

質量分析計による試料比較

河合ゆかり

教育・研究技術支援室 分析・物質技術系

概要

質量分析とは、イオン化した試料を質量・電荷比に応じて分離する分析方法である。これによって試料の正確な質量を決定でき、組成や構造を推定することができる。

農学部質量分析室には、分子量の測定を目的とした、イオン化法及び質量分離部の異なる数種類の質量分析計がある。ただ、試料の特性によって適・不適な装置があり、使い分けるのはなかなか難しい。今回は、3種類の分析計を使用して、分析モード・イオン化法を変えて試料測定を行い、各装置の特徴を捉えることを目的とした。電子イオン化 (EI) 法、高速原子衝撃 (FAB) 法及びエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法における測定結果を紹介する。

1 各イオン化法の特徴

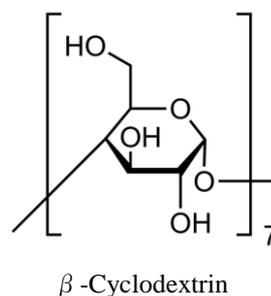
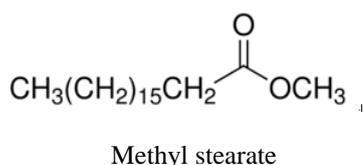
電子イオン化 (EI) 法は、古くから用いられているイオン化法であり、分子量 1000 以下の低分子試料の測定に用いられている。また、気化した試料に熱電子を当ててイオン化するため、揮発性が高い試料や気体試料の測定に用いられる。イオン化する際に過剰なエネルギーをかけた場合、分子内開裂したフラグメントイオンが生じやすい。

高速原子衝撃 (FAB) 法は、分子量 3000 程度までの測定に用いられており、熱に不安定な試料や揮発性の低い試料の測定が可能である。マトリックスと呼ばれる低揮発性有機溶剤と試料の混合溶液に、高速の中性原子 (Xe) を衝突させてイオンを生成させ、スペクトルを検出する。

エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法は、分子量 10 万程度までの幅広い試料に用いられ、高極性試料や難揮発性試料、熱的不安定化合物の測定が可能である。試料溶液を高電圧が印加されたキャピラリーに導入・噴霧し、帯電液滴を形成させ、溶媒を蒸発させることでイオンを生成する。分子イオンは $[M+H]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 等の形で検出される。

2 測定結果

試料は Methyl stearate (分子量 298.5) 及び β -Cyclodextrin (分子量 1135.0) を用いた。また、分析計は日本電子製 JMS-700、Bruker Daltonics 製 Esquire3000 及び Life Technologies 製 API2000 を用いて、ポジティブモード測定を行った。



2.1 電子イオン化 (EI) 法/JMS-700

Fig.1 に Methyl stearate の測定結果を示す。m/z 298.3 に分子イオンスペクトル、m/z 255.2, 199.1 等にフラグメントイオンスペクトルが確認できた。

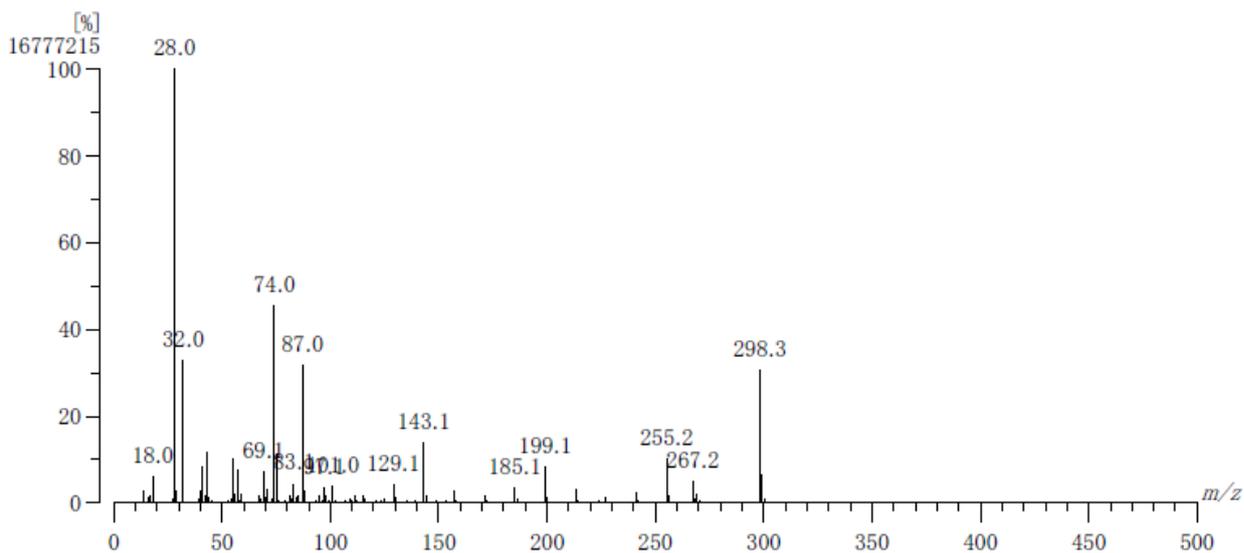


Fig.1 EI 法による Methyl stearate スペクトル

次に、m/z 298 をプリカーサーイオンとし、リンクドスキャンモードで測定したプリカーサーイオンスペクトルを Fig.2 に示す。直鎖状のアルキル基の繰り返しである、14 質量差のスペクトルが明確に観測された。プリカーサーイオンを選択的に測定することによって、プロダクトイオンのみの情報を得ることができ、構造を特定しやすい測定法と言える。

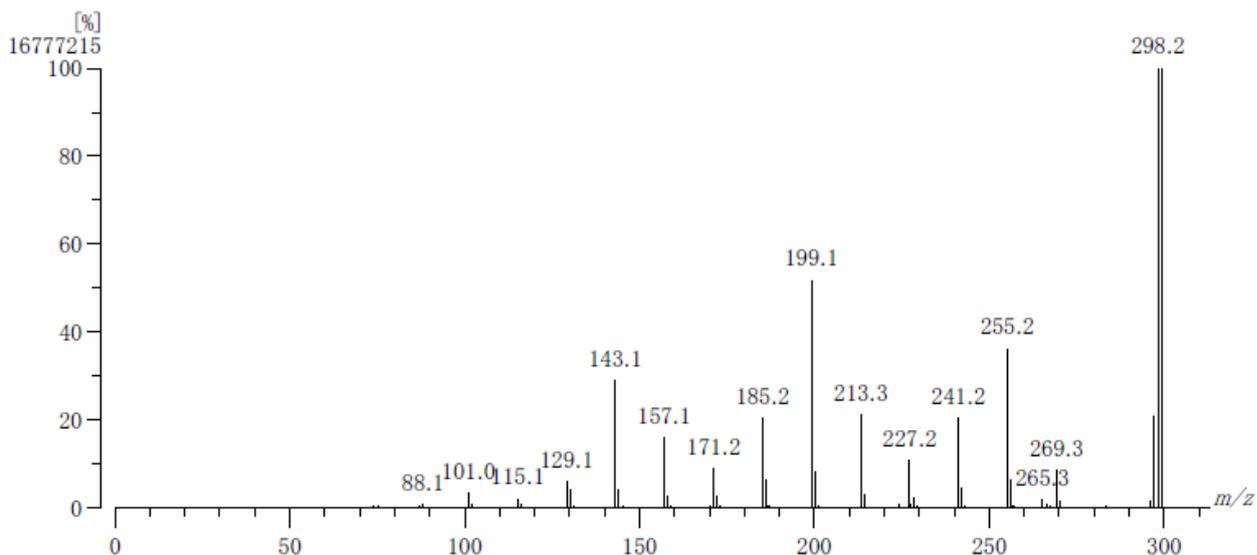


Fig.2 EI 法 (リンクドスキャンモード) による Methyl stearate スペクトル

2.2 高速原子衝撃 (FAB) 法/JMS-700

マトリックスに 3-Nitrobenzyl alcohol (m-NBA)を用い、Methyl stearate を測定した結果を Fig3.に示す。m/z 299.4 にプロトン付加分子が観測され、m/z 597.6 に二量体のスペクトルが観測できた。m/z 154.1 は m-NBA の分子イオンスペクトルであり、m/z 452.4 に見られるスペクトルは Methyl stearate に m-NBA が付加したスペクトルと考えられる。

なお、前述の EI 法と同装置であるが、フラグメントイオンのスペクトルは目立たないことがわかる。

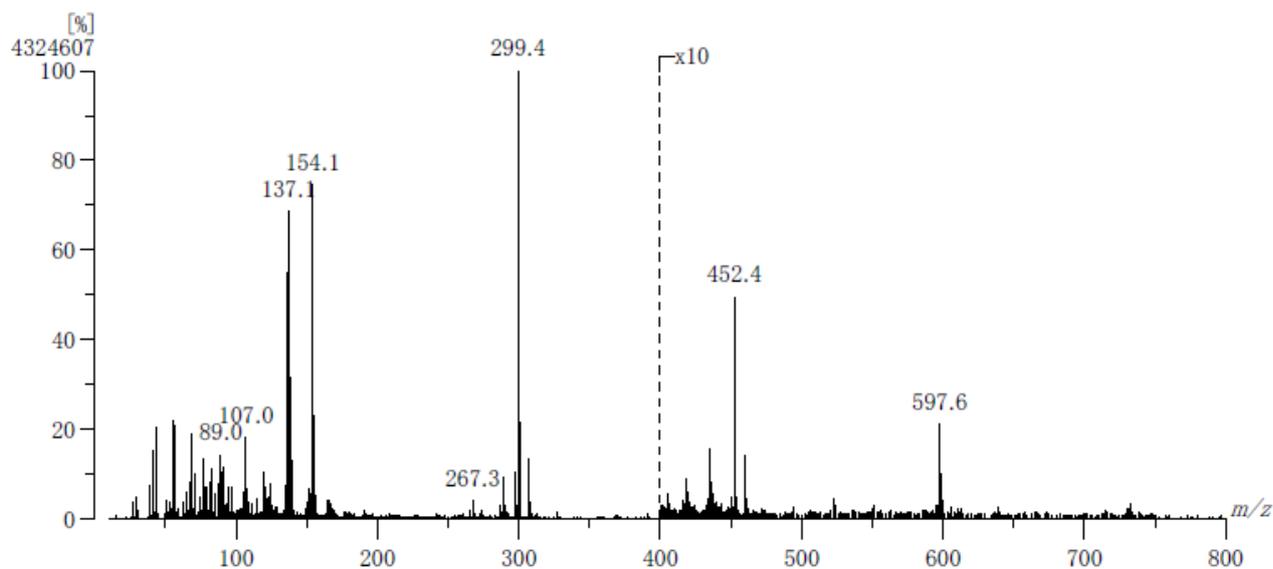


Fig.3 FAB 法による Methyl stearate スペクトル

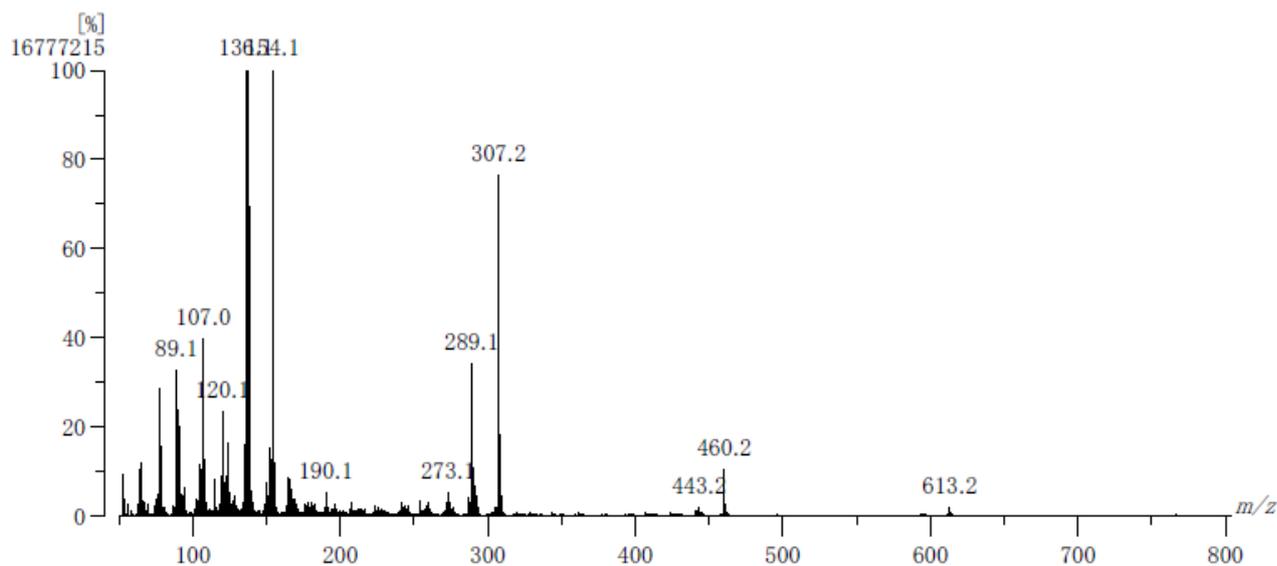


Fig.4 参考) FAB 法による m-NBA スペクトル

2.3 エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法/API2000

Fig.5 に API2000 で測定した Methyl stearate のスペクトルを示す。m/z 299.3 にプロトン付加分子、m/z 321.0 に Na 付加した試料のスペクトルが見られた。

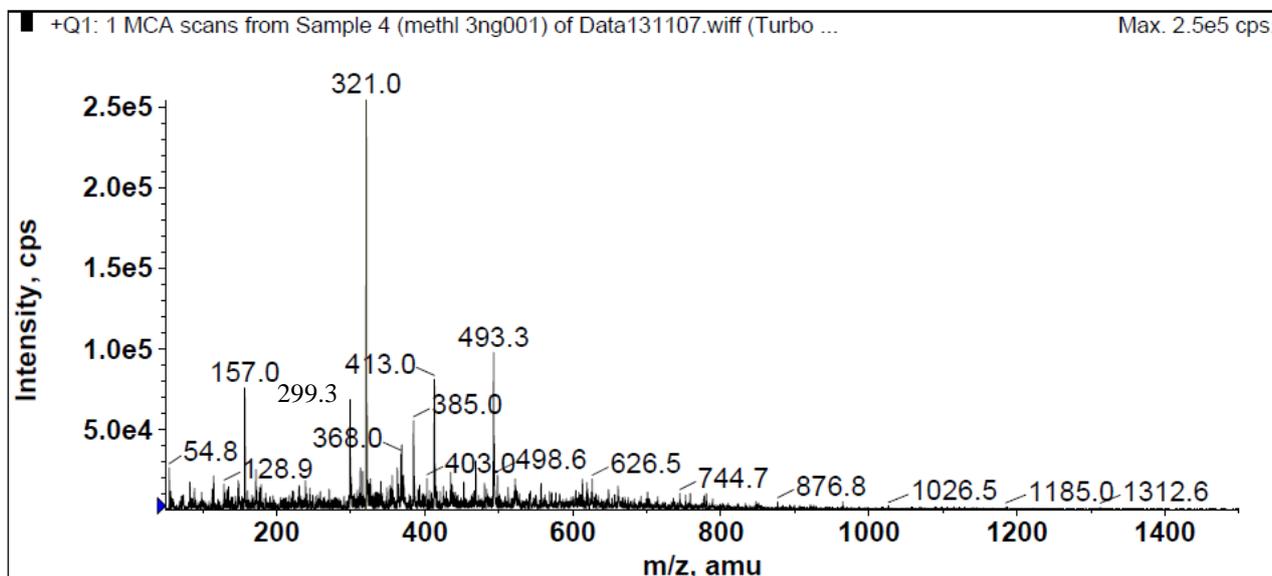


Fig.5 ESI 法による Methyl stearate のスペクトル

Fig.6 に 299 をプリカーサーイオンとし、MS/MS モード測定を行った結果を示す。m/z 57.1, 71.3, 85.1…に直鎖状の C-C 結合が切断された、14 質量差のアルキルイオンスペクトル($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2^+\dots$)が観測された。

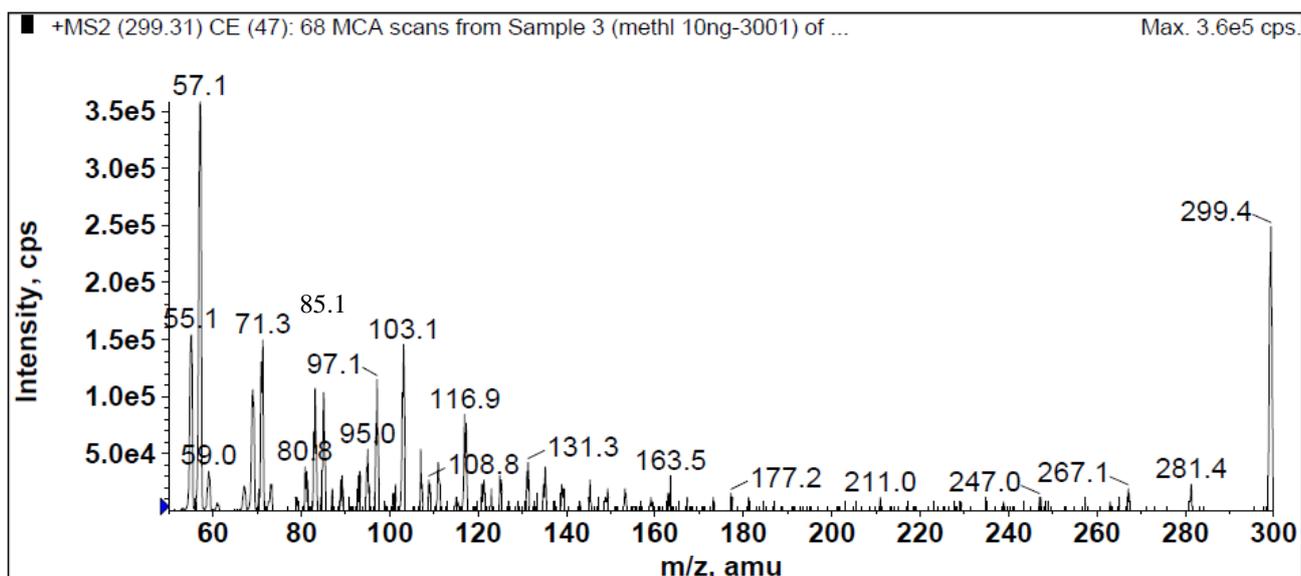


Fig.6 ESI 法 (MS/MS モード) による Methyl stearate スペクトル

2.4 エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 /Esquire3000

β -Cyclodextrin の測定結果を Fig.7 に示す。m/z 1157.4 に Na 付加した試料及び m/z 1173.4 に K 付加した試料、m/z 590.3 に 2 価の Na 付加試料のスペクトルが確認できる。

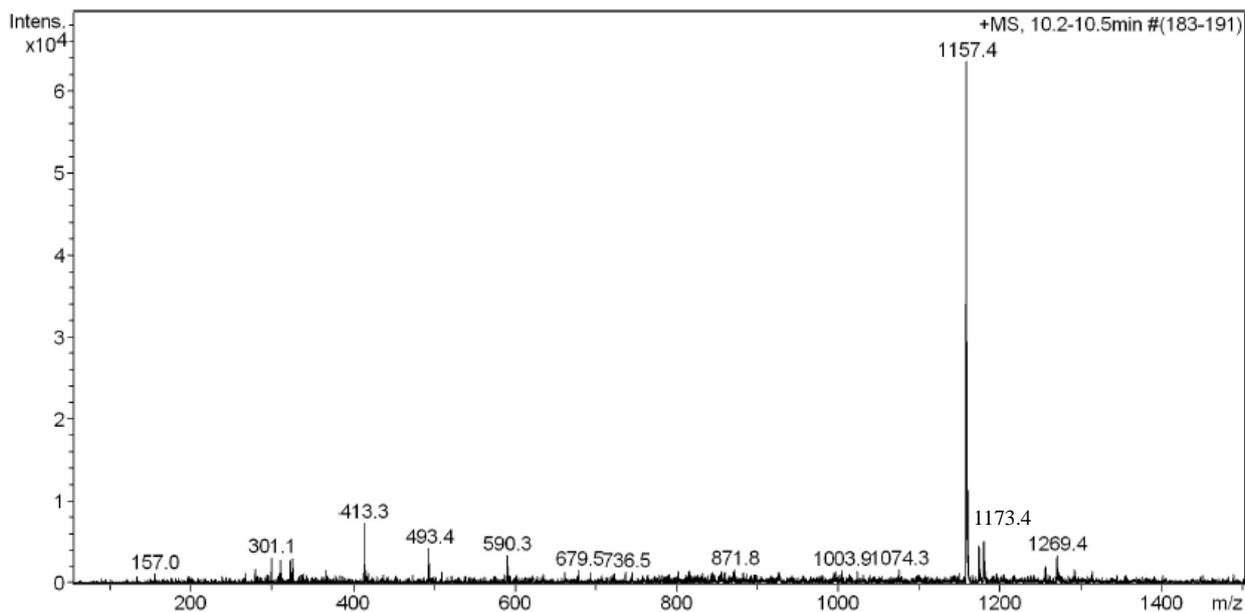


Fig.7 ESI 法による β -Cyclodextrin のスペクトル

次に、Fig.8 に m/z 1157 及び 509 をプリカーサーイオンとし、MS/MS 及び MS/MS/MS モードで測定した結果を示す。MS/MS モードを利用することで、グルコース単位で分かれた Na 付加プロダクトイオンのスペクトルが観測できた。

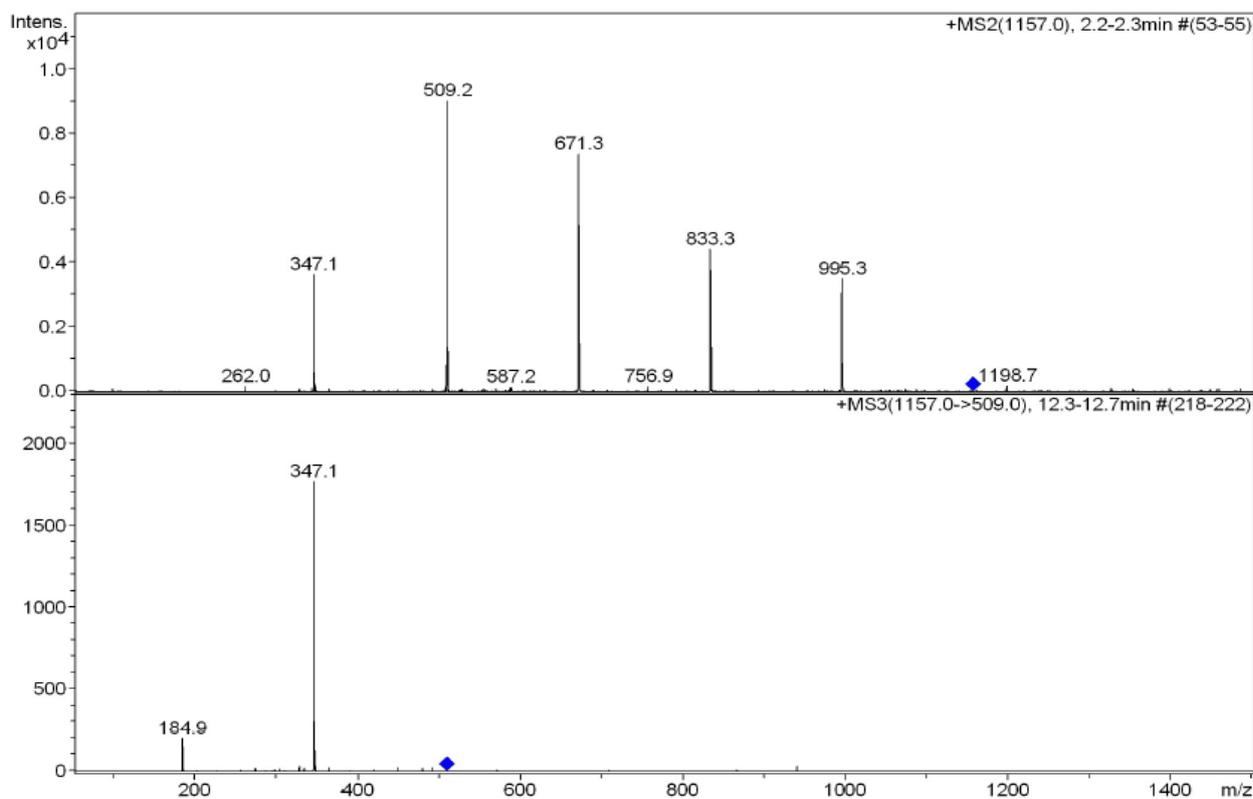


Fig.8 ESI 法 (MS/MS 及び MS/MS/MS モード) による β -Cyclodextrin のスペクトル

3 まとめ

同じ試料を用いて測定した場合でも、分析モードやイオン化法で異なるスペクトルを与えることがわかった。また、装置ごとに測定に必要な試料濃度・試料量も異なり、装置自体の状態（汚れ等）によっても、大きく測定感度に影響が出るのが徐々にわかってきた。

より正確で必要な情報を迅速に得るために、試料に適した装置や分析モード・イオン化法を使い分け、最善の状態を維持できるよう、今後も努力していきたい。

- ▶ ハードなイオン化法である EI 法はフラグメンテーションが起りやすく、リンクドスキャンモードを利用することで、より詳細に構造解析の情報を得ることができる。
- ▶ ソフトなイオン化法である ESI 法はフラグメンテーションが起りにくいため、構造解析に用いる場合は MS/MS モードを併用して測定すると良い。また、H 付加だけでなく、Na、K 付加や多価イオンも検出されるといった特徴を持つため、分子イオンの特定や、高分子試料の検出に有効である。

参考文献

- [1] 志田保夫, et al, “これならわかるマスマススペクトロメトリー”, 2001 年 3 月
- [2] J.H.Gross, et al, “マスマススペクトロメトリー”, 2007 年 12 月
- [3] SIGMA-ALDRICH, <http://www.sigmaaldrich.com/japan.html>