

第 1 章 LC/MS の歴史と概要

1.1 環境微量分析法としての LC/MS の歴史

環境中に存在する微量の有機化学物質を精密に測定するためには、多数の共存物質からの分離と対象物質の正確な検出・同定とが必要となる。前者の手法としては、分離能力に優れたクロマトグラフィーがあり、後者の手法としては、同定能力に優れたマススペクトロメトリー（MS：質量分析法）がある。この 2 種類の手法をオンラインで結合させた、優れた分離能、検出感度、同定能力を有する分析法が、ガスクロマトグラフィー/質量分析法（GC/MS：Gas Chromatography / Mass Spectrometry）であり液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC/MS：Liquid Chromatography / Mass Spectrometry）である。

GC/MS は分離手段としてガスクロマトグラフィーを用いている点から、気化しやすく熱的安定性を有する物質を主に対象とするが、GC と MS とをつなぐインターフェースの開発が比較的容易であったことから、早くからその方法論が確立し、多くの分野で多用されてきた。これに対して、LC/MS では、クロマトグラフィーの移動相が液体である高速液体クロマトグラフィー（HPLC：High Performance Liquid Chromatography）を用いることから、大容量の溶媒を除去し対象物質のイオン化を進めるインターフェースの開発に困難が伴った。

LC/MS 開発の歴史は、LC と MS とのインターフェースおよびイオン化法により、

第 1 期：1980 年までのベルト法の時代

第 2 期：1980 年代の TSP 法、FAB 法の時代

第 3 期：1990 年以降の大気圧イオン化法の時代

の 3 区分に分けられると言われている。

第 1 期のベルト法は、「LC 溶離液からの溶媒の除去 対象分子のみを真空中に導入 イオン化 MS」と言う LC/MS の原理に従って、回転するベルトを、LC からの溶離液を付着させ対象物質を濃縮・気化させる担体として用いた。そして、電子イオン化法（EI：Electron Ionization）を中心に、高速原子線やレーザー照射による直接イオン化法でのイオン化が行われた。しかし、安定性が悪く装置が大型であったために、加熱噴霧法（TSP：ThermoSpray）や高速原子衝撃法（FAB：Fast Atom Bombardment）が導入されることになった。特に、FAB 法は難揮発性物質のイオン化法として非常に高い能力を有していたことから、GC/MS では測定が不可能な物質への LC/MS の適用が急速に広まった。その後、大気圧化学イオン化法（APCI：Atmospheric Pressure Chemical Ionization）や電界噴霧-エレクトロスプレーイオン化法（ESI：ElectroSpray Ionization）を含む大気圧イオン化法（API：Atmospheric Pressure Ionization）が大きく台頭し、LC/MS 実用化への基礎が作られた。API 法自体はまず GC/MS で応用されたが、この手法が LC/MS に本格的に導入されたことにより、LC/MS は広範囲の物質に対応できる能力を有したと言える。

1.2 LC/MS の分析システム

LC/MS の分析システムは、LC および MS の部分とそれを結び付けるインターフェイスの部分とで構成されている。

検出系である MS の部分は GC/MS の場合と共通の原理を有し、イオン化された対象物質を質量数/電荷 (m/z) 比によって検出・同定する手法である。クロマトグラフィーと結合した MS から得られる情報には、任意の m/z についてその強度の時間分布を示すマスクロマトグラムと、任意の時間において各 m/z の相対的強度分布を示すマススペクトルとがある。また、個々の m/z ではなく、全イオンの強度 (電気量) を加算した全強度の時間変化を示すトータルイオンクロマトグラム (TIC) が得られる。マスクロマトグラムを得る方法には、一定時間間隔で、ある範囲の m/z 間を磁場スキャンして得られた時間軸方向の強度情報から、必要な m/z の強度の時間分布を切り出すスキャン法と、目的とする m/z の強度のみを選択的に検出する高感度の選択イオン検出法 (SIM: Selected Ion Monitoring) とがある。実用化されている質量分析装置の基本的原理としては、磁場型、四重極型、イオントラップ型、飛行時間型、フーリエ変換型などがある (質量分析装置の概要については付録に示す)。

LC と MS とを結び付けるインターフェイス部分の役割はイオン化である。そのためのイオン化法は気化法 (evaporation)、噴霧法 (nebulization)、脱離法 (desorption) の 3 種に大別されている。気化法では、対象物質は加熱・気化されてイオン化室に導入される。したがって、易揮発性で熱安定な比較的分子量の化合物が対象となり、GC/MS で多用されている。噴霧法では、対象物質は噴霧過程を経て脱溶媒されイオン化される。したがって、難揮発性で熱不安定な化合物を対象とする LC/MS で用いられることが多い。脱離法では、対象物質を含む液相や固相に高いエネルギーが急激に加えられることによりイオン化が行われる。急速加熱や熱効率を高めることで熱不安定な化合物にも対応できる。それぞれのイオン化法は以下の各手法を含む。

気化法：電子イオン化法 (EI)

化学イオン化法 (CI: Chemical Ionization)

噴霧法：ガス噴霧-パーティクルビーム法 (PB: Particle Beam)

加熱噴霧法 (TSP)

大気圧イオン化法 (API)

大気圧化学イオン化法 (APCI)

電界噴霧-エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)

脱離法：高速原子衝撃法 (FAB)

二次イオンマススペクトロメトリー

(SIMS: Secondary Ion Mass Spectrometry)

マトリックスアシステッドレーザー脱離イオン化法

(MALDI : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization)

この中で、環境微量分析装置として実用化された LC/MS 分析装置に採用されている主要なイオン化法が API 法と FAB 法である。API 法は、溶離液中に存在する対象分子を、電界、放電、熱などの方法で溶媒分子に囲まれた帯電液滴として大気圧下にいったん取り出し、その後、溶媒分子を脱離させ、最終的に生成した対象分子のイオンを質量分析計に導入する統一的手法であり、APCI 法と ESI 法とを含む。

APCI 法では、対象分子を含む試料溶媒を、大気圧下で加熱噴霧により液滴化しその後脱溶媒した後、コロナ放電によって溶媒分子をイオン化する。生成した溶媒イオンは、CI 法の場合と同様に対象分子とイオン分子反応を起こし、対象分子がイオン化される。イオン化された対象分子は MS 部に導入される。

ESI 法では、試料溶液を、高電圧に印加されたキャピラリーを通して大気圧下で静電噴霧し、高度に帯電した液滴にする。その後、液滴表面から溶媒の蒸発が起って液滴が細分化されると、電荷が対象分子に移り対象分子がイオン化される。イオン化された対象分子はイオン蒸発を起し MS 部に導入される。

FAB 法では、グリセリンなどの液体マトリックスに溶かした試料をホルダーに塗り、これにキセノン原子などの高速中性粒子ビームを照射して衝撃することにより、対象分子をイオン化する。生成したイオンは MS 部に導入される。

1.3 環境科学における LC/MS 適用の展望

LC/MS が GC/MS よりも分析法上有利な点は、難揮発性、高極性、熱不安定化合物を直接的に分析対象とすることができることである。難揮発性化合物については、GC/MS 分析の場合でも、沸点を下げる誘導体化法などにより分析がなされているが、操作性、回収率、コンタミネーションなどの点で問題が残る。熱不安定化合物に至っては対応が極めて難しい。LC/MS 分析では、イオン化法や分離法に一定の工夫は必要であるが、分析法の簡素化や操作時間の短縮をもたらす上述の特徴は、複雑なマトリックス中に存在し、分子量組成が広い微量化学物質を多量に分析対象とする環境科学の分野で、LC/MS が特に有用であることを示している。

環境科学の分野では、GC/MS の普及によって環境汚染物質の微量測定技術が長足の進歩を遂げた。しかし、最近の内分泌攪乱化学物質問題にみられるように、非意図的や意図的に作り出された多量の化学物質によるヒトおよび生態系への微量長期影響の問題は、この技術の更なる発展を必要としている。LC/MS はこの方向性をさらに進める手法であり、GC/MS と並立する汎用性の高い微量分析法として、環境分析の分野への全面的な導入が

強く期待されている。近年、API 法をインターフェースに導入したコンベンショナルな分析装置が市販され始め、LC/MS の適用は急速に進んでいる（表 1 - 1）。

表1-1 最近のLC-MS分析例

分析物	媒体	イオン化法	著者(first)	発表年	文献	検出限界
アトラジン	水	ESI	C. Zongwei	1996	J. Chromatogr.A753(2)243.	50ppt
水酸化アトラジン	水	ESI	C. Zongwei	1996	J. Chromatogr.A753(2)243.	100ppt
有機砒素化合物	水	ESI	P. Spiros	1997	J. Anal. at Spectrom.12(5)531.	2-21pg
アルコールエトキシレート	放流水	ESI	K. Evans	1997	J. Am. Oil. Chem. Soc. 74(7)765.	
六価クロムと三価クロム		ESI	I. Stewart	1996	J. Anal. at Spectrom.11(12)1203.	
ク口酢酸類	生物	ESI	T. Wayne	1997	J. Anal. Toxicol. 21(5)330.	4-25ppt
砒素化合物		ESI	M. Florencio	1997	Rapid Commun. Mass Spectrom.11(5)469.	
金属 有機金属		ESI	G. Zoorob	1997	J. Anal. at Spectrom.12(5)517.	
メチオカルブ		ESI	S. Chiron	1996	Int. J. Environmental Chem., 65(1-4), 37.	
スルフォニルウレア	水・土	ESI	R. Bossi	1996	Environ. Fate Xenobiot., 10th, 483.	
農薬		ESI	K. BarnESI	1997	Rapid Commun. Mass Spectrom.11(1)117	0.003-0.05ppb
ポリオキシアルキレン	河川水	ESI	H. Shoroeder	1997	J. Chromatogr., A, 777(1), 127.	
スルフォン化アゾ色素		ESI	C. Rafols	1997	J. Chromatogr., A, 777(1), 177.	
極性農薬	土壌	ESI	M. LeEtta	1997	Am. Environ. Lab., 9(8), 26.	
phemedipham	地下水	ESI	C. Molina	1996	Int. J. Environ. Anal. Chem., 65(1-4), 69.	10-20pg
農薬代謝物	地下水	ESI	I. Ferrer	1997	Anal. Chem. 69(22), 4547.	0.01ng/ml
ムラミック酸	大気	ESI	M. Shahgholi	1997	Anal. Chem. 69(10), 1956.	
アトラジン	水	ESI	D. Corcia	1997	Environ. Sci. Technol., 31(6), 1658.	40-300ng
ステロイド		ESI,APCI	M. Chung	1997	J. Am. Soc. Mass Spectrom., 8(9)1010.	
2,4-Dなど	水	FAB-MS	T. Ohkura	1997	Mizu kankyo Gakkaishi, 20(5), 324.	
総説		APCI,ESI	Y. Tsuchiya	1996	Kogyo Yosui, 457, 1.	
PAHs	大気	APCI	K. Nicholas	1995	Proc., Annu. Meet. 88th(vol.10) 95MP17.07	
PAHの反応物	大気	ESI	Y. Yang	1997	J. Am. Soc. Mass Spectrom., 8(1)50.	
ジエチルフタレート		APCI	A. Pineiro	1997	J. High Resolut. Chromatogr.20(6)321.	
フェノール	河川水	APCI	D. Puig	1997	Anal. Chem. 69(14) 2756.	0.1-2.5ng/ml
ベノミル・カルベンダジン	地下水	APCI	E. Mallat	1997	Chromatographia, 46(7/8)342.	2ppb
ポリオキシエチレン	河川水	APCI	T. Yamagishi	1997	Bunseki Kagaku, 46(7)537.	
Chlormequat			V. Martin	1998	Fresenius J. Anal. Chem.361(8)817.	0.01mg/g
0-phthalaldehyde	コーン	ESI	Y. Toyoda	1998	Mycopathologia140(3)157.	
スルフォニルウレア	表層水	ESI	R. Marisol	1998	Anal. Chem. 70(13),2710.	0.1ppb
ベンタクロフェノール・BTEX	産業排水	APCI	M. Castillo	1998	Environ. Sci. Technol. 32(14)2180.	
スルフォニルウレア	水・土	ESI	R. Bossi	1998	J. AOAC Int., 81(4)775.	0.2-0.5ppt
総説		APCI,ESI	S. Stout	1998	J. AOAC Int., 81(4)685.	
フェノール	河川水	APCI	O. Jauregui	1997	J. Chromatogr., A, 787(1+2)79.	
有機リン化合物	水	APCI	R. Black	1998	J. Chromatogr., A, 794(1+2)233.	<50ng/ml
イソフラボン		APCI	S. BarnESI	1998	Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 217(3)254.	
フェニルウレア		APCI	T. Yarita	1998	Anal. Commun. 35(3)91.	0.12-0.26ng
トリアジン	河川水	APCI	A. Hogenboom	1998	J. Chromatogr., A, 794(1+2)201.	0.1-1ppm
銅		ESI	A. Ross	1998	Anal. Chem., 70(11)2225.	
Sulcofuron	河川水	ESI	P. Hancock	1998	Analyst 123(8)1669.	
ノニルフェノールポリオキシレート	下水	ESI	C. VrESlenczi	1995	Anal. Chem. 1995,67,1797.	0.0002-0.6ng/ml
BrO3-, ClO2-, ClO3-	水	ESI	L. CharlESI	1998	Anal. Chem. 70(2)353.	0.05-1ppm
プチルヒドロキシトルエン			S. Wu	1997	PDA J. Pharm. Sci. Technol.51(6)229.	0.1ppm
ジクワット・バラコート	飲料水	ESI	V. Taguchi	1998	J. Am. Soc. Mass Spectrom., 9(8)830.	0.1ppb, 0.2ppb
酸性農薬		ESI	B. Koppen	1998	J. Chromatogr., A, 803(1+2)157.	1ppm
AMPA	排水	ESI	V. Vreeken	1998	J. Chromatogr., A, 794(1+2)187.	0.03ppm
イミダゾリン	河川水	ESI	D. Ascenzo	1998	J. Chromatogr., A, 800(1)109.	2-5ng
フェニルウレア	河川水	ESI	E. Baltussen	1998	J. Chromatogr., A, 802(2)285.	10ng(10ml)
アンチモン類		ESI	J. Lintschinger	1998	FrESlenius J. Anal. Chem.361(2)96.	
アトラジンの分解物		ESI	S. Arnold	1998	ACS Symp. Ser. 683, 177.	
フタレート類		ESI	W. Cheong	1998	Bull. Korean Chem. SOc.19(4)495.	
イソシアネート・アミン	大気	ESI	D. Karlsson	1998	Analyst, 123(1)117.	20nmol/l
フェノール類		APCI,ESI	D. Puig	1996	J. Mass Spectrom.31(11)1297.	
ビスフェノールA-BADGE		APCI	S. Roubtsova	1997	Dtsch. Lebensm. -Rundshe.93(9)273.	
多環芳香族化合物		ESI	H. Moriwaki	1999	Anal. Commun. 36, 53.	25ng
農薬(Ethidimuron, Cholidazon)	河川水	ESI	R. Reupert	1998	Acta. Hydrochim. Hydrobiol., 26(6)318.	50ng/l
農薬		APCI, ESI	F. I. Barcelo	1998	Analusis, 26(6), M118-M122.	
農薬分解生成物		APCI, ESI	A. Aguera	1998	Analusis, 26(6), M123-M130.	
有機リン系農薬	水	APCI	S. Lacorte	1998	J. Chromatogr., A, 795,13.	
ノニルフェノール	下水	APCI	M. Castillo	1997	TIAC., 16, 574.	
4級アンモニウム塩		ESI	A.R. Hind	1998	Anal. Chim. Acta, 377, 39.	50-200ng/ml
農薬とその分解物		ESI, APCI	D. Barcelo	1995	Anal. Chim. Acta, 318, 1.	
17b-ESItriadol	血液	APCI	R. Draisci	1998	Analyst, 123, 2605.	30pg/ml
多環芳香族化合物	大気	APCI	N. Karellas	1995	Proc., Annu.Meet -A.W.A., 88th, 95-MP17.	
BTEX, PAHs	水	APCI	M. Castillo	1998	Environ. Sci. Technol.,32(14)2180.	
有機スズ化合物	水	APCI	S. White	1998	J. Chromatogr., A, 794, 211.	
カルボニル化合物	大気	APCI	G. Zurek	1999	Analyst, 124, 1291.	

わが国における環境化学物質の微量分析に関しては、環境庁が 1974 年度に化学物質の環境残留調査をスタートさせたことから、GC/MS による分析法の検討が進められ、1984 年にはマニュアルとしてまとめられた。また、1991 年には、キャピラリーカラムの導入など GC/MS のその後の進歩を踏まえた新たなマニュアルがまとめられた。本報告書では、上述した環境微量分析法検討の流れを受け継ぎ、GC/MS 分析での対応が困難であった難揮発性物質を中心とした環境化学物質の分析手法として、LC/MS による分析法が検討されている。

GC/MS が開いた「測定の窓」の外には、膨大な種類の物質が“手付かずのままに”存在していると言われる。微量分析機器としての LC/MS には、まだ発展の余地が多数残っているが、これらの物質群への LC/MS 技術の適用が急がれている。

1.4 参考文献

- 1) Chapman, J. R. (1995): 有機質量分析法 (土屋正彦, 田島 進, 平岡賢三, 小林憲正 共訳), 324pp., 丸善, 東京.
- 2) 丹羽利充 編著 (1995): 最新のマススペクトロメトリー -生化学・医学への応用-, 253pp., 化学同人, 京都.
- 3) 原田健一, 岡 尚男 編 (1996): LC/MS の実際 天然物の分離と構造決定, 281pp., 講談社サイエンティフィック, 東京.