

TECHNORIDGE

2020 323



日本国キログラム原器 [不許複製] ©国立研究開発法人産業技術総合研究所

特集 質量分析 (MS)

TECHNORIDGE

2020 323



ESI法のイオン生成部
(当センター保有機器)

目次

巻頭言	2
質量分析 (MS) 法とは	3
液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS)	4
ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)	6
機器紹介	8

重要な分子の「重さ」情報、測れます。

2019年5月20日、130年にわたって質量(重さ)の基準とされてきた「国際キログラム原器*」がその役目を終え、「不変」の物理定数である「プランク定数」を用いて「キログラム」が定義されることになり、「キログラムはプランク定数の数値を $6.62607015 \times 10^{-34}$ Js と定めることで定義される」とされました。科学の領域が、大は宇宙から、小は分子、原子、素粒子へと広がる今日、質量という基本的な物理量の単位は、化学変化や汚染等で質量が変動する人工物を基準とするのではなく、普遍的で変動することのない物理定数に基づいて定義することが必要となったためです。

分子の世界においても、その1分子に含まれる原子量の総和である「重さ(分子量)」は非常に重要な情報です。質量分析(Mass Spectrometry:MS)法を利用すると、1分子当たりの「重さ」に関する情報が、わずかなサンプル量から得ることができます。MS装置は、化学、食品、医薬品などを中心とした有機物に関する様々な分野だけでなく、金属を中心とした無機物分野においても幅広く活躍しています。この方法では、分子をイオン化させて測定しますが、そのイオン化法については、測定したいサンプルに合わせて適切なものを選定する必要があります。例えば、2002年にノーベル化学賞を受賞された、島津製作所の田中耕一博士の成果であるマトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI法)は、生体高分子のイオン化が可能ですが、他の方法ではイオン化が困難なため、測定ができません。

当センターでは、有機物用機器が中心ですが、様々なMS装置を保有しており(別表参照)、本号では、MS装置の一般的な概要に加え、保有機器それぞれの特徴を紹介します。本号をご覧ください、新商品開発や既存製品の性能改善、製造工程における不良要因の解明などにお役に立てれば幸いです。

* 表紙の写真は、国立研究開発法人産業技術総合研究所が保管している「日本国キログラム原器」

機器名	イオン化法	使用用途	設備機器貸付対応	受託試験対応
ガスクロマトグラフ質量分析装置(日本電子社製)	EI, CI	化成品一般の中に含まれる成分の分離とその構造解析に使用	×	○
ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析装置(島津製作所社製)	EI, CI	医薬品や食品などに含まれる残留溶媒や香り成分の分析に使用	×	○
熱分解ガスクロマトグラフ質量分析装置(アジレント・テクノロジー社製)	EI, CI	化成品原料や樹脂原料などのうち、特に溶化が困難な高分子系材料等を熱分解し、その成分分析に使用	×	○
高速液体クロマトグラフ質量分析装置(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)	ESI, APCI	有機化合物の測定に使用 高分子量などガスクロマトグラフィ分析ができない化合物に使用	×	○
液体クロマトグラフ四重極飛行時間型質量分析装置(ウォーターズ社製)	ESI, APCI	有機化合物の測定に使用 MS/MS測定が可能であり、より詳細な構造解析に使用	×	○
高性能匂いかぎ装置付きガスクロマトグラフ質量分析装置(アジレント・テクノロジー社製)	EI	MSと匂いかぎ装置を併用することで成分同定と匂いの質や強さの評価に使用	○	○ (匂いかぎは貸付のみ)

編集担当
西山 靖浩

質量分析(MS)法とは

化学技術部 西山 靖浩

はじめに

質量分析 (MS) 法は、化合物の分子量や原子組成がごく少量の試料で決定できることや、化合物の構造が推定できることから、有機化学の分野において非常に重要な分析法です。また、環境問題への関心の高まりなどから、有機化合物だけでなく、金属を中心とした無機化合物の質量分析も、非常に重要な分析技術となっています。その原理は、主に高電圧をかけた真空中でサンプルをイオン化させ、装置内を飛行するイオンを電氣的・磁氣的な作用等により、質量電荷比に応じて分離、検出します。本稿では、一般的な質量分析装置の概要について説明します。

質量分析装置 (MS 装置) の構成

MS 装置は、試料導入部、イオン生成部、質量分離部、イオン検出部で構成されています (図 1)。

試料導入部

試料が気体、液体、固体のいずれか、若しくは揮発性、不揮発性のいずれかで導入方法は異なります。また、サンプルをそのまま機器に導入するだけでなく、それぞれを液体クロマトグラフ (LC) やガスクロマトグラフ (GC) に接続し、分離された成分を装置に導入することも可能です。

イオン生成部

一般的によく使用されるイオン化方法とその特長を示します (表 1)。それぞれのイオン化法には利点、欠点があり、サンプルによっては、ある種のイオン化法では全くイオン化せず、結果として目的物を解析できないということも起こり得ます。したがって、適切なイオン化法を選択することは、非常に重要になります。

質量分離部

イオン化されたサンプルは、イオンの質量 m とイオンの電荷 z の比である m/z 値の違いにより、その運動性が異なります。

表 1 各種イオン化法の種類と特長

イオン化法	対応分子量	接続可能機器	特長
EI (電子衝撃イオン化)	1~1000	GC	フラグメントシグナルから構造情報が得られる
CI (化学イオン化)	EIと同程度	GC	フラグメンテーションが抑えられ強い分子シグナルが観察される
FAB (高速原子衝撃)	500~5000	—	極性物質など様々な物質に利用可能
MALDI (マトリックス支援レーザー脱離イオン化)	1~1000000	—	高分子化合物でも測定可能
ESI (エレクトロスプレーイオン化)	200~100000	LC	ソフトなイオン化で高分子も可能多価イオンが生成しやすい
APCI (大気圧化学イオン化)	1~1000	LC	低~中極性の化合物に適応
ICP (誘導結合プラズマ)	—	—	金属単体の分析に利用
SI (二次イオン)	—	—	固体の表面分析に利用微量元素の定量も可能

それらを様々な原理に基づいた分離器によって分離します。代表的なものに、磁場セクター型、四重極型、イオントラップ型、飛行時間型 (TOF 型) などが挙げられます。

イオン検出部

分離部で適切に分けられたイオンは、電子増倍管などで増幅された後、イオン検出部で検出されます。

分離部及び検出部は、生成したイオンが他の粒子に衝突することで分離、検出できなくなることが無いよう、高真空度に保たれています。

おわりに

MS 法は、適切なイオン化法、分離法を選べば、目的物の「重さ」を解析できる強力なツールとなります。本号では、当センター保有機器の LC/MS 及び GC/MS 分析について、具体例を挙げて詳しく説明します。

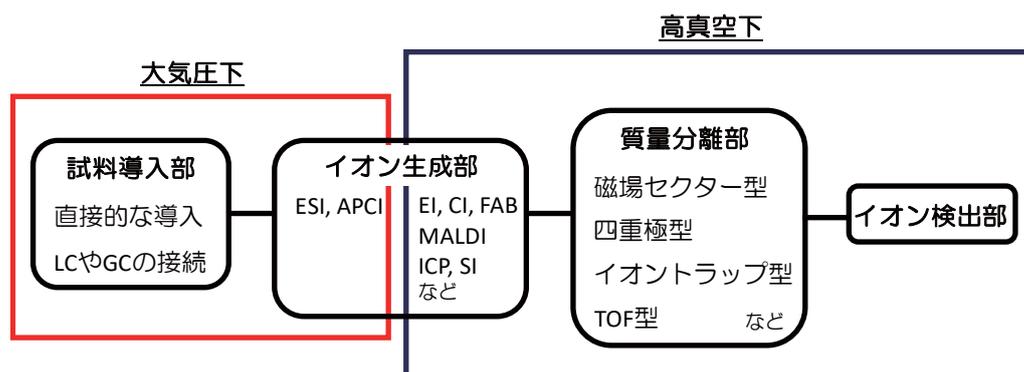


図 1 質量分析装置の構成

液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS)

はじめに

質量分析 (MS) 法は、特に有機化合物の同定において、非常に有用な手法になります。一方、複数の有機化合物が混在しているサンプルを測定した場合、イオン化されやすい成分が相対的に大きなピークとして観測されるなど、どのピークが目的物由来であるかを判断できません。そのため、通常は事前の精製が欠かせませんが、MS 装置の前にクロマトグラフを接続することで、成分を分離させ、目的物の質量を測定することが可能です。その際のクロマトグラフィーとしては、ガスクロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィーが、主に利用されています。

本稿では、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS) について、イオン化法の具体例を示しながら紹介します。

ESI 法と APCI 法の原理

ESI 法：MS におけるイオン化法の一つとして ESI (エレクトロスプレーイオン化, electrospray ionization) 法があります。これは、化合物のフラグメンテーション (結合が切れる) を起こしにくいソフトなイオン化手法であるため、試料成分そのものの質量を観測できます。ESI 法では、LC の溶出液は数 kV の電圧を印加され、そこから N₂ ガスによって帯電した微細な霧として噴霧されます。噴霧された液滴は、蒸発しながら表面張力と電荷の反発により更に微細化し、液滴中の溶媒からのプロトンや電子の移動により試料成分がイオン化されます (図 1)。逆相カラムと接続して使用する場合、溶媒の水に対し、溶媒とともに気化するイオン性化合物の酢酸や酢酸アンモニウム等を加えることでイオン化が促進され、上手く目的の質量が検出されることがあります。一方、溶液状態で電圧を印加する都合上、試料を極性の低い有機溶媒のみに溶解させるとイオン化が難しくなります。ESI 法は、カウンターイオンを持つ錯体や、溶液中でプロトン移動等によりイオン化されやすい化合物 (アミンやカルボン酸等) と相性が良く、溶媒からプロトンが付加されたものは [M+H]⁺、プロトンが脱離したものは [M-H]⁻ となります。それぞれ 1 価のイオンであるため、*m/z* はそれぞれ M+1、M-1 として検出されます。さらに、多価イオン [M+nH]ⁿ⁺ も検出可能であり、実

際には [M+nH]ⁿ⁺/n の *m/z* が検出されます。

APCI 法：ESI 法とは異なるソフトなイオン化法として、APCI (大気圧化学イオン化, atmospheric pressure chemical ionization) 法があります。APCI 法におけるイオン化過程の模式図を、図 2 に示します。APCI 法では、ヒーターによる加熱と N₂ ガスによって液滴が気化し、その後コロナ放電による電圧印加でイオン化を行います。まず、気化したガスの主成分の溶媒分子がイオン化され、次に、溶媒イオンと試料成分間でプロトンや電子移動が起こり、イオン化された試料分子の質量が検出されます。このイオン化法では、ESI 法では難しい低極性分子の質量を検出することができます。また、溶液を気化させてからコロナ放電により電圧を印加するため、ESI 法ほど溶出液の極性がイオン化に影響されないという特徴があり、有機溶媒 100% を溶媒として用いても測定が可能です。

ESI 法及び APCI 法を用いた LC/MS 測定

MS におけるイオン化法の比較として、異なる極性を持つ化合物 7 種類を含む混合物について、ESI 法と APCI 法をそれぞれ用いて LC/MS 測定を行いました (図 3)。

まず、ESI 法による LC/MS 測定を行った結果を図 4 及び図

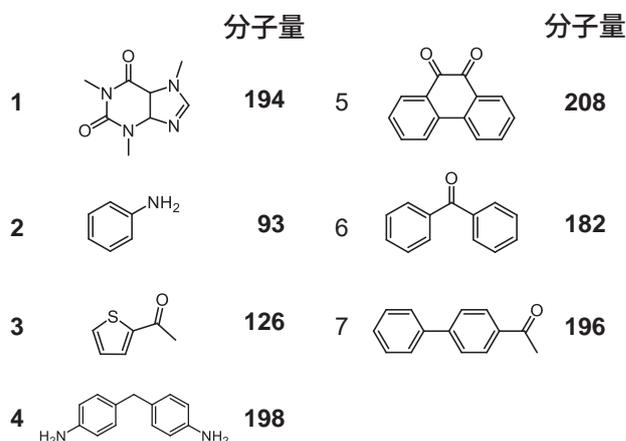


図 3 混合物成分の構造と分子量

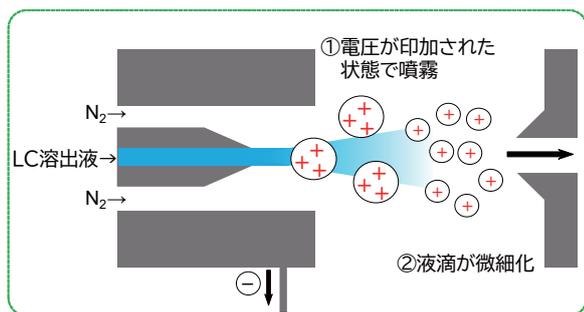


図 1 ESI 法におけるイオン化の原理

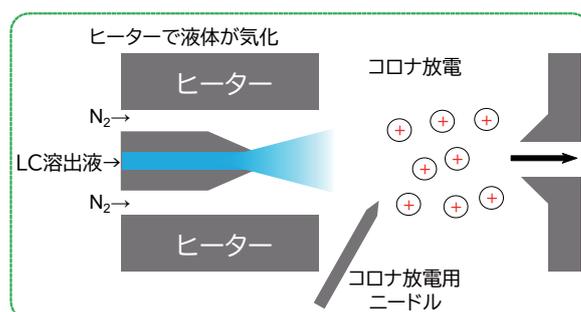


図 2 APCI 法におけるイオン化の原理

液体クロマトグラフィー質量分析 (LC/MS)

5に示します。イオン化されやすい「窒素を含む化合物 1、2、4 及びジケトン 5」の質量数はプロトン付加体として検出されています。一方で、極性が低いケトン化合物 3、6、7 については、ESI 法ではイオン化ピークが検出されていません。

次に、APCI 法を用いた前述の混合試料の LC/MS 測定結果を図 6 及び図 7 に示します。イオン化法として APCI 法を選択することで、ESI 法では正イオンが検出されなかった 3、6 及び 7 の質量数が検出されました。

おわりに

今回、APCI 法を用いることで、ESI 法ではイオン化されない分子の質量数が検出できましたが、APCI 法が万能なイオン化手法というわけではありません。一般的に 10 万程度までの分子量を有する化合物をイオン化可能な ESI 法と比較して、APCI 法ではその分子量が 1,000 程度と比較的測定範囲が狭く、かつ、高極性な化合物については質量の検出が難し

いとされています (図 8)。LC/MS 測定の際は、想定される試料の構造や極性によって適切なイオン化法を選択することが重要です。

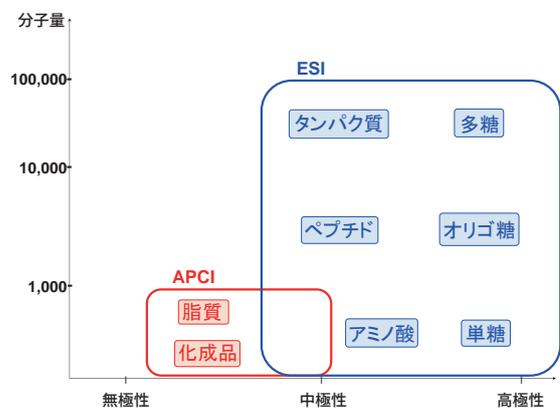


図 8 各イオン化法に適した対象物質

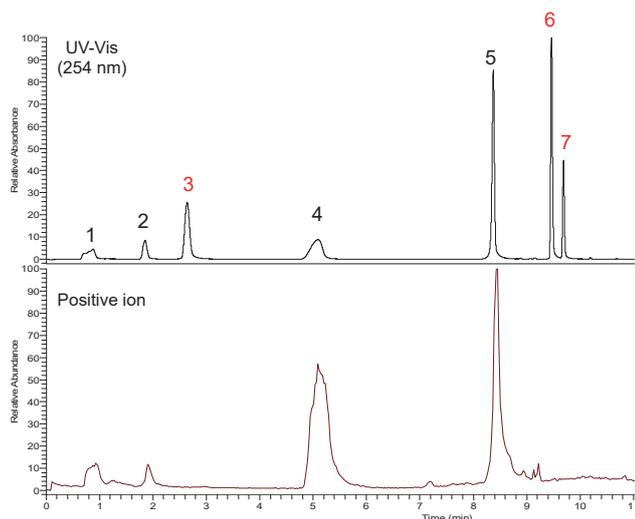


図 4 混合試料のクロマトグラム (上: 254 nm の吸収を検出、下: 正イオンを検出)

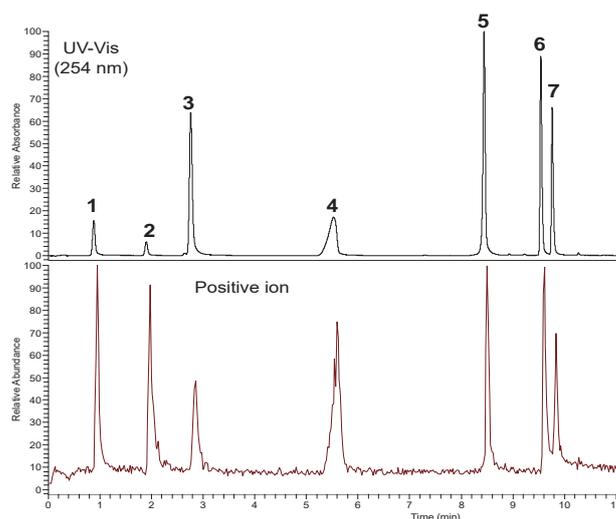


図 6 混合試料のクロマトグラム (上: 254 nm の吸収を検出、下: 正イオンを検出)

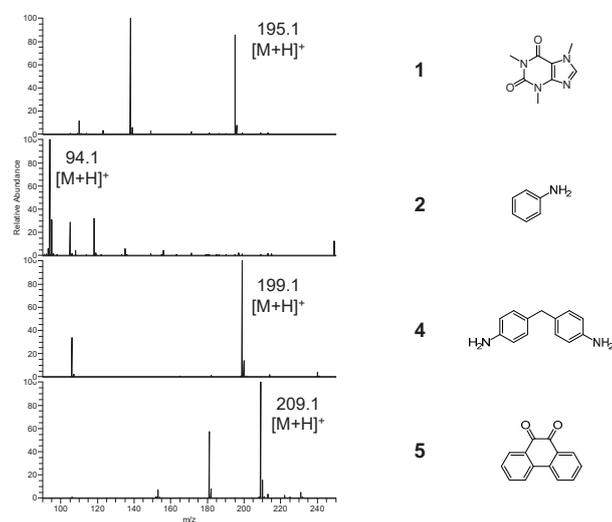


図 5 各溶出成分の ESI 法による質量分析結果

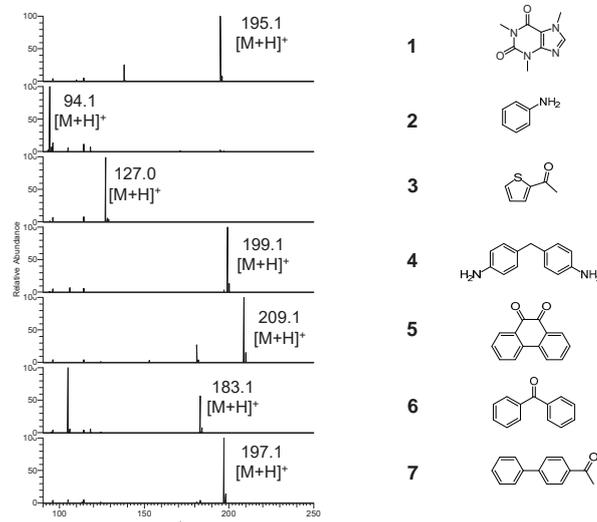


図 7 各溶出成分の APCI 法による質量分析結果

ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

化学技術部 大崎 秀介

はじめに

ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) は、気化された試料を分離カラムで分離し、MS 装置によりその分離された成分を検出する装置です。MS 装置では、分子イオン及びフラグメントイオン (分解イオン) の情報を含むマススペクトルを得ることができます。マススペクトルは、化合物の分子量はもとより、その物質の部分構造に関する大量の情報を含んでいるため、スペクトルを解析することで、化合物の構造を推定することができます。また、GC/MS で用いられるイオン化法は、前稿 LC/MS で用いられる ESI 法や APCI 法とは異なり、化合物の構造に関係なくイオン化が可能のため、様々な化合物に対して有効な分析法です。

本稿では、GC/MS において一般的に用いられるイオン化法である、EI (電子衝撃イオン化、electron impact) 法及び CI (化学イオン化、chemical ionization) 法について、これらの特徴を具体例を交えて紹介します。

EI 法

EI 法は、GC/MS において最も広く用いられ、定性及び定量の両方の分析で非常に有用なイオン化法です。その原理は、真空中でフィラメントから発生した電子を試料に照射することで、対象分子をイオン化させます (図 1)。この時照射される電子のエネルギーは、一般的に 70eV に設定されており、化合物を壊すのに十分なエネルギーとなります。そのため、EI 法により発生するイオンは、対象成分の分子構造をそのまま反映した「分子イオン」よりも、分子構造が切断された形でイオン化した「フラグメントイオン」が、主として検出されます。

具体例として、汎用溶媒として用いられる酢酸エチルの EI スペクトルを図 2 に示します。ここでは、酢酸エチルの分子

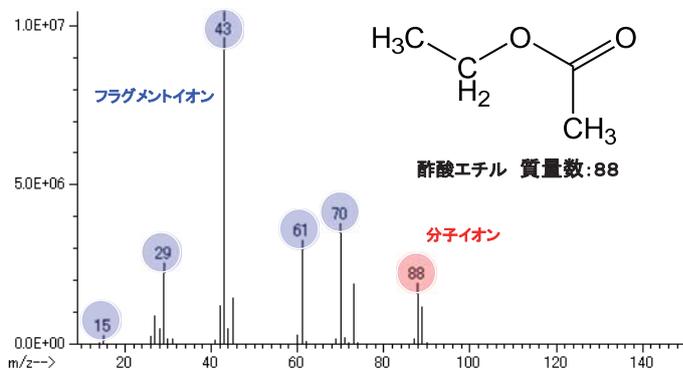


図 2 酢酸エチルのマススペクトル (EI)

量を反映した質量数 88 を示す分子イオンの他に、イオン化の際に結合が切断されたフラグメントイオン 70、61、43、29、15 が検出されているのが分かります。このように、EI によるイオン化では、分子イオンとフラグメントイオンが検出され、そのフラグメントイオンの発生パターンは対象分子の化学構造を反映したものとなるため、化合物の推定などの定性分析に有用です。酢酸エチルのように単純な分子構造であれば、フラグメントイオンから分子の部分構造を推定することは比較的容易ですが、分子量が大きく複雑な分子構造を持つ化合物の場合は、その構造解析が困難となります。そのような場合、得られたマススペクトルをデータベースに登録されているスペクトルデータと比較し、化合物を推定する方法が有効です。

データベースの活用

EI 法により得られるフラグメントイオンは、同一の条件であれば再現性のあるスペクトルパターンとなるため、同一条件 (70eV) でイオン化された多数の化合物 (数万以上) のマススペクトルが、データベースに登録されています。例えば、図 3 のような複雑なフラグメントパターンを示すマススペクトルの場合、測定者がこのフラグメントイオンパターンから部分構造を推定し、検出された物質の構造解析を行うことは容易ではありません。しかし、データベース検索を行い、類似のマススペクトルを照合することで、化合物の化学構造を比較的容易に推定することができます。

CI 法

CI 法では、メタンやイソブタン等の反応ガスをイオン生成部に充満させた中で、試料に電子を照射します。すると、照射した電子は、存在量が圧倒的に多い反応ガスをイオン化します。そして、その反応ガスイオンが試料分子と反応するこ

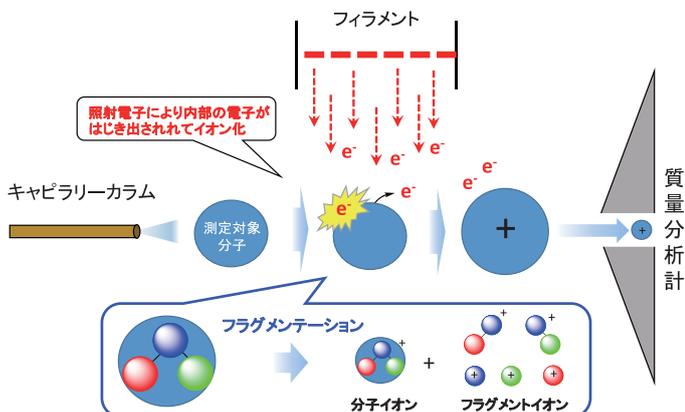


図 1 EI 法におけるイオン化の原理

ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

とで、試料がイオン化されます(図4)。EI法では、電子を測定分子に直接照射することで、分子を壊すイメージでイオン化されます。一方、CI法は、電子照射により反応ガスがイオン化され、測定対象分子に移行し目的成分がイオン化されます。このように、EI法とは異なり間接的(ソフト)にイオン化されるために、フラグメンテーションが抑えられ(分子を壊さず)、主に分子イオンが生成するので、対象分子の分子量を確認する際に有用なイオン化法となります。

図5には、分子量分布をもった化合物(ポリエチレングリコールモノメチルエーテル(PEG-Me、平均分子量350))を測定した際のクロマトグラム及びそれらのマススペクトルを示します。クロマトグラムでは、分子量分布に応じたピーク

が得られており、それらのEI法によるマススペクトル及びデータベース検索の結果から、それぞれがPEG-Meであることが確認できました。しかし、EIスペクトルではフラグメントイオンが検出されるだけで、分子イオンが確認できないため、各成分の分子量までは分かりません(定性的にPEG-Meであることが分かるだけ)。一方、イソブタンを反応ガスとして用いたCIスペクトルを確認すると、分子イオンに相当する質量数が確認され、検出されたピーク成分の分子量を確認することができ、クロマトグラムのピークがn=4~12に相当するPEG-Meに由来するものであることが確認できました。

おわりに

今回紹介したEI法及びCI法は、様々な化合物に対して有効なイオン化法ではありますが、基本的に揮発成分が測定対象であり、不揮発性の物質やGC測定中に熱分解などで変質する物質などは、直接分析することができません。そのため、「不揮発性の物質で誘導体化等を行いたくない」、「熱的に不安定でGCを通したくない」といった化合物が測定対象の場合は、前稿で紹介したLC/MSを使用した方が、適切な情報が得られる場合もあります。もし、「質量分析を行いたいけど、どの方法が適切であるか分からない」といった場合は、お気軽にご相談ください。

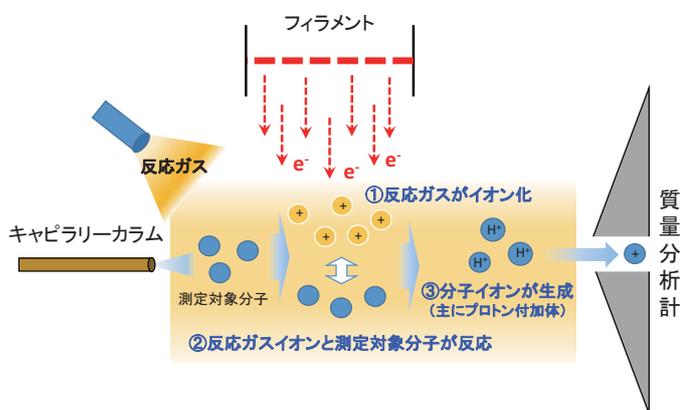


図4 CI法におけるイオン化の原理

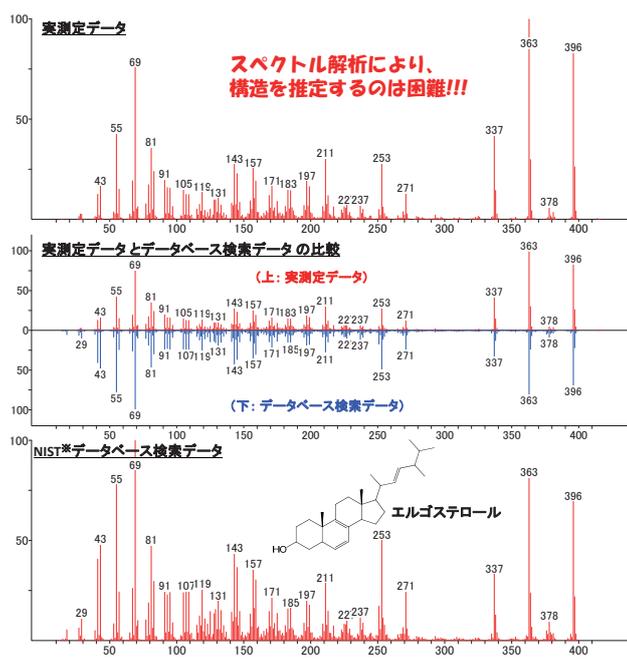


図3 データベースの活用事例

※アメリカ国立標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology)

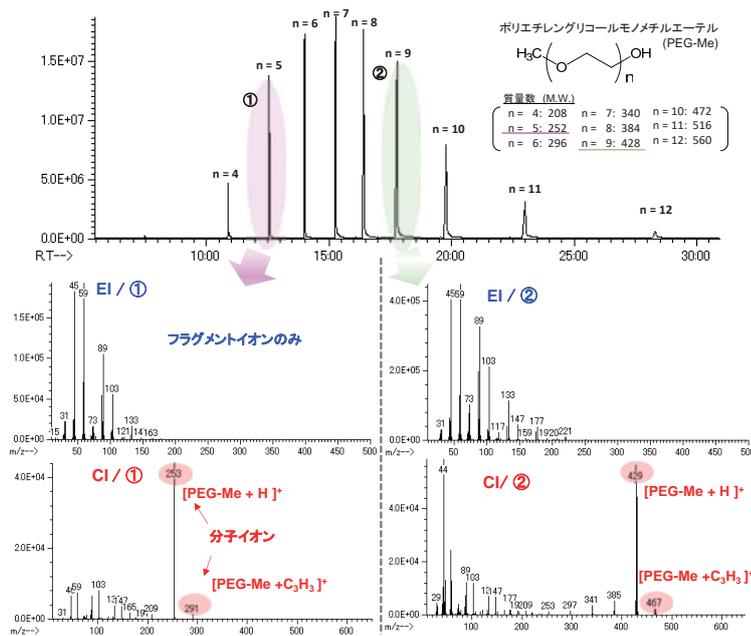


図5 ポリエチレングリコールモノメチルエーテルの測定例 (EI法とCI法のマススペクトルの比較)

機器紹介

事業名：平成31年度地域産業活性化促進事業
機器名：香気成分加熱脱着装置

- この設備の仕様は？
- 製品名（メーカー）
ポータブル・サーマル・ディソーパー HandyTD TD265（ジールサイエンス株式会社）
- 仕様
【加熱温度】40~350℃、昇温速度 5~45℃/秒
【キャリアガス】ヘリウム
- この設備の特徴・用途は？
- 特徴
本装置は、捕集剤に捕集した揮発性成分を急速加熱によって脱離・抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）へ導入するための装置です。食品などに含まれる香気成分の分析では、微量の揮発性成分を対象とするため、抽出・濃縮が必要となる場合が多くあります。本装置を用いることで、抽出・濃縮操作を簡便に行うことができ、微量な揮発性成分の高感度な分析が可能です。
- 用途
 - ・香りを活かした食品の開発
 - ・フレーバーやフレグランスの開発
 - ・食品、化粧品、化成品等の品質管理



装置本体



GC/MSへの導入の様子



KEIRIN 

事業名：2019（平成31）年度 機械振興補助事業
（公益財団法人 JKA）
機器名：万能材料試験機

- この設備の仕様は？
- 製品名（メーカー）
島津オートグラフ AG-50kN XD plus（株式会社島津製作所）
- 仕様
 - ①ロードセル：100N、5kN、50kN
 - ②恒温槽：-60℃～+250℃
- この設備の特徴・用途は？
- 特徴
本装置では、引張、圧縮、曲げ、摩擦、破裂などの強度を測定することができます。
- 用途
金属、ゴム、プラスチック、繊維、皮革、繊維強化プラスチックなど各種材料の強度試験

試料形状に制限がありますので詳細につきましてはお問い合わせください。

技術情報誌
編集・発行／和歌山県工業技術センター
和歌山市小倉60番地
テクノリッジ

発行日／2020年2月20日
TEL／073-4477-2880

印刷／御坊市 隆文社印刷所
住所／御坊市 隆文社印刷所
TEL／073-851-2211