

図 14.12 クロマトグラフィー質量分析の 3 つの次元：  
保持時間，強度，および  $m/z$   
クロマトグラフィーカラムから溶出する化合物  
No. 1～No. 7 はそれぞれのマススペクトルによ  
って特性化されている。保持時間の任意の時点での  
マススペクトルのすべてのピーク強度の合計を使  
用して，イオンクロマトグラムを構築する。

### 14.2.1 イオンクロマトグラム

数十年前は全イオン電流 (total ion current : TIC) が，質量分析に先立ってハードウェア TIC モニター (hardware TIC monitor) で測定されていた ( $\text{nA} \sim \mu\text{A}$  の範囲)。今日では，それに相当するものが質量分析後に再構成 (reconstructed) または抽出 (extracted) される<sup>31)</sup>。再構成あるいは抽出という語はどちらも，ユーザーが決定した信号を選択してトレースを構築する計算プロセスによって，一連のマススペクトルからクロマトグラムが得られることを示している。便宜を図るために，第 1 章で紹介した関連する用語のいくつかをここでふたたび定義する。TIC はイオン生成の全体的強度の尺度であり，時間の関数で表される。分析中に連続的に取得される各マススペクトルのピーク強度を合計するデータ処理 (data reduction)<sup>32)</sup> によって得られた TIC は，全イオンクロマトグラム (total ion chromatogram, これも TIC と略記する) とよばれる。この目的のために，各マススペクトルのすべてのイオン強度の合計を，時間またはスキャン数の関数としてプロットする (図 14.13 を参照)。全イオン電流クロマトグラム (total ion current chromatogram : TICC) という用語は，クロマトグラフィー分離された混合物の保持時間の関数として記録された，一連のマススペクトルのそれぞれにおいて検出された全イオン電流をプロットすることによって得られたクロマトグラムをさす (本質的に TIC に関係している)。困ったことに，再構成全イオン電流 (reconstructed total ion current : RTIC)，再構成全イオン電流クロマトグラム (reconstructed total ion current chromatogram : RTICC)，および抽出イオンクロマトグラム (extracted ion chromatogram : EIC, 表 14.1) などの組合せも見かける<sup>33)</sup>。

再構成イオンクロマトグラム (reconstructed ion chromatogram : RIC) という用語は，時間またはスキャン数の関数としてプロットされた所定の  $m/z$  または  $m/z$  範囲の強度を記載するために，多くの人によって使用されてきた。最近では，抽出イオンクロマトグラム (extracted ion chromatogram : EIC) という用語が使用されている。これは，選択された単一あるいは複数の  $m/z$  値の信号強度を一連のマススペクトルから抽出し，保持時間の関数としてプロットすることで作成されたクロマトグラムを意味する。RIC または EIC のプロットは，複雑な GC-MS または LC-MS データから  $m/z$  が既知のターゲット化合物を同定するうえでとくに有用である。換言すれば，RIC により，ターゲット化合物の保持時間を探索することができる。RIC はまた，(あまり純度が高くない) 単一試料の測定から得られた異なるマススペクトルに対する特定の  $m/z$  値の関係を解明するためにも使用することができる。したがって，RIC (EIC) は，残留溶媒，可塑剤，真空グリース，合成副生成物などの主生成物に含まれる不純物に関する貴重な情報を明らかにする場合がある (付録 A.9 参照)。

最後に，基準ピーククロマトグラム (base peak chromatogram : BPC) は，保持時間の関数として記録さ

表 14.1 イオンクロマトグラムのタイプ

略 語	正式名称	コメント
TIC	total ion chromatogram 全イオンクロマトグラム	測定時間, 保持時間, またはスキャン数に対して, マススペクトルあたりのピーク強度の総和をプロットしたもの. 実際にはこれらはほとんど同じ意味で使用される. ここでは最も単純な語である TIC が推奨される.
TICC	total ion current chromatogram 全イオン電流クロマトグラム	
RTIC	reconstructed total ion chromatogram 再構成全イオンクロマトグラム	
RTICC	Reconstructed total ion current chromatogram 再構成全イオン電流クロマトグラム	
RIC	reconstructed ion chromatogram 再構成イオンクロマトグラム	保持時間に対して選択された $m/z$ 値での信号強度をプロットしたもの. 実際にはこれらはほとんど同じ意味で使用される.
EIC	extracted ion chromatogram 抽出イオンクロマトグラム	
BPC	base peak chromatogram 基準ピーククロマトグラム	保持時間あるいはスキャン数に対して各マススペクトルの基準ピーク強度をプロットしたもの.

れた一連のマススペクトルの各々において検出された, 基準ピークイオンの信号をプロットすることによって得られたクロマトグラムである. BPC は, ソフトイオン化法との組合せにおいては分子質量に対応する信号がクロマトグラフィーピークに相関するため, とくに有用である.

#### 時間あるいはスキャン数に対するプロット

TIC または RIC の横軸は, 秒または分といった時間でプロットされるか, スキャン数でラベル付けされる. スキャン数はデータ処理において有効であり, 時間スケールは他のクロマトグラフィー質量分析のデータとの比較に適している.

#### 14.2.2 溶出中のマススペクトルの繰返し取得

クロマトグラフィー質量分析法において一般によく用いられている測定モードは, クロマトグラフィーを実行しながら全体の  $m/z$  範囲にわたって質量分析計を繰返しスキャンすることである<sup>34~36</sup>). 上述したように, これはクロマトグラムと溶出成分のマススペクトルとの間の関係を作り出す. TIC および RIC について精通したうえで取り扱うことが, ターゲット化合物へのクロマトグラフィーピークの効果的な帰属の鍵となる.

**血清中の 4-ヒドロキシ-2-ノネナールの検出** 4-ヒドロキシ-2-ノネナール (4-HNE) は脂質過酸化 (lipid peroxidation : LPO) の主要なアルデヒド生成物であり, 酸化ストレスの指標となる. LPO 生成物をバイオマーカーとして導入するために, 血漿 50  $\mu$ L の試料量を用いた臨床研究<sup>37</sup>) における 4-HNE 検出のための GC-MS 法を開発した. GC 分離の改善およびその後のマススペクトル検出のために, アルデヒドはペンタフルオロベンジル-ヒドロキシリミンに変換され, 水酸基はトリメチルシリル化される<sup>38</sup>). 電子捕獲モード (EC, 7.6 節) で得られた TIC は, 50 本のクロマトグラフィーピークを示した (図 14.13). ターゲット化合物に関連するピークは, 適切な RIC から容易に同定することができる. RIC のための潜在的に有用な  $m/z$  値は, 純粋な 4-HNE 誘導体の EC マススペクトルから選択される (図 14.14). この場合,  $[M-HF]^-$  ( $m/z$  403),  $[M-HOSiMe_3]^-$  ( $m/z$  333), および  $[C_6F_5]^-$  ( $m/z$  167) はこの化合物の指標であるが,  $[CH_2C_6F_5]$  ( $m/z$  181) はそうではない.

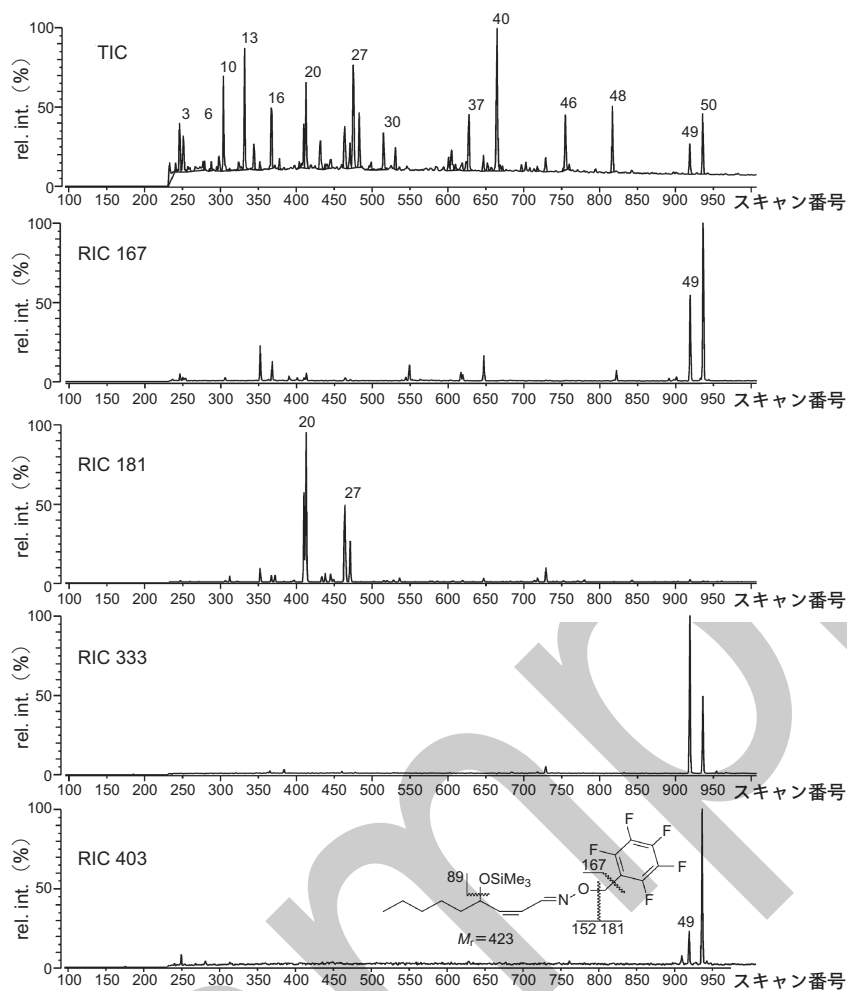


図 14.13 4-HNE をスパイクした血漿試料の GC-EC-MS 測定から得られた TIC および RIC ( $m/z$  167, 181, 333 および 403)<sup>38)</sup>  
 クロマトグラムのピークは通常、マススペクトルとの相関を可能にするために連続した番号が付けられる (4-HNE 誘導体の EC スペクトルは図 14.14 に示してある)。

繰り返しスキャンモードで測定を行う場合、TIC の各点はそれぞれのマススペクトルに対応する。マススペクトルの取得時間は、ある化合物がクロマトグラフィーカラムから溶出する時間よりも短くなければならない。キャピラリー GC-MS では、これには 1 s 程度のスキャンサイクル時間が必要である。たとえば、毎秒 1 スキャンで 20 分間実行すると、1200 個のマススペクトルのセットが得られる。それでもなお、溶出成分の濃度は、スキャンサイクルの時間と比較して時間的に急激に変化する。これは、マススペクトルピークの相対強度に影響を与える。すなわち、高質量イオンは溶出の開始時に上向きマススキャンで強調されるが、溶出が終息するときには逆に小さくなる (図 14.14 参照)。特定のクロマトグラフィーピークに寄与するスキャンの平均化 (averaging) または積算 (accumulation) はその誤差の原因を相殺する。さらにバックグラウンド減算 (background subtraction) は、最終スペクトルの S/N (1.6.3 項参照) を大幅に改善することができる<sup>35)</sup>。この手順を踏んで得られる最終スペクトルの数は常に実際のスキャン回数よりも少ないことも明らかである。

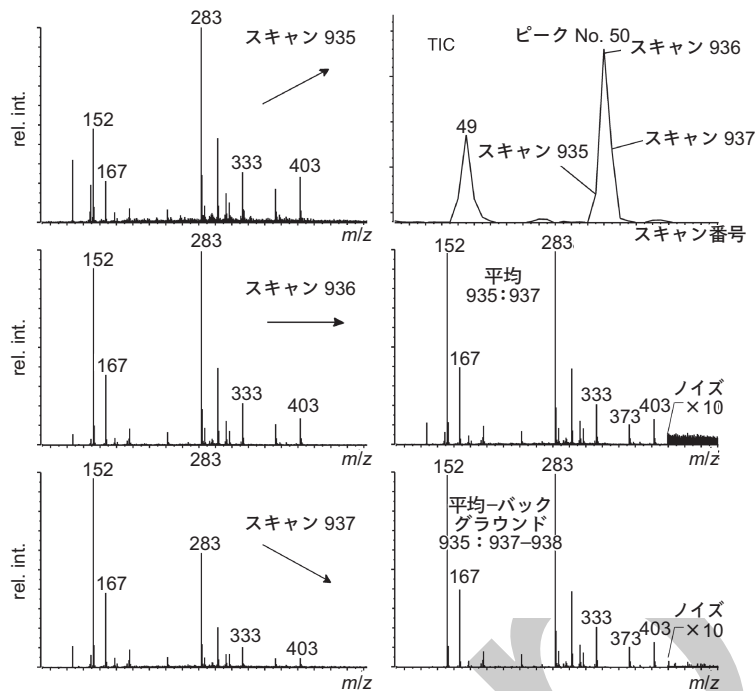


図 14.14 4-HNE を添加した血漿試料の TIC におけるクロマトグラフィーピーク番号 50 から抽出したマススペクトル

左列のスキャン番号 935, 936, および 937 に対する単一スキャンマススペクトルを見ると、相対強度が変化することがわかる。スキャン番号 935~937 の平均化は強度を平準化するが、ノイズは残る。バックグラウンド減算は、ノイズをさらに低減する (TIC と RIC については、前の例と図 14.13 を参照)。

### バックグラウンド減算

解析ないしデータベース検索 (5.9 節参照) に適した高品質のマススペクトルは、加算/平均とその後のバックグラウンド減算によって得られる。とくに、低濃度の成分については減算すべきバックグラウンドの値を過大に評価しないように注意すること。

### 14.2.3 選択イオンモニタリングとターゲット分析

繰返しスキャンモードを用いた質量分析は、混合物の成分の同定に有用であるが、定量 (quantitation) を主目的とする場合 (下記) は、**選択イオンモニタリング** (selected ion monitoring : SIM) がよく用いられる。多重イオン検出 (multiple ion detection : MID) などの他の用語が使用されることもある<sup>31)</sup>。SIM モードでは、質量分析部は、対象とするイオン質量のみを切り替えて取得するように、すなわちある  $m/z$  値から次の  $m/z$  値へ“ジャンプ”するように操作される<sup>39~44)</sup>。SIM で得られるクロマトグラムは RIC の情報に対応しているが、SIM モードではマススペクトルは記録されない。このように、定量では不要な  $m/z$  範囲のスキャンやピーク間の隙間の単なるノイズのスキャンに費やす時間はほとんどゼロになり、測定対象イオンの検出時間は 10~100 倍に増加する (図 14.15)<sup>45)</sup>。それとともに検出限界も改善される。