

LC/TOF-MS によるポリエチレングリコール (PEG) の分析



Author

林 慶子

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ポリエチレングリコール (PEG) は医薬品などとして用いられるだけでなく、疎水性化合物と結合させて界面活性剤として用いたりタンパク質と結合させて安定化させたり様々な用途に用いられます。

本アプリケーションノートでは、幅広い重合度の PEG 標準物質を LC/MS で分離、検出しました。分子量 1500 程度までの低分子 PEG では重合度ごとに分離され、アンモニウム付加イオンとして検出されました。組成推定を行うと重合度の異なる PEG であることが分かりました。高分子 PEG では一つのピークとして溶出し多価イオンとして検出することが可能でした。デコンボリューションにより平均分子量を算出することが可能でした。

Key words : ポリエチレングリコール、LC/TOF-MS

システム

Agilent 1260 Infinity II Prime LC
 1260 Infinity II クォータナリポンプ (G7104B)
 1260 Infinity II バイアルサンプラ (G7129A)
 ICCオプション付き
 6230 Accurate-Mass TOF (G6230BA)
 MassHunter workstation B07.00
 Mass Hunter BioConfirm B07.00

分析試料としてEasiVial PEG (PL2070-0201) に1 mLの超純水を加え、試料としました。

表1. EasiVialの各バイアルに含まれるPEGの平均分子量

赤	黄	緑
282	194	106
1,000	600	400
7,000	4,000	1,500
30,000	20,000	13,000



分析条件

表2. 逆相HPLC条件

HPLC	RP
カラム	Agilent InfinityLab, Poroshell HPH-C8, 2.1x150 mm, 2.7 μm (PN:693775-706)
移動相A	10 mM酢酸アンモニウム
移動相B	アセトニトリル
移動相C	IPA/アセトン=1/1
流速	0.4 mL/min
注入量	0.2 μL
カラム温度	30°C

表3. グラジエント条件

min	%B	%C
0	10	5
20	45	5

表4. SEC条件

HPLC	SEC
カラム	PL Multisolvant 20, 4.6x150 mm, (PN:PL1515-3321)
移動相A	10 mM酢酸アンモニウム
移動相B	アセトニトリル
A:B	50:50 isocratic
流速	0.35 mL/min
注入量	0.2 μL
カラム温度	30°C

表5. LC/MS条件

TOF	
イオン源	Dual AJS ESI
乾燥ガス温度	300°C
乾燥ガス流量	8 L/min
ネブライザ	50 psi
シースガス温度	350°C
シースガス流量	12 L/min
キャピラリ電圧	3500V
ノズル電圧	1000V
フラグメンター電圧	120V

結果

① 逆相分離の結果

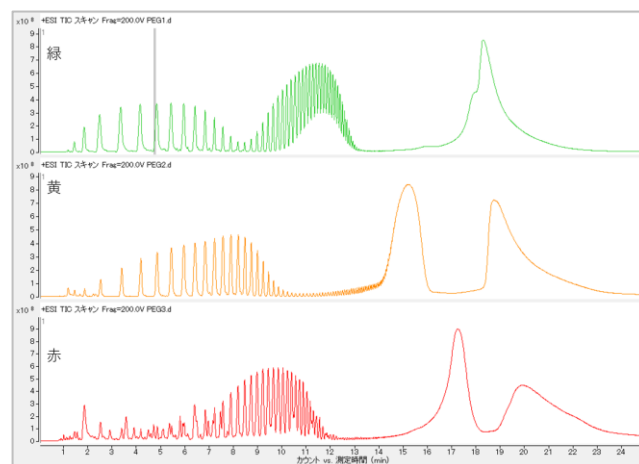


図1. 逆相分配HPLC条件におけるクロマトグラム

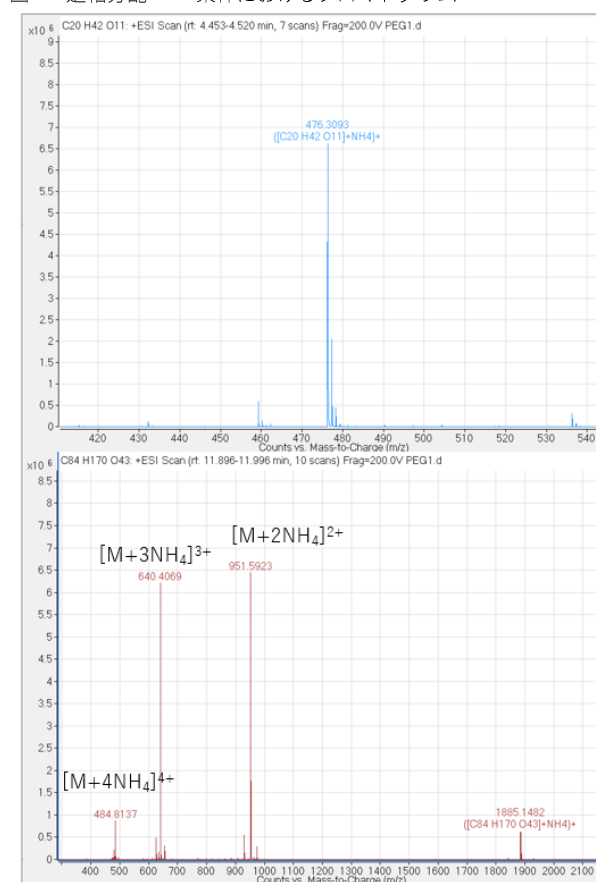


図2. マススペクトル (緑バイアル: 4.5分と11.9分) と組成推定結果 (C20H42O11, C84H170O43のアンモニウム付加体)

図1に3つの試料 (赤、黄、緑) のトータルイオンクロマトグラムを示しました。重合度の低いPEGから順に溶出し、本条件では分子量1500程度のピークは分子種ごとに分離可能でした。高分子PEGは分子量ごとに一つのピークとして溶出しました。

図2に緑バイアルで観測された4.5分及び11.9分のピークのマススペクトルを示しました。4.5分のピークは一価のアンモニウム付加体イオンとして観測されました。組成推定の結果、C20H42O11と推定され、重合度20のPEGであることが示唆されました。11.9分のピークはアンモニウム付加体の1価から4価イオンまで観測され、組成推定の結果C84H170O43と推定され、重合度42のPEGであることが示唆されました。

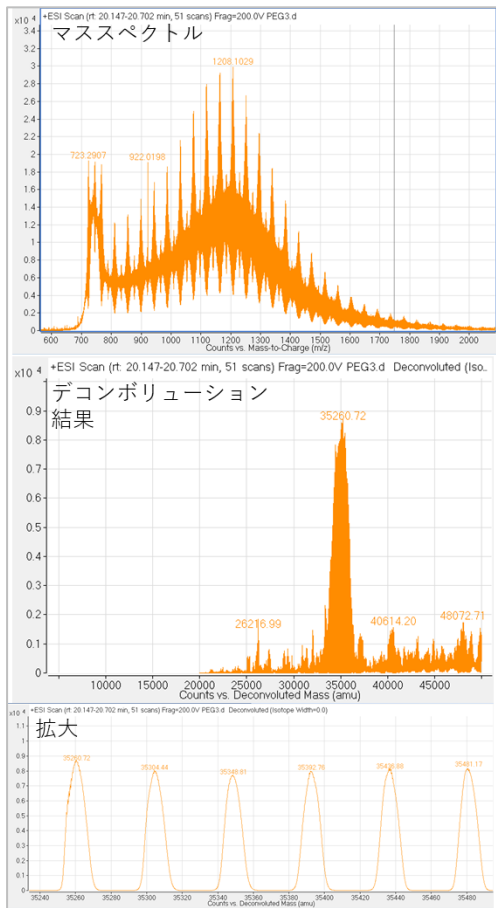


図3. デコンボリューション結果

数千以上の分子量のピークではより多価のイオンが観測されました。分子量が5千を超える高分子PEGを逆相分配で詳細に分離することは困難でしたが、マススペクトルを確認すると図3上段マススペクトルのように多数のPEGが同一保持時間に観測されました。この時のマススペクトルをデコンボリューションすると図3中段に示すデコンボリューション結果が得られ、各ピークの差が44 Daとエチレンオキシドの分子量と一致しました。

② SEC分離の結果

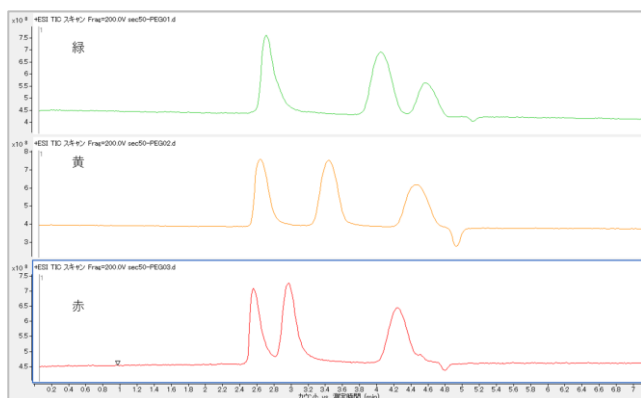


図4. SEC分離のTIC

SEC分離によるTICを示しました。分子量分布を確認することができました。例として緑バイアルのピークのマススペクトルを示しました (図5)

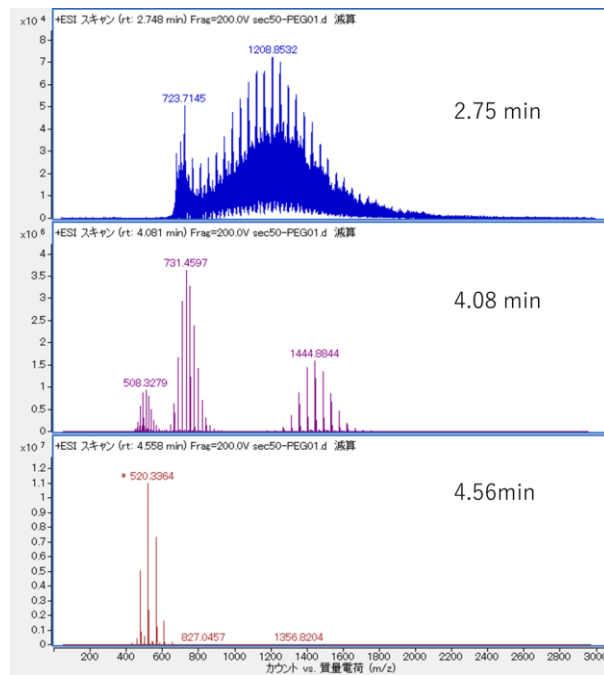


図5. 緑バイアルの各ピークのマススペクトル

まとめ

数百から数万までのPEG標準物質を含むEasiVial PEGを試料に、分離及び検出の確認を行いました。

低分子量のPEGでは、直接組成推定を行うことが可能なため、ポリオキシエチレン構造などを持つ非イオン性界面活性剤の分子種分析にも応用可能です。

分子量5千以上の高分子PEGはLC/MSでは多価イオンとして検出されるため組成推定は困難ですが、デコンボリューションを行うことにより分子量を確認することが可能でした。

測定可能な分子量範囲の比較的広いTOF-MSを使用することにより、高分離のHPLC条件を採用しつつ精密質量情報が得られることで、広範なポリマー (PEG) の分析に応用可能であることを示しました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2019

LC-MS-201907HK-002