

Application
Data Sheet

No.75

GC-MS

Gas Chromatograph Mass Spectrometer

スキャン/MRM同時測定を用いた全血中の
向精神薬の分析 (2)

Analysis of psychotropic drugs in whole blood using scan/MRM simultaneous measurement (2)

GC-MS/MSのMRMモードではMRMトランジションやコリジョンエネルギー(CE)を最適化する必要があり、生体試料中の薬毒物を網羅的に解析する場合、対象となる薬毒物毎にこれらのパラメータを最適化することは非常に手間がかかる作業です。GCMS-TQ8030は高速スキャンと高速MRMのデータ採取技術によりスキャン/MRM同時測定を実現したGC-MS/MSです。感度が必要な薬毒物やきょう雑物と重なりやすい薬毒物はMRMモードで、感度が十分な薬毒物はスキャンモードで測定することにより、薬毒物の網羅的な解析が容易になります。また、GC/MS法薬毒物データベースには、約500成分の薬毒物の保持指標、特徴的な m/z (定量イオン・確認イオン)のマスキロマトグラムやマススペクトル情報が登録されており、スキャン/MRM同時分析のスキャンデータに適用することにより、約500成分の薬毒物のスクリーニングを行う事ができます。

本アプリケーションでは、スキャン/MRM同時測定のスキャンデータを法薬毒物データベースに適用して、全血試料の網羅的な薬毒物のスクリーニングを行った例について紹介します。また、アプリケーションデータシートNo.74もあわせてご参照下さい。アプリケーションデータシートNo.74では、スキャン/MRM同時分析のMRMデータを用いて、全血中のコレステロールとTriazolam、Etizolamの質量分離を行った例について紹介されています。

GC/MS法薬毒物データベース

GC/MS法薬毒物データベースには、薬毒物名、定量・確認イオン、保持指標と標準マススペクトルが登録されています。登録されている薬毒物の保持時間は、GCMSsolutionのAART機能により、n-アルカン混合標準試料(C9-C33, 取扱先:島津GLC, P/N:560295)の測定データを利用して、低沸点から高沸点までの成分を一括で正確に推測できます。登録されている定量・確認イオンのマスキロマトグラムにより、薬毒物の含有の有無を簡単に判断することができます。また、中毒事例の多い薬毒物には内部標準を用いた相対レスポンスファクタが登録されており、おおよその濃度値(半定量値)を算出することができます。

実験

全血試料の前処理はEXtrelut® NT3を用いた液-液抽出法を用いました。詳細な前処理手順は、アプリケーションデータシートNo.74をご参照ください。抽出した試料をScan/MRM同時測定を行い、MRM測定はTriazolamとEtizolamをターゲットとし、Scanデータは法薬毒物データベースを用いた薬毒物の一斉スクリーニングに利用しました。Table 1に分析条件を示します。

半定量値を算出するため、8種類のPAH-d体が含有しているCustom Internal Standard (PN:560294、島津GLC)を1 µg/mLの濃度に調整しました。AOC-20i+sのソルベントフラッシュモードを用いて抽出試料と調整した内部標準試料をGC-MS/MSへ同時に注入しました。

Table 1 分析条件

GC-MS	:GCMS-TQ8030		
カラム	:Rxi-5Sil MS (長さ30m, 0.25mm I.D., df=0.25 µm)		
ガラスインサート	:スプリットレスインサートウール入り (PN:221-48876-03)		
[GC]		[MS]	
気化室温度	:260°C	インターフェース温度	:280°C
カラムオープン温度	:60°C(2分)→(10°C/分)→320°C(10分)	イオン源温度	:200°C
注入モード	:スプリットレス	測定モード	:スキャン/MRM
キャリアガス制御	:線速度 (45.6 cm/秒)	スキャンイベント時間	:0.15秒
注入量	:1 µL	スキャン質量範囲	:m/z 45 – 700
		スキャンスピード	:5,000 u/秒

MRMモニタリング m/z

Compound Name	Retention Time	Quantitative Transition		Qualitative Transition 1		Qualitative Transition 2	
		Precursor>Product	CE(V)	Precursor>Product	CE(V)	Precursor>Product	CE(V)
Etizolam	27.149	342.00>272.00	24	342.00>245.00	33	342.00>266.00	20
Triazolam	27.171	313.00>277.00	25	313.00>278.00	18	313.00>242.00	35

分析結果

全血抽出試料をスキャン/MRM同時分析で測定したスキャンのクロマトグラムをFig. 1に示します。法薬毒物データベースをスキャンデータに適用することにより、ベンゾジアゼピン系向精神薬のDiazepamとDesmethyldiazepamを同定することができました。これまでは、トータルイオンカレントクロマトグラム(TIC)で検出されたピークのマススペクトルをライブラリ検索で化合物同定する手法が利用されていましたが、法薬毒物データベースを用いた方法は、Fig. 2に示しますように推測した保持時間と特徴的なm/zのマスクロマトグラム(MC)により検出するため、従来の方法では確認できない低濃度の薬毒物でも、簡便かつ迅速に含有の有無を判断することができます。また、検出された薬毒物のマススペクトルは登録されている標準マススペクトルと比較することができますので、データ解析の信頼性が向上します。このようにスキャン/MRM同時分析では、MRMの測定対象以外の成分についての一斉スクリーニングを可能とします。

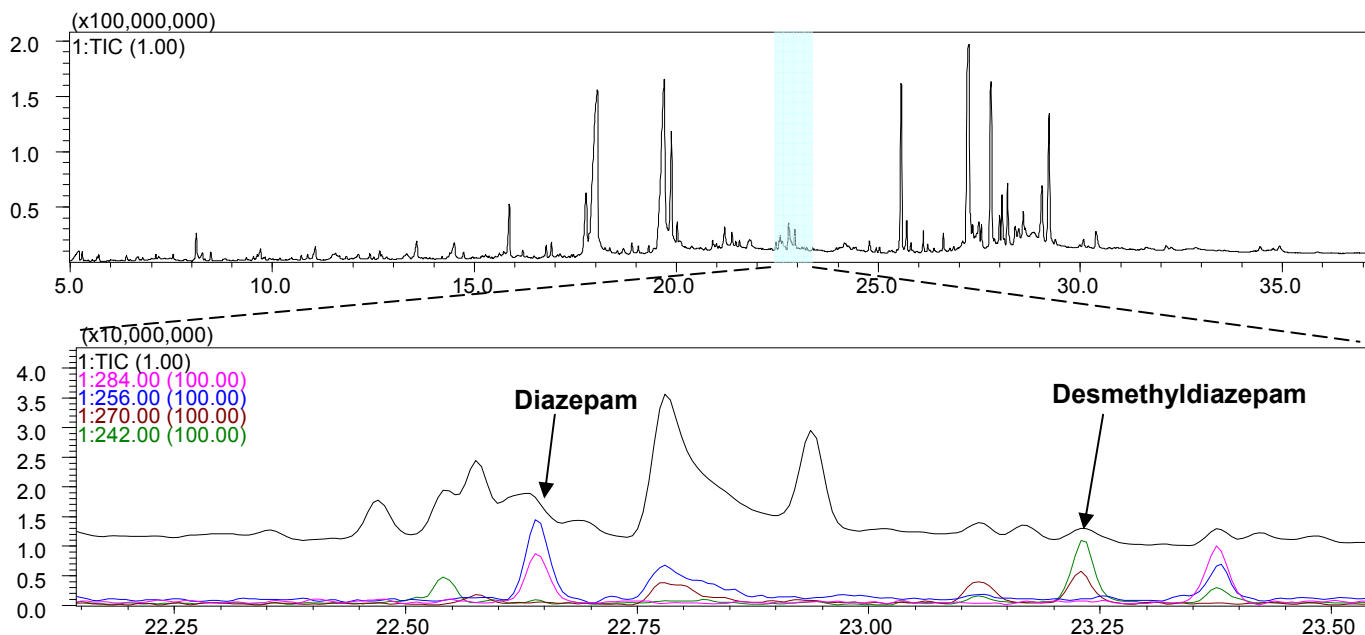


Fig. 1 全血試料を測定したスキャンのクロマトグラム
(上段:スキャンのTIC、下段:検出された薬毒物のTICとMCの拡大図)

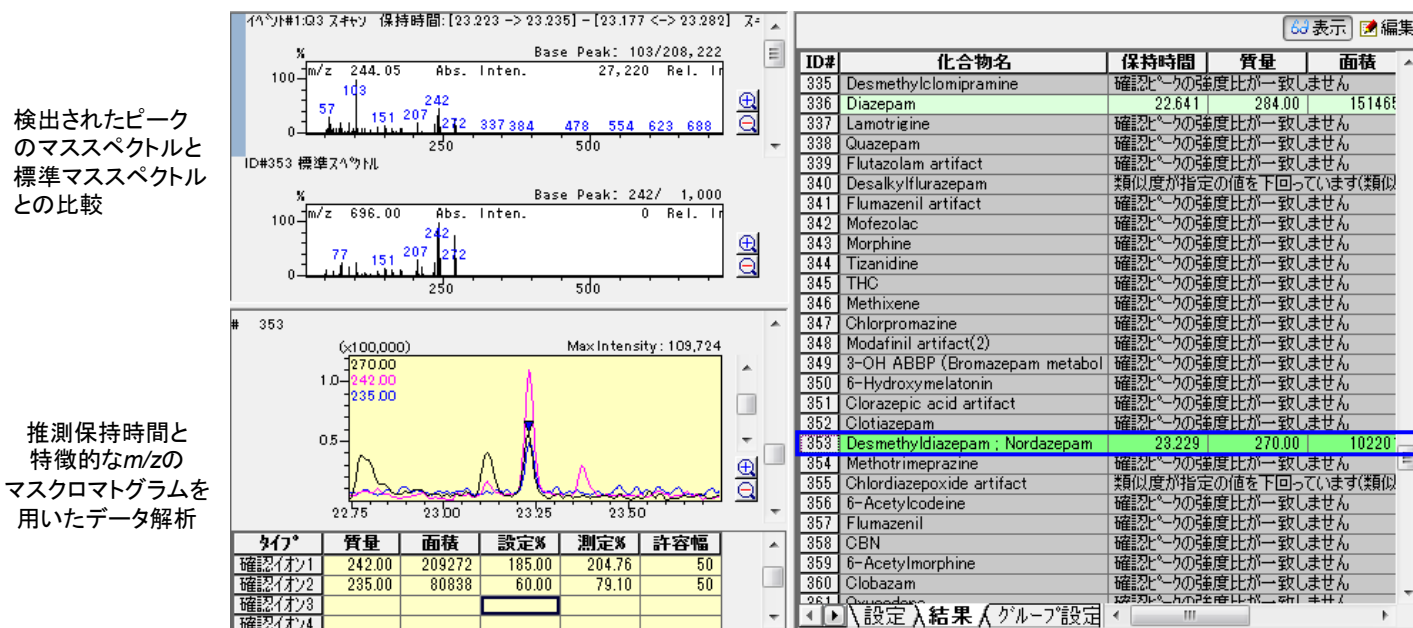


Fig. 2 法薬毒物データベースを用いたスキャンデータの解析画面