

## Automatisierungstechnik

# Mehr Effizienz und Flexibilität im forensisch-toxikologischen Labor

Die Automatisierung zentraler Prozesse und Routinen, insbesondere der Probenvorbereitung, steigert die Produktivität und Leistung Ihrer Analytik.



Dr. Oliver Lerch  
Applikationsspezialist  
GERSTEL GmbH & Co. KG

Der GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS) ist ein innovativer X-Y-Z-Roboter, der alle Aufgaben der Probenvorbereitung und Probenaufgabe in der GC/MS und LC/MS mustergültig erfüllt und der sich ebenso als unabhängige Workstation erfolgreich einsetzen und individuell (modular) dimensionieren und instrumentieren lässt. In der forensisch-toxikologischen Praxis kommt der MPS bereits erfolgreich zur Anwendung, etwa zur Analyse von Blutserum und Haar auf Rückstände des Cannabiswirkstoffs Tetrahydrocannabinol (THC), der Cannabinoide Cannabinol (CBN) und Cannabidiol (CBD) sowie der THC-Metaboliten 11-Hydroxy-THC (THC-OH) und 11-Nor-9-carboxy-THC (THCCOOH) (siehe dazu auch unsere Literaturübersicht auf Seite 3).

Der MPS automatisiert eine Vielzahl von Extraktions- und Aufreinigungstechniken. Die Bandbreite reicht von der Flüssig-Flüssig-Extraktion (einschließlich der Dosierung von internen Standardlösungen) über Standard-SPE u. a. SPE-Prozeduren wie die dispersive oder die Online-SPE



(GERSTEL-SPE<sup>MS</sup>); letztere mit automatisch austauschbaren Kartuschen unmittelbar gekoppelt an die LC/MS-Analyse. Der MPS automatisiert mechanische Misch- und Trenntechniken unter Einsatz von Zentrifuge, Ultraschall oder Filtration. Lösungen und flüssige Extrakte lassen sich automatisiert wiegen (Wägeooption), temperieren, schütteln (quickMIX), einengen (<sup>m</sup>VAP) und derivatisieren. Verdünnungsreihen und Kalibrierstandards stellt der MPS genau und reproduzierbar her.

Der MPS automatisiert weiterhin eine große Bandbreite an Standardtechniken wie die Solid Phase Micro Extraction (SPME), die statische Headspace (HS) und dynamische Headspace (DHS) sowie die Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE, GERSTEL-Twister) samt Thermodesorption und Pyrolyse. Der MPS verwendet variable Probengefäße und -größen für eine Vielzahl unterschiedlicher Aufgaben und Applikationen. Proben lassen sich in Standard-Trays temperieren oder in Schubladen lichtgeschützt in großer Stückzahl auf kleinstem Raum lagern.

## Biomarker des Alkoholkonsums

# Vollautomatisierte Bestimmung von Phosphatidylethanol (PEth) aus Dried-Blood-Spots (DBS)

Mag man über die Bestimmung der Atem- und Blutalkoholkonzentration auch sicher ermitteln können, ob jemand kürzlich Alkohol konsumiert hat: Eine längerfristige Abstinenz, wie sie im Rahmen von Therapien oder im Zuge der Fahreignungsprüfung verlangt wird, lässt sich damit jedoch nicht belegen. Hierfür bedarf es anderer Methoden wie der Bestimmung spezieller Alkoholbiomarker, zu denen Phosphatidylethanol (PEth) zählt. PEth hat sich diesbezüglich als aussichtsreicher Kandidat erwiesen, lässt sich die Substanz doch auch lange Zeit nach dem letzten Alkoholkonsum hinreichend empfindlich in Blut nachweisen. Allerdings kann sich die PEth-Konzentration in flüssigen Proben aufgrund fortschreitender enzymatischer Aktivität verändern, womit sich flüssige Blutproben für die Analyse als ungünstig erweisen. Zur Bestimmung von PEth empfiehlt sich daher die Verwendung von Dried-Blood-Spots (DBS).

Mit dem vollautomatisierten GERSTEL-DBS-A-System gelingt der Nachweis von PEth in DBS effizient, sicher und sensitiv. Sämtliche Schritte des Probenhandlings einschließlich Barcode-Identifizierung, Zugabe von internem Standard, Herauslösen repräsentativer Probe-

mengen aus dem Probenträger, Festphasenextraktion (SPE) bis zur online-gekoppelten LC-MS/MS-Bestimmung verlaufen schnell und zuverlässig. Details zu unserem vollautomatisierten GERSTEL-MPS-DBS-A-LC-MS/MS-System erhalten Sie an unserem Stand auf der Industrieausstellung oder auf Anfrage bei [oliver\\_lerch@gerstel.de](mailto:oliver_lerch@gerstel.de).

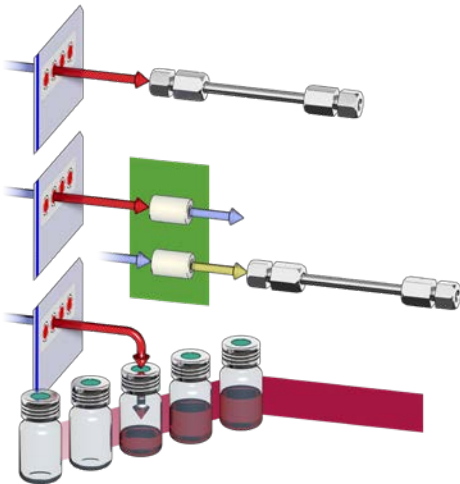


Einfache und genaue Entnahme und Bereitstellung von 10 µL Vollblut auf Dried-Blood-Spot (DBS) Karten zur Bestimmung u. a. von PEth. Foto: DBS System

## Automatisierte Dried-Blood-Spot-Analyse

# Den Informationsgehalt weniger Blutstropfen effizient auslesen

Der Einsatz des vollautomatisierten, MultiPurposeSampler-(MPS)-basierten Dried-Blood-Spot-Analysesystems (GERSTEL-DBS-A) bietet Anwenderinnen und Anwendern in der forensisch-toxikologischen Praxis viele Mehrwerte.



Wenige Blutstropfen genügen bereits zur Durchführung der DBS-Analyse. Appliziert, bevorratet und zur Vermessung gelangt das Blut auf speziellen Cellulose-Karten, die als Probenträger fungieren. Bei manueller Vorgehensweise durch Ausstanzen

einer Scheibe von ca. 3 mm Durchmesser erhält man ein definiertes Blutvolumen von 2 bis 3 µL, in denen die Blutbestandteile und Inhaltsstoffe homogen verteilt sind. Die Scheibe wird mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert, dann zentrifugiert; der Überstand wird gereinigt und direkt beziehungsweise nach Austausch des Lösemittels analysiert, häufig mittels HPLC-MS/MS oder GC-MS/MS.

Die einfache Technik für die Untersuchung von Blut. Ihre Effizienz und

Produktivität hängt jedoch signifikant von ihrem Automatisierungsgrad ab. Eine leistungsfähige Gesamtlösung (DBS-A) auf Basis des GERSTEL-MultiPurposeSamplers (MPS), gekoppelt an ein Analysensystem oder als Workstation, hat GERSTEL in Kooperation mit der niederländischen Firma Spark Holland entwickelt und in der Laborpraxis etabliert.

Zur Anwendung kommt das DBS-A-System von GERSTEL aktuell in führenden Anti-Doping-Laboratorien und in pharmazeutischen Laboratorien. Der Einsatz des DBS-A-Systems im Rahmen forensisch-toxikologischer Anwendung liegt auf der Hand.

Der MPS transportiert die DBS-Karte zu einer Kamera, eine integrierte Bilderkennerungssoftware bestimmt die Lage und bewertet die Qualität des getrockneten Blutstropfens. Der MPS platziert die Karte dann im Desorptionsinterface, in dem eine definierte Fläche des Blutstropfens (partielle oder komplette Beprobung) von einem Lösungsmittel durchströmt wird, um die Analyten zu desorbieren (Flow Through Desorption, FTD™); interne Standards lassen sich zudosieren, ein Aufreinigungsschritt auf einer automatisch wechselbaren SPE-Kartusche anschließen.

Nach dem Transfer der Analyten in das HPLC-System oder dem Sammeln von Extrakten unter Einsatz der MPS-Workstation wird die DBS-Karte freigegeben und die Leitungen werden gespült. Zu Dokumentationszwecken wird noch ein Foto der Karte nach dem Desorptionsschritt angefertigt. Insofern das Gesamtsystem direkt an die HPLC gekoppelt ist,



Vollautomatisierte MPS-basiertes GERSTEL-DBS-A-System.

werden die Analyten aus dem desorbierten Bereich vollständig auf die HPLC-Säule und damit ins Massenspektrometer überführt, was für sehr gute Nachweisgrenzen sorgt.

Das DBS-A-Gesamtsystem lässt sich nicht nur für Blutproben nutzen, die Analyse einer Vielzahl anderer flüssiger Matrices wie Plasma, Urin oder Wasser ist sinnvoll und möglich.

## References

- [1] F. D. Foster, J. R. Stuff und E. A. Pfannkoch, Automated Desorption, SPE Extraction, and LC-MS/MS Analysis of Dried Blood Spots, GERSTEL AppNote 4/2015 ([www.gerstel.com/pdf/p-lc-an-2015-04.pdf](http://www.gerstel.com/pdf/p-lc-an-2015-04.pdf))
- [2] J. Dib, L. Tretzel, T. Piper, A. Lagojda, D. Kuehne, W. Schänzer und M. Thevis, Screening for adiponectin receptor agonists and their metabolites in urine and dried blood spots, Clinical Mass Spectrometry 6 (2017) 13–20

## Literaturhinweis

L. Tretzel, A. Thomas, T. Piper, M. Hedeland, H. Geyer, W. Schänzer und M. Thevis, Fully automated determination of nicotine and its major metabolites in whole blood by means of a DBS online-SPE LC-HR-MS/MS approach for sports drug testing, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 123 (2016) 132–140

## Open Access

## Literaturhinweis

L. Tretzel, C. Görgens, H. Geyer, A. Thomas, J. Dib, S. Guddat, V. Pop, W. Schänzer und M. Thevis, Analyses of Meldonium (Mildronate) from Blood, Dried Blood Spots (DBS), and Urine Suggest Drug Incorporation into Erythrocytes, International Journal of Sports Medicine · DOI 10.1055/s-0036, [www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0036-1582317.pdf](http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0036-1582317.pdf)

## Hämatokritwert in DBS automatisch bestimmen

In Zusammenarbeit mit Büchi ([www.buchi.com](http://www.buchi.com)) hat GERSTEL ein Analysensystem entwickelt, mit dem sich der Hämatokritwert in auf DBS-Karten getrockneten Blutproben automatisch und zerstörungsfrei bestimmen lässt. Die Bestimmung des Hämatokritwertes erfolgt durch Infrarotmessung (NIR) und anschließender multivariater Auswertung der Spektren. Daraufhin wird die Probe mittels GERSTEL-DBS-A extrahiert und im LC-MS/MS analysiert. Die Analyse verläuft vollautomatisiert unter Einsatz der GERSTEL-MAESTRO-Steuersoftware.

Büchi-NIR zur Bestimmung des DBS-Hämatokritwertes vor Extraktion und Analyse mittels GERSTEL-DBS-A-LC-MS/MS.

# GERSTEL

Unsere Partner

DBS  
system

BUCHI  
SWITZERLAND

## Automatisierte Flüssig-Flüssig Extraktion (LLE)

# Alles im Fluss

Neben Workflows zur Festphasenextraktion (SPE) ermöglicht der GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS) die vollständige Automatisierung von Flüssig-Flüssig-Extraktionen (LLE).

Flüssig-Flüssig-Extraktionen zählen zu den Standardprozeduren in der Probenvorbereitung. Alle relevanten Schritte lassen sich mit dem GERSTEL-MultiPurposeSampler (MPS) vollumfänglich automatisieren, nachdem die Proben in 2-, 4-, 10- oder 20-mL-Vials vorgelegt und auf den Probentellern positioniert wurden.

Die komplette Methode wird einfach und komfortabel per Mausklick zusammengestellt. Der MPS gibt interne Standards zur Probe und fügt Extraktionspuffer und Extraktionsmittel hinzu. Extrahiert wird, während der MPS die Probe innerhalb kürzester Zeit perfekt mischt.

Probenphasen lassen sich rasch trennen – dank der integrierten Zentrifuge. Der MPS entnimmt die relevante Phase und transferiert sie in ein sauberes Vial; gegebenenfalls erfolgt eine weitere Extraktion mit frischem Lösemittel. Wahlweise injiziert der MPS den Extrakt auch ins Analysengerät oder dampft ihn im <sup>m</sup>VAP bis zur Trockene ein, um den Rückstand mit einem LC-tauglichen Laufmittel aufzunehmen oder um ein Derivatisierungsreagenz hinzuzufügen.

Welche Schritte auch immer noch folgen sollen, Sie haben die Wahl: Der MPS erweist sich aufgrund der verfügbaren großen Zahl an unterschiedlichen Optionen und der einfachen MAESTRO-Software-Steuerung als flexibles und robustes Werkzeug für die Automatisierung von Flüssig-Flüssig-Extraktionen (LLE).



MPS-Workstation (u. a. mit integrierter Zentrifuge)



GERSTEL<sup>quick</sup>MIX



GERSTEL-Multi-Position-Evaporation-Station (<sup>m</sup>VAP)

### Unsere Literaturempfehlungen

- [1] Sonja Heinel, Oliver Lerch und Freidoon Erdmann, **Automated GC-MS Determination of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, Cannabinol and Cannabidiol in Hair**, Journal of Analytical Toxicology (2016) 498-503, <http://bit.ly/2kfaKik>
- [2] Kirsten Purschke, Sonja Heinel, Oliver Lerch, Freidoon Erdmann und Florian Veit, **Development and validation of an automated liquid-liquid extraction GC/MS method for the determination of THC, 11-OH-THC, and free THC-carboxylic acid (THC-COOH) from blood serum**, Anal Bioanal Chem (2016) 4379–4388, <http://bit.ly/2mcxjF3>
- [3] Oliver Lerch, Oliver Temme und Thomas Daldrup, **Comprehensive automation of the solid phase extraction gas chromatographic mass spectrometric analysis (SPE-GC/MS) of opioids, cocaine, and metabolites from serum and other matrices**, Anal Bioanal Chem (2014) 4443–4451, <http://bit.ly/2kdmNww>
- [4] L. Tretzel, C. Görgens, H. Geyer, A. Thomas, J. Dib, S. Guddat, V. Pop, W. Schänzer und M. Thevis, **Analyses of Meldonium (Mildronate) from Blood, Dried Blood Spots (DBS), and Urine Suggest Drug Incorporation into Erythrocytes**, Int J Sports Med, <http://bit.ly/2lFgUbl>
- [5] Laura Tretzel, Andreas Thomas, Thomas Piper, Mikael Hedeland, Hans Geyer, Wilhelm Schänzer und Mario Thevis, **Fully automated determination of nicotine and its major metabolites in whole blood by means of a DBS online-SPE LC-HR-MS/MS approach for sports drug testing**, J Pharmaceut Biomed 123 (2016) 132–140, <http://bit.ly/2kDcQck>
- [6] Josef Dib, Laura Tretzel, Thomas Piper, Andreas Lagojda, Dirk Kuehne, Wilhelm Schänzer und Mario Thevis, **Screening for adiponectin receptor agonists and their metabolites in urine and dried blood spots**, Clinical Mass Spectrometry 6 (2017) 13–20, <http://bit.ly/2ksPENc>
- [7] Tobias Kieliba, Oliver Lerch, Hilke Andresen-Streichert, Markus A. Rothschild und Justus Beike, **Simultaneous quantification of THC-COOH, OH-THC, and further cannabinoids in human hair by gas chromatography-tandem mass spectrometry with electron ionization applying automated sample preparation**, Drug Test Anal (2018) 1–12, <http://bit.ly/2k84Ora>
- [8] Joseph A. Crifasi, Michael F. Bruder, Christopher W. Long und Kimberly Janssen, **Performance Evaluation of a Thermal Desorption System (TDS) for Detection of Basic Drugs in Forensic Samples by GC-MS**, J Anal Toxicol 30 (2006) 581–592, <http://bit.ly/2m7lb6R>

### GERSTEL GmbH & Co. KG

GERSTEL ist ein anerkannter Experte für die Automatisierung der GC(GC/MS)- und LC(LC/MS)-Probenvorbereitung und Probenaufgabe. Das international tätige Unternehmen liefert automatisierte Gesamtsysteme mit integrierter, dem Bedarf perfekt angepasster Steuer-Software. Der Firmensitz mit Hard- und Software-Entwicklung, Produktion, Applikations- und Schulungszentrum befindet sich in Mülheim an der Ruhr.

### Märkte

- Forensik
- Getränke und Lebensmittel
- Aroma und Duftstoffe
- Materialemissionen/Polymeranalytik
- (Trink-)Wasser und Umwelanalytik
- Biotechnologie und Pharmazie

### Kontakt

GERSTEL GmbH & Co. KG  
Eberhard-Gerstel-Platz 1  
45473 Mülheim an der Ruhr  
Telefon +49 208 76503-0  
E-Mail: [gerstel@gerstel.de](mailto:gerstel@gerstel.de)



## Automatisierte Extraktionstechniken

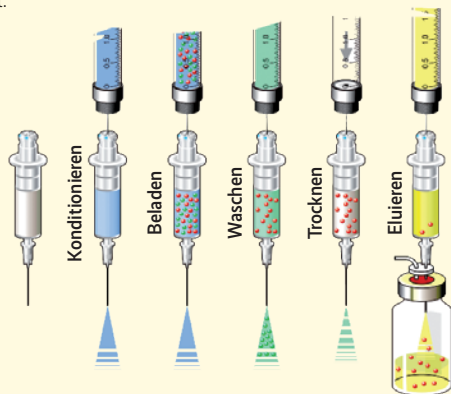
## Schritt für Schritt

Jede GC(GC/MS)- und HPLC(LC/MS)-Applikation erfordert eine bestimmte, auf ihre Art individuelle, anwendungsspezifische Herangehensweise. Um etwa eine forensisch-toxikologische Probe in eine analysierbare Form zu überführen, ist in aller Regel eine mehr oder weniger aufwendige Vorarbeit zu leisten. Um die Probe in eine analysierbare Form zu überführen, sind nicht zuletzt störende Matrixbestandteile zu

entfernen und/oder die Analyten in hinreichender Menge anzureichern. Welche Extraktionstechnik zur Anwendung kommt, hängt von der Art der Probe, den Analyten und auch der Aufgabenstellung ab. Wie effizient und produktiv Sie dabei vorgehen, ist wiederum eine Frage des Automatisierungsgrads. Wir stellen Ihnen hier zwei mit GERSTEL-Technologie automatisierte Extraktionsprozesse vor.

## Solid Phase Extraction (SPE)

Die Festphasenextraktion (Solid Phase Extraction, SPE) gehört zu den vielseitigsten und am häufigsten eingesetzten Extraktionstechniken in der chemischen Analytik. Sie SPE dient der Abtrennung von Matrixbestandteilen sowie der Extraktion und Anreicherung der Analyten. Von Hand ausgeführt, gestaltet sich die SPE arbeits- und zeitintensiv. Vor allem, wenn Wiederfindung und Wiederholbarkeit zu wünschen übrig lassen und weitere Parameterwechsel zu vollziehen sind. Entspannter, zeitsparender, exakter und bestens reproduzierbar hingegen verläuft die SPE, wird der Prozess automatisiert.



1. 1-, 3- und 6-mL-SPE-Standardkartuschen sind mit speziellen Transportadaptern versehen, die den Transport durch den MultiPurposeSampler (MPS) ermöglichen. Die Kartuschen sind praktisch totvolumenfrei.
2. Bei der Konditionierung werden die Kartuschen für die Beladung vorbereitet. Auch Aktivierungsschritte werden durch die GERSTEL-SPE automatisch durchgeführt.
3. Da die Beladung mit konstantem Volumen und konstantem Fluss erfolgt, ist eine bestmögliche Reproduzierbarkeit auch bei unterschiedlichen Packungsdichten gewährleistet.
4. Spülschritte dienen der Entfernung störender Bestandteile und zur Anpassung des Lösungsmittels an den Eluenten. Komplexe Spülzyklen mit unterschiedlichen Lösungsmitteln erstellen Sie einfach per Mausclick.
5. Es kann sich von Fall zu Fall als sinnvoll herausstellen, die Kartusche vor der Elution zu trocknen. Mit der GERSTEL-SPE lässt sich dieser Zwischenschritt spielend leicht automatisieren.
6. Bei der Elution werden die zurückgehaltenen Komponenten von der SPE-Kartusche gewaschen. Da die Elution in ein geschlossenes Vial erfolgt, besteht kein Kontaminationsrisiko.

Die auf dem GERSTEL-MPS automatisierte SPE erlaubt die Kombination mit anderen Probenvorbereitungsschritten wie der Zugabe von Standards, Derivatisierung etc. Prep-Sequenzen lassen sich dank der intuitiven GERSTEL-MAESTRO-Software einfach zusammenstellen, und zwar per Mausclick.

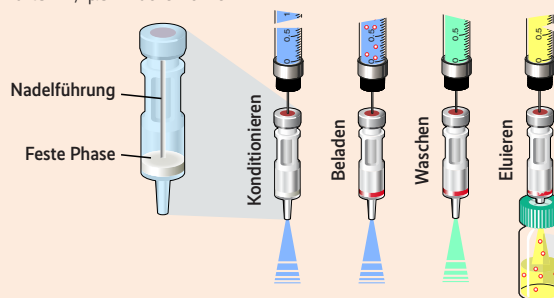
## Kontakt

GERSTEL GmbH & Co. KG  
Eberhard-Gerstel-Platz 1 · 45473 Mülheim an der Ruhr, Deutschland  
Telefon +49 208 76503-0  
E-Mail: gerstel@gerstel.de

Text und Redaktion: Guido Deußing  
Gestaltung: PauraDesign

SmartSPE /  $\mu$ SPE

Die SmartSPE beziehungsweise  $\mu$ SPE ist eine patentierte mikroskalierte, der klassischen Festphasenextraktion vergleichbare Technik. Die SmartSPE /  $\mu$ SPE ermöglicht die Durchführung der Analytik unter Einsatz signifikant geringerer Probenvolumina und reduziert damit den Lösungsmittelverbrauch sowie den für die Probenvorbereitung erforderlichen Zeit- und Arbeitsaufwand. Da für die SmartSPE /  $\mu$ SPE und die klassische SPE vergleichbare Sorbentien eingesetzt werden, lassen sich bestehende Methoden in der Regel der mikroskalierten Vorgehensweise anpassen und mit der SmartSPE /  $\mu$ SPE durchführen.

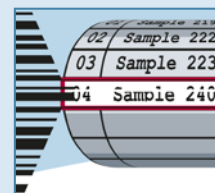


Nach der Konditionierung der Festphase wird die Kartusche beladen. Bei Bedarf kann das Sorbensbett zur Entfernung von Matrixbestandteilen gewaschen werden, bevor im letzten Schritt die Elution der Analyten unter Verwendung eines geeigneten Lösungsmittels erfolgt. Im Vergleich mit der klassischen SPE benötigt dieses Verfahren aufgrund der geringeren Sorbensmenge (10 – 45 mg) deutlich weniger Lösungsmittel.

Die SmartSPE /  $\mu$ SPE wird vom GERSTEL-MPS vollständig unterstützt. Die Automatisierung bietet nicht nur die oben beschriebenen Nutz- und Mehrwerte. Sie ist zudem vollständig in die MAESTRO-Software mit Prep-Ahead-Funktion sowie in die MassHunter- und ChemStation-Software von Agilent Technologies integriert. Einbindung und Steuerung der Hardware erfolgen einfach per Mausclick.

## Sequence by Barcode

Mit dem GERSTEL-Sample-ID(SID)-Barcode-Reader wurden neue Automatisierungs- und QC-Optionen in die MAESTRO-Software integriert. Neben der Probenprotokollierung und Proben-ID-Übertragung in die Analysensequenz ermöglicht der SID eine automatisierte Analyse durch vordefinierte Methoden sowie die Generierung von Sequenztabellen.



Die Analyse von Einzelproben oder Batches ist per Mausclick wählbar. Trigger-Vials lassen sich in benutzerdefinierten Intervallen einführen, um etwa Lösungsmittelinjektionen für Systemhintergrundprüfungen zu aktivieren, gefolgt von einem oder mehreren Prüfstandardläufen als Teil der QC-Routineoperation. Trigger-Funktionen werden ausgeführt, ohne mehrere Probenpositionen im Tray zu belegen. Dies ermöglicht einen hohen Probendurchsatz bei gleichzeitiger Einhaltung der Qualitätsanforderungen. Datenimport- und -exportfunktionen ermöglichen LIMS- oder Datenbank-synchronisation.