

## 4.2 分子構造情報

### はじめに

中性の試料分子をイオン化すると、いろいろな内部エネルギーをもった分子イオンが生成する。そのほとんどのイオンは、一つまたは複数の解離反応を起こすのに必要なエネルギーをもっている。実際に観察されるマススペクトルがイオンのどのような解離反応の結果であるかは、装置の特性と反応の速度定数によって決定される。速度定数の大きな通常の EI ではほとんど完全に分解されたフラグメントイオンがスペクトルとして観察され、化合物の構造解析に重要な手段となっている。

しかし、LC/MS 法でのソフトなイオン化ではほとんど擬分子イオンのみが生成しフラグメントイオンが得られることは非常に少ない。従って分子量情報としては有効であるが反面構造情報に欠ける欠点がある。

LC/MS 法で分子量情報とともに構造解析に必要な情報を得る方法には、MS/MS 法 (mass spectrometry/mass spectrometry またはタンデム質量分析法: tandem mass spectrometry) と作動排気部における衝突誘起解離 (CID: Collision Induced Dissociation) を利用する方法がある。

### 4.2.1 MS/MS 法

MS/MS 法とは、図 4.2.2-1 に示すように基本的に 2 台の質量分析計を直結したものである。第一の質量分析計で目的の特定イオン種のみを選択し、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)でヘリウム等の不活性ガスにより活性化し、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のスペクトルを第二の質量分析計で測定し定性定量を行う手法である。

基本的な MS/MS 法の簡単な構成を図 4.2.1-1 に示す。

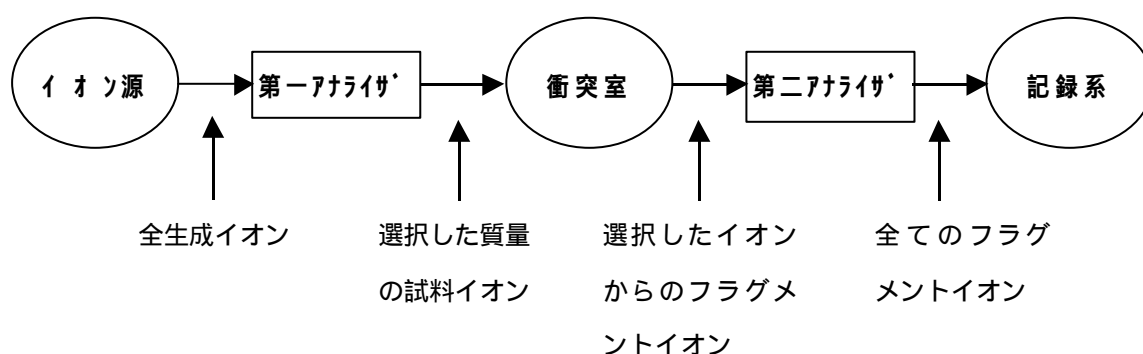


図 4.2.1-1 . 基本的な MS/MS 法の構成図

MS/MS 法は装置の組み合わせから大きく 3 つのタイプに分類できる。

4 セクタータイプ：2台の高分解能質量分析装置で構成され、電場(E)、磁場(B)の配置が EBEB の正配置型または BEBE の逆配置型等がある。

四重極質量分析計(quadrupole instruments：Q)を3台連結した装置(QQQ)：この装置は、小型で操作性や他の分析機器との連結が容易である。

混成(ハイブリッド)タイプ：第一段の質量分析計はセクタータイプとし第二段の質量分析計を四重極タイプや飛行時間型などとした混成型で両者の特徴を取り入れた装置である。

また、これらの装置から得られるスペクトルは基本的に高エネルギーCIDと低エネルギーCIDによるものの2つに分類される。

(1)高エネルギーCID：EBE,BEB,EBEB,BEBE,EBTOF---

質量分析時に数kVの加速電圧をイオンに与えることができる装置で、磁場型質量分析計、一部の磁場型四重極ハイブリッド型並びにCID機能を有するリフレクター型TOFMS(time of flight mass spectrometer)などが主に使用される。

最も一般的なものは2台の二重収束質量分析計を接続した4-セクターMS/MSである。第一段の質量分析計で目的の質量数をもつイオン(前駆イオン)を選択する。つぎにこの数keV程度のエネルギーをもつ前駆イオンをコリジョンセル内に導入し不活性コリジョンガス(ヘリウム、アルゴンなど)との基本的には1回の衝突で生成するプロダクトイオンを第二段の質量分析計で分析するものである。

(2)低エネルギーCID：QQQ,EBQ,BEQ,FTMS---

高エネルギーCIDに比べ、より低い数eV程度の運動エネルギーをもったイオンを質量分析する目的の装置を用いることにより行われる。三連四重極質量分析計(triple-quadrupole instruments、TQ)、磁場型四重極ハイブリッド型質量分析計、フーリエ変換型質量分析計(fourier transform mass spectrometer：FTMS)などの装置が主に使用される。第一段の質量分析計で目的の質量数をもつ前駆イオンを選択する。次に、ほとんどの場合、交流電圧(RF)のみかけられたコリジョンセル内に低エネルギーの前駆イオンが送り込まれ不活性コリジョンガス(ヘリウム、アルゴンなど)との衝突で生成するプロダクトイオンを第二段の質量分析計で分析するものである。

以上のようにMS/MS法には、各種の装置の組み合わせ、あるいは種々の配置がある。従って、それらによって得られる情報やデータが異なるため、分析の目的によって選択することが重要である。最も操作性が良く扱い易い点では、三連四重極(TQ)質量分析計が適当である。

図 4.2.1-2 に三連四重極 (TQ) 質量分析計の概略を示す。

第一の四重極質量分析計 Q1、交流電圧 (RF) のみ加えられた四重極衝突室 Q2 と第二の四重極質量分析計 Q3 で構成されている。Q1 で選択されたイオンが、Q2 のセルの中に低いエネルギーのまま送り込まれ励起される。Q2 では RF によりイオンは振動し、不活性コリジョンガスと衝突する。ここでは衝突回数を制御することによって与えるエネルギーをきめることができる。Q2 で生成されるフラグメントイオンを Q3 で測定する。

高感度で再現性の良いスペクトルを得るには前駆イオンを感度良く、長時間安定に持続させること及び高感度検出器を必要とする。

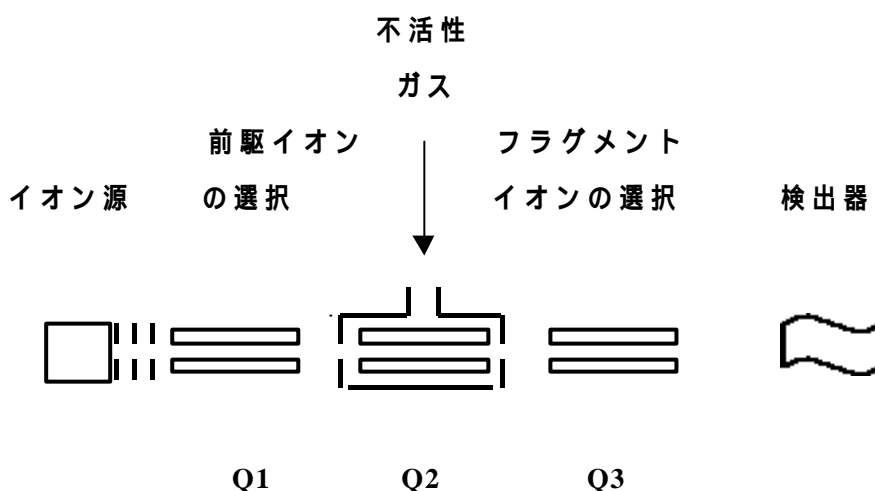


図 4.2.1-2 三連四重極 (TQ) 質量分析計の概略図

MS/MS 法には次のような特徴がある。

試料が混合物であっても MS1(第一アナライザー)で分離されるので、単一の成分のスペクトルが得られる。従って、部分構造、未知物質の構造解析に効果的である。

通常の質量分析計で用いられるリンクドスキャン法に比べて、前駆イオンの選択性がよいために、信頼性の高いスペクトルが得られる。

スペクトルは単純解裂を主体としたフラグメントイオンのために、解析が単純化する。

以上のことから、MS/MS 法は、分子構造あるいはイオン構造の同定、気相イオン反応機構やフラグメンテーション過程の解明あるいは混合物の直接的で迅速な分析を行うことができる効果的な方法である。

#### 4.2.2 差動排気部における衝突誘起解離(CID)法

LC/MS 法で分子構造情報を得、構造解析を行う方法に差動排気部における衝突誘起解

離(CID)を利用する方法がある。この方法は、差動排気部における衝突誘起解離(CID)法と呼ばれる方法で、LC/API-MS 特有の測定手法である。LC/MS のソフトなイオン化で得られる擬分子イオンを壊して積極的にフラグメントイオンを生成させる方法である。

通常、作動排気部は荒引きポンプで排気され、その内部圧は 1Torr 程度である。このような領域でイオンが加速されると、そこに存在する中性分子(コリジョンガス:ヘリウム、アルゴン等)と多数衝突を繰り返し、イオンの運動エネルギーが内部エネルギーに変換される。この内部エネルギーがイオンの結合エネルギーよりも大きいと開裂を起こしフラグメントイオンを生成する。この様に、擬分子イオンとコリジョンガスとの衝突によって生成するフラグメントイオンのスペクトルから構造解析を効果的に行うことができる。

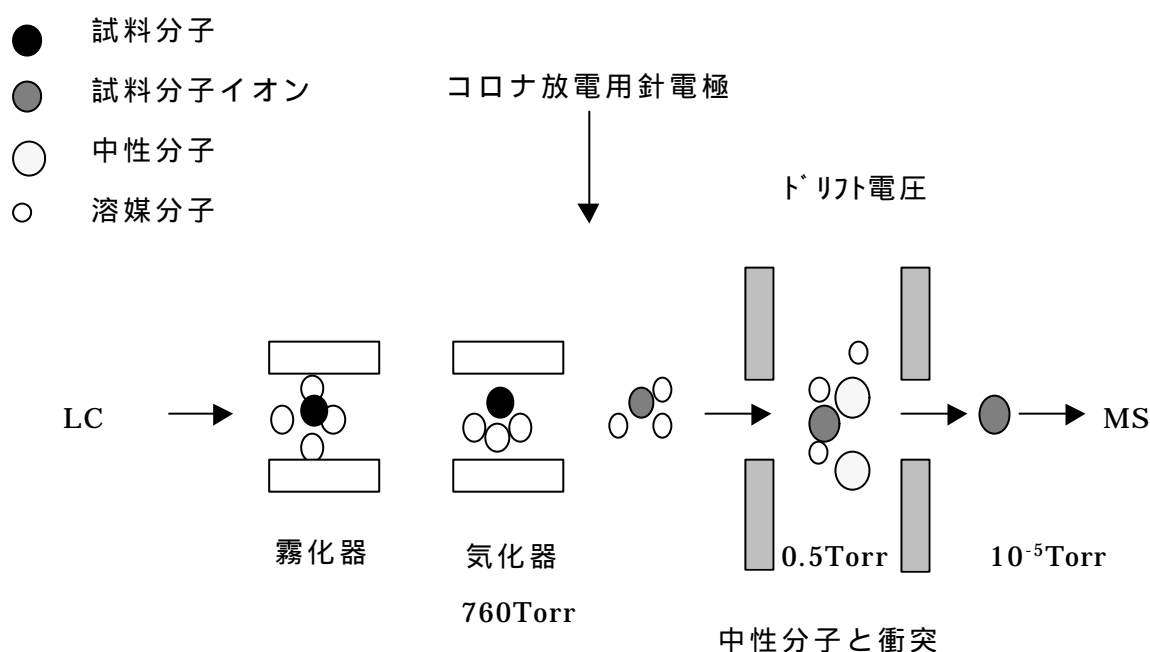


図 4.2.2-1 . 差動排気部における衝突誘起解離の原理図(APCI)

しかし、MS/MS 法での CID によるフラグメントイオンは基本的に前駆イオン(例えば擬分子イオン)から生成するものであるが、差動排気部における CID を利用する方法は、必ずしも特定のイオンから生成するプロダクトイオンのみとは限らないために、特にマトリックスの多い試料では解析が複雑となり、構造決定が難しいことがある。

#### 4.2.3 (MS)<sup>n</sup> 法

この方法は、イオントラップ型 MS の特徴であり、必要なイオンを系の中に任意の時間保持することができることを利用するものである。イオントラップ型質量分析計(ITMS)、あるいは、フーリエ変換型質量分析計は、CID によって生成するプロダクトイオンの中から、必要なイオンのみを再度選択し不活性ガス等と衝突させることによって、第二世代、

第三世代--と n 世代までスペクトルを測定することができる。しかし、基本的には、低エネルギーコリジョンでの開裂であり、複数のプロダクトイオンが生成しても、引き続きコリジョンできるイオンは 1 質量数であり、他のイオンからの開裂を調べる場合は、再度最初から繰り返す行う必要がある。また、前駆イオンのスペクトルまたは中性フラグメント脱離のスペクトルを簡単に測定する方法がないという欠点がある。また、トラップ内で中性の分析対象の分子とのイオン分子反応が生じてしまう可能性がある。

#### 4 . 2 . 4 参考文献

質量分析法の新展開：土屋正彦、大橋 守、上野民夫；現代化学・増刊 15、東京化学同人  
LC/MS の実際(天然物の分離と構造決定)：原田健一、岡 尚男；講談社サイエンティフィク

### 4.3 LC/MSのスペクトル解析

一般に、MSスペクトルのみから分子構造を推定することは困難で、他の情報と併せてスペクトルの解析が行われる。MSスペクトルの解析には、専門書の学習と経験の積み重ねが不可欠なため、ここでは、LC/MSのスペクトル解析の手がかりとなる擬分子イオンの判定、分子構造情報の収集方法についてのみ解説する。

#### 4.3.1 LC/MSの擬分子イオンの判定

APCI, ESIなどのスペクトル解析は、基本的にはCIスペクトルの解析で、擬分子イオンとフラグメントイオンを読み、分子量と構造を推定する。擬分子イオンの判定には、まず擬分子イオンを生成し易い条件で、LC/MS測定を行う必要がある。FABは一般に擬分子イオンを生成する場合が多い。APCI、ESIでは、ドリフト電圧を低くして、衝突誘起解離(CID)を起こし難い条件で測定する。このときのドリフト電圧は、化合物によって異なるが、多くの場合10~30V程度で、電圧が低くなると感度が低下し、高くなるとCIDを起こして擬分子イオンが解裂する。スキマー電圧の異なる複数のスペクトルを測定し、溶媒、溶離液成分、その他の事前情報を考慮して、擬分子イオンの推定を行う。

生成し易い擬分子イオンは、 $MH^+$ 、 $(M-H)^-$ 、 $(M+Na)^+$ 、 $(M+NH_4)^+$ 、 $(M+H+S)^+$ 、 $(M+X)^-$ 、 $(M-H+S)^-$ など(S:溶媒分子)が一般的に出来やすく、 $2MH^+$ 、 $(2M-H)^-$ など複数の分子の付加したイオンも生成する。プロトンや電子との親和力が低く、かつイオン化ポテンシャルの低い物質では、 $M^+$ 、 $M^-$ イオンが生成する。ESIでは、多価イオンが生成する場合もあるが、環境試料では多種類の物質が共存するため、多価イオンが認められるのは希である。

図4.3.1-1にLC/MSの擬分子イオンスペクトルの例を示す。AtrazineのESIスペクトルは $MH^+$ の他、移動相の $CH_3CN$ の付加した $(M+H+S)^+$ も観測される。pencycuron(monoselen)は、 $(M-H)^-$ の他 $(M+Cl)^-$ も観測される。多くの物質のESIスペクトルが $MH^+$ 、 $(M-H)^-$ 、 $(M+Na)^+$ などの擬分子イオンを与えるが、アルデヒド類は $(M+16-H)^-$ を与え、アルデヒド類がイオン化の過程で脂肪酸に酸化され、その $(M-H)^-$ が観測されるものと考えられる。他方アルデヒド類の2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン(2,4-DNPH)誘導体では、 $(M-H)^-$ のみが観測される。

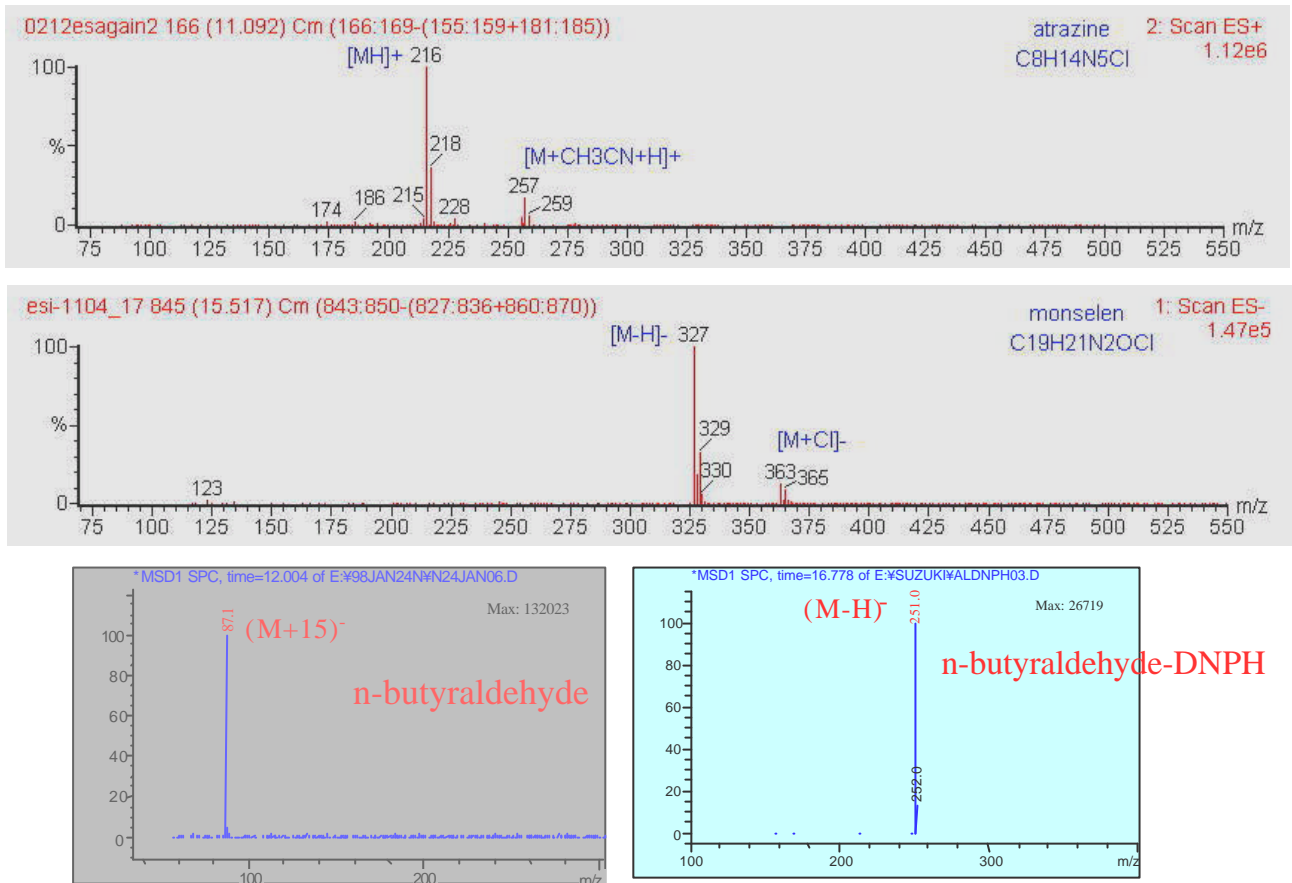


図 4.3.1-1 LC/MSの擬分子イオンスペクトルの例

#### 4.3.2 生成し易いフラグメントイオン

APCI、ESIなどのイオン化で観測されるフラグメントイオンは、必ずしもMH<sup>+</sup>、(M-H)<sup>-</sup>などの擬分子イオンから生成するとは言えない。イオンの開裂は電荷の付加した原子の近くの結合が切れて生じるが、電荷の付加はプロトンや電子に対する親和力の大きいところとは限らず、付加した位置で安定する場合は擬分子イオンとなり、不安定な場合は開裂する。したがってAPCI、ESIイオンの開裂は、基本的にはEIと同様の機構で生じ、フラグメントイオンもEIと共通する場合が多い。

図4.3.2-1にフラグメントイオンを持つLC/MSスペクトルの例を示す。フタル酸ジブチル(DBP)のAPCIスペクトルは、MH<sup>+</sup>の他フタル酸ジエステルのEIと同様転移反応に因る(M-C<sub>n</sub>H<sub>2n+1</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>+</sup>のm/z205を与える。AlachlorのESIスペクトルはMH<sup>+</sup>、(M+Na+S)<sup>+</sup>の他、フラグメントの(M-OCH<sub>3</sub>)<sup>+</sup>も観測される。Kelthane (dicofol)のESIでは、(M+Cl)<sup>-</sup>の他CCl<sub>3</sub><sup>-</sup>も観測される。2,4,5-TのESIでは、(M-H)<sup>-</sup>の他、2,4-Dと同様(M-CH<sub>2</sub>COOH)<sup>-</sup>も観測される。

以上の例でも、フラグメントイオンはEIや溶液中のイオン反応などから想像さ

れるものが多い。前述のように、LC/MSによる化合物の分子構造の推定は、LC/MSのスペクトルデータが少なく、またスペクトルが測定条件に強く依存するなどの理由から、現状ではかなり難しい。しかし、LC/MSのフラグメントイオンがEIに共通する部分が多いことは、正イオンに限られるが、化合物を推定する手がかりとして、EIで測定された膨大なマススペクトルデータベースを利用できることを示唆している。今後の検討に因るところであるが、LC/MSによる化合物の分子構造の推定方法も開発が進むものと思われる。

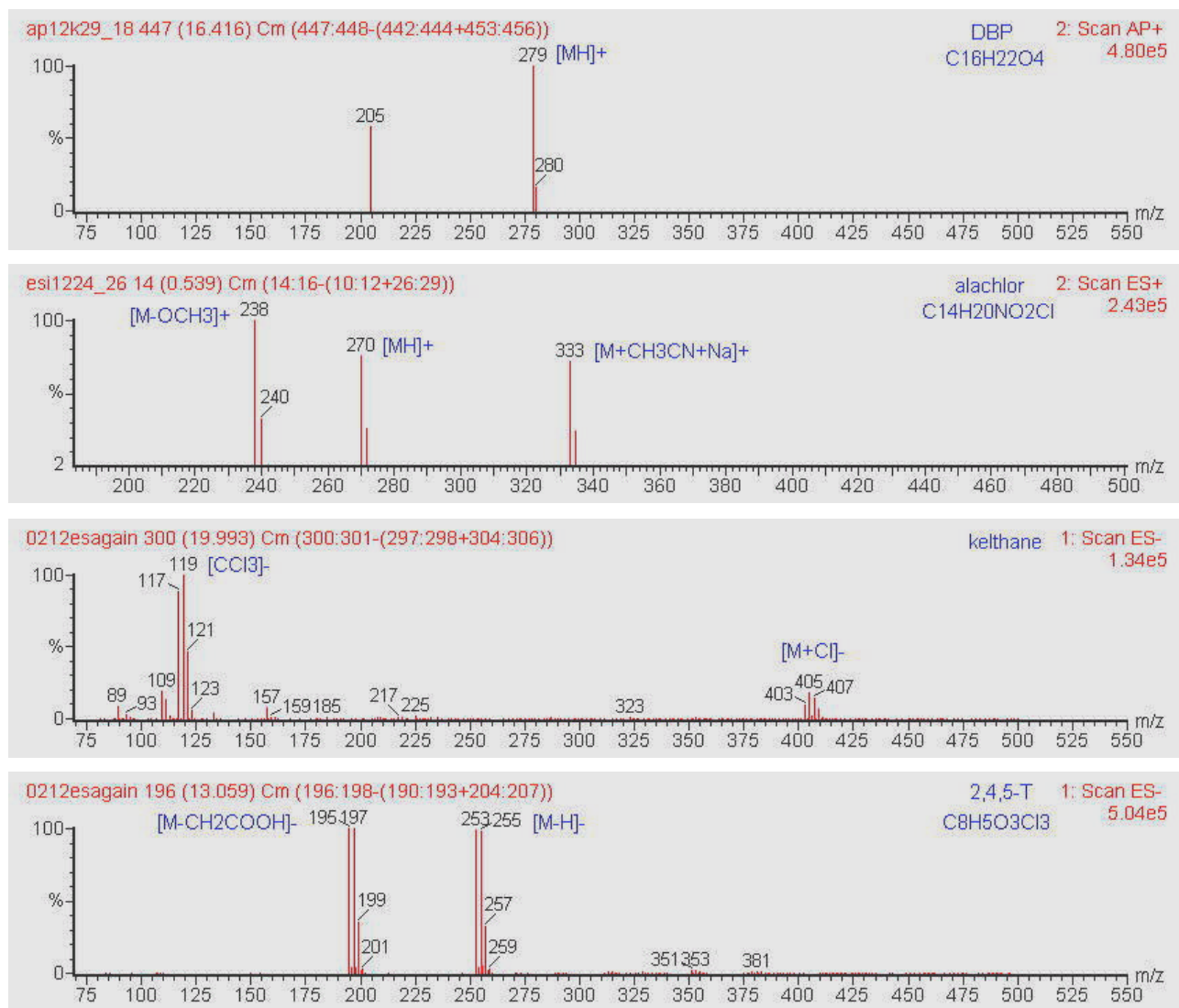


図 4.3.2-1 フラグメントイオンを持つ LC/MS スペクトルの例

#### 4.3.3 参考文献

質量分析法の新展開：土屋正彦、大橋 守、上野民夫；現代化学・増刊 15、東京化学同人  
 マススペクトルの解釈と演習：F.W.McLafferty 著、上野民夫訳、化学同人