

LC/MS用オンライン脱塩アクセサリ

ソルナックチューブ ソルナックカートリッジ

LC/MSの悩みを一発解決！

★ 不揮発性溶離液でのLC/MS測定

リン酸塩緩衝液
イオン対試薬

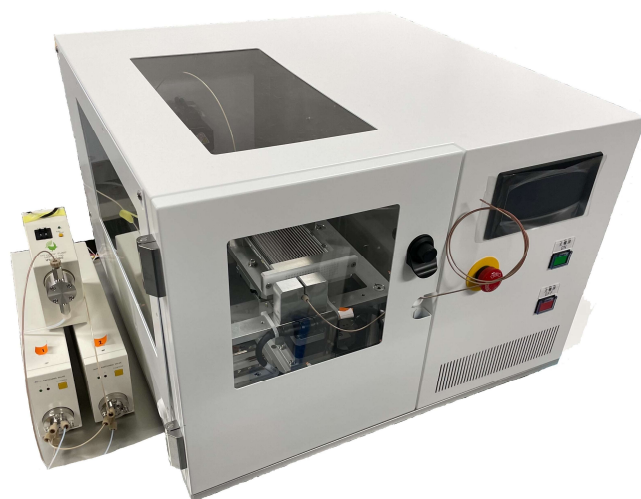
★ 酸、塩基によるイオン化抑制

トリフルオロ酢酸
トリエチルアミン
イオン対試薬

★ Na, Kなどの付加イオン



- ◎ 流量 0.2 ~ 1.0 mL/min 対応
 - ◎ 簡単操作 (UV検出器とMSの間に繋ぐだけ)
- 【特許第6609844号】



ソルナックチューブ
自動切換え装置

【特許第7058402号】

製造元 エムエス・ソリューションズ株式会社
E-mail : info@sitsuryobunsekiya.com
URL : <https://www.sitsuryobunsekiya.com/>
株式会社プレッパーズ
E-mail : info@preppers.co.jp
URL : <https://www.preppers.co.jp/>

販売元 アルテア技研株式会社



〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-23-3
E-mail : support.sales@altair.co.jp
URL : <https://www.altair.co.jp/>
TEL : 045-473-6211 FAX : 045-473-2884

..... 装置構成例



ソルナックカートリッジ



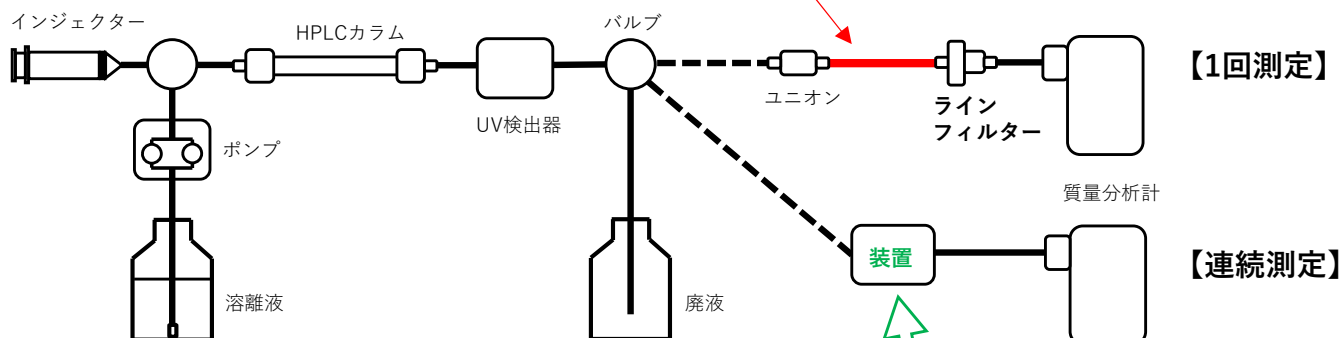
ソルナックチューブ

内径1.6mm

内径1mm

フィッティングは別売
(内径1.6mmは、専用フィッティングが必要です)

【特許第6609844号】



ソルナックチューブ用ラック
(100本, 20本×5段)

100本連続測定！



チューブ切換え駆動部

新規開発ノズルにより、
約5MPaの耐圧を確保！

【特許第7058402号】



チューブ
洗浄用ポンプ
(オプション)
流路切換えバルブ
(オプション)

ソルナックチューブ
自動切換え装置

※価格はお問い合わせください

★ **CFAN** (アニオン交換+カチオン交換) : **リン酸塩緩衝液のオンラインLC/MS測定**

★ **OOAN** (カチオン交換) : **Na, Kなどの付加イオン削減**

トリエチルアミン, ジブチルアミンによるイオン化抑制の改善

★ **CFOO** (アニオン交換) : **リン酸, リン酸アンモニウム溶離液のオンラインLC/MS測定**
トリフルオロ酢酸によるイオン化抑制の改善

★ **CAOO** (アニオン交換) : **ドデシル硫酸アンモニウム溶離液のオンラインLC/MS測定**
揮発性イオン対試薬によるイオン化抑制の改善

使用可能溶離液※1 : アセトニトリル, メタノール, 水

使用可能 pH : 2~12

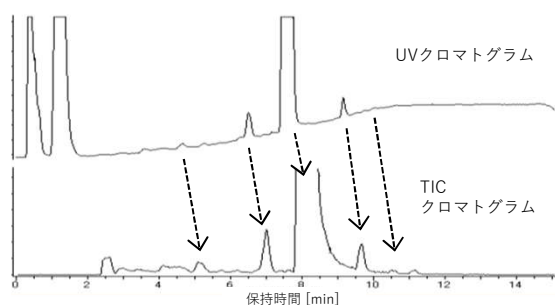
測定不可化合物※2 : CFAN・・・リン酸基, スルホン酸基及び四級アンモニウム基を持つ強イオン性化合物
OOAN・・・四級アンモニウム基を持つ強塩基性化合物
CFOO, CAOO・・・リン酸基, スルホン酸基などを持つ強酸性化合物

※1 有機溶媒だけでは使用できません。水を20%以上含む必要があります。

※2 強イオン性化合物以外にも、ソルナックチューブに吸着してピークが消失したりブロード化することがございます。

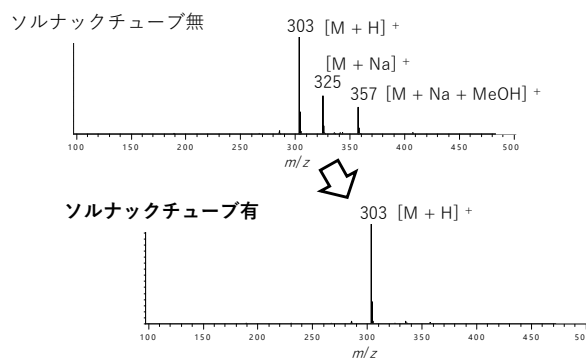
測定例

★ CFAN：リン酸塩緩衝液での測定



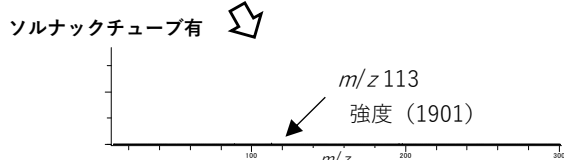
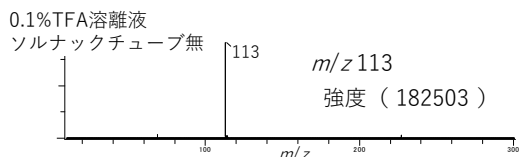
リン酸塩緩衝液でも、時間軸に沿った形でLC/MSの測定ができます。

★ OOAN：Na付加イオンの除去

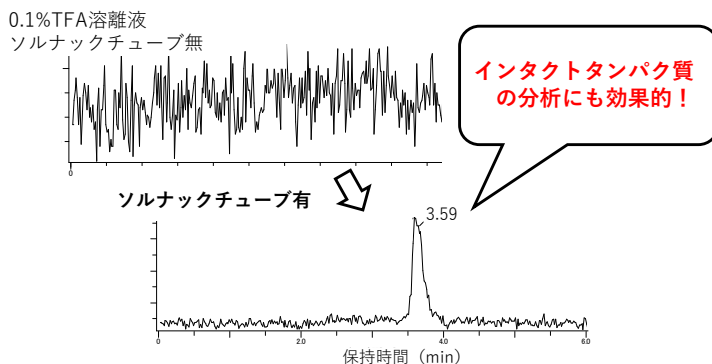


Na付加イオンが小さくなります。

★ CFOO：トリフルオロ酢酸溶離液でのLC/MS負イオン測定



バックグラウンドのトリフルオロ酢酸強度が約1/100になります。

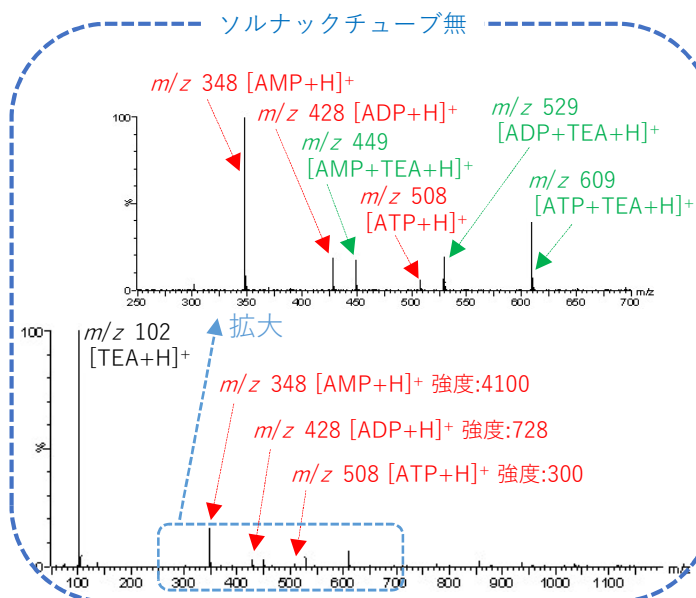


TFA溶離液でも分析種の負イオンを検出できます。

★ OOAN：トリエチルアミンによるヌクレオチドのイオン化抑制改善

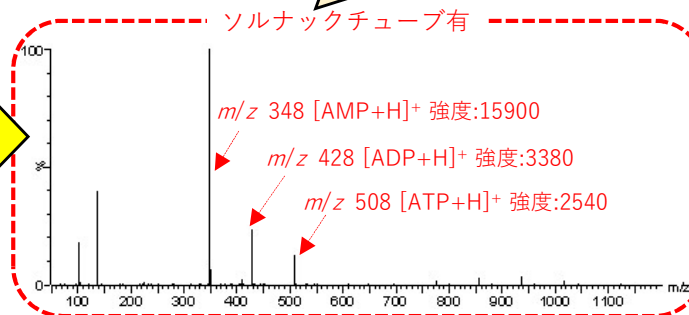
試料：ヌクレオチド (AMP, ADP, ATP) 溶離液：0.1% トリエチルアミン水溶液

トリエチルアミン溶離液中でも、ヌクレオチドをPos.で高感度検出できます！



ソルナックチューブを接続してオンラインでTEAを除去しましたところ、EIC強度は4~8倍高い値を示しました。さらに、トリエチルアンモニウム付加イオンが検出されずにプロトン付加イオンだけを検出することができました。

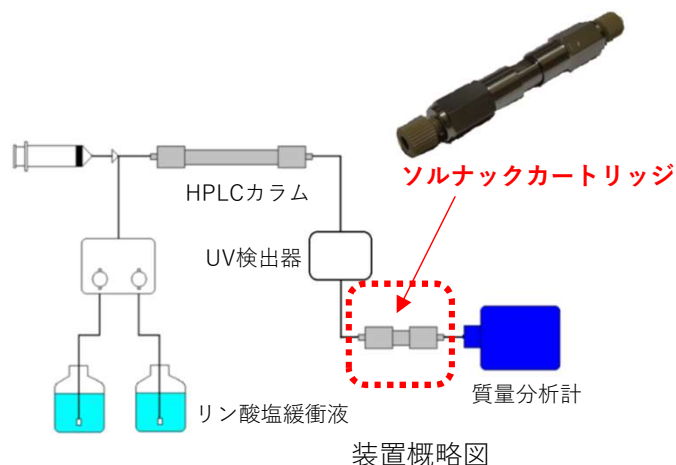
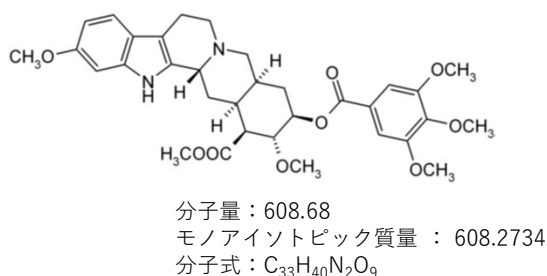
☆ 感度向上！
☆ TEA付加イオン無！



TEA, DBAを含む溶離液でも、イオン化抑制の改善と付加イオンが無いスペクトルが得られます

LC/MS用脱塩カートリッジ“ソルナックカートリッジ”を用いたレセルピン不純物の分析例

シナプス小胞へのカテコールアミンやセロトニンの取り込みを抑制する作用をもつ、アドレナリン作動性ニューロン遮断薬の1つであるレセルピン (reserpine) を試料として、局方で採用されているリン酸塩緩衝液を用いたLC条件で分析を行いました。



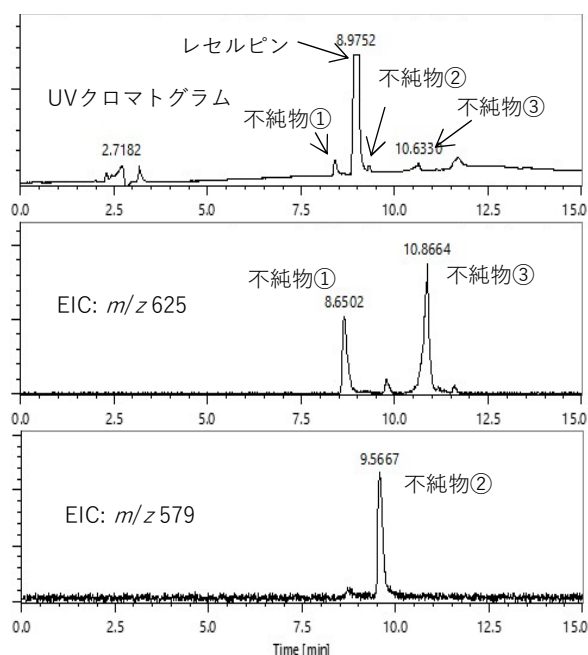
【LC条件】

装置：Agilent 1200
カラム：CERI L-column2 ODS, 40 °C
(3 μm, 4.6 mm i.d. × 150 mm)
移動相：A … **10mM KH₂PO₄水溶液**
B … CH₃CN
A/B=80/20 ⇒ 20/80 (0'⇒10')
流量：0.8ml/min
検出器：UV (215 nm)
試料：レセルピン試薬 50 ppm溶液
注入量：10 μL

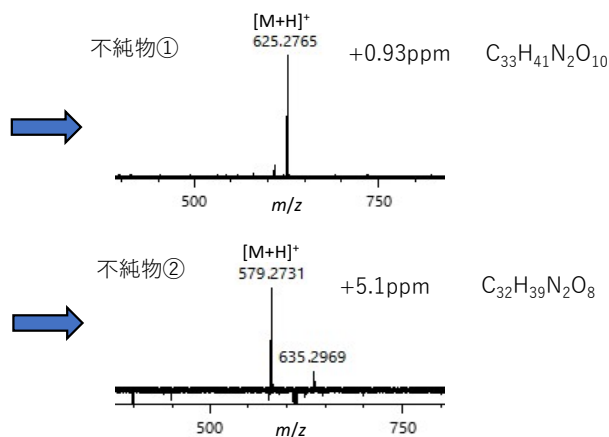
【MS条件】

装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1 電圧：85 V
脱溶媒室温度：350 °C
オリフィス1 温度：80 °C
測定範囲： m/z 50~1000
ソルナックカートリッジ：CFAN46030

【LC/MS分析結果】

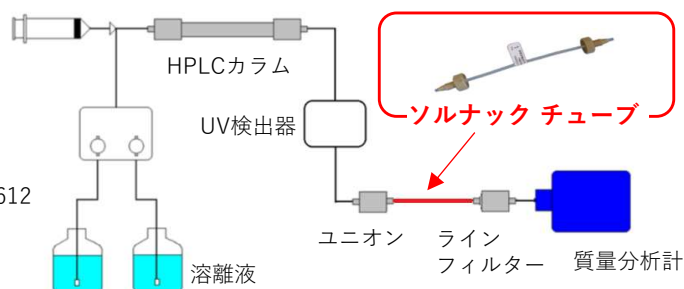
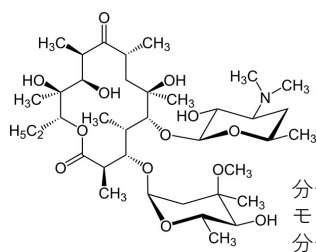


レセルピンの構造は既知ですので、その[M+H]⁺ (m/z 609.2807)の精密質量を内標準として、不純物①と②のマススペクトルの m/z 値を補正しました。2つの不純物の推定組成は、C₃₃H₄₁N₂O₁₀ (+0.93ppm), C₃₂H₃₉N₂O₈ (+5.1ppm)であり、それぞれレセルピンからの構造変化は+O (+16 Da)、-CH₂O (-30 Da)であると推測されます。不純物③は、①と同じマススペクトルでした。両者は異性体の関係にあると推測されます。



LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた エリスロマイシン不純物の分析例

呼吸器や軟部組織などの多くの感染症に適応があるマクロライド系抗生物質の1つであるエリスロマイシン (erythromycin) を試料として、リン酸塩緩衝液を用いたLC条件で分析を行いました。エリスロマイシンは、UV吸収が弱いことから低波長での検出が必要であり、局方では215nmで検出しています。



【LC条件】

装置：Agilent 1200
カラム：TOSOH ODS-100V, 40 °C
(3 μm, 2.0 mm i.d. × 100 mm)
移動相：A … 10mM KH₂PO₄水溶液
B … CH₃CN
A/B=80/20 ⇒ 20/80 (0' ⇒ 10')
流量：0.3 ml/min
検出器：UV (215 nm)
試料：エリスロマイシン試薬 50 ppm溶液
注入量：5 μL

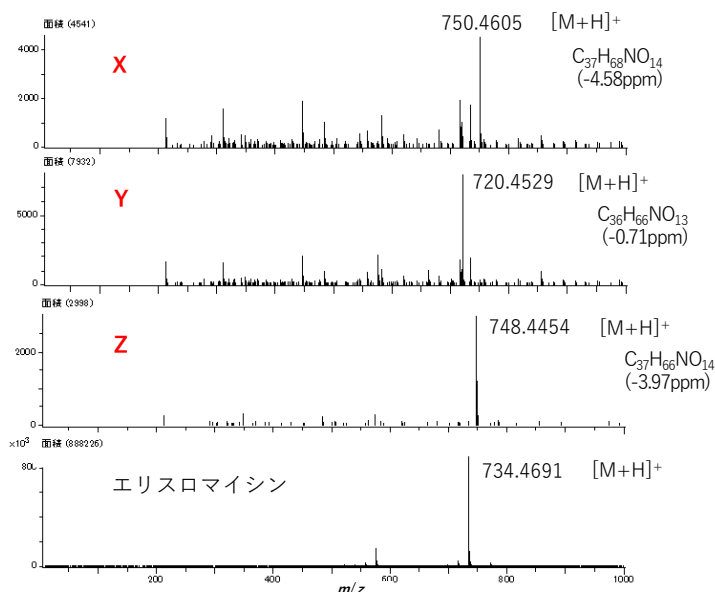
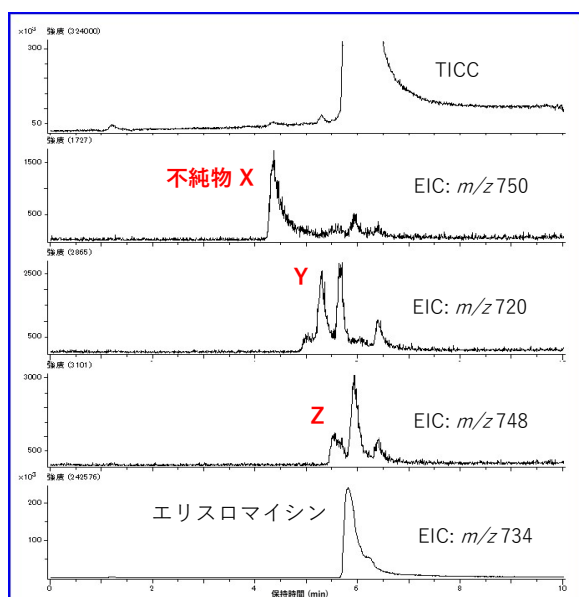
【MS条件】

装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1電圧：65 V
脱溶媒室温度：250 °C
オリフィス1温度：100 °C
測定範囲：m/z 50~1000

ソルナックチューブ：CFAN10100

【LC/MS分析結果】

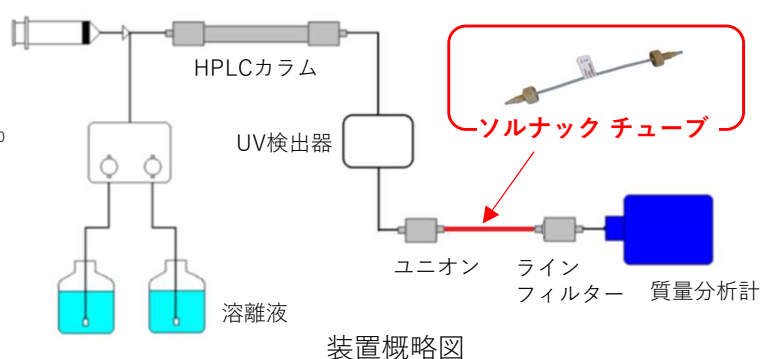
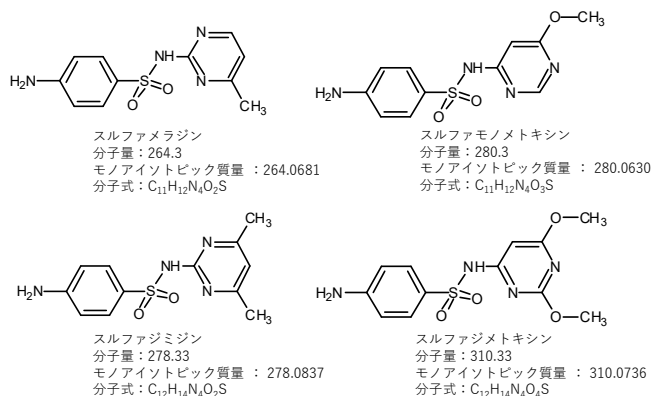
エリスロマイシンの構造は既知ですので、その[M+H]⁺ (m/z 734.4691)の精密質量を内標準として、不純物のマスペクトルのm/z値を補正しました。不純物Xの推定組成はC₃₇H₆₈NO₁₄ (-4.58ppm)、不純物YはC₃₆H₆₆NO₁₃ (-0.71ppm)、不純物ZはC₃₇H₆₆NO₁₄ (-3.97ppm)であり、それぞれエリスロマイシンからの構造変化は+O (+16 Da)、-CH₂ (-14 Da)、+O-2H (+14 Da)であると推測されます。



エリスロマイシン不純物のTIC、EIC及びマスペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた サルファ剤の分析例

サルファ剤とは、スルファミンを母体とした一群の化学療法剤の総称です。動物用医薬品として用いられています。資生堂㈱のアプリケーションデータにリン酸塩緩衝液を用いた例が掲載されていたので、それを参考に溶離液条件を検討しました。



【LC条件】

装置 : Agilent 1200
 カラム : YMC Triart C18, 40 °C
 (3 μm, 2.0 mm i.d. × 100 mm)
 溶離液 : A ... **10mM KH₂PO₄水溶液**
 B ... CH₃CN
 A/B=80/20 ⇒ 20/80 (0'⇒5')
 流量 : 0.3 ml/min
 検出器 : UV (215 nm)
 試料 : サルファ剤4種混合試薬 20 ppm溶液
 注入量 : 4 μL

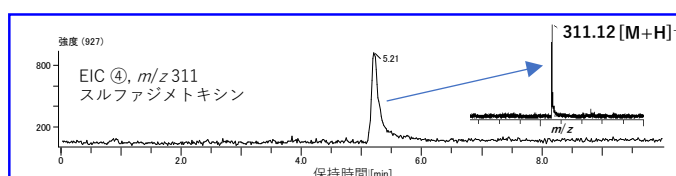
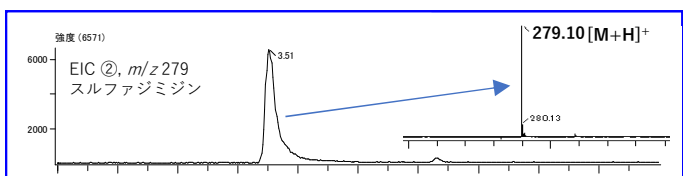
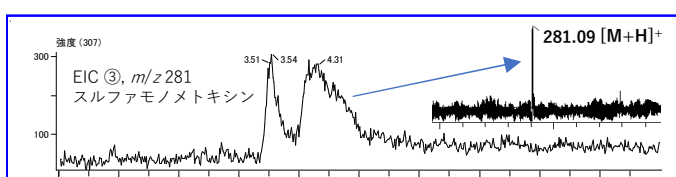
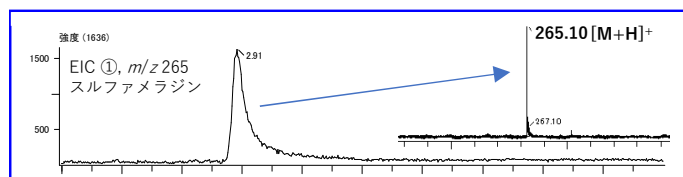
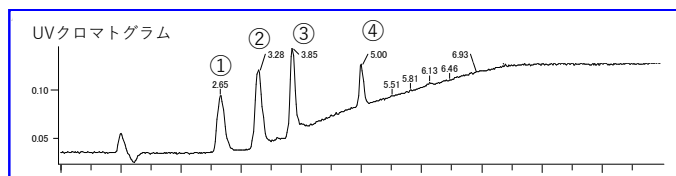
【MS条件】

装置 : JEOL JMS-T100LP
 イオン化法 : ESI Pos.
 ニードル電圧 : 2000 V
 オリフィス1電圧 : 50 V
 脱溶媒室温度 : 250 °C
 オリフィス1温度 : 80 °C
 測定範囲 : m/z 50~1000

ソルナックチューブ : CFAN10100

【LC/MS分析結果】

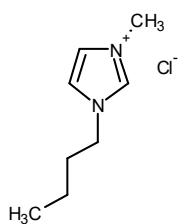
①のスルファメラジンと③のスルファモノメトキシ (特に③) については、分子のイオン交換樹脂への相互作用によってピークのプロードニングが起きましたが、リン酸塩緩衝液を用いたLC/MSにおいて4種類のサルファ剤を測定することができました。



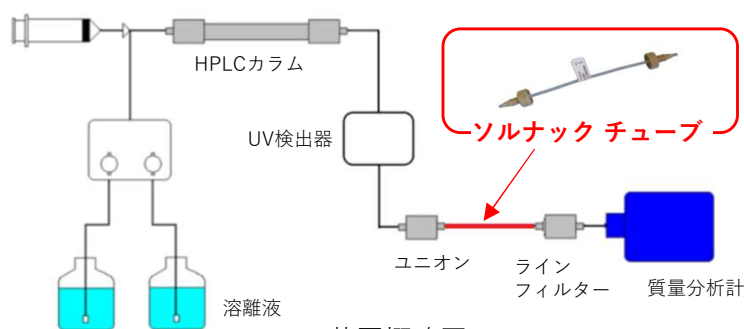
サルファ剤4種のUVクロマトグラム、EIC及びマススペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた イオン液体の分析例：イオン対試薬への適用

イオン液体は「イオンのみで構成されており、100℃以下で液体状態の塩」と定義され、電解質を主用途として今後の開発が期待されています。主なイオン液体は、極性が高くUV吸収が弱いことから、低波長でも検出が可能なドデシル硫酸ナトリウム（SDS）などのイオン対試薬を添加した溶離液を用いてHPLC分析することが多いです。イオン液体の代表的骨格の一つであるイミダゾリウム塩を試料として、ドデシル硫酸アンモニウムを添加した溶離液を用いてLC/MS分析を行いました。



分子量：174.67
モノアイソトピック質量：139.1230+34.9694
分子式：C₈H₁₅N₂Cl



装置概略図

【LC条件】

装置：Agilent 1200
カラム：TOSOH ODS-100V, 40 °C
(3 μm, 2.0 mm i.d. × 100 mm)
溶離液：A … 10mM ドデシル硫酸アンモニウム水溶液
B … CH₃CN
A/B=50/50 ⇒ 20/80 (0' ⇒ 5')
流量：0.3 ml/min
検出器：UV (215 nm)
試料：1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリド 5 ppm溶液
注入量：5 μL

【MS条件】

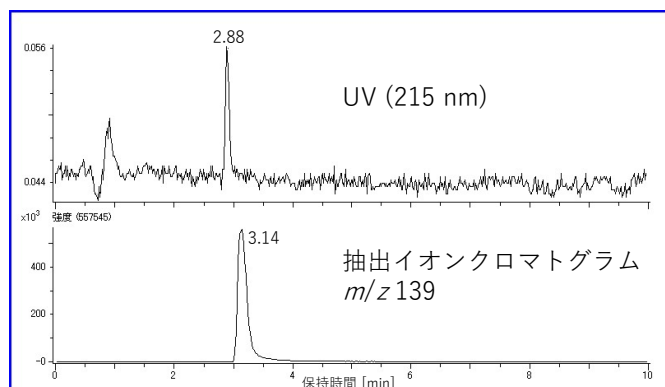
装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1電圧：40 V
脱溶媒室温度：250 °C
オリフィス1温度：80 °C
測定範囲：m/z 10~1000

ソルナックチューブ：COOO10100（特別仕様品）
※市販品のCAOO10100でも同様な測定が可能です

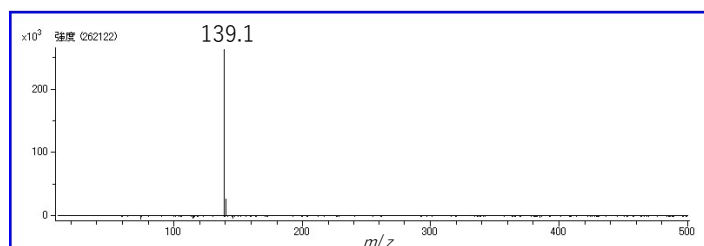
【LC/MS分析結果】

塩基性化合物向けのイオン対試薬としてはドデシル硫酸ナトリウム（SDS）が一般的ですが、SDS用のイオン交換では分析種も一緒に吸着してしまうため、ドデシル硫酸アンモニウムを用いました。ソルナックチューブは、まだ市販していない特別仕様品です。グラジエントの初期条件が1:1であるにも関わらず、1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリドの保持時間は2.88分であり、イオン対試薬の効果が確認できました。

ソルナックチューブにより不揮発性のドデシル硫酸を除去することで、オンラインLC/MS分析を行い、m/z 139イオンを検出することが出来ました



1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリドの
UVクロマトグラムと抽出イオンクロマトグラム（EIC）



1-ブチル-3-メチルイミダゾリウムクロリドの
マススペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた インタクトタンパク質の分析

逆相分配クロマトグラフィーを用いたインタクトタンパク質の分析において、トリフルオロ酢酸 (trifluoroacetic acid, TFA) を添加した溶離液が用いられます。しかし、TFAは酸性度が高すぎるために、LC-ESI/MSに用いるとニードルと対向電極間に流れる電流量が大きくなり過ぎて分析種のイオン化を抑制してしまうことが知られています。タンパク質を酵素消化したペプチド混合物であればギ酸を添加した溶離液でも良い分離が得られますが、インタクトタンパク質で高分離能を得るためにはTFAの方がより適しています。

【LC条件】

装置 : Agilent 1200
 カラム : YMC Triart C18, 40 °C
 (3 μ m, 2.0 mm i.d. \times 100 mm)
 溶離液 : A: 0.1%-TFA/超純水, B: 0.1%-TFA/CH₃CN
 A/B=98/2 \Rightarrow 20/80 (0' \Rightarrow 10')
 流量 : 0.3 ml/min
 検出器 : UV (210 nm)
 試料 : タンパク質 各10 pmol/ μ L溶液
 注入量 : 5 μ L

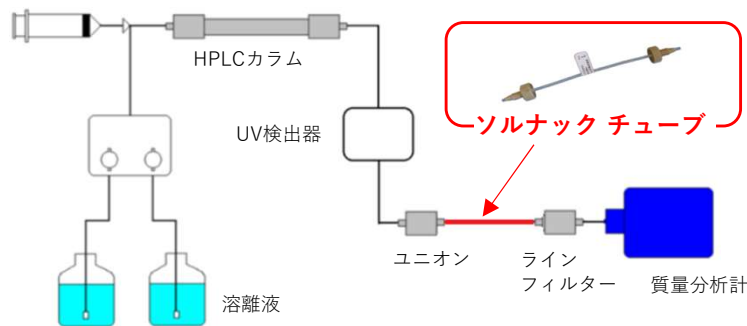


図1 装置概略図

【MS条件】

装置 : JEOL JMS-T100LP
 イオン化法 : ESI Pos.
 ニードル電圧 : 2000 V
 オリフィス1 電圧 : 100 V
 脱溶媒室温度 : 250 °C
 オリフィス1 温度 : 80 °C
 測定範囲 : m/z 200~3,000

【試料】

リゾチーム 分子量 約14,300
 ミオグロビン 分子量 約17,800

ソルナックチューブ : CFOO10100

【LC/MS分析結果】

1. TFA溶離液 ソルナックチューブCFOO有

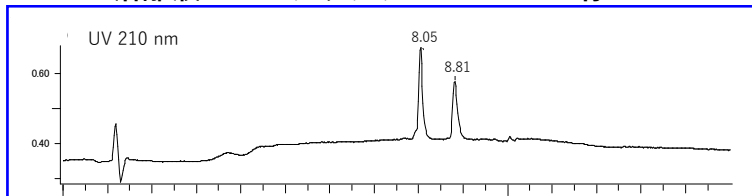


図2 タンパク質混合試料のUVクロマトグラム

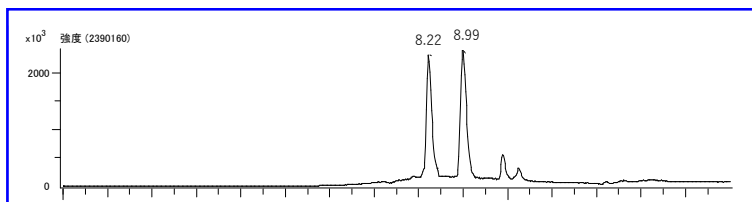


図3 タンパク質混合試料のTICクロマトグラム

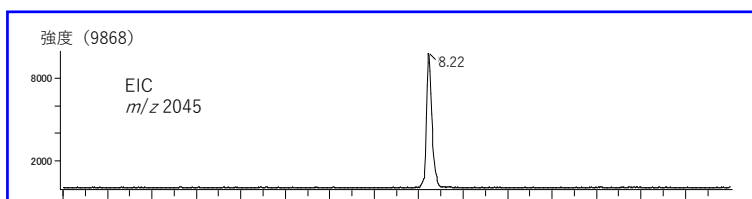
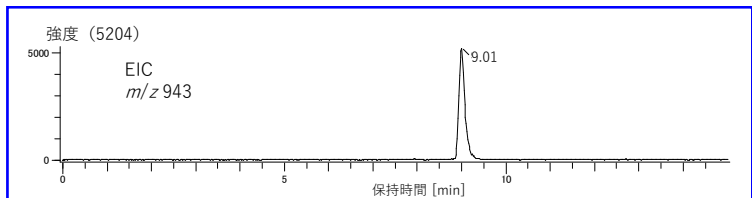
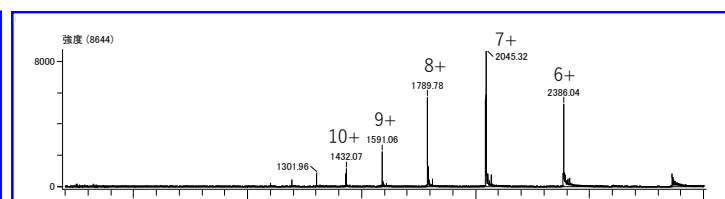
図4 リゾチームの[M+7H]⁷⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC図6 ミオグロビンの[M+18H]¹⁸⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC

図5 保持時間8.2分の(リゾチームの) マススペクトル

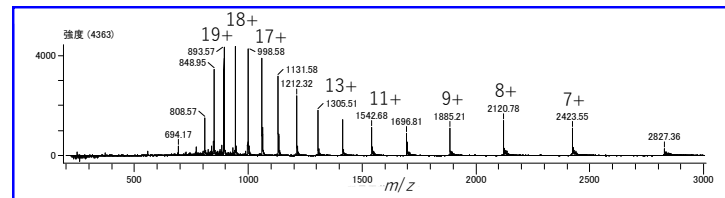


図7 保持時間9分の(ミオグロビンの) マススペクトル

TFA溶離液によるLC/MSにおいて、ソルナックチューブCFOOを用いた際のタンパク質混合試料のUVクロマトグラムを図2に、TICクロマトグラムを図3に、EICとマススペクトルを図4~7に示します。図5, 7のマススペクトルで観測されているイオンは、デコンボリューションの結果より、プロトン付加による多価イオンであることが分かります。

後述するソルナックチューブを用いない場合 (TFAをイオン源に導入した場合) と比較して、EIC強度は3~4倍高い値を示しました。また、ギ酸溶離液を用いた場合と比較すると、ピーク形状が良好であり高い分離能を示しました。

2. TFA溶離液 ソルナックチューブCFOO無

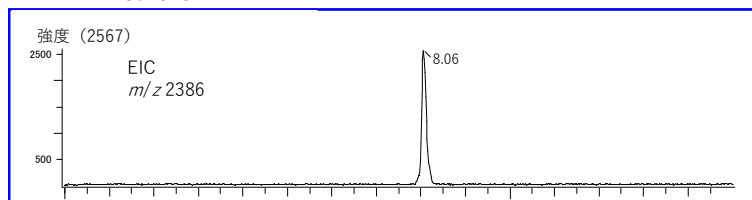


図8 リゾチームの[M+6H]⁶⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC

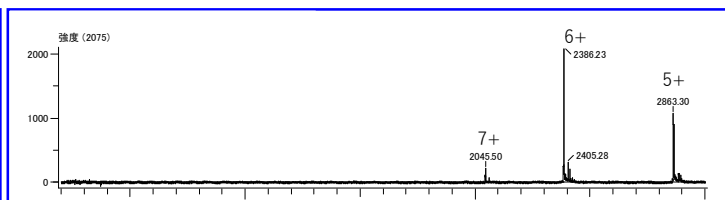


図9 保持時間8.1分の（リゾチームの）マススペクトル

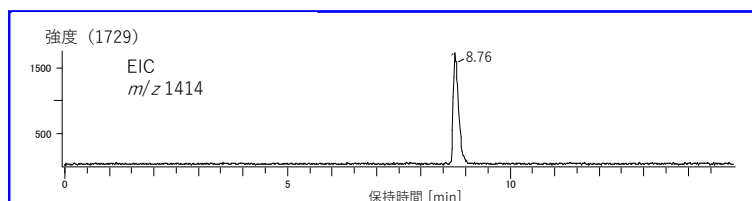


図10 ミオグロビンの[M+12H]¹²⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC

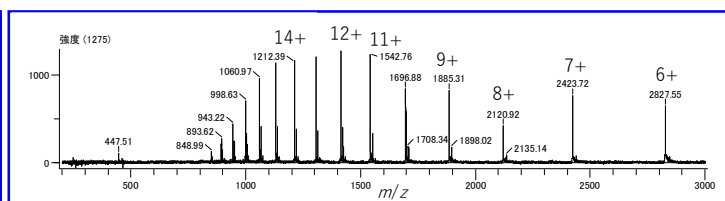


図11 保持時間8.8分の（ミオグロビンの）マススペクトル

3. ギ酸溶離液 ソルナックチューブCFOO無

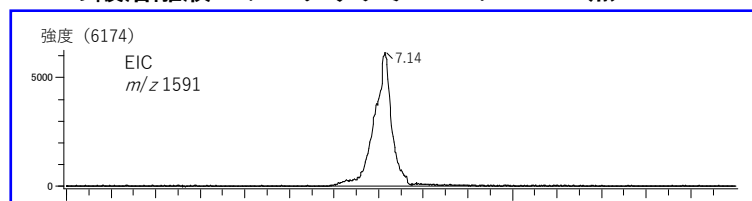


図12 リゾチームの[M+9H]⁹⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC

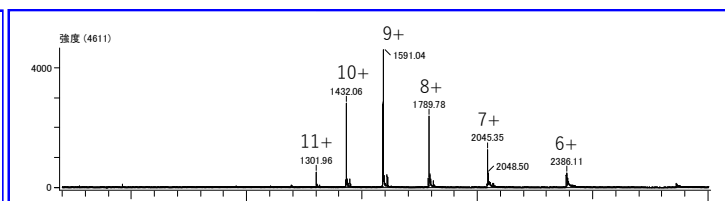


図13 保持時間7.1分の（リゾチームの）マススペクトル

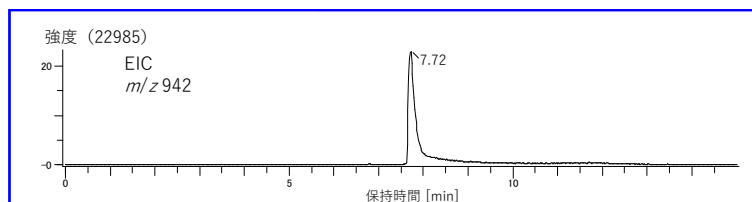


図14 ミオグロビンの[M+18H]¹⁸⁺に相当する m/z 値でトレースしたEIC

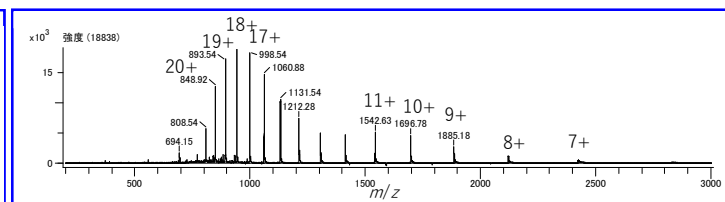


図15 保持時間7.7分の（ミオグロビンの）マススペクトル

TFA溶離液によるLC/MSにおいて、ソルナックチューブCFOOを用いない場合（TFAをイオン源に導入した場合）のタンパク質混合試料のEICとマススペクトルを図8～11に示します。前述した通り、TFAをイオン源に導入した時のEIC強度は、ソルナックチューブによってTFAを除去した場合に比べて1/3～1/4に減少しました。TFAによるタンパク質のイオン化抑制が起こった結果です。

また、比較のためにギ酸溶離液を用いた場合のデータを図12～15に示します。ギ酸によるタンパク質のイオン化抑制は起こっていないと考えられます。しかし、図12, 14に示したEICピーク形状は図4, 6や8, 10より悪く、ブロードニングしています。逆相分配クロマトグラフィーによるインタクトタンパク質の分析には、ギ酸よりもTFAが適していることが分かります。

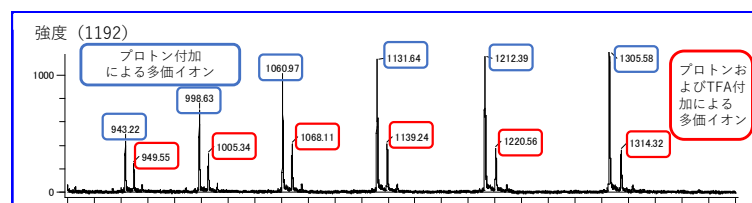


図16 ミオグロビンのマススペクトル、CFOO無 (m/z 900～1400)

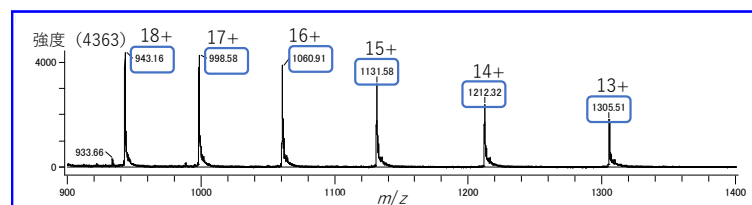


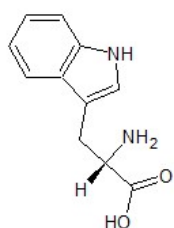
図17 ミオグロビンのマススペクトル、CFOO有 (m/z 900～1400)

TFA溶離液によるLC/MSにおいて、ソルナックチューブCFOOを用いない場合と用いた場合のミオグロビンのマススペクトル (m/z 900～1400)を図15, 16に示します。両図において、強度の高いピークはプロトン付加による多価イオンですが、図15ではそれらの右横に1/3程度の強度のピークが観測されています。 m/z 差と電荷数より、小さなピークはTFA付加イオンであることが分かりました。

ソルナックチューブCFOOを用いることで、TFA共存によるタンパク質のイオン化抑制を低減させると共に、余分な付加イオンのない解析し易いマススペクトルが得られました。

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた TFA除去による負イオンの測定例

酸性化合物を逆相分配クロマトグラフィーにより分析する際、解離抑制のために酸性移動相（分析種の pK_a より2以上低いpHに設定）を用いることがあります。通常LC/MSで使える酸性移動相としては、酢酸、ギ酸、トリフルオロ酢酸（TFA）などが一般的であり、低いpHで使用するならTFAが適しています。しかし、TFAは酸性度が高すぎるために、分析種を正イオンで検出する場合でもイオン化抑制を起こすことがあります。まして分析種を負イオンで検出する場合、ほぼ100%の確率でイオン化抑制を起こすと考えられます。ソルナックチューブで溶離液中のTFAを除去し、負イオン測定を行いました。



トリプトファン
相対分子質量：204.225
モノアイソトピック質量：204.08987
分子式： $C_{11}H_{12}N_2O_2$

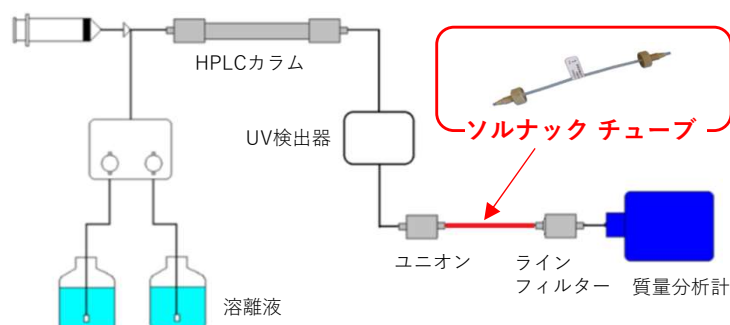


図1 装置概略図

【LC条件】

装置：Agilent 1200
カラム：YMC Triart C18, 40 °C
(3 μ m, 2.0 mm i.d. \times 100 mm)
溶離液：A: 0.1%-TFA/超純水, B: 0.1%-TFA/ CH_3CN
A/B=98/2 \Rightarrow 20/80 (0' \Rightarrow 10')
流量：0.3 ml/min
検出器：UV (210 nm)
試料：トリプトファン20ppm溶液
注入量：5 μ L

【MS条件】

装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Neg.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1電圧：50 V
脱溶媒室温度：250 °C
オリフィス1温度：80 °C
測定範囲： m/z 50~1000

ソルナックチューブ：CFOO10100

【LC/MS分析結果】

トリプトファンは塩基性アミノ酸ですが、今回は負イオン測定に用いました。

ソルナックチューブを用いない場合と用いた場合の m/z 203（トリプトファンの $[M-H]^-$ ）のEIC（extracted ion chromatogram、抽出イオンクロマトグラム）を図2に示します。CFOOなしでは、TFA共存によるイオン化抑制によってシグナルは検出されていませんが、CFOOありではソルナックによるTFA除去の効果でシグナルが検出されています。

ソルナックは、解離抑制を目的とした移動相条件でのLC/MSに有効であることが確認できました。

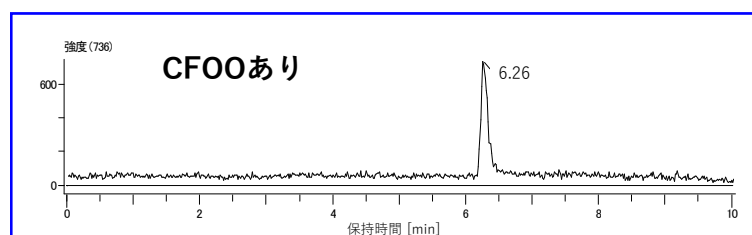
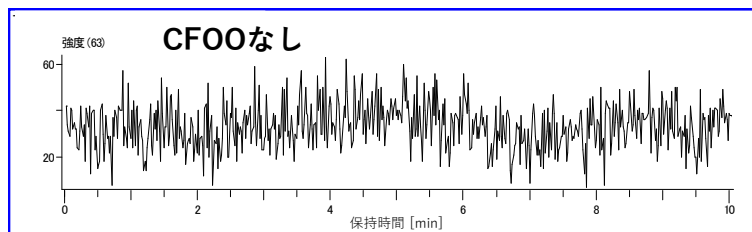


図2 m/z 203 ($[M-H]^-$)のEIC

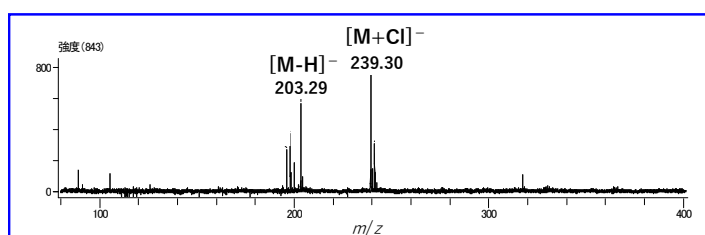
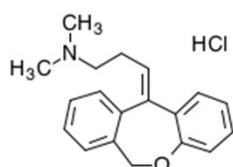


図3 保持時間6.26分のマススペクトル、CFOO使用時

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”に吸着しやすい塩基性化合物に対するポストカラム法による改善例

リン酸塩緩衝液条件にソルナックチューブCFANを用いた場合、測定対象化合物が塩基性的場合には解離型になりチューブ内の樹脂に吸着してしまうことがあります。そこで、チューブ導入前にポストカラム法によりアンモニア水を添加することで、チューブ内の溶離液を塩基性にして測定対象化合物を非解離型とすれば吸着を抑制できると考えました。三環系抗うつ剤のドキセピンのpKaは9.0であることから、中性条件下では解離型となりカチオン交換樹脂に吸着してしまいます。そこで、ポストカラム法でアンモニア水を添加して、ソルナックチューブへの吸着の改善を試みました。



塩酸ドキセピン
相対分子質量：315.84
モノアイソトピック質量：315.1390
分子式：C₁₉H₂₂NOCl

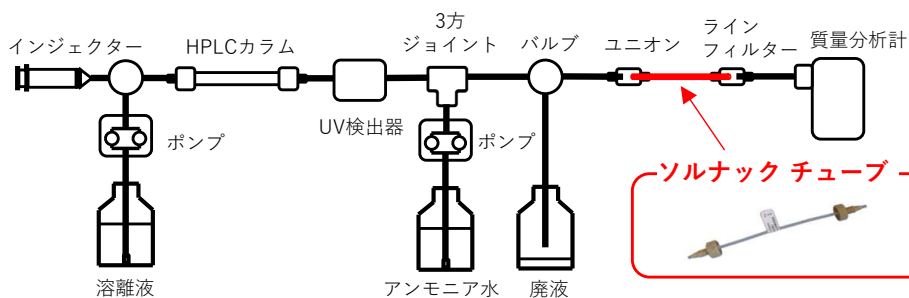


図1 装置概略図

【LC条件】

装置：Agilent 1200
カラム：YMC Triart C18, 40 °C
(3 μm, 2.0 mm i.d. × 100 mm)
溶離液：A … 10mM KH₂PO₄水溶液
B … CH₃CN
A/B=80/20 ⇒ 20/80 (0'⇒5')
流量：0.2 ml/min
検出器：UV (215 nm)
試料：塩酸ドキセピン試薬 20 ppm溶液
注入量：5 μL
ポストカラム：200mM アンモニア水 0.05 ml/min

【MS条件】

装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1電圧：50 V
脱溶媒室温度：250 °C
オリフィス1温度：80 °C
測定範囲： m/z 10~1000

ソルナックチューブ：CFAN10100

【LC/MS分析結果】

ソルナックチューブCFANを用いて、そのまま分析した場合とアンモニア水をポストカラム法で添加した場合の m/z 280 (塩酸ドキセピンの[M-CI]⁺) のEICを図3に示します。アンモニア水を添加して分析した時のマスペクトルを図2に示します。

そのまま分析すると、塩酸ドキセピンはソルナックチューブCFANに吸着することがわかります。アンモニア水をポストカラム法で添加することで、ピーク形状は改善できました。

ソルナックに吸着しやすい塩基性化合物を分析する際には、アンモニア水をポストカラムで添加して塩基性化合物の解離を抑制させる方法が有効といえます。

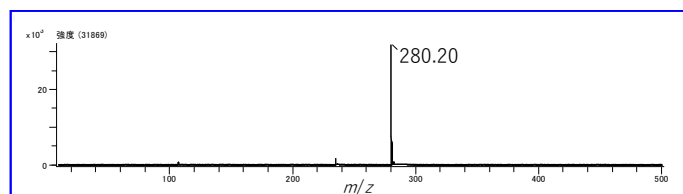
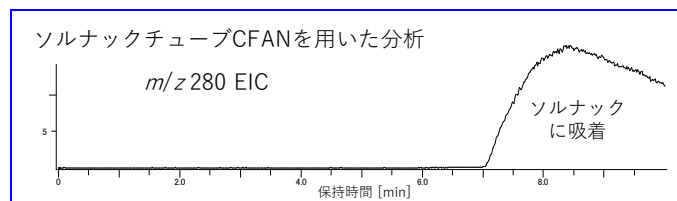
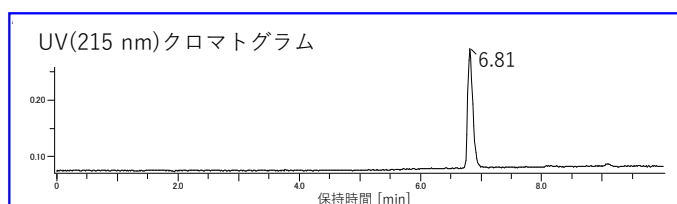


図2 塩酸ドキセピンのマスペクトル



↓ ピーク形状改善

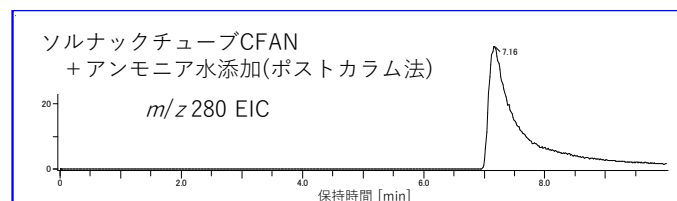
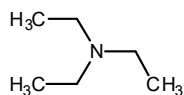


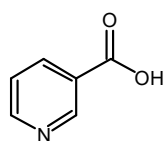
図3 塩酸ドキセピン分析時のUVクロマトグラムとEIC

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた トリエチルアミン除去による正イオンの測定例

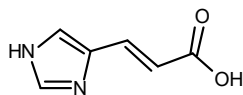
極性が高い酸性化合物を逆相分配クロマトグラフィーにより分析する際、塩基性のイオン種を溶離液中に添加することでイオン結合により中性のイオン対を形成して保持を向上させることがあります。通常LC/MSで使えるイオン対形成用の塩基性移動相としては、トリエチルアミン（TEA）、ジブチルアミン（DBA）などが一般的です。しかし、これらのイオン対試薬は塩基性が高すぎるために、正イオンで検出する場合、ほぼ100%の確率でイオン化抑制を起こすと考えられます。今回は、試料としてニコチン酸とウロカニン酸を使用して、ソルナックチューブで試料溶液中のTEAを除去して正イオン測定を行いました。



トリエチルアミン
相対分子質量：101.19
モノアイソトピック質量：101.12045
分子式：C₆H₁₅N



ニコチン酸
相対分子質量：123.11
モノアイソトピック質量：123.03203
分子式：C₆H₅NO₂



ウロカニン酸
相対分子質量：138.12
モノアイソトピック質量：138.04293
分子式：C₆H₆N₂O₂

【インフュージョン条件】

試料：(1) ニコチン酸 10ppm溶液
(2) ウロカニン酸 10ppm溶液
溶解液：CH₃CN / H₂O = 50 / 50 + 0.1%TEA
流量：0.1 ml/min

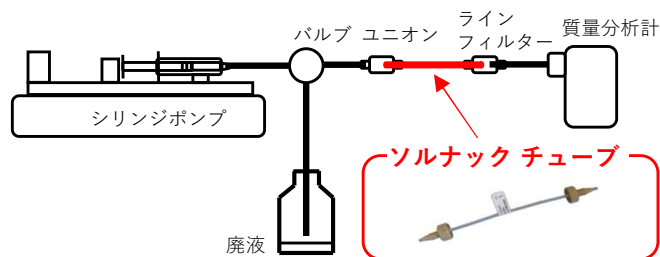


図1 装置概略図

【MS条件】

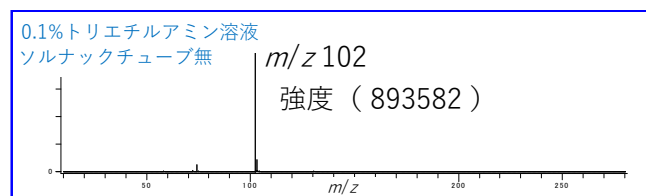
装置：JEOL JMS-T100LP
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：2000 V
オリフィス1 電圧：50 V
脱溶媒室温度：250 °C
オリフィス1 温度：80 °C
測定範囲： m/z 10~1000

ソルナックチューブ：OOAN10050

【LC/MS分析結果】

シリンジポンプを用いたインフュージョン分析で、ニコチン酸とウロカニン酸をトリエチルアミン（TEA）共存下で測定したマスペクトルを図2, 3に示します。溶液中にTEAを含む場合、TEA共存によるイオン化抑制によって、ニコチン酸とウロカニン酸はともにシグナルが検出されませんでした。ソルナックチューブを接続してオンラインでTEAを除去しましたところ、 m/z 124（ニコチン酸の[M+H]⁺）と m/z 139（ウロカニン酸の[M+H]⁺）が検出されました。尚、ソルナックチューブを接続したところ、TEA由来の m/z 102は検出されませんでした。

ソルナックは、イオン対試薬を含む移動相条件でのLC/MSに有効であることが確認できました。



↓ m/z 124 検出

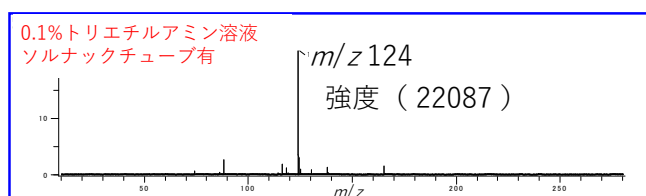
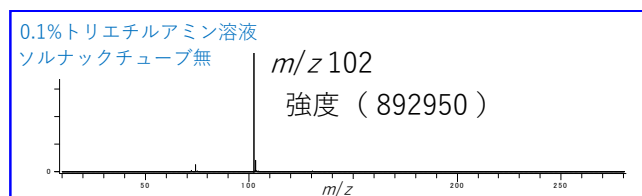


図2 TEA溶液中でのニコチン酸のマスペクトル



↓ m/z 139 検出

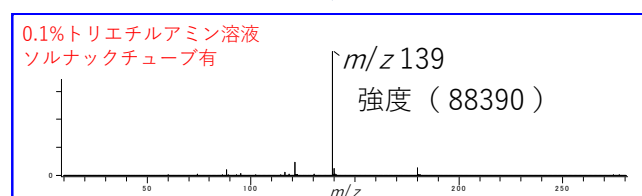
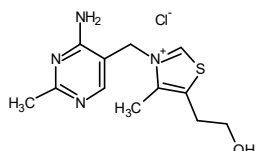
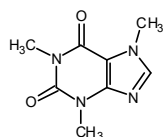
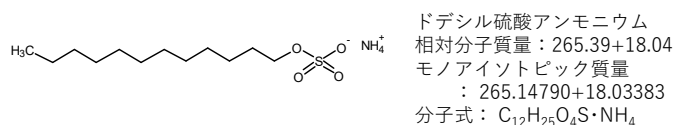


図3 TEA溶液中でのウロカニン酸のマスペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた ドデシル硫酸除去によるLC/MS測定例

極性が高い塩基性化合物を逆相分配クロマトグラフィーにより分析する際、酸性のイオン種を溶離液中に添加することでイオン結合により中性のイオン対を形成して保持を向上させることがあります。イオン対試薬として使用されているドデシル硫酸ナトリウム（SDS）は不揮発性であるため、MSのイオン化部で析出し導入困難になることや分析種のイオン化を抑制することから、オンラインでLC/MSの測定に用いることはできません。今回は、ドデシル硫酸アンモニウム（ADS）を添加した系で、試料としてカフェインと塩酸チアミンを使用して、ソルナックチューブで試料溶液中のドデシル硫酸を除去して正イオン測定を行いました。



【インフュージョン条件】

試料：(1) カフェイン 10ppm溶液
 (2) 塩酸チアミン 10ppm溶液
 溶解液：CH₃CN / H₂O = 50 / 50 + 10mM ドデシル硫酸アンモニウム
 流量：0.1 ml/min

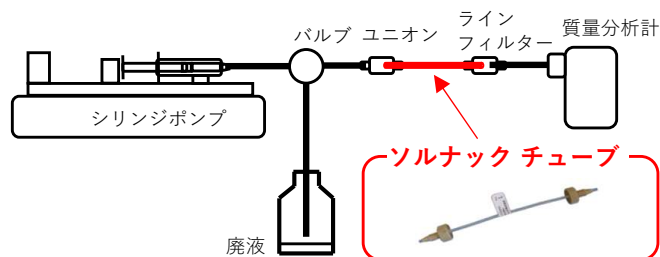


図1 装置概略図

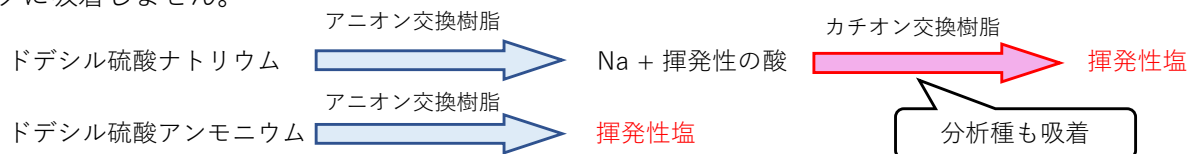
【MS条件】

装置：JEOL JMS-T100LP
 イオン化法：ESI Pos.
 ニードル電圧：2000 V
 オリフィス1 電圧：50 V
 脱溶媒室温度：250 °C
 オリフィス1 温度：80 °C
 測定範囲：m/z 10~1000

ソルナックチューブ：CAOO10100

【LC/MS分析結果】

ドデシル硫酸ナトリウム（SDS）を用いる際の分析種である塩基性基をもつ低分子化合物は、アニオン交換+カチオン交換を充填したソルナックでは塩基性の分析種と一緒に吸着してしまいます。しかし、対イオンを揮発性にしたドデシル硫酸アンモニウム（ADS）であればアニオン交換だけで良いので分析種はソルナックに吸着しません。



シリンジポンプを用いたインフュージョン分析で、カフェインと塩酸チアミンをドデシル硫酸アンモニウム共存下でLC/MSの測定を試みました。ソルナックチューブを接続してオンラインでドデシル硫酸を除去しましたところ、m/z 195（カフェインの[M+H]⁺）とm/z 265（チアミンの[M]⁺）が検出されました。ソルナックは、イオン対試薬を含む移動相条件でのLC/MSに有効であることが確認できました。

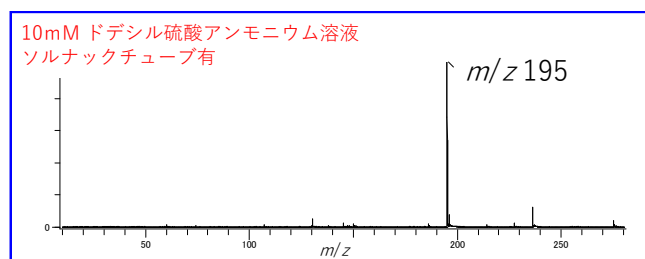


図2 ADS溶液でのカフェインのマススペクトル

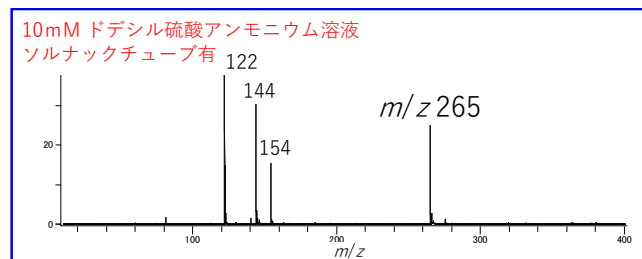


図3 ADS溶液での塩酸チアミンのマススペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた トリエチルアミン除去によるヌクレオチドの測定例

極性が高い核酸及びヌクレオチドを逆相分配クロマトグラフィーにより分析する際、イオン種を溶離液中に添加することでイオン結合により中性のイオン対を形成して保持を向上させることがあります。核酸分析の場合は、イオン対形成用の塩基性移動相としてトリエチルアミン (TEA)、酸性移動相として1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP) を用いることが一般的です。しかし、TEAは塩基性度が高すぎるために、正イオンで検出する場合、イオン化抑制を起こすと考えられます。今回は、試料としてアデニル酸 (AMP)、アデノシン二リン酸 (ADP)、アデノシン三リン酸 (ATP) を使用して、ソルナックチューブで溶離液中のTEAを除去して正イオン測定を行いました。

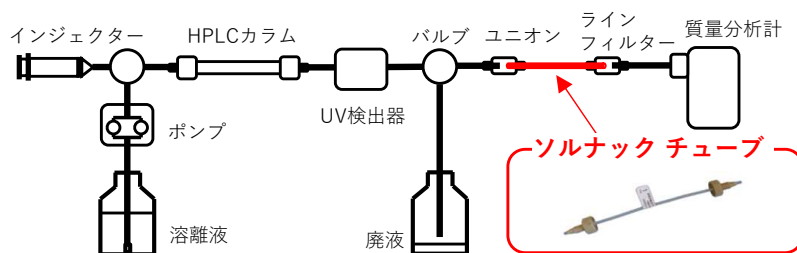
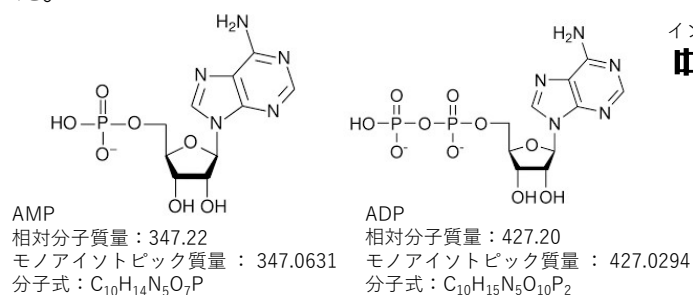
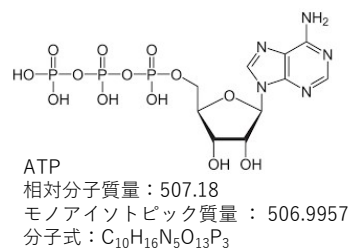


図1 装置概略図



【LC条件】

装置：Waters UPLC H-Class
カラム：Waters BEH C18
(1.7 μ m, 2.1 mm i.d. \times 50 mm)
溶離液：A: 0.1%-TEA/超純水, B: CH₃CN
A/B=100/0 \Rightarrow 80/20 (2' \Rightarrow 5')
流量：0.3 ml/min
試料：AMP, ADP, ATP 各50 μ M溶液
注入量：10 μ L

【MS条件】

装置：Waters SYNAPT
イオン化法：ESI Pos.
ニードル電圧：4 kV
コーン電圧：50 V
脱溶媒温度：450 $^{\circ}$ C
測定範囲： m/z 50~1200

ソルナックチューブ：OOAN10050

【LC/MS分析結果】

TEA溶離液によるLC/MSにおいて、ヌクレオチド (AMP, ADP, ATP) を測定したマスペクトルを図2に示します。ソルナックチューブを用いない場合 (TEAをイオン源に導入した場合) と比較して、EIC強度は4~8倍高い値を示しました。また、ソルナックチューブを用いない場合は、プロトン付加イオン[M+H]⁺に加えてトリエチルアンモニウム付加イオン[M+TEA+H]⁺が検出され複雑なスペクトルであったのに対して、ソルナックチューブを用いることで、トリエチルアンモニウム付加イオンが検出されずにプロトン付加イオンだけが検出されました。

ソルナックチューブOOANを用いることで、TEA共存によるヌクレオチドのイオン化抑制を低減させると共に、余分な付加イオンのない解析し易いマスペクトルが得られました。核酸分析への応用も期待できます。

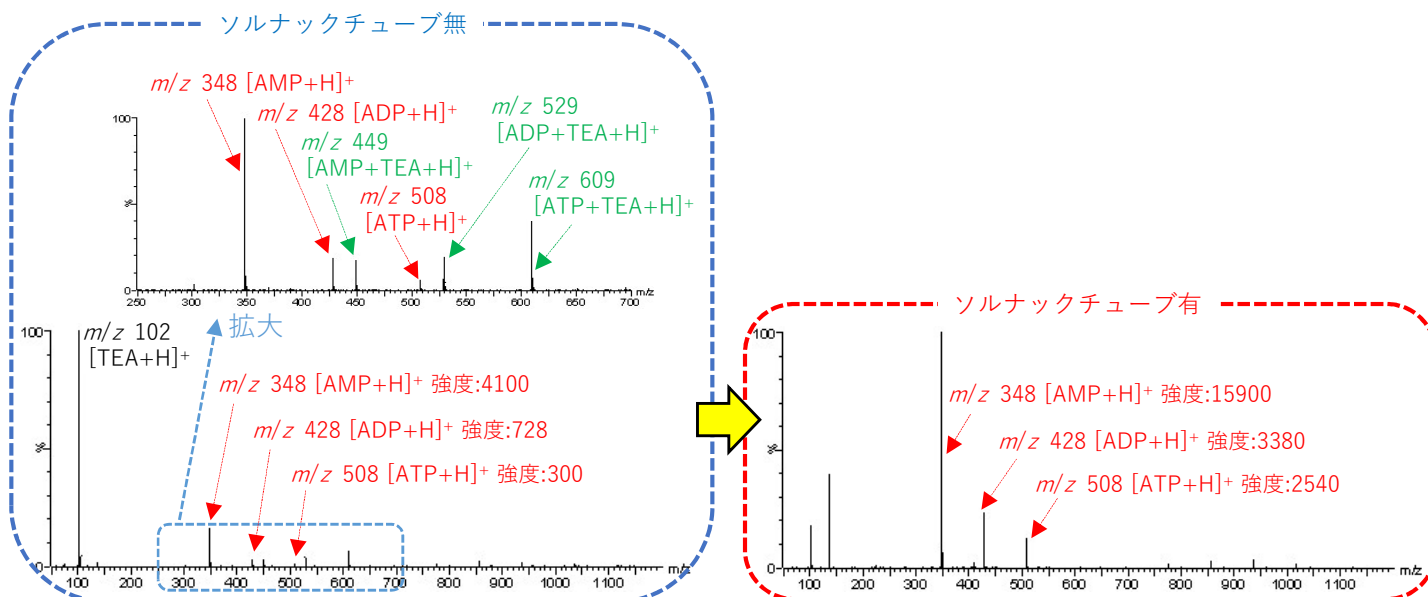


図2 TEA溶離液でのヌクレオチドのマスペクトル

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いたIC/MS測定例

イオンクロマトグラフ（IC）は、主に定量分析に用いられていますが、目的成分の同定手段が保持時間しかないため定性能力は低いと言われています。定性分析を行うためには質量分析装置（MS）を接続することが有効です。ICの溶離液は不揮発性化合物を用いるためMSへの接続は困難と思われますが、サプレッサーを使用することで不揮発性化合物は除去されますので、MSへの接続が可能です。しかしながら、MSで使用しているキャピラリーによる背圧の影響でサプレッサーが壊れてしまうこともあり、サプレッサーの耐圧性が課題です。更に、物理的にMSの近くにICを運ぶ必要があります。

今回は、ソルナックチューブをサプレッサーとして使用することで、汎用のLC/MS装置でIC/MSの測定を行いました。

	硝酸	硫酸	リン酸
分子式	NO_3^-	HSO_4^-	H_2PO_4^-
相対分子質量	62.00	97.07	96.99
モノアイソトピック質量	61.9878	96.9596	96.9691
試料濃度 (ppm)	61	39	71

	トリエタノールアミン	n-ブチルアミン	トリエチルアミン
相対分子質量	149.19	73.14	101.19
モノアイソトピック質量	149.10519	73.08915	101.12045
分子式	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}$	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}$

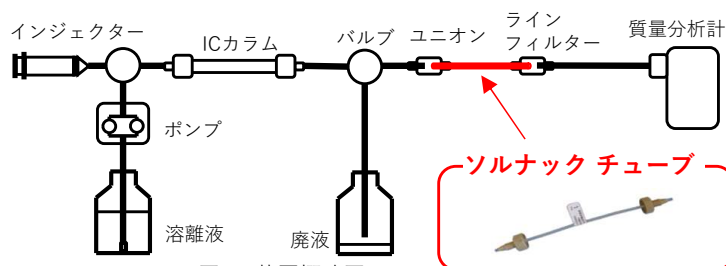


図1 装置概略図

	陰イオン分析	陽イオン分析
HPLC装置	Waters UPLC H-Class	Waters UPLC H-Class
カラム	Thermo Fisher AS17-C (2 mm i.d. × 150 mm)	Thermo Fisher CS12-A (2 mm i.d. × 150 mm)
溶離液	A: 超純水 B: 50mM KOH水溶液 A/B=98/2 ⇒ 80/20 ⇒ 40/60 (5' ⇒ 10' ⇒ 15')	A: 超純水 B: 0.5% メタンスルホン酸水溶液 A/B=80/20 ⇒ 40/60 (0' ⇒ 10')
流量 (ml/min)	0.3	0.3
注入量 (μL)	5	5
MS装置	Waters SYNAPT	Waters SYNAPT
イオン化法	ESI Neg.	ESI Pos.
ニードル電圧 (kV)	3	4
コーン電圧 (V)	10	40
脱溶媒温度 (°C)	500	500
測定範囲	m/z 20~1000	m/z 20~1000
ソルナックチューブ	00AN10050	CFOO10100 : 2本

【IC/MS分析結果】

m/z 62と97のEICを図2、硝酸、硫酸及びリン酸のマスペクトルを図3に示します。硫酸とリン酸は、同じ m/z 97で確認されましたが、精密質量を測定することで判別することができました。有機アミン類は、ICで保持が強いいため、溶出させるためには濃いメタンスルホン酸が必要になります。そこで、ソルナックチューブCFOO10100を2本直列に繋いで、メタンスルホン酸の除去を行いました。 m/z 150, 74と102のEICを図4、各アミンのマスペクトルを図5に示します。

ICで未知ピークが確認された場合やピークの同定が必要な場合、MSの近くにICが無くてもLC/MSにソルナックチューブを接続するだけで簡単にIC/MSの測定ができることがわかりました。

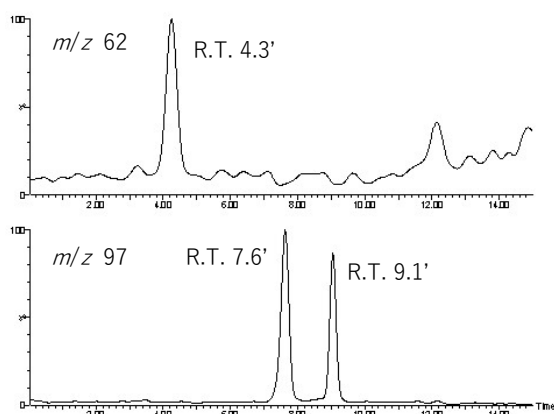


図2 m/z 62と97のEIC

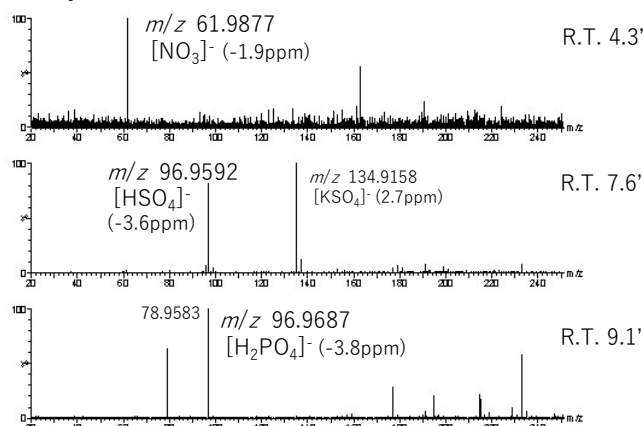


図3 各アニオンのマスペクトル

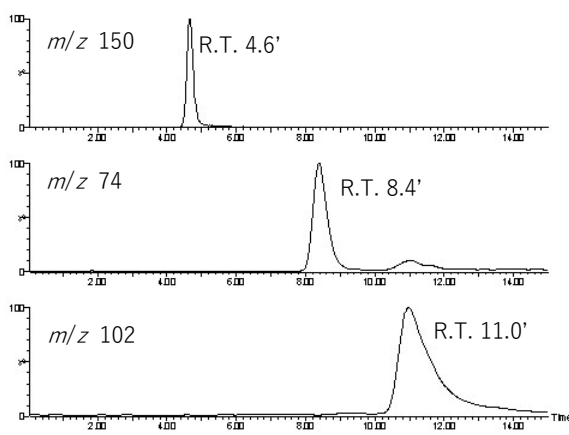


図4 m/z 150, 74と102のEIC

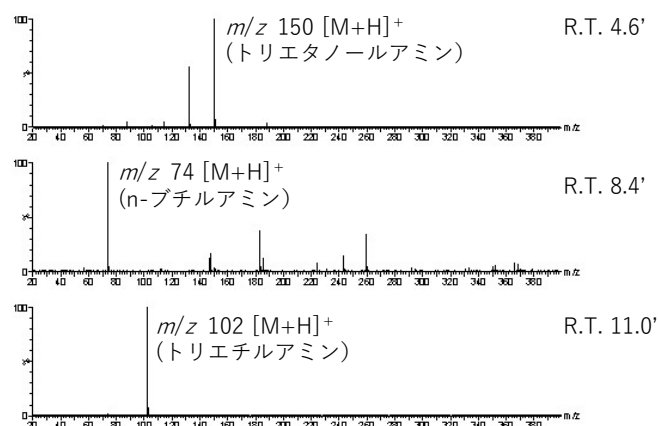


図5 各アミンのマスペクトル

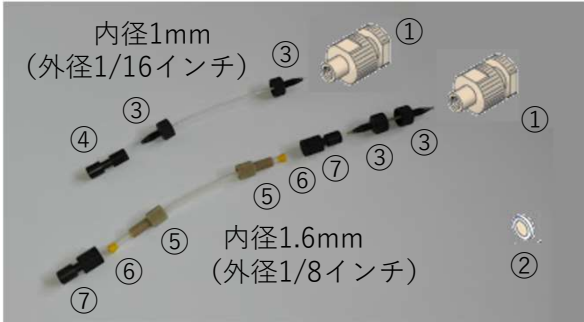
【ソルナックカートリッジ，ソルナックチューブ仕様】

商品名	対象化合物	内径 (mm)	長さ (mm)	最大流量 (mL/min)	推奨流量 (mL/min)	脱塩時間 ※3 (min)	脱塩率 ※4, 5 (%)	入数 (個)	型番	再充填 型番
ソルナック カートリッジ CFAN	弱酸性～弱塩基性 化合物	4.6	30	1.0	0.8	20	90以上	1	CFAN46030-01	CFAN46030-RF
ソルナック カートリッジ OOAN	酸性～弱塩基性 化合物	4.6	30	1.0	0.8	60	90以上	1	OOAN46030-01	OOAN46030-RF
ソルナック カートリッジ CFOO	弱酸性～塩基性 化合物	4.6	30	1.0	0.8	30	90以上	1	CFOO46030-01	CFOO46030-RF
ソルナック カートリッジ CAOO	弱酸性～塩基性 化合物	4.6	30	1.0	0.8	30	90以上	1	CAOO46030-01	CAOO46030-RF

商品名	対象化合物	内径 (mm)	長さ (mm)	最大流量 (mL/min)	推奨流量 (mL/min)	脱塩時間 ※3 (min)	脱塩率 ※4, 5 (%)	入数 (個)	型番	耐圧 (MPa)
ソルナック チューブ CFAN	弱酸性～弱塩基性 化合物	1.0	100	0.3	0.3	10	90以上	10	CFAN10100-10	2
		1.6	200	1.0	0.8	20	90以上	10	CFAN16200-10	5
ソルナック チューブ OOAN	酸性～弱塩基性 化合物	1.0	50	0.3	0.3	15	90以上	10	OOAN10050-10	2
		1.6	100	1.0	0.8	30	90以上	10	OOAN16100-10	5
ソルナック チューブ CFOO	弱酸性～塩基性 化合物	1.0	100	0.3	0.3	15	90以上	10	CFOO10100-10	2
		1.6	150	1.0	0.8	20	90以上	10	CFOO16150-10	5
ソルナック チューブ CAOO	弱酸性～塩基性 化合物	1.0	100	0.3	0.3	15	90以上	10	CAOO10100-10	2
		1.6	150	1.0	0.8	20	90以上	10	CAOO16150-10	5

【ソルナック チューブ 用アクセサリ】

写真 番号	商品名	入数	型番
①	PEEKインラインフィルター 10μm	1個	8501
②	PEEKフリッツ 10μm (インラインフィルター交換用)	5個	8511
③	外径1/16インチ用フィッティング	10個	9002
④	外径1/16インチ用ユニオン	1個	9005
⑤	外径1/8インチ用フィッティング	1個	052267
⑥	外径1/8インチ用フェラル	1個	048949
⑦	外径1/8インチ用レデュシングユニオン	1個	9110
—	ソルナックチューブ内径1.0mmスターターキット (キット内容:①+③+④)	1式	AL56210
—	ソルナックチューブ内径1.6mmスターターキット (キット内容:①+③+⑤×2+⑥×2+⑦×2)	1式	AL56216



※3 CFAN, OOAN,CFOO : 10mMの塩を含んだ CH₃CN/H₂O=50/50 溶液を推奨流量で流した場合の値です。
CAOO : 10mMのドデシル硫酸を含んだ CH₃CN/H₂O=50/50 溶液を推奨流量で流した場合の値です。溶離液の条件によって変化します。
※4 0分から脱塩時間終了までのトータルでの脱塩率です。
※5 除去できないリン酸塩などがイオン源に付着することがございます。水，メタノール等で簡単に洗浄できるレベルですが、イオン源の洗浄に関してはご使用されている質量分析計の説明書に従って実施してください。イオン源付着物の洗浄は、補償いたしかねます。

製造元 エムエス・ソリューションズ株式会社
〒187-0035 東京都小平市小川西町 2-18-13
E-mail : info@sitsuryobunsekiya.com
URL : <https://www.sitsuryobunsekiya.com/>
株式会社プレッパーズ
〒431-3125 静岡県浜松市中央区半田山 1-2 0-1
浜松医科大学医工連携拠点棟 4 1 4
E-mail : info@preppers.co.jp
URL : <https://www.preppers.co.jp/>

販売元 アルテア技研株式会社
〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-23-3
E-mail : support.sales@altair.co.jp
URL : <https://www.altair.co.jp/>
TEL : 045-473-6211 FAX : 045-473-2884



