

ウルトラライナート汎用焼結ガラスフリット ライナを用いたGC/MS による依存性薬物の 分析

著者

Angela Smith Henry, Ph.D.
Agilent Technologies, Inc.

概要

ガスクロマトグラフィー / 質量分析法 (GC/MS) は、規制物質分析のための一般的なスクリーニング手法です。これらの分析では、アンフェタミンやオキシコドンのような影響を受けやすい化合物または活性化合物のピーク形状や信号の損失を防ぐために、不活性な流路を維持することが重要です。焼結ガラスフリットライナは、ガラスウールライナと同様に複雑な非揮発性マトリックスから保護されており、一方でピークレスポンスの損失の原因となるウールの破損ありません。

はじめに

クリーンで不活性な GC/MS システムは、不活性な流路を持つ注入口、特に注入口ライナから始まります。不活性化されたライナを使用することで、注入口内でのピーク劣化を防ぎ、良いスタートを切ることができます。ガラスウール付き注入口ライナを使用するのは、ガラスウールの大きい表面積によってサンプルが気化しやすくなるためです。ウールがバリアとなってサンプルマトリックスから非揮発性残留物をトラップします^{1, 2}。しかし、ライナ内のガラスウールは、ライナ寿命を通じて活性点を再作成し、ピークレスポンスの低下やピーク形状の劣化を引き起こすことがあります。焼結ガラスフリットライナでは、気化のための表面積が得られ、気化前に注入口の底部にサンプルの液滴が落下するのを防ぐことによって、サンプルの損失を低減できます。フリット付きライナを使用すると、非揮発性残留物のトラップも可能になり、またガラスウール破損による新たな活性点の可能性や、カラムヘッドへのガラスウールの侵入を防げます。

新たな違法物質が次々と市場に入り込み、ターゲット化合物リストが数百にも拡大しているため、GC/MS スクリーニングメソッドは規制物質を分析するラボにとって重要です。GC で分析可能な化合物については、GC/MS をフルスキャンモードと電子衝突イオン化 (EI) モードで使用して、規制物質のスクリーニングを完了させることができます。アンフェタミン類などの一部の化合物は、注入口パラメータ、注入口ライナ、希釈用溶媒の影響を強く受けます。アンフェタミン類は、注入口ライナとパラメータが最適化されていない場合、良好なピーク形状を得られない可能性があります。アンフェタミンのピーク形状の改善と良好なピークレスポンスは、ライナ技術において依然として重要な要素です。粉末サンプルは一般的に、メタノール、ヘキサン、トルエンなどの溶媒で溶解します。一方、液体サンプルは GC での分析が可能な溶媒に抽出され、GC カラ

ムまたは MS 検出器に対するオーバーロードを回避するために希釈される場合があります。ライナは、アジレントの法中毒学チェックアウト混合物を使用してテストしました。この混合物には、アンフェタミン類、オピエート類、ベンゾジアゼピン類などのさまざまなクラスの化合物に加え、アンフェタミン類、オピエート類、カンナビノイド類の高濃度混合物が含まれています。

実験方法

材料および試薬

ライナのテストには、Agilent GC/MS 法中毒学チェックアウト混合物標準 (p/n 5190-0471、5 µg/mL) を使用しました。表 1 に、混合物中の化合物とそのリテンションタイムを示します。HPLC/GC グレードのトルエンおよびメタノールは、MilliporeSigma (パーリントン、マサチューセッツ州、米国) から購入しました。6 つの重水素化多環芳香族炭化水素 (PAH) の内部標準 (ISTD) 混合物を購入しました。この混合物は、2 mg/mL の 1,4-ジクロロベンゼン-d₄、アセナフテン-d₁₀、ナフタレン-d₈、フェナントレン-d₁₀、クリセン-d₁₂、ペリレン-d₁₂ を含むアセトン溶液です。5 µg/mL のチェックアウト混合物 1 mL あたりに 1 µL の ISTD を加えて、最終濃度 2 µg/mL の ISTD の溶液を作成しました。

複数の混合物を、Cerilliant 社 (ラウンドロック、テキサス州、米国) および Cayman Chemical (アナーバー、ミシガン州、米国) から購入して、焼結ガラスフリットライナでのピーク形状の完全性をテストしました。多成分のオピエート混合物には、メサドン、コデイン、ヒドロコドン、メペリジン、オキシコドンがそれぞれ 250 µg/mL で含まれていました。アミン混合物には、アンフェタミン、メチレンジオキシエチルアンフェタミン (MDEA)、メタンフェタミン、メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA)、メチレンジオキシアンフェタミン (MDA)、フェンテルミンがそれぞれ

250 µg/mL で含まれていました。カンナビノイド混合物には、カンナビジオール、カンナビノール、テトラヒドロカンナビノール (Δ^9 -THC) が 1.0 mg/mL の濃度で含まれていました。GC/MS 薬物混合物 1 には、さまざまな濃度で、カフェイン (40 µg/mL)、メサドン (30 µg/mL)、コカイン (30 µg/mL)、コデイン (50 µg/mL)、6-モノアセチルモルヒネ (75 µg/mL)、ヘロイン (75 µg/mL) が含まれていました。GC/MS 薬物混合物 3 には、メタンフェタミン、コカイン、ヘロイン、フェンタニル、アルプラゾラムが 1.0 mg/mL の濃度で含まれていました。

実サンプルのマトリックスをシミュレートするために、アセトアミノフェンのカプレットを使用しました。アセトアミノフェンのカプレットを砕いて 25 % メタノール/75 % 水の混合溶液に溶解しました。その後、メタノール/水/アセトアミノフェン混合物をトルエンに抽出して GC に投入しました。

分析条件

Agilent 7890 GC を、9 mm 引き出しレンズ付き Agilent 5977B イナートプラス GC/MSD に接続しました。GC には最大 50 サンプルを収容できる大型タレットを持つ Agilent 7650A 自動液体サンブラを組み合わせました。規制物質サンプルがより高い濃度になる傾向があるため、20 m × 0.18 mm × 0.18 µm カラムを使用し、スプリット比 20:1 の注入により、分析のシステム効率を向上させました。このメソッドは、他の法中毒学の薬物スクリーニングアプリケーションにも使用されています³。最初のテストケースとして、Agilent 汎用シングルテーパフリットライナ (p/n 5190-5105) を選択しました。イナートプラス MSD をスキャンモードとエクストラクティオン源チューニング (etune.u) で運転しました。表 2 に GC および MSD 機器および消耗品を、表 3 にメソッドパラメータを示します。

表 1. Agilent GC/MS 法中毒学チェックアウト混合物内の溶出順序に基づいた化合物とリテンションタイム

No.	化合物	リテンションタイム (分)	No.	化合物	リテンションタイム (分)
1	アンフェタミン	1.535	15	ロラゼパム	8.017
2	フェンテルミン	1.684	16	ジアゼパム	8.144
3	メタンフェタミン	1.758	17	ヒドロコドン	8.213
4	ニコチン	2.536	18	THC	8.276
5	MDA	3.272	19	オキシコドン	8.531
6	MDMA	3.563	20	デマゼパム	8.758
7	MDEA	3.818	21	フルニトラゼパム	8.832
8	メペリジン	4.803	22	ヘロイン	8.896
9	フェンシクリジン	5.602	23	ニトラゼパム	9.441
10	メサドン	6.762	24	クロナゼパム	9.748
11	コカイン	7.09	25	アルブラゾラム	10.177
12	プロアジフェン	7.556	26	ベラバミル	11.231
13	オキサゼパム	7.678	27	ストリキニーネ	11.358
14	コデイン	7.948	28	トラゾドン	12.666

表 2. GC および MSD 機器および消耗品

パラメータ	設定値
GC	Agilent 7890 GC
MS	不活性 EI イオン源付の Agilent 5977B イナートプラス GC/MSD
ドローアウトプレート	9 mm (部品番号 G3870-20449)
カラム	Agilent DB-5ms ウルトライナート、20 m × 0.18 mm × 0.18 μm (部品番号 121-5522)
ライナ	焼結ガラスフリット付き Agilent 汎用シングルテーパ (部品番号 5190-5105)
注入口セプタム	Agilent 高性能グリーン、ノンスティックセプタム、11 mm (部品番号 5183-4759、50 パック用)
オートサンプラ	Agilent 7650A 自動液体サンプラ
バイアル	Agilent A-Line スクリューバイアル、認定、茶色、100 個 (部品番号 5190-9590)
バイアルインサート	Agilent 不活性化バイアルインサート、100 個 (部品番号 5181-8872)
バイアル用スクリューキャップ	Agilent スクリューキャップ、PTFE/シリコン/PTFE セプタム、キャップサイズ:12 mm、500 個 (部品番号 5185-5862)
テスト混合物	Agilent GC/MS 法中毒学チェックアウト混合物 標準、5 μg/mL (部品番号 5190-0471)

表 3. GC および MSD 機器の条件

パラメータ	設定値
注入量	1 μL
注入口	スプリット/スプリットレス注入口 250 °C、 スプリット比 20:1、 標準セプタムバージ (3 mL/min)
カラム温度プログラム	110 °C、20 °C/min で 300 °C まで (4.5 分間保持)
キャリアガスと流量	ヘリウム、1.5 mL/min、定流量
トランスファーライン温度	280 °C
モード	スキャン
イオン源温度	250 °C
四重極温度	150 °C
質量範囲	m/z 40 to 500
A/D サンプル	4
チューニング	Etune.u

結果と考察

このテストでは、GC/MS による規制物質のスクリーニングの観点から、ウルトライナート焼結ガラスフリットライナを評価しました。ライナの性能は、同一ライナへの複数回注入によって得たクロマトグラフィー評価、ライナ間の再現性、レスポンスの再現性で測定しました。

クロマトグラフィー性能およびアンフェタミンのピーク形状

塩基性薬物化合物の吸着または分解が原因で、ピーク形状の歪み、ピークの広がりやテーリング、レスポンスと感度の損失など、さまざまなクロマトグラフィーの問題が生じることがあります。混合化合物クラスのサンプルに移る前に、個々の化合物クラスの混合物、特にアミン類、オピエート類、カンビノイド類について、これらのクロマトグラフィーの問題をテストしました。ピーク形状の問題や感度の損失は一般的に、アンフェタミン、メタンフェタミン、フェンテルミン、MDA などの早期溶出アミン化合物で生じます。このメソッドは、より適切な結果を得るために高速高分離カラム用に設計され、アミン類のピーク形状に対して最適化されたものです³。図 1 のクロマトグラムは、早期溶出アミンのピークに対応したメソッドの最適化を示しています。アンフェタミン混合物を未希釈で 250 µg/mL で注入し、スプリット比 20:1 で濃度を 12.5 µg/mL オンカラムに低減しました。規制物質テストでは対象サンプルの濃度が高くなる傾向があるため、この高濃度のサンプルを使用しました。アミン化合物類は適切に分離され、トータルイオンクロマトグ

ラム (TIC) と抽出イオンクロマトグラム (EIC) の両方で良好な形状のピークが得られています (図 1A および 1B)。また、アミン混合物をトルエンで希釈して、最終的な成分濃度を 10 µg/mL としました。10 µg/mL の注入サン

プルを、0.5 µg/mL オンカラムとし、低濃度でのピーク形状の完全性、システムの不活性度を確認するために使用しました。

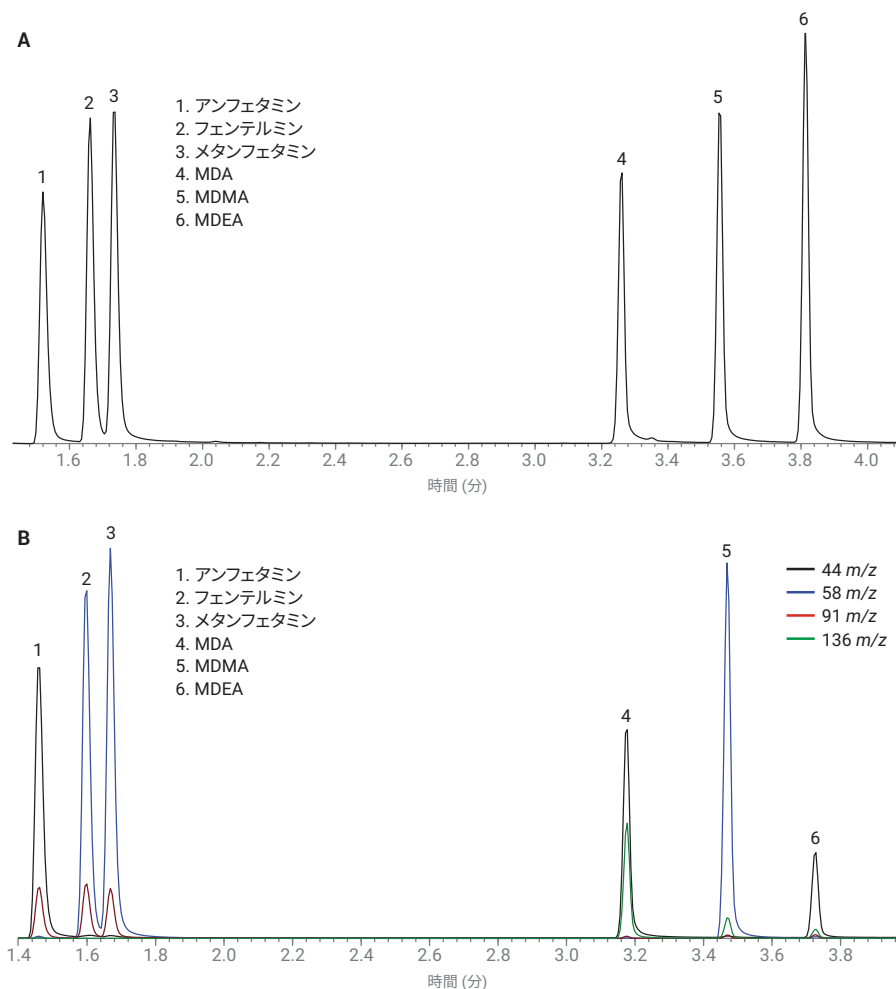


図 1. A) 250 µg/mL のアンフェタミン混合物の TIC (スプリット比 20:1 で 12.5 µg/mL のオンカラム濃度)、B) 250 µg/mL のアンフェタミン混合物の抽出物イオンクロマトグラム (EIC)

図 2 に示すように、10 ppm のアミン化合物の EIC でも高濃度の場合と同様のピーク形状とレスポンスが維持されており、メソッド、ライナ、流路が最適化され、不活性であることが分かります。

他の化合物クラスのピーク形状と分離能についても、オピエート類やカンビノイド類など追加の標準混合物を用いて評価しました。オピエート混合物も未希釈の濃度 (250 µg/mL 注入) およびトルエンで希釈した 10 µg/mL でテストしました。ヒドロコドンとオキシコドンは、流路内の活性度についての高感度インジケータとなります。カラムが劣化した場合や、注入口とライナに活性点がある場合は、ピーク高が低下し、オキシコドンの場合はピークの広がりやテーリングが大幅に増大します。図 3A に示すように、高濃度の標準溶液 (250 µg/mL) はオピエート類について優れた分離とレスポンスを示します。すべての化合物でわずかにテーリングがあります。しかし、10 µg/mL サンプルの注入 (図 3B) ではテーリングが小さくなり、テールは流路の活性度よりもオンカラム濃度と関係することが分かります。カンナビノイド類の標準をトルエンで 10 µg/mL に希釈しました。他の化合物クラスの混合物と同様に、カンナビノイド類は互いに十分に分離し、図 4 に示すように優れたピーク形状を示します。

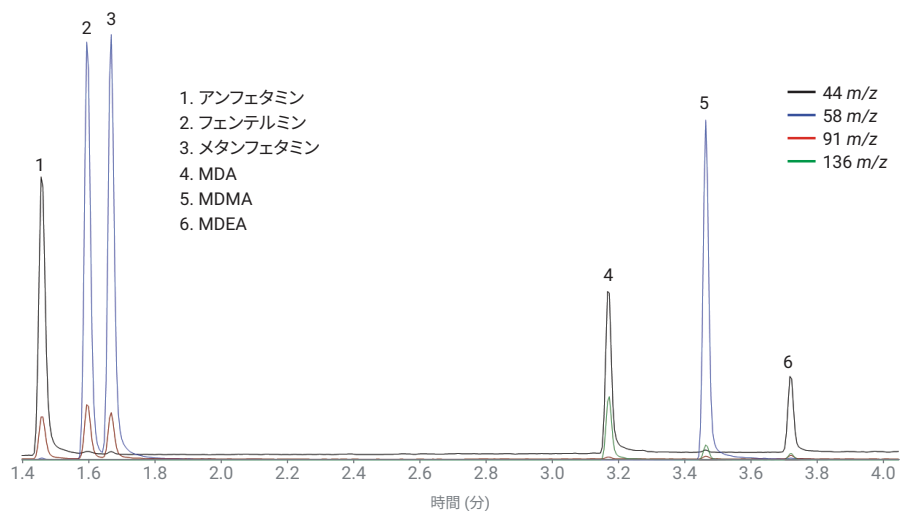


図 2. 10 µg/mL のアンフェタミン混合物の EIC (スプリット比 20:1 で 0.5 µg/mL のオンカラム濃度)

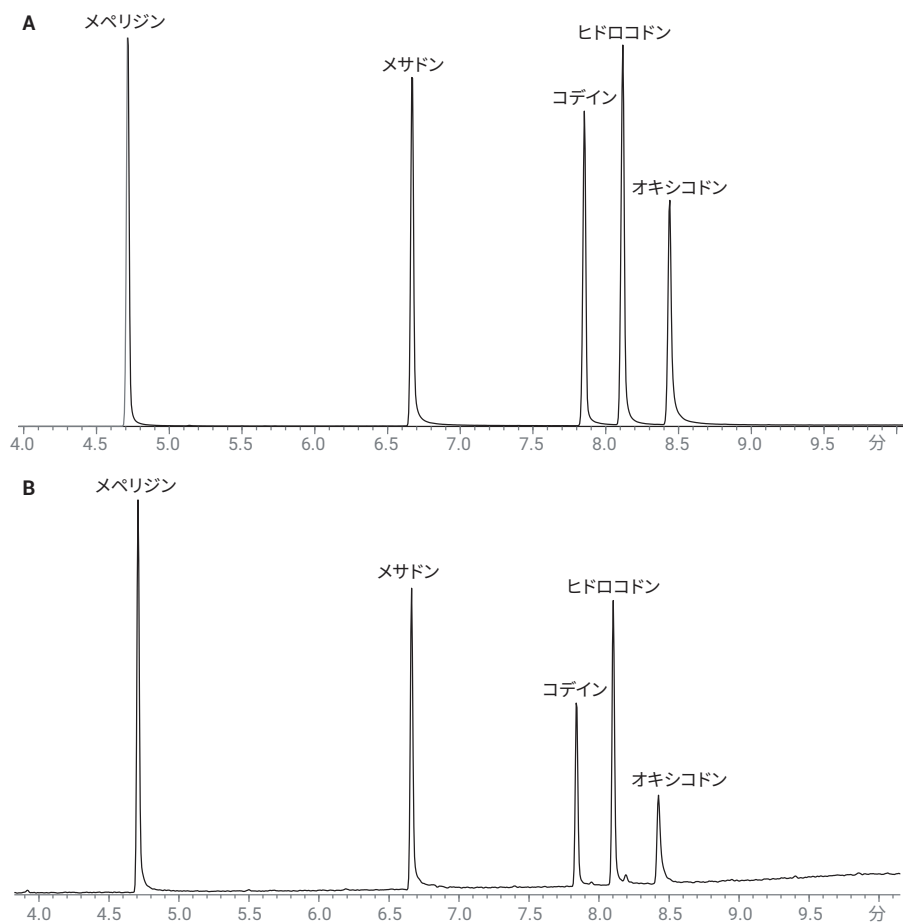


図 3. オピエート類混合物の TIC。A) 250 µg/mL、スプリット比 20:1 で 12.5 µg/mL のオンカラム濃度。
B) 10 µg/mL、スプリット比 20:1 で 0.5 µg/mL のオンカラム濃度

2つの薬物混合物 (GC/MS 薬物混合物 1 および 3) を使用して、互いに異なる化合物クラス
の相互作用、焼結ガラスフリットライナ、高
速高分離カラムをテストしました。GC/MS 薬
物混合物 1 を未希釈濃度で分析してから、4
倍に希釈して 1 $\mu\text{g/mL}$ 未満のオンカラム濃
度をテストしました。図 5 に希釈済みサンプル
のクロマトグラムを示します。ピーク形状が酷
似しているため、未希釈濃度サンプルのクロマ
トグラムは示していません。薬物混合物 1 に
含まれるすべての化合物が良好なピーク形状
を示し、互いに適切に分離しています。

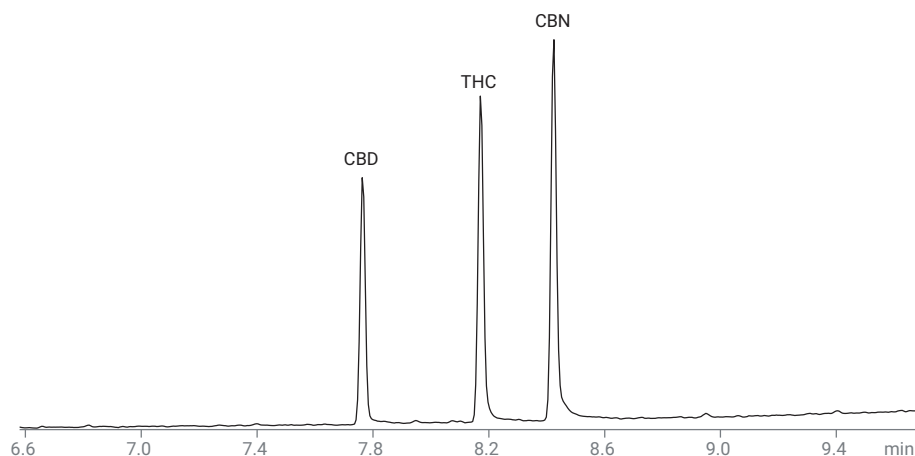


図 4. カンナビノイド類混合物の TIC。10 $\mu\text{g/mL}$ 注入でスプリットして 0.5 $\mu\text{g/mL}$ のオンカラム濃度

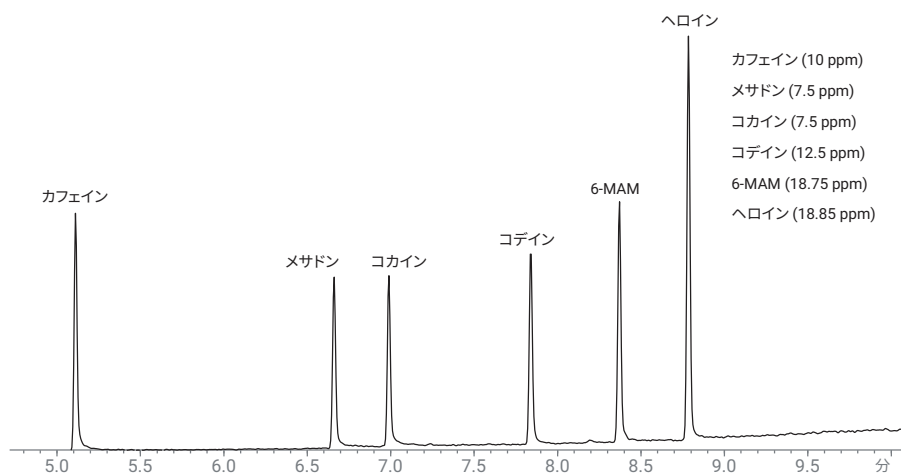


図 5. GC/MS 薬物混合物 1 の TIC。10 $\mu\text{g/mL}$ のカフェイン、7.5 $\mu\text{g/mL}$ のメサドンおよびコカイン、12.5 $\mu\text{g/mL}$ のコデイン、18.85 $\mu\text{g/mL}$ の6-モノアセチルモルヒネ (6-MAM) および ヘロインを注入。メソッドパラメータに記載したように、注入を 20:1 でスプリットし、ライナおよびオンカラムで低濃度でテスト。

GC/MS 薬物混合物 3 は、メタンフェタミン、コカイン、ヘロイン、フェンタニル、アルプラゾラムの混合物を含んでおり、規制物質分析において現在関心が持たれている薬物成分のテストに使用しました。この混合物はトルエンで 100 および 10 $\mu\text{g/mL}$ に希釈しました。図 6 (A および B) に示すこれらの濃度での TIC から、化合物間の分離能が優れていることが分かります。100 $\mu\text{g/mL}$ の TIC (図 6A) では、すべての化合物のレスポンスが強いものの、すべてのピークでわずかにテーリングが観察されます。しかし、10 $\mu\text{g/mL}$ サンプルの注入 (図 6B) ではテーリングが小さくなっています。つまり、テールは、流路の活性度よりも、オンカラム濃度と、場合によってはイオン源温度と関係することが分かります。

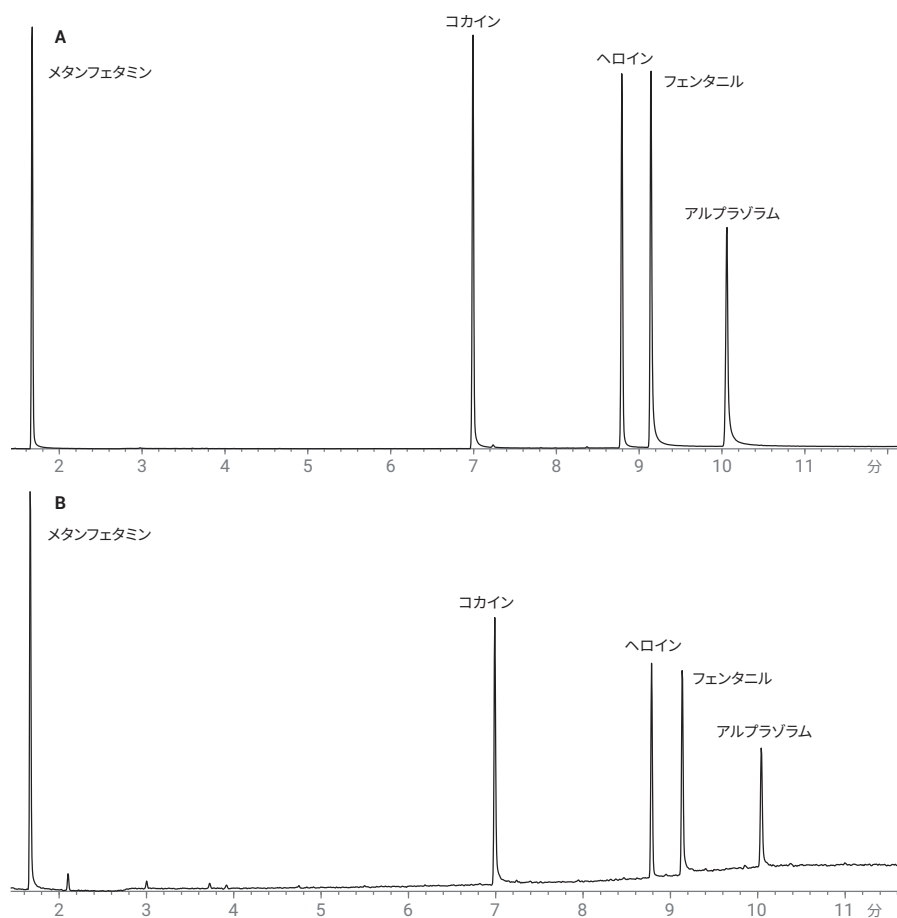


図 6. GC/MS 薬物混合物 3 の TIC。A) 100 $\mu\text{g/mL}$ 注入で 5 $\mu\text{g/mL}$ のオンカラム濃度、
B) 10 $\mu\text{g/mL}$ 注入で 0.5 $\mu\text{g/mL}$ のオンカラム濃度

アミン化合物に焦点を当てメソッドを最適化した後、GC/MS 法中毒学チェックアウト混合物と内部標準について、化合物の分離能とピーク形状の完全性を確認しました。図 7 に、チェックアウト混合物 (5 µg/mL) および内部標準 (2 µg/mL) の TIC を示します。TIC で、大半の化合物が互いに分離されているのが分かります。内部標準がターゲット化合物の非常に近くで溶出しているケースが複数ありますが、TIC ではほぼベースライン付近で分離し、EIC では完全にベースラインで分離します。最

も注目すべき例は、メタンフェタミンとナフタレン-d₈ が TIC では非常に近接して溶出し、ベースライン分離していないことです。しかし、メタンフェタミンとナフタレン-d₈ の特徴的なイオンは異なり、EIC ではベースライン分離能が見られます。流路不活性度の問題を示すことができる他の特徴は、ベンゾジアゼピンとセロトニン再取り込み阻害剤のピーク形状です。システムが不活性ではない場合や十分に清潔でない場合、これらの化合物クラスのピークは、レスポンスの損失、広がり、テーリングの

増大を示す可能性があります。しかし、TIC でのピーク (図 7) は重大なテーリングや広がりを示していません。これは、システム、特にウルトラハイナートフリットライナが不活性であることを示しています。

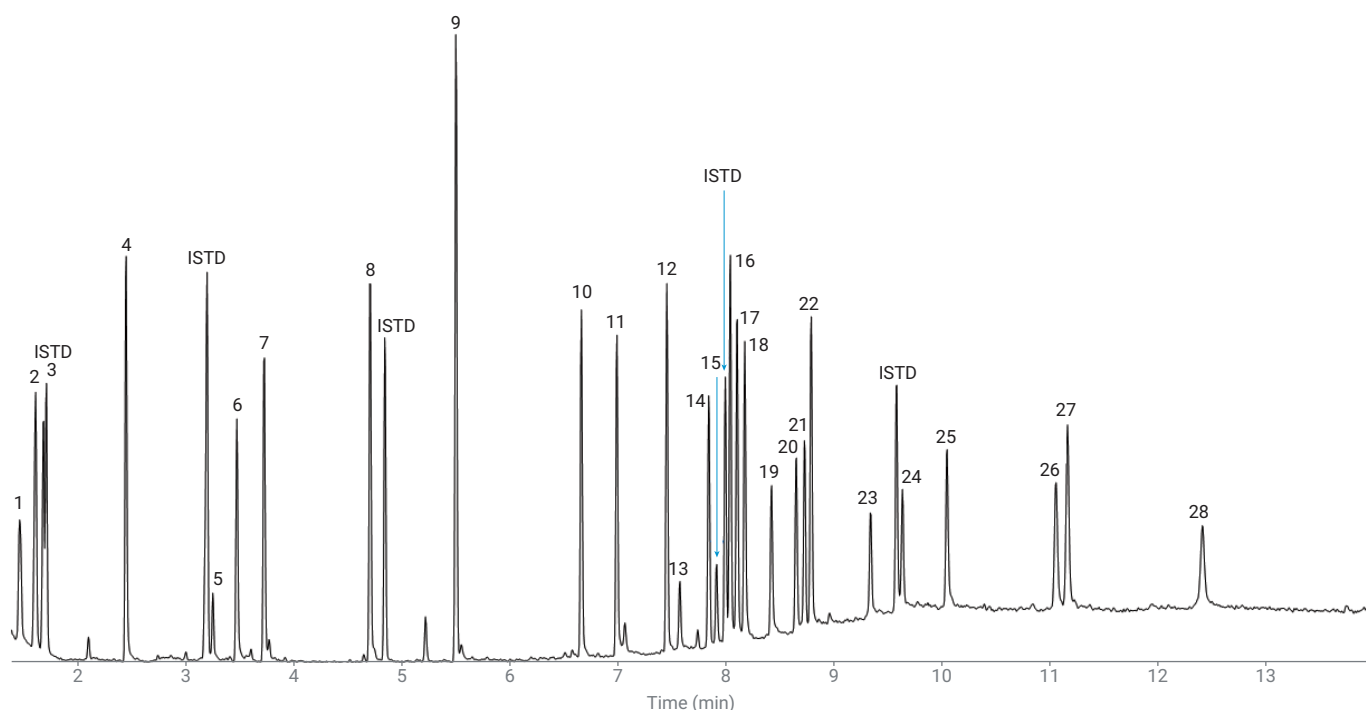


図 7. Agilent 法中毒学チェックアウト混合物標準 5 µg/mL (注入、0.25 µg/mL のオンカラム濃度) と内部標準 2 µg/mL (注入、0.1 µg/mL のオンカラム濃度) の TIC。ピークの番号は、表 1 に示す化合物の番号。1,4-ジクロロベンゼン-d₄ は溶媒ディレイ中で溶出し、図には含まれていません。

注入の再現性

複数回注入の再現性をテストして、標準の複数回注入におけるライナとシステムの不活性度を検証しました。法中毒学チェックアウト混合物 (5 µg/mL) に 2 µg/mL の重水素化多環芳香族炭化水素の内部標準混合物をスパイクして、ターゲット化合物のレスポンスファクタ (RF) を追跡しました。スプリット注入では、オンカラムでターゲット成分の濃度は 0.25 µg/mL、ISTD の濃度は 0.1 µg/mL でした。この低い濃度を使用して、ライナの一貫性と不活性化プロセスを精査しました。10 回の繰り返し注入による分析を各ライナで実行し、各化合物の EIC の面積を使用して各分析の RF を計算しました。10 個の RF を化合物ごとに平均して、化合物とライナごとに平均 RF および %RSD 値を求めました。最初のテストは、表 3 にある同じスプリットメソッドパラメータを使用して、5 µg/mL のチェックアウト混合物 1 µL を 10 回繰り返し注入しました。表 4 は、12 の薬物化合物について 0.25 ng オンカラムでのライナごとの %RSD 値を示しています。付録の表 A1 にはすべての化合物を記載しています。濃度が高い場合、レスポンスの偏差が隠れて本来より良い再現性を示す可能性があるため、0.25 ng のオンカラム濃度を使用しました。より低い濃度により、ライナと GC/MSD システム全体のテストをより厳格にできます。

表 4 に選択した化合物において、ライナは良好な注入再現性を示し、各化合物および 10 回繰り返し注入のセットで %RSD 値は 15 % を下回りました。さらに、クロナゼパムを除くすべての化合物 (付録の表 A1) で %RSD 値は 10 % 未満で、各ライナとシステム全体が不活性であることを示しています。ベンゾジア

ゼピンは誘導体化されると GC によって非常に良好に分析できます^{4,5,6}。しかし、このチェックアウト混合物ではベンゾジアゼピンは誘導体化されていないため、ライナ 5 でクロナゼパムの % RSD が高い値を示している可能性があります。

表 4. 選択した 12 の塩基性薬物化合物の 0.25 µg/mL オンカラム濃度での注入再現性を示す 10 回繰り返し注入での %RSD 値。すべての化合物の結果は付録 A の表 A1 に記載。

No.	化合物	10 回繰り返し注入での %RSD					
		ライナ 1 (ロット 2)	ライナ 2 (ロット 3)	ライナ 3 (ロット 2)	ライナ 4 (ロット 3)	ライナ 5 (ロット 2)	ライナ 6 (ロット 3)
3	メタンフェタミン	3.69	3.72	1.65	3.39	6.26	2.03
6	MDMA	4.42	3.38	2.63	3.91	7.51	3.34
9	フェンシクリジン	6.78	3.01	2.14	2.47	3.22	3.57
11	コカイン	6.32	4.24	3.10	3.04	6.47	4.02
13	オキサゼパム	9.43	4.29	6.04	4.89	5.70	4.58
14	コデイン	8.42	3.50	2.67	1.97	8.26	4.83
19	オキシコドン	7.10	3.76	2.34	4.42	2.39	4.75
20	デマゼパム	3.89	2.90	2.25	3.69	3.33	3.93
22	ヘロイン	4.86	1.95	3.00	5.59	9.55	3.98
23	コトラゼパム	5.03	4.48	4.69	4.14	4.17	3.92
24	クロナゼパム	4.14	1.92	6.45	5.68	12.48	7.88
28	トラゾドン	4.21	4.44	4.72	5.46	7.35	4.92

ライナ間の再現性

6 つのウルトラナート汎用焼結ガラスフリットライナで収集したデータを使用して、ライナ間の再現性を計算し、2 つのロット間の不活性度と一貫性を検証しました。表 5 には、選択した塩基性薬物化合物のセット (12) と各ライナの平均 RF を示しています。28 種すべての化合物とライナごとの平均 RF は付録の表 A2 に示しています。60 個の RF を平均して、総平均 RF と %RSD を計算しました。表 5 (および付録の表 A2) の 6 個のライナを比較すると、化合物ごとの RF は概して一貫性があります。この一貫性は、合計 60 回の注入に対する総 %RSD 値でさらに確認することができ、すべての化合物で 15 % を下回っています。クロナゼパムの再現性を示す %RSD は 13.37 % ですが、この他のすべての化合物では 10 % 未満の RSD です。他より高いこの %

RSD 値は、非誘導体化状態のベンゾジアゼピンと関係する可能性があります。全体として、%RSD 値はどれも 15 % 未満であることから、ライナにより再現性の高いデータが得られること、製造および不活性化プロセスに一貫性があることが分かります。

実サンプルマトリックスのシミュレート

マトリックス注入を繰り返した後の 5 µg/mL の法中毒学チェックアウト混合物の化合物レスポンスをテストするために、アセトアミノフェンの抽出液 (トルエンで) を生成して実サンプルマトリックスをシミュレートしました。このシミュレートを行うのは、混合物内の一部の化合物がライナ (とシステム) の不活性度や清浄度の影響を受ける可能性があるためです。繰り返しセクションを伴う一連の注入を実行しました。トルエンのブランク注入の後に、チェッ

クアウト混合物を 3 回注入して分析しました。この後、アセトアミノフェン抽出物の 10 回注入とチェックアウト混合物の 1 回注入を、アセトアミノフェン抽出物の注入が 100 回になるまで繰り返しました。最後に、チェックアウト混合物を 3 回注入し、合計で 15 回のチェックアウト混合物の注入、全体で 116 回の注入を実行しました。

平均 RF と %RSD の値をチェックアウト混合物の注入から計算し、GC/MS システムの不活性度と清浄度を 100 回のアセトアミノフェン抽出物の注入によって求めました。システムメンテナンスのスケジューリングの追跡には、複数のオピエート類とベンゾジアゼピン類を使用することができます。

表 5. 選択した 12 の塩基性薬物化合物の 0.25 µg/mL オンカラム濃度でのライナ間再現性を示すための 10 回繰り返し注入でのレスポンスファクタ。化合物あたり全 60 回注入の総平均 RF および %RSD 値を含む。28 すべての化合物の結果は付録 A の表 A2 に記載。

No.	化合物	平均 RF						総平均 RF	% RSD
		ライナ 1 (ロット 2)	ライナ 2 (ロット 3)	ライナ 3 (ロット 2)	ライナ 4 (ロット 3)	ライナ 5 (ロット 2)	ライナ 6 (ロット 3)		
3	メタンフェタミン	0.584	0.586	0.649	0.619	0.611	0.592	0.606	5.05
6	MDMA	0.818	0.814	0.948	0.905	0.890	0.847	0.870	7.07
9	フェンシクリジン	0.361	0.354	0.346	0.348	0.358	0.361	0.354	4.07
11	コカイン	0.223	0.234	0.200	0.230	0.233	0.241	0.227	7.44
13	オキサゼパム	0.015	0.016	0.017	0.016	0.017	0.017	0.016	8.13
14	コデイン	0.051	0.051	0.042	0.051	0.050	0.052	0.050	8.91
19	オキシコドン	0.067	0.071	0.073	0.075	0.072	0.071	0.071	5.31
20	デマゼパム	0.089	0.099	0.110	0.107	0.108	0.103	0.103	7.77
22	ヘロイン	0.081	0.090	0.099	0.093	0.095	0.087	0.091	8.24
23	ニトラゼパム	0.040	0.041	0.042	0.039	0.040	0.041	0.041	4.87
24	クロナゼパム	0.066	0.072	0.039	0.034	0.033	0.030	0.032	13.37
28	トラゾドン	0.082	0.091	0.102	0.091	0.090	0.087	0.091	8.36

GC/MS システムが汚れるにつれて、または不活性度に問題が生じるにつれて、オキシコドン、ロラゼパム、コデイン、テマゼパム、トラゾドンを含むこれらの化合物は、ピーク面積が減少し、ピーク高さが低くなります。さらに、オキシコドンでは顕著なテールあらわれます。このようなピークの変化すべてが %RSD 値に影響を与え、時間とともに %RSD 値が増大していきます。表 6 に、チェックアウト混合物内の 28 の化合物すべての平均 RF および %RSD 値をまとめています。%RSD 値を確認すると、24 の化合物で %RSD 値が 20 % 未満に維持され、アセトアミノフェン抽出物の実サンプルマトリックスのシミュレートで優れた再現性を得ることができました。コデイン、ロラゼパム、オキシコドンの 3 つの化合物は %RSD 値が 20 ~ 30 %、テマゼパムの %RSD 値は 40.06 % でした。

表 6. 100 回のアセトアミノフェン抽出物注入によるシーケンスを通して 5 µg/mL のチェックアウト混合物を 15 回注入して得られた平均 RF および %RSD 値による不活性度の安定性のテスト

No.	化合物	平均 RF	% RSD
1	アンフェタミン	0.284	12.45
2	フェンテルミン	0.474	15.81
3	メタンフェタミン	0.488	10.03
4	ニコチン	0.582	8.43
5	MDA	0.126	13.57
6	MDMA	0.722	7.21
7	MDEA	0.871	10.65
8	メベリジン	0.297	8.690
9	フェンシクリジン	0.384	8.05
10	メサドン	0.553	12.19
11	コカイン	0.162	12.81
12	プロアジフェン	0.489	12.67
13	オキサゼパム	0.013	17.85
14	コデイン	0.054	23.49
15	ロラゼパム	0.019	22.07
16	ジアゼパム	0.135	6.20
17	ヒドロコドン	0.104	6.15
18	THC	0.085	11.55
19	オキシコドン	0.049	20.25
20	テマゼパム	0.069	40.06
21	フルニトラゼパム	0.032	12.96
22	ヘロイン	0.079	10.31
23	ニトラゼパム	0.020	11.76
24	クロナゼパム	0.025	13.69
25	アルプラゾラム	0.048	13.80
26	ペラバミル	0.260	16.34
27	ストリキニーネ	0.124	13.69
28	トラゾドン	0.063	11.00

デマゼパムと、ベンゾジアゼピンのクラスは一般に、注入口の不活性度と清浄度の影響を強く受けます。これが、100 回のアセトアミノフェン抽出物の注入にわたって %RSD 値が上昇した原因です。図 8A および付録の図 A1 のプロットに示すように、マトリックス注入回数が増加すると、デマゼパムのレスポンスは低下します。図 8A に、オキシコドン、フルニトラゼパム、ヘロインのピークを示します。すべてのピークで、注入回数が増えるにつれてピークレスポンスが減少しています。図 8B は、ライナ交換時のデマゼパムとその付近のピークの回復を示しており、ライナ内のマトリックスがレスポンス損失の原因であることを示しています。概して、ベンゾジアゼピンが誘導体化されていないことを考慮すると、この結果は非常に良好で、他の化合物すべてにわたって優れた結果が得られています。シミュレートしたマトリックスの %RSD 値 (表 6) と再現性の調査で得られた全体の平均 %RSD 値 (表 5) を比較すると、マトリックスのシミュレートで得られた %RSD 値が全般的に大きくなるのが分かります。これは、マトリックスがライナに堆積し、塩基性薬物化合物との望ましくない相互作用が生じる場合があるためです。

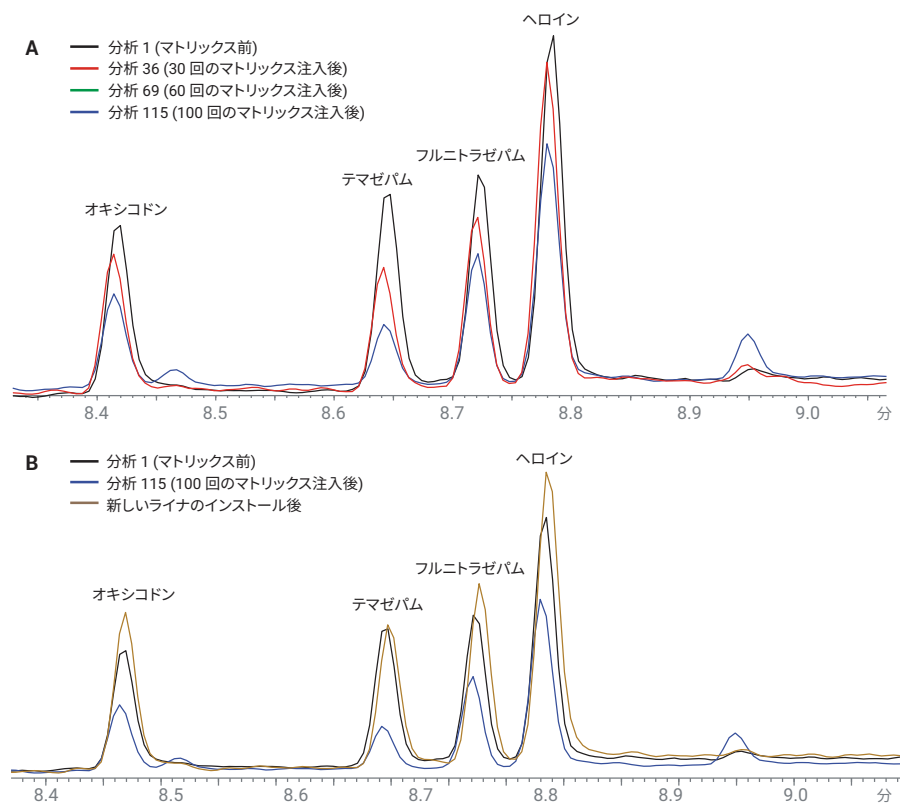


図 8. A) シミュレートしたマトリックステストでのオキシコドン、デマゼパム、フルニトラゼパム、ヘロインについて 100 回の分析試験でのピークレスポンスを比較する TIC の重ね表示。マトリックステスト前の分析 1 (黒)、30 回目のマトリックス抽出物注入後の分析 36 (赤)、60 回目のマトリックス抽出物注入後の分析 69 (緑)、100 回目のマトリックス抽出物注入後の最終分析 115 (青)。B) シミュレートしたマトリックステストでのオキシコドン、デマゼパム、フルニトラゼパム、ヘロインについてピークレスポンスを比較する TIC の重ね表示。マトリックステスト前の分析 1 (黒)、100 回目のマトリックス抽出物注入後の最終分析 115 (青)、ライナ交換後の最初の分析 (金)。

結論

Agilent ウルトライナート焼結ガラスフリットライナは、不活性度に優れており、規制物質サンプルの分析において大きな効果を期待できます。高速高分離能カラムとスプリット注入を使用することで、アミン類、オピエート類、ベンゾジアゼピン類の化合物クラスと、法中毒学チェックアウト混合物で調査した他の化合物クラスにおいて、優れたクロマトグラフィー、ピーク形状、分離能を得られます。ライナ間の性能はテスト対象のライナすべてで高い再現性を示し、全 28 種の化合物の RF 値の平均 %RSD は 8.9 % となりました。アミン化合物クラスは、0.25 µg/mL オンカラムという低濃度でも非常に良好なピーク形状を得ることができます。注入の再現性と、シミュレートされたマトリックスの再現性のテストにより、このライナの堅牢性が示されました。マトリックテストでは、100 回のシミュレートされたマトリックスの注入後、28 の化合物の平均 %RSD は 14.2 % でした。焼結ガラスフリット付きのウルトライナート汎用シングルテーパーライナは、サンプルの気化のためのスペース、非揮発性マトリックスのトラップ、カラムおよび検出器の保護を提供し、規制物質の分析におけるスプリット注入に最適です。

参考文献

1. Zhao, L.; Quimby, B. Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS Using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-7596EN, **2011**.
2. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 59915303EN, 2016.
3. Fausett, A. Forensic Analysis of Drugs of Abuse with the Agilent 8890 GC. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0486EN, **2019**.
4. Joyce, J. R.; *et al.* The Decomposition of Benzodiazepines During Analysis by Capillary Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Biomed. Mass Spectrom.* **1984**, 11, 284–89.
5. Jones, C. E.; *et al.* Benzodiazepines Identified by Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry, with Specific Ion Screening Used to Detect Benzophenone Derivatives. *Clin. Chem.* **1989**, 35(7), 1394–1398.
6. West, R. E.; Ritz, D. P. GC/MS Analysis of Five Common Benzodiazepine Metabolites in Urine as tert-Butyldimethylsilyl Derivatives. *J. Anal. Toxicol.* **1993**, 17, 114–116.

付録

表 A1. 0.25 µg/mL のオンカラム濃度での注入の再現性を示す、焼結ガラスフリットライナ付きの 6 つの
ウルトラナート汎用シングルテーパ (部品番号 5190-5105) についての塩基性薬物化合物の %RSD 値の
完全なリスト

No.	化合物	平均 RF					
		ライナ 1 (ロット 2)	ライナ 2 (ロット 3)	ライナ 3 (ロット 2)	ライナ 4 (ロット 3)	ライナ 5 (ロット 2)	ライナ 6 (ロット 3)
1	アンフェタミン	3.30	3.94	2.92	2.38	3.00	1.53
2	フェンテルミン	4.36	3.64	1.48	3.40	5.20	2.23
3	メタンフェタミン	3.69	3.72	1.65	3.39	6.26	2.03
4	ニコチン	8.80	4.39	2.43	3.96	7.76	5.93
5	MDA	5.15	3.10	2.29	4.50	5.42	4.62
6	MDMA	4.42	3.38	2.63	3.91	7.51	3.34
7	MDEA	6.44	4.16	2.62	1.62	2.09	3.88
8	メペリジン	6.36	4.07	1.97	2.80	2.77	4.44
9	フェンシクリジン	6.78	3.01	2.14	2.47	3.22	3.57
10	メサドン	4.18	2.49	1.54	2.92	6.22	4.42
11	コカイン	6.32	4.24	3.10	3.04	6.47	4.02
12	プロアジフェン	2.97	2.53	1.18	1.64	3.40	2.32
13	オキサゼパム	9.43	4.29	6.04	4.89	5.70	4.58
14	コデイン	8.42	3.50	2.67	1.97	8.26	4.83
15	ロラゼパム	9.59	5.14	3.60	5.80	4.56	5.88
16	ジアゼパム	4.68	3.05	3.53	3.05	4.05	2.68
17	ヒドロコドン	4.47	3.93	2.41	2.76	3.00	3.79
18	THC	3.02	4.75	3.60	3.16	2.76	4.08
19	オキシコドン	7.10	3.76	2.34	4.42	2.39	4.75
20	デマゼパム	3.89	2.90	2.25	3.69	3.33	3.93
21	フルニトラゼパム	4.81	4.14	2.48	5.62	8.30	4.93
22	ヘロイン	4.86	1.95	3.00	5.59	9.55	3.98
23	ニトラゼパム	5.03	4.48	4.69	4.14	4.17	3.92
24	クロナゼパム	4.14	1.92	6.45	5.68	12.48	7.88
25	アルプラゾラム	8.80	4.51	6.93	3.96	8.18	2.93
26	ベラバミル	4.59	2.27	3.09	2.97	2.19	1.56
27	ストリキニーネ	3.02	1.88	4.11	3.40	5.98	2.22
28	トラゾドン	4.21	4.44	4.72	5.46	7.35	4.92

表 A2. 焼結ガラスフリットライナ付きの 6 つのウルトライナートシングルテーパ (部品番号 5190-5105) について、ライナ間の再現性を 1 ライナごとの平均レスポンスファクタ、全 60 回の注入での総平均 RF、0.25 µg/mL オンカラム濃度での総 %RSD 値で示した、法中毒学チェックアウト混合物化合物の完全なリスト

No.	化合物	平均 RF						総平均 RF	総 % RSD
		ライナ 1 (ロット 1)	ライナ 2 (ロット 2)	ライナ 3 (ロット 3)	ライナ 4 (ロット 3)	ライナ 5 (ロット 1)	ライナ 6 (ロット 2)		
1	アンフェタミン	0.263	0.257	0.268	0.262	0.268	0.263	0.263	3.16
2	フェンテルミン	0.540	0.545	0.603	0.574	0.574	0.546	0.564	5.26
3	メタンフェタミン	0.584	0.586	0.649	0.619	0.611	0.592	0.606	5.05
4	ニコチン	0.737	0.750	0.876	0.808	0.780	0.725	0.779	8.66
5	MDA	0.124	0.126	0.136	0.134	0.128	0.128	0.129	5.36
6	MDMA	0.818	0.814	0.948	0.905	0.890	0.847	0.870	7.07
7	MDEA	1.022	1.025	1.124	1.116	1.076	1.056	1.070	5.19
8	メペリジン	0.348	0.351	0.365	0.369	0.361	0.356	0.358	4.33
9	フェンシクリジン	0.361	0.354	0.346	0.348	0.358	0.361	0.354	4.07
10	メサドン	0.620	0.645	0.557	0.645	0.656	0.656	0.630	6.74
11	コカイン	0.223	0.234	0.200	0.230	0.233	0.241	0.227	7.44
12	プロアジフェン	0.509	0.526	0.498	0.541	0.542	0.539	0.526	4.03
13	オキサゼパム	0.015	0.016	0.017	0.016	0.017	0.017	0.016	8.13
14	コデイン	0.051	0.051	0.042	0.051	0.050	0.052	0.050	8.91
15	ロラゼパム	0.021	0.021	0.017	0.020	0.020	0.022	0.020	9.17
16	ジアゼパム	0.150	0.162	0.177	0.174	0.173	0.163	0.167	6.59
17	ヒドロコドン	0.118	0.126	0.127	0.134	0.131	0.125	0.127	5.09
18	THC	0.098	0.101	0.100	0.106	0.105	0.100	0.102	4.52
19	オキシコドン	0.067	0.071	0.073	0.075	0.072	0.071	0.071	5.31
20	デマゼパム	0.089	0.099	0.110	0.107	0.108	0.103	0.103	7.77
21	フルニトラゼパム	0.038	0.041	0.041	0.041	0.042	0.041	0.041	6.20
22	ヘロイン	0.081	0.090	0.099	0.093	0.095	0.087	0.091	8.24
23	ニトラゼパム	0.040	0.041	0.042	0.039	0.040	0.041	0.041	4.87
24	クロナゼパム	0.066	0.072	0.039	0.034	0.033	0.030	0.032	13.37
25	アルプラゾラム	0.028	0.032	0.082	0.072	0.070	0.067	0.071	9.27
26	ペラバミル	0.382	0.381	0.355	0.372	0.375	0.393	0.377	4.14
27	ストリキニーネ	0.152	0.154	0.168	0.155	0.155	0.150	0.156	5.15
28	トラソドン	0.082	0.091	0.102	0.091	0.090	0.087	0.091	8.36

シミュレートされた実サンプルマトリックスのセクションに記載したように、アセトアミノフェン抽出物の分析を 10 回終了するたびに法中毒学チェックアウト混合物を 1 回分析し、この分析シーケンスの最初と最後にチェックアウト混合物を 3 回ずつ分析して、各分析の RF を計算しました。このマトリックス調査の最後に、

焼結ガラスフリットライナ付きの新しいウルトラライナート汎用シングルテーパにライナを交換して、チェックアウト混合物を再度分析し、レスポンスが正常に戻っているかどうかを測定しました。このデータをプロットするために、最初の 3 回の RF の平均を使用して、正規化された RF を分析ごとに計算しました。これに

は、新しいライナでの分析 (分析 117 としてリスト) も含まれます。図 A1 は、アセトアミノフェン抽出物の実験での正規化された RF のプロット図です。

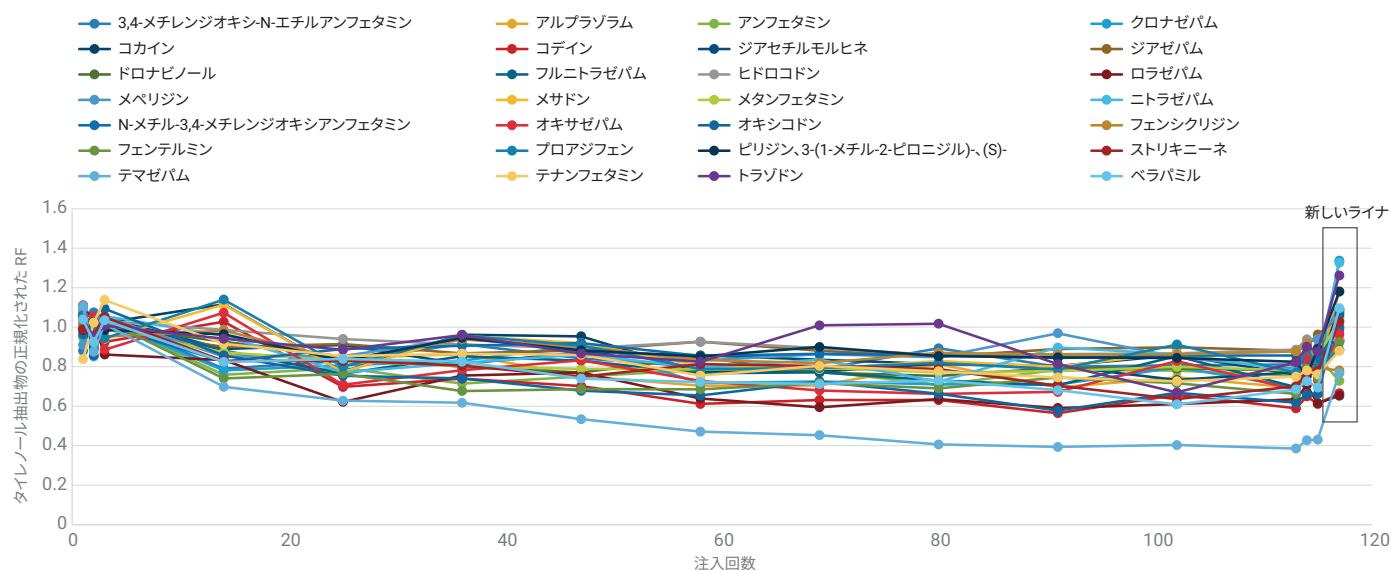


図 A1. シミュレートされた実サンプルマトリックス (アセトアミノフェン抽出物) のテストでの各法中毒学混合物 (オンカラム濃度 0.25 µg/mL) の分析についての正規化された RF。最終データポイントは新しいライナに相当。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

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。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2019
Printed in Japan, June 14, 2019
5994-1012JAJP