

GC/MS/MS에서 수소 운반 가스를 이용해 10분안에 소변 내 스테로이드 분석



저자

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

Remko van Loon,
Anastasia Andrianova
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 수소(H_2) 운반 가스를 사용하여 소변 내 14가지 내인성 단백동화 스테로이드를 정량적으로 분석하기 위한 개발 및 검증된 GC/MS/MS 분석법을 소개합니다. 이 분석법은 분석 시간을 10분 이내로 성공적으로 단축시켰으며, 이는 헬륨(He) 운반 가스를 사용하는 기존의 17분 분석법에 비해 40%나 단축된 것입니다. 검량 성능은 넓은 범위에 걸쳐 우수했으며, 세계반도핑기구(WADA)가 정한 식별 한도(LOI)를 충족했습니다. 검증 결과에 따르면 분석된 모든 시료의 z-점수가 1보다 작아 분석법의 정확도가 높음을 나타냈습니다. 이 확실하고 효율적인 분석법은 소변 내 내인성 단백동화 스테로이드를 높은 신뢰도로 정량화하여, 헬륨에 대한 실용적이고 환경적으로 지속 가능한 대안을 제공함으로써 세계적인 헬륨 부족과 비용 상승 문제를 해결할 수 있습니다.

소개

단백동화-안드로겐 스테로이드(AAS)는 테스토스테론과 관련된 스테로이드 호르몬의 한 종류입니다. 테스토스테론은 인체에서 자연적으로 생성되며 주로 글루쿠론산이나 황산염과 결합되어 배출됩니다. AAS는 남성화 및 남성화 증상과 관련된 안드로겐 효과와 단백질 합성 및 근육 성장과 관련된 단백동화 작용을 모두 나타냅니다. 효능과 잠재적 위험에 대한 논란이 계속되고 있음에도 불구하고 AAS는 파워 스포츠에서 근육량 증가와 지구력 스포츠에서 회복력 향상에 널리 사용되고 있습니다. 게다가 다양한 간접적 스테로이드 도핑 전략도 마찬가지로 테스토스테론 수치를 높일 수 있어, 도핑 행위의 감지와 규제를 복잡하게 만들 수 있습니다.

AAS 감지는 WADA가 정한 엄격한 요구 사항을 준수해야 하기 때문에 더욱 복잡합니다. WADA 인증을 유지하려는 반도핑 실험실은 내인성 스테로이드에 대한 정량적 분석 능력과 더불어 높은 감도, 선택성 및 재현성을 실현해야 합니다. 이를 위해서는 광범위한 농도 범위의 내인성 스테로이드(ng/mL - $\mu\text{g/mL}$)에서 AAS를 정확하게 정량화할 수 있어야 합니다. 무관용 규칙이 적용되는 외인성 스테로이드의 경우, 실험실은 WADA가 정한 최소 요구 성능 수준(MRPL)과 비슷한 매우 낮은 검출 한계(LOD)에 도달해야 합니다.¹

외인성 AAS는 인체에 자연적으로 존재하지 않습니다. 외인성 AAS에 대해서는 무관용 정책이 적용되기 때문에 단순히 식별되는 것만으로도 도핑 규정 위반에 해당하고, 따라서 정량 분석이 필요하지 않습니다. WADA는 이러한 화합물에 대해 MRPL을 정하고 있는데, MRPL은 실험실에서 일상적으로 검출할 수 있는 소변 내 해당 물질의 최소 농도를 말합니다. LOD는 이 값의 절반보다 작아야 합니다.

내인성 AAS는 남성과 여성 모두의 체액에 자연적으로 존재합니다. 그러나 일부 내인성 AAS(예: 테스토스테론 및 DHEA)는 의약품으로 이용 가능하거나 일부 국가에서는 "식품 보충제"로 판매되기도 합니다. 이러한 약물과 보충제는 여전히 WADA에서 금지하고 있지만, 체내에 AAS가 자연적으로 존재하기 때문에 그 사용을 감지하는 것이 훨씬 더 어렵습니다. 따라서, 잠재적인 남용을 감지하기 위해서는 개별 운동선수의 스테로이드 패스포트에서 장기간에 걸쳐 AAS 농도와 비율을 평가해야 합니다. 장기 평균에서 상당한 변동이 나타나면 시료를 동위원소 비율 질량 분석기(IRMS)로 보내 스테로이드의 합성 출처를 확실하게 밝힐 수 있습니다. IRMS 분석의 대안은 혈액에서 스테로이드 에스테르를 검출하는 것입니다.

외인성 및 내인성 스테로이드 모두에 대해 반도핑 실험실은 의심스러운 결과를 식별하기 위한 첫 단계로 초기 테스트 절차(ITP)를 사용하고 이러한 결과를 확인하기 위해 확증(CP) 분석법을 사용합니다. 반도핑 실험실에서 이러한 시료 분석 절차는 여러 단계로 요약할 수 있습니다.

1. 익명의(코드화된) 시료가 실험실에 도착합니다(A 및 B 시료로 분리됨). A 시료를 개봉하고 그 중 일부를 채취합니다. B 시료는 밀봉된 상태로 냉동고에 즉시 보관됩니다.
2. A 시료의 일부를 사용하여 시료 추출을 수행합니다. 추출 후, 시료를 GC/Q-TOF 시스템에 주입합니다. 자세한 내용은 이전 응용 자료에서 확인할 수 있습니다.² 내인성 AAS의 정량화는 이 시스템을 사용하여 수행되고, 그 값은 해당 기관에 보고됩니다.
3. 시료 채취를 담당한 기관은 WADA 데이터베이스에 데이터를 입력하여 시료 코드와 개별 선수가 서로 연결되도록 했습니다. 그 다음, 새로 측정된 농도와 이 운동선수의 이전 도핑 검사 시료에서 얻은 농도를 비교하여 평가합니다. 이러한 ITP의 농도가 예상 범위와 일치하지 않을 경우 당국은 처음 보고된 값을 확인해야 한다고 실험실에 경고합니다.
4. 확인을 위해, A 시료의 두 번째 분취량을 이 응용 자료에 설명된 분석법으로 분석합니다.
5. 두 번째 분석에서 ITP 결과가 확인되면 일반적으로 A 시료에 대한 IRMS 분석을 수행하여 AAS의 출처가 자연적인지 아니면 약물 때문인지 확인합니다.
6. 운동선수가 IRMS의 양성 결과에 동의하지 않는 경우, 원래 상태의 B 시료에 대한 새로운 분석을 요청할 수 있습니다.

이전 응용 자료에서는 ITP에 대한 다중 표적 GC/Q-TOF 분석법을 설명했습니다.² 여기에 제시된 새롭게 개발된 수소(H_2) 분석법은 ITP의 결과를 확증하는 과정에 사용됩니다.

QQQ GC/MS/MS³와 고분해능 GC/Q-TOF⁴는 필수 기술이며, 특히 LC/MS 기술로는 종종 분리하지 못하는 AAS 정량화와 입체이성질체 분리에 필수적입니다. 전통적으로 헬륨(He)은 최적의 성능 특성을 갖춰 GC/MS 분석용 운반 가스로 선호되어 왔습니다. 그러나 전 세계적으로 헬륨 부족 현상이 계속되면서 분석 측정의 연속성과 신뢰성을 보장할 실용적 대안을 찾아야만 했습니다.

수소는 GC/MS에서 운반 가스로 사용할 때 헬륨에 비해 여러 가지 장점이 있는데, 그 중에는 헬륨보다 쉽게 구할 수 있고 가격이 훨씬 저렴하다는 점이 있습니다. 또한, 친환경 전기를 사용하여 물을 전기분해하는 방식으로 수소를 지속 가능한 방식으로 생산할 수 있어 더욱 환경 친화적인 선택입니다. 또한, 수소는 작동 중 전자 이온화(EI) 소스를 더 깨끗하게 유지하여 유지 관리 필요성을 줄이고 기기 가동 시간과 실험실 생산성을 높입니다.

이 응용 자료에서는 수소를 운반 가스로 하고, 전자 이온화를 사용하여 소변 내 14가지 내인성 AAS를 효과적이고 신뢰성 있게 측정하는 검증된 GC/MS/MS 분석법을 제시합니다. 헬륨을 운반 가스로 사용한 분석법과 동일한 LOI를 충족하여 분석법의 성능이 유지되었습니다. GC/MS/MS 응용 분야에서 수소 운반 가스로 전환하는 것이 합리적 선택으로 제시되면서 반도체 실험실은 헬륨 공급 문제에 관계 없이 계속해서 고품질 분석 결과를 보장할 수 있는 대안을 확보할 수 있습니다.

실험

시료

Biotage 자동 고체상 추출(SPE) 기기가 소변 시료 전처리 및 추출에 사용되었습니다. Biotage TurboVap을 사용하여 무산소 질소(OFN) 조건에서 용매를 증발시켰습니다. 각 분석 배치에는 다음이 포함되었습니다.

- 반복적으로 분석할 시료(SPE 및 가수분해를 포함한 시료와 SPE 및 가수분해를 포함하지 않은 시료)
- 시스템 공분석
- 검량선
- 품질 관리 및 품질 보증 시료

시료 전처리 단계를 표 1에 나타내었습니다. GC/MS/MS 분석에 앞서 MSTFA/NH₄I/ethanethiol(500:4:2) 유도체화 혼합물을 이용하여 시료를 유도체화했습니다(표 1).

표 1. 소변 시료 전처리를 진행합니다.

단계	설명
1단계: 시료 피펫팅	<ol style="list-style-type: none"> 1. 피펫을 이용해 0.5mL의 소변을 시험관에 넣습니다. 2. 내부 표준물질(ISTD) 작업 용액 25μL와 인산 완충액 1mL를 첨가합니다.
2단계: 자동화된 SPE 기기 설정	<ol style="list-style-type: none"> 1. 라벨이 붙은 시험관을 자동화된 SPE 기기에 넣습니다. 2. 용출 구역에 빈 라벨이 붙은 시험관을 놓습니다. 3. Agilent Bond Elut NEXUS 카트리지(품번 12103101T)를 기기에 끼웁니다. 4. 모든 용매 용기의 용량을 확인합니다. 5. 소프트웨어에서 적절한 분석법을 불러오고 시료 수를 입력합니다. 6. 다음 단계를 자동으로 실행하는 소프트웨어를 시작합니다. <ol style="list-style-type: none"> a. SPE 카트리지를 메탄올(MeOH) 2mL와 이중 증류수 2mL로 안정화합니다. b. 처리된 SPE 카트리지에 시료를 적재합니다. c. 2 × 1mL의 MeOH로 SPE 카트리지를 용출한 후 용출액을 대형 스크류 캡 튜브로 옮깁니다. d. TurboVap을 사용하여 무산소 질소(OFN) 조건에서 용출액을 증발시킵니다. 7. 완충액(pH 7.0) 1mL를 첨가하고 대형 스크류 캡 시험관으로 옮깁니다. 8. 자동 피펫을 사용하여 β-glucuronidase 25μL를 첨가합니다. 9. 시험관에 캡을 닫고 시험관을 돌려서 누출 여부를 확인합니다. 10. 최소 1시간 동안 56 ± 5°C에서 시료를 배양합니다. 11. 오븐에서 시료를 꺼내어 실온으로 식힙니다.
3단계: 추출	<ol style="list-style-type: none"> 1. NaHCO₃/K₂CO₃ 완충액(pH 9.5) 1mL를 첨가합니다. 2. 용매 분주 팁을 사용하여 methyl tert-butyl ether(MTBE) 5mL를 첨가합니다. 3. 캡을 닫고 시험관을 20분 동안 굴립니다. 4. 유기 층(위)을 라벨이 붙은 작은 시험관에 옮깁니다. 5. 40 ± 5°C의 무산소 질소(OFN) 조건에서 유기 용매를 건조될 때까지 증발시킵니다.
4단계: 유도체화	<ol style="list-style-type: none"> 1. 잔류물에 MSTFA/NH₄I/ethanethiol(500:4:2) 유도체화 혼합물 50μL를 첨가하고 몇 초 동안 불тек시킵니다. 2. 혼합물을 GC 바이알에 옮깁니다. 3. 바이알을 80°C 오븐에 30분 동안 넣어둡니다. 4. 바이알을 GC/TQ 자동 시료 주입기 트레이로 옮깁니다.

GC/TQ 분석

분석에 Agilent 7000C QQQ GC/MS(GC/TQ) 시스템을 사용했습니다. 기기 작동 파라미터는 표 2과 같습니다. H₂를 운반 가스로 사용할 때의 추가 고려 사항과 권장 방법은 [헬륨에서 수소로의 운반 가스 전환 사용자 가이드](#)에서 확인할 수 있습니다.⁵ 이는 표적 분석이었고 표적 중 어느 것도 수소 운반 가스와 소스 내 반응성을 보이지 않았으므로 표준 Agilent Inert Plus EI 소스가 사용되었습니다. 미지 물질을 분석하거나 수소와 반응하기 쉬운 화합물을 분석할 때는 [Agilent HydrolInert 소스](#) 사용을 고려해 볼 수 있습니다.

이전의 양이온 화학 이온화(PCI) GC/MS/MS 분석법은 헬륨을 운반 가스로 사용하고 5:1 분할을 채택했습니다.⁶ 그러나 수소 운반 가스를 사용하여 분석하면 감도가 2-5배 감소하는 것이 일반적입니다. 감도의 감소를 보상하기 위해 주입 분할비나 주입량을 조절할 수 있습니다. 수소 가스를 사용하여 새롭게 개발된 이 분석법에서는 충분한 감도를 유지하고 이전 분석법과의 비교를 위해 비분할 주입을 채택했습니다.

데이터 수집 및 처리에는 GC/MS 시스템용 Agilent MassHunter acquisition 소프트웨어(버전 10.2)와 Agilent MassHunter Quantitative Data Analysis 소프트웨어(버전 10.2)를 사용했습니다.

14가지 스테로이드에 대한 검량선은 각각 6개 포인트로 구성되었으며, 정제된 소변에 스테로이드를 첨가하여 준비했습니다. 검량 수준을 표 3에 나타내었습니다. 각 검량은 3회 반복하여 실행했으며, 6개 수준에서 18개의 검량 포인트를 생성했습니다. 내부 표준 검량에는 중수소 내부 표준(ISTD)이 사용되었습니다. 모든 화합물 검량에는 2차 피팅이 사용되었습니다. 검정선에는 $1/x$ 가중치가 적용되었습니다.

표 2. 법독성학 분석을 위한 GC 및 MS 조건.

파라미터	값
주입구	분할/비분할 주입구
모드	비분할
분할 배출구 퍼지 유속	2분에 53mL/분
주입량	1.5µL
주입구 온도	280°C
주입구 라이너	Agilent 4mm Ultra Inert(UI) 라이너 싱글 테이퍼, 유리솜 포함 (품목 번호 5190-2293)
컬럼	Agilent J&W Ultra 1, 12m × 0.20mm, 0.11µm (품번 19091A-005)
컬럼 온도 프로그램	120°C(0.15분 유지) 75°C/분의 속도로 170°C까지 승온(0분 유지) 40°C/분의 속도로 185°C까지 승온(0분 유지) 2.5°C/분의 속도로 199°C까지 승온(0분 유지) 10°C/분의 속도로 213°C까지 승온(0분 유지) 60°C/분의 속도로 300°C까지 승온(0분 유지) 분석 시간: 9.64분
운반 가스 및 유속	수소, 1mL/분 일정 유량
이송 라인 온도	300°C
QQQ 질량 분석기	Extractor EI 소스가 있는 Agilent 7000E GC/TQ 시스템
전자 에너지	70eV
퀀칭 가스 헬륨	2.25mL/분 참고: 수소를 운반 가스로 사용할 경우 퀀칭 가스를 차단하고 밀봉할 수 있습니다.
충돌 가스 질소	1.5mL/분
이온화원 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
모드	MRM
튜닝	Etune: atunes.eiex.tune.xml

분석법 검증

외부 편향을 평가하기 위해 WADA 외부 품질 평가 체계(EQAS)에서 추출한 매트릭스 매칭 소변 시료 18개도 분석했으며, 6가지 화합물에 대한 z-점수를 계산했습니다.

결과 및 토의

여기에 제시된 분석법에서는 수소를 운반 가스로 사용하여 이성질체의 크로마토그래피 분해능을 떨어뜨리지 않으면서 분석 시간을 10분 미만으로 단축할 수 있었습니다. 헬륨 운반 가스를 사용한 기존 GC/MS/MS 분석법의 분석 시간은 17분이었습니다.⁶ 따라서 수소 운반 가스로 전환하고 적절한 컬럼 규격을 사용하면 분석 시간을 40% 이상 단축할 수 있습니다. 그림 1은 헬륨 운반 가스(A) 또는 수소 운반 가스(B)를 사용하는 두 가지 분석법의 다중 반응 모니터링(MRM) 모드에서 총 이온 크로마토그램을 보여줍니다.

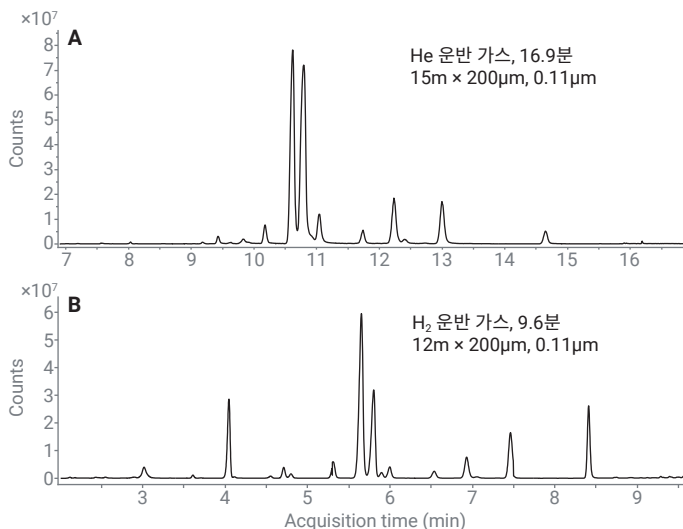


그림 1. (A) 헬륨과 (B) 수소를 사용한 MRM 크로마토그램.

수소 운반 가스를 사용한 티 소스

GC/MS에서 운반 가스를 헬륨에서 수소로 전환할 때 중요하게 고려할 사항은 스펙트럼 충실도입니다. 일부 활성 화합물은 수소와 반응하여 스펙트럼에 변화를 일으킬 수 있습니다. 이는 스캔 데이터 수집 모드의 GC/MS뿐만 아니라 MRM 모드의 GC/MS/MS에도 중요합니다. 전구체 이온이 이러한 스펙트럼 변화의 영향을 받을 수 있기 때문입니다. 이로 인해 감도 손실과 검량 문제가 발생할 수 있습니다. 이러한 문제가 발생할 경우 HydroInert 소스를 사용하여 효과적으로 해결할 수 있습니다. HydroInert 소스는 수소와 분석물 간의 상호 작용을 최소화하여 스펙트럼 무결성을 유지하고 정확하고 신뢰할 수 있는 결과를 보장합니다.⁷ 모든 화합물이 수소와 반응하는 것은 아니므로, 많은 화합물은 표준 티 소스를 사용하더라도 수소 운반 가스에 의해 스펙트럼 변화가 나타나지 않습니다. 수소를 사용하는 기존 티 소스에서 최상의 성능을 얻으려면 렌즈를 9mm 렌즈로 교체할 수도 있습니다.

본 연구에서는 표준 3mm 추출 렌즈와 Inert Plus 티 소스를 사용했을 때 표적 화합물과 수소와의 소스 내 반응이 나타나지 않았습니다. 대상 분석물과 수소 운반 가스 사이에 바람직하지 않은 화학적 상호 작용이 없음을 확인하기 위해 3mm 렌즈가 장착된 표준 Inert Plus 티 소스를 사용하여 헬륨과 수소 운반 가스로 스펙트럼을 수집했습니다. 그림 2는 중수소화 내부 표준물질 중 하나인 5b-androstanediol-d₅에 대해 헬륨이나 수소 운반 가스를 사용하여 얻은 질량 스펙트럼을 보여줍니다. 부록 그림 A1-A4에 다른 4개의 중수소화 내부 표준물질에 대한 스펙트럼이 나와 있습니다. 평가한 모든 화합물에서 스펙트럼 변화는 관찰되지 않았으며, 이는 3mm 추출 렌즈를 장착한 표준 Inert Plus 티 소스를 이 분석에 사용할 수 있음을 시사합니다.

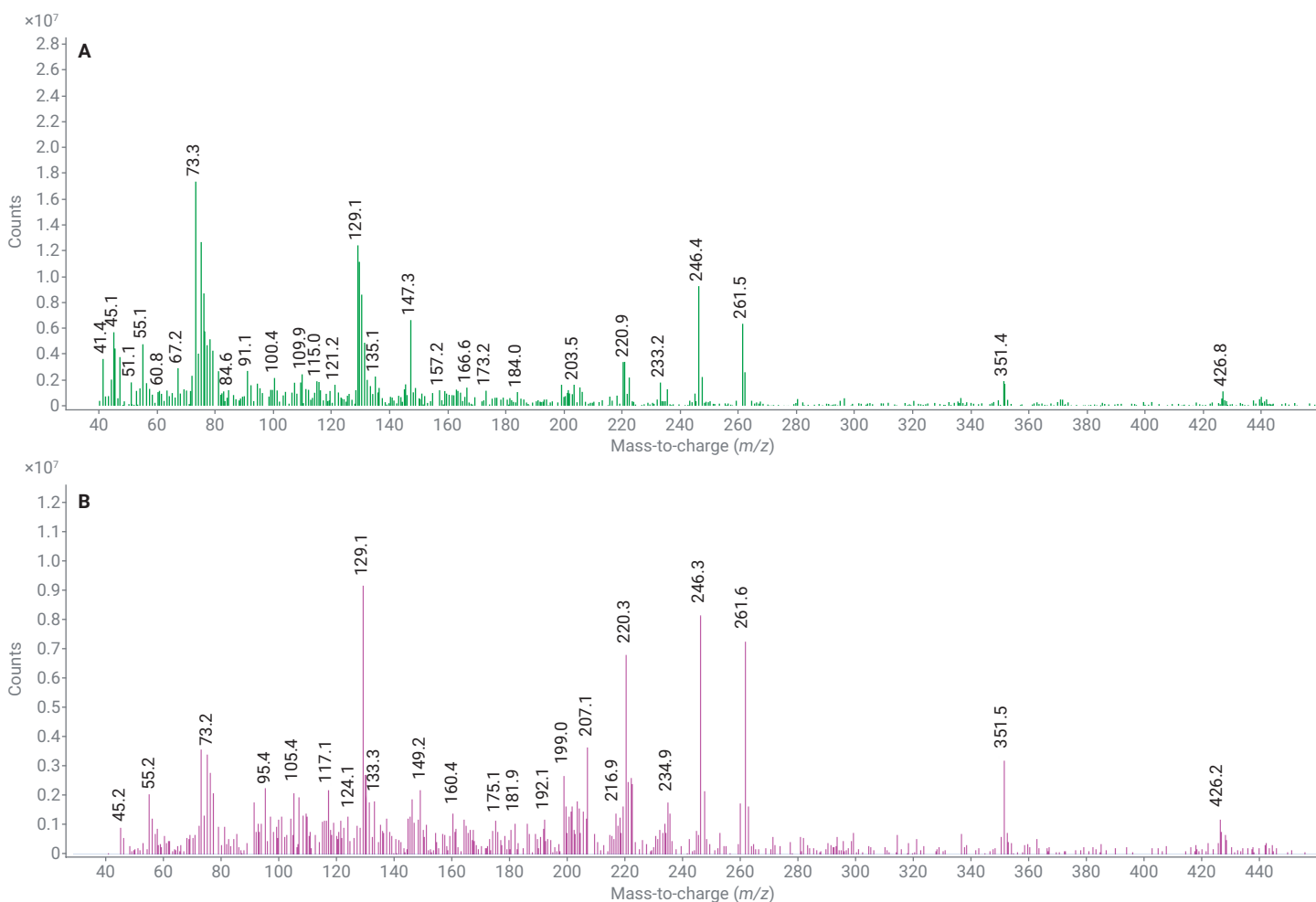


그림 2. (A) 헬륨 운반 가스 또는 (B) 수소 운반 가스와 함께 Agilent Inert Plus 티 소스를 사용하여 5b-androstanediol-d₅(중수소화된 유도체화 내부 표준물질)에 대해 얻은 티 질량 스펙트럼.

본 연구에서 분석한 유도체화 스테로이드는 수소 운반 가스와 함께 기존의 Inert Plus 소스를 사용하더라도 눈에 띄는 스펙트럼 변화를 보이지 않는 것으로 나타났습니다. 이는 유도체화 과정에 기인할 수 있는데, 유도체화 작용제가 분석물을 더 안정적인 유도체로 전환하여 수소 운반체와 상호 작용할 수 있는 작용기를 억제하기 때문입니다. 그러면 분해나 바람직하지 않은 반응이 일어날 가능성이 줄어듭니다.

소변 내 14가지 스테로이드의 정량화

표 3은 WADA에 따른 정량화가 필요한 14가지 스테로이드에 대한 검량 범위와 상관 계수를 보여줍니다. 본 연구에서 정량화한 내인성 단백동화 스테로이드는 분석이 가장 어려운 화합물에 속합니다. 그 이유는 LOI가 낮기 때문이지만, 다른 한편으로 고농도에서 이를 정확하게 정량화해야 한다는 점에서도 어려움이 따를 수 있습니다. 이 분석법을 사용했을 때 상관 계수(R^2)는 14개 표적 모두에서 0.997 이상이었습니다.

그림 3은 epitestosterone, testosterone, 6 α -OH-androstenedione, androsterone 및 etiocholanolone의 가장 낮은 검량점에서의 MRM 크로마토그램을 보여줍니다. 모든 화합물은 가장 낮은 검량점에서 신호대 잡음비가 3 이상입니다. 또한 androsterone과 etiocholanolone은 가장 낮은 검량 수준에서도 완전히 분리됩니다.

관찰된 피크 프런팅을 설명하기 위해 가장 높은 검량 수준에서 androsterone과 etiocholanolone에 대한 크로마토그램도 나타내었습니다(그림 3, 하단). 이 피크 프런팅은 9,600ng/mL에서 GC 컬럼 과부하로 인해 발생합니다. 피크 프런팅에도 불구하고 두 화합물 모두 R^2 값이 0.999로 우수한 검량이 얻어졌습니다.

표 3. WADA에 따라 정량화가 필요한 14가지 스테로이드에 사용된 머무름 시간, 검량 계수, R^2 값 및 내부 표준 물질(ISTD).

물질	머무름 시간 (분)	소변에서의 검량 (ng/mL)	결정 계수 (R^2)	사용된 ISTD
Testosterone	7.507	1, 3, 10, 30, 100, 400	0.9978	Testosterone-d ₃
Epitestosterone	6.98	1, 3, 10, 30, 100, 400	0.9978	Epitestosterone-d ₄
Androsterone	5.702	24, 72, 240, 720, 2,400, 9,600	0.9991	Androsterone-d ₄
Etiocholanolone	5.862	24, 72, 240, 720, 2,400, 9,600	0.9996	Etiocholanolone-d ₅
Dihydrotestosterone	7.103	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9993	Dihydrotestosterone-d ₃
Dehydroepiandrosterone	6.605	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9992	Dehydroepiandrosterone-d ₆
4-Androstene-3,17-dione	7.295	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9994	Dehydroepiandrosterone-d ₆
5 α -Androstane-3 α ,17 β -diol	6.021	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9984	5 α -Androstane-3 α ,17 β -diol-d ₅
5 β -Androstane-3 α ,17 β -diol	6.063	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9996	5 β -Androstane-3 α ,17 β -diol-d ₅
5 α -Androstane-3,17-dione	6.857	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9991	Dehydroepiandrosterone-d ₆
5 β -Androstane-3,17-dione	4.882	0.5, 1.5, 5, 15, 50, 200	0.9988	Dehydroepiandrosterone-d ₆
6 α -OH-Androstenedione	8.754	0.25, 0.75, 2.5, 7.5, 25, 100	0.9992	Dehydroepiandrosterone-d ₆
4OH-Androstenedione	8.848	0.25, 0.75, 2.5, 7.5, 25, 100	0.9993	Dehydroepiandrosterone-d ₆
5 β -Pregnanediol	8.591	2, 6, 20, 60, 200, 800	0.9978	5 β -Androstane-3 α ,17 β -diol-d ₅

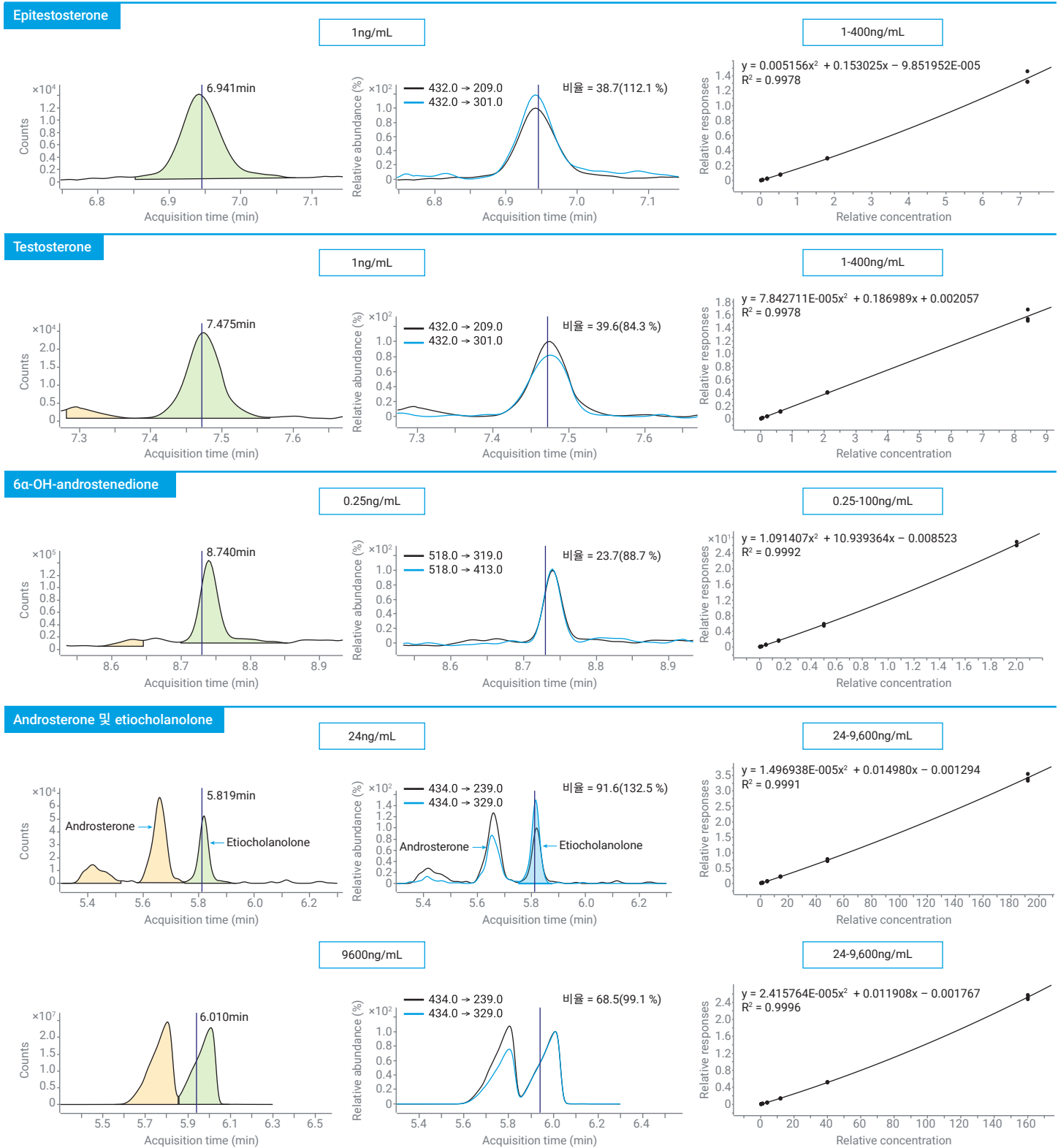


그림 3. 선택된 단백동화 스테로이드에 대한 크로마토그램(왼쪽)과 검량선(오른쪽). Epitestosterone, testosterone, 6 α -OH-androstenedione, androsterone 및 etiocholanolone에 대해 가장 낮은 검량 수준의 MRM 크로마토그램이 표시됩니다. 하단에는 가장 높은 검량 수준에서의 androsterone과 etiocholanolone의 크로마토그램이 표시되어 있습니다.

검증 연구

WADA EQAS에 따라 소변 시료는 종종 인증 실험실로 보내집니다.⁴ 이러한 목적을 위해 18개 EQAS 시료에서 6개 표적을 분석하고, 측정된 값을 보고된 일반 값과 비교하였습니다. 108개 값 모두에 대해 z-점수가 1보다 작았는데, 이는 이 분석법이 충분한 정확성을 제공한다는 것을 나타냅니다.

결론

14가지 종류의 소변 내 단백동화 스테로이드를 분석하기 위해 수소 운반 가스와 전자 충격 이온화(EI)를 적용한 GC/MS/MS 분석법을 개발했습니다. 최소 요구 성능 수준(MRPL)을 포괄하는 확장된 검량 범위에서 뛰어난 검량 결과가 얻어졌습니다. 이 분석은 10분 이내에 완료할 수 있으며, 이는 원래의 양이온 화학 이온화(PCI) GC/MS/MS 분석법보다 40% 더 빠릅니다. WADA 검증 결과, 분석한 모든 시료의 z-점수가 1 미만이어서 분석법 정확도가 허용 가능함을 나타냈습니다.

참고 자료

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. 반도핑 관리를 위한 AssayMAP Bravo 시료 전처리 플랫폼을 사용한 반자동 GC/Q-TOF 스크리닝 소개; *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-6702KO, **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 EI GC/MS 기기에서 운반 가스를 헬륨에서 수소로 전환; *Agilent Technologies 사용자 가이드*, 발행 번호 5994-2312KO, **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. Agilent Inert Plus GC/MS 시스템과 HydroInert 소스; *Agilent Technologies 기술 개요*, 발행 번호 5994-4889KO, **2022**.

부록

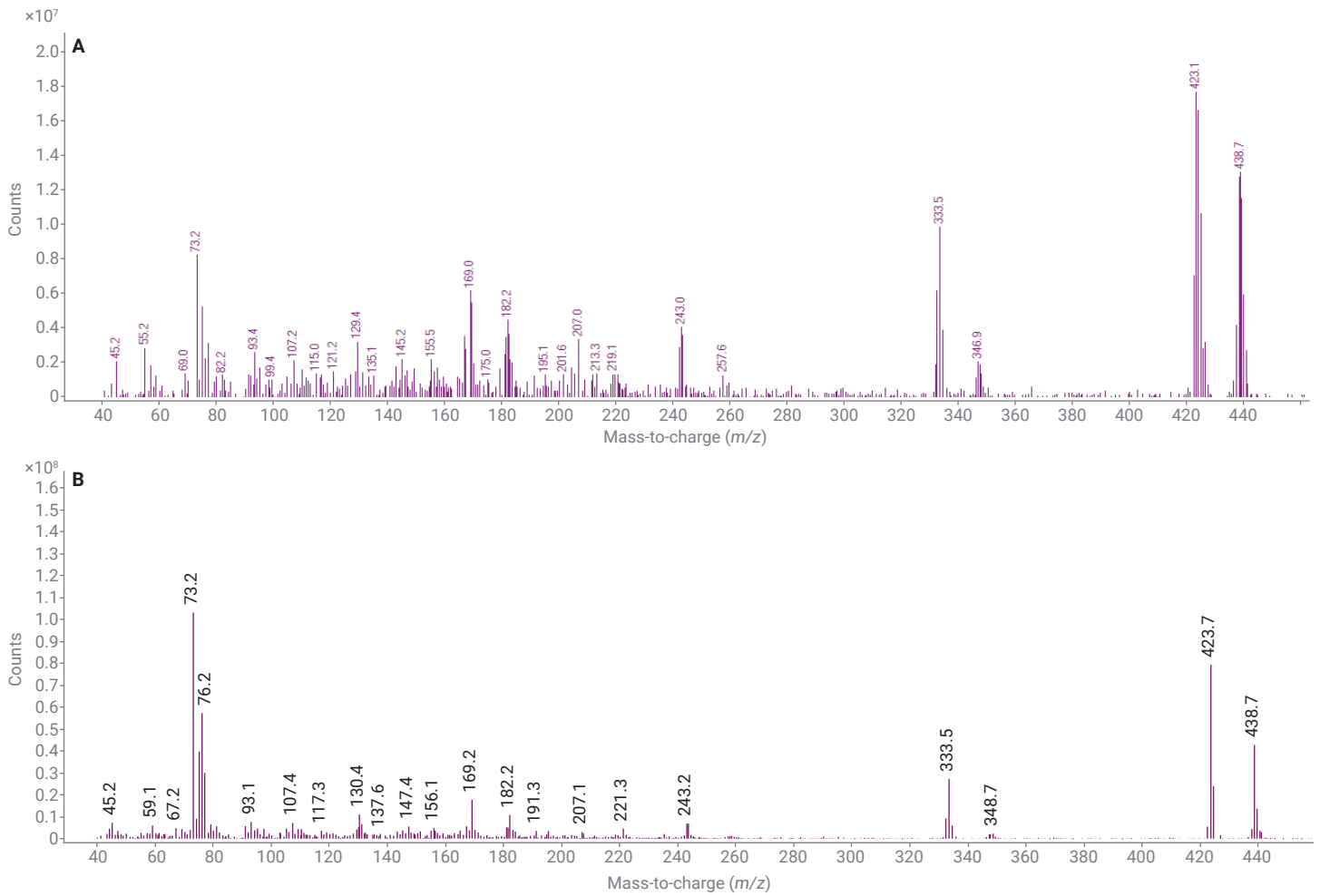


그림 A1. (A) 헬륨 운반 가스 또는 (B) 수소 운반 가스와 함께 Inert Plus EI 소스를 사용하여 androsterone- d_4 (중수소화된 유도체화 내부 표준물질)에 대해 얻은 EI 질량 스펙트럼.

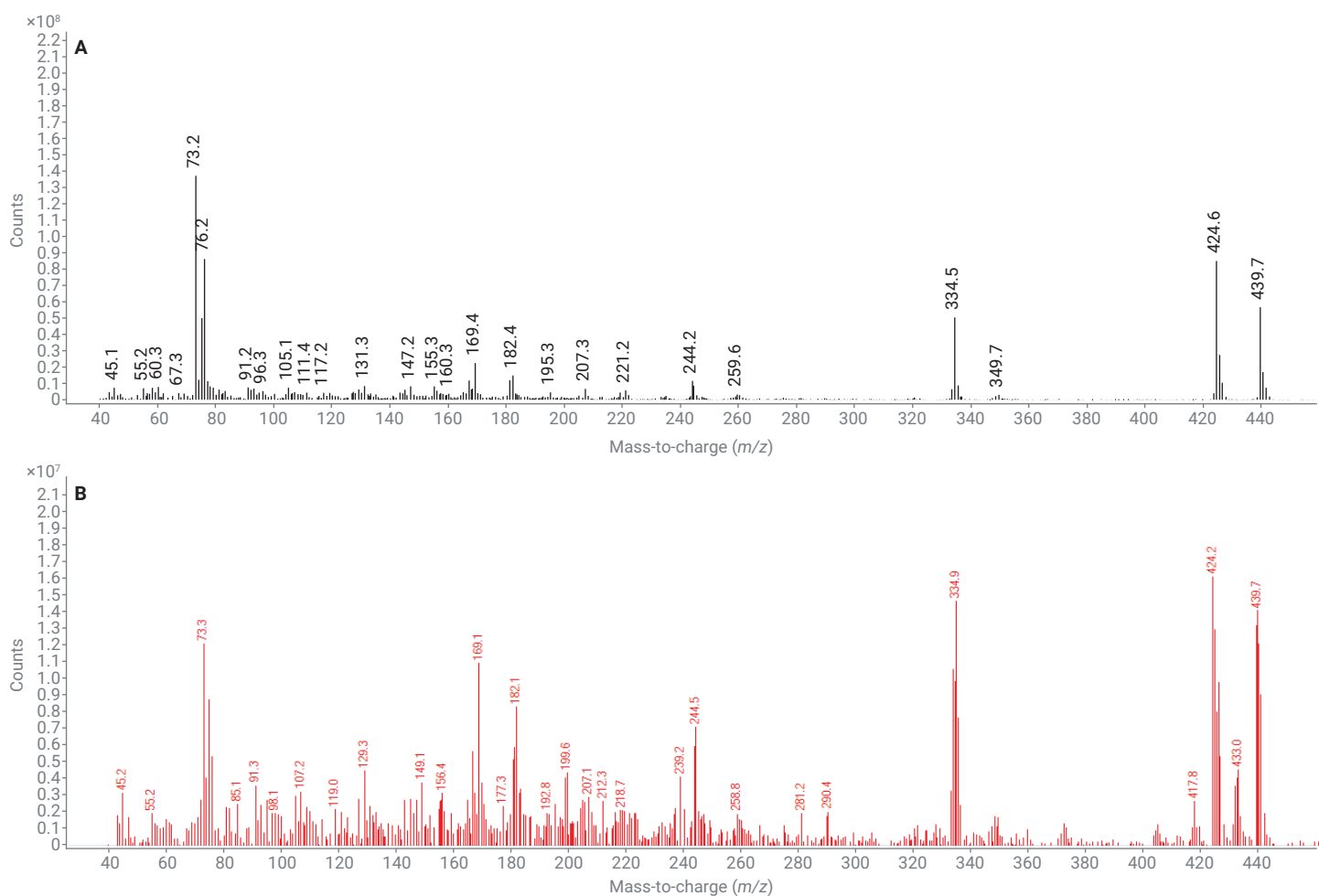


그림 A2. (A) 헬륨 운반 가스 또는 (B) 수소 운반 가스와 함께 Inert Plus EI 소스를 사용하여 etiocholanolone- d_5 (중수소화된 유도체화 내부 표준물질)에 대해 얻은 이 질량 스펙트럼.

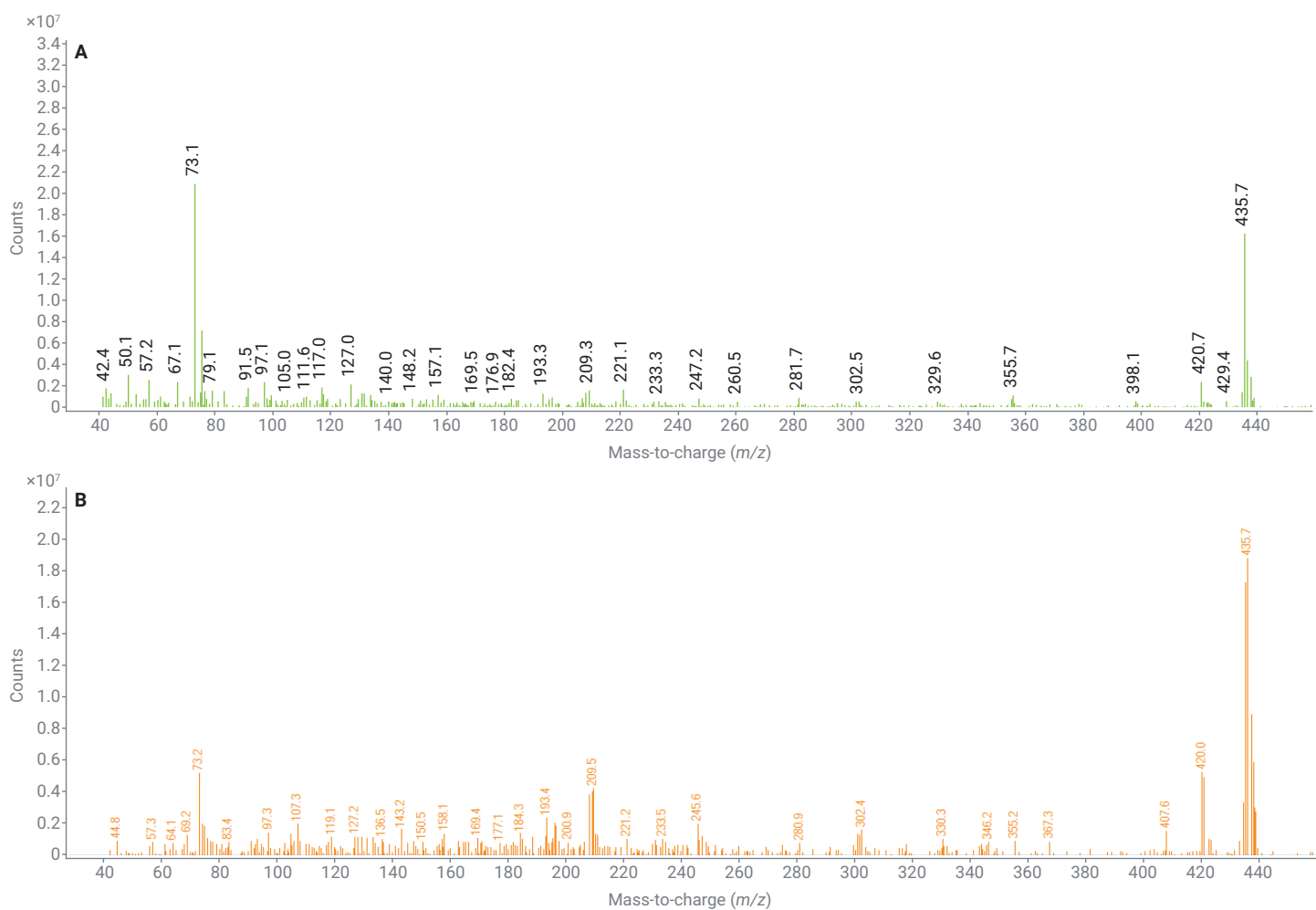


그림 A3. (A) 헬륨 운반 가스 또는 (B) 수소 운반 가스와 함께 Inert Plus 티 소스를 사용하여 testosterone- d_3 (중수소화된 유도체화 내부 표준물질)에 대해 얻은 티 질량 스펙트럼.

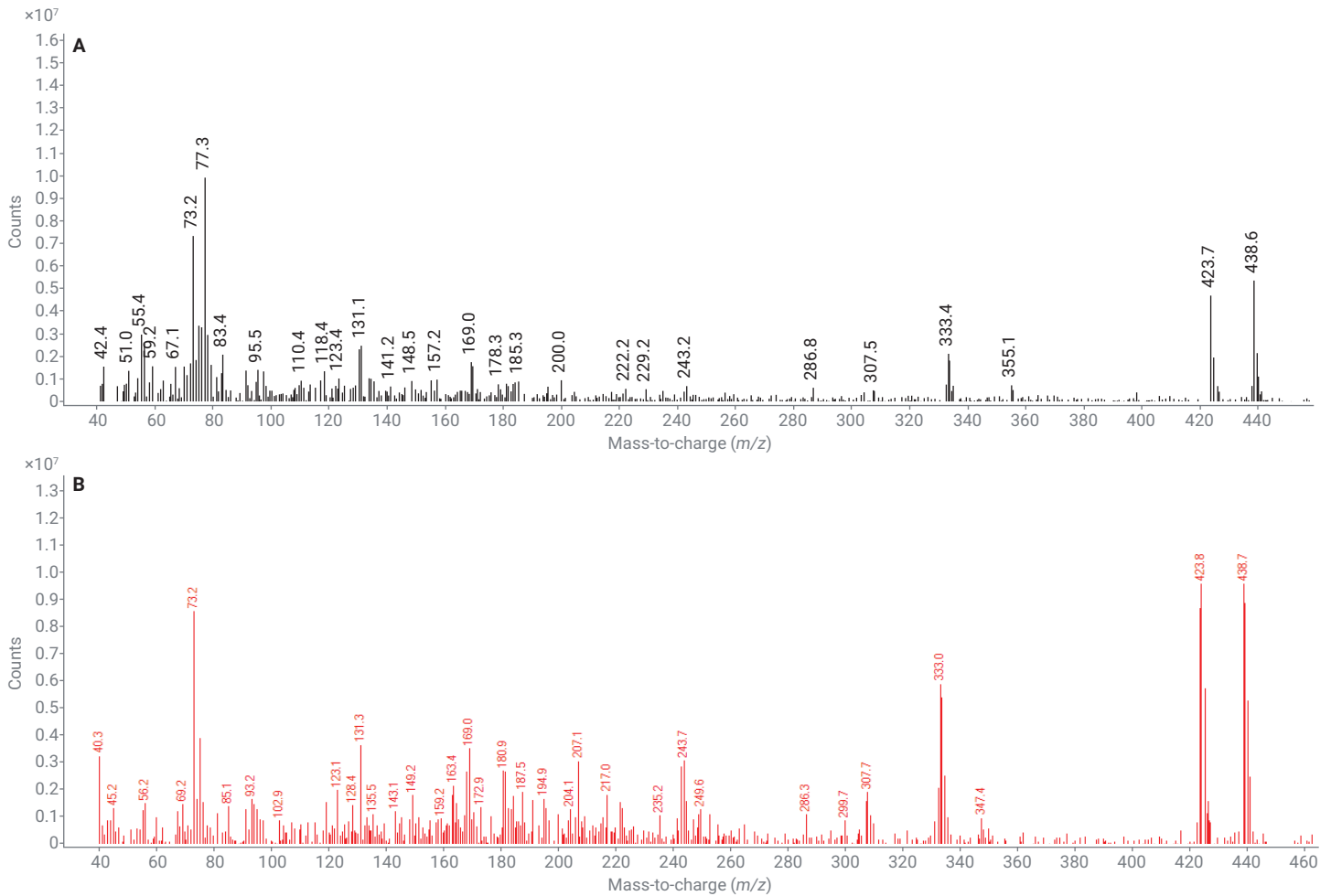


그림 A4. (A) 헬륨 운반 가스 또는 (B) 수소 운반 가스와 함께 Inert Plus 티 소스를 사용하여 DHEA-d₆(중수소화된 유도체화 내부 표준물질)에 대해 얻은 티 질량 스펙트럼.

www.agilent.com

법의학 용도.

RA45611.3218634259

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 2월 26일 한국에서 발행
5994-7970KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
DF타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com