

液体クロマトグラフィー質量分析による低分子化合物測定におけるカラムの重要性

○原 康洋

名古屋市立大学 医学研究科 共同研究教育センター

1. 背景

名古屋市立大学共用機器センターは質量分析による受託解析事業を立ち上げ、臨床研究支援に取り組んでいる。特に低分子化合物のメタボロミクス解析ではトリプル四重極型 LC/MS/MS を用いているが、その際に液体クロマトグラフィー (LC) 部におけるカラムの特性が感度、正確さ、再現性に重要である。本研究では、内分泌かく乱作用を有するノニルフェノールの LC/MS/MS 測定におけるカラムに起因する感度の増大現象を見出し、詳細に検討した。

2. 方法

①トリプル四重極型 LC/MS/MS (島津製作所 LCMS-8050) を用いて 4-n-ノニルフェノール (ノーマル体) 標準品の SCAN を行い、MRM トランジションを最適化した。さらに、最適化した条件を用いて複数の C18 カラムによる LC-MS/MS 測定メソッドを構築した。

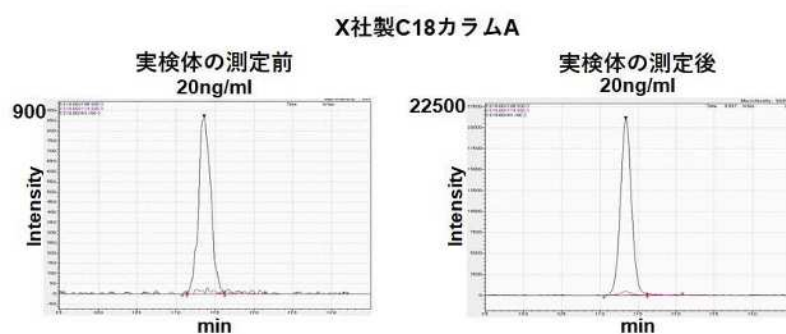
②構築した LC-MS/MS 測定系により、4-n-ノニルフェノール標準品 (2ng/ml~2000ng/ml) を用いて検量線を作製した。

3. 結果

①LC 部として X 社製 C18 カラム A を用いて 4-n-ノニルフェノール標準品の MS 測定による検量線作製を行い、2ng/ml~2000ng/ml の範囲で直線性を確認した。

②C18 カラム A では、高濃度の実検体由来サンプルを測定した後に 4-n-ノニルフェノール標準品を測定すると、実検体測定前と比較して MS ピーク強度が 10 倍以上に増大した (図. 1)。同一メーカー製の C18 カラム B では、同様の処理でやはり MS ピーク強度は 3~4 倍に増大した。

③Y 社の C18 カラム C を用いて同様の 4-n-ノニルフェノール標準品の測定を行うと、実検体由来のサンプルを測定した後にも MS ピーク強度の変化は見られなかった。



4. 考察

本研究において見出された、実検体由来のサンプルを供した後に、4-*n*-ノニルフェノール標準品の MS ピーク強度が増大する現象は、X 社の C18 カラムでのみ観察された。このことからメーカー間の C18 カラムの残存シラノール基のエンドキャップ処理の違いに起因することが考えられた。

しかしながら、低濃度のサンプルでも高濃度のサンプルでも MS シグナル強度の増大率がほぼ一定であることから、単にカラム担体への非特異的な吸着が実検体成分でブロックされたというだけでは説明できず、本現象の原因についてはさらなる検討が必要である。