

## Technical Review

# 最新の飛行時間型質量分析計LCT Premier™の特徴と 食品メタボロームへの応用

米久保 淳\*、井上知佳、佐々木秀輝

## Feature of newest Time of Flight Mass Spectrometer LCT Premier™ and Applied for Food Metabolome

Jun Yonekubo\*, Tomoka Inoue and Hideki Sasaki

*Nihon Waters K.K. Mass Spectrometry Technology., Katokichi Shin Osaka Bldg. 5-14-10 Nishi-nakajima,*

*Yodogawa-ku, Osaka, 532-0011*

### Abstract

Feature of new technology on Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS), orthogonal time of flight mass spectromete (oa TOF-MS) is introduced. The LCT-premier™ delivers high sensitivity for full spectrum, high resolution (>11,000 FWHM). The extended dynamic range of the : dynamic range enhancement (DRE) delivers up to 4 orders of magnitude for exact mass measurement and quantitative analysis. 10 kinds of the caffeinated and decaffeinated tea samples were performed principal components analysis by MarkerLynx following UPLC/LCT premier analysis as the model experiment for Food metabolome.

**Keywords :** Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS), orthogonal time of flight mass spectromete (oa TOF-MS), dynamic range, metabolome.

### 1. 緒言

液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS) は、ガスクロマトグラフィー (GC) やGC/MSでの分析が困難な不揮発性化学物質や熱的に不安定な化学物質に対する分析技術として、従来から生体高分子・医薬品分野で広く用いられてきた。近年ではポジティブリスト制導入における食品中の残留農薬や動物用医薬品 [1]、また水中の残留農薬 [2,3] や環境中の内分泌かく乱物質 (いわゆる環境ホルモン) 等の有害化学

物質 [4,5]、法化学 [6] にもその応用範囲は広がっている。これらLCの検出器の一つとしての用途で使用されているMSは、その汎用性から四重極 (Q-MS、含むタンデム四重極QqQ-MS) もしくはイオントラップ型 (IT-MS) が主流であった。これらのMSは、予め標準品を用いて分子量関連イオン (もしくはプレカーサーイオン) や特異的なフラグメントイオン (もしくはプロダクトイオン) の最高強度を与える電圧・コリジョンエネルギー等を最適化、選択イオンモニタ

日本ウォーターズ株式会社 マススペクトロメトリーテクノロジー  
〒532 0011 大阪市淀川区西中島5 14 10 カトキチ新大阪ビル

TEL : 06-6304-8888  
FAX : 06-6300-1734  
E-mail : jun\_yonekubo@waters.com

リング法 (SIM) や選択反応モニタリング法 (SRM) を駆使する事で実試料である血漿や尿、食品や環境水の様な複雑なマトリクスから、目的化合物の高感度・高選択的な分析が可能となる。

これらの分析手法が公定法化されている一方で、新たなるLC/MS法として直交式飛行時間型 (orthogonal time of flight, oa-TOF) MS検出器を連結したLC/oa-TOF MSの開発、利用も進んでいる。

今回、このoa-TOF-MSであるLCT-Premier質量分析計の特徴及び応用例として食品メタボロームのモデル実験として茶の分析について紹介する。

## 2. LCT-Premierの特徴

TOF-MSの特徴として、Scanモードにおける高感度、高分解能、質量精度等が挙げられる。

### 2.1. 感度及び定量直線性

TOF-MSのScanモードにおける高感度は、その質量/電荷

( $m/z$ ) の分離部であるフライトチューブまでイオン輸送系で送られてきた全てのイオンが分離・検出される為、Q-MSやIT-MSにみられるScanモード時の「イオンの見落とし」が最小限となる事に起因する。実例として、Figure 1に Prostaglandin E<sub>2</sub>, 10 ppbのSRM(QqQ)及び $m/z$  351におけるLCT-Premierのマスクロマトグラムを示した。 $m/z$  100-1000のScanモードから抽出されたマスクロマトグラムが、 $m/z$  351 > 271のSRMとほぼ同等のシグナル・ノイズ比で検出されている。高感度である反面、TOF-MSやIT-MSはQ-MSと比較して、検出イオンの飽和点も低く、その結果、定量分析におけるダイナミックレンジが狭い傾向にある。LCT-Premierでは、DRE (Dynamic Range Enhancement) 機能を搭載し、この問題を克服している。即ち、フライトチューブへのイオン導入量を直前のZ-focus lensで、収束・拡散し、一回の注入で低・高濃度における精密質量、定量直線性を高めている。Figure 2にSulfadimethoxineのDRE機能の有無による0.5-5000 ng/mLにおける検量線を示した。

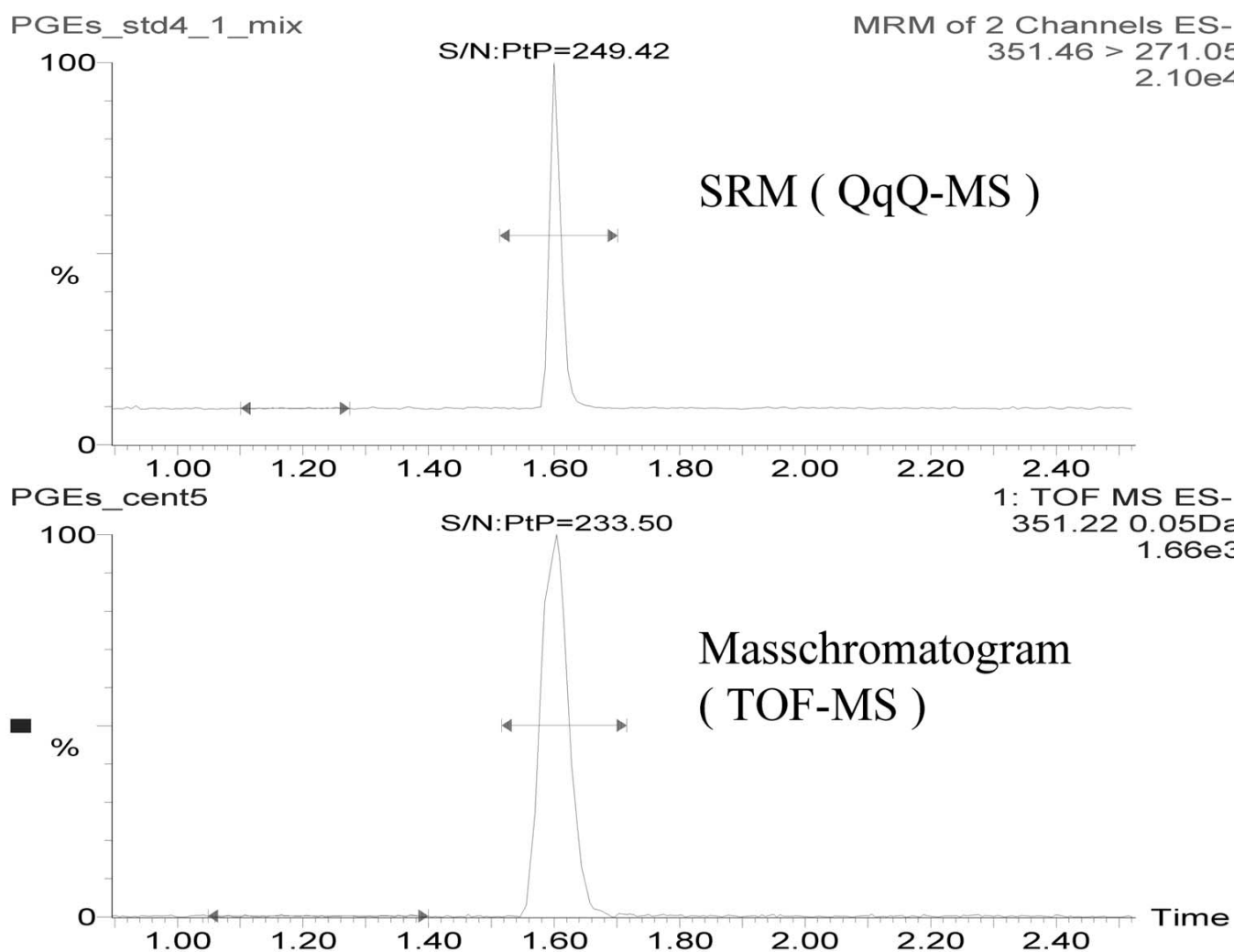


Figure 1. SRM and Mass chromatogram of 10 ppb Prostaglandine E 1

Compound name: Sulfadimethoxine  
 Correlation coefficient:  $r = 0.716237$ ,  $r^2 = 0.512996$   
 Calibration curve:  $7.61209 \cdot x + 52.6658$   
 Response type: External Std, Area  
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting:  $1/x$ , Axis trans: None

Compound name: Sulfadimethoxine  
 Correlation coefficient:  $r = 0.999466$ ,  $r^2 = 0.998933$   
 Calibration curve:  $32.1113 \cdot x + 38.1674$   
 Response type: External Std, Area  
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting:  $1/x$ , Axis trans: None

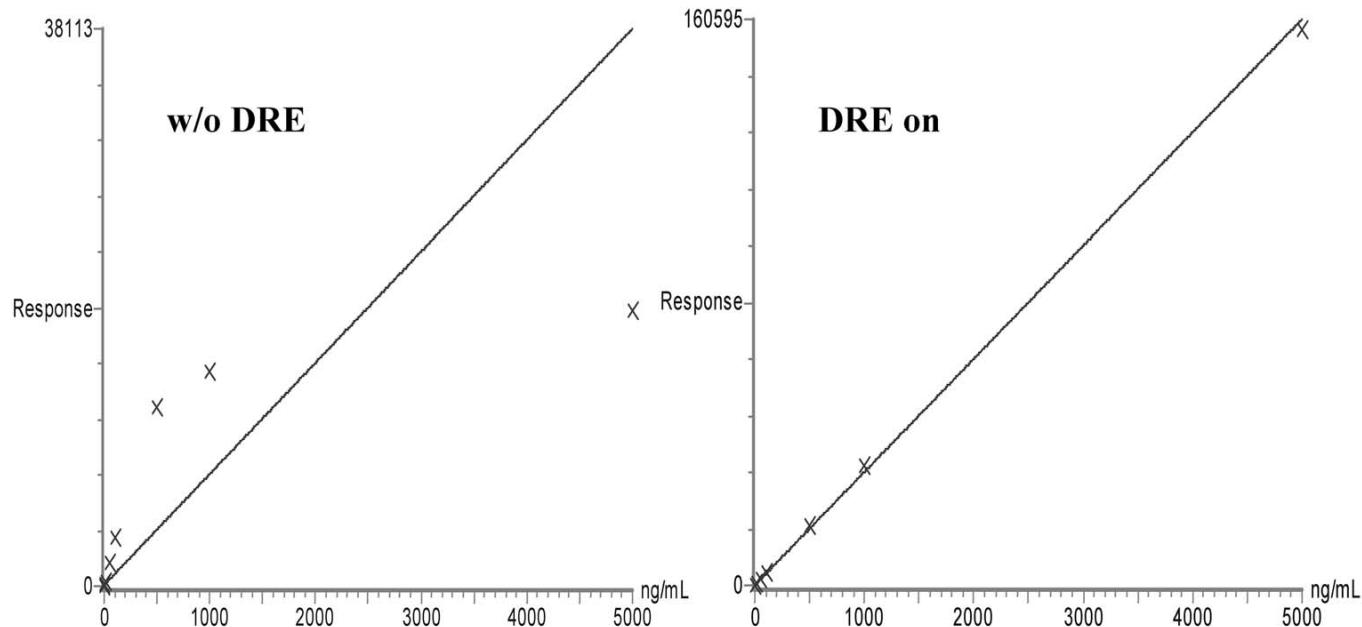


Figure 2. Calibration curve of Sulfamethoxine 0.5–5000 ng/mL

### 2.2. 分解能

TOF-MSの高分解能、質量精度に関しては、分離原理である「飛行時間」の測定精度が、Q-MSやIT-MSの直流及び高周波交流電圧の固定・走査による「イオンフィルター」での  $m/z$  分離に比べ、著しく高精度である事に起因する。Figure 3 にマススペクトルにおける分解能・質量精度の定義を、Figure 4 にLeucine EnkephalinのQ-MS及びLCT-Premier (Wモード)のマススペクトルを示した。

LCT-Premierでは、分析の目的に応じてReflectoronを1 (Vモード)ないし3 (Wモード) 回作用させる事で最小限のイオンロス、最高の分解能を可能とした。Wモードにおける分解能は半値幅 (FWHM) で11,000程度となる。

また、LCT-Premierでは、検出部に到達したイオンをスペクトルに変換する経路にTime-to-Digital Converters (TDC) 機構を採用している為、Analog-to-Digital Converters (ADC) に見られる様な低質量領域における分解能の低下を引起さない。

### 2.3. 質量精度

質量精度は一般にQ-MSやIT-MSがノミナルマス (整数質量) であるのに対し、TOF-MSのそれは5 ppm程度となる。(Figure 3 参照)

LCT-Premierでは長時間の連続分析での質量精度の維持の為の基準物質 (Lock mass) を、Lock Sprayと言う独自のイン

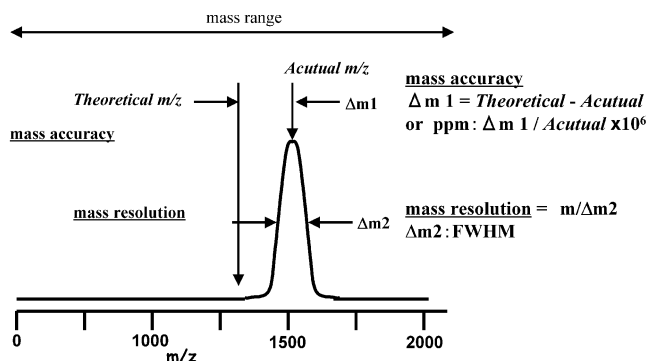


Figure 3. Mass accuracy and mass resolution

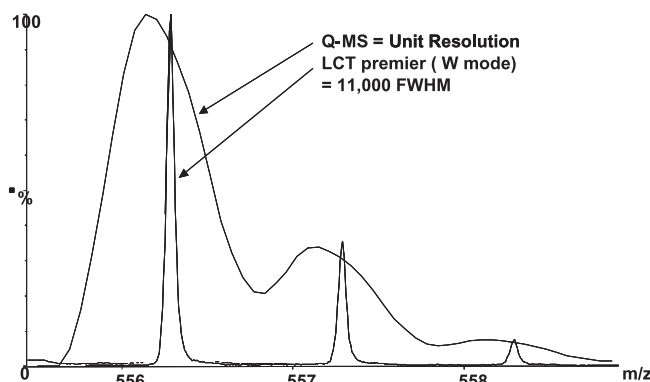


Figure 4. Overlay mass spectra of Leucine Enkephalin

**Table 1.** Results of Mass Accuracy (n=10, Raffinose)

Measurement	Actual Mass	Measured Mass	mDa Error	ppm Error
1	527.1588	527.1580	-0.8	-1.52
2	527.1588	527.1581	-0.7	-1.33
3	527.1588	527.1588	0	0.00
4	527.1588	527.1578	-1	-1.90
5	527.1588	527.1581	-0.7	-1.33
6	527.1588	527.1578	-1	-1.90
7	527.1588	527.1582	-0.6	-1.14
8	527.1588	527.1595	0.7	1.33
9	527.1588	527.1583	-0.5	-0.95
10	527.1588	527.1585	-0.3	-0.57

ターフェイスで導入する為、分析対象データと精密質量更正の為の基準物質のデータがそれぞれ独自で取り込まれ、目的化合物、測定対象物の質量範囲や濃度に関係無く、同一の基準物質を使用出来る。Table 1 にRaffinoseの連続分析における質量精度を、Table 2 にPolyethyleneglycolのm/z 89 - 1009における質量精度を示した。いずれの分析においてもRMS 3 ppm以内の高い精密質量精度が保たれている。

LCT-Premierのこのような高い精密質量精度は、目的化合物の元素組成解析からの絞込を可能とし、定性分析の精度や未知物質の推定能が著しく向上する。

### 3. TOF-MSの応用例

前項で挙げたTOF-MSの高いScanモードにおける感度、定性能を活用した環境水中のスクリーニング分析 [7] や、未知成分のスペクトル解析による化合物の推定、得られる精密質

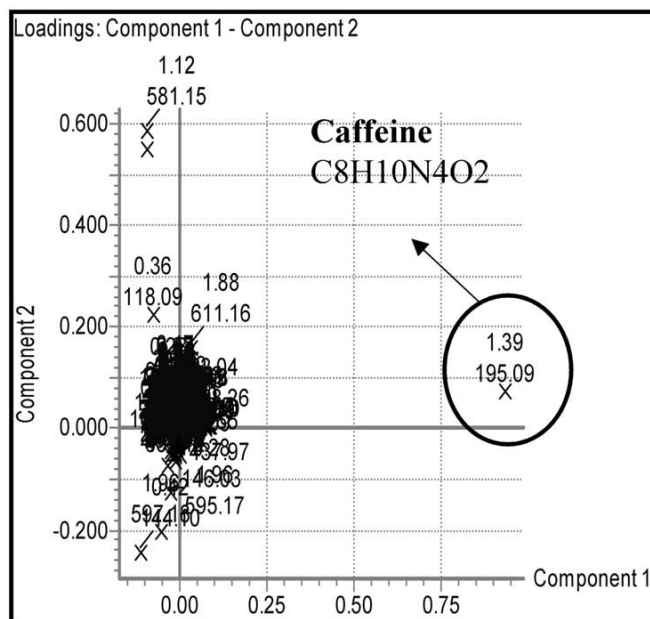
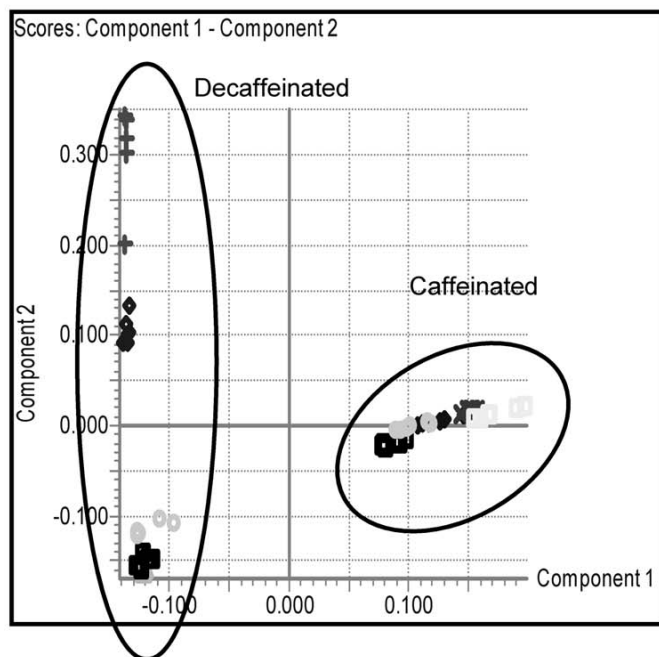
**Table 2.** Results of Mass Accuracy (m/z 90–1010, PEG)

Actual Mass	Measured Mass	mDa Error	ppm Error
89.0603	89.0605	0.27	3.08
133.0865	133.0863	-0.18	-1.38
177.1127	177.1128	0.14	0.78
217.1052	217.1051	-0.05	-0.21
261.1314	261.1308	-0.61	-2.34
305.1576	305.1572	-0.46	-1.50
349.1838	349.1844	0.52	1.49
393.2101	393.2091	-0.92	-2.33
437.2363	437.2360	-0.25	-0.56
481.2625	481.2630	0.55	1.14
525.2887	525.2886	-0.12	-0.23
569.3149	569.3153	0.43	0.75
613.3411	613.3411	-0.06	-0.10
657.3673	657.3673	0.00	0.00
701.3936	701.3947	1.16	1.65
745.4198	745.4218	2.01	2.70
789.4460	789.4462	0.18	0.23
833.4722	833.4700	-2.20	-2.64
877.4984	877.4969	-1.53	-1.74
921.5247	921.5239	-0.79	-0.86
965.5508	965.5493	-1.59	-1.64
1009.5770	1009.5740	-2.93	-2.90

量からの元素組成解析による化合物の同定能の高さからメタボロミクス・メタボローム [8,9] への応用が試みられている。

#### 3.1. 食品メタボロームのモデル実験

カフェイン含有、カフェインレス各5種の茶を試料とし、

**Figure 5.** Score and loading plots from the Principal Components Analysis of tea samples

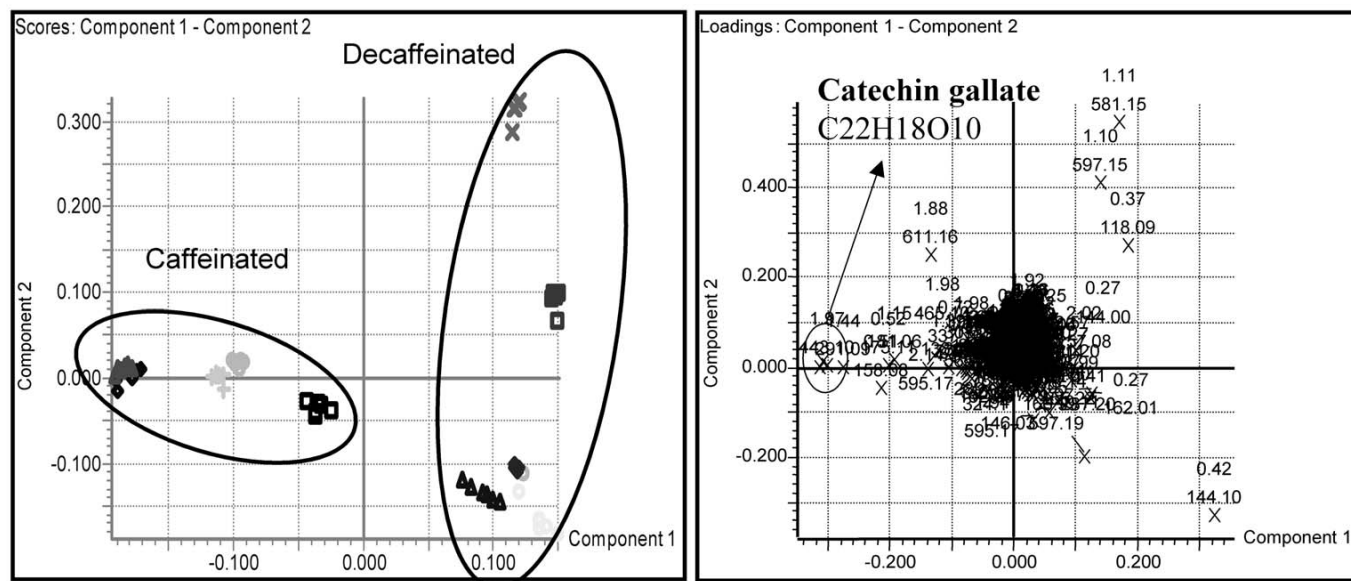


Figure 6. Score and loading plots from the Principal Components Analysis of tea samples

各試料溶液を  $n = 6$  でUPLC/LCT-premier分析に供した。得られたデータをMarkerLynxを用いて主成分解析 (Principal Components Analysis, PCA) を行った。Figure 5 に解析結果のスコア及びローディングプロット及び組成解析から示唆された化合物を示した。スコアプロットから明らかにカフェインを含有するグループと含有しない (カフェインレス) グループとにクラスタリングが可能であった。また、このクラスタリングに  $m/z = 195 (M+H)^+$  を与える化合物が大きく寄与している事がローディングプロットから読取れる。この成分の精密質量の組成解析結果から候補化合物として  $C_8H_{10}N_4O_2$  が挙げられ、この組成式はカフェインと一致する。さらにこのカフェインを統計解析から除去した結果をFigure 6 に示した。依然としてスコアプロットからカフェインを含有するグループと含有しないグループにクラスタリングされ、ローディングプロットからクラスタリングに寄与している化合物として  $m/z = 443 (M+H)^+$  が示唆された。この成分の組成解析結果から  $C_{22}H_{18}O_{10}$  が挙げられ、Catechin gallateと推測可能であった。

#### 4. 結言

LC/TOF-MSは従来のLC/Q-MSやLC/IT-MSにないScan感度、高分解能、質量精度を有し、メタボローム分析のような分野でもその高い定性能から応用の可能性が示唆された。

#### 文献

- [1] 亀山 真由美 : ぶんせき, 2006, 23 - 26 .
- [2] Hanada, Y., Tanizaki, T., Koga, M., Shiraishi, H. and Soma, M. : *Analytical Sciences*, **2002**, 18, 441-444.
- [3] Hanada, Y., Tanizaki, T., Koga, M., Shiraishi, H. and Soma, M. : *Analytical Sciences*, **2002**, 18, 445-448.
- [4] Sasaki, H., Yonekubo, J., Kanai, M., Toriba, A., Kizu, R. and Hayakawa, K. : *Biomed. Chromatogr.*, **2002**, 16, 432-436.
- [5] Sajiki, J., Yonekubo, J. : *Environ. Int.*, **2004**, 30, 145-150.
- [6] Adachi, Y. : *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **2004**, 52, 93-101.
- [7] Sasaki, H., Yonekubo, J. and Hayakawa, K. : *Analytical Sciences*, **2006**, 22, 835-840.
- [8] Wilson, I. D. : *J. Chromatogr. B*, **2005**, 817, 67-76
- [9] Wilson, I. D. : *TOXICOLOGY*, **2005**, 207, 179-190