

LC-QTOF-MSによる血漿中界面活性剤のスクリーニング



○ 須賀 香屋子（サイエックス アプリケーションサポート部）

ABSTRACT

本研究では、医療現場や食品の異物混入事故を想定した迅速な分析法の確立を目的とし、LC-QTOF-MSによる合成洗剤中の未知物質スクリーニングの同定評価を行った。さらに検出された成分を基に作成した予想成分リストによるターゲット解析も合わせて行い、SCIEX X500R QTOF Systemによる分析評価を行ったので報告する。

INTRODUCTION

IDA (Information Dependent Acquisition)測定法はMSとMS/MSを同時に取得する高速、高分解能、高質量精度な分析法であり、1度の測定でサンプル中に含まれる化合物の質量情報を大量に得ることができる効率良い測定法である。得られたデータは、定量だけでなく既知の薬物リストを用いたターゲットスクリーニングや未知成分を検出する未知物質スクリーニングに対応しており、その解析を効率良く行うソフトウェアの機能性も重要である。

本研究では、定性、定量性能を兼ね備えたSCIEX X500R QTOF Systemを用いてIDAを行った。解析はこの装置と共に開発されたSCIEX OS Softwareを用い、未知物質スクリーニングでは、クロマトグラム抽出とそのピークのMSおよびMS/MSの組成解析とChemSpiderサーチによる自動検索後、ChemSpiderが示した構造とMS/MSとの比較により最終的にその構造を推定した。さらに検出された成分を基に作成した類縁体の予想成分リストによるターゲット解析を行い、クロマトグラム抽出とMSおよびMS/MSに基づく自動判定結果(モノアイントピック質量の精度、同位体比、保持時間、組成解析)により検出の有無を確認した。

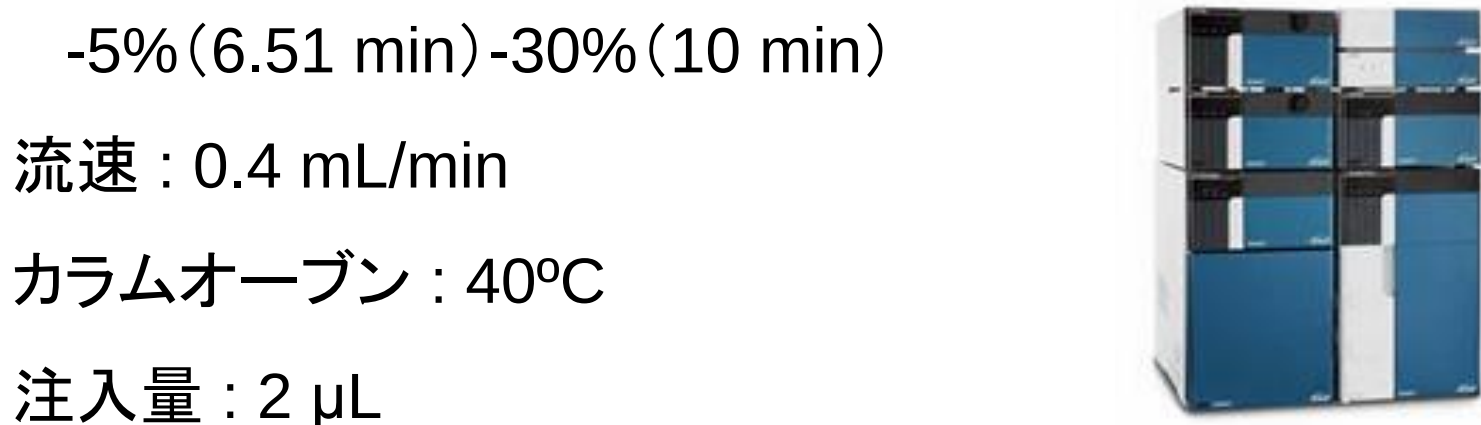
MATERIALS AND METHODS

測定試料

市販の合成洗剤や消毒薬、計3種類を混合して水にて系列希釈し、前処理済実験用血漿に添加して調製した(洗剤希釈液:実験用血漿=1:9)。

LC

システム : ExionLC™ AD (SCIEX)
カラム : CAPCEL PAK C18 HP 2.1*50mm (Shiseido)
移動相 : A: 10mM 酢酸アンモニウム水溶液
B: アセトニトリル
B : 30%(0 min)-95%(4 min)-95%(6.5 min)
-5%(6.51 min)-30%(10 min)
流速 : 0.4 mL/min
カラムオープン : 40℃
注入量 : 2 μL



Software

SCIEX OS Software (SCIEX)

Information Dependent Acquisition method (IDA)

Survey ScanのTOF-MSを取得しながら、TOF-MSで一定以上の感度があるもののMS/MSを取得。DBS機能の併用により、TOFMS後、不要なバックグラウンドノイズや同じピークを重複してMS/MSせず、強度の強いピークのLC上のピークトップでMS/MSを測定することが可能。

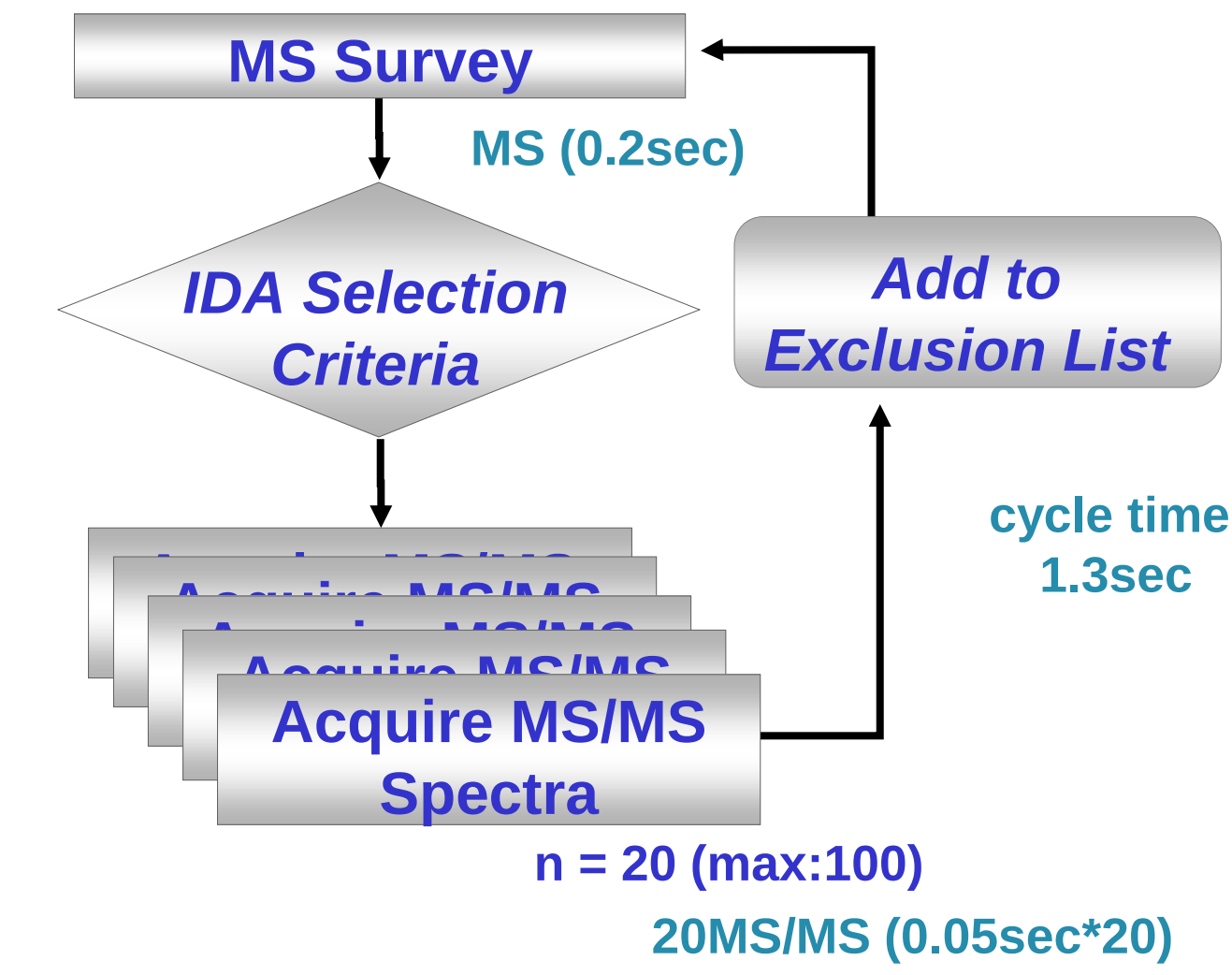


Figure3 IDA workflow

RESULT

Non-target Screening

サンプルとコントロールデータとの自動比較解析により観測したサンプル優位な複数成分について組成式およびその構造を確認した。その結果、Negative Modeでは陰イオン界面活性剤であるAES(ポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩)やLAS(直鎖アルキルベンゼンスルホン酸)由来の成分を、一方Positive Modeでは陽イオン界面活性剤であるBAC(塩化ベンザルコニウム)由来の第四級アンモニウムカチオンを、それぞれ複数観測した(Figure5, 6, 7, 8)。

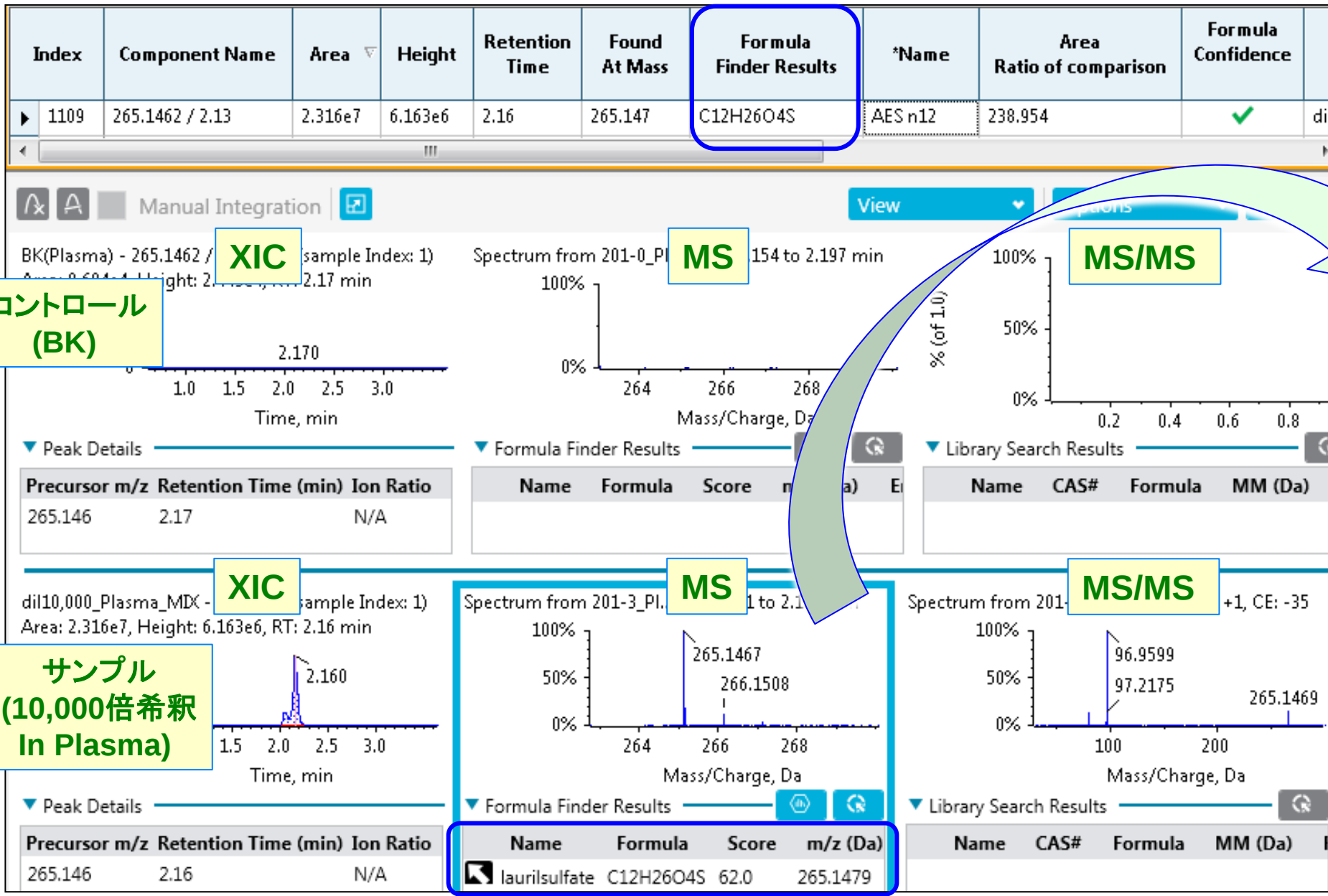


Figure5 未知物質スクリーニング自動比較&組成解析 (Negative Mode) m/z 265.15 (2.2min) は組成式C12H26O4Sと自動判定

MS

システム : X500R QTOF System (SCIEX)
イオン化法 : ESI (Positive / Negative Mode)
測定モード : Information Dependent Acquisition method (IDA)
Mass Range: MS: m/z: 30-1000
Product Ion : m/z: 30-1000
CE: 35V, CES 15V,
IDA criteria: Most 20-Intence and DBS ON
Cycle Time: 1.3sec
Spray Voltage : 5500 / -4500 V
Temperature : 500℃
Run Time : 10 min

Figure2 SCIEX X500R QTOF System

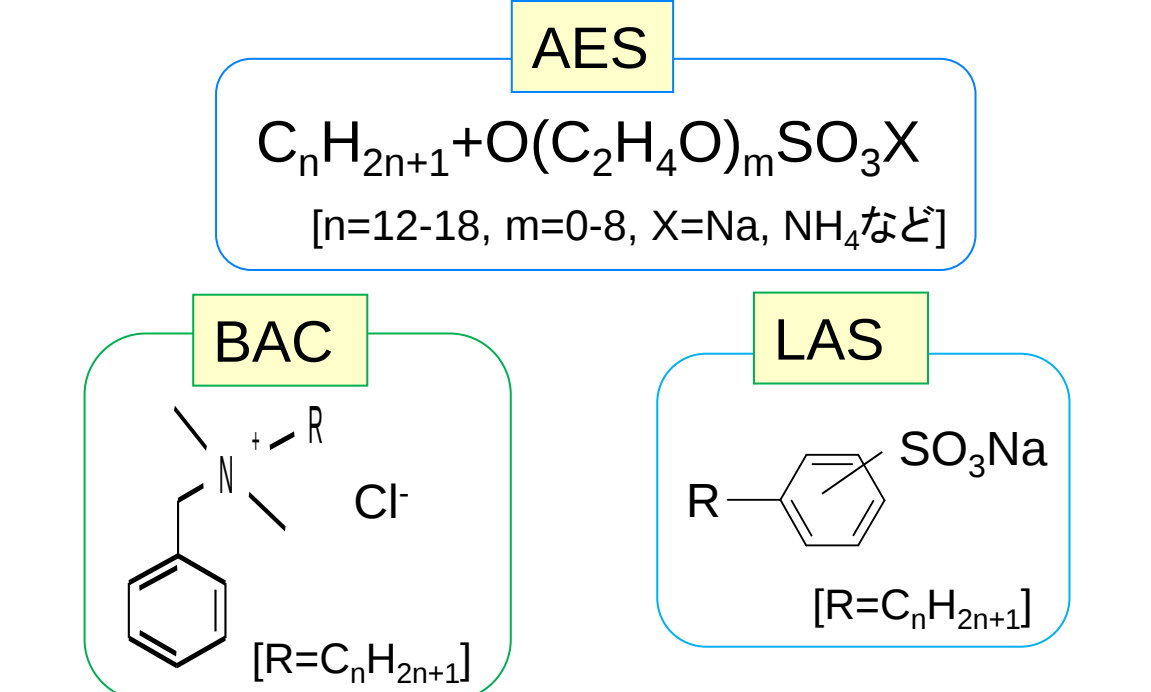


Figure4 AES, BAC, LASの一般的構造式

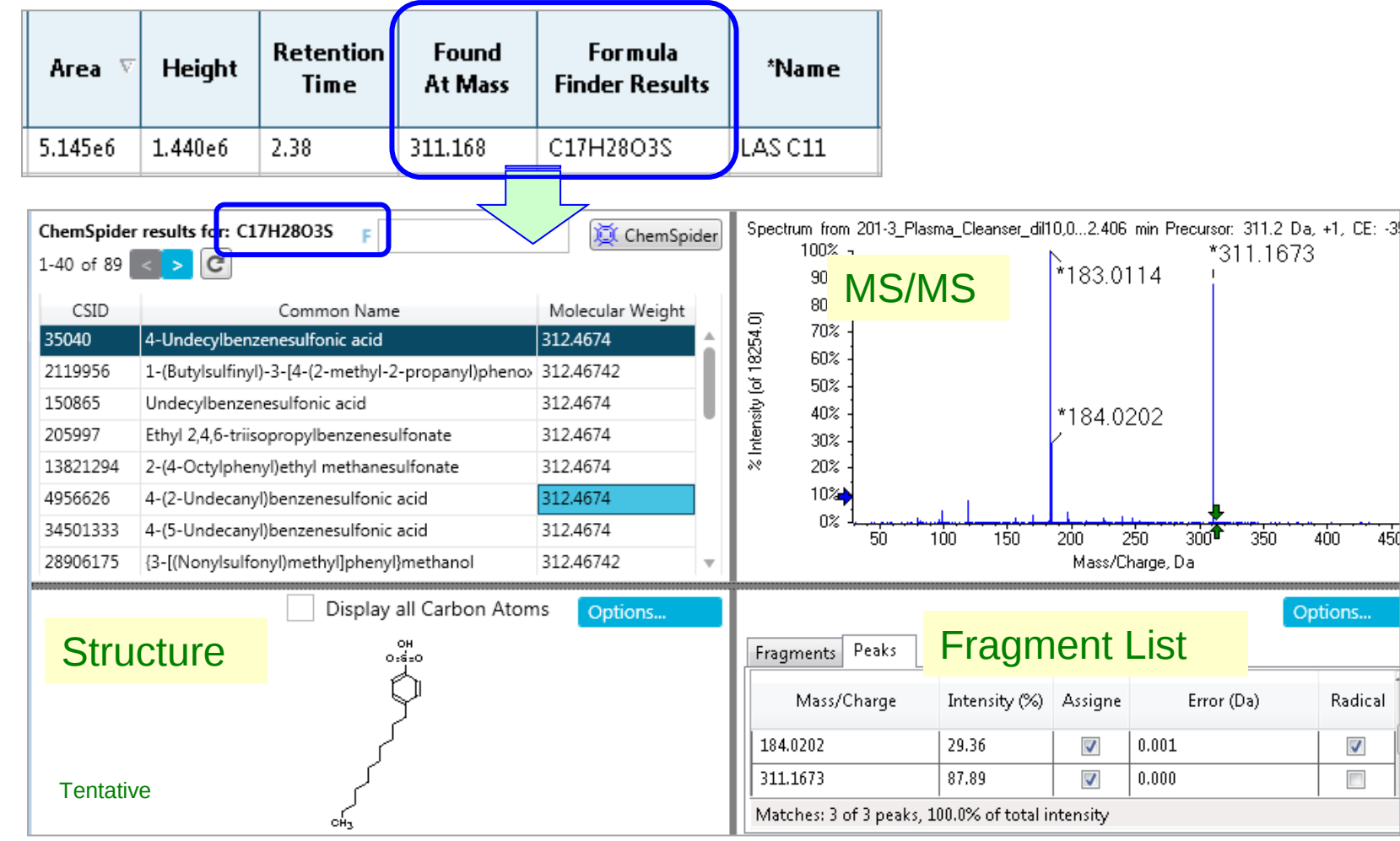


Figure7 LAS C11の構造解析 (m/z 311.17, 2.4min) (Negative Mode)

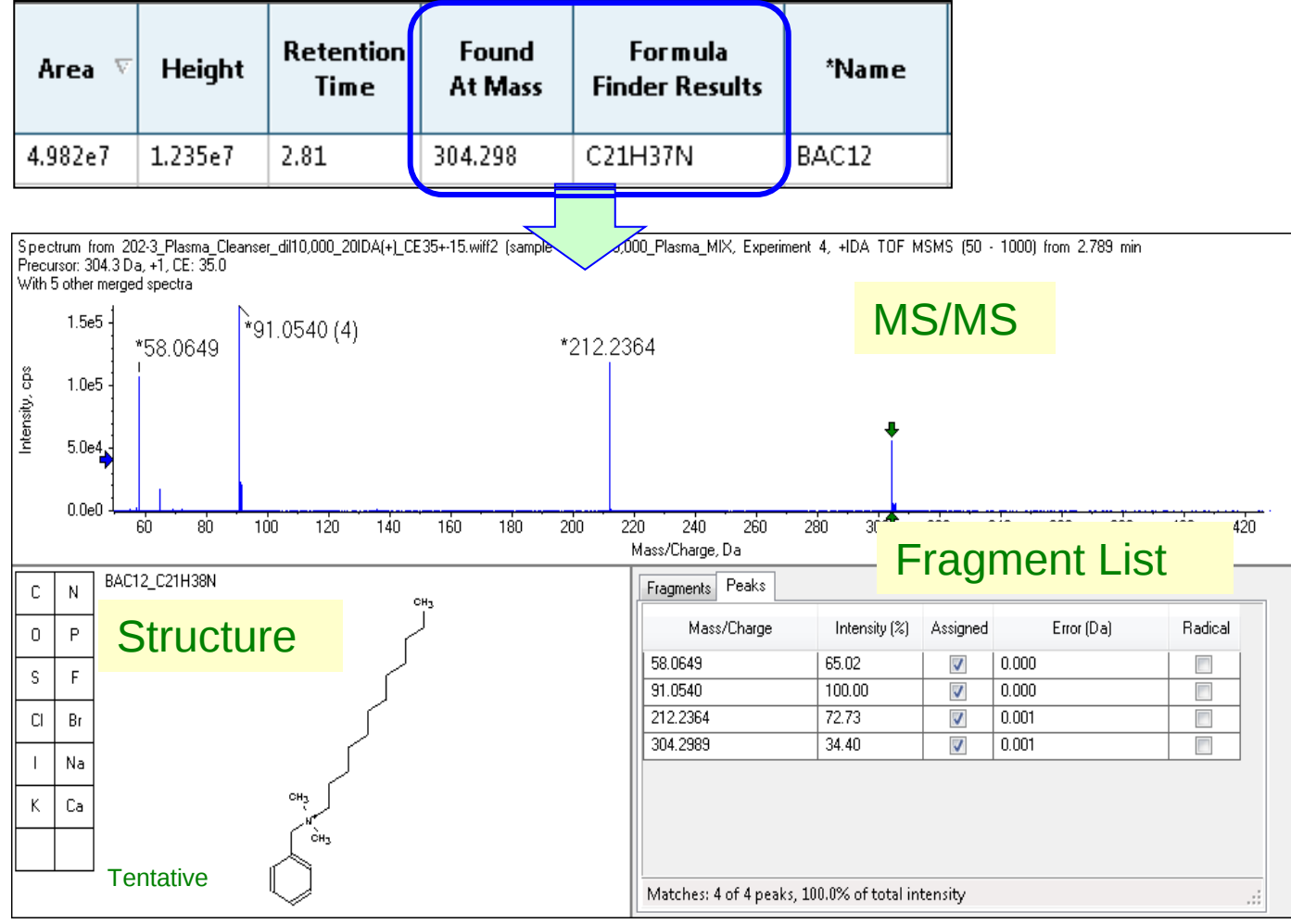


Figure8 BAC 12の構造解析 (m/z 304.30, 2.8min) (Positive Mode)

リバース検索による硫酸イオンを持つ成分の網羅的検出 (Negative Mode)

フラグメントイオンm/z 96.96に着目をしてリバース検索を行い、硫酸イオンを持つ成分の網羅的検出を試みた。その結果、全3567ピーク中48ピークを抽出し、そのうち強度の強い成分を解析したところm/z 353.20 (2.5min)はAES n12, m2であることが推定された(Figure9, 10)。

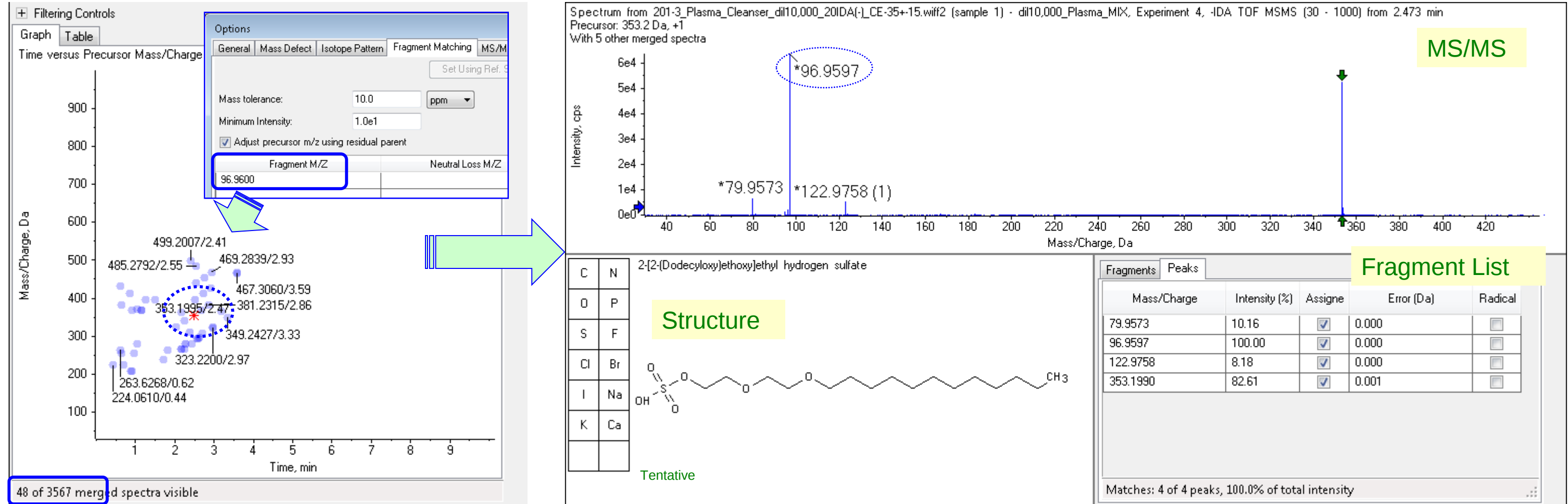


Figure9 硫酸イオンを持つ成分の網羅的検出 (全3567ピーク中48ピークを抽出)

Target Screening

未知物質スクリーニングで観測したAES、LAS、BACの情報を基に、予想される関連成分の組成式をリスト化してターゲット解析を行った。その結果、Positive Modeでは、BAC由来の第四級アンモニウムカチオンR=12、14、16、18となる成分を、一方、Negative ModeではAES関連物質が最も多く、LAS、BAC由来の塩化物イオンも確認した(Figure11, 12, 13, Table)。

【サンプル (10,000倍希釈 in Plasma)】



Figure11 ターゲットスクリーニングによるBAC C12-C18検出結果 (Positive Mode)

(MS: 青:実測値、グレー:理論パターン)
(ターゲットリストによる判定・精度、同位体比、保持時間、組成解析)

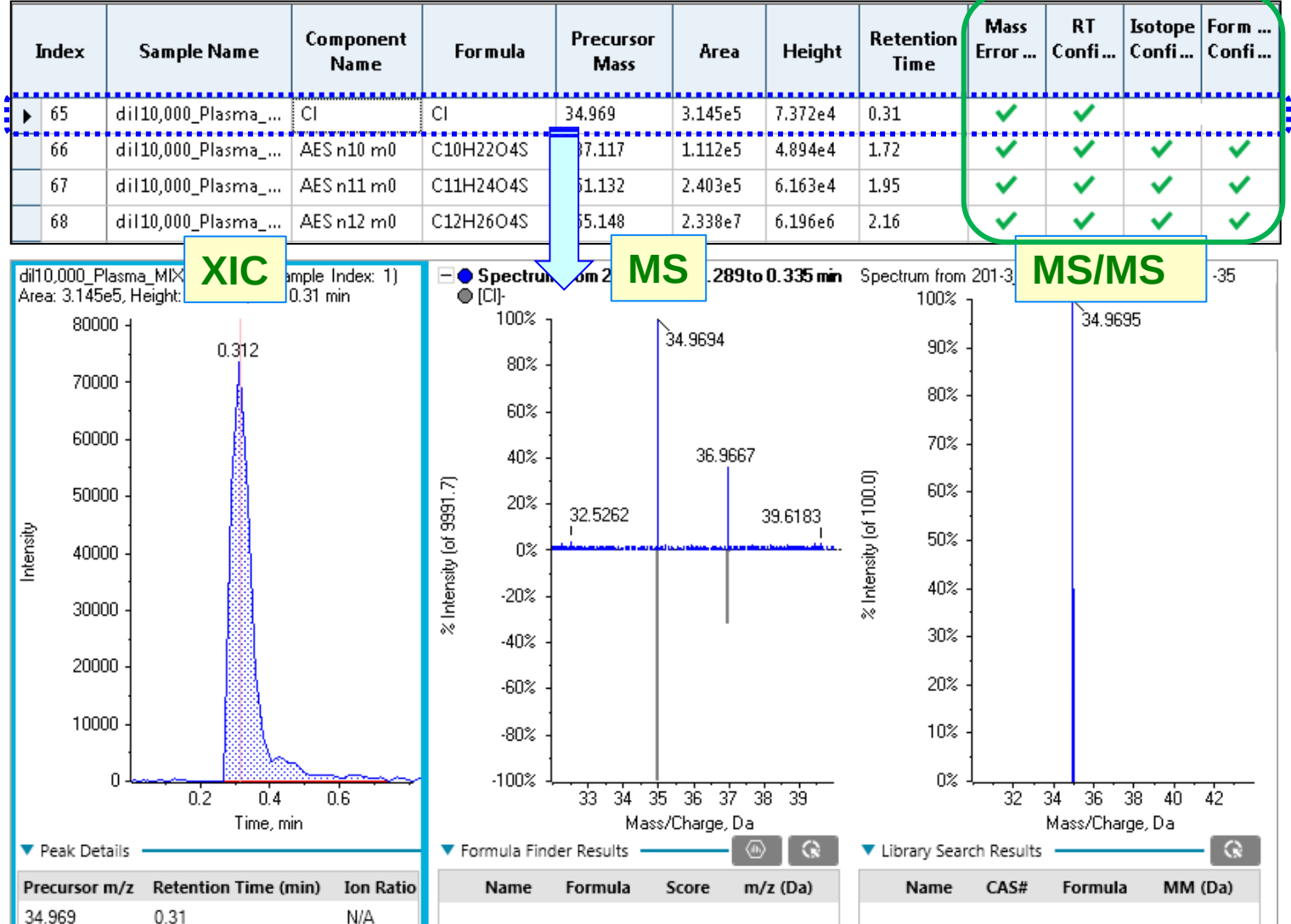


Figure12 ターゲットスクリーニングによる塩化物イオン検出結果 (m/z 34.97, RT 0.3min) (Negative Mode)

(MS: 青:実測値、グレー:理論パターン)
(ターゲットリストによる判定・精度、同位体比、保持時間、組成解析)

Index	Sample Name	Component Name	Formula	Precursor Mass	Area	Height	Retention Time	Mass Error...	RT Conf...	Isotope Conf...	Form...
1	N	Cl		34.969	3.145e5	3.732e4	0.31	✓	✓		
2	N	AES n10 m0	C18H22O4S	237.117	1.112e5	4.894e4	1.72	✓	✓	✓	✓
3	N	AES n11 m0	C19H24O4S	251.132	2.403e5	6.163e4	1.95	✓	✓	✓	✓
4	N	AES n12 m0	C20H26O4S	265.148	2.339e7	6.186e6	2.16	✓	✓	✓	✓
5	N	AES n13 m0	C21H28O4S	279.164	1.169e7	1.810e6	2.32	✓	✓	✓	✓
6	N	AES n14 m0	C22H30O4S	293.179	5.939e6	2.440e6	2.58	✓	✓	✓	✓
7	N	AES n15 m0	C23H32O4S	307.195	4.894e6	8.832e5	2.74	✓	✓	✓	✓
8	N	AES n16 m0	C24H34O4S	321.211	6.607e5	3.459e5	2.97	✓	✓	✓	✓
9	N	AES n17 m1	C19H24O5S	309.174	4.909e6	1.786e6	1.37	✓	✓	✓	✓
10	N	AES n13 m1	C19H24O5S	323.189	1.149e6	4.145e5	2.58	✓	✓	✓	✓
11	N	AES n14 m1	C19H24O5S	337.205	1.119e6	4.814e5	2.79	✓	✓	✓	✓
12	N	AES n15 m1	C17H26O5S	351.221	4.401e4	1.309e4	3.22	✓	✓	✓	✓
13	N	AES n16 m1	C18H28O5S	365.237	2.221e4	9.169e3	3.17	✓	✓	✓	✓
14	N	AES n12 m2	C18H24O4S	353.200	3.221e6	1.231e6	2.47	✓	✓	✓	✓
15	N	AES n13 m2	C17H26O4S	367.216	1.234e6	4.853e5	2.67	✓	✓	✓	✓
16	N	AES n14 m2	C18H28O4S	381.232	6.855e5	2.519e5	2.88	✓	✓	✓	✓
17	N	AES n15 m2	C20H30O4S	409.263	9.559e3	3.762e3	3.25	✓	✓	✓	✓
18	N	AES n16 m2	C19H28O4S	397.227	1.789e6	7.899e5	2.52	✓	✓	✓	✓
19	N	AES n13 m3	C18H24O5S	412.242	8.876e5	3.431e5	2.72	✓	✓	✓	✓
20	N	AES n14 m3	C20H30O5S	425.258	3.717e5	1.447e5	2.92	✓	✓	✓	✓
21	N	AES n15 m3	C21H32O5S	442.253	8.979e5	4.121e5	2.54	✓	✓	✓	✓
22	N	AES n13 m4	C21H32O5S	455.268	4.307e5	1.336e5	2.74	✓	✓	✓	✓
23	N	AES n14 m4	C22H34O5S	469.284	1.739e5	6.601e4	2.94	✓	✓	✓	✓
24	N	AES n12 m5	C22H34O5S	485.279	4.910e5	2.819e5	2.56	✓	✓	✓	✓
25	N	AES n14 m5	C23H36O5S	499.295	2.666e5	1.146e5	2.76	✓	✓	✓	✓
26	N	AES n14 m5	C24H38O5S	513.310	1.040e5	3.389e4	2.96	✓	✓	✓	✓
27	N	LAS C8	C14H22O3S	269.122	9.232e3	3.931e3	1.56	✓	✓	✓	✓
28	N	LAS C9	C15H24O3S	283.137	4.362e4	1.111e4	1.86	✓	✓	✓	✓
29	N	LAS C10	C16H26O3S	297.153	8.308e5	1.645e5	2.18	✓	✓	✓	✓
30	N	LAS C11	C17H28O3S	311.169	5.212e6	1.469e6	2.38	✓	✓	✓	✓
31	N	LAS C12	C18H30O3S	325.184	3.534e6	1.177e6	2.58	✓	✓	✓	✓
32	N	LAS C13	C19H32O3S	339.200	3.129e6	1.091e6	2.79	✓	✓	✓	✓

Table ターゲットスクリーニングの結果一覧 (Negative Mode)

(ターゲットリストによる判定・精度、同位体比、保持時間、組成解析)

CONCLUSIONS

未知物質スクリーニングにより含有する種々の界面活性剤を検出、同定した。また同じデータを使い、リバース検索や、予想される成分リストによるターゲット解析も合わせて行い、類縁体の検出も可能であった。

膨大な情報が得られるIDA測定と様々な解析を組み合わせることで、他分析にも応用可能であることが示された。

TRADEMARKS/LICENSING AB Sciex is doing business as SCIEX.

© 2017 AB Sciex. For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license. AS 10- 585 A