

## 水素キャリアガスを用いた 10 分未満での尿中のステロイドの GC/MS/MS 分析



### 著者

Wim Van Gansbeke,  
Aðalheiður Dóra Albertsdóttir,  
Michaël Polet, and  
Peter Van Eenoo  
DoCoLab  
Ghent University  
Ghent, Belgium

Remko van Loon and  
Anastasia Andrianova  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

このアプリケーションノートでは、水素 ( $H_2$ ) キャリアガスを用いて尿中の 14 種類の内因性アナボリックステロイドを定量分析するために開発・検証された GC/MS/MS メソッドを紹介します。このメソッドにより、分析時間を 10 分未満に短縮することに成功しました。これは、ヘリウム (He) キャリアガスを使用するこれまでの 17 分のメソッドと比較して 40 % もの大幅な短縮です。キャリアレーション性能は広範囲にわたって優れたもので、世界アンチドーピング機構 (WADA) が設定した識別限界 (LOI) を満たしています。検証結果では、分析したすべてのサンプルの Z スコアが 1 未満であり、メソッドの精度が高いことが示されました。この堅牢で効率的なメソッドは、尿中の内因性アナボリックステロイドの信頼性の高い定量を保証し、ヘリウムの世界的な不足とコスト高に直面する中で、ヘリウムに代わる実行可能で環境的に持続可能な代替手段を提供します。

## はじめに

アナボリックアンドロゲンステロイド (AAS) は、テストステロンに関連するステロイドホルモン的一种です。テストステロンは人間の体内で自然に生成され、主にグルクロン酸抱合体または硫酸抱合体として排泄されます。AAS は、男性化や男性化現象に関連するアンドロゲン作用と、タンパク質合成および筋肉の成長に関連する同化作用の両方を示します。AAS の効能と潜在的なリスクについては議論が続いていますが、パワースポーツでは筋肉量の増加、持久力スポーツでは回復力の改善を目的として AAS が広く使用されています。さらに、さまざまな間接的なステロイドドーピング戦略も同様にテストステロンレベルを上昇させる可能性があり、ドーピング行為の検出と規制を複雑にしています。

AAS 検出は、WADA が定める厳格な要件に準拠する必要があるという事実によってさらに複雑さが増えています。WADA 認定を維持するために、アンチドーピングラボは、内因性ステロイドの定量能力とともに、高い感度・選択性・再現性を実現しなければなりません。これには、内因性ステロイドの広い濃度範囲 (ng/mL から µg/mL) にわたって AAS の正確な定量が必要です。外因性ステロイドについては、ゼロトレランスルールが適用されるため、ラボは WADA が定める最低要求性能レベル (MRPL) <sup>1</sup> に匹敵する非常に低い検出下限 (LOD) を実現する必要があります。

外因性 AAS は人体には自然に存在しません。外因性 AAS に対してはゼロトレランスポリシーが存在するため、外因性 AAS を同定しただけでドーピング規則違反となり、定量化の必要はありません。これらの化合物については、WADA は MRPL を設定しています。MRPL とは、ラボが規定どおりに検出できなければならない尿中の物質の最低濃度です。LOD はこの値の半分未満でなければなりません。

内因性 AAS はすべて、男性と女性の両方の体液に自然に存在します。ただし、一部の内因性 AAS (テストステロンや DHEA など) は医薬品としても入手可能であり、一部の国では「栄養補助食品」として販売されています。これらの医薬品やサプリメントは WADA によって以前から禁止されていますが、内因性 AAS が自然に存在しているため、その使用の検出はさらに困難です。したがって、誤用の可能性の検出は、個々のアスリートのステロイドパスポートで長期間にわたって AAS 濃度と比率を評価することによって判断されます。長期平均値からの大きな変動が見られる場合、サンプルを同位体比質量分析 (IRMS) にかけることができ、ステロイドの合成起源を明確に示すことができます。IRMS 分析の代替として、血液中のステロイドエステルの検出があります。

アンチドーピングラボは外因性ステロイドと内因性ステロイドの両方に対して、疑わしい所見を特定するための第一段階として初期検査手順 (ITP) を使用し、これらの所見を確認するための確認 (CP) メソッドを使用します。アンチドーピングラボにおけるこのサンプル分析プロセスは、以下の複数のステップにまとめることができます。

1. 匿名の (コード化された) サンプルがラボに到着します (A サンプルと B サンプルに分けます)。A サンプルを開封し、一部を分取します。B サンプルは密封したまま、直ちに冷凍庫に保管します。
2. サンプル抽出は、A サンプルからの分取サンプルを使用して実施します。抽出後、そのサンプルを GC/Q-TOF システムに注入します。詳細については、以前のアプリケーションノート<sup>2</sup>を参照してください。内因性 AAS の定量はこのシステムを使用して実施し、該当する当局に値を報告します。
3. サンプル収集を担当する当局が、そのデータをサンプルコードと個々のアスリートがリンクされた WADA データベースに入力します。次に、新たに測定された濃度と、このアスリートの以前のドーピング管理サンプルから得た濃度とを比較して評価が行われます。ITP で得たこれらの濃度が、予想される範囲から外れている場合、当局は最初に報告された値を確認する必要があることをラボに警告します。
4. 確認するには、A サンプルの 2 回目の分取サンプルを、このアプリケーションノートに記載のメソッドで分析します。
5. 2 回目の分析で ITP の結果が確認された場合、通常は A サンプルに対して IRMS 分析を実行し、AAS の起源が天然のものか医薬品由来のものかを確認します。
6. アスリートが IRMS の陽性結果に同意しない場合は、未開封の B サンプルによる新たな分析を要請できます。

以前のアプリケーションノートでは、ITP を対象としたマルチターゲット GC/Q-TOF メソッドについて説明しました。<sup>2</sup> ここで紹介する新しく開発された水素 (H<sub>2</sub>) メソッドは、ITP の結果の確認をする中で使用します。

トリプル四重極 GC/MS/MS<sup>3</sup> と高分解能 GC/Q-TOF<sup>4</sup> は、特に AAS の定量や、LC/MS 技術では分離できないことが多い立体異性体の分離に必須の技術です。これまでヘリウム (He) が、その最適な性能特性により、GC/MS 分析用のキャリアガスとして選択されてきました。しかし、世界的なヘリウム不足が繰り返されるため、分析測定の継続性と信頼性を確保するための実行可能な代替手段を探る必要が生じています。

水素は GC/MS のキャリアガスとして、ヘリウムよりも入手しやすく、ヘリウムよりも大幅に安価であるなど、ヘリウムと比べていくつかの利点があります。水素は、グリーン電力である水の電気分解によって持続的に生成することもできるため、より環境に配慮した選択肢となります。さらに水素は、動作中に電子イオン化 (EI) 源をより清浄に保つため、メンテナンスの必要性が低減され、機器の稼働時間とラボの生産性が向上します。

このアプリケーションノートでは、キャリアガスとして水素を使用した電子衝突イオン化を用いて、尿中の 14 種類の内因性 AAS を効果的かつ確実に測定するために開発・検証された GC/MS/MS メソッドについて説明します。メソッド性能は維持され、キャリアガスとしてヘリウムを使用するメソッドと同じ LOI が実現されました。GC/MS/MS アプリケーションのキャリアガスを水素へ移行させることが実現可能であれば、アンチドーピングラボは、ヘリウム供給の課題に直面する中で高品質な分析結果の継続を保障する堅牢な代替手段を手にするようになります。

## 実験方法

### サンプル

尿からのサンプル前処理および抽出には、Biotage 自動固相抽出 (SPE) 装置を使用しました。無酸素窒素 (OFN) 下での溶媒乾固は、Biotage TurboVap を使用して実施しました。各分析バッチは以下を含みます：

- 2 重に分析するサンプル (SPE と加水分解を行った分取サンプル 1 つと、SPE と加水分解を行わない分取サンプル 1 つ)
- システムブランク
- 検量線
- 品質管理または品質保証サンプル

サンプル前処理ステップを表 1 に示します。サンプルは、GC/MS/MS 分析の前に MSTFA/NH<sub>4</sub>I/エタンチオール (500:4:2) 誘導体化混合物で誘導体化しました (表 1)。

表 1. 尿からのサンプル前処理

ステップ	説明
ステップ 1: サンプルピペッティング	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 尿 0.5 mL をテストチューブにピペットで取ります。</li> <li>2. 内部標準 (ISTD) の作業溶液 25 µL とリン酸緩衝液 1 mL を加えます。</li> </ol>
ステップ 2: 自動 SPE 装置のセットアップ	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. ラベルを貼ったチューブを自動 SPE 装置にセットします。</li> <li>2. ラベルを貼った空のチューブを溶出ゾーンに設置します。</li> <li>3. Agilent Bond Elut NEXUS カートリッジ (部品番号 12103101T) を装置に挿入します。</li> <li>4. すべての溶媒ボトルの容量を確認します。</li> <li>5. 適切なメソッドをソフトウェアにロードし、サンプル数を入力します。</li> <li>6. ソフトウェアを開始します。これで次の手順が自動化されます。 <ol style="list-style-type: none"> <li>a. SPE カートリッジを 2 mL のメタノール (MeOH) と 2 mL の二重蒸留水で調整。</li> <li>b. コンディショニング済みの SPE カートリッジにサンプルをロード。</li> <li>c. SPE カートリッジを 2 × 1 mL の MeOH で溶出し、溶出液を大型のスクリュウキャップチューブに移動。</li> <li>d. TurboVap を使用して、無酸素窒素 (OFN) 下で溶出液を乾固。</li> </ol> </li> <li>7. 緩衝液 (pH 7.0) 1 mL を加え、大型のスクリュウキャップ付きテストチューブに移します。</li> <li>8. 自動ピペットを使用して、β-グルクロニダーゼ 25 µL を追加します。</li> <li>9. チューブのキャップをしっかりと締め、チューブを逆さにして漏れないか確認します。</li> <li>10. サンプルを 56 ± 5 °C で少なくとも 1 時間インキュベートします。</li> <li>11. サンプルをオープンから取り出し、室温まで冷まします。</li> </ol>
ステップ 3: 抽出	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. NaHCO<sub>3</sub>/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 緩衝液 (pH 9.5) 1 mL を加えます。</li> <li>2. 溶媒ディスペンサーを使用して、メチルtert-ブチルエーテル (MTBE) 5 mL を加えます。</li> <li>3. キャップをしっかりと締めてチューブを 20 分間振とうさせます。</li> <li>4. 有機層 (上部) をラベルを貼付した小型のテストチューブに移します。</li> <li>5. 有機溶媒を無酸素窒素 (OFN) 下 40 ± 5 °C で乾固します。</li> </ol>
ステップ 4: 誘導体化	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 残渣に 50 µL の MSTFA/NH<sub>4</sub>I/エタンチオール (500:4:2) 誘導体化混合物を加え、数秒間ボルテックスします。</li> <li>2. 混合物を GC バイアルに移します。</li> <li>3. バイアルを 80 °C のオープンに 30 分間入れます。</li> <li>4. バイアルを GC/TQ オートサンプルラートレイに移します。</li> </ol>

### GC/TQ 分析

分析には、Agilent 7000C トリプル四重極 GC/MS (GC/TQ) システムを使用しました。機器の操作パラメータを表 2 に示します。H<sub>2</sub> をキャリアガスとして使用する場合の追加の考慮事項とベストプラクティスについては、ヘリウムから水素へのキャリアガス移行ユーザーガイド<sup>5</sup> を参照してください。ターゲット分析であることと、どのターゲットも水素キャリアガスとのイオン源内での反応性を示さなかったことを考慮して、標準の Agilent Inert Plus EI イオン源を使用しました。未知の物質を分析する場合、または水素と相互作用しやすい化合物を分析する場合は、Agilent HydrolInert イオン源の検討が可能です。

ヘリウムをキャリアガスとして使用する従来の正化学イオン化 (PCI) GC/MS/MS メソッドでは、5:1 のスプリットが使用されていました。<sup>6</sup> ただし、水素キャリアガスを使用するように分析を変更すると、感度が 1/2 ~ 1/5 に低下することがよく見られます。感度の低下は、注入スプリット比または注入量を調整することで補うことができます。この新しく開発された水素ガスを用いたメソッドでは、十分な感度と従来メソッドとの比較可能性を維持するために、スプリットレス注入を採用しました。

データ取り込みと処理は、GC/MS システム用の MassHunter データ取り込みソフトウェア (バージョン 10.2) と Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェア (バージョン 10.2) を使用して実行しました。

14 種類のステロイドの検量線にはそれぞれ 6 つのポイントが含まれており、中間尿にステロイドを添加することによって作成しました。キャリアレーションレベルは表 3 のとおりです。キャリアレーションはそれぞれ 3 回実行し、6 つのレベルで 18 個のキャリアレーションポイントを生成しました。内部標準のキャリアレーションには、重水素化内部標準 (ISTD) を使用しました。すべての化合物のキャリアレーションには二次近似を使用しました。検量線には、1/x 重み付け係数を用いました。

表 2. 法中毒学分析の GC および MS 条件

パラメータ	設定値
注入口	スプリット/スプリットレス注入口
モード	スプリットレス
スプリットベントへのパーセント流量	53 mL/min, 2 分
注入量	1.5 µL
注入口温度	280 °C
注入口ライナ	Agilent 4 mm Ultra Inert (UI) ライナシングルテーパー、ウール付き (部品番号 5190-2293)
カラム	Agilent J&W Ultra 1, 12 m × 0.20 mm, 0.11 µm (部品番号 19091A-005)
カラム温度プログラム	120 °C (0.15 分保持) 75 °C/min で 170 °Cまで (0 分保持) 40 °C/min で 185 °Cまで (0 分保持) 2.5 °C/min で 199 °Cまで (0 分保持) 10 °C/min で 213 °Cまで (0 分保持) 60 °C/min で 300 °Cまで (0 分保持) 分析時間: 9.64 分
キャリアガスと流量	水素, 1 mL/min 定流量
トランスファライン温度	300 °C
トリプル四重極質量分析計	Agilent 7000E GC/TQ システム (EI エクストラクタイオン源付き)
イオン化エネルギー	70 eV
クエンチガスヘリウム	2.25 mL/min 注: 水素をキャリアガスとして使用する場合は、クエンチガスをオフにすることができます。
コリジョンガス窒素	1.5 mL/min
イオン源温度	280 °C
四重極温度	150 °C
モード	マルチプルリアクションモニタリング (MRM)
Tune	Etune: atunes.eiex.tune.xml

## メソッドの検証

外部バイアスを評価するために、WADA 外部品質評価スキーム (EQAS) からの 18 個のマトリックスマッチ尿サンプルも分析し、6 つの化合物の Z スコアを計算しました。

## 結果と考察

ここで紹介するメソッドでは、キャリアガスとして水素を使用することで、異性体のクロマトグラフィー分解能を損なうことなく、分析時間を 10 分未満まで短縮しました。特に、ヘリウムキャリアガスを使用した従来の GC/MS/MS メソッドでは、分析時間は 17 分でした。<sup>6</sup> つまり、キャリアガスを水素に切り替え、適切なカラム寸法を使用することで、分析時間を 40 % 以上短縮することができます。図 1 は、ヘリウムキャリアガス (A) または水素キャリアガス (B) を使用したメソッド両方のマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードにおけるトータルイオンクロマトグラムを示しています。

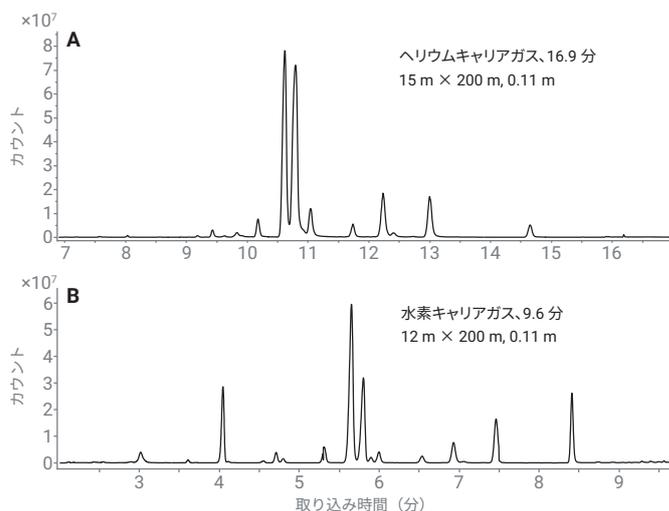


図 1. (A) ヘリウムと (B) 水素の MRM クロマトグラム

## 水素キャリアガスを用いた EI イオン源

GC/MS でヘリウムから水素キャリアガスに切り替える際の重要な考慮事項は、スペクトルの忠実度です。一部の活性化合物は水素と反応し、スペクトルの変化につながる可能性があります。これは、プリカーサイオンがこれらのスペクトル変化の影響を受ける可能性があるため、スキャンデータ取り込みモードの GC/MS だけでなく、MRM モードの GC/MS/MS でも極めて重要です。これにより、感度の低下やキャリアレーションの問題が発生するおそれがあります。このような問題が発生した場合、HydroInert ソースを使用することで効果的に対処できます。HydroInert イオン源は、水素と分析対象物質間の相互作用を最小限に抑え、スペクトルの完全性を維持し、信頼性の高い正確な結果を保証します。<sup>7</sup>すべての化合物が水素と反応するわけではないため、標準の EI イオン源を使用した場合でも、多くの化合物で水素キャリアガスによるスペクトルの変化は見られません。従来の EI イオン源を水素とともに使用する場合、最高の性能を得るためにレンズを 9 mm レンズに交換することもできます。

本検討では、標準の 3 mm エクストラクタレンズが装着された Inert Plus EI イオン源を使用しましたが、対象化合物は水素とのイオン源内反応を示しませんでした。ターゲット化合物と水素キャリアガス間に望ましくない化学反応がないことを確認するために、3 mm レンズを装着した標準 Inert Plus EI イオン源を使用して、ヘリウムと水素キャリアガスのスペクトルを取得しました。図 2 は、ヘリウムまたは水素キャリアガスを使用して取得した重水素化内部標準の 1 つである 5b-アンドロスタンジオール-d<sub>5</sub> のマススペクトルです。他の 4 つの重水素化内部標準のスペクトルは、付録の図 A1 ~ A4 に示されています。評価したすべての化合物について、スペクトルの変化は観察されず、3 mm エクストラクタレンズを装着した標準の Inert Plus EI イオン源をこの分析に使用できることがわかります。

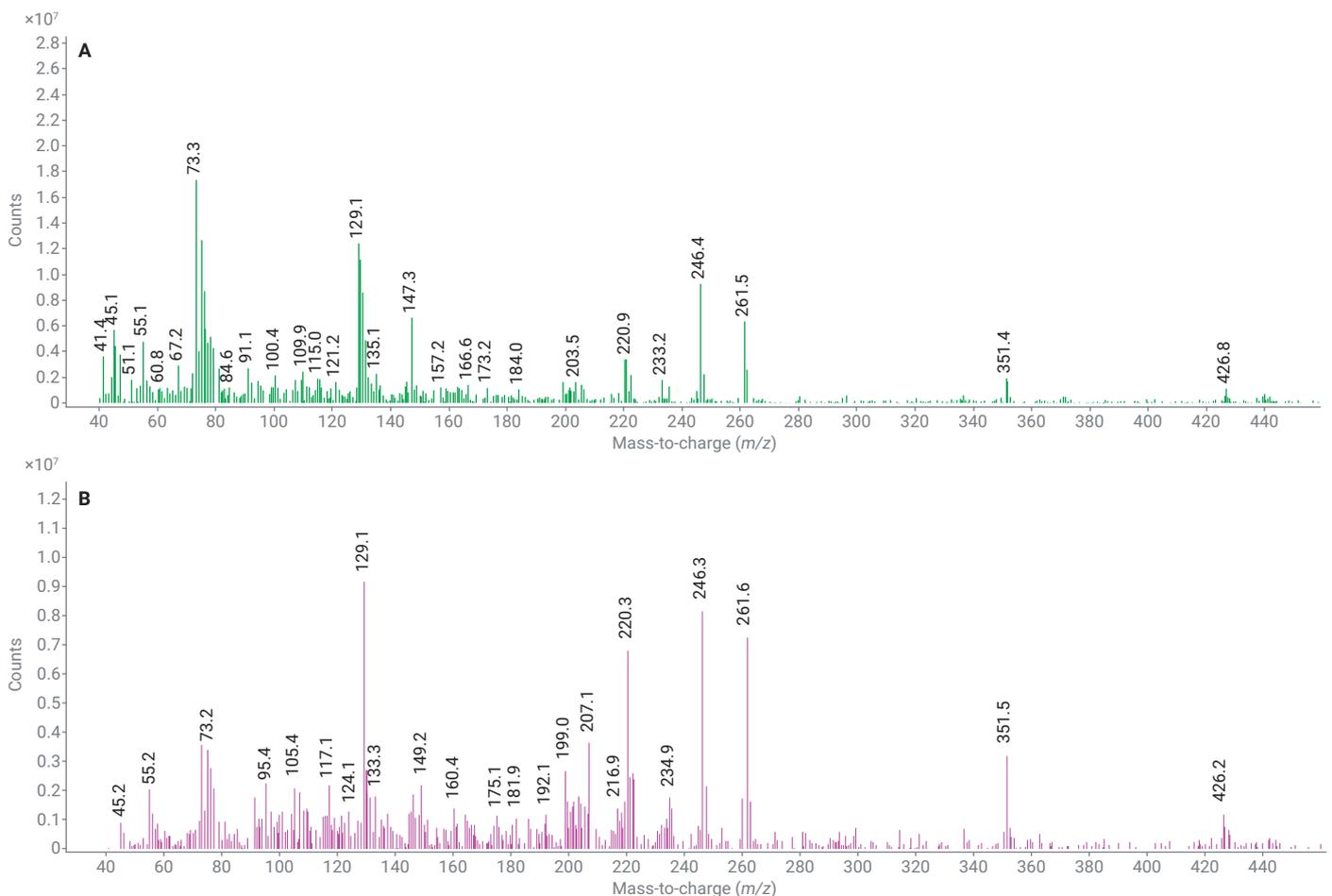


図 2. Agilent Inert Plus EI イオン源と (A) ヘリウムキャリアガスまたは (B) 水素キャリアガスを使用して 5b-アンドロスタンジオール-d<sub>5</sub> (重水素化誘導体内部標準) を対象に取得した EI マススペクトル

この検討で分析した誘導体化ステロイドは、従来の Inert Plus イオン源を水素キャリアガスとともに使用した場合でも、顕著なスペクトルの変化を示さないと判断しました。これは誘導体化プロセスに起因する可能性があります。誘導体化剤が分析対象物をより安定した誘導体に変換し、水素キャリアと相互作用する可能性のある官能基をマスクするからです。これにより、分解や副反応の可能性が低くなります。

### 尿中の 14 種類のステロイドの定量

表 3 に、WADA に従って定量化が必要な 14 種類のステロイドのキャリブレーション範囲と決定係数を示します。本検討で定量化した内因性アナボリックステロイドは、分析上最も困難な化合物の 1 つです。その理由は、一方では LOI が低いため、他方では高濃度で正確に定量する必要があることから困難が生じる可能性があるためです。このメソッドを使用すると、決定係数 ( $R^2$ ) が 14 個のターゲットすべてで 0.997 を超えました。

図 3 に、エピテストステロン、テストステロン、6 $\alpha$ -OH-アンドロステンジオン、アンドロステロン、およびエチオコラノロンの最小キャリブレーションポイントでの MRM クロマトグラムを示します。最小キャリブレーションポイントでは、すべての化合物の SN 比が 3 を超えています。さらに、アンドロステロンとエチオコラノロンは、最小キャリブレーションポイントで完全に分離されています。

観察されたピークフロンティングを説明するために、最大キャリブレーションレベルでのアンドロステロンとエチオコラノロンのクロマトグラムも示します (図 3、下部)。このピークフロンティングは、9,600 ng/mL での GC カラムのオーバーロードの結果です。ピークがフロンティングしているにもかかわらず、両方の化合物で  $R^2$  値 0.999 の優れた直線性が得られました。

表 3. WADA に従って定量化が必要な 14 種類のステロイドに使用したリテンションタイム、キャリブレーション濃度、 $R^2$  値、および内部標準 (ISTD)

物質	リテンションタイム (分)	尿中のキャリブレーション (ng/mL)	決定係数 ( $R^2$ )	使用した ISTD
テストステロン	7.507	1, 3, 10, 30, 100, 400	0.9978	テストステロン- $d_3$
エピテストステロン	6.98	1, 3, 10, 30, 100, 400	0.9978	エピテストステロン- $d_4$
アンドロステロン	5.702	24, 72, 240, 720, 2,400, 9,600	0.9991	アンドロステロン- $d_4$
エチオコラノロン	5.862	24, 72, 240, 720, 2,400, 9,600	0.9996	エチオコラノロン- $d_5$
ジヒドロテストステロン	7.103	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9993	ジヒドロテストステロン- $d_3$
デヒドロエピアンドロステロン	6.605	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9992	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
4-アンドロステン-3,17-ジオン	7.295	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9994	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
5 $\alpha$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール	6.021	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9984	5 $\alpha$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール- $d_5$
5 $\beta$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール	6.063	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9996	5 $\beta$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール- $d_5$
5 $\alpha$ -アンドロスタン-3,17-ジオン	6.857	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9991	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
5 $\beta$ -アンドロスタン-3,17-ジオン	4.882	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9988	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
6 $\alpha$ -OH-アンドロステンジオン	8.754	0.25, 0.75, 2.5, 7.5, 25, 100	0.9992	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
40H-アンドロステンジオン	8.848	0.25, 0.75, 2.5, 7.5, 25, 100	0.9993	デヒドロエピアンドロステロン- $d_6$
5 $\beta$ -プレグナンジオール	8.591	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9978	5 $\beta$ -アンドロスタン-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -ジオール- $d_5$

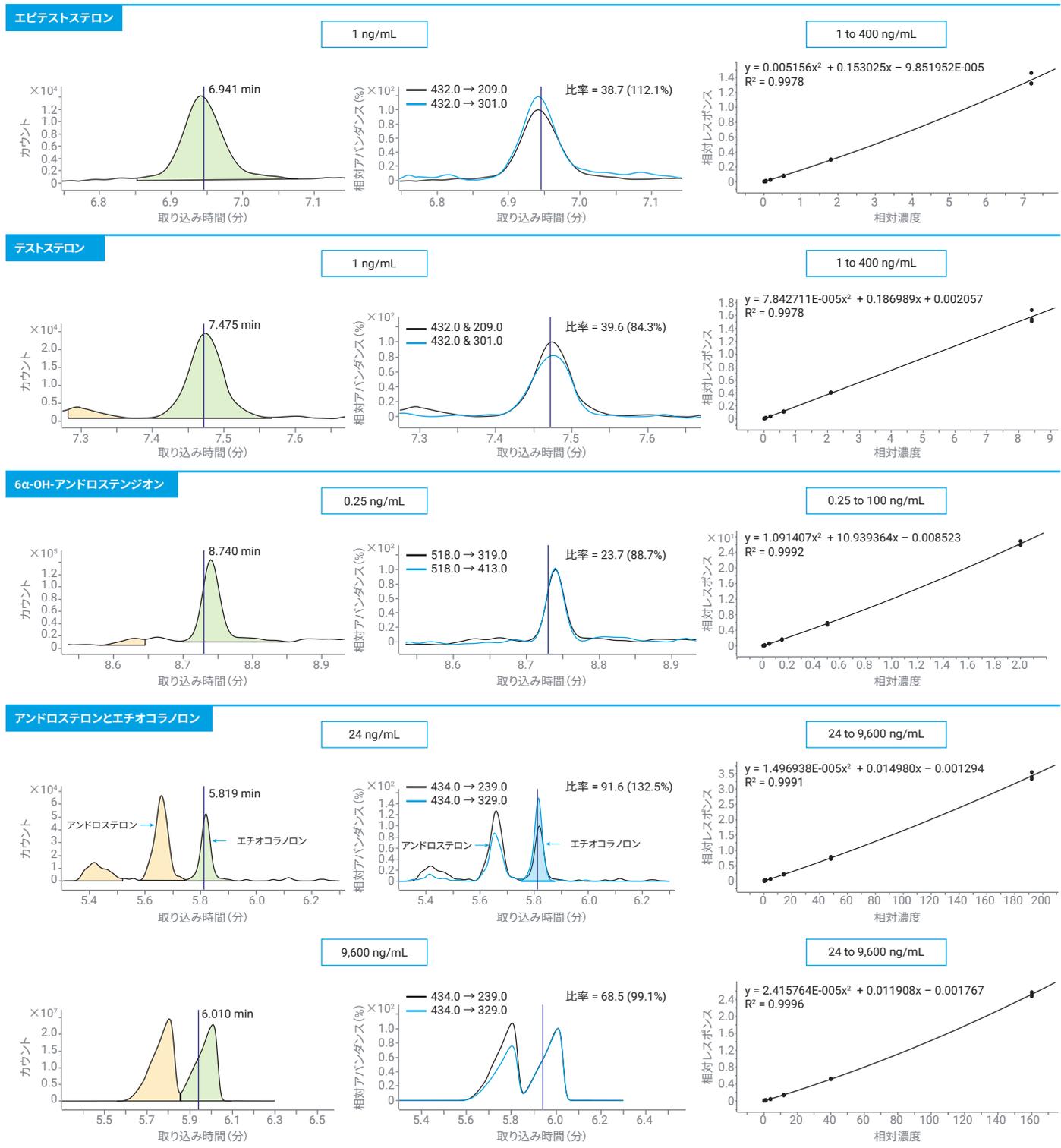


図 3. 選択したアナボリックステロイドのクロマトグラム (左) と検量線 (右)。エピテストステロン、テストステロン、6α-OH-アンドロステンジオン、アンドロステロン、エチオコラノロンの最小キャリブレーションレベルでのMRM クロマトグラムを示します。一番下は、最大キャリブレーションレベルでのアンドロステロンとエチオコラノロンのクロマトグラムです。

## メソッドバリデーション

WADA EQAS では、尿サンプルが認定されたラボに頻繁に送られます。<sup>4</sup> この目的のために、18 個の EQAS サンプルで 6 つのターゲットを分析し、測定値を報告された認証値と比較しました。108 個の値すべてについて、Z スコアは 1 未満であり、このメソッドが十分な精度を実現できることが示されました。

## 結論

尿中の 14 種類のアナボリックステロイドの分析のために、水素キャリアガスを使用した電子衝撃イオン化 (EI) による GC/MS/MS メソッドを開発しました。最低限必要な性能レベル (MRPL) をカバーする拡張されたキャリブレーション範囲全体にわたって、優れたキャリブレーション性能を示しました。この分析は所要時間 10 分未満で実行可能で、これは元の正化学イオン化 (PCI) GC/MS/MS メソッドよりも 40 % 高速です。WADA 検証では、分析したすべてのサンプルについて Z スコアが 1 未満であり、メソッドの精度が許容可能であることが示されました。

## 参考文献

1. World Anti-Doping Agency. TD2022MRPL: Minimum Required Performance Levels for Detection and Identification of Non-Threshold Substances. <https://www.wada-ama.org/en/resources/lab-documents/td2022mrpl>.
2. Van Gansbeke, V.; Albertsdóttir, A.D; Polet, M.; Van Eenoo, P.; Nieto, S. AssayMAP Bravo Sample Prep Platform によるアンチドーピング管理用の半自動 GC/Q-TOF スクリーニング; アジレント・テクノロジー アプリケーションノート, 資料番号 5994-6702JAJP, **2023**.
3. Van Eenoo, P.; Van Gansbeke, W.; De Brabanter, N.; Deventer, K.; Delbeke, F. T. A Fast, Comprehensive Screening Method for Doping Agents in Urine by Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 3306-3316.
4. Polet, M.; Van Gansbeke, W.; Van Eenoo, P. Development and Validation of an Open Screening Method for Doping Substances in Urine by Gas Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2018**, 1042, 52-59. doi: 10.1016/j.aca.2018.08.050.
5. Agilent I GC/MS 機器でのヘリウムから水素へのキャリアガス切り替え; アジレント・テクノロジーユーザーガイド, 資料番号 5994-2312JAJP, **2022**.
6. Van Gansbeke, W.; et al. Improved Sensitivity by Use of Gas Chromatography-Positive Chemical Ionization Triple Quadrupole Mass Spectrometry for the Analysis of Drug Related Substances. *J. Chromatogr. B* **2015**, 1001, 221-240. DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.07.052.
7. HydroInert イオン源を組み合わせた Agilent イナートプラス GC/MS システムの概要; *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5994-4889JAJP, **2022**.

# 付録

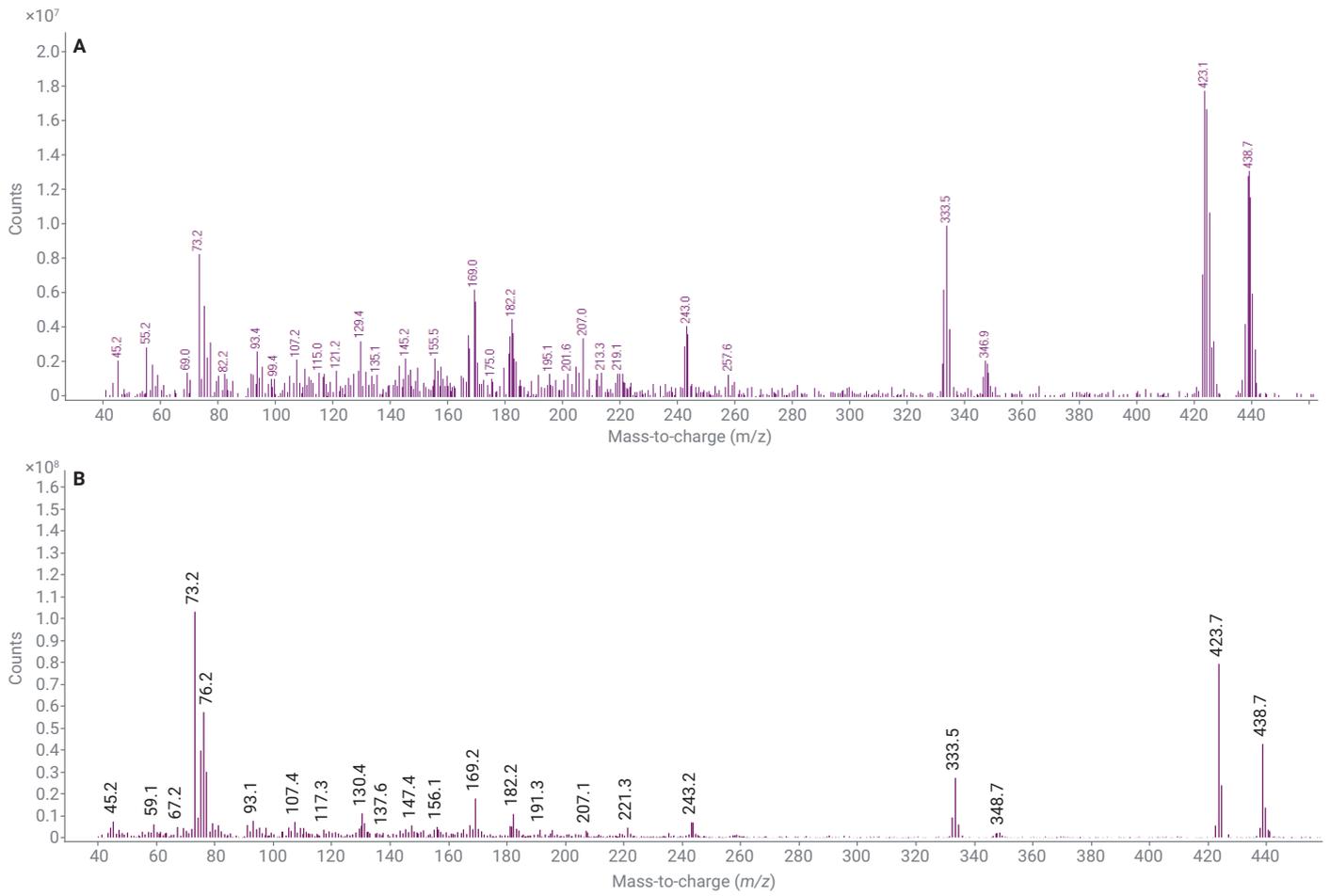


図 A1. Inert Plus EI イオン源と (A) ヘリウムキャリアガスまたは (B) 水素キャリアガスを使用して取得したアンドロステロン-d<sub>4</sub> (重水素化誘導体内部標準) の EI マスペクトル

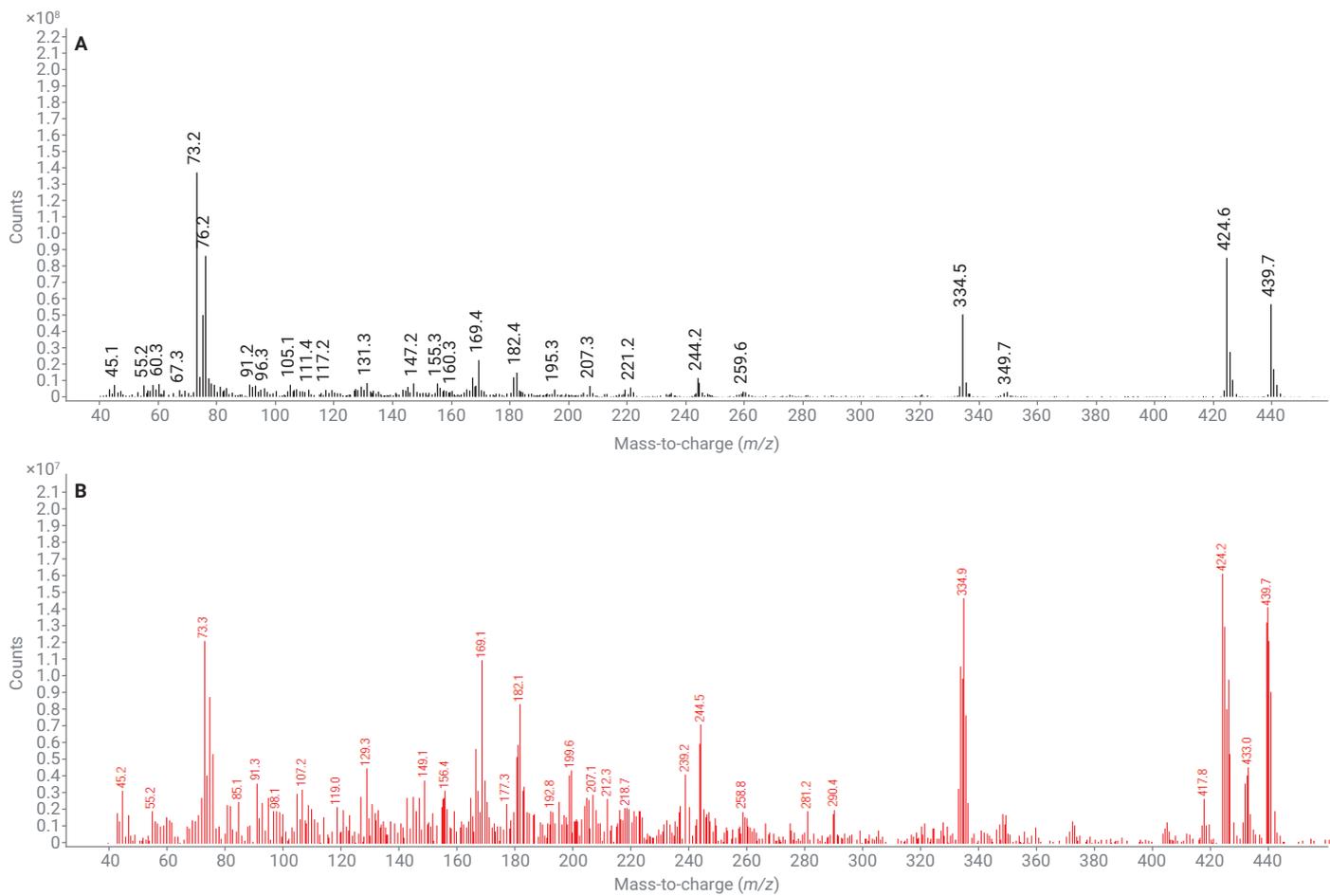


図 A2. Inert Plus EI イオン源と (A) ヘリウムキャリアガスまたは (B) 水素キャリアガスを使用して、エチオクロロン-d<sub>8</sub> (重水素化誘導体内部標準) に対して取得した EI マスペクトル

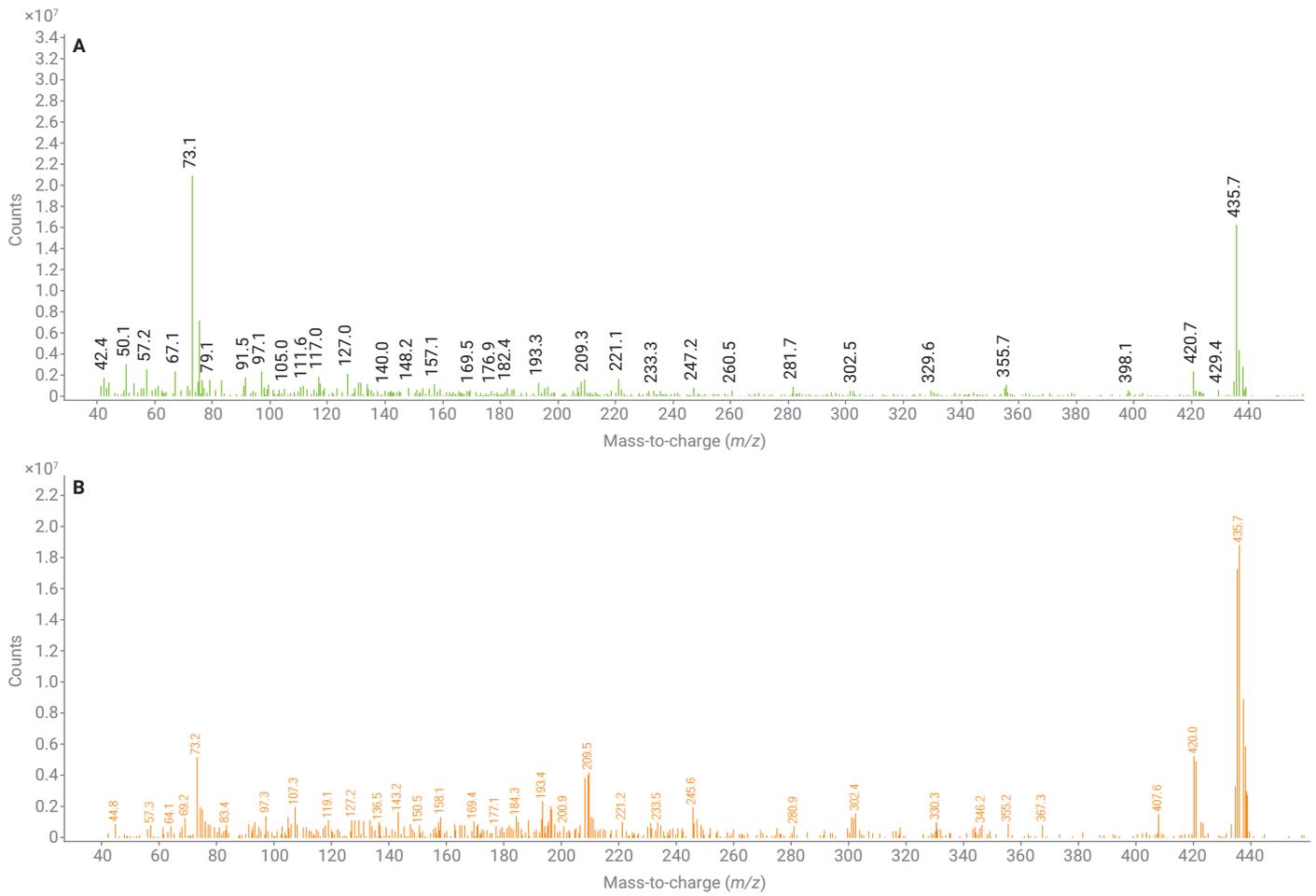


図 A3. Inert Plus EI イオン源と (A) ヘリウムキャリアガスまたは (B) 水素キャリアガスを使用して取得したテストステロン-d<sub>3</sub> (重水素化誘導体化内部標準) の EI マスペクトル

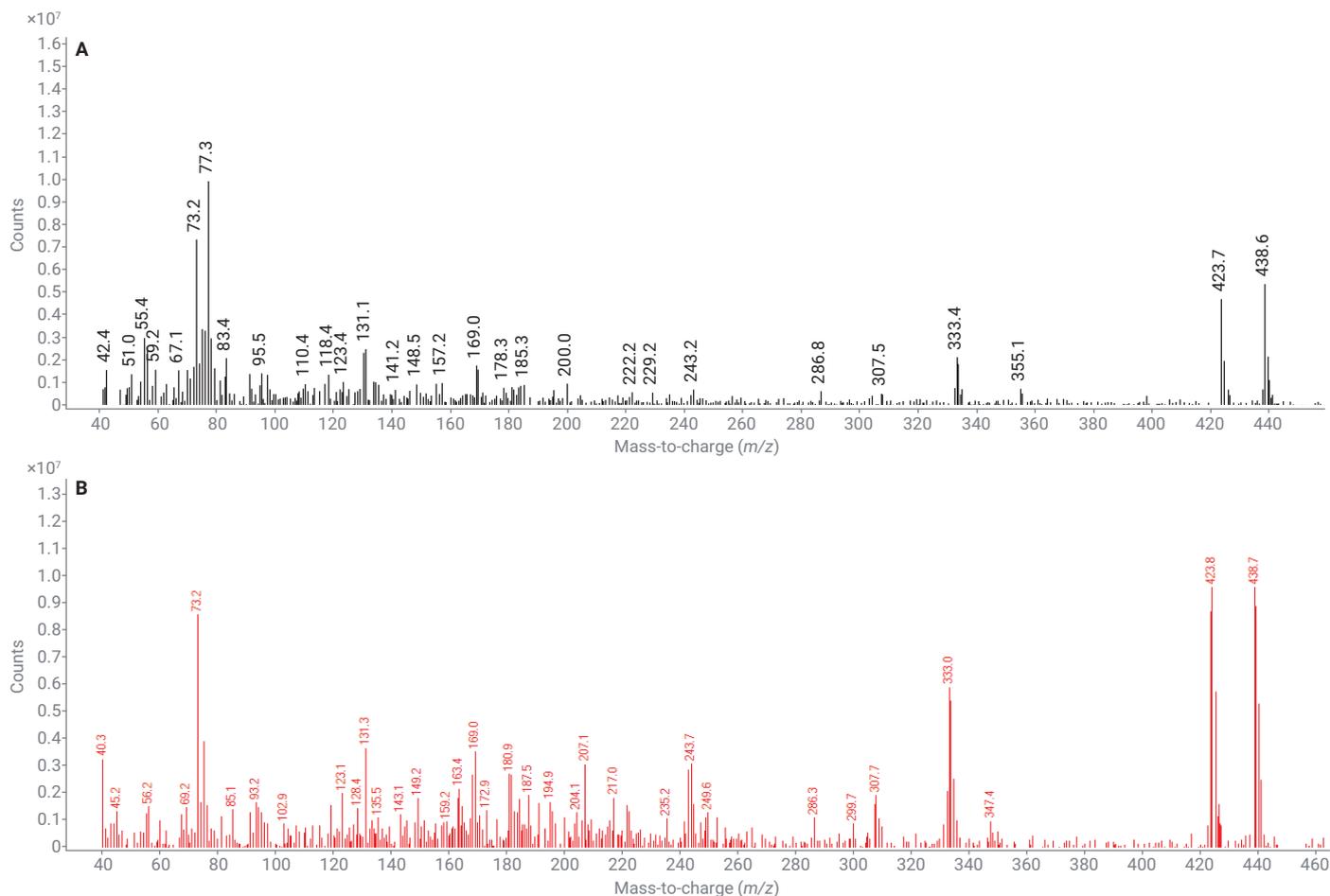


図 A4. Inert Plus EI イオン源と (A) ヘリウムキャリアガスまたは (B) 水素キャリアガスを使用して取得したDHEA-d<sub>6</sub> (重水素化誘導体内部標準) の EI マスペクトル

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

RA45611.3218634259

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, March 25, 2025

5994-7970JAJP