

Erste Erfahrungen mit der HP-PrepStation: Adaption manueller Methoden zur Festphasenextraktion von Cannabinoiden, Opiaten und Cocain

Oliver Temme, Th. Daldrup und F. Mußhoff

1. Einleitung

Seit etwa einem Jahr haben befindet sich die HP PrepStation (SPE Module) im Institut für Rechtsmedizin der Universität Düsseldorf in Betrieb. Die PrepStation sollte als automatisches Probenvorbereitungssystem Einsatz finden und in erster Linie die Routine-Festphasenextraktionen (z. B. für Cannabinoide, Opiate und Cocain) durchführen. Die Zahl und der Anspruch an die Qualität dieser Untersuchungen hat, insbesondere durch die von 1993-1996 durchgeführten Forschungsvorhaben *Cannabis im Straßenverkehr* [2] und *Drogen im Straßenverkehr*, in den letzten Jahren stark zugenommen. Die Automatisierung sollte eine personelle Entlastung und eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erbringen.

Die Wahl fiel auf das HP PrepStation-SPE Modul, das in unserem Labor als freistehendes Gerät betrieben wird. In dieser Ausstattung verfügt das Gerät u. a. über acht einzeln steuerbare Eingänge für Lösungsmittel sowie einen Gasanschluß (N₂), einen Probengeber mit 100 Positionen für 12×32 mm Probengeberflaschen bzw. Extraktionskartuschen, einen kombinierten Barcode-Reader/Mixer und im SPE Modul eine Arbeitsposition für Extraktionskartuschen, eine Arbeitsposition für die Pipettiervorgänge in den Vials und eine beheizbare Position für das Einengen von Lösungsmitteln unter Stickstoff.

2. Extraktionsmethodik für Cannabinoide

Zunächst galt es, die Methoden für die Verwendung mit der PrepStation zu adaptieren. Als erste wurde die Cannabis-Methode nach Daldrup et al. [1] ausgewählt. Diese Methode basierte auf einer Extraktion mit C18-Säulen, so daß auch für die neue Methode Säulen dieses Materials Verwendung finden sollten. Es wurden zu diesem Zweck HP-C18-Extraktionskartuschen mit 100 mg Sorbens ausgewählt. Die Probenvorbereitung und die Derivatisierung wird weiterhin manuell durchgeführt.

2.1. Probenvorbereitung

40 µL ISTD-Mix in Eppendorf-Reaktionsgefäß (2 mL) vorlegen
1 mL Acetonitril zugeben
0,7 mL (bzw. 0,7 g) Serum/Blut/Urin zutropfen, ggf. mit H₂O auffüllen
10 min bei 14.000 U/min zentrifugieren (→ Überstand)
100 µL Essigsäure (10 %) in Probengebervial (1,6 mL) vorlegen
1,5 mL Überstand zugeben, ggf. mit H₂O/ACN (7:10, V:V) auffüllen
verdeckeln und auf Vortex mischen (→ "Probe IN")
korrespondierendes Leerfläschchen beschriften (→ "Probe OUT")
Bestückung Probengeber mit IN-Vials, C18-Kartuschen und Out-Vials

2.2. Festphasenextraktion mit der PrepStation (Programmablauf)

- [1] * Eluat-Vial vorstechen
- [2] Evaporate Probe OUT at ambient temperature for 0.00 minutes
Temperature = 0° C Vial name = Probe OUT
Time = 0.00 min Station name = SPE-Unit
Needle height = 16.00 mm Upon completion = Return to tray
- [3] * Konditionieren der C18-Säule
- [4] SPE-Condition C18-Säule with 2.000 mL of MeOH
Volume = 2.000 mL Solvent = MeOH
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
Dispense speed = 2.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [5] SPE-Condition C18-Säule with 2.000 mL of H₂O
Volume = 2.000 mL Solvent = H₂O
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
Dispense speed = 2.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [6] SPE-Condition C18-Säule with 2.000 mL of 0.1 M CH₃COOH
Volume = 2.000 ML Solvent = 0.1 M CH₃COOH
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
Dispense speed = 2.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [7] * Probenverdünnung und Aufgabe
- [8] Aspirate 1.200 mL from Probe IN
Volume = 1.200 mL Vial name = Probe IN
Aspirate speed = 3.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Needle height = 0.00 mm Overshoot = 0.60 %
Pre-sample air gap = 0.010 mL Wait for fill = 5 sec
Prefill solvent path = No Prefill solvent = 0.1 M CH₃COOH
Flow path = Dispense

- [9] SPE Wash C18-Säule with 2.400 mL of 0.1 M CH₃COOH
 Volume = 2.400 mL Wash solvent = 0.1 M CH₃COOH
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = No
- [10] Dispense 1.200 mL of 0.1 M CH₃COOH into Probe IN
 Volume = 1.200 mL Solvent = 0.1 M CH₃COOH
 Draw speed = 10.0 mL/min Vial name = Probe IN
 Dispense speed = 10.0 mL/min Needle height = 23.00 mm
 Overshoot = 0.60 % Station name = SPE-Unit
 Flow path = Dispense Prefill solvent path = No
- [11] Aspirate 1.400 mL from Probe IN
 Volume = 1.400 mL Vial name = Probe IN
 Aspirate speed = 3.0 mL/min Station name = SPE-Unit
 Needle height = 0.00 mm Overshoot = 0.60 %
 Pre-sample air gap = 0.010 mL Wait for fill = 5 sec
 Prefill solvent path = No Prefill solvent = 0.1 M CH₃COOH
 Flow path = Dispense
- [12] SPE-Wash C18-Säule with 1.400 mL of 0.1 M CH₃COOH
 Volume = 1.400 mL Wash solvent = 0.1 M CH₃COOH
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prfill solvent path = No
- [13] * Spülen der C18-Säule
- [14] SPE Wash C18-Säule with 2.000 mL of 40 % ACN
 Volume = 2.000 mL Wash solvent = 40 % ACN
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = C18-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = Yes
- [15] SPE-Dry C18-Säule for 0.10 min using Wash-Elute flow path
 Time = 0.10 min Cartridge name = C18-Säule
 Flow path = Wash-Elute Station name = SPE-Unit
- [16] * Eluieren der Probe ins Eluat-Vial
- [17] SPE - Elute C18-Säule to Probe OUT with 1.975 mL of ACN
 Volume = 1.975 mL Solvent = ACN
 Draw speed = 10.0 mL/min Vial name = Probe OUT
 Dispense speed = 1.5 mL/min Cartridge name = C18-Säule
 Flow path = Wash Elute Station name = SPE-Unit
 Purge time = 0.00 min Prefill solvent path = Yes

[18] * System nachspülen
 [19] Rinse - System with 2.000 mL of MeOH using Entire System path
 Volume = 2.000 mL Solvent = MeOH
 Draw Speed = 10.0 mL/min Station name = SPE-Unit
 Dispense speed = 10.0 mL/min Flow path = Entire System
 END

2.2.1. Weitere Parameter der Prep-Station

Vial/Cartridge Information Table

<u>Name</u>	<u>Type</u>	<u>Number of Uses</u>
Probe IN	sample	N/A
Probe OUT	empty vial	1
C18-Säule	cartridge	1

Solvent Information

SPE-Unit SPE Module 2.5 mL syringe

<u>Station</u>	<u>Port</u>	<u>Solvent</u>	<u>Size</u>
SPE-Unit	1	H2O	1000.0
SPE-Unit	2	MeOH	250.0
SPE-Unit	3	0.1 M CH ₃ COOH	500.0
SPE-Unit	4	ACN	250.0
SPE-Unit	5	40 % ACN	250.0
SPE-Unit	-	Air	N/A

2.3. Derivatisierung und Analyse

Die Derivatisierung und Analyse der Proben erfolgt gemäß der ursprünglichen Methode [1]. Alternativ kann z. B. eine Silylierung, wie sie bei der Opiat/Cocain-Methode beschrieben ist, zur Derivatisierung benutzt werden. Zur Analyse werden bei gleichen Gerätevoraussetzungen das Temperaturprogramm und die Aquisitionsgruppen für diese Anwendung angeglichen.

2.4. Methodvalidierung

2.4.1. Verschleppung

Zunächst war zu klären, ob durch diese Vorgehensweise eine Verschleppung in nachfolgende Proben erfolgen könnte. Dazu wurden im Wechsel zwei Proben (aufgestockt mit ca. 55 ng/μL THC, 15 ng/μL 11-OH-THC und 300 ng/μL THC-COOH) und zwei Blindseren aufgearbeitet und analysiert. Zusätzlich lief in jeder Sequenz am Ende ein mit deuteriertem Standard aufgestocktes Blindserum mit, mit dem eine Verschleppung detektiert werden sollte. Hier, wie in den vorhergehenden Untersuchungen konnten keine Verschleppungen festgestellt werden. Zu Beginn jeder Sequenz wurde ein Serumvergleich extrahiert, an dem die Qualität der Extraktion gemessen wurde.

2.4.2. Präzision

Die Reproduzierbarkeit der Extraktionsergebnisse wurde überprüft, indem 10 identische Proben (gepooltes, aufgestocktes Serum mit den Konzentrationen 5 ng/μL THC, 5 ng/μL 11-OH-THC, 50 ng/μl THC-COOH) nacheinander aufgearbeitet und analysiert wurden. Hier zeigten sich durchschnittliche absolute Wiederfindungen (bei n = 9 Aufarbeitungen) für die zugesetzten Standards (THC-D₃ bzw. THC-COOH-D₃) von 64 % ± 2,7 % bzw. 43 % ± 4,2 %. Hier zu erwähnen sei, daß methodisch bedingt (Fällung, Pipettiervorgänge) etwa 20 % des eingesetzten Materials verlorengehen. Die gemessenen Konzentrationen (bei n = 10 Proben) zeigten relative Standardabweichungen von 2,2 % (THC), 5,0 % (11-OH-THC), und 3,2 % (THC-COOH).

Tab. 1: Reproduzierbarkeit der Extraktion von Cannabinoiden mit der HP PrepStation; Konzentrationen in ng/mL; Wiederfindungen in % absolut; n. b.: nicht bestimmt.

	Probe-Nr.:										Mittelwert	MW-Abw.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Konz. THC	5,01	4,72	4,78	4,92	5,06	4,74	5,10	4,87	4,85	4,86	4,89	2,2%
Konz. 11-OH-THC	5,47	4,55	5,54	4,67	4,67	4,83	4,90	4,84	4,93	4,61	4,90	5,0%
Konz. THC-COOH	20,13	19,23	19,85	19,26	20,01	19,56	21,41	20,53	20,77	18,54	19,93	3,2%
Wiederf. THC-COOH	n. b.	45,23	37,22	43,06	43,94	45,25	41,01	41,49	43,28	42,59	42,6%	4,2%
Wiederf. THC	n. b.	66,17	65,57	63,05	64,91	68,17	62,83	61,79	65,09	62,03	64,4%	2,7%

Bei der so ermittelten Methode, die noch nach Material- und Zeitbedarf optimiert wurde, können je Sequenz bis zu 33 Proben (31 Proben + 2 Kontrollen) abgearbeitet werden. Der Mehrbedarf an Lösungsmitteln liegt hier im Durchschnitt dreieinhalbmal höher als bei der konventionellen Methode, da bei jedem Lösungsmittelwechsel das gesamte System bzw. der verwendete Teilbereich mit diesem Lösungsmittel durchspült werden sollte. Der Zeitbedarf liegt bei ca. 30 min je Probe, was die Abarbeitung eines voll bestückten Probengebers "über Nacht" ermöglicht.

3. Extraktionsmethodik für Opiate, Cocain und Benzoylcegonin

Bei der Entwicklung der Methode für die gleichzeitige Aufarbeitung von Opiaten und Cocain sowie dessen Metabolit (Benzoylcegonin) wurde als Basis eine im Hause bereits etablierte Methode zur manuellen Festphasenextraktion mit Certify-Säulen und einer basische Elution ausgewählt. Es handelt sich hierbei im wesentlichen um eine Extraktion mit Säulen, die mit 100 mg einer Mischphase (DAU) gefüllt sind, die den Certify-Extraktionssäulen ähnlich sind.

3.1. Probenvorbereitung

50 µL ISTD-Mix in Eppendorf-Reaktionsgefäß (2 mL) vorlegen
1 mL Aceton zugeben
1 mL (bzw. 1 g) Serum/Blut/Urin zutropfen, ggf. mit H₂O auffüllen
10 min bei 14.000 U/min zentrifugieren (→ Überstand)
100 µL HCl (1 M) in Probengebervial (1,6 mL) vorlegen
1,5 mL Überstand zugeben, ggf. mit H₂O/Aceton (1:1, V:V) auffüllen
verdeckeln und auf Vortex mischen (→ "Probe IN")
korrespondierendes Leerfläschchen beschriften (→ "Probe OUT")
Bestückung Probengeber mit IN-Vials, DAU-Kartuschen und Out-Vials

3.2. Festphasenextraktion mit der PrepStation (Programmablauf)

- [1] * Eluat-Vial vorstechen
- [2] Evaporate Eluat-Vial at ambient temperature for 0.00 minutes
Temperature = 0° C Vial name = Eluat-Vial
Time = 0.00 min Station name = SPE-Unit
Needle height = 16.00 mm Upon completion = Return to tray
- [3] * Konditionieren der DAU-Säule
- [4] SPE-Condition DAU-Säule with 2.000 mL of MeOH
Volume = 2.000 mL Solvent = MeOH
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
Dispense speed = 2.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [5] SPE-Condition DAU-Säule with 2.000 mL of H₂O
Volume = 2.000 mL Solvent = H₂O
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
Dispense speed = 2.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [6] SPE-Condition DAU-Säule with 2.000 mL of 25 mM HCl
Volume = 2.000 mL Solvent = 25 mM HCl
Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
Dispense speed = 1.6 mL/min Station name = SPE-Unit
Prefill solvent path = Yes
- [7] * Probenverdünnung und Aufgabe
- [8] Aspirate 0.800 mL from Proben-Vial
Volume = 0.800 mL Vial name = Proben-Vial
Aspirate speed = 3.0 mL/min Station name = SPE-Unit
Needle height = 0.00 mm Overshoot = 0.60 %
Pre-sample air gap = 0.010 mL Wait for fill = 5 sec
Prefill solvent path = No Prefill solvent = 25 mM HCl
Flow path = Dispense

- [9] SPE Wash DAU-Säule with 2.400 mL of 25 mM HCl
 Volume = 2.400 mL Wash solvent = 25 mM HCl
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = No
- [10] Dispense 0.800 mL of 25 mM HCl into Proben-Vial
 Volume = 0.800 mL Solvent = 25 mM HCl
 Draw speed = 10.0 mL/min Vial name = Proben-Vial
 Dispense speed = 10.0 mL/min Needle height = 23.00 mm
 Overshoot = 0.60 % Station name = SPE-Unit
 Flow path = Dispense Prefill solvent path = No
- [11] Aspirate 1.400 mL from Proben-Vial
 Volume = 1.400 mL Vial name = Proben-Vial
 Aspirate speed = 3.0 mL/min Station name = SPE-Unit
 Needle height = 0.00 mm Overshoot = 0.60 %
 Pre-sample air gap = 0.010 mL Wait for fill = 5 sec
 Prefill solvent path = No Prefill solvent = 25 mM HCl
 Flow path = Dispense
- [12] SPE-Wash DAU-Säule with 2.400 mL of 25 mM HCl
 Volume = 2.400 mL Wash solvent = 25 mM HCl
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = No
- [13] * Spülen der DAU-Säule
- [14] SPE - Wash DAU-Säule with 3.000 mL of H₂O
 Volume = 3.000 mL Wash solvent = H₂O
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = Yes
- [15] SPE - Wash DAU-Säule with 3.000 mL of 0.1 M HCl
 Volume = 3.000 mL Wash solvent = 0.1 M HCl
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = Yes
- [16] SPE - Wash DAU-Säule with 3.000 mL of MeOH
 Volume = 3.000 mL Wash solvent = MeOH
 Draw speed = 10.0 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Dispense speed = 1.5 mL/min Station name = SPE-Unit
 Flow path = Wash-Elute Prefill solvent path = Yes

[17]SPE-Dry DAU-Säule for 0.10 min using Wash-Elute flow path
 Time = 0.10 min Cartridge name = DAU-Säule
 Flow path = Wash-Elute Station name = SPE-Unit

[18]* Eluieren der Probe in das Eluat-Vial

[19]SPE-Elute DAU-Säule to Eluat-Vial with 1.975 mL of Dichl/Iso/Am
 Volume = 1.975 mL Solvent = Dichlor / Iso / Amm
 Draw speed = 10.0 mL/min Vial name = Eluat-Vial
 Dispense speed = 1.5 mL/min Cartridge name = DAU-Säule
 Flow path = Wash Elute Station name = SPE-Unit
 Purge time = 0.00 min Prefill solvent path = Yes

[20]* System nachspülen

[21]Rinse - System with 2.000 mL of MeOH using Entire System path
 Volume = 2.000 mL Solvent = MeOH
 Draw Speed = 10.0. mL/min Station name = SPE-Unit
 Dispense speed = 10.0 mL/min Flow path = Entire System

END

Vial/Cartridge Information Table

<u>Name</u>	<u>Type</u>	<u>Number of Uses</u>
Proben-Vial	sample	N/A
Eluat-Vial	empty vial	1
DAU-Säule	cartridge	1

Solvent Information

SPE-Unit		SPE Module	2.5 mL syringe
<u>Station</u>	<u>Port</u>	<u>Solvent</u>	<u>Size</u>
SPE-Unit	1	H2O	1000.0
SPE-Unit	2	MeOH	250.0
SPE-Unit	6	0.1 M HCl	250.0
SPE-Unit	7	Dichlor / Iso / Amm	100.0
SPE-Unit	8	25 mM HCl	100.0
SPE-Unit	-	Air	N/A

3.3. Derivatisierung und Analyse

Proben und Vergleich unter N₂ vollständig evaporieren
 220 µL frisch angesetzte Derivatisierungslösung zugeben
 (Isooctan : Pyridin : MSTFA (20 : 1 : 1, V : V : V))
 Vial verschließen und 30 min bei 90° C im Trockenschrank inkubieren

Die Analyse erfolgt mittels GC/MS nach einer im Institut bereits etablierten Methode zur gleichzeitigen Erfassung von Cocain, Benzoylecgonin und Opiaten.

3.4. Reproduzierbarkeit der Extraktionsergebnisse

Es ergaben sich (bei n = 5 Aufarbeitungen) durchschnittliche absolute Wiederfindungen von 49 - 79 % (3,0 - 4,3 % relative Standardabweichung) für die zugesetzten deuterierten Standards. Auch hier zu erwähnen sei, daß methodisch bedingt (Fällung, Pipettiervorgänge) etwa 20 % des eingesetzten Materials verlorengelangen. Die gemessenen Konzentrationen (n = 6) zeigten relative Standardabweichungen von 1,5 - 6,4 %.

Tab. 2: Reproduzierbarkeit der Extraktion von Opiaten und Cocain mit der HP PrepStation; Konzentrationen in ng/mL; Wiederfindungen in % absolut; Wiederfindungen von Probe 4 wurden nicht in den Mittelwert einberechnet.

	Probe-Nr.:						Mittelwert	MW-Abw.
	1	2	3	4	5	6		
Konzentration Cocain	25,02	25,63	25,19	25,95	26,04	27,05	25,81	2,1%
Konzentration Benzoylcegonin	182,16	185,26	155,67	162,98	178,04	193,18	176,22	6,4%
Konzentration Codein	26,86	26,52	26,14	26,41	26,90	28,44	26,88	2,0%
Konzentration Dihydrocodein	154,71	151,80	156,01	146,04	147,31	156,13	152,00	2,4%
Konzentration Morphin	25,55	25,14	25,05	25,51	25,28	26,63	25,53	1,5%
Wiederfindung Cocain	74,90	79,90	82,10	148,60	77,70	81,70	79,26	3,0%
Wiederfindung Benzoylcegonin	46,70	48,20	50,30	98,10	51,50	49,70	49,28	3,0%
Wiederfindung Codein	51,90	57,00	53,90	112,80	58,70	58,00	55,90	4,3%
Wiederfindung Morphin	47,70	50,40	48,50	101,40	52,80	52,50	50,38	3,6%

4. Diskussion

Als größtes Problem stellte sich die Umsetzung der Probenaufgabe auf die Extraktionssäulen heraus. Die Vorlagegefäße sind ein Volumen von maximal 1,6 mL begrenzt, was für das Gerät ein höchst entnehmbares Volumen von 1,4 mL bedeutet. Die in dem Überstand der vorgehenden Präzipitierung hohe Acetonitrilkonzentration erhöht das Risiko einer direkten Retention, wodurch eine Verdünnung zur Herabsetzung dieser Konzentration nötig wird. In der Praxis erweist sich eine Senkung des Acetonitrilgehaltes auf unter 30 % als ausreichend. Dies macht jedoch die Aufgabe eines größeren Volumens (> 4 mL) erforderlich. Zu diesem Zweck wurde zunächst das Verdünnen der zuvor gefällten Proben in zusätzlichen, leeren Vials erprobt, was aber wegen der Begrenzung der Probengeberplätze die Analysenzahl je Automatenbestückung verringerte. Letztlich wurde die Verdünnung der Probe in den Spritzenkolben der PrepStation verlegt, der mit einem Vo-

lumen von 2,5 mL bei einem leicht verringerten Ausgangsvolumen und einer Aufteilung der Aufgabe in zwei Teilschritte als ausreichend erschien.

Bei beiden Methoden wurden nur die Teilschritte an die PrepStation übergeben, die direkt mit der Festphasenextraktion zusammenhängen. Die Entproteinierung des Serums (Blutes) wird manuell durchgeführt, da die PrepStation nicht über eine Zentrifugationsfunktion verfügt und da kleinere Partikel gefällten Probenmaterials die feinen Leitungen zusetzen könnten. Die Derivatisierung der Proben wird ebenfalls weiterhin manuell durchgeführt. Diesem Schritt geht ein Einengen der Probe unter Stickstoff voraus und nach, was in der PrepStation wegen der seriellen Abarbeitung sehr zeitaufwendig ist.

Ein spezielles Problem der PrepStation ist, daß es bei der Befüllung von Vials mit Lösungsmitteln es zu einem scheinbaren Überlaufen der Vials kommt, obwohl diese noch nicht gefüllt sind. Bei näherer Betrachtung entpuppt sich dieses Phänomen als ein Lösungsmittelfilm, der in der Nut der Nadel hochgezogen wird und dann durch den, durch das Befüllen entstehenden Überdruck herausgedrückt wird. Um nicht ganz auf das Verdeckeln der Vials zu verzichten, benutzen wir einfache dünne Teflon-Septen, die sich nicht wiederverschließen und punktieren diese an einer anderen Stelle als der späteren Einstichstelle um eine zusätzliche Entlüftungsöffnung zu erzeugen.



Abb. 1: Vorstechen eines Teflonseptums mit einer Spezialnadel - Schaffen eines Langloches zur zusätzlichen Entlüftung.

Praktisch geschieht dies durch das Anstechen mit der speziell von HP modifizierten Nadel zum Einengen der Proben, die ein auf die Nadel aufgebrachtes zweites Rohr aufweist.

Seit 10 Monaten läuft das Gerät im Routinebetrieb zur Cannabisaufarbeitung (bisher ca. 1000 Extraktionen) und seit 6 Monaten zur Opiat bzw. Cocainaufarbeitung (bisher ca. 300 Extraktionen) nahezu störungs- und wartungsfrei.

5. Danksagung

Die Autoren danken dem *Ministerium für Wirtschaft und Mittelstand, Technologie und Verkehr* sowie dem *Bund gegen Alkohol im Straßenverkehr* für die finanzielle Unterstützung.

6. Literatur

- [1] Th. Daldrup, F. Mußhoff und O. Temme: Bestimmung von THC, 11-OH-THC und THC-COOH in Serum oder Blut. GTFCh-Symposium 1995 - Drogen und Arzneimittel im Straßenverkehr 194-205.
- [2] Prof. Dr. Th. Daldrup: Abschlußbericht des im Auftrage des Ministeriums für Wirtschaft und Mittelstand, Technologie und Verkehr des Landes Nordrhein-Westfalen durchgeführten Forschungsvorhabens "Cannabis im Straßenverkehr". Az.: 3.4721/03-2/93

Dipl. Biol. O. Temme und
Prof. Dr. Th. Daldrup
Institut für Rechtsmedizin
Heinrich-Heine-Universität
Moorenstr. 5, D-40225 Düsseldorf

Dr. F. Mußhoff
Institut für Rechtsmedizin
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität
Stiftsplatz 12; D-53111 Bonn