

質量分析法による混合物の測定 分離装置の違いによる検出化合物の比較

キーワード：高速液体クロマトグラフ、キャピラリー電気泳動、質量分析

はじめに

天然物や食品など、混合物に含まれる化合物を知ることは、研究・開発・品質管理における評価基準を決定する際に役立ちます。近年、質量分析装置（MS）を用いて化合物を網羅的に解析する手法が考案・実用化され、利用分野が拡大しています。

質量分析は通常、液体クロマトグラム（LC）やガスクロマトグラムと組み合わせて分析されます。近年では、イオン性化合物の分離に有効なキャピラリー電気泳動装置（CE）など、様々な分離手法とも組み合わせられています。本テクニカルシートでは、同一サンプルを LC/MS 法および CE/MS 法で分析した例について紹介します。

サンプル

市販漢方薬 1.0 g を秤量し、5.0 mL の蒸留水に懸濁し、60°C で 1 時間加温しました。放冷後、遠心分離して得られた上清を 10 倍希釈し、測定サンプルとしました。

測定条件

LC/MS 分析では、1 μL のサンプルを逆相カラムにより分離しました。0.1%ギ酸水溶液とアセトニトリルをグラジエント移動相として使用しました。溶出化合物はエレクトロスプレーイオン化（ESI）によりイオン化し、ネガティブイオンモードで測定しました。

CE/MS 分析では、フューズドシリカキャピラリーに 50 mbar、10 秒間の加圧によりサンプルを注入し、分析を行いました（約 10 nL に換算）。泳動液には 30 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 pH 10.0 を用い、30 kV の電圧で 30 mbar の加圧を行いながら分離しました。溶出化合物はシース液（50%メタノール）と共にスプレヤーに導入し、ESI によりイオン化した後、ネガティブイオンモードで測定しました（図 1）。

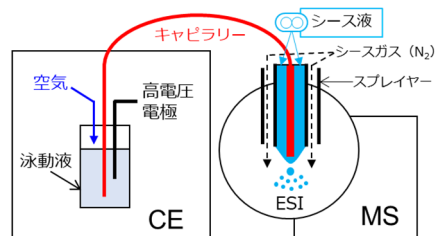


図 1 CE-MS の装置概要

測定結果

解析ソフトを用いて化合物ピークの探索を行いました（図 2）。LC/MS 法では 125 個のピークが、CE/MS 法では 118 個のピークが検出され、LC/MS 法でも CE/MS 法でも検出された共通のピークは 28 個でした。LC/MS 法では主に脂肪酸、ビタミン類、ポリフェノール類と推定される化合物が検出されました。CE/MS 法では主に、核酸化合物、糖リン酸、有機酸、補酵素類が検出されました。また、ペプチドやアミノ酸は LC/MS 法、CE/MS 法の双方で検出されました。このように、分離装置により得意とする対象化合物が異なります。

MS 測定において検出成分が多量に重なると、イオン化の阻害や意図しないイオン付加分子の生成により、測定精度が低下します。例えば、図 2 中 A（カラム素通り画分）や B（泳動溶液中で電荷を持たない成分）の範囲では、十分な分離がされておらず、複数の成分が重なっています。これらの範囲では化合物推定の確からしさが担保できません。そのため、この範囲の確度の高い化合物推定は、装置や条件を変更し、良く分離してから行う必要があります。

装置は受託研究などご利用可能ですので、ご相談ください。

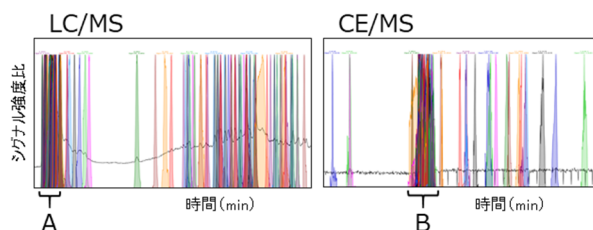


図 2 測定ソフトウェアによる溶出化合物の探索結果

公益財団法人 JKA 2020年度
機械設備拡充補助事業

