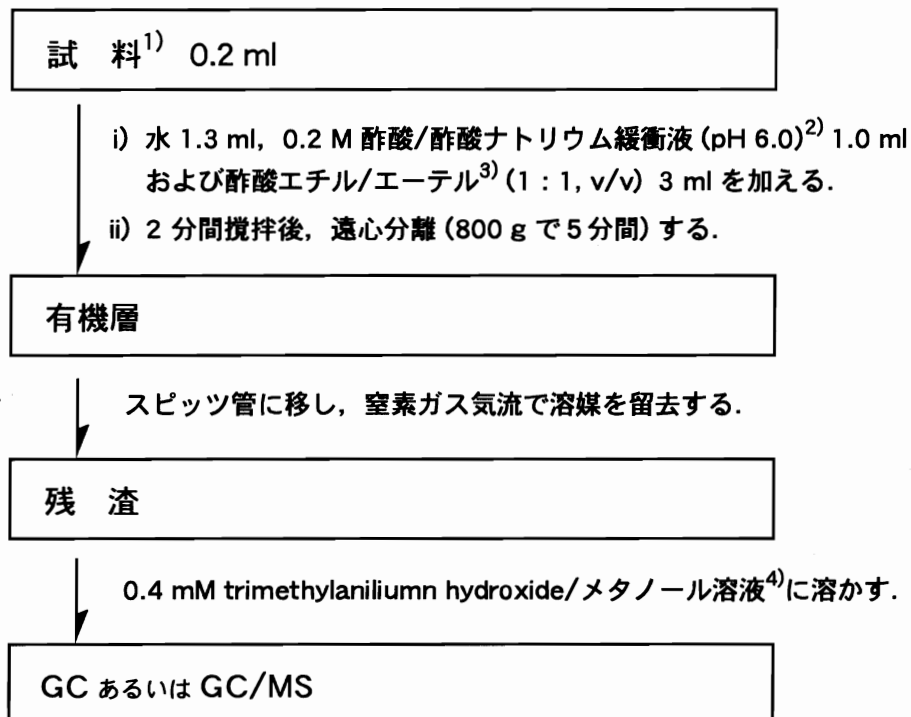


## (2) ガスクロマトグラフィー (GC), GC・質量分析法 (GC/MS)

### i) 前処理



### 【注 解】

- 1) 試料は血液, 尿など. 臓器はその 2 g に 0.05 N NaOH 液 18 ml を加えて, ホモジナイズし, 遠心分離 (12,000 g で 20 分間) 後, その上層のほぼ全量を分取し, エーテル 20 ml で 2 回洗浄する. 水層を 10% 酒石酸で pH を約 6 に調整した後, 酢酸エチル/エーテル (1 : 1, v/v) 20 ml で 2 回抽出する. 以下, 液体試料と同様に操作する. 但し, この方法は追試されていないので, 回収率, 夾雑ピークの有無等は不明である.
- 2) 酢酸ナトリウムの 16.41 g/l 水溶液を調製し, 0.1 N 酢酸で pH を 6.0 に調整する.
- 3) 抽出溶媒は, エーテル, 酢酸エチル, クロロホルム, ジクロロメタンなども使用できるが, 生体由来の夾雑ピークの少ない本抽出溶媒を採用した. なお, エーテル, 酢酸エチル, ジクロロメタンは metharbital の抽出効率が低い (46-63%).
- 4) メチル化剤として 0.2 M trimethylaniliumn hydroxide (TMAH) (Pierce 社製; Meth-Elute™) のメタノール溶液を使用する. TMAH/メタノール溶液の濃度は FID 検出器では 4 mM TMAH/メタノール溶液, NPD 検出器では 0.4 mM TMAH/メタノール溶液を用いる.
- 5) 検量線は各催眠薬の 10 µg/ml メタノール溶液を用いて作成する. このメタノール溶液 (例えば 10, 25, 50, 100, 500, 1000 µl) を取り, 窒素ガスで溶媒を留去し, 残渣に血清 0.2 ml を加えたものを用いる.

## ii) GC の条件

装置	: ガスクロマトグラフ
検出器	: FID (水素炎イオン化検出器)
カラム	: 1% OV-17/Gas Chrom Q (AW-DMCS, 80-100 mesh), 0.5 m x 3 mm i.d.
温度	: カラム 140°C - (10°C/min) - 220°C ; 注入部・検出器 250°C
キャリアガス	: ヘリウム 50 ml/min

装置	: ガスクロマトグラフ
検出器	: NPD (FTD) (窒素-リン検出器)
カラム	: メチルシリコン系熔融シリカメガボアカラム, 15 m x 0.53 mm i.d., 膜厚 1µm
温度	: カラム 60°C - (8°C/min) - 250°C ; 注入部・検出器 250°C
キャリアガス	: ヘリウム 30 ml/min 測定時間: 約 15 min

## iii) GC/MS の条件

装置	: ガスクロマトグラフ/質量分析計
カラム	: メチルシリコン系熔融シリカキャピラリーカラム, 15 m x 0.25 mm i.d., 膜厚 1 µm
温度	: カラム 60°C (3 min, スプリットレス) - (8°C/min) - 250°C ; 注入部 250°C ; イオン源 250°C
キャリアガス	: ヘリウム 2 ml/min
イオン化	: CI (化学イオン化) 200 eV, EI (電子衝撃) 70 eV
測定	: 質量範囲 m/z 50 - 600 ; 時間 約 15 min

## 【注 解】

- 1) TMAH によるオンカラムメチル化は、他のバルビツール酸系催眠薬 glutethimide, primidone などにも適応できるが、thiopental はピークが出現せず不適である。
- 2) FID 検出器では 1 - 5 mg/ml, NPD 検出器では 1 - 5 µg/ml の濃度にする。
- 3) バルビツール酸系催眠薬の ng オーダーの微量分析では、遊離塩基は OV-17 ではほとんどピークが検出されず、DB-1 でも metharbital, hexobarbital 以外は著しく感度が低い。一方、メチル誘導体は遊離塩基よりも感度が数倍から数十倍に上昇する。メチル誘導体の検出限界は、NPD 検出器では 60-70 pg (DB-1) および約 100-200 pg (OV-17), FID 検出器では 14-19 ng (DB-1) である。バルビツール酸系催眠薬の遊離塩基およびメチル誘導体の保持時間、保持指標を表 1 に、バルビツール酸系催眠薬のメチル誘導体のマススペクトルを表 2 に示す。
- 4) 試料注入部温度が低い (200°C 以下) とオンカラムメチル化の効率が低下する。
- 5) カラムは J & W 社製の DB-1 またはその相当品が良い。
- 6) 検量線は 0.2-10 ng の範囲で良好な直線性が得られる。回収率は 0.1, 1.0, 5.0 µg 添加で 83-111% である。
- 7) キャピラリーカラムを用いた催眠薬の分析は、機器製造会社のアプリケーションデータなどを参照。

表 1. 主なバルビツール酸系催眠薬の遊離塩基およびメチル誘導体の保持時間と保持指標

化合物	保持時間 (分)		保持指標
	1% OV-17	DB-1	DB-1
Metharbital	1.26	6.852	1407
Methylmetharbital	1.01	6.308	1367
Allobarbital	2.56	9.133	1569
Methylallobarbital	1.42	7.616	1457
Amobarbital	3.20	10.748	1688
Methylamobarbital	1.91	9.272	1575
Pentobarbital	3.70	10.976	1706
Methylpentobarbital	2.12	9.618	1600
Secobarbital	3.90	11.642	1758
Methylsecobarbital	2.40	10.183	1642
Hexobarbital	4.90	12.342	1811
Methylhexobarbital	4.21	11.877	1772
Phenobarbital	6.16	13.506	1909
Methylphenobarbital	4.54	12.243	1801

表 2. 主なバルビツール酸系催眠薬のメチル誘導体のマススペクトル

化合物	CI 法 (isobutane)		EI 法	
	分子量	MH <sup>+</sup>	基準ピーク	他のフラグメントイオン
Methylmetharbital	212	213	169	184, 126, 112
Methylallobarbital	236	237	195	138, 194, 110, 221
Methylamobarbital	254	255	169	184, 112, 126
Methylpentobarbital	254	255	169	184, 112, 126
Methylsecobarbital	266	267	169	195, 181, 138, 223
Methylhexobarbital	250	251	235	81, 79, 169
Methylphenobarbital	260	261	232	117, 146, 175, 77

## 【文献】

1. Terada M et al. Jpn J Forensic Toxicol 1995 ; 13 : 223-231.