

固相ミクロ抽出によるヒト体液中メチルキサンチン類の簡易抽出法

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本法医学会 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 熊澤, 武志, 妹尾, 洋, 李, 暁鵬, 近藤, 圭, 佐藤, 啓造, 鈴木, 修 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1839

P-102 固相マイクロ抽出によるヒト体液中メチルキサンチン類の簡易抽出法

熊澤武志¹, 妹尾 洋², 李 曉鵬¹, 近藤 圭¹, 佐藤啓造¹, 鈴木 修² (¹昭和大, ²浜松医大)

人体試料からの薬毒物抽出に固相マイクロ抽出 (solid-phase microextraction; SPME) 法が応用されている。今回の実験では caffeine, theobromine, theophylline などのメチルキサンチン類についてヒト血液および尿からの SPME による抽出条件を設定したので報告する。

SPME ファイバーは 65 μ m の carbowax/divinylbenzene ファイバーを用い, ガスクロマトグラフ (GC) 装置の注入口で 260°C 60 分間のコンディショニングを行った後抽出に使用した。GC 装置は HP-6890 を用い, 注入口温度 280°C, カラム温度 140~280°C (1 分間保持後, 10°C/分昇温), ヘリウムガス流量 3ml/分の条件で水素炎イオン化法による検出を行った。スプリッターはファイバー挿入時にスプリットレスモードで, 1 分後にスプリットモードに切り替えた。使用した分離用カラムは DB-17 ミドルボアキャピラリーカラム (長さ 30m, 内径 0.32mm, 膜厚 0.25 μ m) である。全血を用いた抽出では最初に 1ml の試料 (caffeine, theobromine, theophylline, paraxanthine の添加あるいは非添加) に 1M 過塩素酸を加え除蛋白操作を行った。上清の pH を中性に調整した後, バイアル瓶 (2ml 容量) 内の試料液中に SPME ファイバーを直接浸漬し, スターラーで攪拌しながら抽出を行った。60 分後 SPME ファイバーをバイアル瓶から抜き取り, GC 注入口に挿入し検出を行った。尿の場合は除蛋白操作なしで全血の場合と同様の操作を行った。なお, 内部標準物質 (IS) に pentifylline を使用し, 抽出中は試料液を 40°C に加温した。

今回の実験では caffeine, theobromine, theophylline, paraxanthine および IS がそれぞれ分離良く検出され, 不純ピークとの重複が少ない良好なクロマトグラムが得られた。抽出効率は全血が 0.01~0.047%, 尿が 0.05~0.229% で SPME 特有の低い値であった。4 種類のメチルキサンチン類について検量線を作成したところ 1.88~60 μ g/ml の範囲で直線性を示し, 検出限界は全血で 0.2~0.9 μ g/ml, 尿で 0.06~0.7 μ g/ml であった。また, 今回設定した方法を用いてコーヒーを摂取した被験者の血液あるいは尿から実際に caffeine, theobromine, paraxanthine, theophylline を検出することができた。