超臨界流体クロマトグラフィー質量分析におけるイ オン化機構の解析

藤戸(井上),由佳

https://hdl.handle.net/2324/7157293

出版情報:Kyushu University, 2023, 博士(理学), 課程博士

バージョン:

権利関係:

氏 名 :藤戸(井上) 由佳

論 文 名 : 超臨界流体クロマトグラフィー質量分析におけるイオン化機構の解析

区 分:甲

論文内容の要旨

SFC/MS 分析における分析条件の最適化は、分離と検出を両立させ良好な結果を得るうえで非常に重要なプロセスである。SFC/MS のイオン化には、LC/MS と同様にエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法が広く用いられており、ESI プローブは LC/MS と共通のものを用いる。SFC では移動相に CO_2 を用いるが、超臨界 CO_2 は圧力制御装置(BPR)出口で大気圧状態に戻り気化する。そのため、ESI キャピラリー内にはガス化した CO_2 と、モディファイアとして用いられる有機溶媒(液体)が混和した状態で導入される。さらに、ESI キャピラリーの先端(出口)からは CO_2 ガスが噴射されるため、ESI の根本原理であるテイラーコーンの形成による液滴生成は起こらないと予想される。このように、SFC/ESI-MS では、通常の LC/ESI-MS とは異なる機構でイオン化が起こっている可能性があるが、イオン化の機構についてはよく分かっていない点が多い。いくつかの先行研究では、 CO_2 とメタノールが混和した際にメトキシルカルボン酸が生成する可能性が示唆されており、仮にメトキシルカルボン酸が生成している場合、メトキシルカルボン酸がぎ酸や酢酸などの酸性添加剤と同様に、プロトン供与体として正イオンモードでのイオン生成に寄与している可能性が考えられる。しかし、メトキシルカルボン酸の存在を直接的に示した報告例はなく、イオン化との関係も深く検証されていない。本研究では、SFC/MS において ESI をイオン化に用いた際のイオン化メカニズムを解析し、MS 検出に最適な分析条件を見出すための指標を示すことを目的とした。

第二章では、イオン化の過程において、 CO_2 がメタノールと反応しメトキシルカルボン酸が生成するか否かの確認と、メトキシルカルボン酸がイオン化(MS 検出感度)に与える影響をモデル化合物を用いて系統的に検討した。移動相バックグラウンドのマススペクトルを観察することにより、 CO_2 とメタノールを混和した際に、メトキシルカルボン酸イオンに相当する m/z 75 のイオンが負イオンモードで検出されることを確認した。また、メトキシルカルボン酸が MS 感度に与える影響を調べるため、5 種のテスト化合物(安息香酸、p-ヒドロキシ安息香酸、p-アミノ安息香酸、ベンズアミド、アニリン)を用いてメタノールに対する CO_2 比率が変化した際の感度変化を確認した。その結果、正イオンモードでは CO_2 比率が高まるに従っていずれの化合物においても感度上昇が見られた一方で、負イオンモードでは、 CO_2 存在下での大幅な感度低下が観察された。メトキシルカルボン酸が、陽イオン検出においてはプロトン供与体として作用する反面、陰イオン検出ではマトリクス阻害をもたらすことを示した。

第三章では、SFC/MS におけるメトキシルカルボン酸生成メカニズムに関する知見をもとに、移動相組成を変更することによって、より高感度な MS 検出が可能かどうかの検証を行った. 移動相に塩を添加することによってメトキシルカルボン酸の生成が抑制され、負イオンモードでの感度低下を防ぐことができる可能性を調査したが、塩由来の陰イオンが生成することによってイオン阻害

が生じ、結果的に正・負両イオンモードにおいて MS 検出感度が低下する結果となった。これより、SFC/MS で MS 検出感度を最大化するには、添加剤を含まない移動相(CO_2 とメタノール)を用いることが最適であると結論付けた。また、基礎実験で得られた分析条件最適化に関する知見が実際のアプリケーションに応用可能かどうかを確認するため、5 種類の移動相条件で農薬の一斉分析を行い、各条件下での化合物の感度変化を確認した。基礎実験の結果と同様に、全体的に塩濃度が低い条件ほど良好な感度を示す化合物が多い傾向が見られたが、カラムへの吸着性が高い化合物や、分析対象物が塩由来の陽イオンアダクト型で検出される化合物では、塩添加が必要とされることが分かった。

本博士論文にて、SFC/MS と LC/MS では、同じ ESI プローブを用いたとしても異なるイオン化が起こっていることを明らかにした。SFC/MS 分析には、分離に寄与するモディファイアや MS 検出を補助するメイクアップ溶液を用いるが、これらの移動相組成を適切に設定し、最適化することが良好な MS 検出感度を確保する上では重要であることを示した。従来、SFC/MS 分析における移動相選択は、経験則や試行錯誤に頼る部分も多かったが、本研究の知見が SFC/MS 分析の最適な分析条件を決定するための指標となり、幅広い産業分野への利用拡大とアプリケーション開発の促進に寄与することが期待される。