

D

LC/MS/MSを用いた環境ホルモンおよび有機 ひ素化合物の分析

環境分析において、環境中に存在する極微量の有機化学物質を測定するには通常、GC/MS (Gas Chromatography Mass Spectrometry) および、GC/MSでは、分析が困難な難揮発性物質には、高速液体クロマトグラフィー (HPLC : High Performance Liquid Chromatography) が多用されている。

GC/MS法で難揮発性物質を分析する場合には、前処理として誘導体化等の処理を行い揮発性の高い物質に変換して測定する必要がある。また、HPLC法では、試料に含まれる夾雑物と目的物質の分離が必要であるなど、それぞれ測定機器の特徴を考慮して分析手法を選択していた。

本報で紹介するLC/MS/MS (液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析装置 : Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry) は、これらGC/MS法やHPLC法の弱点を補うことができる分析手法として有効なものである。本文では、LC/MS/MS装置の原理および特長さらに難揮発性物質である有機ひ素化合物や環境ホルモンの分析事例を紹介する。

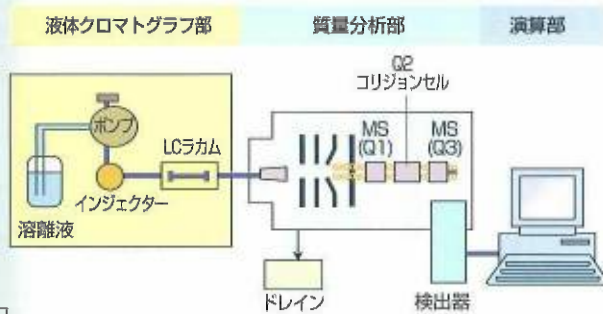
D-1

原理

LC/MS/MS装置の外観を写真1、装置の構成を第1図、質量分析部の主な仕様を第1表に示す。



写真1 装置外観



第1図 LC/MS/MS構成図

第1表 質量分析部の主な仕様

機種	Applied Biosystems社製API4000	
質量測定原理	四重極トリプルステージMS/MS	
イオンソース部	専用TurboVソース 共通ハウジング APCI, Turboionsprayプローブ	
システム性能	質量測定範囲	5~30000m/z
	スキャンスピード	2400amu/sec
	質量精度	測定的全範囲で0.01%以内

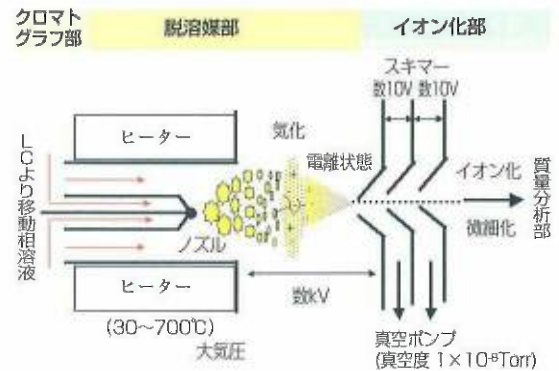
LC/MS/MSとは、第1図に示すように、液体クロマトグラフに質量分析計を直結させたものである。

最初に液体クロマトグラフ部でLCカラムにより夾雑物と目的物質を分離する。次に質量分析部では、2台の質量分析計を有し、1台目の質量分析計で目的の特定イオン(Q1mass Precursor ion)のみを選択する。続いて1台目と2台目の間に設置された衝突活性化室(コリジョンセル : collision cell)で窒素により活性化し、強制的にエネルギーを加え衝突解離させる。次に衝突解離によって分解生成したプロダクトイオン(Q3mass Product ion)を2台目の質量分析計で測定する。これらLCカラム、Q1massおよびQ3massの組み合わせにより目的物質を選択的に分離定量する方法である。

イオン化の方法としては、大気圧化学イオン化法 (APCI) と電界噴霧-エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) がある。今回紹介する分析事例でイオン化法として用いているESI法について簡単な原理を以下に述べる。

第2図にESIイオン化の原理を示す。¹⁾

LCから導入される移動相溶液は、ヒーターで昇温したのち、ノズルから微細な霧となって噴霧



第2図 ESIイオン化法の原理図

1) 環境省 LC/MSを用いた化学物質分析マニュアル 2001年2月23日発行

される。

噴霧直後の移動相溶液は、ノズルとスキマー間に架かる数kVの電場によって電離し、帯電した微細な霧状となる。この霧は、乾燥ガスと霧に帯電した電荷の反発（クーロン反発）により更に微細化し、気化して大気圧下でイオンを生成する。スキマー内では、霧を構成する溶媒と測定成分の

間でプロトンや電子などの電荷の移動が起こり、測定成分のソフトなイオン化が行われる。移動相中で電離しやすい成分ほど、ESI法でイオンを生成しやすい。

APCI法とESI法の特徴を第2表に示す。

ESI法では、特に測定成分の分子量範囲が広く、中極性～強極性物質の測定に有利である。

第2表 イオン化法の特徴

項 目		APCI	ESI
移動相溶液	流量(ml/min)	0.4~2程度	0.1~0.7程度
	組成	水/有機溶媒：任意	極性溶媒
	バッファー	揮発性溶媒	中揮発性溶媒
	pH	イオン化に影響あり	イオン化に影響大
気化部ヒーター	温度(℃)	180~500程度	~130程度
	イオン化エネルギー供給	コロナ放電	強い電場
	試料の状態	気体	液体
	生成イオン	主に擬分子イオン	主に擬分子イオン、多価イオン
測定対象物質	分子量	~1000程度	~100,000程度
	極性	低~中極性	中~強極性

LC/MS/MS装置の主な特長

LC/MS/MSの主な特長としては、第一にGC/MSでは、熱的に不安定な物質や難揮発性物質（例えばエストロゲン物質など）を揮発性物質に変換（誘導体化）する必要があるのに対し、直接的に分析することが可能である。

第二に、HPLCに質量分析計を1台備えた

LC/MSに比較してQ1massとQ3massを組み合わせるとイオンを検出するためノイズが激減し、目的成分のピークとベースラインのノイズとの比（S/N比：signal/noise ratio）が良く約10~100倍高感度で分析することが可能である。

分析事例の紹介

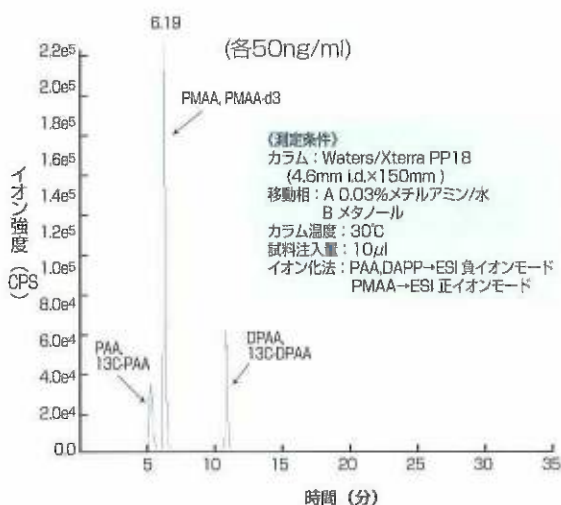
以下に、LC/MS/MS装置を用いた分析事例について紹介する。

分析事例1

旧日本軍の製造した化学兵器のうち通称あか剤と呼ばれるジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンなどの毒ガス成分が環境中で分解されて生成したと考えられているジフェニルアルシン酸（DPAA）やモノフェニルアルソン酸（PAA）その代謝物のひとつであるフェニルメチルアルシン酸（PMAA）の微量定量分析に適用した。²⁾

当装置を用いたあか剤関連物質3成分の一斉分析を行った事例を第3図に示す。

ピーク分離は、良好でGC/MSの測定限界付近の50ng/ml溶液を十分な感度で測定することができた。環境水質調査では、ひ素の基準（0.001mg/L）と同程度となる定量下限が必要とされており、DPAA,PAA換算定量下限は、各々3μg/L、2μg/Lであるのに対してDPAAでは、約1/10の0.3μg/L、PAAでは、約1/3の0.7μg/Lでの定量が可能となった。



第3図 有機ヒ素化合物 PAA,DPAA測定クロマト

分析事例2

工業用界面活性剤として用いられるノニルフェノールエトキシレートC₉H₁₉-C₆H₄-(CH₂CH₂O)_n-OH（以下NPEOと示す）は、内分泌攪乱化学物質（以

2) 小縄幸司、池田和枝、武田宗也、立花茂雄、今北毅、中山準平 土壌及び水質試料を対象としたLC/MS/MSを用いたジフェニルアルシン酸及びフェニルアルソン酸の分析 第14回環境化学討論会講演要旨集 20-3(2005)

3) よくわかる環境ホルモン 環境新聞社発行 平成10年6月25日発行

4) 土木技術資料45-6 (2003)

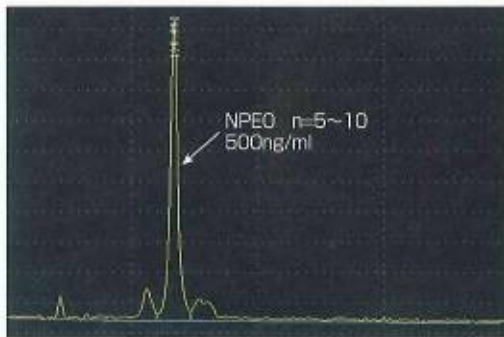
下環境ホルモンと示す)とされているノニルフェノール(以下NPと示す)の前駆体と言われている。下水処理工程では、下水に含まれるNPEOからNPが生成されている可能性が疑われている。³⁾

HPLCでは、NPEOのエトキシ(EO:CH₂CH₂O)鎖長n=1~4とn=5~10についてそれぞれ含量での分析が可能であった。

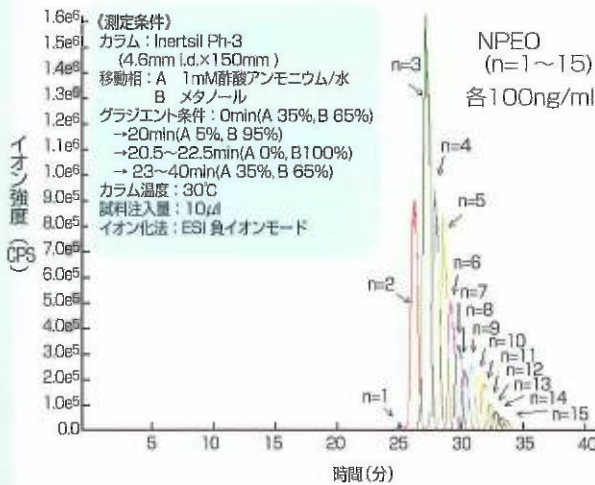
しかし、NPEOは、エトキシ鎖長が、短くなるほど毒性が高くなるとの報告がある³⁾ことからエトキシ鎖長ごとの挙動を知ることは重要である。測定事例を第4図に示す。

当装置を用いることで、HPLCで分離できなかったn=1~15までのNPEOを個々に分析することが可能になった。水質試料において各エトキシ鎖長のNPEOは、定量下限0.03 μg/Lで測定可能となった。

HPLCによるNPEO測定データ



LC/MS/MSによるNPEO測定データ



第4図 NPEOのHPLCおよびLC/MS/MSの測定クロマトグラム

分析事例3

女性ホルモン作用を有する物質として知られるエストロゲン物質の分析は、主として、免疫抗体法(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; ELISA法)が、用いられてきた。しかし、ELISA法では、目的物質の他に、類似の物質も測定してしまうなど問題が指摘されてきた。⁴⁾

また目的物質だけを測定できる手法として、誘導体化GC/MS法があるが、誘導体化処理など分析の前処理における操作が煩雑であるという問題があった。

当装置を用いることにより、代表的なエストロゲン物質4成分を誘導体化操作なしに個別物質について分析を行うことができた。

測定事例を第5図に示す。

水質試料において各成分は0.3ng/Lの定量下限で分析が可能になった。

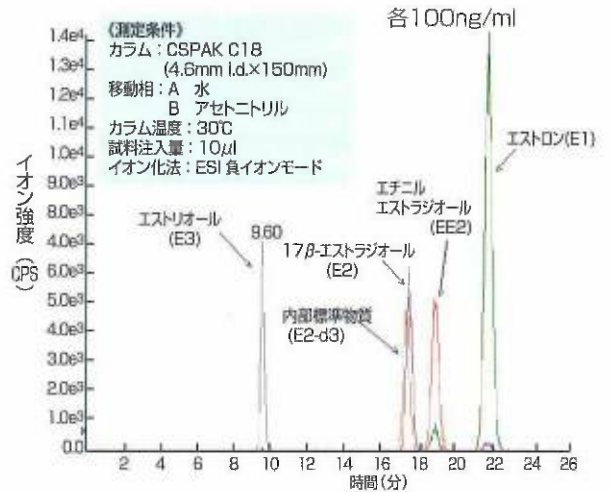


図5 エストロゲン物質測定クロマトグラム

本報では、LC/MS/MS装置の原理・特長・分析事例について紹介した。

本装置では、従来測定が困難であった極微量有機化学物質の定量が可能であり、今後、環境分析のみならずメッキ液の添加物分析や、食品添加物の分析、医薬品分析などへ適用拡大を図り、お客様の問題解決に役立てていきたい。

[環境化学事業部 評価分析部 小縄 幸司]