

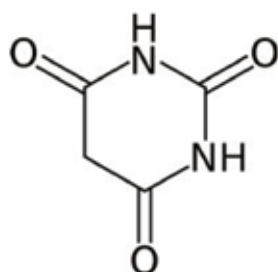
GC/MS 分析サンプル前処理

ISOLUTE® SLE+ を使用した ヒト尿中バルビツール酸系薬物分析のための サンプル前処理

はじめに

このアプリケーションノートは、ISOLUTE SLE+カラムを使用したヒト尿からのバルビツール酸系薬物抽出法について詳しく説明しています。抽出したサンプルをGC-MS で分析した場合の、分析薬物の定量下限値 (LOQ) は10ng/mL、回収率は103-108% (< RSD10%) です。

■ 図1 バルビツール酸の構造(バルビツール酸系薬物の基本構造)



生体サンプル前処理用珪藻土 ISOLUTE SLE+

ISOLUTE SLE+プレートおよびカラムは、従来の液液抽出法(LLE)に代わる効率的なサンプル前処理製品です。エマルジョン形成を回避し、処理時間を大幅に短縮します。ターゲット回収率が高く、サンプル-to-サンプル(検体間)のデータ再現性に優れており、且つ、操作方法が極めてシンプルで容易に前処理を行うことができます。

分析薬物

ブタバルビタール、ブタルビタール、アモバルビタール、ペントバルビタール、セコバルビタール、ヘキソバルビタール、フェノバルビタール

■ ISOLUTE SLE+による抽出メソッド

| | |
|--------------|---|
| 使用製品: | ISOLUTE SLE+ 1mL サンプル用カラム (Part #820-0140-C) |
| サンプルの希釈 | 尿500 μ Lに100mM酢酸アンモニウム (pH5) 500 μ Lを加え、希釈する(1:1, v/v) |
| サンプルロード | 希釈した尿サンプル1mLをカラムにロードし、軽くバキューム(または加圧)して導入する。 5分間静置し、尿サンプルを珪藻土に完全に吸収させる。 |
| 溶出 | ジクロロメタン2.5mLをカラムに加え、5分間静置した後、さらにジクロロメタン2.5mLを加える。 軽くバキューム(または加圧)して溶出を完了する。 |
| エバポレーション・再溶解 | 室温で溶媒を留去し、酢酸エチル(200 μ L)で再溶解する。 |

■ 使用試薬

酢酸エチル (Fisher Scientific, Loughborough)

酢酸アンモニウム (Sigma-Aldrich, Gillingham)

トリメチルフェニルアンモニウムヒドロキシド (TMAH) (Sigma-Aldrich, Gillingham)

GC条件

キャリアガス： ヘリウム2 mL min⁻¹(定流速)
 注入口： スプリットレス方式、150 °C
 注入量： In-port flash alkylation:
 サンプル1 μ L +0.2M TMAH-メタノール溶液 1 μ L
 オープン： 120°C to 290°C at 15°C min⁻¹, hold 2min
 トランスファーライン： 280 °C

MS条件

ソース温度： 230°C
 四重極温度： 150°C
 溶媒遅延： 7 分
 MSD モード： SIM
 SIM グループ： 1-7.4min to 7.8min / 2-7.8min to 8.1min/
 3-8.1min to 8.4min / 4-8.4min to 9.8min/
 5-9.8min to 10.4min / 6-10.4min to 16.0min

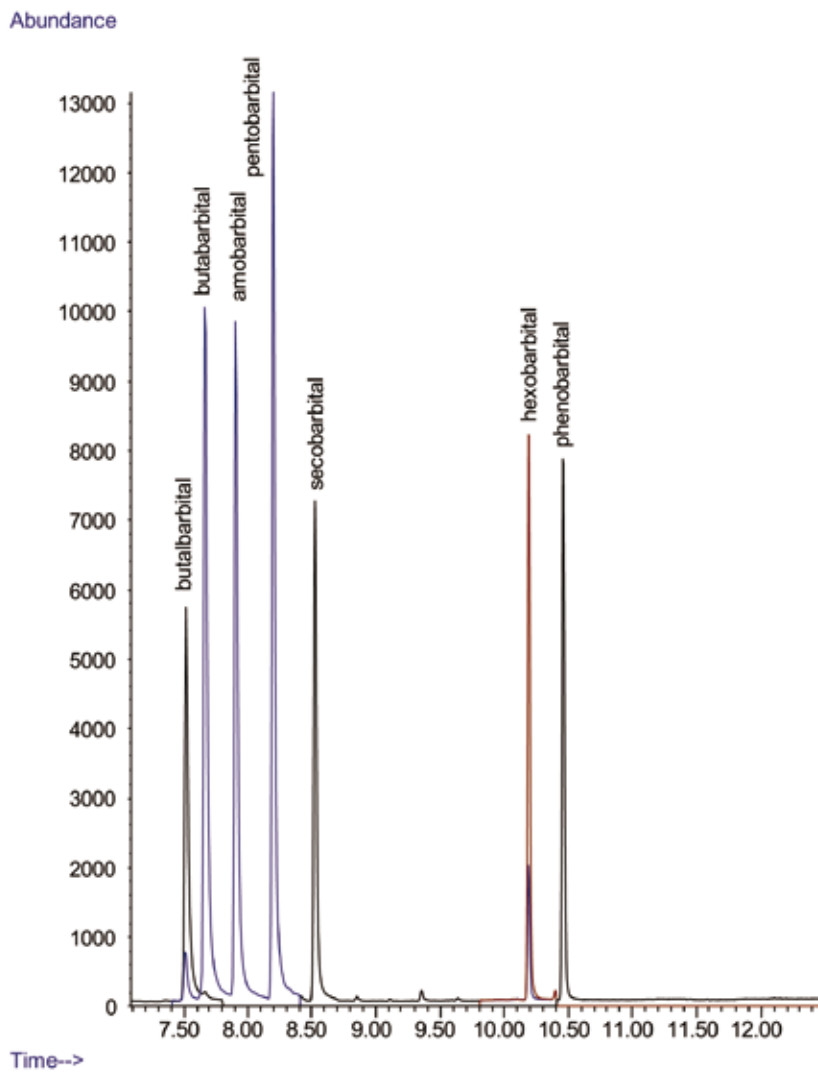
表1 SIMパラメータ

| Scan Function | Compound | Quant Ion | 1st Qual Ion | 2nd Qual Ion | Dwell / ms |
|---------------|-----------|-----------|--------------|--------------|------------|
| 1 | ブタルビタール | 196 | 181 | 25 | 100 |
| 1 | ブタバルビタール | 169 | 211 | 37 | 100 |
| 2 | アモバルビタール | 169 | 225 | 29 | 100 |
| 3 | ペントバルビタール | 169 | 225 | 33 | 100 |
| 4 | セコバルビタール | 196 | 181 | 25 | 100 |
| 5 | ヘキソバルビタール | 235 | 81 | 27 | 100 |
| 6 | フェノバルビタール | 232 | 175 | 33 | 100 |

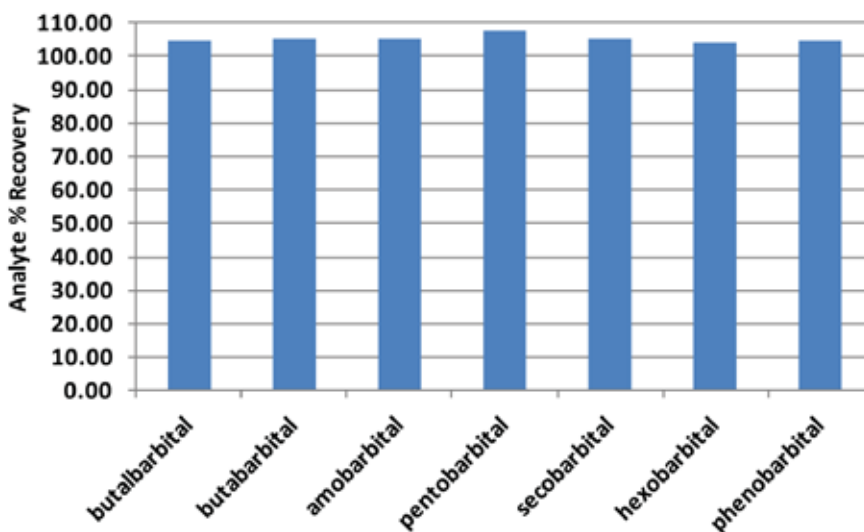
結果

図2に分析薬物(10ng/mL)のマスクロマトグラムを示す。平均分析薬物回収率(n=3)は103-108% (RSD<10%)だった(図3)。

■ 図2 分析薬物(10ng/mL)の典型的なマスクロマトグラム



■ 図3 分析薬物(10ng/mL, n=3)の平均回収率



■ 使用製品一覧

| Part number | Description | Quantity |
|-------------|---------------------------|----------|
| 820-0140-C | ISOLUTE SLE + 1 mL sample | 30 |

バイオタージ・ジャパン株式会社

本社：〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121
大阪：〒532-0011 大阪市淀川区西中島7-1-29, 6F TEL 06-6838-9311 FAX 06-6838-9312
URL: <http://www.biotage.co.jp> E-mail: Japan_info@biotage.com

© 2012.無断複写・複製・転載を禁じます。記載のブランド名および製品名はすべて各社の商標または登録商標です。本書に含まれる情報は予告なしに変更することがあります。