



Title	質量分析の基礎と実際
Author(s)	福士, 江里
Citation	北海道大学大学院農学研究科技術部研究・技術報告, 9, 7-10
Issue Date	2002-03
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/35429
Type	bulletin (article)
Note	研究・技術発表
File Information	9_p7-10.pdf



[Instructions for use](#)

質量分析の基礎と実際

GC-MS・NMR測定室 福士 江里

すでにご存知のとおり、2001年春当研究科渡部賢二氏が「難イオン化合物の質量分析法の開発と応用」の業績で日本化学会化学技術有功賞を受賞した。次に予定されているご本人の講演に先立ち、その業績と意義についての理解の助けとするために質量分析の基礎と実際について解説する。

質量分析(Mass Spectrometry, MS)は化合物を扱う際の最も基本的な情報である分子量を知るための機器分析手法であり、分子をイオンとしその挙動を利用して間接的に質量を測っている。当研究科で長く使われてきた磁場型質量分析装置はイオンの進路が磁場中で曲げられる性質を利用しているもので、質量をはかる事ができるのは、電荷 e 、電荷数 z 、質量 m の粒子が加速電圧 V をうけて強さ B の磁界中で描く半径 r の関係が次式に従うことによる (Fig. 1)。

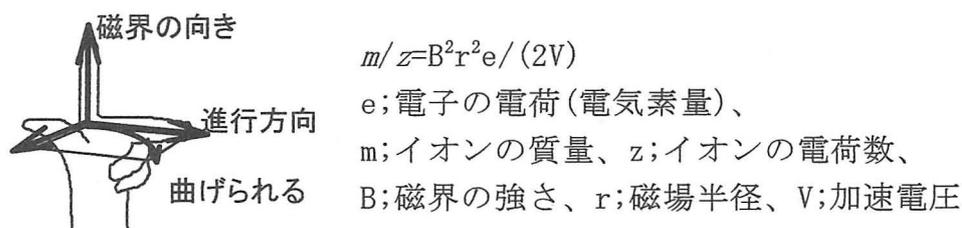


Fig.1. 質量分離の原理

これによつてはかる事ができるのは、質量電荷比 m/z であるが、大抵の場合 $z=1$ であるか z がいくつであるかスペクトルから判断できる。 B または V のどちらかを連続的に変化させる(走査する、スキャンする)と m/z の値の異なるイオンが検出部に到達することになり、磁場強度を時間に対し指数関数的にあげイオン強度を測定すると横軸が m/z 、縦軸がイオン強度のスペクトルが得られる。この方法は高速のスキャンが簡単に行えるが、加速電圧が上がるほどイオンの収束が悪くなり感度が低下するため、現在では電場と磁場を組み合わせた二重収束の装置が主流である。

分子はイオンにしなければ質量分析計で測ることができず、イオン化法は一台の装置で数種類を切り替えて使えるようになっている。古くから行われているイオン化法は分子を気化させてから電子線の中を通過させる EI (Electron ionization) 法である。有機化合物はそれぞれ固有の蒸気圧を持っており、質量分析計の中の高真空 (10^{-6} Torr.) 条件ではたいていの有機化合物は 300°C 前後まで加熱すれば気化する。

イオン化する際に与えられたエネルギーが分子のイオン化に必要なエネルギーより大きければ、過剰分のエネルギーでイオンの開裂がおこり、その結果生じたフラグメントイオンは部分構造に関する有用な情報を与える。



Fig. 2. EIおよびFDイオン化。EI-MSではエネルギーが大きすぎてフラグメントイオンを生じるようなものでも、FD-MSでは分子(量関連)イオンが得られることが多い。

しかしエネルギーが大きすぎれば、構造中の切断されやすい結合が切れフラグメントイオンだけが検出されて分子量がわからないという事もある。また、カルボン酸のアルカリ塩、糖のような水酸基の多いもの、リン酸や硫酸エステルなどは非常に蒸気圧が小さく、高真空下で加熱しても気化せずに熱分解し、この方法ではMSスペクトルは得られない。このような分子をイオン化させる方法としてFD(Field desorption)イオン化があり、難揮発性化合物の測定やEI-MSではエネルギーが多すぎてフラグメントイオンをたくさん生じてしまうような化合物の分子量測定に有効である(Fig. 2)。ほかに難揮発性化合物のためのイオン化法が研究されているが、どちらかといえば糖やペプチドなど極性が高い生体関連分子をターゲットに開発されてきたものであり、FD-MSは古くから天然物有機化学の分野がターゲットとしてきた分子やそれらの合成中間体の研究にEI-MSと同時に用いることで確かな情報を与えてきた。渡部氏はとくにこのFD-MSに造詣が深く、いくつもの構造研究に重要な役割を果たしてきた。

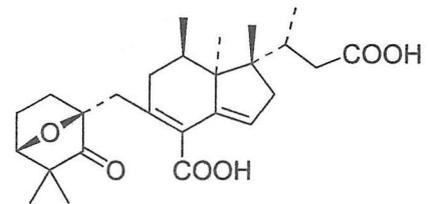
よいマススペクトルを得る鍵は、イオンを安定して生成することにある。そのために、化合物の性質に応じて最適なイオン化法を選択すること、また測定条件を最適化することが重要である。FD-MSにおいては、試料をエミッター(タングステンワイヤーに炭素の針状結晶を成長させたもの)に塗布してイオン化させる。エミッター上の炭素針状結晶の状態と試料の状態がイオン化に大きく影響することから、渡部氏は高精度の針状結晶を自作することとし、良質なデータを安定して得ることを可能にした。

例として植物寄生性線虫として農業上の問題が大きいダイズシストセンチュウの孵化促進物質グリシノエクレピンA(GA)の構造決定^{1,2)}をとりあげる。シストセンチュウは宿主特異性が厳密で、また、雌成虫は体内にシスト(包囊)を形成する。シストは土壌中でも安定でその中には200から300個の卵がありその中に2齢幼虫が休眠状態のまま保持されている。これが温度・湿度の条件が整い宿主植物が植えられると卵外に孵化、続いてシスト外へ遊出し、植物体内に寄生する。この宿主特異性と宿主植

物が植えられると孵化する現象について、宿主植物の根浸出液や根圏土壌抽出液がシストの孵化を促進し非宿主植物のそれらは促進しないという実験結果がジャガイモシストセンチュウ、ダイズシストセンチュウにおいて得られていた。この事実から、寄生するシストセンチュウの孵化を促進する何らかの物質が宿主植物に特異的に含まれていると考えられ、防除の困難なシストセンチュウを宿主植物のない状態で孵化させ餓死させるという生態的防除の観点および宿主-寄生生物間のかかわりに関する化学因子への興味から本学理学部有機化学第一講座を中心にして1967年から20年あまり続けて研究された。

孵化促進物質はきわめて活性が高い。言い換えれば、ごく微量しかふくまれていない。活性物質の単離源としてインゲン豆をえらび、17年間に渡りのべ20ヘクタール相当のインゲンを栽培し、活性物質の分離がおこなわれた。研究開始から約10年後、活性物質が単離されたと思われる状態にまで分離が進んだが、これ

が混合物であるか単一成分であるかは確認できなかった。この段階で、一度FD-MSを測定している。単離段階途中で目的物は二塩基酸と推定され、ビス-*p*-ブルモフェナシルエステル誘導体へと変換してあり、臭素を2個含んでいる。この臭素が2個含まれることがマススペクトル測定において有利に働いた。各元素には原子番号(陽子の数)が同じで中性子の数が異なる(質量の異なる)同位体が存在する。たとえば ^{12}C (陽子6個 中性子6個 質量数12.00000)と ^{13}C (陽子6個 中性子7個 質量数13.00336)の存在比は、100% : 1.11%であり、ベンゼンは天然存在比では、 $^{12}\text{C}_6^1\text{H}_6$ が最も多く、 $^{13}\text{C}^{12}\text{C}_5^1\text{H}_6$ が6%ほど、 $^{12}\text{C}_6^2\text{H}_5$ はごく少なく0.01%ほど含まれている。このように同位体組成の異なる異性体を isotopomer と呼ぶ。塩素や臭素は特徴的な同位体組成をしており、 $^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl} = 3 : 1$, $^{79}\text{Br} : ^{81}\text{Br} = 1 : 1$ である。分子中に二つ臭素を持つ化合物 R-Br_2 の isotopomer は寄与の少ない CHO 由来を無視して考えると $\text{R-}^{79}\text{Br}_2 : \text{R-}^{79}\text{Br}^{81}\text{Br} : \text{R-}^{81}\text{Br}_2 = 1 : 2 : 1$ となり、それぞれの質量は2ずつ異なるためこれがマ



Glycinoeclepin A (GA)

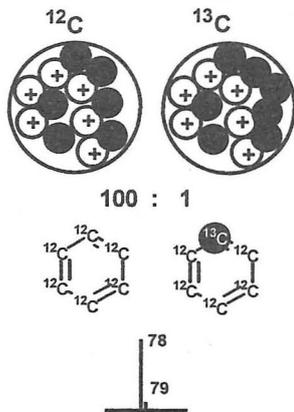


Fig.3 同位体の天然存在比とマススペクトルパターン

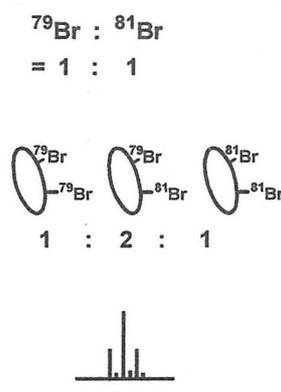


Fig.4.pBPEGAのマススペクトル

スペクトル上で特徴的な三重線パターンを示す。

ダイズシストセンチュウ孵化促進物質のビス-*p*-ブルモフェナシルエステル誘導体サンプル (pBPE GA) は多くのピークに混じって m/z 838, 840, 842 に 1:2:1 の特徴的な三重線が見出された。さらに分離作業を進め数年後単一成分を得、グリシノエクレピン A と命名され、FD-MS スペクトルで同じピークを得た。

これまで述べた質量分析のスペクトルは分子量を整数値で表していた。原子は陽子と中性子と電子から成っておりそれぞれの質量比はほぼ 1 : 1 : 0.0005 なので原子の質量はほぼ整数であり、従って分子量もほぼ整数となるのであるが、厳密に見てみると以下のように有用な情報が得られる。原子の質量の基準は、中性子、陽子が 6 個ずつある炭素 ^{12}C の質量 = 12.00000000 で、その 1/12 を原子質量単位といい u であらわす。

$u = 1.6605655 \times 10^{-27} \text{ kg}$
陽子の質量 1.00726 u
中性子の質量 1.008665 u
電子の質量 0.0005485803 u

原子の質量はこれを構成する陽子と中性子と電子の質量の和よりわずかに小さい(質量欠損)が、どれだけ小さいかは各原子、同位体によって異なるので、たとえば $^{16}\text{O}_2$ と ^{32}S の質量はきっちり同じではない。このような差を利用して、マススペクトル中のあるピークの精密な質量からそのイオンの組成式を推定することができる。これを、HR-MS、ミリマス測定などという。あるイオンの重さを小数点以下 4 桁ほど (0.1 ミリマス) 測定すれば、これに近い重さとなる各原子の組み合わせが限定され、他の情報と合わせて分子式を推定できるのである。通常 FD-MS ではミリマス測定は行われていないが、渡部氏はエミッター(試料を塗布するタングステンワイヤーに炭素の針状結晶を成長させたもの)の針状結晶を高精度に成長させることにより、イオンを安定して生成させミリマス測定に成功している。このグリシノエクレピン A ビス-*p*-ブルモフェナシルエステル誘導体においてはミリマス測定の結果 ($m/z = 838.1334$) から分子式 $\text{C}_{41}\text{H}_{44}\text{O}_9\text{Br}_2$ が推定され、誘導体化前の分子式 $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_7$ を得た³⁾。また、この段階で $^1\text{H-NMR}$ も測定されている。これ以上の構造解析にはその後 2 年かけてより多くの原料から単離した試料を用い $^{13}\text{C-NMR}$, および二次元 NMR 法などの機器分析、X 線結晶解析から構造を決定した。また、その後、グリシノエクレピン A の全合成が行われ、天然品と同じ孵化促進活性が確認された。

- 1) 福沢ら, 植物防疫, 38, 116-120 (1984). 2) 高杉ら, 有機合成化学, 46, 416-425 (1988). 3) T. Masamune, *et. al.*, Nature, 297 495-496 (1982)