ACQUITY UPLC I-Class: LC/MS/MSの定量範囲を拡張するためのキャリーオーバの抑制

目的

LC/MS/MSの分析において、ダイナミックレンジ4桁以上の定量性が必要とされる場合にも、キャリーオーバが検出限界以下に抑えられることを実証します。

背景

今日の質量分析計は、定量限界がオンカラム注入量でagレベルまで向上、5桁ものダイナミックレンジを有する高感度な装置となっています。さらにこの質量分析計のパフォーマンスを最大限活用するためには、LCシステムのキャリーオーバを最小限に抑えることが必要となります。FDAの法規制による生体試料中薬物濃度測定の分析法バリデーションでは、検量線の最も高濃度の標準溶液を注入した後のキャリーオーバは、最低濃度の標準溶液を測定した結果の20%以下と規定されています※1。従って、4桁のダイナミックレンジを確保するには、キャリーオーバを0.002%以下に抑える必要があり、ダイナミックレンジを4桁以上に拡大する場合には、さらにキャリーオーバを抑えなくてはなりません。一般に質量分析計への注入絶対量が少なくなると、キャリーオーバの原因がカラムよりも分析システムからのコンタミネーションへと変化します。従って、インジェクター、配管および分析カラムを注入ごとに洗浄し、システムに残存した分析サンプルを除去することのできるLCシステムおよびメソッドが必要とされます。

ACQUITY UPLC I-ClassシステムにXevo TQ-Sを接続し、オメプラゾールの分析を行った結果、4桁以上のダイナミックレンジを確保しながら、キャリーオーバを0.0005%以下に抑えることができました。

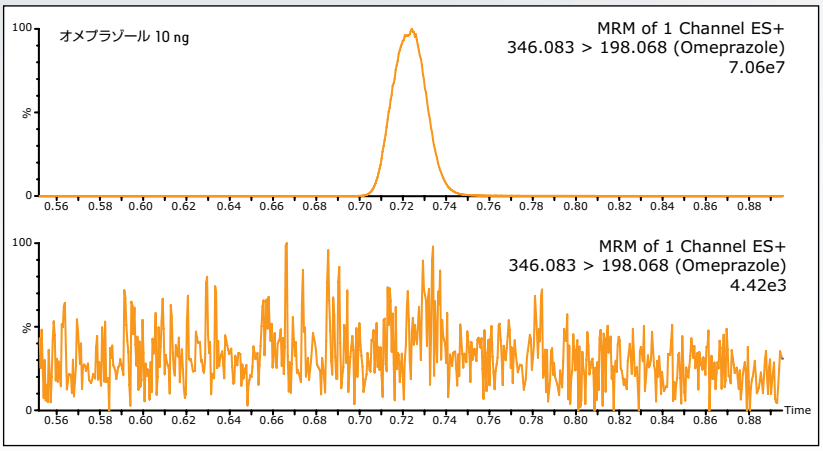

図 1. 最も高濃度の10 ng/mLの標準溶液を注入した後にブランク溶媒を注入したところ、キャリーオーバは全く検出されませんでした。

ソリューション

Xevo TQ-SはLC/MS/MS分析のための高感度な質量分析計です。インレットに用いるUPLCシステムは、Xevo TQ-Sの幅広いダイナミックレンジに適応するよう、キャリーオーバを抑える必要があります。ACQUITY UPLC I-Classシステムには、固定ループ方式(SM-FL)とフロースルーニードル方式(SM-FTN)の2種類のサンプルマネージャの選択肢があり、いずれもキャリーオーバの抑制を考慮して設計されています。

今回は、SM-FTNを用いてオメプラゾールの分析を行いました。SM-FTNはニードルが移動相の流路の一部となっており、ニードル内部は分析中に常時移動相溶媒で洗浄されています。ニードルの外側はインジェクションポートの中で洗浄溶媒により洗浄されますが、この時、洗浄溶媒がサンプルや移動相と接触しないように設計されています。ニードルとシール部分は接触面で同時に洗浄することにより、コンタミネーションを防いでいます。洗浄時間は分析条件設定の際に自由に決めることができ、注入前・注入後などの洗浄のタイミングも選択することができます。分析サンプルの溶解性の高い溶媒を洗浄溶媒として選択することで、効果的な洗浄が可能になります。pKa 8.8のオメプラゾールに関しては、水酸化アンモニウムを含む溶媒が洗浄溶媒として適しており、水酸化アンモニウムを移動相として用いた場合さらに、キャリーオーバを抑えることができました。塩基性条件にすることで、オメプラゾールのイオン化効率も向上しました。キャリーオーバを評価するために、最も高濃度の標準溶液10 ng/mL(オンカラム注入量10 pg)を注入した後、ブランク溶媒の注入を行いましたが、キャリーオーバは認められませんでした(図1)。キャリーオーバは質量分析計による検出限界を下回り、0.0005%未満の値となりました。Xevo TQ-SとACQUITY UPLC I-Classシステムを用いたオメプラゾールの分析について、オンカラム注入量500 ag～10 pgの範囲で1/xの重みづけをして作成した検量線を図2に示しました。相関係数0.99997という良好な直線性が得られています。

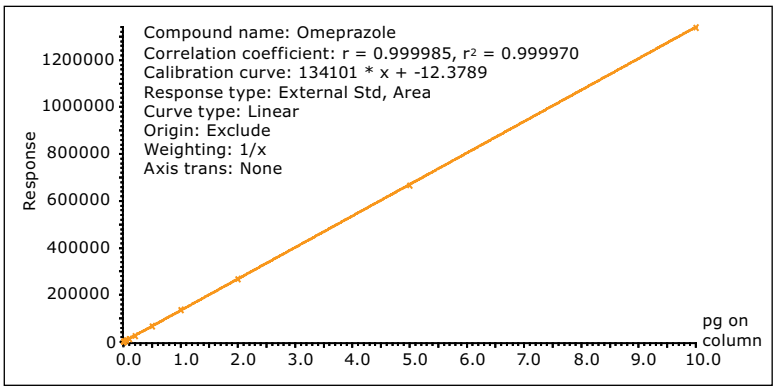

図 2. オメプラゾールの検量線を作成した結果。500 fg/mL～10 ng/mL(オンカラム注入量500 ag～10 pg)の範囲での直線性が認められました。

まとめ

ACQUITY UPLC I-Classシステムは、キャリーオーバが大幅に低減され、ダイナミックレンジ4桁以上の定量性が求められる高感度LC/MS/MS分析の要求に応えることのできるシステムとなっています。オメプラゾールの分析において、Xevo TQ-Sでは0.0005%を超えるキャリーオーバは検出されませんでした。キャリーオーバを大幅に低減したことにより、500 fg/mL～10 ng/mL(オンカラム注入量500 ag～10 pg)という広い範囲での定量性が確保されました。

参考文献

※1 http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf

適用規格：JISQ9001：2008（ISO9001：2008）
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、ACQUITY UPLC、ACQUITY および UPLC は Waters Corporationの登録商標です。The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第５小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡

©2011 Waters Corporation. Produced in Japan. 2011年6月 720003946JA PDF