ00938-1	アジピン酸ジイソオクチル (72)、ヘキサニ酸 (80)	ヒドロモルフォン
13HQ00949-1	ドデカン酸 (86)	トレンボロン
13HQ00970-1	ナンドロロンデカノエート (99)	ナンドロロンデカノエート
13HQ00972-1	安息香酸ベンジル (98)、テストステロンシビオネート (99)	テストステロン
13HQ00975-1	ニコチン酸アミド(98)	偽エフェドリン
13HQ01188-1	コデイン (97)	硫酸コデイン
13HQ01192-1	ヒドロモルフォン (99)	Dilaudid
13HQ01193-1	ケタミン (97)	ケタミン
13HQ01195-1	ヘロイン (99)	ヘロイン
13HQ01198-1	ベンゾフェノン (91)、ノルダゼパム (99)	クロラゼパ酸
13HQ01217-1	AM2201 (99)	AM2201
13HQ01231-1	AM2201 (99)	AM2201
13HQ01238-1	アジピン酸 (86)	ネガティブ
14HQ00003-1	1,4-ブタンジオール (83)	1,4-ブタンジオール
15HQ00097-1	ヘロイン (99)	ヘロインおよびラクトース
16HQ00095-1	プロパン (78)	軽液中のメタンフェタミン
16HQ00197-1	カフェイン (97)	クラトムの疑い
16HQ00197-8	アジピン酸 (62)	クラトムの疑い
18HQ00193-1	1-ジシクロブタノール (72)	植物
18HQ00195-1	カンナビジオール (90)	リラックス効果のあるグミ
18HQ00203-1	ヘキサニ酸 (91)	ブラウニー
18HQ00204-1	テオブロミン (95)、グリセリン (83)	クッシュケーキ
18HQ00216-1	カンナビジオール (93)	Pharxma
18HQ00218-1	プロピレングリコール (86)	CBD Drip Gold
19HQ00057-1	アセトアミノフェン (87)	ヒドロコドン/APAP シロップ
HW250	カンナビジオール (98)	カンナビジオール
HW750	カンナビジオール (97)	カンナビジオール

QuickProbe スクリーニングメソッドを評価した結果から、薬物分析を行うケースでは完全なワークフローを実行することが推奨されます。図 6 の図には、従来の証拠分析のように分析担当者が個別に証拠をスクリーニングするのではなく、分析前にスクリーニングチームが証拠を選別する方法を示しています。QuickProbe GC/MS は、粉末、液体、未知の植物などを含むあらゆるサンプルに用いることのできるスクリーニング手法です。選別後は、さまざまな分析担当者によって薬物スクリーニングが実行されます。この新しいワークフローであれば、分析前にスクリーニングチームが証拠を分類して分析担当者がバッチ処理できるようまとめることができるため、分析担当者あたりの必要作業を絞り込むことができます。これによって、従業員の作業負荷を減らすことができます。

1 事案に 1 分析者を割り当てる方法から、分析チームで 1 事案を担当する方法に移行することで、生産性の向上が見込まれます。最初のサンプリングで、抽出することなく証拠を効果的に分類してバッチ処理できるようまとめられれば、確認担当者はバッチごとに順を追って試験を行えます。QuickProbe によるスクリーニングでは、のちに参照が必要になった場合に備え、バッチごとに記録、保管できる再調査可能なデータが作成されます。各事案に 2 人以上の担当者を関与させれば、分析担当者とは別の担当者が裏付け説明の確認を行えるため、分析対象物の測定の信頼性が向上します。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2020
Printed in Japan, June 25, 2020
5994-2025JAJP
DE.6378472222

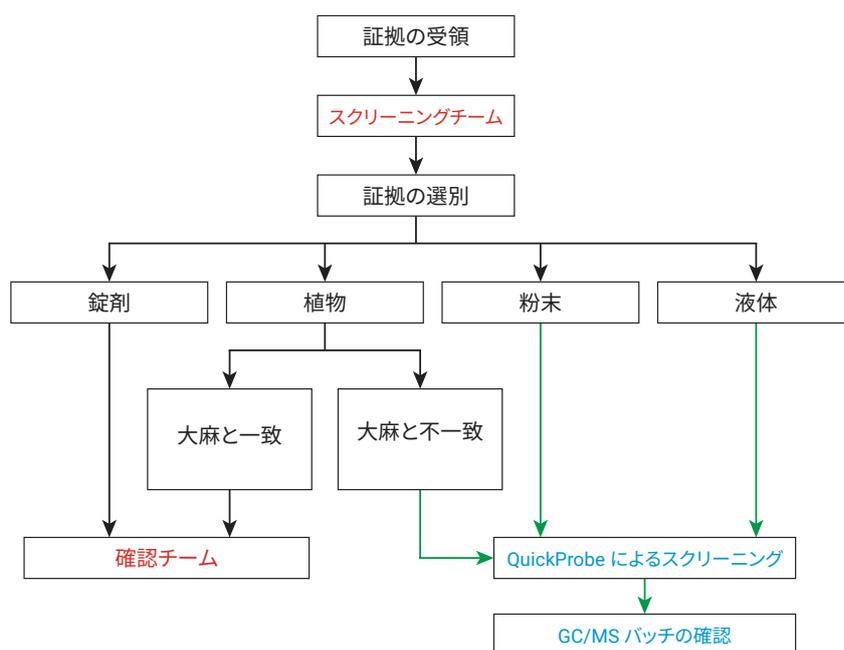


図 6. 推奨されるラボ用ワークフロー

結論

QuickProbe GC/MS システムのスクリーニングメソッドには、法医学薬物化学ラボで行われている従来の方法よりも優れた点が数多くあることが、本実験で示されました。このメソッドであれば、幅広い分析対象成分に単一のスクリーニング試験を実施できるだけでなく、訴訟記録とともにその結果を記録、保管できる再調査可能なデータも得られます。また、これまでスクリーニング手法が確立されていなかった、合成カンナビノイドなどの新たな分析対象成分のスクリーニングも行えます。

スクリーニング手法に QuickProbe GC/MS システムを活用すれば、ライブラリ検索が可能な質量スペクトルを分析ごとに得られるため、分析結果の信頼性が向上します。このメソッドの結果を受けて開発されたワークフローなら、分析結果の生産性と信頼性の改善が図れます。