

シングル四重極質量分析計による 化学反応のリアルタイムモニタリング

服部考成、柴山泰子

ユーザーベネフィット

- ◆ 化学反応に関係する成分の質量情報をリアルタイムに追跡することで、化学反応の進行を正確に把握できます。
- ◆ フローインジェクションによる直接注入であるため、1分間隔で化学反応を連続的にモニタリングできます。

■はじめに

化学分野において、合成反応の反応過程や反応速度を追跡することは、どのような化学反応が生じているかを正確に把握するために重要です。

本アプリケーションニュースでは、フローインジェクションとシングル四重極LC-MSを用いた化学反応のリアルタイムモニタリングの事例をご紹介します。フローインジェクションで試料を注入することで、化学反応を1分間隔で連続的にモニタリングできます。反応速度が速く、より短い間隔でのモニタリングが必要な場合は、アプリケーションニュースNo. C159で紹介したPESI (Probe Electro Spray Ionization) と質量分析計を組み合わせた手法が有効です。両手法を組み合わせることで、化学反応をより詳細にモニタリングできるようになります。

■3-NPHによる誘導体化反応

LC-MSで短鎖脂肪酸や有機酸を分析する際、ODSカラムへの保持とMS検出における感度向上を目的に、3-ニトロフェニルヒドラジン (3-NPH) で短鎖脂肪酸・有機酸を誘導体化させる場合があります。図1に示すように、2-エチル酪酸 (2-EBA) を3-NPHで誘導体化させました。75%メタノール水溶液で、100 ppm 2-EBA、1, 5または20 mmol/L 3-NPH、5 mmol/L 1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimide (EDC、縮合剤)、0.75%ピリジン (触媒) の各溶液を調製し、これら溶液50 µLと75%メタノール水溶液50 µLを混合したものを測定用試料としました。

■装置、分析条件

分析には、図2に示すNexera™シリーズとLCMS-2050を組み合わせたシステムを使用しました。LCMS-2050は、コンパクトでありながら、使いやすさや性能面にも秀でたシングル四重極質量分析計です。一般的に、カラムを用いず試料を直接注入するフローインジェクションは、質量分析計を汚染しやすい分析ですが、LCMS-2050は頑健性が高く、また汚染されても簡単にメンテナンスできるため、フローインジェクション分析にも適しています。

表1に分析条件を示します。2-EBA, 3-NPH, 生成物 (2-EBA + 3-NPH) は、SIMモードでそれぞれ m/z 115 (-), 154 (+), 252 (+)で測定しました。また、それら以外のピークを確認するために m/z 50-2000の範囲でスキャン測定しました。



図2 Nexera™, LCMS™-2050システム

表1 分析条件

[Flow injection conditions] (Nexera XR)	
Flow rate	: 0.2 mL/min
Mobile phase	: Water / Methanol=50:50
Injection volume	: 1 µL
[MS conditions] (LCMS-2050)	
Ionization	: ESI/APCI (DUIS™), Positive and Negative mode
Mode	: SIM (m/z 154 (+), 252 (+), 115 (-)) or Scan (m/z 50-2000)
Interface voltage	: +3.0 kV / -2.0 kV
Nebulizing gas flow	: 2.0 L/min
Drying gas flow	: 5.0 L/min
Heating gas flow	: 7.0 L/min
Desolvation temp.	: 450°C
DL temp.	: 200°C

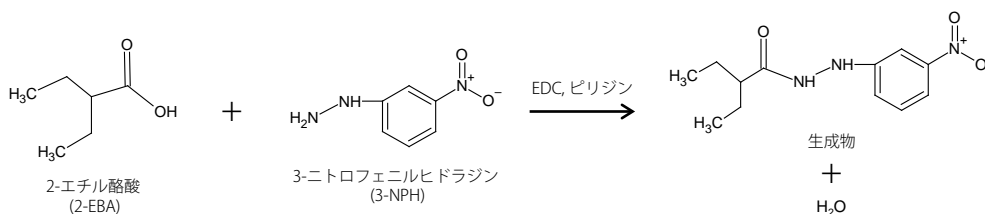


図1 3-ニトロフェニルヒドラジンによる誘導体化反応

■ 誘導体化試薬の濃度による影響

誘導体化試薬である3-NPHの濃度を1, 5または20 mmol/Lとし、その際の生成物や2-EBAの量の違いを確認しました。溶液混合後3時間経過した各試料を分析しました。図3に示すように、3-NPHの濃度が高いほど生成物のピーク面積は増加し、一方、2-EBAのピーク面積は減少しました。誘導体化試薬の濃度が高いほど、より反応が起きていることがわかります。

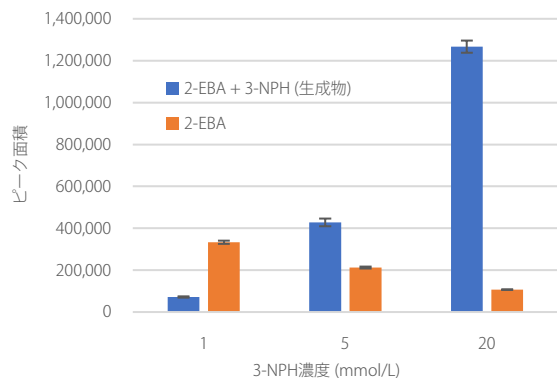


図3 3-NPH濃度の影響

■ 反応過程のリアルタイムモニタリング

誘導体化反応をリアルタイムでモニタリングするために、混合直後の試料をフローインジェクションで1分毎にLC-MSに注入し、1時間の連続分析を行いました。3-NPHの濃度は5 mmol/Lとしました。図4 (A)に示すように、時間の経過とともに生成物のピーク面積は増加しました。次に、1時間毎に試料を注入し、15時間モニタリングした結果を図4 (B)に示します。生成物のピーク面積は増加し続け、一方、2-EBAのピーク面積は減少し続けており、15時間経過しても反応が進んでいることがわかりました。

図5は、溶液混合直後と混合20時間後の試料を分析し得られたマススペクトル（ポジティブモード）です。生成物由来のピークである m/z 252以外にも、 m/z 188や272, 309のピークが大きく変化していました。

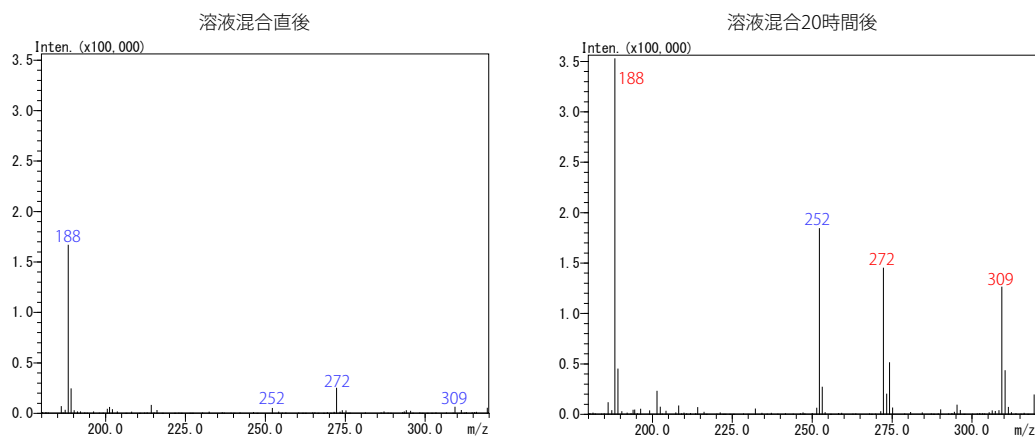


図5 溶液混合直後と混合20時間後の試料のマススペクトル（ポジティブモード）の比較

<関連アプリケーション>

1. 化学反応のリアルタイム追跡 [Application News No.C159](#)

LCMS, Nexera, DUISは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

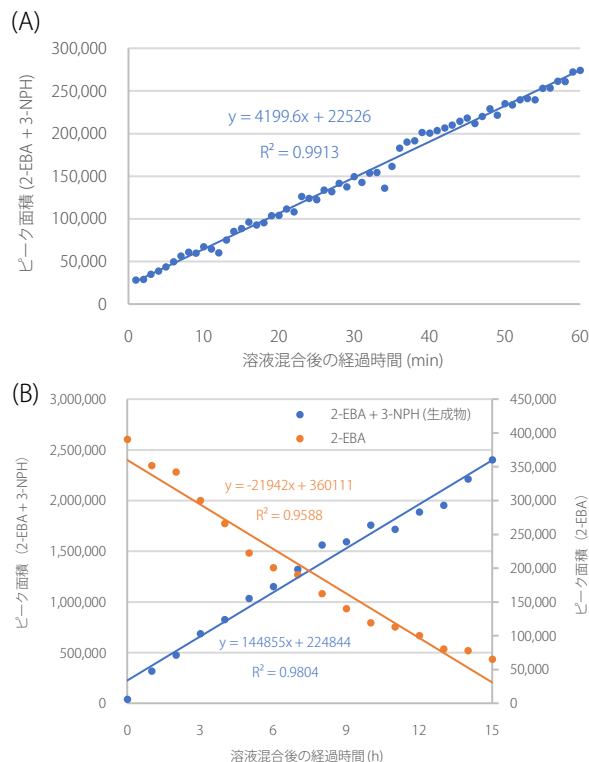


図4 誘導体化反応の時系列変化

■ まとめ

シングル四重極LC-MSを用いた化学反応のリアルタイムモニタリングの事例をご紹介しました。化学反応に関係する成分のピーク面積をリアルタイムに追跡することで、化学反応の進行を正確に把握できます。本手法は、オートサンプラーを使ったフローインジェクション分析のため、1分間隔の連続モニタリングが全自動で可能です。今後、本手法が普及することで合成化学等の分野における技術や製品開発の発展が期待されます。