

Application Data Sheet

No. 100

GC-MS

Gas Chromatograph Mass Spectrometer

Smart Forensic Databaseを用いた全血中の薬毒物の分析 (1)

Analysis of toxicological substances in whole blood using the Smart Forensic Database (1)

GC-MS/MSでは2段階の質量分離により、薬毒物と生体試料中の夾雑物を分離することができるため、薬毒物の含有の有無の判断を簡便にし、データ解析にかかる時間を大幅に減らすことが可能です。その一方で、MRMモードで薬毒物を分析するためには、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、非常に手間のかかる作業です。

「Smart Forensic Database」は、中毒事例の多い薬毒物201成分の保持指標、MRMトランジション、コリジョンエネルギー、定量/確認イオン比が登録されたMRMデータベースです。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し、GCMS-TQ8040で搭載された「Smart MRM」はデータベースから自動的にMRM用の分析メソッドを作成することができます。

本アプリケーションでは、「Smart Forensic Database」を全血試料中の薬毒物分析に適応した例を紹介します。

前処理

全血試料の前処理はEXtrelut® NT3による液-液抽出法を用いました。採血した全血試料を酸性画分と塩基性画分用に、1 mLずつはかり採り、それぞれ1 mLのMilli-Q水で希釈しました。酸性画分は10%塩酸を用いてpH 5に調整し、塩基性画分は10%アンモニア水でpH 9に調整しました。各溶液をそれぞれEXtrelut® NT3に注ぎ、30分静置した後に、10 mLのクロロホルム:イソプロパノール(3:1)混合溶液でそれぞれ溶出しました。その後、酸性画分と塩基性画分の抽出液を混ぜ合わせ、シリカゲルにて脱水後、窒素気流下で乾固し、200 µLのクロロホルム:イソプロパノール(3:1)混合溶液で再溶解しました。MRMの感度を確認するために、得られた抽出試料にプロメタジン、フェノバルビタール、クロルプロマジン、トリアゾラムを全血中50 ng/mLになるように添加しました。

分析条件

GC-MS/MSの分析条件はSmart Forensic Databaseに登録されている条件を利用しました(Table 1)。MRMの測定対象化合物はデータベースに登録されている201成分を設定したスキャン/MRM同時分析メソッドを作成しました。

Table 1 分析条件

GC-MS	: GCMS-TQ8040		
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(15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同時測定
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	: 0.1秒
高圧注入	: 250kPa (1.5分)	スキャン質量範囲	: m/z 43 – 600
注入量	: 1 µL	スキャンスピード	: 10,000 u/秒
		MRMイベント時間	: 0.3秒
		合計ループタイム	: 0.4秒

分析結果

全血抽出試料に4種類の薬毒物を全血中50 ng/mLの濃度になるように添加した試料をスキャン/MRMで測定して得られたマスプロトグラムをFig. 1に示し、Table 2に5回の繰り返し分析の再現性を示します。スキャンの分析では、確認イオンが検出されなかったり、コレステロールと重なってトリアゾラムのピークが確認できませんが、MRMではいずれの成分についても明瞭に検出することができ、再現性も4.29%以下と良好な結果を示しました。

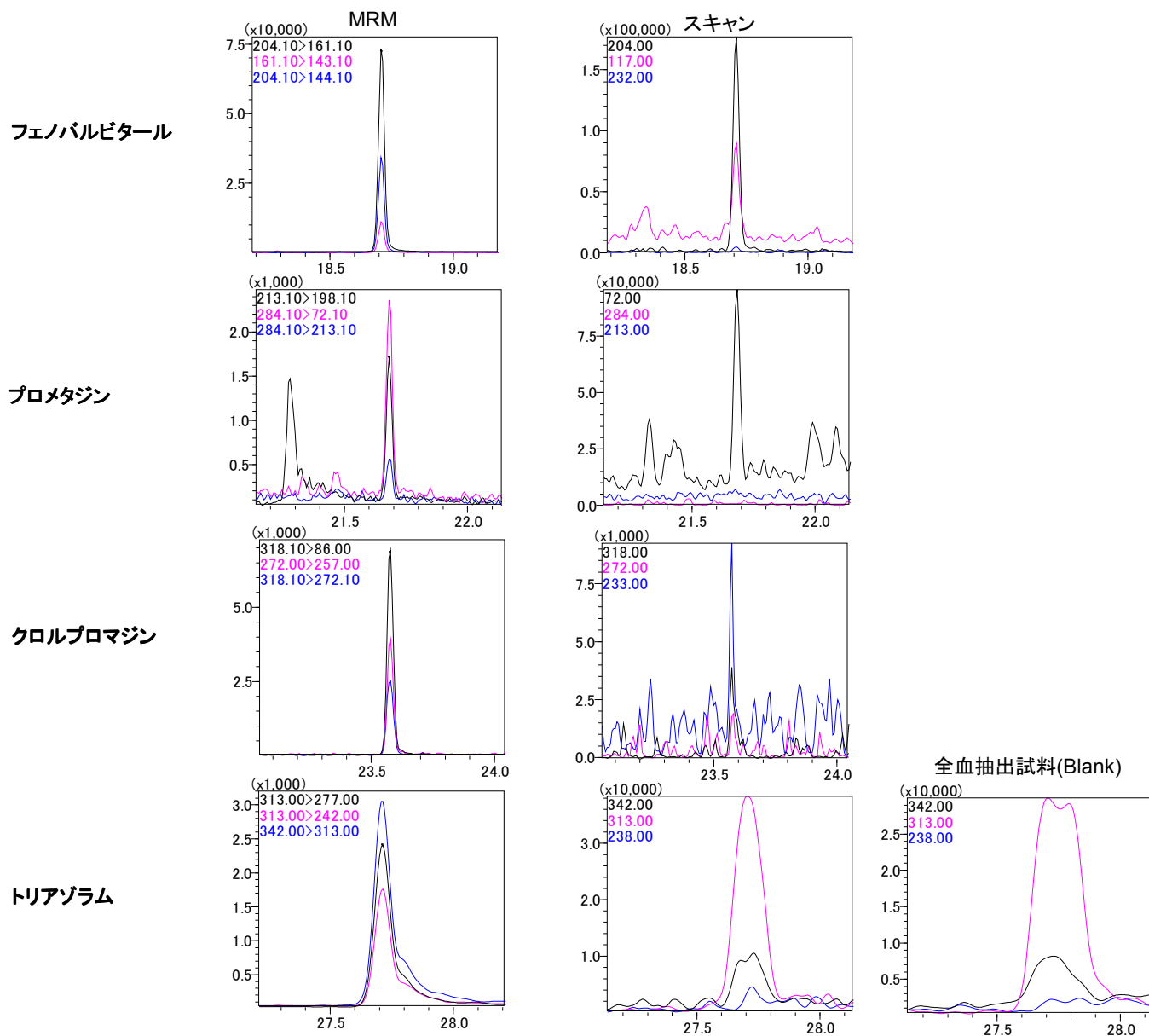


Fig. 1 全血試料中4種薬毒物のスキャンとMRMマスプロトグラム (左:MRM, 右:スキャン)

Table 1 5回繰り返し面積再現性結果 (全血中濃度:50 ng/mL)

	データ1	データ2	データ3	データ4	データ5	平均	SD	%RSD
フェノバルビタール	131,876	133,119	137,359	136,480	133,656	134,498	2323.7	1.73
プロメタジン	2,756	2,873	2,742	2,885	2,829	2,817	65.7	2.33
クロルプロマジン	12,832	12,899	12,657	13,484	14,024	13,179	565.3	4.29
トリアゾラム	10,909	10,315	10,704	10,838	10,701	10,693	229.5	2.15

本アプリケーションで評価したデータは、抽出後に添加したものであり、記載した前処理方法で良好な回収率を得られることを保証するものではありません。

本データは名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学 財津桂先生の協力により採取しました。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。