ガスクロマトグラフを直結した質量分析計

Mass Spectrometer Equipped with a Gas Chromatograph

中	島	康	雄*	H	島	英	司*	佐	藤	弘*
Yasuo Nakajima			Eiji Tajima			Hiroshi Satô				

要 旨

ガスクロマトグラフと質量分析計をキャリヤガス分離器を介して直結し,ガスクロマトグラフより分離流出 する各成分について,連続的に質量スペクトルを得ることができた。キャリヤガス分離器については濃縮率 100以上の値が得られた。検出感度として,たとえばキシレンの0.01 µg のスペクトルの測定が可能である。 分離能については,キャピラリカラムの最高性能を保つことは,原理的に困難であったが,実用上は十分な値 を示し,クリプトピマール酸,ステロイドおよびアルカロイド,脂肪酸メチルエステルなどを分析することが できた。

1. 緒 言

近年ガスクロマトグラフ(以下GCと略す)からの分離流出成分 を連続的に質量分析計(以下MSと略す)に導入し,試料の各成分 につき質量スペクトルを得る試みが注目されてきた。GCからの分 離流出物を分取して,各成分をMSにより分析することはかなり以 前から行なわれていた。直結することによる利点としては,特に有



機分析の分野では,取り扱う試料量が一般的にきわめて微量であり (一般に µgのけたである),分取による損失を避け得ることおよび 試料の取扱い回数が少なくてすむこと(一回の注入により分析する ことも可),したがって不純物の介入する機会が少なくなること,分 析時間が短縮されること,特に分解しやすい試料についても,以上 の理由により安定な分析を行ない得る可能性があること、得られる 情報の量が多いことなどである。さらにMSのスペクトルより定性 分析を行なうと同時にクロマトグラムより定量分析も行なうことが できることはきわめて威力ある分析手段を提供するものとして注目 に値する。すなわち, GCを分離手段とし, MSにより未知の各成 分の質量スペクトルを同時に得ることは、両分析機器の長所をたく みに組み合わせて利用するもので,特に有機化合物混合試料の分析 同定手段としては、前述のように多くの利点があることは明らかで ある。CGとMSを直結するに際し、最大の問題点はGCに使用す るキャリヤガスをいかに効率よく試料成分から,分離除去し,高真 空を必要とするMSに試料成分のみを導入するかにある。

GCとMSを直結する最初の実験を行なったのは、1957年アメリ カの Holmes と Morrel であるが、実用化を図った意味で直結実験 を行なったのはアメリカの Golke⁽¹⁾で,飛行時間形MSを使用し, 1957年には充てんカラム, 1962年にはキャピラリカラムを用いて, アルキルベンゼン,ケトン類の分析を行なっている。1961~1963年 にかけて、各国においてGCとMSの直結実験が多くの研究者(2)(3) により行なわれたが、その間あまり大きな進展はなかった。1964年 スエーデンの Ryhage⁽⁴⁾ がジェット方式のキャリヤガス分離器を開 発し、またこれとほぼ同時にアメリカの Biemann⁽⁵⁾ らがフィルタ 方式のガラス管によるキャリヤガス分離器を開発し, それぞれすぐ れた結果を発表した。この両実験が実用的なキャリヤガス分離器を 初めて使用した点で特に注目さるべきものと言えよう。 筆者らは RMU-6D 形 MSに F-6D 形昇温GCをフィルタ式キャ リヤガス分離器を介して直結し, GCから流出する試料につき, ク ロマトグラムおよびそれらの質量スペクトルと同時に得ることがで きた。以下,キャピラリカラムを使用して行なった実験結果につき, 装置,直結法,分析法など順をおって報告する。 * 日立製作所那珂工場

 A: キャリヤ
 B: 試
 料
 C: 注 入 部
 D: スプリッタ

 E: GCカラム
 F: 検 出 器
 G: キャリヤガス分離器
 H: 排気系

 I: 連 結 部
 J: 導 入 系
 K: イオン源
 L: イオン加連電圧

 M: モンタ増幅器
 N: ペン記録計
 O: ファラデコレクタ
 P: 主排気系

 Q: 磁
 場
 R: 励磁電源および高速走査盤
 S: 二次電子増倍管

 T: 高速増幅器
 U: 高速記録計(ビジコーダ)

図1 ガスクロマトグラフ直結質量分析の系統図

2. 装 置

使用したMSは日立 RMU-6D 形で、単収れん装備として使用 された。これに直結したGCは日立 F-6D 形である。組み合わせ た装置の系統は図1に示すとおりである。GCとMSを連結するに は、キャリヤガスを分離する個所によって種々の方式が考えられる が、連結することによるデッドボリュウムの増加を極力少なくする こと、およびGCオーブンからキャリヤガス分離器を含めてイオ ン源に至るまでの流路の温度を均一に保つことがきわめて重要で ある。

2.1 ガスクロマトグラフ(GC)

— 69 —

本実験に使用したのは、日立 F-6D 形昇温GCでMSに直結する に際し、カラムの取出し口を除いては、標準品をそのまま使用に供 した(図2参照)。

流路方式: ダブルカラム方式 試料導入法: 注入器による 温度プログラマ: 60~400℃,8段切換 今回の実験においては、キャリヤガス分離器の効率を考慮して、 カラムを通るキャリヤガスの流量をそのまま使用できるキャピラリ カラムについて行なった。キャピラリカラムを使用する場合、カラ ムを効率よく使用するためには、実効段容量(毛細管容積に比例す

論



図2 質量分析計一ガスクロマトグラフ直結分析装置





ド分を打ち消すバッキング回路を設け,高感度で検出記録ができ るようにした。

(3) 記 録 計(UV感光直記式高速記録計)

GC直結実験には、高速走査記録が必要であるが、従来の定量 分析用オシログラフでは、ガルバの応答速度および記録紙の送り 速度が不適当なため、特にハネウエル社製1508 形ビジコーダを使 用した。実際に使用したガルバは、応答速度を多少犠牲にした比 較的高感度のものである。ガルバの周波数応答は400 c/s,記録紙 送り速度は15~30 cm/s で実験を行なった。

2.3 キャリヤガス分離器 (WBS) ⁽⁵⁾⁽⁷⁾

GCのカラム出口における圧力は、使用状態では、1気圧よりや や高い圧力となっている。しかるにMSの分析管内は、10⁻⁷ mmHg のけたの高真空であるので、このままではGCとMSを直接連結す

図3 キャリヤガス分離器直結部分

る量)が小さいために,試料の許容量が非常に少なく,一般の試料 導入に使用する注入器 (マイクロシリンジ)では大きすぎるので, カラム入口で流量の一部を分岐排出 (スプリット)している。カラ ムの終端を約1.5 m ほぐし,オーブン壁を経てキャリヤガス分離器 に直結した(図3参照)。この連結部にはテープヒータを巻き,中央 部を熱電対により測温した。この部分の温度は分析温度よりも,ま た昇温した場合にはその到達温度よりも約5~10℃ 高めに設定し た。特に温度の均一性が非常に重要であり,カラムオーブン壁には 別の板ヒータを添え,冷温点のないように格別の注意を払った。

2.2 質量分析計 (MS)

使用した装置は,日立 RMU-6D 形MS である。GC を直結する に際しての特別の改造は行なっていないが,特に考慮した点を簡単 に述べる。

(1) 磁場走査電源

高速走査が必要なので走査時間の時定数を変え,質量範囲 M/e 12~500 を約3, 5, 10 秒で走査できるようにした。

(2) 全イオンモニタ

GCにより分離された成分は順次MSのイオン源に導入されイ オン化される。そしてイオン源から発射されたイオンビームが磁 場によって質量分散を起こす前に検出されるならば、そこでGC 的スペクトルを得ることができる。図1に示すようにイオン源を 出た位置にコレクタ板をそう入し、イオンビームの一部をカット して増幅記録した。この場合、キャリヤガスによるバックグラウ ンド電流が大きく、微量試料の増加分がこのバックグラウンド分 に重畳するために検出感度が低下する。そのためバックウグラン

ることは不可能である。GCの流出量の一部のみを分岐してイオン 源に導入し, MSの作動限界真空度 10⁻⁵ mmHg 以下に流量を制御 すれば可能となるが、キャリヤガスと試料との比が大きくて、試料 自体の導入量が少なくなる。筆者らは Watson-Biemann 方式の多 孔質ガラス管を用いたキャリヤガス分離器 (Watson-Biemann type Separator 以下 WBS と略す) を Perkin-Elmer 社を通して入手す ることができたので、GCのカラム出口にこのWBSを接続した。 この結果キャリヤガスの多くを排気し, 試料成分を比較的能率よく MSのイオン源に導入することができた。図3,4にその外観および 構造を示す。この WBS は軽い分子と重い分子を選別する一種のフ イルタとして作用する。そのためキャリヤとしてはなるべく分子量 の小さい水素あるいはヘリウムを使用することが望ましい。フィル タ効果を持つのは図4の多孔質管の部分であり、その孔径は平均1 μである。この部出が気体の分子量の大小に対して, 選別的に排気 作用を行なうことになる。分析中のMS分析管内真空度は約2~4× 10⁻⁶ mmHg であった。

3. 実験と検討

3.1 試料濃縮率

— 70 —

GC流出物がWBSを通過するとき、キャリヤのほうが試料より も大量に除去される結果、MSにはいるガス中では試料が相対的な 意味で濃縮されていることになる。この濃縮率の大小はGC/MS 直 結分析における最も重要な因子となるもので、これを次のような方 法によって測定した。約1%のフレオンガス(CCIF₃ m. w. 136)を混 合したヘリウムガスを使用し、WBSを通した場合と、通さない場 合との質量スペクトルからフレオンとヘリウムのピーク比を求めれ ばよい。MSの条件を一定に保持した状態において、まずフレオン

混合ヘリウムガスをWBSに通すことなく,一般分析と同様にMS導入系からイオン源に導入し、ヘリウム(He)およびフレオン(Fr)のピークの高さを測定して、その比をとる。



つぎに同一混合ガスを WBS に通し, WBS を排気しながらイオン 源に導入し, フレオン(Fr')およびヘリウム(He')のピークの高さの ガスクロマトグラフを直結した質量分析計



比をとる。

(1)および(2)式より濃縮率を $\gamma = r_2/r_1$ と定義することができる。

図5に測定結果の一例を示す。フレオンとヘリウムの分子量の平 方根の比は $\sqrt{138/4} \approx 5.8 \text{ c}$,分子直径の比を4~5と考えても,濃 縮率 γ は約20~30と予想したのであるが,結果は5~10倍も大きい 値を示した。これはフレオンの分圧が小さいためか,実効的に壁に 入射するフレオンの分子数が予想以上に小さいことによると考えら れる。また流量に対して γ が直線的に増加していることはWBS管 内⑧における圧力がかなり低くなっているためかも知れない。そこ で,WBSの動作原理を気体運動論的に簡単に考察してみた。

3.2 感 度

質量分析計はもちろんのこと、すべての分析機器において、検出 限界を検討することは、非常に重要であり、天然物の分析において は、極微量成分が重要な役割を果たす場合が多いので、どの程度の 微量の試料まで測定可能かということが特に意味をもってくる。質 量分析計の感度に関与する要素はかなり多くあるので、まずそれら について述べる。イオン源の条件については、イオン加速電圧 1,800 V (質量範囲 M/e 2~600)、電子加速電圧 70 eV、全電子電流 80 µA、 イオン出射スリット幅 0.02 mm である。イオン電流検出系について は、二次電子増倍管、高速直流増幅器、およびビジューダを含めて の感度は、4.3 mV/div である。試料として、キシレン (P-Xylene, C₈H₁₀, M. W: 106) を用い、カラム温度および圧力を変えて質量分 析計でそれぞれスペクトルを記録し、感度をプロットした。

試料導入には、マイクロシリンジを用い、毎回同じ量だけ注入し た。カラムの温度および圧力を上げると、イオンモニタのピーク形 状は鋭くなってくる。質量分析計の感度はピークの高さのみによっ て決まり、ピークの面積にはよらないので、分離度をそこなわない 限り、高い温度と圧力にて使用するほうが有利である。

キャピラリカラムを使用する場合,カラムを最高効率で作動させるには、一般に注入試料量が非常に微量となり、マイクロシリンジで注入するのは困難であるから、注入した試料の一部をスプリットし、カラムにはその一部だけが導入される方式をとっている。内径0.5 mm,長さ45 mのキャピラリカラムを使用し、並列に内径3 mm,長さ1 mのU字形パックドカラムを取り付けた。キャピラリカラムおよびパックドカラムの流量比は約1:13 である。

気体分子の平均自由行程は周知のように次式で与えられる。

$$\lambda = \frac{p}{\sqrt{2} \pi (2r)^2 n} \quad [\text{cm}] \dots (3)$$

ここに、 *p*: 圧 力 (mmHg)

r: 分子半径 (cm)

n: 分子密度 (個/cm³)

分子直径としてはヘリウムの直 2r=2.2×10⁻⁸ cm をとり, 上式よ り計算すると、WBS 管内圧力 p=1.0, 0.1, 0.01 mmHg に対する平均 自由行程はそれぞれ 0.14, 1.4, 14 mm となる。WBSの寸法は内径 が数mm,長さ10cm程度であるから,この部分の圧力が10⁻²mmHg のけたまで減圧されれば、少なくとも多孔質壁に対する直径方向 では、分子どうしの衝突なしに分子が壁に衝突すると考えてよい。 分子流条件の下で,壁をたたく分子数は $Z=C\cdot p/\sqrt{MT}$ [個/cm²/s] (ここに, C: 常数, p: 圧力, M: 分子量, T: 絶対温度) であるか ら,ある温度,圧力の下では,分子量の平方根に逆比例する。WBS においては、この壁が多孔質ガラスでできているから、この壁を通 過する分子の数は壁にぶっつかる分子の数に比例すると考えてよ い。一方壁の穴のサイズはミクロンのけたであるから管内圧力 が, 10 mmHg ないし, それ以下であれば, そのコンダクタンス $U=C \cdot \sqrt{RT/M}$ [cm/s] (ただし, C: 常数, R: 1 モルに対するガ ス常数, T:絶対温度, M:分子量)はやはり分子量の平方根に逆 比例する。したがって、WBS を通して排気される分子数は,

(1) 管内圧力が 0.01 mmHg 程度ならば, 管内でも, 管壁でも,

例として、カラム温度90℃, 圧力1.0 kg/cm²の場合につき感度 を計算してみる。試料キシレン, 0.25 µl(比重 0.86 として, 215 µg) を注入して、二次電子増倍管電圧1kV(利得1.8×10³)のとき、キシ レンの親ピーク(M/e:106)は110 divの振れがあった。二次電子増 倍管の電圧を2.6 kV 平均最大利得の電圧として概算すれば感度は 200 倍に増加する。さらに、スペクトル上の1 div が試料何 µg に相 当するかを計算すれば、215/110×200≒0.01 µg/div となる。この ときの雑音レベルは2 divあったから, 雑音等価試料量としては0.02 µgである。これは注入された試料が全部カラムを通過するものと したときの値となる。前述のように,実際にはカラムにはいる流量 を1/13にスプリットして排出しているので,これを考慮しなければ ならない。しかしスプリッタ出口を閉じた場合と開いた場合を比較 したとき,閉じた場合でも2倍しか感度が増加しなかった。この原 因については目下検討中であるが、一応注入試料量の1/2がカラム を通るものとして、0.01 µg が現在のところ検出限界と考えられる。 今後検出感度を向上させるには, 高感度のイオン源の開発が必要で あるが,現在の装置ででも、イオン源出射スリット幅を広くするこ と(高分解能にする必要はあまりないため),イオン加速電圧を上げ ること、電子電流を多くとること、二次電子増倍管の感度のS/N比 をよくすることなどの方法により、感度をさらに10~100倍に向上 させることは期待できそうである。

3.3 分離能

クロマトグラフ的分離能については,現在のところキャピラリカ ラムの最高性能を保つことはできていない。その原因は,キャリヤ ガス分離除去器やデッドボリウムにおける試料成分の拡散によるも のと考えているが,分析例にみられるとおり,現状でも十分実用に なる程度の分離能を示していることがわかる。

ともに分子流条件となって,分子量に逆比例し

- (2) 0.1~10 mmHg 程度なら,管内では分子流,管壁では粘性 流となって,分子量の平均根に逆比例することになる。濃 縮率が意外に大きいのは(1)の条件によるものかも知れ ない。
- 4. 応 用 例

4.1 クリプトピマール酸

-71 -----

テルペン化合物の多くは天然物より抽出されるが、純粋に取り出

評 論

第48卷第9号

1

アピェゾン L

ヘリウム 1.2 kg/cm²

アルカロイドのクロマトグラム

200°C

 $1 \mu l$

 $0.5 \,\mathrm{mm}\,\phi$, $45 \,\mathrm{m}$





図6 クリプトピマール酸クロマト 質量分析計のスペクトル



カ ラ ム: アピェゾン L $0.5 \text{ mm}\phi$, 45 m 温 度: 240°C キャリヤ: ヘリウム 1.25 kg/cm² 試 料 量: 1 μl

図7 テストステロンアセテートのクロマトグラム

GCの分離で明らかになった。この試料を本装置で測定した結果は 図6に示すとおりであるが、それぞれの質量スペクトルからその一 つはサンダラコピマール酸、他はイソピマール酸と確認された。こ の二つの異性体では二重結合の位置が異なるため、この結合に関与 する解裂に大きな差があってこのように違った質量スペクトルにな るものである。

溶媒

4:

度:

ヤ:

量:

ラ

料

× 8

IJ

4.2 ステロイドおよびアルカロイド

ステロイドおよびアルカロイド化合物では生化学的に興味あるも のが多く,応用範囲を広める意味から従来困難と考えられていた金 属キャピラリカラムを用いて分析を行なってみた。

ステロイド化合物としてテストステロンアセテートを用い,図7 のようなガスクロマトグラムを得た。質量スペクトルからこれがテ ストステロンアセテートであることを確認した。

アルカロイドについても石膏アルカロイドである粗精製デンドロ ビン (Dendrobin Crude) を試料として測定した結果図8のような ガスクロマトグラムを得た。この1および2のピークについて得ら れた質量スペクトルから,これらの物質が,デンドロビンラクトン (C₁₆H₂₅NO₃)およびデンドロビン (C₁₆H₂₅NO₂) であることがそれぞ れの純粋な物質の質量スペクトルとの比較で確認された。

これらの化合物の分離分析は実験条件の設定がかなりむずかしい ものとされており、われわれの今回の測定においても検討すべき点 がなお多く残されているので、ここでは結果の一端について述べる にとどめ、その詳細については今後の検討の結果をも含めて後日機 会をみて報告したいと考えている。

4.3 綿 実 油

— 72 —

綿実油の脂肪酸メチルエステルについての分析結果を次に示す。 カラム内径 0.5 mm ϕ ,長さ 45 m のキャピラリカラムでカラム剤に は Butanediol Succinate Polyester を用いた。温度 180°C(一定) キャリヤガスはヘリウム 0.6 kg/cm²,試料注入量は 0.2 μ l である。 得られたガスクロマトグラムを図9に示す。1~10 のピークについ てそれぞれ質量スペクトルを得たが、1 および6についてはその同 定を行なうことができなかった。その他のピークについては下記の 成分であることが確認された。

すことが困難であったり,放置すれば酸化重合などによって変質し やすい試料が多いことなどの理由から,一般に基礎的データの蓄積 が不十分なようである。

ジテルペン化合物であるクリプトピマール酸は単一な物質と考えられていたが、ごく最近二つの物質からなる混合物であることが



Methyl-n-Octanoate $C_7H_{15}COOCH_3$ MW=158 2.Methyl n-Decanoate $C_9H_{19}COOCH_3$ MW=186 3. Methyl n-Dodecanoate $C_{11}H_{23}COOCH_3$ MW=214 4. Methyl n–Tetradecanoate $C_{13}H_{27}COOCH_3$ MW=242 5.

分離流出する各成分につき, それぞれ質量スペクトルを得た。本実 験の結果, (1)感度についてはほぼ予想された値(10 nanogram)を 得ることができたこと, (2)WBSの効率は予想以上に高いこと, (3)分離能については、GC自体と比較するとやや低いが、十分実 用になること、などが明らかになった。

現在残された興味ある問題点は、極微量試料の分離と検出限界の 追求である。分離能低下の原因については、GCカラムを出たあと のイオン源にいたるまでの流路"特にキャリヤガス分離器"につい て,実験的,理論的に追求しなければならないと考えている。減圧 GCについては、従来何の利点もないとされているが、キャピラリ カラムを使用する場合,すべての試料がカラムの最高分離能を必ず しも必要としないので、減圧、高温に操作することにより、迅速分 析が可能となり,熱的に不安定な試料に対する一つの分析法になり 得るのではないかと考える。実際に減圧ガスクロマトグラフ的に使 用し,ステロイドおよびアルカロイドのピークを得ていることから, その可能性が予想できる。

おわりに、結果の検討など種々とご指導いただいた名古屋大学平 田教授, 東北大学北原教授, 名城大学立松教授に, またクリプトピ マール酸の分析について終始ご指導いただいた特殊法人理化学研究 所池川先生に厚くお礼申し上げる。またご協力いただいた質量分析 計およびガスクロマトグラフの関係各位に深く感謝する。

考 文 献

- 7. Methyl n-Hexadecanoate $C_{15}H_{31}COOCH_3$ MW=270
- Methyl n–Octadecanoate $C_{17}H_{35}COOCH_3$ MW=298 8.
- Octadecenoate $C_{17}H_{33}COOCH_3$ MW=296 Methyl 9.
- Octadecandienoate $C_{17}H_{31}COOCH_3$ MW=294 10. Methyl

6のピークについては、その質量スペクトルが脂肪酸系のものと は異なるので,不純物と考えられる。

5. 結 言

キャリヤガス分離除去器(WBS)を使用することにより、ガスクロ マトグラフ(GC)を高真空の質量分析計(MS)に直結し、GCより

- R. S. Gohlke: Anal. Chem. 31, 535 (1959) (1)
- G. Brunner, L. Jenckel, K. Kronerberg (ATLAS Co.): Sales (2)Literature (1962)
- A.E.Banner, R.M.Elliott, W.Kelly(A.E.I.Limited): Sales (3)Literature (1964)
- R. Ryhage: Anal. Chem. 36, 759 (1964) (4)
- K. Biemann: Anal. Chem. 36, 1135 (1964) (5)
- R. Ryhage: Anal. Chem. 37, 435 (1965) (6)
- J. T. Watson, K. Biemann: Anal. Chem. 37, 844 (1965) (7)
- W. H. McFadden: Anal. Chem. 36, 2362 (1964) (8)
- A. H. Struck, E. B. Delaney (Perkin-Elmer Co.): Sales (9)Literature (1965)

