

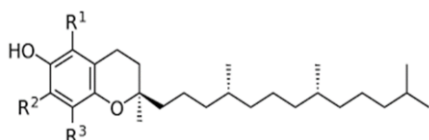
トコフェロール Tocopherols

脂溶性ビタミンのトコフェロールは極性が低く、ESIにおける検出感度が低くなります。しかしながら、本機構のアプリケーション([L3047](#))では、アンモニア溶離液を用いたFIA-MSにおいてトコフェロールを検出することができました。今回はトコフェロールのLC-MS/MS分析において、溶離液の種類を検討し、検出感度を比較しました。また低極性成分の質量分析で用いられるAPCIによるイオン化とESIとを比較しました。

Key words : 脂溶性ビタミン ビタミンE トコフェロール LC-MS/MS
Column : USP category: L1

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (ODS, 2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. $\times$ 50 mm L.; Cat. No. 813140
Eluent : A: Aqueous eluent; B: 2-Propanol/CH₃CN (50/50)
A/B (20/80)
Flow rate : 0.4 mL/min
Temperature : 40 $^{\circ}$ C
Detection : ESI-MS/MS (-)
Injection volume : 1 μ L
System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)
Sample : Tocopherols, Vitamin E
トコフェロール 4 種, ビタミンE



		R ¹	R ²	m/z
α -トコフェロール	α -Tocopherol	CH ₃	CH ₃	429.3/163.0
β -トコフェロール	β -Tocopherol	CH ₃	H	415.5/149.1
γ -トコフェロール	γ -Tocopherol	H	CH ₃	415.5/149.1
δ -トコフェロール	δ -Tocopherol	H	H	401.5/135.1

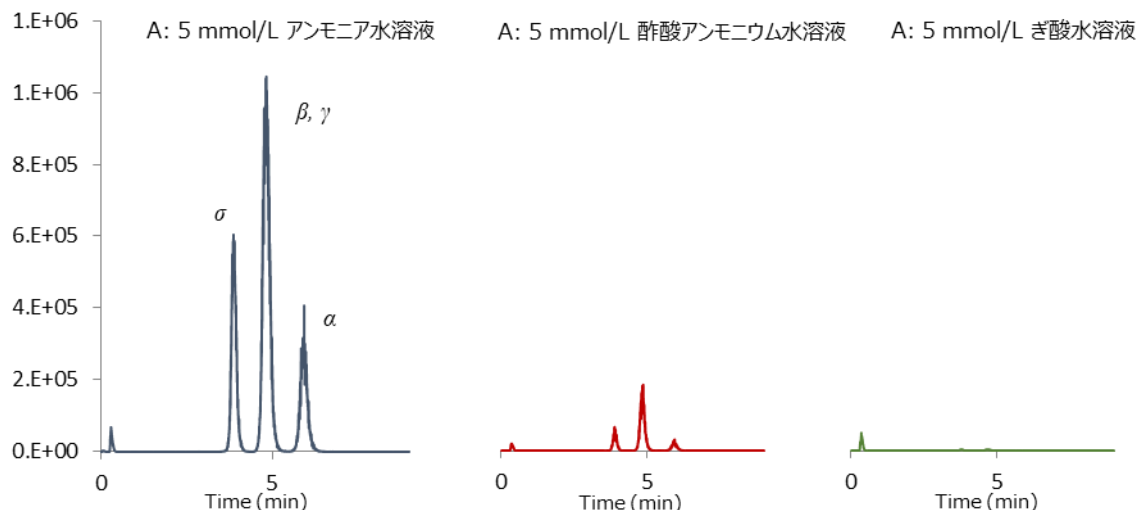


Fig.1 溶離液の種類と検出感度の比較

脂溶性ビタミンのトコフェロールは極性が低く、通常のESIにおける質量分析では検出感度が低くなります。しかしアンモニア溶離液を用いることで、検出感度が飛躍的に向上しました。これはアンモニアを添加することで溶離液のpHが上がり、フェノール基が解離したことでイオン化が促進されたと考えられます。

次にESIとAPCIとで検出感度を比較しました。APCIではギ酸を用いたポジティブモードでESIではアンモニアを用いたネガティブモードで分析に供しました。

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (ODS, 2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. $\times$ 50 mm L.; Cat. No. 813140
 Eluent : ESI A: 0.1% NH₃ in H₂O ; B: 2-Propanol/CH₃CN (50/50)
 APCI A: 0.1% HCOOH in H₂O ; B: 2-Propanol/CH₃OH (50/50)
 A/B (20/80) $\rightarrow$ (1/99) 0 min $\rightarrow$ 5 min
 Flow rate : 0.4 mL/min
 Temperature : 40 $^{\circ}$ C
 Detection : ESI-MS/MS(-) or APCI-MS/MS(+)
 Injection volume : 1 μ L
 System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)
 Sample : 1 mg/L in CH₃CN (each)

	R ¹	R ²	ESI-MS/MS(-) m/z	APCI-MS/MS(+) m/z
α -トコフェロール	CH ₃	CH ₃	429.3/163.0	431.2/165.2
β -トコフェロール	CH ₃	H	415.5/149.1	417.2/151.1
γ -トコフェロール	H	CH ₃	415.5/149.1	417.2/151.1
σ -トコフェロール	H	H	401.5/135.1	403.2/129.2

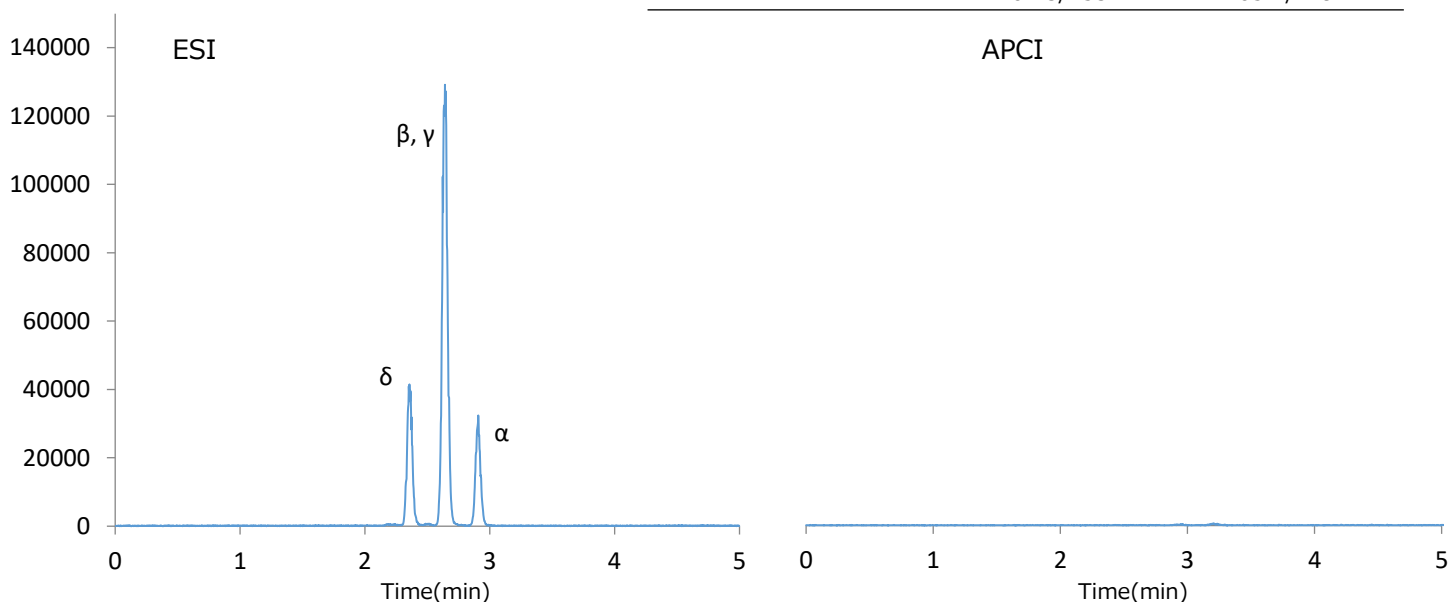


Fig.2 ESI及びAPCIにおける検出感度の比較

アンモニア溶離液を用いることで低極性のトコフェロールをESIでも高感度で分析することができました。トコフェロールではアンモニア濃度が濃い方が検出感度が高くなりました。また本データ取得に伴いアンモニア溶離液を長期間使用しましたが、耐久性の高いL-column3はカラムを交換することなく使用できました。

※アンモニア溶離液はガラス容器や金属配管などに対し腐食性があります。また、空気中のCO₂と反応しpHが変化することも想定されます。ご使用の際は1~2日以内での交換をお勧めします。また長期間使用しない場合は水/メタノールや水/アセトニトリルなどの溶媒でシステム内のアンモニア溶液を置換してください。

OGT 68th MS(2020)