

Technical Report

小型MSをLC検出器として用いる分析法の基礎 —LC検出器としての使いやすさに寄与するLCMS-2050の技術的特長—

Technical background of the LCMS-2050, the compact mass detector for LC.

小寺澤 功明¹、向畑 和男¹、遠山 敦彦¹

Abstract:

LCMS-2050は、装置サイズの大幅な小型化と、分析の高速化・高感度化の両立を実現したシングル四重極質量分析計です。極限まで小さくなった装置の中には、島津の技術が凝縮されています。LC検出器としての使いやすさとMSの優れた性能を掛けあわせて、完璧なユーザビリティを追求した質量分析計、それがLCMS-2050です。ここでは一般的な質量分析計の基礎と、MS検出器としての利点、LCMS-2050の優れた特長を紹介します。

Keywords: LC、LC/MS、ESI、APCI、四重極型、高速分析、堅牢性

1. 背景

液体クロマトグラフィー (Liquid Chromatography, LC) は、試料をカラムに通し、含まれる化合物をカラムへの保持の程度の違いで時間的に分離し、それらが検出器を通過した際の電気信号の変化で検出する分析技術です。カラムへの保持時間は化合物の化学的特性によって決まるため、保持時間により化合物の同定が可能です。また、一般に検出器の信号の強さは化合物の濃度に比例するため、試料中の化合物含有量を定量するために用いられます。

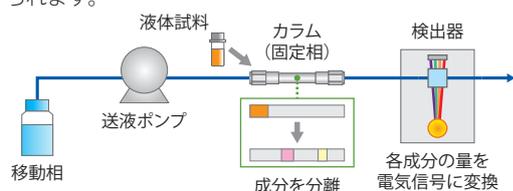


Fig. 1 HPLC分析の概念

質量分析計 (Mass Spectrometer, MS) は、化合物をイオン化させ、その質量と電荷の比 (m/z) を測定する装置で、質量情報 (マススペクトル) を得ることができます。LCとMSを直列に接続すると、LCとMSの長所を組み合わせた効果的な分析が可能になりますが、この構成のために設計された質量分析計をLC-MSと呼びます。

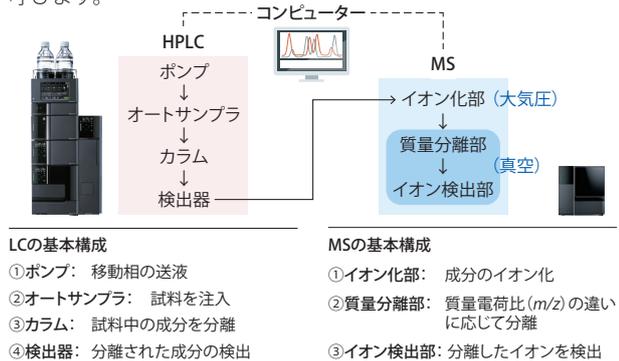


Fig. 2 LC-MSの基本構成

LC-MSを用いた分析では、LCによる化合物の溶出にあわせて、マススペクトルを数百ミリ秒程度の間隔ごとに取得します。取得されたデータの表示方法として、測定された全イオンの強度の合算値をLCの保持時間に対してプロットしたTICクロマトグラム (Total Ion Current Chromatogram, TIC) と、特定の m/z のイオンの強度をプロットしたマスクロマトグラム (Mass chromatogram, MC) があります。Fig. 3にMS検出によるクロマトグラム、MSスペクトルの例を示します。

LC単独では、保持時間の近い成分はピークが重なった形で検出されてしまい、正確な分析の妨げになりますが、LC/MSでは分子量に応じたマスクロマトグラムを描画することにより、別々のピークとして分離検出されます。これは食品や生体試料など複雑性の高い試料に含まれる特定の化合物を分析したいときに特に役立ちます。カラムによる分離が不完全でも分析を成立させやすいため、分析メソッド開発の省力化や、高速化も可能です。

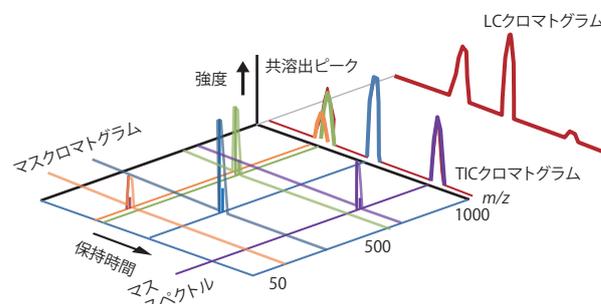


Fig. 3 質量分析計で得られるクロマトグラムとマススペクトル

2. 質量分析計の原理

2-1. 質量分析計の概要

質量分析計は化合物をイオン化し、特殊な電場の中を通過させることにより、イオンの m/z に応じて分離検出する装置です。装置はイオン化部と質量分離部、イオン検出部で構成されます。

2-2. イオン化部

LC/MSでは、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI: Electrospray Ionization) および大気圧化学イオン化法 (APCI: Atmospheric Pressure Chemical Ionization) と呼ばれる2種類のイオン化法が主に使われています。これらはイオン化に伴うエネルギーの授受が少ないのが特長で、分子を壊さずにイオン化させられる「ソフトイオン化法」に分類されます。観測されるイオンから化合物の分子量情報が容易に得られます。

ESIでは、カラムからの溶出液に高電圧を印加し帯電液滴を生成します。帯電により生じる静電的な反発力が、より小さな液滴への分裂、さらには脱溶媒を加速させ、最終的に化合物に電荷が付与したイオンが気相に放出されます。ネブライザーガスと呼ばれるガスを噴霧すると、LCの送液流量が高い場合においても効率的に脱溶媒・イオン化を行うことができます。

APCIでは、カラムからの溶出液をネブライザーガスおよび高温により気化させてから、高電圧が印加されたニードルから生じるコロナ放電によりイオンを生成します。分析対象の化合物が直接イオン化しにくい場合においても、イオン化した溶媒との相互作用を通じて化学的にイオン化させることができます。

これらイオン化法の模式図を Fig. 4 に、イオン化可能な化合物の傾向を Fig. 5 に、それぞれ示しました。

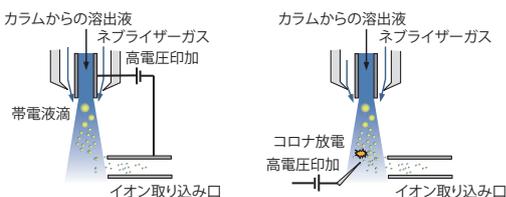


Fig. 4 イオン化部の模式図 (左: ESI法、右: APCI法)

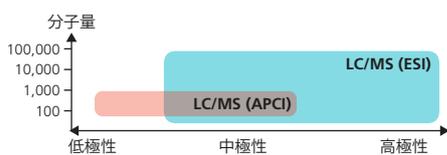


Fig. 5 イオン化法と対象化合物

2-3. 質量分離部

m/z が異なるイオンは、電場・磁場の中での振る舞いが少しずつ異なります。質量分離部では、この振る舞いの違いを利用してイオンの分離を行います。イオン分離の技術には様々ありますが、最も汎用的で、LCMS-2050に搭載されているのが、四重極型です。四重極は4本のロッドで構成されており、向かい合った2本のロッドに同一の高周波電圧を与えています。イオンはこの四重極の間の空間に導入され、ロッドに与えられた電場によって振動しながら通過します。この時、電圧に応じて安定して通過するイオンの質量電荷比が変化します。つまり、電圧を調整することで、通過させるイオンを選択することができます。

ロッドに印加する電圧を特定の値に固定すると、対応した m/z のイオンのみを高感度に検出できます (SIMモード: Selected Ion Monitoring)。電圧を走査すると、幅広い m/z に対してスキャンする動作となり、これによりマススペクトルを得ることが可能です (スキャンモード)。

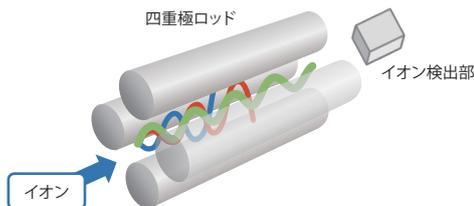


Fig. 6 四重極型の質量分離部、イオン検出部 模式図

3. LCMS-2050の特長

3-1. LC検出器としての使いやすさ

LCMS-2050は、Nexera™シリーズと完全統合されたデザインであり操作性もLCユーザにやさしく、LC検出器として容易に扱うことが可能な質量分析計です。他のLCユニットと同サイズで、システム内に組み込むことができます (Fig. 7)。LCMS-2050は、真空起動後から6分で分析開始することができるため、LCのセットアップ中に分析準備を完了することができます。



Fig. 7 LCMS-2050 外観図

LCMS-2050の操作画面を Fig. 8 に示します。LCと同じ制御用ソフトウェア LabSolutions™ で操作・データ解析することが可能です。測定時間・質量範囲・サンプリングレートのみ設定すればLC/MS分析ができますので、測定時間・波長範囲・サンプリングレートを設定するPDA検出器と同じ感覚で使用できます。



Fig. 8 LCMS-2050 パラメータ設定画面

LCMS-2050の構成を Fig. 9 に示します。前面にイオン化部を有し、内部に質量分離部、イオン検出部を有します。イオン化部では、装置状態を維持するために感度調整、分解能調整、質量校正を自動で行うオートチューニング用のイオン化ユニットも配置されています。配管を交換することなく装置調整が可能であり、いつも最適な装置状態で使用することが可能です。

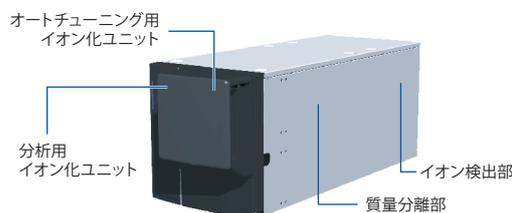


Fig. 9 LCMS-2050 装置構成

3-2. 幅広い質量範囲

LCMS-2050は、高精度に加工、組立された四重極ロッドの採用により m/z 2,000までのイオンの検出が可能です。異なる鎖長のポリエチレングリコールを分析した例をFig. 10に示します。質量が大きい成分でも同位体ピークの分離が行えていることが分かります。

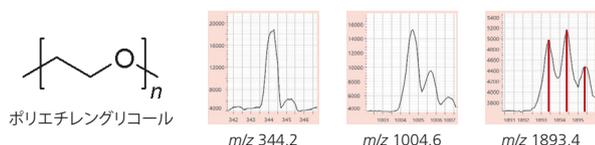


Fig. 10 ポリエチレングリコールのマススペクトル

3-3. 幅広いイオン化

LCMS-2050ではESIとAPCIの機能を兼ね備えたイオン化部 (Dual Ion Source, DUIS) が採用されています。従来ESIとAPCIの使い分けが求められていたところを、島津の独自技術であるDUISにより、一度の分析で幅広い化合物を測定することが可能になりました。Fig. 11、12にLCMS-2050のイオン化部の模式図を示します。

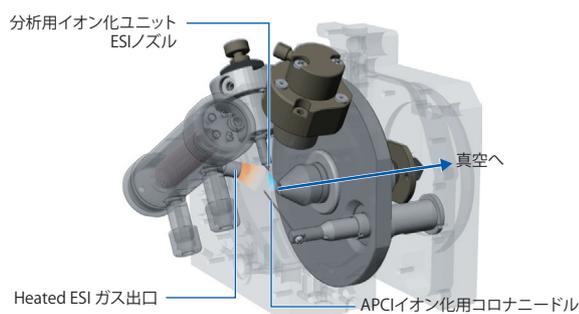


Fig. 11 LCMS-2050のイオン化部構成

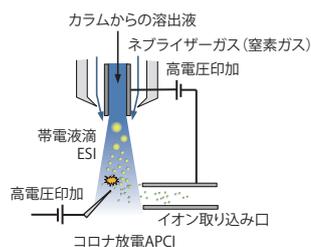


Fig. 12 LCMS-2050のイオン化部 (ESI/APCI) の模式図

ESIとDUISで測定した2つの化合物のマスプロトモグラムをFig. 13に示します。シメトリンはESIで感度よく検出されますが、キントゼンは低極性化合物でESIでは検出できません。DUISで測定した場合、いずれの化合物も感度よく検出することができました。

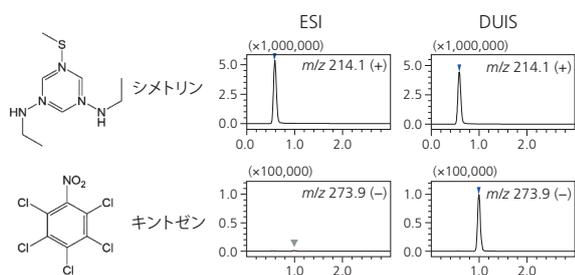


Fig. 13 ESIとDUIS測定結果
シメトリン (上)、キントゼン (下) のマスプロトモグラム

3-4. データ採取の高速性

クロマトグラムを正しく測定するためには1ピーク当たり十分なデータポイント数が必要で、通常10~20点が求められます。データポイント数が不足すると、ピーク本来の形状を再現できなくなるため、定量結果のばらつきにつながります (Fig. 14)。再現性の高い測定を行うためには、データ採取を高速化しサイクルタイムを短くする必要があります。

LC/MSでのサイクルタイム短縮に最も寄与するのは、幅広い質量幅を短時間でスキャンする能力 (高速スキャン性能) です。正イオンおよび負イオンのどちらも測定する場合には、正と負のイオン化モードの切替を短時間で行うことも求められます。LCMS-2050ではUFscanning™およびUFswitching™技術の採用により、同型のLC-MSでは世界最高速となる15,000 u/secの高速スキャンおよび10 msecの正・負イオン化モード切替時間を実現しました。UFMS (Ultra Fast Mass Spectrometry) シリーズを通じて島津が培ってきた高電圧を高速正確に制御する技術が、小型LC-MSでも発揮されています。

・正負イオン化切替やスキャンスピードが遅いと



・正負イオン化切替やスキャンスピードが速いと

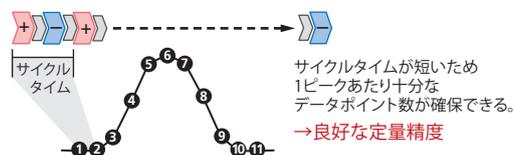


Fig. 14 サイクルタイムとデータポイントの関係

3-5. 高感度と優れたダイナミックレンジ

一般的に質量分析計は高感度測定が可能です。LCMS-2050は、小型ながらも期待を裏切らない感度性能を有しています。Reserpineを用いた感度試験では、1 pgの測定で良好な面積値再現性が得られました (Fig. 15)。さらに、0.1~1,000 pg (4桁) もの幅広いダイナミックレンジでの定量分析が可能です (Fig. 16)。

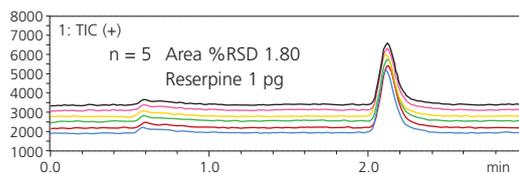


Fig. 15 Reserpine 1 pg MSクロマトグラム

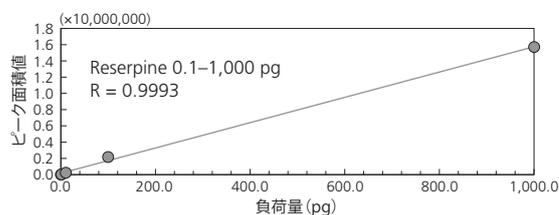


Fig. 16 Reserpine 検量線 (0.1~1000 pg)

3-6. 優れた長期安定性・堅牢性

LC/MS測定において、装置の安定性、堅牢性は非常に重要です。ピーク強度や質量精度が長時間安定していることが、ユーザビリティおよび生産性向上に直結します。

LCMS-2050の堅牢性を評価するための加速試験として、5日間で3,000 ng/μLの溶液を1 μLずつ、連続で10,000回注入しました。これは、1,000 ng/μLの試料を日常的に分析する使用環境における15ヶ月稼働分に相当します(100分析/日、20日/月稼働)。加速試験中、一定注入ごとに10 ng/μLのプロプラノロールを測定することで、装置汚染に対するピーク面積値の安定性を評価しました。

その結果、スキャンモードで測定した時のピーク面積値%RSDが8.5%と良好な結果が得られました。測定手順をFig. 18に示します。

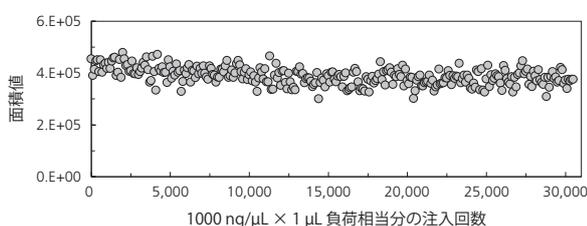


Fig. 17 負荷回数ごとの10 ng/μLプロプラノロール溶液のピーク面積値

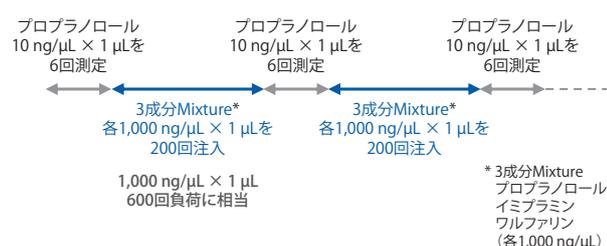


Fig. 18 安定性試験の測定手順

負荷量として1,000 ng/μL溶液の6,000回注入ごとに測定した10 ng/μLプロプラノロールのm/zをTable 1に示します。試験5日間を通じて、実測m/zは真値(260.17)に対し0.1 u以内に収まり、優れた質量安定性が示されました。

Table 1 負荷6,000回ごとに測定されたプロプラノロールのm/z

負荷量	m/z	真値からのずれ
0回	260.14	-0.03
6,000回	260.11	-0.06
12,000回	260.12	-0.05
18,000回	260.13	-0.04
24,000回	260.14	-0.02
30,000回	260.12	-0.05

LCMS-2050は堅牢な分析を可能とするために3つの汚れ防止対策を実施しています。

1. イオンの取り込み口を大きくしながら装置内部の真空を維持できるように最適化された真空排気システム(特許技術)により、詰まりにくい設計となっています。
2. Heated ESIガスにより汚れ成分を揮発させ除去します。さらに、イオン取り込み口の上側に向けて吹き付けることで、イオン化は促進しながら汚れ成分はMS真空内部に入らない構造となっています。(特許申請中)
3. 高濃度サンプルや夾雑成分が多いサンプルを分析した場合などに大量のイオンが質量分析部に導入されると、精密な部品である四重極ロッド汚れが発生することがあります。このような状態ではイオンが四重極ロッドに停滞し感度低下を引き起こします。LCMS-2050では、四重極ロッドに印加する電圧をコントロールすることで滞留したイオンを取り除きます。これにより、汚れに強い安定した分析が可能となっています。

また、万が一イオン取り込み口が詰まった場合でも、真空を停止することなくイオン取り込み部品の交換が可能のため、装置のダウンタイムを最小限にすることが可能です。

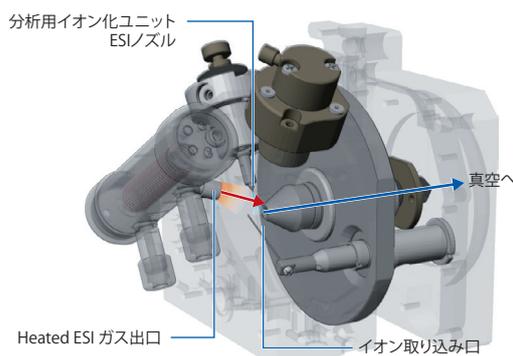


Fig. 19 LCMS-2050のイオン化部内部

4. 最後に

LCMS-2050は、小型化されたボディの中に島津のこれまでの技術を継承・凝縮して、LCユーザー向けに使用感、堅牢性を最適化しながらも、質量範囲・イオン化法・高速性など新たな価値を付与した汎用性の高い質量分析計です。

LCMS, Nexera, LabSolutions, UFscanningおよびUFswitchingは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所
分析計測事業部 <https://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行：2022年2月
© Shimadzu Corporation, 2022