高速切り替え分析技術

渡 辺 淳*

株式会社島津製作所

(2016年7月5日受理)

Triple quadrupole mass spectrometer and its speed performance

Jun WATANABE

Shimadzu Corporation, 1, Nishinokyo Kuwabara-cho, Nakagyo-ku, Kyoto 604-8511, Japan

Keywords: LC-MS/MS, triple quadrupole, MRM, UHPLC, multi-residue pesticide analysis, polarity switching.

はじめに

各種研究開発や試験検査などの業務において、LC-MS/MSが広く使用されている。LC-MS/MSを用いることで、超多成分の一斉検出が可能であるため、1度の分析で多くの化合物に対するスクリーニング分析を行うことができる。また、ターゲット化合物の選択性が向上するため、HPLCでの分離を質量分析に担わせることで、HPLCの分析時間をより短くすることが可能であり、さらにいわゆるサブ2 μ mの粒子系カラムで超高速分析をすることができる。

本稿では、残留農薬分析において幅広く活用されているトリプル四重極型質量分析計を用いた高速分析にあたり、必要となる技術を紹介する。

1. 感 度

食品中の残留農薬のスクリーニング分析を行うにおいて重要なのは、対象成分が基準値以上入っているかの判別である。したがって、定量分析における正確さ、基準値が分析できる高感度、が必要な要件となる。LC-MSにはいろいろな

種類の原理を用いた質量分析計があり、それぞれ分析の得手不得手がある。ここでは詳細は省くが、定量分析に一番有用な質量分析計は四重極型の質量分析計であり(表1)、さらにトリプル四重極型質量分析計により感度・選択性を向上させることができる。

トリプル四重極型質量分析計はいくつかのベンダーから上市されており、各ベンダーともに複数の装置ラインナップを上市している。多くは感度仕様が異なるものである。質量分析計のラインナップ間での感度比較の一例を図1に示した。残留農薬の分析において必要となるのは、上述のとおり対象

表1. 質量分析計の特徴。四重極型質量分析計が定量分析には一番適している

	測定範囲	取扱い やすさ	精密質 量測定	MS ⁿ 測定	定性	定量
四重極型QP	~ <i>m/z</i> 2000	◎	×	×	△	◎
イオントラップ型IT	~ <i>m/z</i> 2000	○	×	○	◎	×
飛行時間型TOF	理論的に 無制限	○	○	×	◎	△
磁場型Sector	~ <i>m/z</i> 10000	×	○	×	◎	○

* 〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
E-mail: jun_wtnb@shimadzu.co.jp
© 日本農薬学会

図1. 複数装置間での感度比較. 島津製作所製トリプル四重極型質量分析計LCMS-8030 (赤)とLCMS-8040 (桃)の比較データ.

図2. 四重極型質量分析計での測定. 4種類の化合物をポジネガ切り替えしながら測定する場合のMRM測定の設定. Loopが繰り返されることで分析が行われる.

成分の基準値付近を分析できるかどうかであり、とりわけ、一律基準値の10ppbやその1/10, 1/100の濃度まで分析することが要求される。

2. 高速イオン搬送

トリプル四重極型質量分析計では、複数の化合物を一斉に分析するために、非常に短い時間の中で複数の化合物それぞれの分析を繰り返し行う。ターゲットの化合物を分析している時間をdwell time, 化合物から次の化合物に切り替えるための時間をpause time, 対象化合物の極性が切り替わると

に必要な時間を正負イオン化切り替え時間、と呼び、それぞれを設定したメソッドを用いて分析を行う (図2)。Loop timeはクロマトのピーク幅に依存するが、通常、1秒程度に設定する。したがって、ターゲットの化合物数が少ない場合、dwell timeを比較的長い時間 (たとえば100msecなど) に設定することができるが、残留農薬スクリーニングではターゲット化合物数が多いため、dwell timeを5msecなど短い時間に設定する必要がある。Pause timeによる切り替え後、ターゲット化合物のdwell timeが始まっても、イオン化部と検出器に距離があるため、イオンは即座には検出器には

図3. Dwell timeの違いによるイオン強度の減少. 高速イオン搬送技術のない質量分析装置でのデータ. Dwell timeが100 msecより短くなるところから、徐々にイオン強度が下がっていることがわかる。

届かず、多少のタイムラグが生じる。このタイムラグの割合はdwell timeが短くなればなるほど大きいものになり、検出されるイオン強度の減少となって現れる（図3）。この現象が生じる大きな要因としてはq2（コリジョンセル）におけるイオンの減速であるが、現在ではイオンの減速を防ぐための搬送技術がいくつか開発されており、dwell timeを短くしてもイオン強度があまり減少しない装置も多く市販されている。高速イオン搬送の技術例、その技術を用いて分析した事例を図4-1、図4-2に示した。

3. 高速極性切り替え

図2に示した分析メソッドで高速分析に寄与するパラメー

図4-1. イオン高速搬送技術. 島津製作所LC-MS/MSで採用されているUFsweeper. コリジョンセルを必要最低限の長さに抑えつつ、高いCID効率とイオンの高速搬送を実現した。疑似ポテンシャルを形成し、セルに入ってくるイオンを次々とスピーディにsweepingすることにより、高速測定においても信号強度の低下やクロストークの発生を防ぐ。

Alprazolam m/z 309>281 FWHM=3sec, Pause time 1msec,

図4-2. イオン高速搬送技術を用いて分析した事例. 島津製作所LCMS-8030でのdwell timeを変えたときの実分析データ. Dwell timeを1 msecまで短くしても、イオン強度の低下はほぼ見られない。

タとして、正負イオン化切り替え時間も重要である。食品中の残留農薬のスクリーニング分析においては、50～300成分ほどをターゲットに分析をすることが多いが、そのすべてを同じ極性（ポジティブイオン）で検出できるわけではなく、ポジティブモード、ネガティブモードでそれぞれ測定することで、はじめて多成分を網羅することができる。四重極型質量分析計では、2005年前後まで、正負イオン化切り替え時間の仕様が数100msecである装置が多く、ポジティブとネガティブの両方をひとつのメソッドで分析しようとする Loop time が1秒をはるかに超えてしまうため、二度に分けて分析する必要があった。この問題を解決するため、最近開

発されている四重極型質量分析計では、高電圧回路の技術革新などにより、切替え時間がわずか数msecの超高速な正負イオン化切り替えが実現されている。高速LC-MS/MS分析において、正負イオン化切り替え時間は、ピーク形状に大きな影響を与えており、これが定量精度の優劣につながる（図5, 6参照）。

4. 残留農薬の高速一斉分析例

これまで述べてきた、高感度・高速イオン搬送・高速極性切り替えの技術を使い、ミント、トマト、リンゴの抽出物を、一般的な手法により前処理を行い、農薬の標準品を添加

図5. 正負イオン化切り替え時の電圧モニター例.

図6. 正負イオン化切り替え（PN）時間の差による分析データの違い。高速分析において正負イオン化切り替え時間が長いと、適切なクロマトが得られない。

したサンプルの分析を行った，高速一斉分析事例を図7-1-2に，そのときの測定条件を表2に示した．短い分析時間の中で1度の分析にてすべての化合物が検出でき，また，面積値再現性も10 ppbのレベルで良好なデータを得られている．

5. お わ り に

UHPLC（超高速LC）が広く認知・普及され，LC-MS/MSについてもそれに対応できる高速性能が必要になって

きた．定性分析に多用されている飛行時間型質量分析計やQTOF型質量分析計においても高速性能が備わってきている．中でもトリプル四重極型質量分析計ではLCの高速性を生かすために多くの技術が開発されており，残留農薬分析でよく採用されている多チャンネルMRM分析では今後も多用されていくだろう．

表2. 農薬646成分一斉分析のLC-MS/MS測定条件

Liquid chromatography			Mass spectrometry	
UHPLC	Nexera LC system		LC-MS/MS	LCMS-8060
Analytical column	Restek Raptor biphenyl (100 × 2.1 mm, 2.7 μm)		Ionisation mode	Heated electrospray
Column temperature	35°C		Polarity switching time	5 msec
Flow rate	0.4 mL/min		Pause time	1 msec
Solvent A	Water 2 mM NH ₄ formate 0.002% formic acid		Total MRM transitions	1,929 (1,824 positive; 105 negative)
Solvent B	Methanol 2 mM NH ₄ formate 0.002% formic acid		MRM Dwell	4 msec (target ion); 1 msec (reference ion)
Binary Gradient	Time (min)	%B	Interface temperature	350°C
	0	3	Heating block	300°C
	1	10	Desolvation line	150°C
	3	55	Heating gas	10 L/min
	10.5	100	Drying gas	10 L/min
	12	100	Nebulising gas	3 L/min
	12.01	3		
	15	Stop		
Injection volume	2 μL sample (plus 40 μL water)

図7-1. 農薬646成分をミント抽出物に添加したときのLC-MS/MSクロマトグラム．島津製作所LCMS-8060にて分析．各化合物3MRM，ポジネガ切り替え5 msec．1測定15分で分析が可能であった．

図7-2. 保持時間6.45–6.6分には25成分がほぼ同じ保持時間で検出されているが³, dwell timeを短く, 正負イオン化切り替え時間も短く設定できているため, ピークに対するデータポイントを十分確保でき, データの再現性も良好であった.

略 歴

渡辺 淳 (わたなべ じゅん)

生年月日: 1970年1月29日

最終学歴: 京都大学大学院農学研究科修了

主な職歴: 2000年4月より現在まで LC/MSアプリケーション
関連業務を担当. 2010年7月株式会社島津製作
所入社.

趣味: 鉄道, テニス, 溪流釣り