

## Part 8 ..... 光イオン化のためのAPPIドーパント溶媒とポストカラム添加物

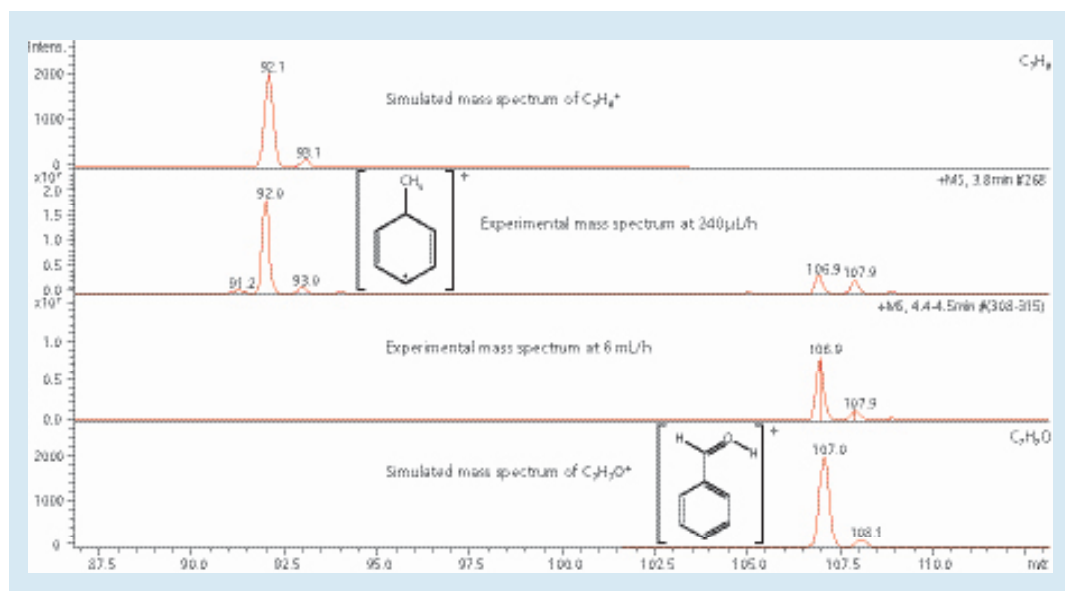
APPI (大気圧光イオン化) ドーパントはAPPIイオン源でのイオン化を可能にし、イオン化促進をします。それらは、toluene、acetone、anisole、chlorobenzeneなどの物質が含まれます。ドーパントが気相に高濃度であると、APPIイオン源のイオン化キャビティーの中に取り込まれます。そこでは、UV放射により、ドーパント分子が多くのフリーラジカルと分子イオンになります。次に他の分子はドーパントからの電子転移または、プロトン転移によって、イオン化されます。

UVランプからの光子エネルギーレベルより高いイオン化エネルギーを持つ化合物はドーパントを必要とし、ドーパントが無い化合物の電荷が発生せず、質量分析計への導入が出来ません。しかし、APPIイオン源で直接に分析できる化合物においても、ドーパントの利用で有効な場合があります。ドーパントはイオン化した目的分子数を増加させる[1-4]ので、強度、感度を改善します。

### APPIシグナルを促進するドーパント

典型的で、特徴的なドーパントを使用した応用例はTolueneに溶解したBenzaldehydeイオン化です。benzaldehydeはESIではイオン化せず、ドーパント無しではAPCI、APPIにおいてもやはり結果は良くありません。従って、APPIイオン源とドーパントの組み合わせがbenzaldehydeを分析する唯一の最適な方法となります。実験方法として、ここでは、benzaldehyde溶液をAPPIイオン源に直接にシリンジポンプ注入しました。結果、低流速(240  $\mu\text{L}/\text{hour}$ )の計測では、ポジティブのtolueneラジカル( $[\text{M}(\text{C}_7\text{H}_8)]^+$  = 92.06 amu)が形成されました。Figure 1. 上段は計算値のMSスペクトラです。流速を6 mL/hourまで増加させると、tolueneラジカルとなり(電荷を持たず)、MS検出はされません。又、プロトン転移でのbenzaldehydeのイオン化をします。これはFigure 1.下段の計算値と実験から得られた結果で分かります。APPI装置内でのドーパント(単一成分または混合物)の最適化は移動相もしくはネブライザーガス中のドーパントの存在率に依存します(APPIイオン源に直接に導入された場合の存在率)。残念ながら、イオン源のデザインはメーカー毎に異なり、その存在要因も装置種類毎に変わります。

Figure 1 .....  
Mass spectra of an acetaldehyde solution in toluene at 2 different flow rates



Mass spectra of an acetaldehyde solution in toluene at 2 different flow rates. The solution is directly infused into the APPI source with a syringe pump. The upper spectrum was obtained at a flow rate of 240  $\mu\text{L}/\text{h}$ . The primary mass of  $m/z=92.0$  amu agrees with a charged toluene radical. Increasing the flow rate to the maximum of 6 mL/h changes the mass spectrum significantly as there is only the protonated benzaldehyde molecule observed. High flow rates support the proton transfer reaction of the charged toluene radical to benzaldehyde and other molecules decreasing the number of the charged toluene molecules nearly to zero.

### 要求されるドーパントの純度

ドーパントは目的物質のマススペクトラム強度を促進することが出来る、一方、不要な不純物スペクトラムも増加します。ドーパント内の微量な不純物は目的物質のイオン化抑制効果をもたらしたり、ノイズの増やす結果となります。Figure 2.は高純度toluene中のbenzaldehyde溶液とanisoleがコンタミネーションした場合のマススペクトラムです。

### 順相条件LC-MS分析でのドーパント利用の利点

Electrosprayイオン化(ESI)は薬剤や代謝物質のような多くの極性化合物の分析に用いられ、逆相条件下で非常に高感度なイオン化方法です。しかし、もし順相条件で分離を行

うなら、イオン源をESIからAPCIやAPPIに変えるべきでしょう。何故なら非極性有機溶媒中ではESIが必要とする目的物質のイオン解離は起きないからです。目的物質の荷電はコロナ放電やUV放射によって発生させる必要があります。MS検出で順相条件が用いられるとしたらFigure 3.(キラル固定相P-CAP-DPによるwarfarinエナンチオマーの分離)に示すAPPIイオン源とtolueneドーパントを組み合わせたシグナル促進の方法になります。

Figure 2 ..... Spectra of benzaldehyde dissolved in toluene (top) and anisole (bottom)

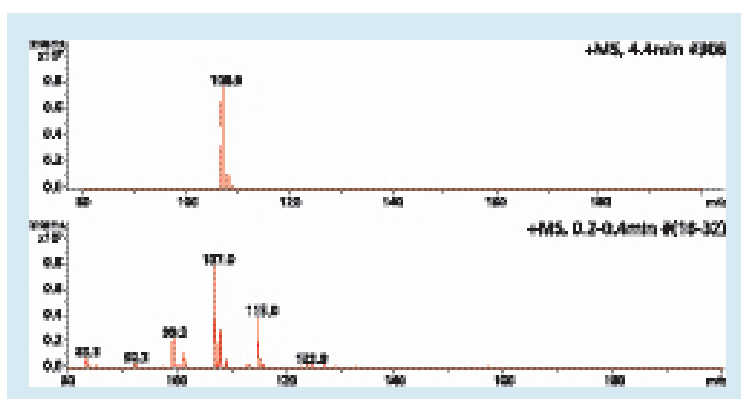
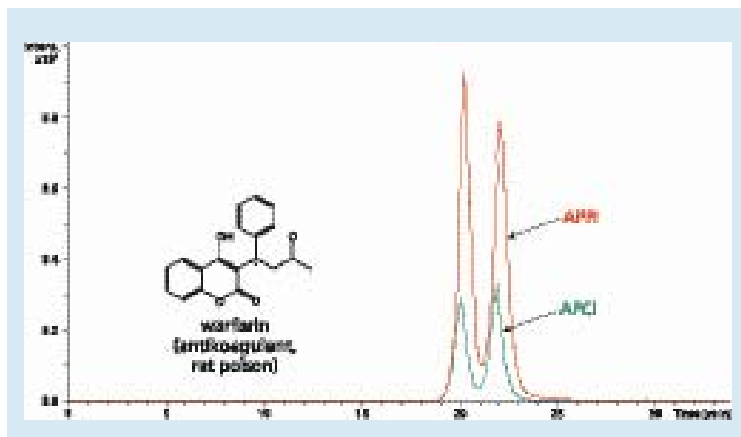


Figure 3 ..... Separation of warfarin under normal phase conditions



Cat. No.	Brand	Description	Package Size
650579	Aldrich	Toluene CHROMASOLV® Plus, for HPLC, ≥ 99.9%	1 L, 4 L
650501	Aldrich	Acetone CHROMASOLV® Plus, for HPLC, ≥ 99.9%	1 L, 4 L
270644	Aldrich	Chlorobenzene CHROMASOLV® Plus, for HPLC, 99.9%	100 mL, 1 L, 2 L, 4 L
96109	Fluka	Anisole puriss. p.a., standard for GC, ≥ 99.9%	5 mL, 10 mL

toluene中(上段)とanisole中(下段)のbenzaldehydeのマススペクトラム。それぞれ100 μL/mL 濃度。シリンジポンプにより流速は 6 mL/hour とし、benzaldehydeのイオン化条件を最適化した。anisoleのケースにおいては、ドーパント中の不純物由来の付加シグナルがマススペクトラムに現れています。

### Conditions:

Column: Astec P-CAP DP, 25 cm x 4.6 mm, 5 μm packing (Cat. No. 35024AST)  
 Mobile phase: heptane:ethanol (0.1% ammonium acetate, formic acid), 95:5  
 Flow rate: 0.8 mL/min.  
 Temperature: 50°C  
 Sample: 3 μL, warfarin 1 mg/mL

### Method:

Astec P-CAP DP (4.6–250 mm, 5 μm) heptane/ethanol (0.1% ammonium acetate, formic acid), 95:5, isocratic, T=50°C conz.  
 1 mg/mL, inject. vol. 3 μL

### References

- [1] Robb, D.; Covey, T.; Bruins, A. *Anal. Chem.* 2000, 72 (15), 3653–3659.
- [2] Kauppila, T.; Kostianen, R.; Bruins, A. *Rapid Comm. Mass Spec*
- [3] Cai, S.; Hanold, K.; Syage, J. *Anal. Chem.*, 2007, 79 (6), 2491–2498.
- [4] Syage, J.; Hanold, K.; Lynn, T.; Horner, J.; Thakur, R. *J.Chromatogr. A* 2004, 1050, 137–149.