

Technical Review

ガスクロマトグラフィータンデム質量分析 (GC/MS/MS) の基礎と
環境分析での利用について

笠松隆志

The basics of gas chromatography tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) and
application for selective and quantitative analysis of environmental samples

Takashi Kasamatsu

*Agilent Technologies Japan, Ltd., Application Center**4-16-36 Shibaura, Minato-ku, Tokyo 108-0023, Japan***Abstract**

In the analysis by gas chromatography mass spectrometry (GC/MS), the demand of high selectivity and high sensitivity is becoming severe. However, in analysis of polychlorinated biphenyl (PCB) and odorant in drinking water, interference by internal standard may occur, and in analysis of pesticides, interference by other analytes and unwanted substances from sample may occur at low concentration. In such cases, analysis may be difficult by selected ion monitoring (SIM) of GC/MS, but analysis by gas chromatography tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) is effective. In this paper, the basic theory, effect and its example of application of GC/MS/MS are explained.

Keywords: gas chromatography mass spectrometry (GC/MS), gas chromatography tandem mass spectrometry (GC/MS/MS), high selectivity, high sensitivity

1. はじめに

ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) はその感度と質量選択による選択性、あるいはマススペクトルによる定性が可能という利便性からいろいろな物質の分析に利用されている。しかしながら、環境分析などにおいては、分析機器の性能向上とともに同時に検出する目的成分も増え、さらには検出しなくてはならない濃度も下がるなど、絶えず高感度に検出することが要求されている。また、より複雑な試料の中から目的成分を検出しなくてはならないこともあり、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) の選択イオン検出

(SIM) モードだけでは検出が難しい可能性もある。試料中に夾雑成分がたくさん存在している場合には、試料中の夾雑成分と目的成分を分ける手法としては、前処理技術の検討も考えられるが、限界はある。また、前処理をある程度した後にはクロマトグラフで分離を行うが、すべての試料に適用できるかどうかは分からず、ある試料では分析可能だが、他の試料では分析不可能であるということも考えられる。そこで、考えられる手法が検出器により選択性を持たせるという方法である。ガスクロマトグラフ (GC) の場合には、含有する元素に選択的に応答する炎光光度検出器 (flame photometric

アジレント・テクノロジー株式会社
〒108-0023 東京都港区芝浦4-16-36
Tel: 0120-477-111
Fax: 0120-565-154
E-mail: takashi.kasamatsu@agilent.com

detector, FPD) などの選択性がある検出器が存在するが、質量分析計にもアナライザーに工夫をしたタンデム質量分析計 (MS/MS 装置) というものが存在する。MS/MS 装置には様々なアナライザーの組み合わせがあるが、ここでは操作性がよく環境分析に最も適用しやすい四重極タイプの GC-MS/MS 装置をメインに原理等を解説し、その適用例などを紹介する。

2. GC/MS/MS の構成

現在一般的に用いられている四重極タイプの MS/MS 装置は Figure 1 のような構成をしている。普通の四重極質量分析計 (シングル四重極 MS) と同様に試料をイオン化するイオン源、その次に四重極が配置されている。シングル四重極 MS ではこの後に検出器が配置されるが、MS/MS 装置ではその間にコリジョンセル (四重極、六重極等種々のタイプあり) と四重極が配置される。コリジョンセルは MS/MS 特有のプロセスである衝突誘起解離 (collision-induced dissociation, CID) を起こす場所で、不活性ガスが導入できるようにになっている。また、2つの四重極は通常のシングル四重極 MS と同様、全イオン検出 (スキャン)、選択イオン検出 (SIM) と同等の動作を独立して設定することができ、いろいろな動作モードで分析をすることが可能である。ここでは、便宜上四重極タイプの MS/MS 装置を QqQ (Q は四重極アナライザー、q はコリジョンセル) として表すとすると、1 番目の質量分離を行う四重極を Q1、2 番目の質量分離を行う四重極を Q3 として表現することができ、以降このように表記する。

3. 衝突誘起解離

イオンがその周辺に存在する気体分子と衝突をすると、イオンの運動エネルギーの一部が内部エネルギーに変換され、衝突活性化されたイオンは解離する[1]。MS/MS ではコリジョンセルに衝突ガスである不活性ガスを導入し、コリジョンエネルギーに関する電圧を調整しながら与えることによってイオンの解離をコントロールすることができるような仕組みになっている。

4. MS/MS で使用される用語と動作

四重極の MS/MS において、衝突誘起解離を行うために Q1 を通過させる特定のイオンをプリカーサイオンと呼ぶ。プリカーサイオンはコリジョンセルにおいて不活性ガスと衝突を行い、別のイオンを生成する (CID)。これら生成したイオンをプロダクトイオンと呼ぶ。プロダクトイオンの一部が Q3 を通過して検出される。このとき、各四重極の動作と、Q1 または Q3 のどちらの四重極の動作に対応してプロダクトイオンの量をモニターしたかによっていろいろなデータを得ることができる。また、プロダクトイオンの生成量は CID において与えられるコリジョンエネルギーや不活性ガスの量によって変化する。

5. MS/MS の動作モード

四重極アナライザーを持った質量分析計では、全イオン検出と選択イオン検出といったモードで動作させることが可能である。MS/MS 装置においてもそれぞれの四重極において同様の動作をさせることが可能である。ここでは、その動作モードについて解説する。

(1) プロダクトイオンスキャン

プロダクトイオンスキャンでは、Q1 で特定のイオン (プリカーサイオン) を選択してコリジョンセルに導入し、CID によって得られるイオン (プロダクトイオン) を、Q3 をスキャンモードで動作させることによって検出する。このデータからは、プリカーサイオンからの開裂によってできるイオンを知ることができる。このモードはより高感度な分析をするための準備 (マルチプルリアクションモニタリング分析の準備) に使用されたり、物質の構造を調べたりするのに使用される。

(2) マルチプルリアクションモニタリング (MRM)

MRM は選択反応モニタリング (SRM) とも呼ばれる。MS/MS 装置における CID では、プリカーサイオンなどの条件をそろえれば、同じ物質からは基本的に同じプロダクトイオンが生成する。測定したい物質と条件が決まっていれば

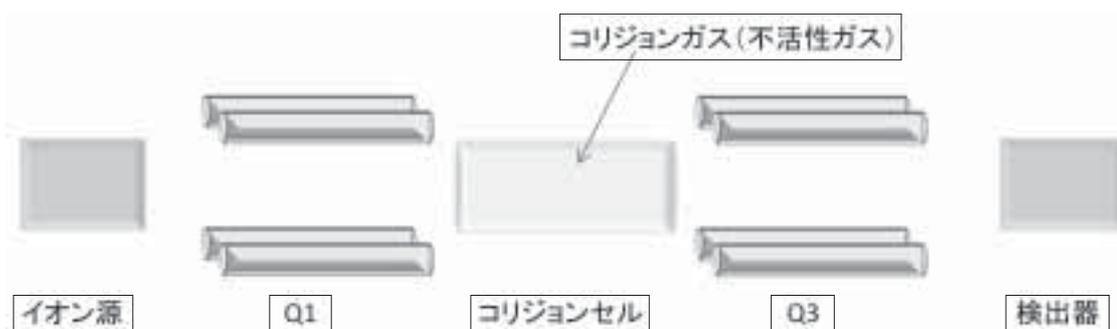


Figure 1. A structure of GC-MS/MS. (Quadrupole type)

ば、全範囲をモニターしてイオンを検出するよりも、出てくると予想されるプロダクトイオンだけをモニターした方が選択性および感度の点で有利となる（シングル四重極MSでのスキャンとSIMの関係）。このモードでは、Q1でプリカーサイオンを選択して、コリジョンセルにおいてCIDを行った後、Q3でも特定のプロダクトイオンをモニターする（このプリカーサイオン、コリジョンエネルギー、モニターイオンのセットをトランジションと呼ぶ）。両方の四重極で特定のイオンをモニターするため選択性が高く、夾雑物質の影響が心配される試料中のターゲット物質の検出、定量などに用いられる。トランジションの切り替えは、SIMと同様高速に切り替えられるので、GCでの分離と組み合わせることによって、数百という多成分分析にも対応できる。高選択性、高感度が要求される環境分析においては、もっとも利用価値が高いモードである。

(3) プリカーサイオンスキャン

プリカーサイオンスキャンでは、Q1をスキャンモードで動作させ、Q3は特定のイオンをモニターする。このことにより、CIDによって得られたイオンがどのようなイオンから由来したかを知ることができる。Figure 2にジクロロポスと

いう化合物の $m/z=109$ をモニターイオンとした時のプリカーサイオンスキャンの例を示す。

(4) ニュートラルロススキャン

ニュートラルロススキャンでは、Q1をスキャンモードで動作させ、Q3はCIDによってロスする質量の分だけ小さくした範囲（ただしスキャンする質量範囲の幅は同じ）でスキャンをしながらモニターする。このことにより、特定の質量をCIDによってロスするイオンをモニターすることが可能になる。環境分析には適用例は少ないが、塩素、臭素、フッ素等のニュートラルロスを利用した有機ハロゲン物質の網羅的な分析などが発表されている[2,3]。

(5) ニュートラルゲインスキャン

ニュートラルゲインスキャンでもニュートラルロススキャン同様、Q1、Q3をスキャンモードで動作させる。ニュートラルロススキャンではQ1のほうが高質量側をスキャンするが、ニュートラルゲインスキャンではコリジョンセルでプリカーサイオンに付加すると予想される中性分子の分だけQ3のほうが高質量側をスキャンする。

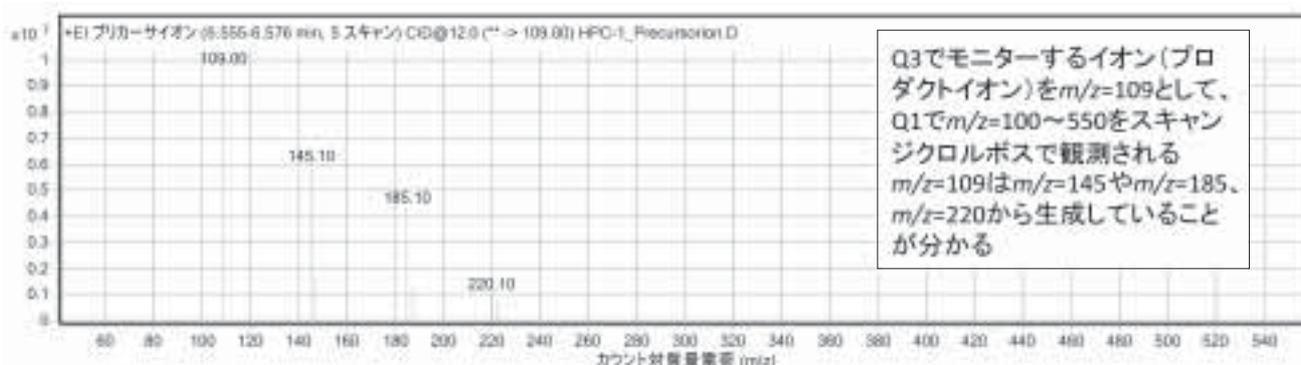


Figure 2. An example of precursor ion scan spectrum. (Compound: Dichlorvos)

Table 1. Analysis mode which is able to be performed by GC/MS/MS.

モード	Q1	コリジョンセル	Q3
プロダクトイオンスキャン	SIM	ON	スキャン
マルチプルリアクションモニタリング	SIM	ON	SIM
プリカーサイオンスキャン	スキャン	ON	SIM
ニュートラルロススキャン	スキャン	ON	スキャン
ニュートラルゲインスキャン	スキャン	ON	スキャン
全イオン検出 (スキャン)	スキャン	OFF	
選択イオン検出 (SIM)	SIM	OFF	

Q1のほうが高質量側をスキャンする（例えばQ1で $m/z=150-550$ 、Q3で $m/z=100-500$ をスキャンなど）
Q3のほうが高質量側をスキャンする（例えばQ1で $m/z=100-500$ 、Q3で $m/z=150-550$ をスキャンなど）

四重極のMS/MS装置で可能な測定方法と各四重極の動作の関係をまとめるとTable 1のようになる。

6. MS/MS 分析のメリット

環境分析において、MS/MS法を採用するにあたっての一番大きなメリットはその選択性にある。1回の分析で非常に多くの成分を分析すると、GCオープンの昇温条件の工夫だけでは分離が不十分な場合がある。さらに質量分析計における特徴的なイオンの検出でも対応できない場合がある。このような場合にMS/MS装置が非常に有効となる。Figure 3および4にかび臭原因物質での例を示す。Figure 3ではイオントラップMSによるスキャン分析の例を、Figure 4ではMS/MS装置による分析例を示す。かび臭原因物質の分析では、内部標準物質として対象物質となっているジェオスミンの重水素化体であるジェオスミン-d₃を使用する場合がある。通常定量分析を行う際に使用するイオンは、ジェオスミンではm/z=112、ジェオスミン-d₃ではm/z=115である。ジェオスミンの濃度がある程度高い場合には、ジェオスミンの定量に使用するm/z=112のマスキロマトグラムはきれいに出現する。しかし、ジェオスミンの濃度が低くなり、内部標準の濃度が相対的に高くなると、m/z=112のマスキロマトグラムは

Figure 3のようになってしまう。これは、ジェオスミンの濃度が低くなると、内部標準由来のm/z=112のイオンの影響を無視できなくなるからである。このような場合にMS/MS装置を使用すると、低濃度のジェオスミンにおいても内部標準の影響をほとんど受けることなく分析が可能となる。Figure 4はジェオスミンのMS/MSトランジションである112→97と、ジェオスミン-d₃のMS/MSトランジションである115→97をプロットしたもの(MRMクロマトグラム)である。このように内部標準の影響はほとんど受けずに分析することが可能となる。厳密な意味ではジェオスミン-d₃もm/z=112をわずかながら持っているため、このイオンからの開裂でm/z=97を生成する可能性があるが、測定が要求される1ppt濃度とブランクの比較をすると、影響はほとんどないと考えられる。

また、ダイオキシン類の分析でも同様のことが起こる。ダイオキシン類の分析では¹³C等でラベルされた内部標準物質を使用して分析を行う必要がある。例えば、Figure 5に示したペンタクロロジベンゾダイオキシン(PeCDDs)は内部標準物質であるペンタクロロジベンゾフランの¹³C体(¹³C-PeCDF)と保持時間が重なるが、高分解能測定ではモニターするイオンがPeCDDsはm/z=353.8576や355.8546、¹³C-

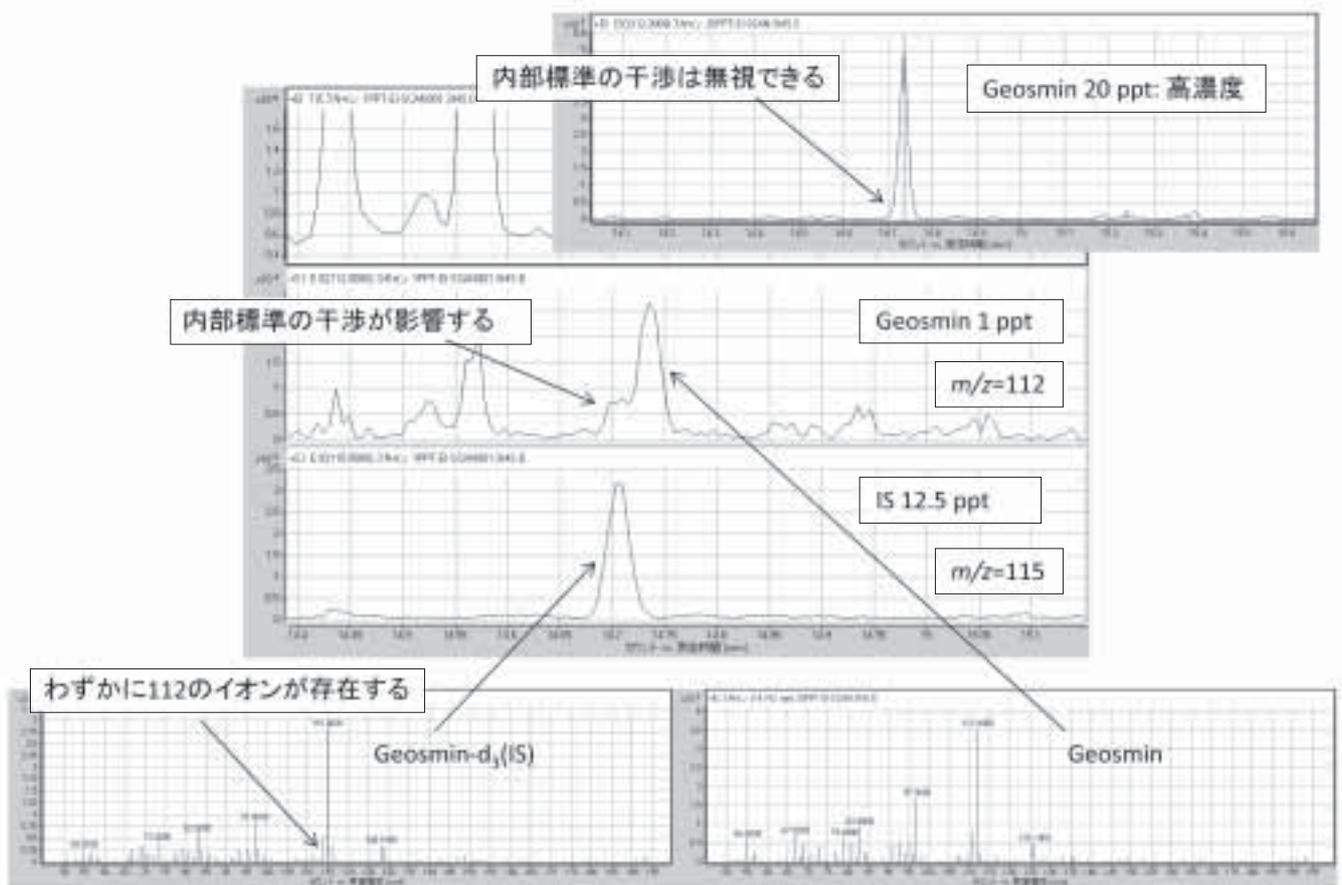


Figure 3. The interference of geosmin's quantitative ion by ion of internal standard at low concentration (Ion Trap MS).

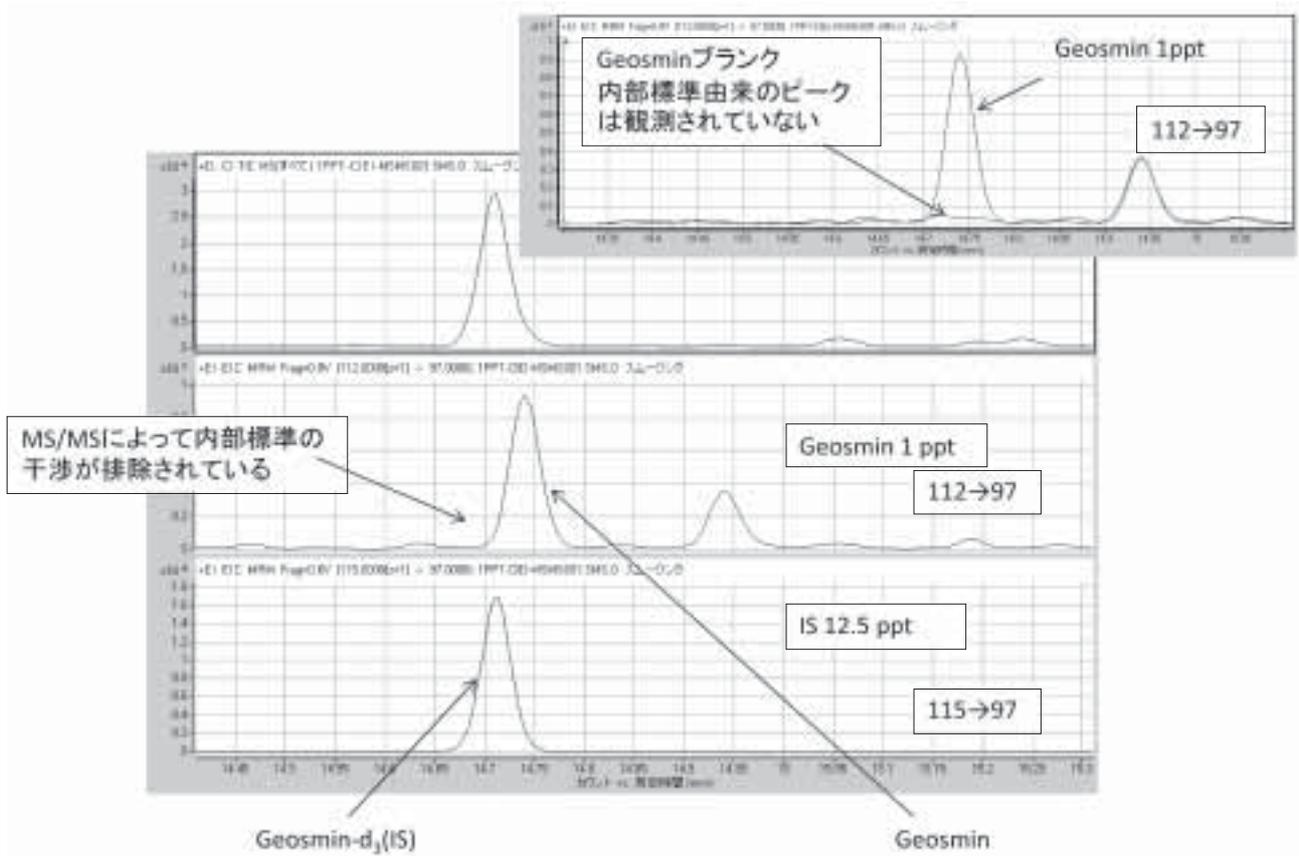


Figure 4. MRM chromatogram of geosmin without interference by internal standard at low concentration.

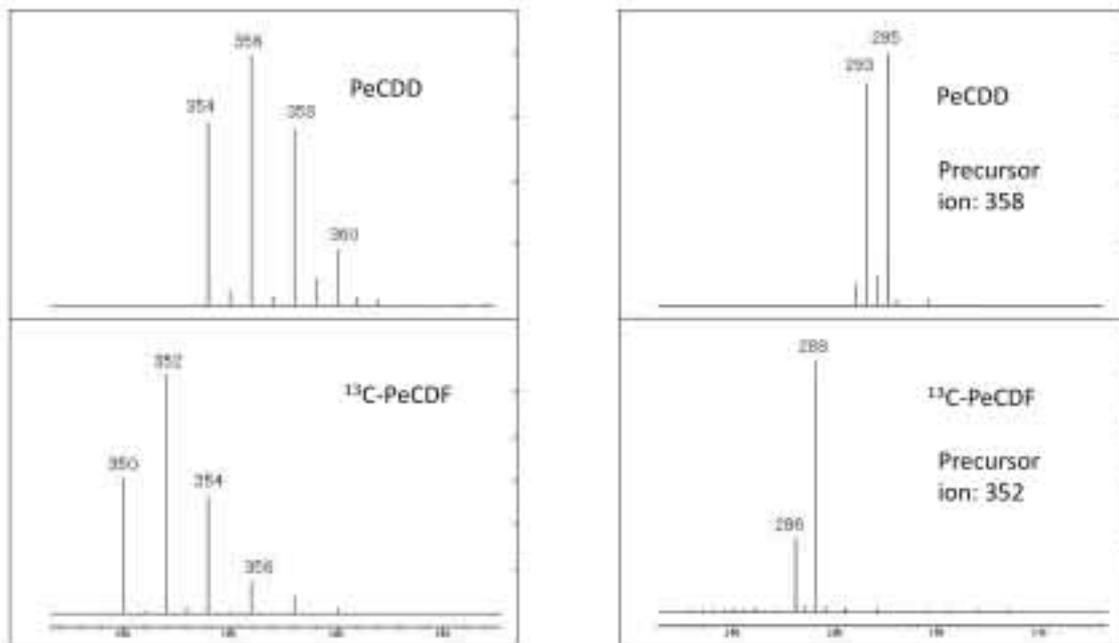


Figure 5. Low resolution mass spectra (left) and MS/MS spectra (right) of PeCDD (upper) and ¹³C-PeCDF (lower).

PeCDF の場合は $m/z = 351.9000$ や 353.8970 となるので、干渉なく分析ができるが、シングル四重極 MS のような低分解能での測定では対象成分と内部標準物質のモニターイオンが重なってしまう。このような場合も MS/MS 装置を使用すれば、それぞれのプロダクトイオン (Figure 5 の例では PeCDD が $m/z = 295$ と 293 、 ^{13}C -PeCDF では $m/z = 286$ と 288) は干渉を起こさないので、測定が可能となる。現在、日本ではダイオキシン類の簡易測定法として、磁場型、四重極と並んでイオントラップ型の GC-MS/MS での測定が認められている [4,5]。

これらの例では、分析対象成分同士の干渉の事例を示しているが、同時に分析する成分が増えれば増えるほど、このようなことが起こる可能性が増えると考えられる。また、標準品の測定では対象成分同士の影響を回避することができても、これに試料からの夾雑成分が加われば、さらに状況は複雑になり、分析が難しくなる可能性が増える。このような場合には MS/MS 装置の使用は非常に有効になると考えられる。

7. MRM 分析を行う際の手順とポイント

MS/MS 分析を行う場合には、各化合物に応じて MS/MS 測定条件 (たいていの場合はトランジション) を設定する必要がある。とくに MRM 分析を行う場合は、ターゲットとなる物質 (目的成分) が決まっていることが多く、その物質をいかに高感度に検出できるかということが重要な課題となる。したがって、その物質が検出できるように適切な条件を設定しなくてはならない。一般的な MS/MS 分析条件の作成手順としては、(1)全イオン検出測定による目的成分の保持時間の確認とプリカーサイオンの選択、(2)プロダクトイオンスキャン分析によるプロダクトイオンからモニターイオンを選択、(3)最適なコリジョンエネルギーの検討、(4)最終的な MRM メソッドの作成、そして分析となる。

(1) 全イオン検出測定による目的成分の保持時間の確認とプリカーサイオンの選択

MS/MS の測定条件検討の際には一般に確実に検出できる濃度の標準品を注入して行う。GC の条件は最終的な MS/MS 測定の方法を想定して設定を行うようにすると後で保持時間の再確認をする必要がなくなる。また選択性が上がるため、一般にはシングル四重極 MS で測定する場合よりも分離は気にしなくてもよくなる場合が多い。プリカーサイオンはスキャンによって検出されるすべてのイオンが候補になるが、MS/MS 測定では CID によって生成するイオンの質量は低質量側にシフトする。その生成量は元のイオンより減ることになるので、なるべく高質量で強度の強いものを選択するとよい。あるいは、選択性をあげる観点から、なるべく試料中の夾雑成分に含まれないイオンを選択する方法もある。

(2) プロダクトイオンスキャン分析によるプロダクトイオンからモニターイオンを選択

選択したプリカーサイオンに対して CID を行い、生成するプロダクトイオンから実際に分析に使用するイオン (モニターイオン) の候補を選択する作業を行う。この段階では各イオンの生成に最適なコリジョンエネルギーは分からないので、コリジョンエネルギーの値は大まかに設定して分析を行えばよい。Figure 6 にフェニトロチオンを例にプリカーサイオンの選択とモニターイオンの選択の様子を示す。

(3) 最適なコリジョンエネルギーの検討

Figure 6 の通り、コリジョンエネルギーによってプロダクトイオン生成量がかなり変わることがわかる。そこで、細かくコリジョンエネルギーを設定した MRM 分析を行い、それぞれのプロダクトイオンを最大限に得られるコリジョンエネルギーを検討する。Table 2 にその一例としてフェニトロチオンのトランジションの検討を示す。それぞれのトランジションにおいて最大ピーク面積を与えるコリジョンエネルギーを実際の分析におけるコリジョンエネルギーとして採用する。

現在市販の GC-MS/MS 装置では農薬等の化合物についてはあらかじめトランジションが用意されていることが多く、このような場合には、保持時間の確認を行って分析メソッドを設定すればよいだけとなるが、各試料において、そのトランジションが目的成分の検出に有効かどうかの確認は必要となる。

(4) 分析メソッド作成のポイント

MS/MS 分析は、その高選択性により、S/N 比としての感度向上を見込むことができる。化合物によっても異なるが、シングル四重極 MS の SIM モードと比較して Figure 7 のようにイオンの強度は 1/10 程度に減少する。そのため、干渉が全くない場合やノイズが検出されない場合には、SIM モードのほうが感度良く検出できることもある。また、CID によって質量の小さいイオンをモニターすることになるので、最初から低質量のイオンしか生成しない化合物の分析には向かないことが多い。このような場合、化学イオン化 (CI) や誘導体化等を使ってより高質量のイオンを得ることができれば、そのような方法と組み合わせて使用することにより MS/MS 装置を使用することができる可能性がある。ジメチルアミンの分析などはその一例となる [6]。

また、MRM モードで多成分一斉分析を行う際には、1 ピークあたりのデータポイント数についても注意する必要がある。一つのトランジションのデータを取り込む時間は一般に Dwell Time と呼ばれており、この値を小さくすることによって、多数のトランジションを切り替えて実行することができる。しかし、Dwell Time を短くしすぎると、(見かけ上のピークトップの強度が変わるわけではないが) モニター時

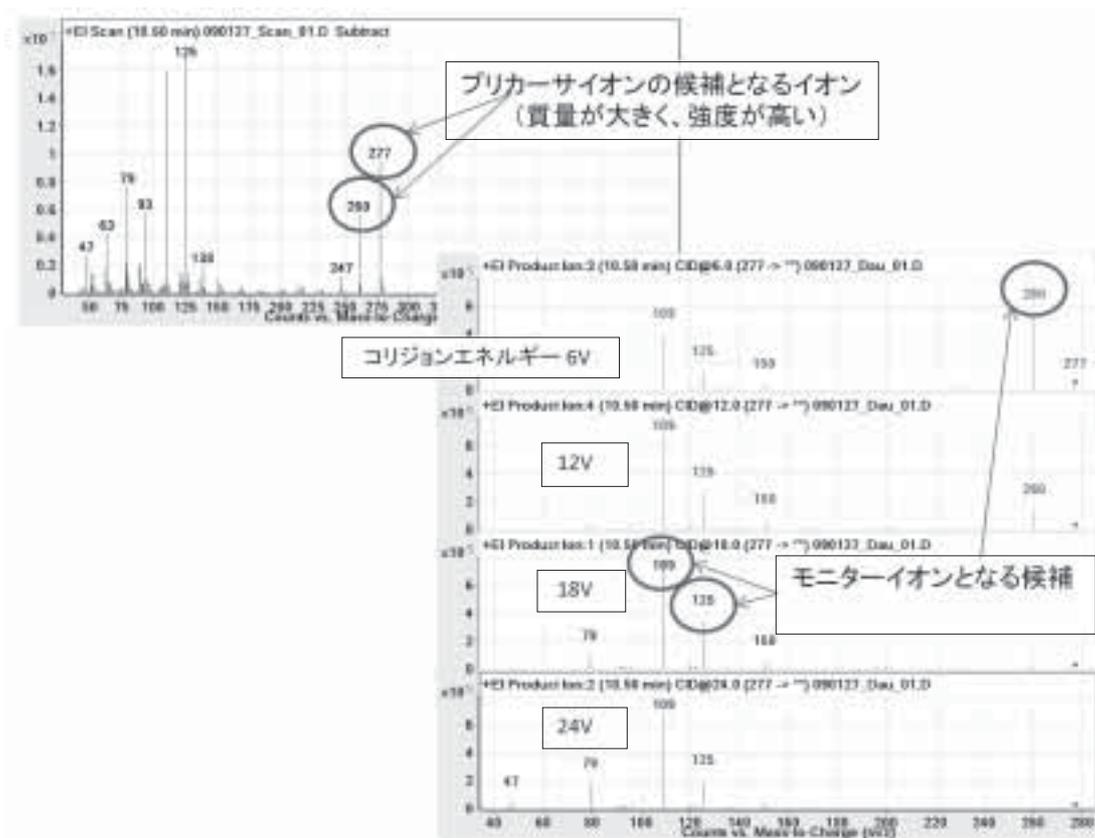


Figure 6. Selection of precursor ions for fenitrothion MRM analysis and product ion scan spectra of fenitrothion (precursor ion $m/z = 277$).

Table 2. Examination of searching the most comfortable collision energy for fenitrothion transitions. (A name means applied collision energy. For example, 4 volt collision energy is applied at CE4.)

Name	Date File	RT	Transition 277→109		Transition 277→260	
			Area	Area	Area	Area
CE0	CE0.D	10.50	124333	353455		
CE2	CE2.D	10.50	204175	**402721		
CE4	CE4.D	10.50	284161	362217		
CE6	CE6.D	10.50	354962	274104		
CE8	CE8.D	10.50	482180	220743		
CE10	CE10.D	10.50	519208	128958		
CE12	CE12.D	10.50	584377	80249		
CE14	CE14.D	10.50	582104	42701		
CE16	CE16.D	10.50	*635650	24199		
CE18	CE18.D	10.50	615331	11787		
CE20	CE20.D	10.50	566714	6091		
CE22	CE22.D	10.50	588284	4023		
CE24	CE24.D	10.50	513843	2322		

*277→109 の最適なコリジョンエネルギー：16V

**277→260 の最適なコリジョンエネルギー：2V

に取り込むイオン量が少なくなり、ピーク形状に影響を与えたり、S/N 比が悪くなったりする。また、長すぎるとデータポイントの間隔が長くなり、ピークトップを外し、測定精度を下げる可能性があるため、適度な値にする必要がある。通常の場合、GC 分析におけるピークは 5、6 秒であることが多く、1 ピークあたりのデータポイントは最低でも 10～12 程度 (できれば 20 程度) 必要とされている。これと同時にモニターするトランジションの数を考慮して Dwell Time の値を設定する。具体的には、ピークの出現時間が 5 秒としてデータポイントを仮に 12 個とすると、0.4 秒程度に 1 ポイント必要となる。0.4 秒に 1 データポイントとした場合のトランジション数と Dwell Time の関係は Table 3 のようになる。

8. MS/MS 分析のアプリケーション

現在、MS/MS 分析はその高選択性から夾雑成分の多い試料とされる食品中の残留農薬分析で多く使用されており、ほとんどの場合はこの目的で使用されている。同じ農薬分析ということで、環境水中等の農薬分析などにも応用が可能である。MS/MS の選択性から分離にもあまりこだわる必要なく、多成分であっても高速分析が可能となる (Figure 8)。

また、前章でダイオキシン類の分析について触れたが、そ

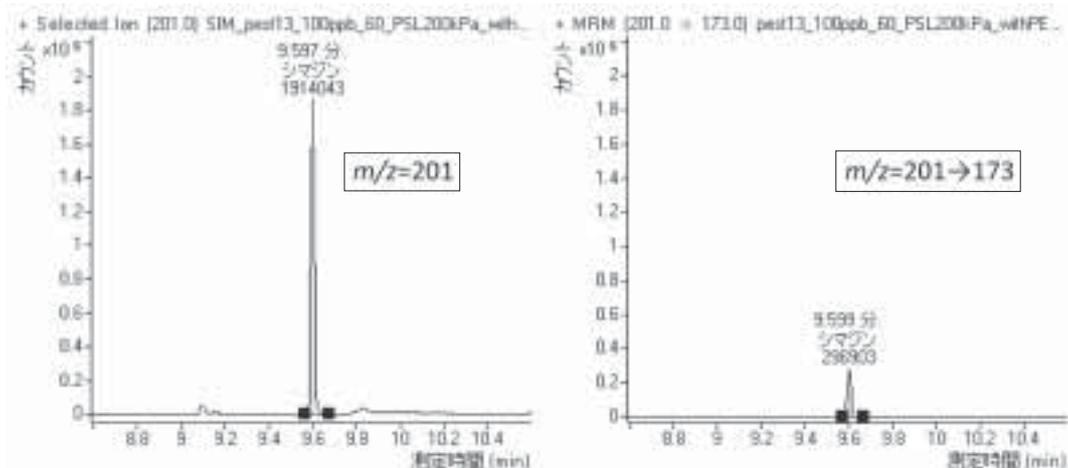


Figure 7. SIM chromatogram ($m/z = 201$) and MRM chromatogram ($m/z = 201 \rightarrow 173$) of simazine.

Table 3. A relation of dwell time and number of transitions. (In the case of data point interval as 0.4 second.)

Number of transitions	Dwell time
1	400 msec
10	40 msec
40	10 msec
80	5 msec
400	1 msec

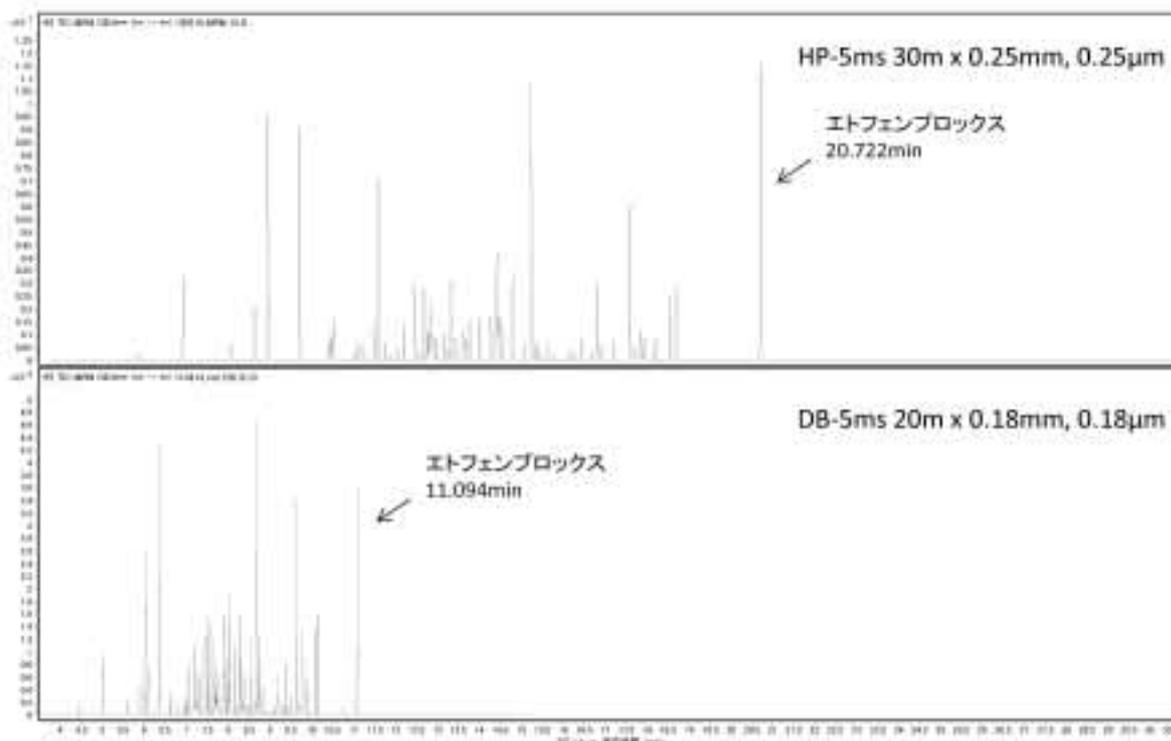


Figure 8. Fast analysis for pesticides in drinking water by GC/MS/MS.
 (Upper) Analysis using common column.
 (Lower) Analysis using shorter and narrower column for fast analysis.

れと似たような物質として、ポリ塩化ビフェニル (PCBs) の分析にも MS/MS 分析は応用でき、トランスオイル中の PCBs 分析の公定法にも採用されている[7]。

9. まとめ

四重極タイプの MS/MS は多彩な分析モードを使用できるが、その中でも環境分析に要求されるターゲットを決めた微量定量分析には MRM モードが有効であると考えられる。MRM モードはその高選択性から、夾雑成分や干渉する成分の影響を減らして分析することが可能で、高感度かつ多成分一斉分析が可能なので、環境分析の様々なところで活躍する可能性を秘めていると考えられる。

文献

- [1] J. R. CHAPMAN. 有機質量分析法；土屋正彦；田島進；平岡賢三；小林憲正 共訳. 丸善 & WILEY, 1995, p. 220.
- [2] 橋本俊次；高澤嘉一；伊藤裕康；田邊 潔；柴田康行. 第19回環境化学討論会要旨集, 2010, p. 720.
- [3] 橋本俊次；頭士泰之；高澤嘉一；伏見暁洋；田邊 潔；柴田康行；家田曜世；神田広興. 第20回環境化学討論会要旨集, 2011, p. 128–129.
- [4] 環境省水・大気環境局水環境課. 底質のダイオキシン類簡易測定法マニュアル, 2009.
- [5] 環境省水・大気環境局水環境課. 土壌のダイオキシン類簡易測定法マニュアル, 2009.
- [6] 杉立久仁代. 第22回クロマトグラフィー科学会議 (仙台) ワークショップ B—やさしい環境分析の基礎—発表要旨, 2011, p. 21–30.
- [7] 環境省大臣官房廃棄物・リサイクル対策部産業廃棄物課. 絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル (第3版), 2011.