

DART-TOF MS 스크리닝에 의한 약물 화학의 효율성 유지 및 데이터 품질 향상

응용 자료

법과학

저자

Erin Shonsey
Director of Research
Alabama Department of Forensic
Science

개요

연속 교정을 이용하는 DART-TOF MS를 사용하여 법과학 분석을 위한 시료 사전 스크리닝 분석법을 개발하였습니다. 이 분석법은 워크플로를 줄여 주기 시간을 최소화하는 동시에 보다 나은 확인 시험을 위해 스크리닝 정확성을 향상시킵니다. 또한 일부 약물에 대해 시료 제조 과정과 주관적인 스크리닝 분석법을 없앨 수 있습니다. 따라서 법과학 실험실은 이 스크리닝 분석법을 사용하여 생산성과 분석 결과의 신뢰성을 높일 수 있습니다.



Agilent Technologies

서론

법과학과 형사 사법 제도에서의 법과학 적용은 수년간 계속 해서 발전해 왔습니다. 법과학 실험실 작업에 대한 규정이 점점 더 엄격해지고 있으며 ISO 17025 국제 표준에서 설명한 것과 같은 일부 규정은 즉시 시행해야 합니다. 이러한 규정은 샘플링 계획, 검토 가능한 데이터 문서화, 분석법 검증 등을 포함하고 있습니다. 잘 정의된 기준은 국립과학원(NAS)과 같은 영향력 있는 조직에서 법과학 실험실이 그러한 규정을 충족할 수 있는 방법에 대한 권고안을 개발하는 것입니다. 해당 권고안으로는 측정 분석법에서의 인적 편향 최소화, 특히 사례 처리를 포함한 법과학 업무에 대한 분석 표준 설정 등을 들 수 있습니다.

과거의 전통적인 시료 분석 워크플로는 육안 검사, 중량 측정과 더불어 사전 스크리닝으로서 색상, 미세결정, TLC, GC 및 LC를 포함한 추정 시험으로 시작했습니다(그림 1). 육안 및 색상 시험은 사실상 주관적이며, NAS 및 ISO 규정의 조건인 측정 가능한 대조 시료가 없습니다. 또한 이러한 시험은 검토 가능한 데이터를 제공하지 않습니다. 표적 분석 물질을 결정하기 위해 추가적인 GC/MS 스크리닝을 수행했으므로 분석 시간은 늘어났습니다.

ADFS(Alabama Department of Forensic Science)는 NAS 및 ISO 17025에 대한 응답으로 법과학 분석의 모든 단계에서 검토 가능한 데이터가 필요하도록 작업 절차를 다시 작성하였습니다. Agilent 6224 TOF LC/MS와 DART 이온화원을 함께 사용하여 약물 시료에 대한 분석 전 예비 스크리닝을 수행할 수 있는 분석법을 개발하였습니다. 이 분석법은 주기 시간과 필요한 인력을 최소화하도록 워크플로를 변경하여 실험실 생산성을 높임과 동시에 정확하고 신뢰할 수 있는 결과를 제공하는 것으로 입증되었습니다.

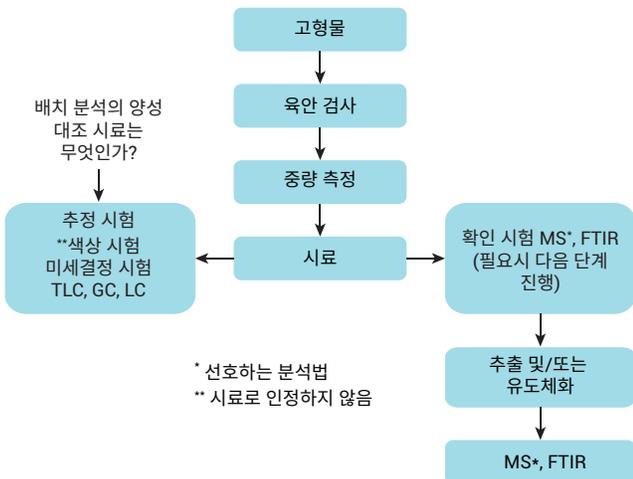


그림 1. 사례 분석의 일반적인 순서도

실험

이 연구의 목적은 (질량)교정을 통해 뛰어난 질량 정확도를 제공하면서도 추출을 하지 않고 처리량을 극대화할 수 있는 분석법을 개발하는 것이었습니다. 현지 실험실의 실제 사례 작업을 사용하여 본 연구를 수행하였으며, 분석법은 DART 이온화원을 결합한 Agilent 6224 TOF LC/MS를 사용하여 개발하였습니다. 교정 용액이 연속해서 흐를 수 있도록 PEEK 튜브(내경 0.005인치, 빨간색)와 스테인리스 스틸 튜브(내경 0.010인치)(그림 3)를 syringe pump(WPI SP100I)와 함께 TOF에 연결하였습니다. 이 분석법이 잠정적인 화합물 동정을 위해 정확 질량(exact mass)을 측정할 수 있는지를 확인하기 위한 시험을 실시하였습니다.

그림 2는 DART 이온화를 그림으로 설명한 것이며, 이것은 TOF LC/MS 분석 앞에서 사용됩니다. 그림을 통해 알 수 있듯이, 양이온 모드에서는 준안정성 헬륨이 대기 중의 수증기를 이온화 한 다음, 시료에 양성자를 제공합니다. 그림 3은 그 다음 단계로, 이 단계에서는 syringe pump와 PEEK 튜브를 사용하여 각 시료에 기준 이온을 연속적으로 추가합니다. 이 방식은 시료를 분석하는 동안 교정이 지속적으로 이루어지기 때문에 모든 데이터 파일에서 대조 시료 데이터를 제공할 뿐 아니라 실시간 분석도 수행할 수 있습니다.

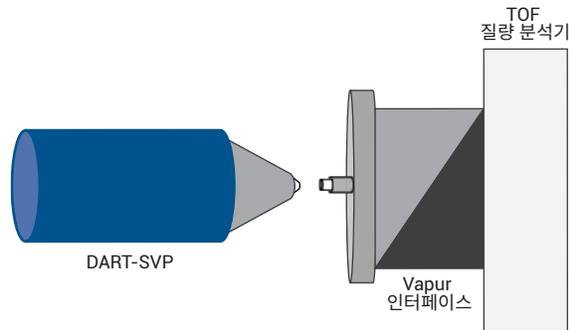


그림 2. 시스템 개요 - DART 이온화

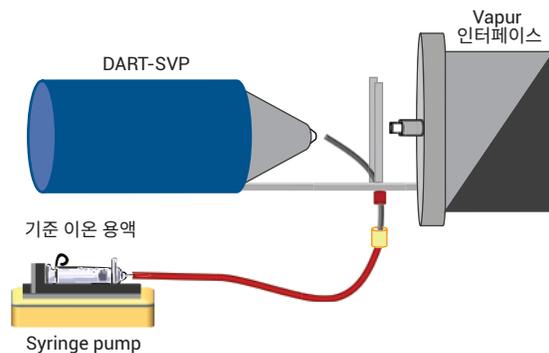


그림 3. 시스템 개요 - 기준 용액 도입

Agilent 6224 TOF LC/MS의 기기 조건은 표 1에 나와 있습니다.

표 1. 기기 조건

시간 세그먼트 1	
수집 모드 MS1	
최소 범위(m/z)	60
최대 범위(m/z)	600
스캔 속도(스펙트럼/초)	1.00
이온화원 파라미터	
가스 온도:	325°C
가스 유량	10L/분
Nebulizer	0psig
스캔 세그먼트	
세그먼트 1	양이온 극성
스캔 세그먼트 1	
스캔 소스 파라미터	
VCap	1,000
Fragmentor	175
Skimmer 1	65
Octopole RF peak	250
DART 파라미터 설정	
양이온 모드	
가스 가열 장치 온도	350°C
DART 거리	3.0cm

시료 제조

이 법과학 분석법은 시료 제조가 필요하지 않으며 원 시료 (raw sample)를 권장합니다. 이 분석법을 소다수, 정제, 오염된 사탕, 화폐, 병 및 분말과 같은 다양한 시료를 사용하여 시험했습니다. 이 분석법의 유일한 요건은 시료가 DART-TOF 시스템의 샘플링 영역에 잘 맞아야 한다는 것입니다.

결과 및 토의

이 사전 스크리닝 분석법은 (질량) 교정과 함께 분석 수행 시 타겟 화합물의 이론 질량에 대해 5mDa 이내의 질량 정확도를 제공하였습니다. 원 시료에서 가장 정확한 결과를 제공하여 추출이 필요하지 않았습니다. 시료 1개에 대한 일반적인 분석 시간이 2분이고, 총 분석 시간은 바탕 시료 분석을 포함해 4분이었으므로 처리량이 높았습니다.

이 법과학 분석법의 이점으로 다음의 몇 가지를 들 수 있습니다. DART-TOF는 사례 스크리닝에 대한 검토 가능한 데이터를 제공합니다. 연구 과정 중 일부 시료에서 기존의 기법으로 스크리닝 했을 때 음성 결과를 보였지만, DART-TOF MS로 스크리닝 했을 때는 양성 결과를 보이는 것을 확인하였습니다. 또한 기존에 스크리닝 기법이 없는 화합물도 이 분석법을 통해 쉽게 분석할 수 있습니다. 결과는 샘플링 방법, 용매 선택 및 LOD에 따라 다릅니다. 기존 화합물이 연속적인 수용액의 흐름으로 DART-TOF에 도입되기 때문에, 이것은 모든 분석 실행에서의 "양성 대조"로 간주할 수 있으며 모든 데이터 파일에 대조 시료 데이터를 제공하게 됩니다.

그림 4는 한 번의 분석 실행으로 얻은 결과의 예로, 기준 이온이 스펙트럼 전반에 나타나고 있습니다.

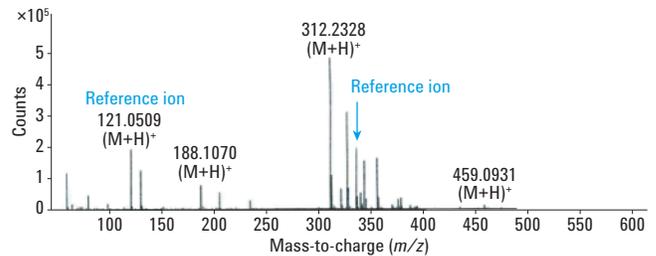


그림 4. DART-TOF MS 데이터 - 기준 이온

표 2의 데이터와 그림 5의 스펙트럼을 비교해 보십시오. 보시는 바와 같이 많은 화합물의 분자량이 동일합니다. DART-TOF를 분석에 사용하는 것이 아니라 스크리닝 전용 분석법으로 사용하는 이유가 여기에 있습니다. DART-TOF는 확인용 GC/MS 분석에 사용할 수 있는 기준 accurate mass 범위를 제공합니다. 이러한 TOF의 한계는 accurate mass 데이터와 함께 MS/MS 스펙트럼 정보를 제공하는 Q-TOF 기기를 사용하여 극복할 수 있습니다.

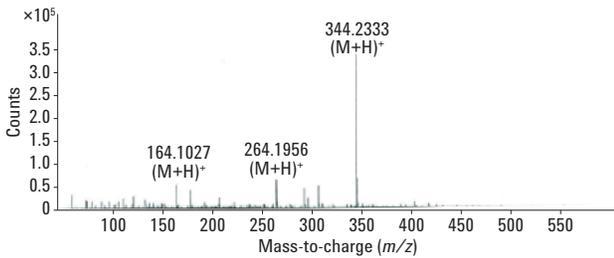


그림 5. DART-TOF MS 스펙트럼

Compound name	Reference molecular formula	Reference mass	Mass	Difference
Purine	C ₅ H ₄ N ₄	120.0436	120.0438	-0.21
Methcathinone	C ₁₀ H ₁₃ NO	163.0997	163.0954	4.29
Methcathinone	C ₁₀ H ₁₃ NO	163.0997	163.0954	4.29
6-APDB-(6-(2-aminopropyl)-2,3-dihydrobenzofuran)	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
4-MMC(Mephedrone)(4-methylmethcathinone)	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
3-Methylmethcathinone (+2 isomers)	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
Buphedrone	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
Phenmetrazine	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
MMAI(5-methoxy-6-methyl-2-aminoindane)	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
Buphedrone (alpha-ethylamino-propiofenone)	C ₁₁ H ₁₅ NO	177.1154	177.1109	4.48
Tramadol	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263.1885	263.1876	0.89
Dibucaine	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₂	343.226	343.226	-0.05
Nupercaine	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₂	343.226	343.226	-0.05

표 2. DART-TOF MS 결과 - 피크 목록

DART-TOF 분석법은 다양한 유형의 물질과 시료를 사용해 시험하였습니다. 시험 결과가 가장 중요한 요건을 충족하므로, 이 기법은 사전 스크리닝에 대해 허용 가능한 분석법으로 여겨집니다. 모든 매칭 결과의 존재비가 5%이상이었으며, 모든 질량 매칭은 ± 5mDa 이내였습니다. 기준 이온은 바탕 시료, 음성 대조 시료 및 시료에 존재합니다. 또한 그것은 존재비와 질량 기준을 충족합니다. 바탕 시료와 음성 대조 시료에는 조정된 물질 및 이전 시료에 대한 잔류 영향이 없으며, 마찬가지로 기준 이온을 포함하고 있습니다. 마지막으로, 모든 결과 화합물 피크는 베이스라인의 최소 3배 이상으로 나타났습니다.

새로운 사전 스크리닝 분석법에 대한 적격성 평가의 결과로 약물 분석 사례 업무를 위한 워크플로를 개발하였습니다. 그림 6은 이 워크플로의 순서도를 나타냅니다. 이 다이어그램에서 알 수 있듯이 이제는 전통적인 사례 분석에서처럼 분석자가 각 사례를 개별적으로 스크리닝하지 않고 사전 스크리닝 팀이 분석 전에 사례를 분류합니다. DART-TOF는 분말, 액체 또는 미지의 식물 재료를 포함하는 시료에 사용할 수 있는 사전 스크리닝 기법입니다. 분류 후에는 개별 분석자가 실제 약물 스크리닝을 처리합니다. 이 새로운 워크플로에서는 스크리닝 팀이 분석 실행 전에 분석자를 위해 사례를 배치(batch)로 분류하도록 함으로써 각 분석자에게 요구되는 작업을 한정합니다. 이는 결국 분석에 중복성을 더하고 직원의 업무량을 줄여줍니다.

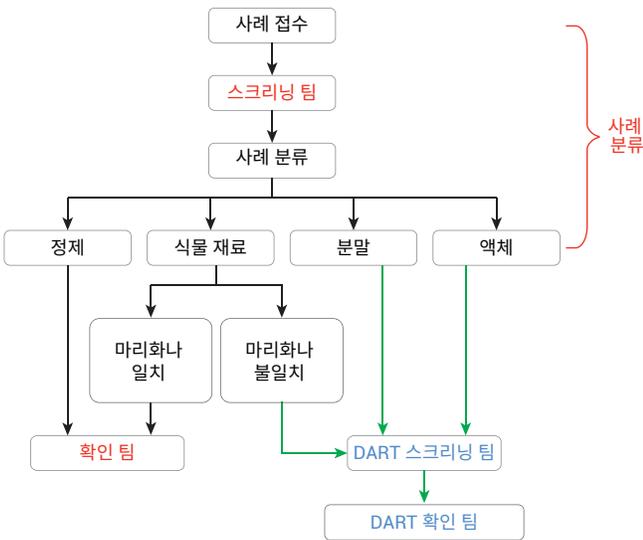


그림 6. 새로운 워크플로

표 3은 이 분석법을 적용한 이후, 시험 실험실의 생산성이 향상되었음을 보여줍니다. 데이터를 통해 알 수 있듯이 DART-TOF를 사용한 분류를 도입한 결과 분석자 1인당 처리 사례 건수가 2012년에서 2013년까지 크게 증가했습니다.

표 3. 분석자 1인당 평균 처리 수 증가를 보여주는 분류 워크플로

월	분석자 수	승인된 항목	분석자 당 평균 처리 수	아이템
6월 13일	7	630	90	987.25
7월 13일	6	507	85	953
6월 12일	7	370	53	1076
7월 12일	6	439	73	1514

시험 실험실에서 입증한 바와 같이 이 새로운 워크플로를 통해 1 명의 분석자가 5시간 동안 약 40개의 아이템을 사전 스크리닝하고 동시에 데이터 분석을 수행할 수 있습니다. 표 4는 승인 사례가 2012년에서 2013년까지 증가했음을 나타냅니다.

표 4. DART 스크리닝 워크플로 향상

월	분석자 수	승인된 항목	아이템
6월 13일	1	200	172
7월 13일	1	165	107.5
6월 12일	1	26	171
7월 12일	1	106	160

월	분석자 수	보고 횟수
10월 13일	10	800
11월 13일	10	800
10월 12일	7	476
11월 12일	7	397

이 과정은 법과학 실험실에는 비교적 새로운 워크플로이며 지금까지는 시험 실험실에서만 적용하였습니다. 이러한 현장에는 숙련된 분석자가 많지 않습니다. 다시 말해서, 데이터를 보고하고 검토할 수 있는 과학자의 수가 한정되어 있습니다. 따라서 사례당 단일 분석자에서 한 팀의 분석자들로 전환했을 때 생산성이 향상되었습니다. 추출 없이 첫 번째 샘플링을 수행한 다음 사례를 배치별로 효과적으로 분류할 수 있으므로, 확인 분석자가 사례에 대한 전체 배치를 순차적으로 시험할 수 있습니다. 이 시험은 나중에 참조할 수 있도록 배치와 함께 기록하고 저장할 수 있는 검토 가능한 데이터를 생성합니다. 각 사례에 최소 2명 이상의 과학자가 관여하기 때문에 이제 추가로 투입된 과학자가 증거 기술 자료를 확인할 수 있어 분석물질 측정의 신뢰성이 높아 집니다.

결론

본 응용 자료는 DART-TOF MS에 의한 사전 스크리닝 분석법이 법과학 약물 화학 실험실의 기존 스크리닝 기법보다 더 많은 이점을 제공함을 보여줍니다. 이 분석법은 사례 기록과 함께 기록 및 저장할 수 있는 검토 가능한 데이터 뿐만 아니라 광범위한 분석 물질에 적용할 수 있는 단 하나의 사전 스크리닝 시험을 제공합니다. 또한 합성 카나비노이드와 같이 전통적인 스크리닝 기법이 없는 신종 분석 물질을 사전 스크리닝 할 수 있습니다. 이 사전 스크리닝 사용시 모든 분석 실행에 교정을 지속적으로 수행하므로 주기 시간을 최소화합니다. 이 분석법의 결과를 바탕으로 개발한 워크플로는 생산성과 분석 결과의 신뢰성을 향상시킵니다.

참고 문헌

1. Durst, R.B.C.J.A.L.a.H.D., Versatile New Ion Source for Analysis of Materials in Open Air Under Ambient Conditions, *Analytical Chemistry*, 2005, **77**: p. 2297-2302.
2. Steiner, R.R., and Larson, R.L., Validation of the Direct Analysis in Real Time Source for Use in Forensic Drug Screening, *Journal of Forensic Science*, **54** (2009) 617-622.
3. Strengthening Forensic Science in the United States: A Path Forward, Committee on Identifying the Needs of the Forensic Sciences Community, National Research Council, ISBN: 0-309-13131-6, 352 pages, 6 x 9, (2009), <http://www.nap.edu/catalog/12589.html>
4. ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트 제품과 서비스에 대한 보다 자세한 정보는 www.agilent.com/chem을 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
2015년 8월 25일
한국에서 인쇄
5991-4058KO
법과학 용도.

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies