

# GC-MSによる超微量天然生理活性物質の分析



ホルモン

フェロモン etc.

有機化合物

分析: 構造の決定  
定量

⇒ 質量分析計 (mass spectrometry, MS)

多くの他の生体成分から目的の化合物のみ分析

⇒ 精製・単離

⇒ クロマトグラフィー

⇒ gas chromatography, GC

GC-MSとは? ⇒

# Chromatographyとは？

Paper chromatography

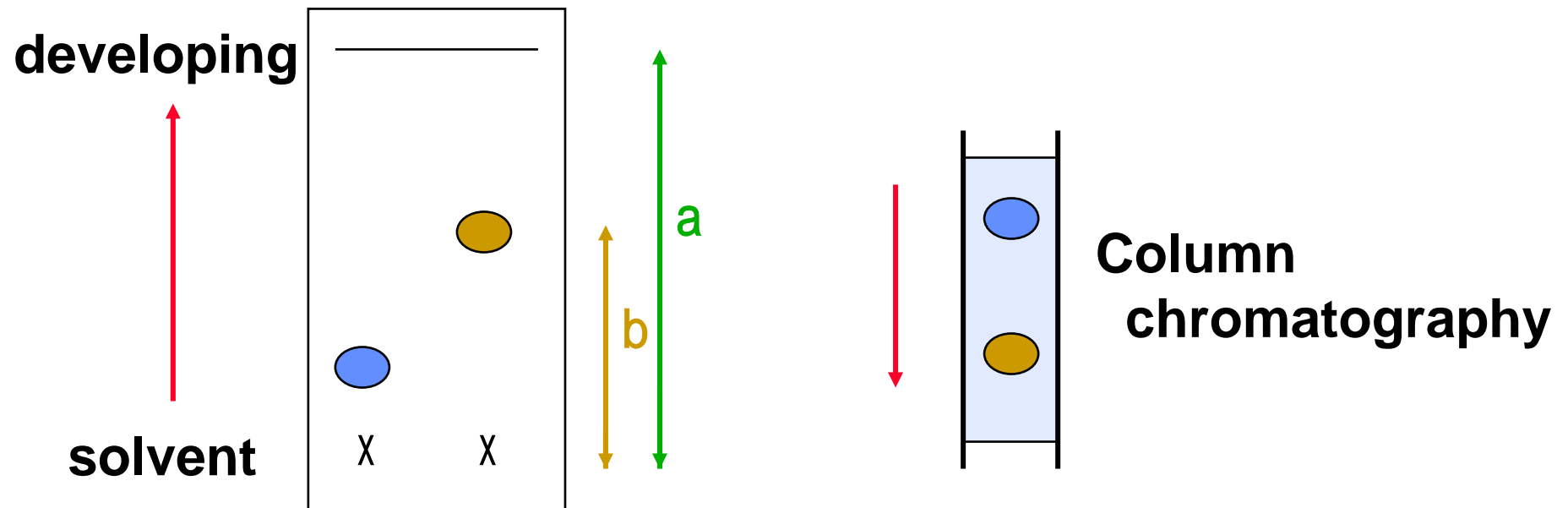
葉のhomogenate      スポット      水で展開      色素の分離

色素の濾紙への吸着の違い

$$R_f \text{ 値} = \frac{b}{a}$$

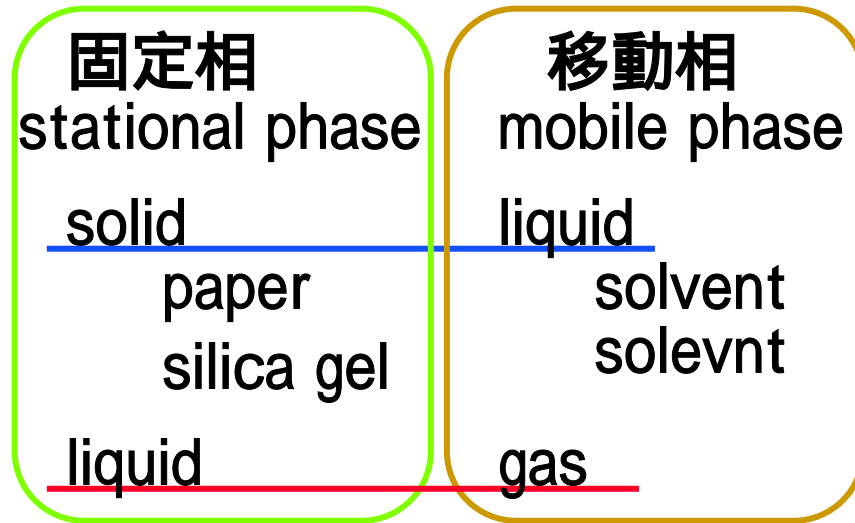
弱い吸着: 早い移動       $R_f$  大

強い吸着: ゆっくりした移動       $R_f$  小



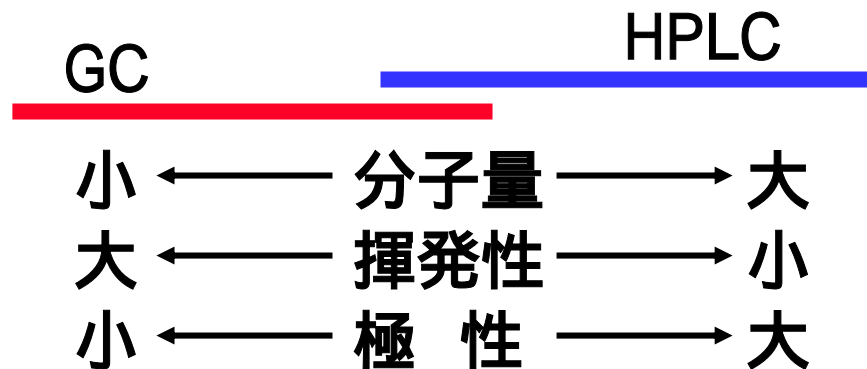
**TLC (Thin layer chromatography)**

# Chromatographyの種類



paper chromatography  
TLC, HPLC

gas-liquid chromatography  
GLC (GC)



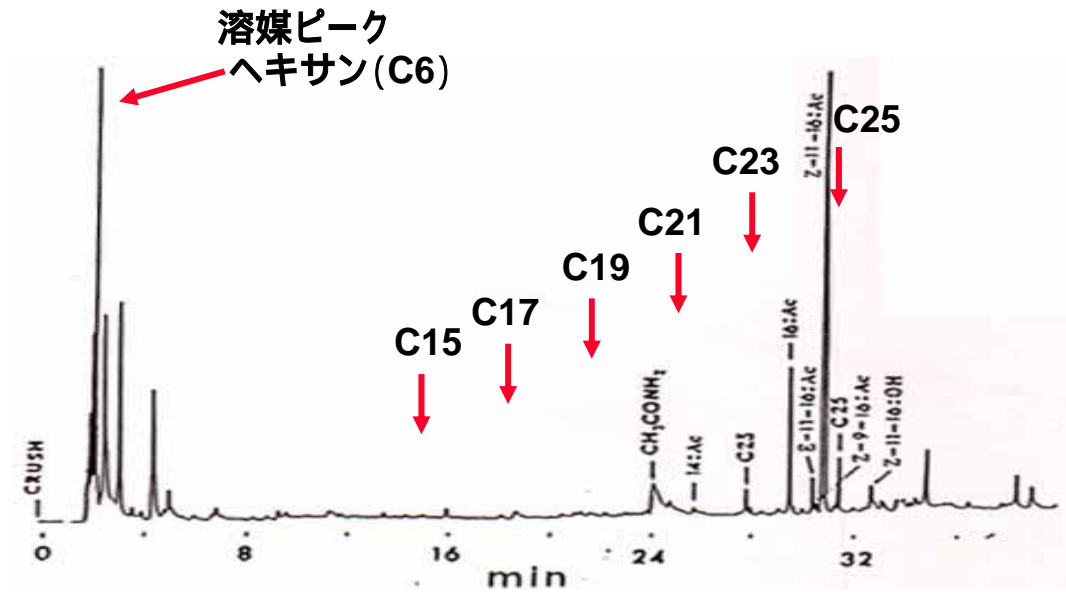
⇒ 性フェロモンの  
分離にGCは最適

# GCによる分離

カラムからの流出の違い

- 1. 揮発性  
分子量 (小 早い)
- 2. 極性 (小 早い)

← カラムの種類にもよる



保持時間 (Retention time, Rt)

例) アルコールとアセテート

decan-1-ol ( $C_{10}H_{22}O$ , 10:OH)  
分子量 158、極性 大

decyl acetate ( $C_{12}H_{24}O_2$ , 10:OAc)  
分子量 200、極性 小

DB-5 (低極性カラム)

アルコール      アセテート

DB-23 (高極性カラム)

アセテート      アルコール

カラム温度: キャピラリーカラムでは、通常昇温条件

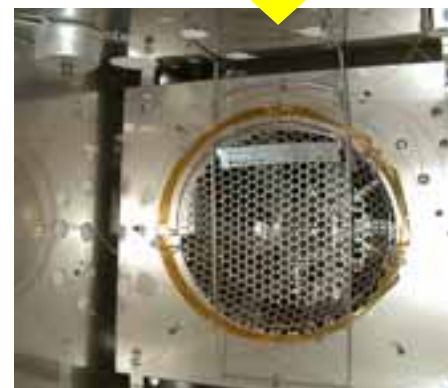
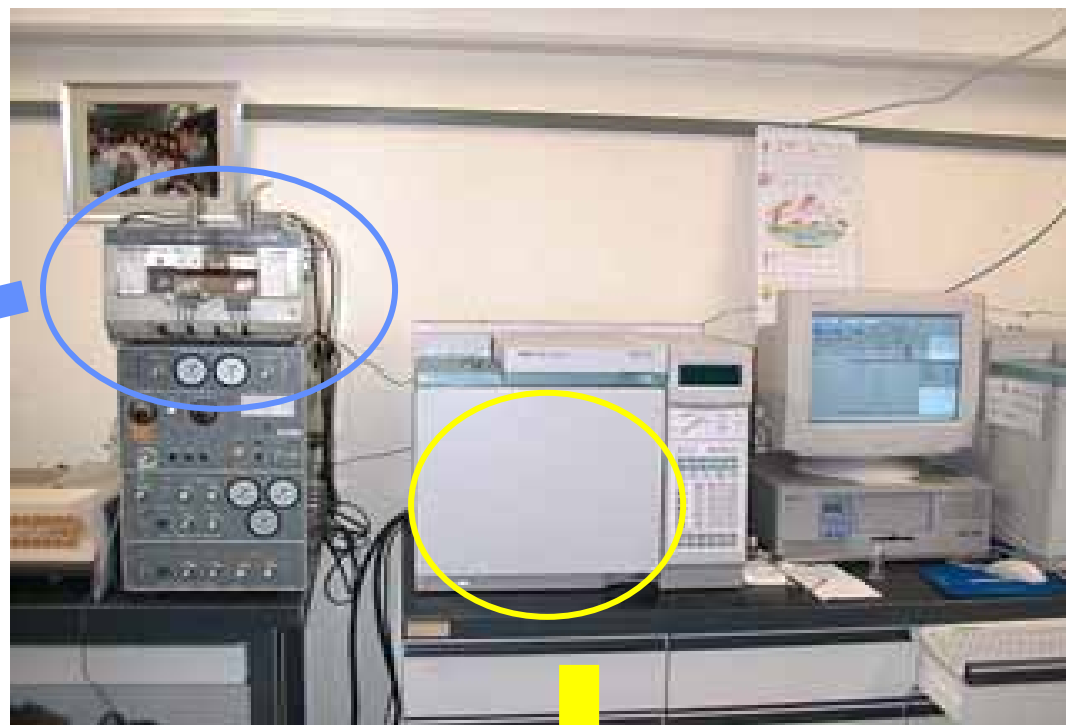
例) 60 , 2 min 10 /min 140 4 /min 220

ただし、パッキドカラムでは定温条件 (isocratic mode) での分析も行っていった。

# 装置 (Gas chromatography)

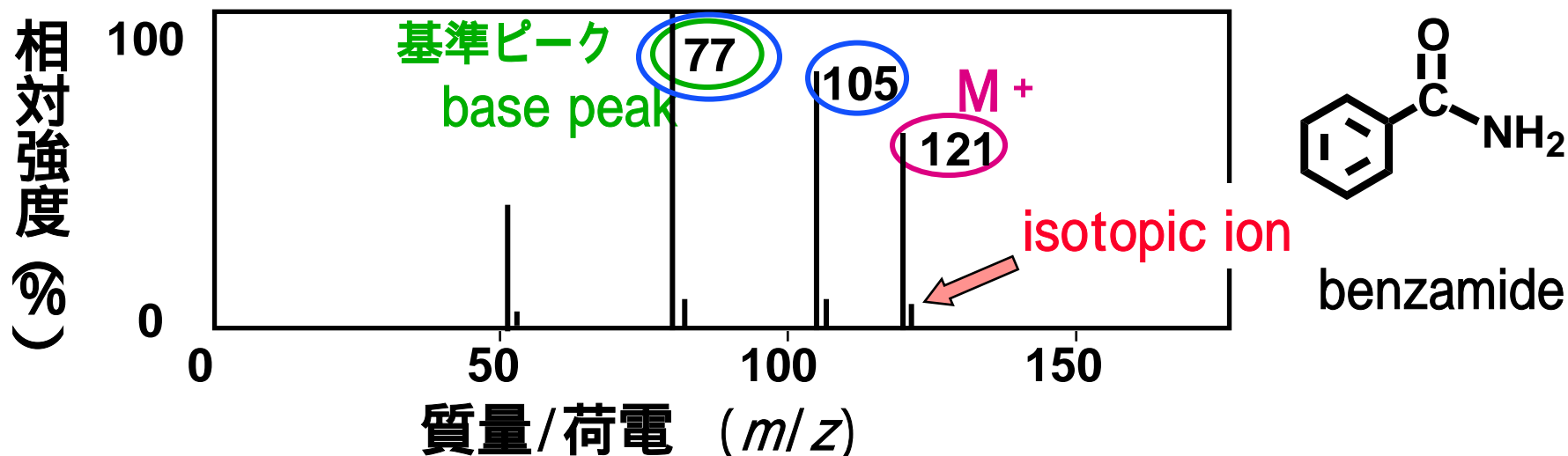


packed column



capillary column

# 質量分析法とは？



## 得られる情報

- 分子イオン **molecular ion**  $M^+$   $m/z$  121  $\rightarrow$  分子量  
 $\searrow$  分子式 ( $C_7H_7ON$ ) もわかる
- isotopic ion**  $[M+1]^+$  ( $^{13}C$ による)  $m/z$  122
- 開裂イオン **fragment ion**  $m/z$  105,  $m/z$  77

## 勉強すること

1. イオン化法
2. 分離分析法
3. 分子式 ?
4. **Fragmentation**
5. 応用

# イオン化と分子イオンの開裂

## 電子衝撃イオン化法 electron impact (EI法)

1. 試料を気化させる

1 Torr = 1 mmHg

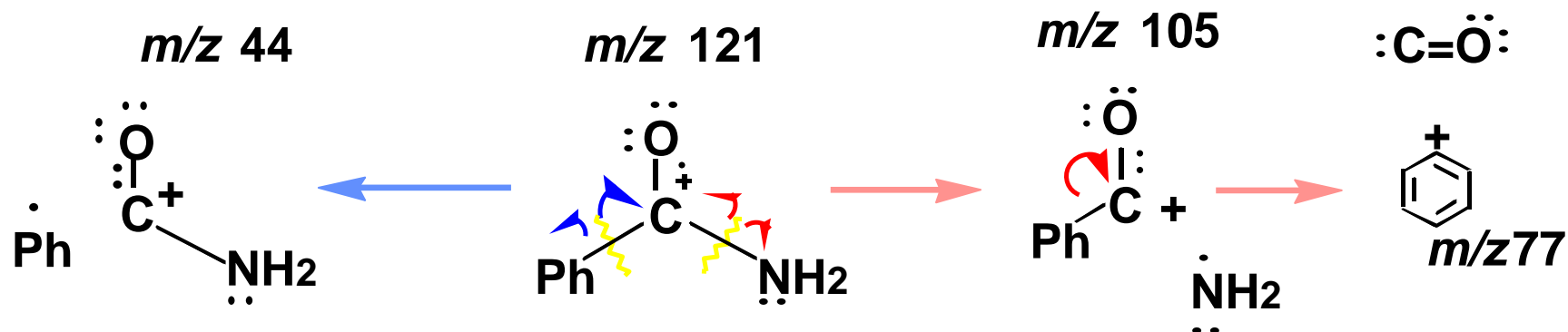
2. 高真空下 ( $10^{-6} \sim 10^{-7}$  Torr)、電子ビーム (70eV) をぶつける

← イオン: 不安定



イオン化ポテンシャル: 約10 eV  $\pi, n$  電子がもぎ取られやすい

イオン化は主に、不飽和結合やヘテロ原子で  
典型的な開裂は、その近辺で



# 質量分析計の種類

イオンをどのようにしてに分離するか

## A) 磁場偏向型質量分析計 Magnetic Sector Mass Spectrometer

高電圧(V)によって加速され、初速度(v)を持ったイオン(質量数  $m$ )

ポテンシャルエネルギー = 運動エネルギー

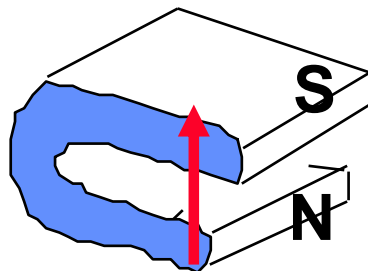
$$zV = 1/2 \cdot mv^2$$

扇形磁場(H)に直角方向から導入すると、半径Rの円運動をする

遠心力 = 向心力

$$mv^2 / R = Hzv$$

と 式より  $m/z = R^2 \times H^2 / 2V$



磁場の方向

### フレミングの左手の法則

中指: 電流(+イオンの流れ)の方向

人差し指: 磁場の方向

親指: 受ける力の方向

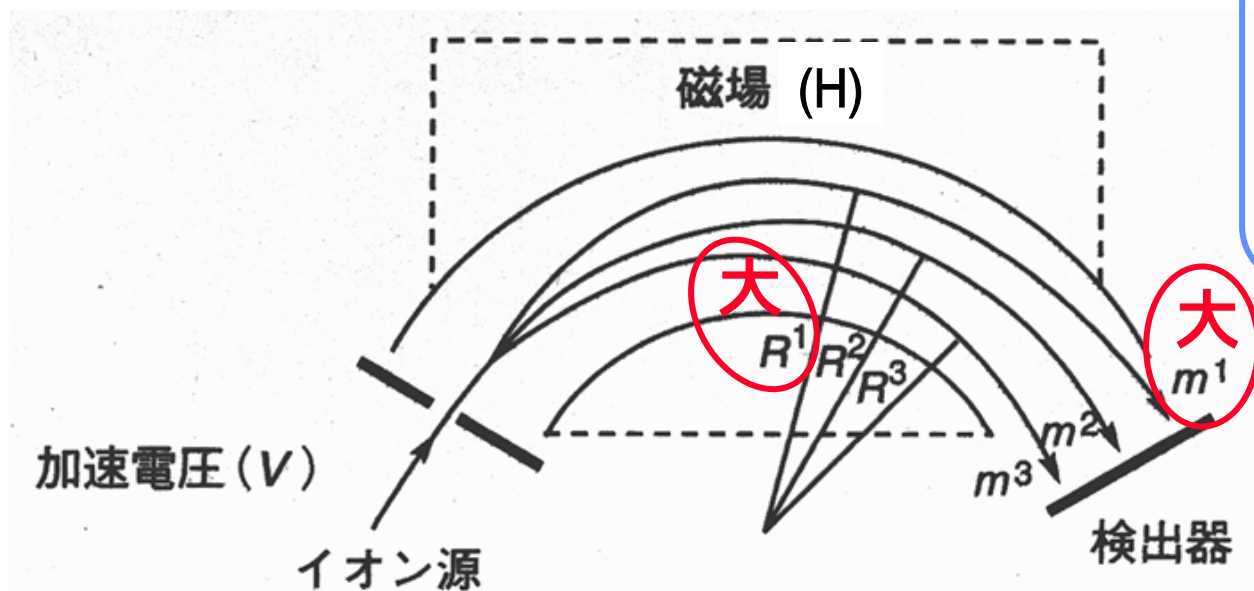


# 質量分析計の種類

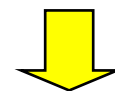
## A) 磁場偏向型質量分析計 Magnetic Sector Mass Spectrometer

と 式より  $m/z = R^2 \times H^2 / 2V$

$m/z$  大  $\longrightarrow$  R 大



$$m^1 > m^2 > m^3$$



$$R^1 > R^2 > R^3$$



一定な磁場

強い磁場

$m^1$ もR $^3$ の軌道  
(磁場を掃引)

# 質量分析計の種類

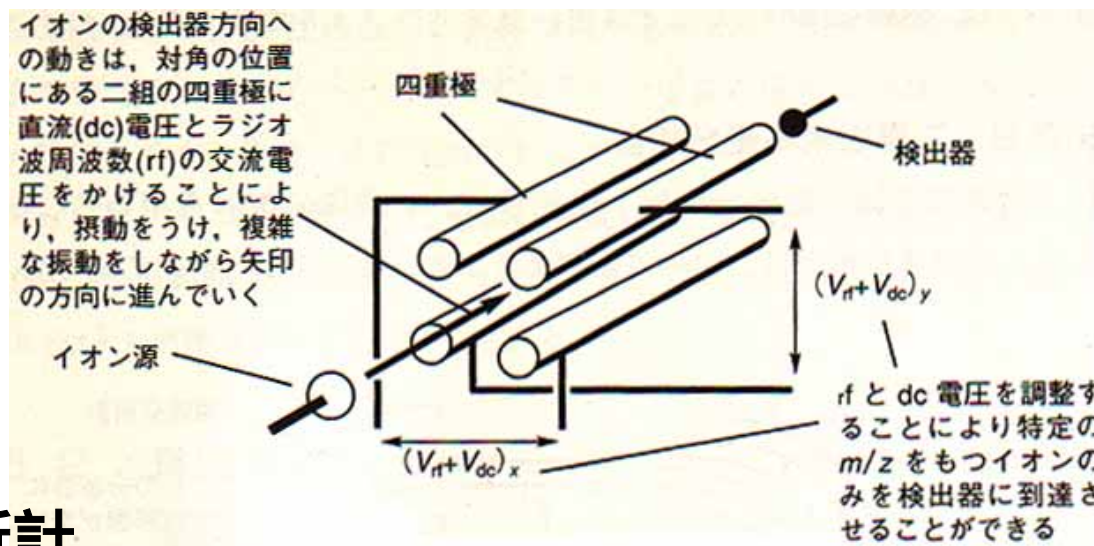
## a) 磁場偏向型質量分析計 Magnetic Sector Mass Spectrometer

単収束質量分析計      低分解能      整数の  $m/z$   
 二重収束質量分析計      高分解能      小数点以下4桁の質量数

## b) 四重極型質量分析計

(Q-MS)

Quadrupole Mass Spectrometer

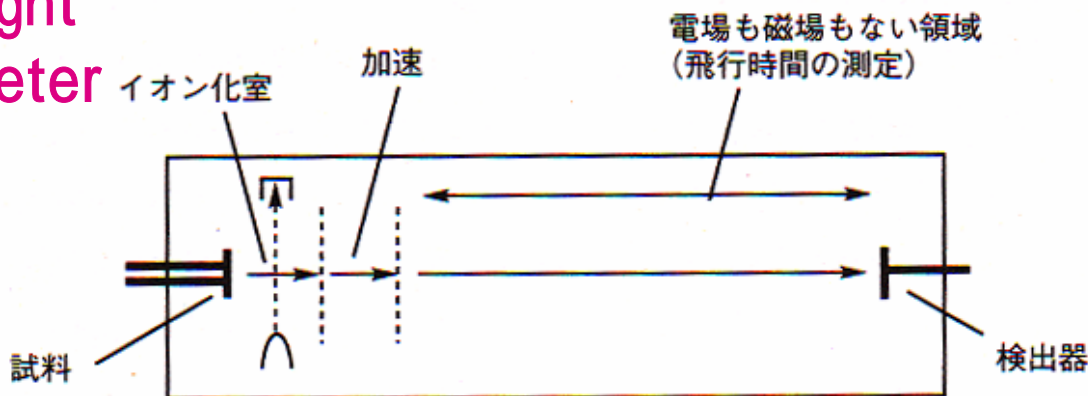


## c) 飛行時間型質量分析計

(TOF-MS) Time-of-flight Mass Spectrometer

$$t = L \sqrt{\frac{m}{2zeV}}$$

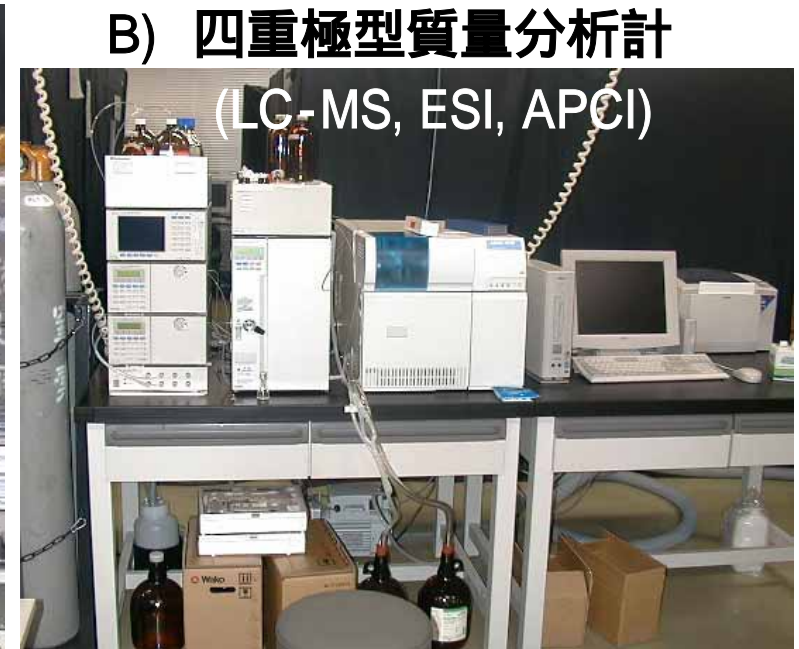
$m$  が小  $\longrightarrow$  速い



# 質量分析計



A) 磁場偏向型 二重収束質量分析計  
(GC-MS, EI, CI, FAB, FD)



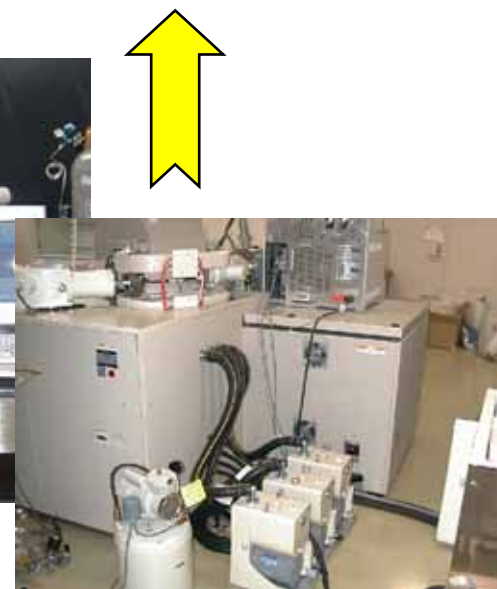
B) 四重極型質量分析計  
(LC-MS, ESI, APCI)

C) 四重極型質量分析計  
(GC-MS, EI)





# A) 磁場偏向型質量分析計    Magnetic Sector Mass Spectrometer (GC-MS, EI, CI, FAB, FD)



# B) 四重極型質量分析計 Quadrupole Mass Spectrometer Q-MS

(GC-MS, EI)



# クロマトグラフィーとの直結

## A) GC/MS

**問題点:** MSは超真空状態で測定

GCで分離

MSにて分析

interface

carrier gas は排気  
試料のみ導入

jet separator の開発

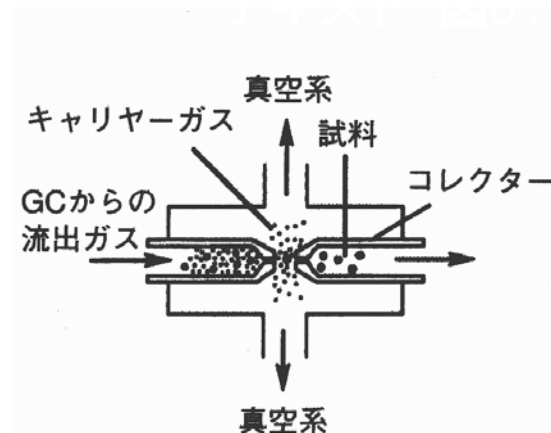
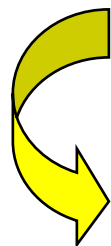


図 6.11 ジェットセパレーターの概念図

## B) LC/MS

interface

流出液の除去: **難しい**

thermospray interface の開発

イオン化も同時に起こる

thermospray ionization  
(TSI)

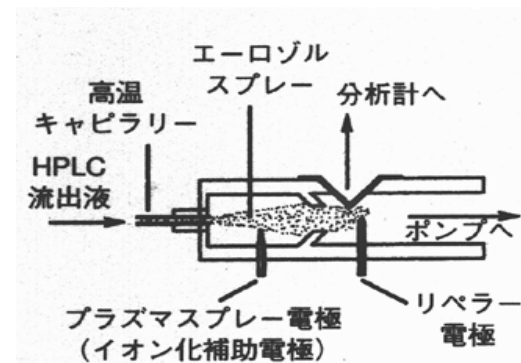
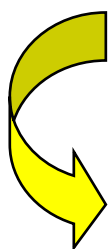


図 6.13 サーモスプレーインタフェースの概念図(VG Organic社の許可を得て掲載)

# Mass chromatogram と SIM

full MSスペクトルの

(i) 約0.5秒ごとの連続的な測定

データはcomputerへ

データ処理 (データの書出し)

1. TIC (total ion chromatogram)
2. full MSスペクトル
3. mass chromatogram

注目したイオンのクロマト

物質の検索、定量

(ii) SIM (selected ion monitoring)

特定のイオンのみ、継続して測定

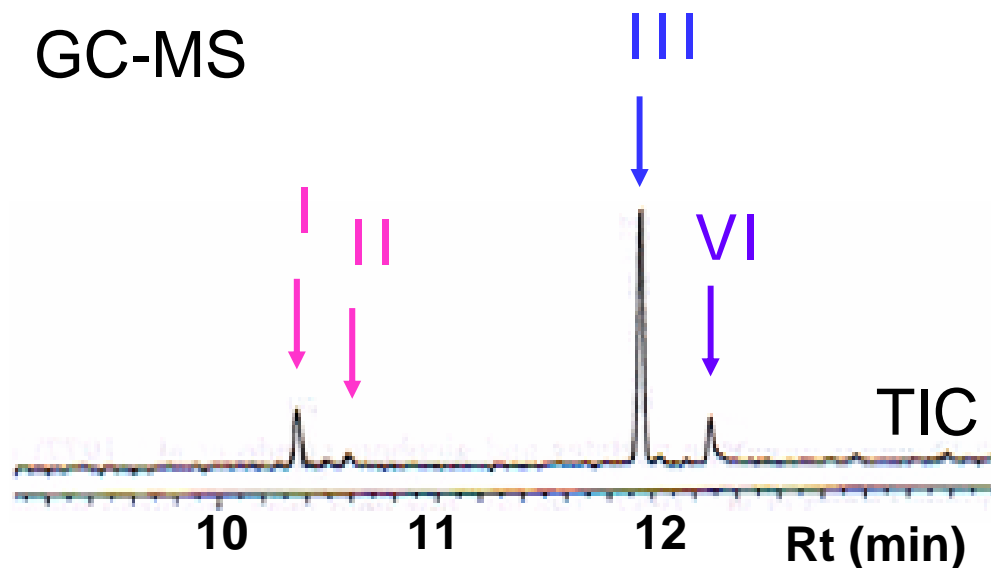
磁場の掃引なし

高感度 (残留農薬、ドーピング検査)



# GC/MSによる構造決定

## キクキンウワバの性フェロモン



I: Z7-12:OAc



II: Z7-12:OH



III: E5,Z7-12:OAc

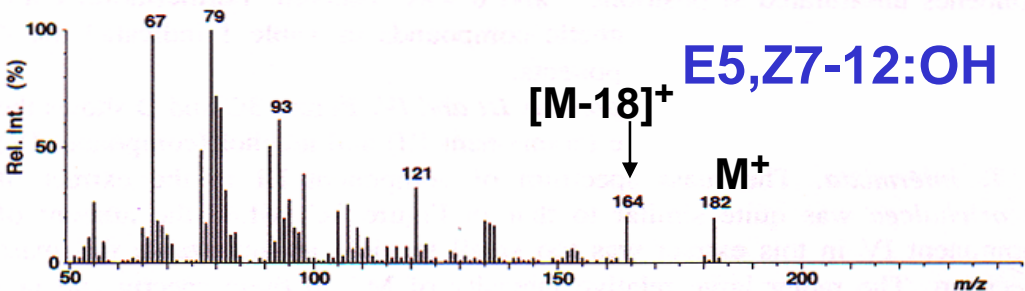
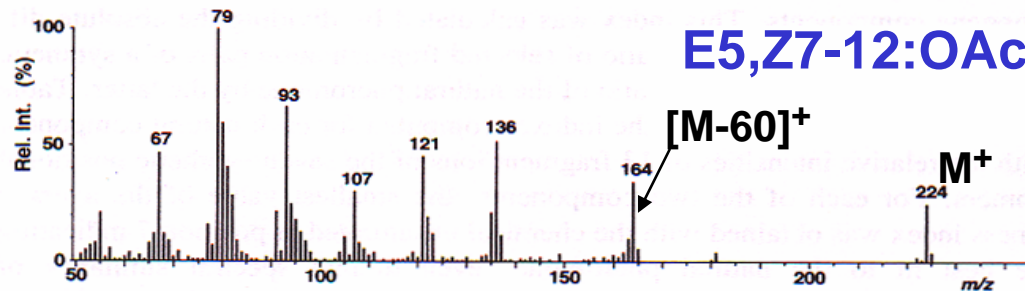
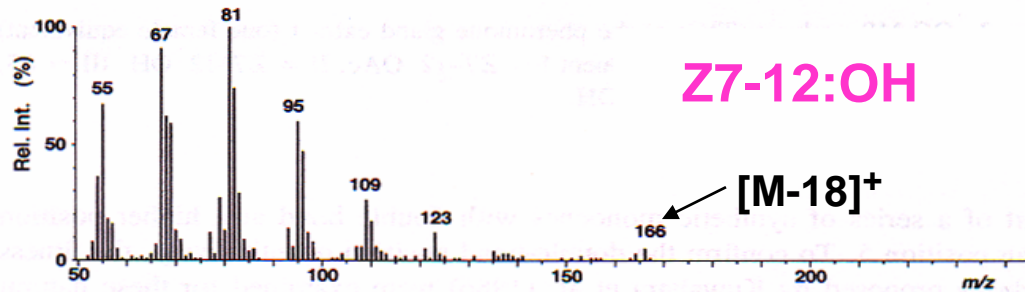
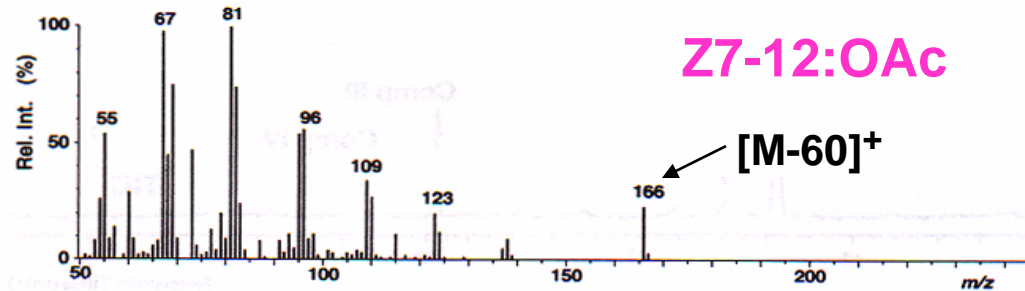


IV: E5,Z7-12:OH





# 性フェロモンのスペクトル



## Monoene化合物

M<sup>+</sup> は観測されない

アセテート [M-60]<sup>+</sup>

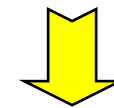
アルコール [M-18]<sup>+</sup>

## Diene化合物

M<sup>+</sup> は観測される

## アセテート

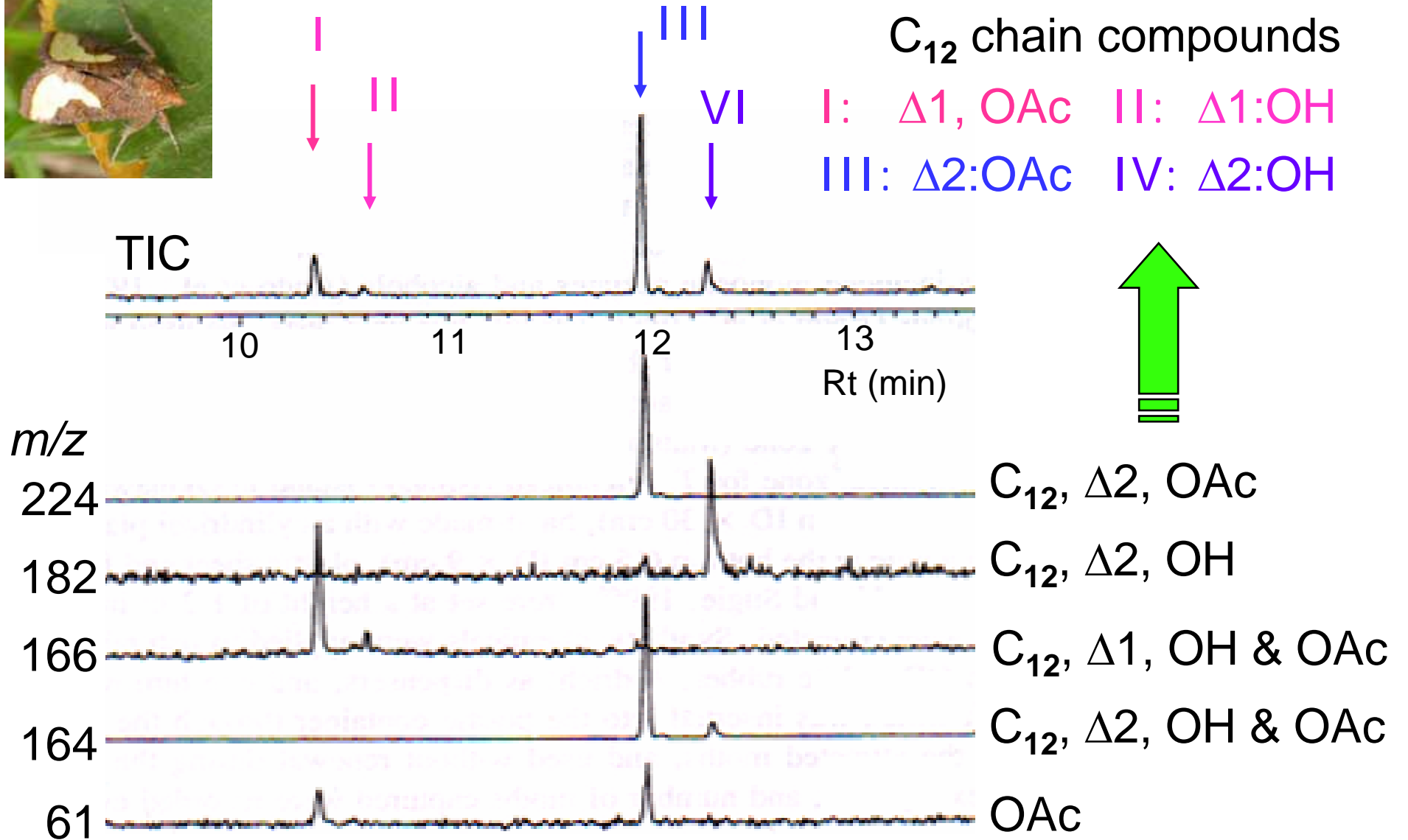
m/z 61 [AcOH + 1]<sup>+</sup>



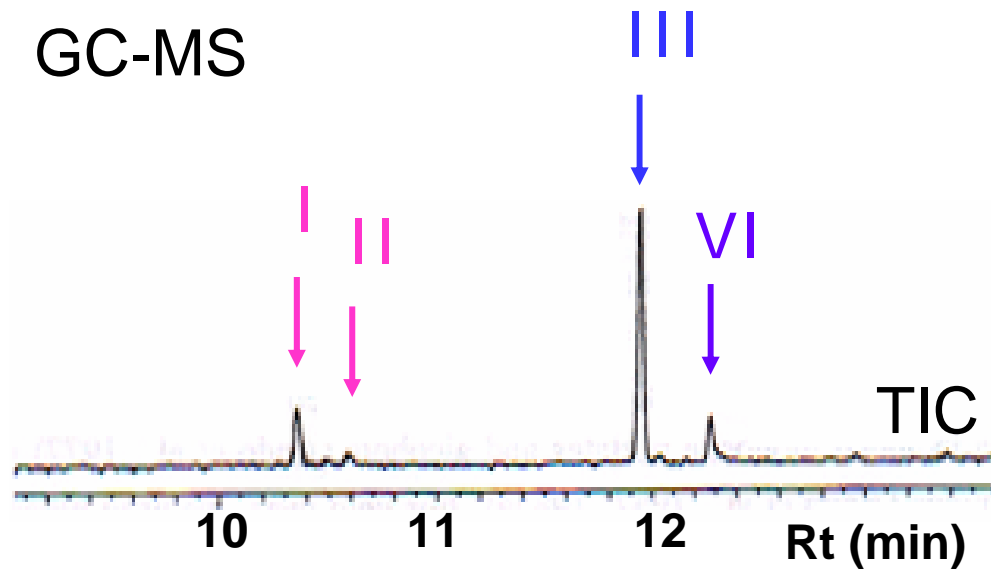
**診断イオン** (diagnostic ion)

による多成分系フェロモン  
分析のシステム化

# マスクロマトグラムによる分析



# キクキンウワバの性フェロモン



*Thysanoplusia intermixta*  
(Plusiinae)



		M <sup>+</sup>	[M-18] <sup>+</sup>	[M-60] <sup>+</sup>
I: Z7-12:OAc	<chem>CCCC=CCCCCCCC(=O)OC</chem>	226		<u>166</u>
II: Z7-12:OH	<chem>CCCC=CCCCCCCCO</chem>	184	<u>166</u>	
III: E5,Z7-12:OAc	<chem>CCCC=CC=CCCCCCCC(=O)OC</chem>	<u>224</u>		<u>164</u>
IV: E5,Z7-12:OH	<chem>CCCC=CC=CCCCCCCCO</chem>	<u>182</u>	<u>164</u>	

# 性フェロモン成分の診断イオン

	アセテート (:OAc)			アルコール (:OH)			アルデヒド (:Ald)		
	$\Delta 0$	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 0$	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 0$	$\Delta 1$	$\Delta 2$
C10	140	138	136, 196	140	138	136, 154	138	136	134, 152
C12	168	166	164, 224	168	166	164, 182	166	164	162, 180
C14	196	194	192, 252	196	194	192, 210	194	192	190, 208
C16	224	222	220, 280	224	222	220, 238	222	220	218, 236
C18	252	250	248, 308	252	250	248, 266	250	248	246, 264

飽和化合物 ( $\Delta 0$ ) アセテートは  $[M-60]^+$ 、アルコールとアルデヒドは  $[M-18]^+$

モノエン化合物 ( $\Delta 1$ ) アセテートは  $[M-60]^+$ 、アルコールとアルデヒドは  $[M-18]^+$

ジエン化合物 ( $\Delta 2$ ) アセテートは  $M^+$  と  $[M-60]^+$ 、アルコールとアルデヒドは  $M^+$  と  $[M-18]^+$

# 本日の実験

## アワヨトウの性フェロモンの同定

- 1) アワヨトウの性フェロモンの抽出
- 2) 抽出物のGC-MS分析
- 3) **合成標準物質のGC-MS分析**

## レポートの課題

「ドーピング検査とGC-MS」

提出期限: 12月7日

A4 2枚 程度