

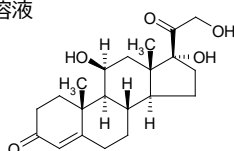
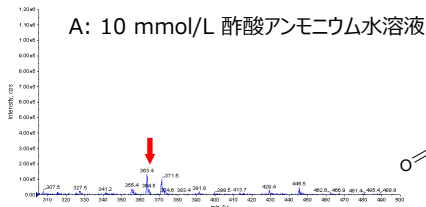
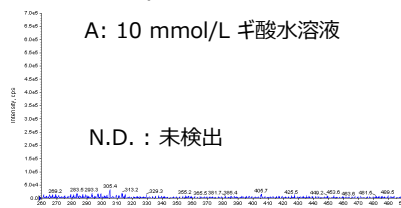
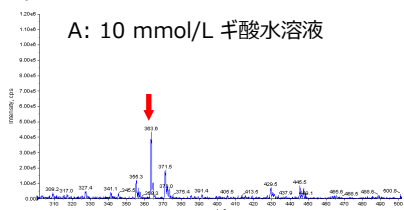
質量分析におけるアンモニア溶離液の効果 Good effect of ammonia eluent on mass spectrometry

シリカを基材にしている一般的なカラムは、アルカリ性溶離液は使用できませんが、化学的耐久性に優れた L-column3 は pH 12 までのアルカリ性溶離液が使用可能です。特にアンモニア溶離液を用いたESIによるLC-MS/MS分析において、多くの物質の検出感度が向上します。ここでは、アンモニア、酢酸アンモニウム及びギ酸(一部レファレンスとして超純水)を添加した水系溶離液において、試料を直接検出器に導入する、フローインジェクション/質量分析法(FIA/MS)により、ポジティブモード及びネガティブモードにおける検出感度をイオン強度に基づき比較しました。

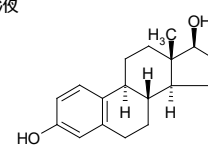
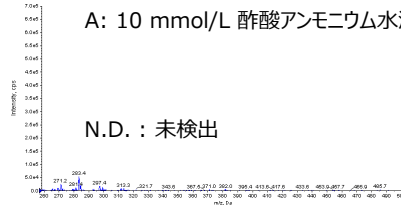
Key words : FIA/MS
Column : USP category: -

[Analytical conditions]

Eluent : A: Aqueous eluent; B: CH₃CN
A/B (50/50)
Flow rate : 0.1 mL/min
Detection : ESI-MS/MS
Injection volume : 1 μL (1 mg/L)
System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)



Hydrocortisone
ヒドロコルチゾン



17β-Estradiol
17β-エストラジオール

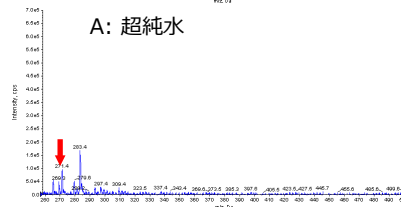
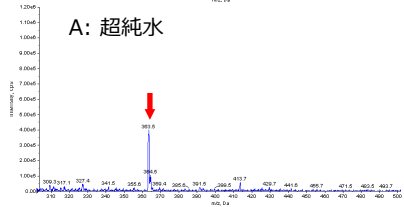
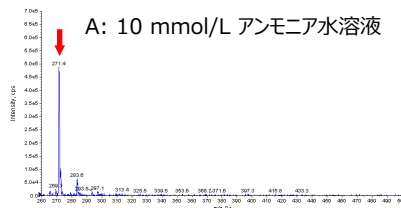
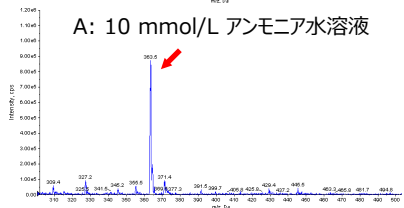


Fig.1 ヒドロコルチゾンのFIA/MS ポジティブモード
Eluent: A: Aqueous eluent; B: CH₃CN

Fig.2 17β-エストラジオールのFIA/MS ネガティブモード
Eluent: A: Aqueous eluent; B: CH₃CN

■ 各水系溶離液と検出感度の影響

酸性物質(カルボン酸など)、中性物質(フェノール、ステロイドなど)、塩基性物質(医薬品など)の、各水系溶離液におけるイオン強度を測定しました。

(■: ギ酸のイオン強度の1.5倍以上 ■: ギ酸のイオン強度の0.5倍以下)

×10⁵

	ポジティブモード			ネガティブモード		
	10 mmol/L					
	ギ酸	酢酸 アンモニウム	アンモニア	ギ酸	酢酸 アンモニウム	アンモニア
Betamethasone ベタメタゾン	4.6	2.5	9.0	4.3	1.9	1.6
Bromovalerylurea ブロモバレリル尿酸	15.0	2.4	6.0	N.D.	N.D.	N.D.
Dexamethasone デキサメタゾン	2.6	1.3	4.2	1.5	1.0	1.3
Prednisolone プレドニゾン	3.3	1.3	5.5	1.4	0.8	1.3
α-Tocopherol α-トコフェロール	1.1	1.0	2.5	N.D.	0.1	0.5
β-Tocopherol β-トコフェロール	N.D.	N.D.	2.2	N.D.	0.1	0.8
γ-Tocopherol γ-トコフェロール	N.D.	N.D.	1.2	N.D.	0.1	0.8
δ-Tocopherol δ-トコフェロール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.8
Hydrocortisone ヒドロコルチゾン	4.9	1.6	9.0	3.4	1.3	1.9
Terfenadine テルフェナジン	7.0	3.4	6.5	N.D.	N.D.	N.D.
Losartan potassium ロサルタンカリウム	15.8	3.0	20.5	3.2	1.6	4.8
Testosterone テストステロン	19.0	5.5	20.0	N.D.	N.D.	N.D.
Testosterone propionate プロピオン酸テストステロン	12.0	6.4	13.0	N.D.	N.D.	N.D.
Ethinylestradiol エチニルエストラジオール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.1	3.4
β-Estradiol β-エストラジオール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.5
Norethisterone ノルエチステロン	22.0	5.5	26.0	N.D.	N.D.	N.D.
Estrone エストロン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.9	6.5
Indomethacin インドメタシン	1.6	0.2	1.0	0.9	0.4	0.8
Ketoprofen ケトプロフェン	9.0	2.9	13.5	N.D.	0.6	0.5
Naproxen ナプロキセン	N.D.	N.D.	N.D.	0.6	0.8	1.3
Benzylamine ベンジダミン	19.0	9.4	18.0	N.D.	N.D.	N.D.
Roxithromycin ロキシシロマイシン	30.5	7.5	20.0	29.0	8.5	19.0
Erythromycin エリスロマイシン	4.9	4.1	8.0	2.0	0.6	2.6
Azithromycin アジスロマイシン	7.3	1.1	2.2	3.2	0.7	2.9
Nicotinamide ニコチンアミド	8.0	3.0	11.0	N.D.	N.D.	N.D.
Nicotinic acid ニコチン酸	13.0	4.0	13.0	0.2	N.D.	N.D.
Oxatomid オキサトミド	21.0	17.5	23.0	N.D.	0.6	0.3
Pyridoxine ピリドキシン	7.0	4.7	9.8	N.D.	N.D.	N.D.
Ketotifen ケトチフェン	15.0	6.0	16.0	N.D.	N.D.	N.D.
Cyproheptadine シプロヘプタジン	20.0	12.0	20.0	N.D.	N.D.	N.D.
Clemastine クレマスチン	14.0	8.0	14.0	N.D.	N.D.	N.D.
Ibudilast イブジラスト	11.0	1.7	12.0	N.D.	N.D.	N.D.
Daidzein ダイゼイン	14.0	10.0	23.0	5.5	3.8	5.5
Gingerol ギンゲロール	4.0	1.5	5.3	0.2	0.2	0.5
Glycytin グリシチン	9.0	4.2	15.0	1.0	0.2	0.4
Daidzin ダイジン	9.5	5.2	16.5	1.4	0.2	0.2
Hesperetin ヘスペレチン	3.7	0.5	1.3	1.8	0.6	1.4
Genistein ゲニステイン	11.0	5.5	18.0	5.5	3.8	6.3

OGT 68th MS(2020)

■ 各水系溶離液と検出感度の影響

×10⁵

	ポジティブモード			ネガティブモード		
	10 mmol/L					
	ギ酸	酢酸 アンモニウム	アンモニア	ギ酸	酢酸 アンモニウム	アンモニア
Pyridoxamine ピリドキサミン	2.5	1.4	5.7	0.9	0.3	1.0
Pyridoxanol ピリドキサノール	9.0	8.5	19.0	2.0	0.4	1.2
Diazepam ジアゼパム	37.0	16.0	26.0	N.D.	0.4	0.6
N-Acetylprocainamide N-アセチルプロカインアミド	38.0	26.0	62.0	0.6	1.5	1.3
Ethosuximide エトスクシミド	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.9	2.6
Amiodarone アミオダロン	19.0	11.0	22.0	0.4	0.3	0.2
Lidocain リドカイン	28.0	16.0	32.0	N.D.	N.D.	0.5
Haroperidol ハロペリドール	16.0	9.7	23.0	N.D.	N.D.	0.1
Digitoxin ジギトキシン	1.0	0.4	0.5	0.8	0.3	0.6
Theophylline テオフィリン	5.5	1.0	5.5	4.5	2.2	2.2
Desmetyldiazepam デスメチルジアゼパム	18.0	6.0	23.0	0.6	1.8	1.2
Quinidine キニジン	20.0	13.0	30.0	N.D.	N.D.	N.D.
Acetoaminophene アセトアミノフェン	8.0	2.4	17.5	N.D.	1.1	1.0
Aminophylline アミノフィリン	6.5	0.8	6.3	6.0	3.2	2.3
Digoxin ジゴキシン	1.0	0.8	2.1	0.9	0.5	0.7
Cyclosporin シクロスポリン	3.6	1.8	3.6	0.4	0.1	0.4
Imatinib イマチニブ	12.0	4.7	23.0	0.4	0.9	0.8
Mycophenolic acid ミコフェノール酸	12.0	N.D.	24.0	3.1	1.5	3.4
Rapamycin ラバマイシン	5.1	3.2	8.5	2.2	1.0	2.5
Methotrexate メトトレキサート	3.8	1.0	27.0	0.9	0.2	1.3
Primidone プリミドン	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.3	N.D.
Carbamazepine カルバマゼピン	16.5	8.0	29.0	N.D.	N.D.	N.D.
Zonisamide ゾニサミド	1.0	N.D.	0.8	0.8	0.5	0.8
Disopyramide ジソピラミド	26.0	15.0	21.0	N.D.	N.D.	N.D.
Acetazolamide アセタゾラミド	N.D.	N.D.	0.8	1.2	0.7	1.1
Procainamide プロカインアミド	28.0	18.0	32.0	N.D.	N.D.	N.D.
Phenobarbital フェノバルビタール	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Valproate バルプロ酸	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.4	0.5
Phenytoin フェニトイン	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	1.4	0.5
Voriconazole ボリコナゾール	20.0	3.2	14.5	N.D.	N.D.	N.D.
Propafenone プロパフェノン	39.0	17.0	30.0	N.D.	N.D.	N.D.

ギ酸のイオン強度の1.5倍以上の物質	-	0	25	-	16	20
ギ酸のイオン強度の0.5倍以下の物質	-	32	4	-	18	4
未検出の物質	13	15	10	35	24	21

ポジティブモード

アンモニア溶離液の条件において、ギ酸溶離液に比較し、多くの物質のイオン強度が向上しました。多くのフェノール類がギ酸溶離液よりも1.5倍以上の検出感度が得られました。

これは、プロトン供与体であるアンモニアがフェノール類の酸素原子が持つ非共有電子対と作用し、プロトン付加体を形成しやすくなったと考えられます。同様にヒドロキシルジンのようなカルボニル基を有する物質でも検出感度の向上が見られました。

ネガティブモード

アンモニア溶離液の条件において、最も多くの物質を検出することができました。特にトコフェロールやエストラジオールなどの低極性のフェノール性のヒドロキシ基を有する物質は、アンモニア溶離液による検出感度向上の効果がみられました。

OGT 68th MS(2020)

■ アンモニア溶離液の濃度と検出感度の影響

酸性物質(カルボン酸など)、中性物質(フェノール、ステロイドなど)、塩基性物質(医薬品など)の、各水系溶離液におけるイオン強度を測定しました(全75物質)。

(■: 5 mmol/Lのイオン強度の1.5倍以上 ■: 5 mmol/Lのイオン強度の0.5倍以下)

×10⁵

	ポジティブモード			ネガティブモード		
	アンモニア (mmol/L)					
	10	20	200	10	20	200
Betamethasone ベタメタゾン	9.0	3.2	2.8	1.6	1.3	2.0
Bromovalerylurea ブロモバレリル尿酸	6.0	7.3	4.2	N.D.		
Dexamethasone デキサメタゾン	4.2	4.1	2.5	1.3	1.7	2.3
Prednisolone プレドニゾン	5.5			1.3	2.6	2.4
α-Tocopherol α-トコフェロール	2.5	4.0	5.2	0.5	0.6	0.6
β-Tocopherol β-トコフェロール	2.2	3.0	2.6	0.8	1.0	1.2
γ-Tocopherol γ-トコフェロール	1.2	2.9	2.7	0.8	1.1	0.9
δ-Tocopherol δ-トコフェロール	N.D.			0.8	0.8	0.9
Hydrocortisone ヒドロコルチゾン	9.0	6.0	4.0	1.9	2.4	2.9
Terfenadine テルフェナジン	6.5	1.2	2.0	N.D.		
Losartan potassium ロサルタンカリウム	20.5	12.5	10.5	4.8	2.6	4.3
Testosterone テストステロン	20.0	15.0	9.5	N.D.		
Testosterone propionate プロピオン酸テストステロン	13.0	2.0	2.2	N.D.		
Ethinylestradiol エチニルエストラジオール	N.D.			3.4	4.5	5.2
β-Estradiol β-エストラジオール	N.D.			4.5	4.2	4.9
Norethisterone ノルエチステロン	26.0	8.5	5.5	N.D.		
Estrone エストロン	N.D.			6.5	4.2	6.5
Indomethacin インドメタシン	1.0	1.9	1.2	0.8		
Ketoprofen ケトプロフェン	13.5	15.5	11.0	0.5		
Naproxen ナプロキセン	N.D.			1.3	3.0	2.2
Benzylamine ベンジダミン	18.0	24.0	22.0	N.D.		
Roxithromycin ロキシシロマイシン	20.0	25.0	15.0	19.0	22.0	23.0
Erythromycin エリスロマイシン	8.0	11.0	11.0	2.6	6.0	4.6
Azithromycin アジシロマイシン	2.2	6.0	6.5	2.9	4.8	3.8
Nicotinamide ニコチンアミド	11.0	13.0	13.0	N.D.		
Nicotinic acid ニコチン酸	13.0	15.0	15.0	N.D.		
Oxatomid オキサトミド	23.0	32.0	32.0	0.3	0.8	0.8
Pyridoxine ピリドキシン	9.8	15.0	12.0	N.D.		
Ketotifen ケトチフェン	16.0	22.0	18.0	N.D.		
Cyproheptadine シプロヘプタジン	20.0	41.0	33.0	N.D.		
Clemastine クレマスチン	14.0	21.0	20.0	N.D.		
Ibudilast イブジラスト	12.0	23.0	13.0	N.D.		
Daidzein ダイゼイン	23.0	6.5	7.0	5.5	5.0	6.0
Gingerol ギンゲロール	5.3			0.5	0.8	1.1
Glycytin グリシチン	15.0	16.0	17.0	0.4	0.5	0.4
Daidzin ダイジン	16.5	12.0	12.0	0.2	0.5	0.6
Hesperetin ヘスペレチン	1.3	4.1	1.4	1.4	3.2	3.4
Genistein ゲニステイン	18.0	15.0	10.0	6.3	16.0	14.0

OGT 68th MS(2020)

■ アンモニア溶離液の濃度と検出感度の影響

×10⁵

	ポジティブモード			ネガティブモード		
	アンモニア (mmol/L)					
	10	20	200	10	20	200
Pyridoxamine ピリドキサミン	5.7			1.0	2.3	1.7
Pyridoxanol ピリドキサノール	19.0	24.0	20.0	1.2	1.9	1.4
Diazepam ジアゼパム	26.0	28.0	22.0	0.6	0.3	0.6
N-Acetylprocainamide N-アセチルプロカインアミド	62.0	80.0	72.0	1.3	3.2	3.2
Ethosuximide エトスクシミド	N.D.			2.6	3.2	3.2
Amiodarone アミオダロン	22.0	21.0	21.0	0.2	0.4	0.6
Lidocain リドカイン	32.0	31.0	29.0	0.5	1.5	1.2
Haroperidol ハロペリドール	23.0	5.5	13.0	0.1	0.2	0.2
Digitoxin ジギトキシン	0.5			0.6	0.9	0.9
Theophylline テオフィリン	5.5	3.4	2.0	2.2	3.2	3.2
Desmetyldiazepam デスメチルジアゼパム	23.0	10.0	9.5	1.2	0.6	0.7
Quinidine キニジン	30.0	26.0	24.0	N.D.	0.1	
Acetoaminophene アセトアミノフェン	17.5	9.5	8.0	1.0	2.3	2.2
Aminophylline アミノフィリン	6.3	4.8	2.8	2.3	4.2	4.4
Digoxin ジゴキシン	2.1	1.0	1.0	0.7	0.7	0.8
Cyclosporin シクロスポリン	3.6			0.4		
Imatinib イマチニブ	23.0	26.0	21.0	0.8	1.4	1.0
Mycophenolic acid ミコフェノール酸	24.0	14.5	11.0	3.4	6.0	3.0
Rapamycin ラパマイシン	8.5	0.2	1.0	2.5	0.9	1.5
Methotrexate メトトレキサート	27.0	19.0	13.5	1.3	1.6	0.9
Carbamazepine カルバマゼピン	29.0	30.0	20.0	N.D.		
Zonisamide ゴニサミド	0.8	1.0	0.7	0.8		
Disopyramide ジソピラミド	21.0	42.0	42.0	0.0		
Acetazolamide アセタゾラミド	0.8	1.7	0.8	1.1	1.7	1.1
Procainamide プロカインアミド	32.0	52.0	53.0	N.D.		
Phenobarbital フェンバルビタール	N.D.			N.D.	0.5	0.3
Valproate バルプロ酸	N.D.			0.5	1.2	0.6
Phenytoin フェニトイン	N.D.			0.5	1.6	0.8
Voriconazole ボリコナゾール	14.5	13.5	18.0	N.D.		

5 mmol/Lのイオン強度の1.5倍以上の物質	-	12	6	-	24	20
5 mmol/Lのイオン強度の0.5倍以下の物質	-	9	15	-	3	0
未検出の物質	9			20		

ポジティブモード

アンモニア溶離液の濃度を高くすると、検出感度が低下する物質がありました。これはイオン化飽和によるものと考えられます。

ネガティブモード

アンモニア溶離液の濃度を高くすると、検出感度が向上する物質がありました。



アンモニア溶離液を用いてカラムを通して分析する場合は、耐アルカリ性の高いカラムをご使用ください。今回使用したアンモニア溶離液のpHは10~11となります。塩基性物質の保持時間は長く、カルボン酸などの酸性物質の保持時間は短くなります。

OGT 68th MS(2020)