

質量分析をご依頼の方へ

1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点

2022年2月版

1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点



こんなところで活躍している質量分析



環境測定

科学捜査

ドーピング検査

医療分野

食品分析

基礎研究



■ 有機合成

■ 天然物

■ 錯体

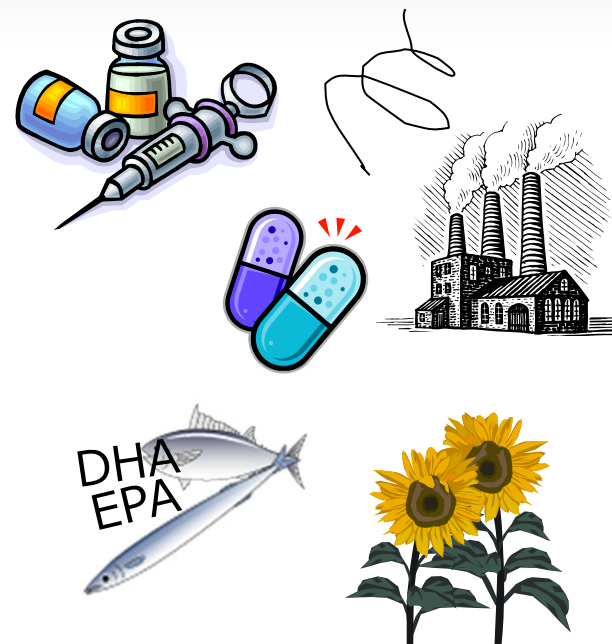
■ 触媒

■ 生物

■ 無機

■ 環境

■ 材料



質量分析の特徴

- 微量分析
- 元素組成の確認可
- 構造情報・分子量情報を取得可

定性・定量に利用されている

1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点

EI

ESI

MALDI

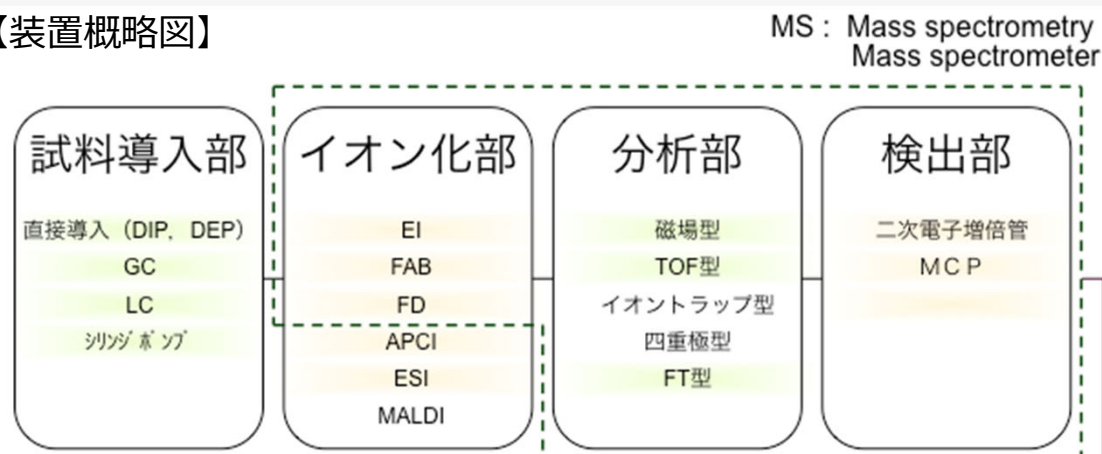
APCI

FD

質量分析装置



【装置概略図】

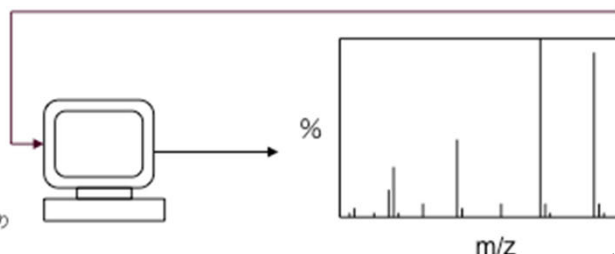


質量分析とは,



原子や分子から生じたイオンを真空中で飛行あるいは運動させ、電場や磁場などを用いてその m/z 値に応じて分離し、検出する分析法

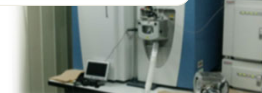
日本質量分析学会マスマスベクトロメトリー関連用語集より



TQ4000GC
(EI)



Exactive Plus
(ESI, APCI)



LTQ-Orbitrap
(ESI)



【機器分析受託部門設置の装置】

8台

(対応イオン化法 5種類)

ultrafleXtreme
(MALDI)※OPEN利用



Orbitrap Elite
(ESI)※OPEN利用



Orbitrap Discovery
(ESI)※ OPEN利用



T100GCv
(EI, FD)



T100LP
(ESI, APCI)



機器分析受託部門の質量分析計



8台の機器 5種類のイオン化法

	試料導入部 Inlet	イオン化部 Ion Source	分析部 Analyser
LTQ-Orbitrap 	HPLC シリンジポンプ	ESI , APCI	電場FT Orbitrap
Exactive Plus 	フローインジェクション シリンジポンプ	ESI , APCI	電場FT Orbitrap
T100GCv 	GC 直接導入 (DIP, DEP)	EI , FD , FI	TOF Time-of-Flight
T100LP 	シリンジポンプ	ESI , APCI	TOF Time-of-Flight
TQ4000GC 	GC	EI	四重極 Quadrupole

1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点

EI

ESI

MALDI

APCI

FD

機器分析受託部門の 質量分析 / 分析項目



一般分析

反応チェック, 構造解析, 論文投稿などのための
スペクトルデータ取得, 精密質量データ取得

- EI-MS
- ESI-MS
- APCI-MS
- FAB-MS (停止中)
- FD-MS, FI-MS

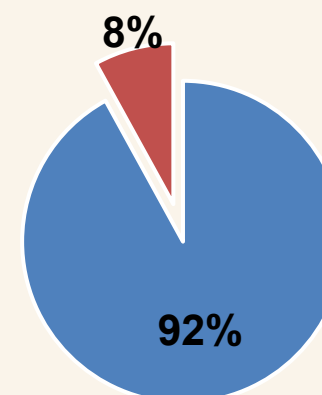
特殊分析

混合物の分離分析, タンパク質同定, MSⁿ測定など

分析担当者との詳細な打ち合わせが必要な分析

- GC/MS
- LC/MS
- MS/MS
- MSⁿ
- タンパク質同定

平成29年度 受託実績



■ 一般分析 ■ 特殊分析

年間 約**3500**件の分析を行います。

質量分析データから何を得る？



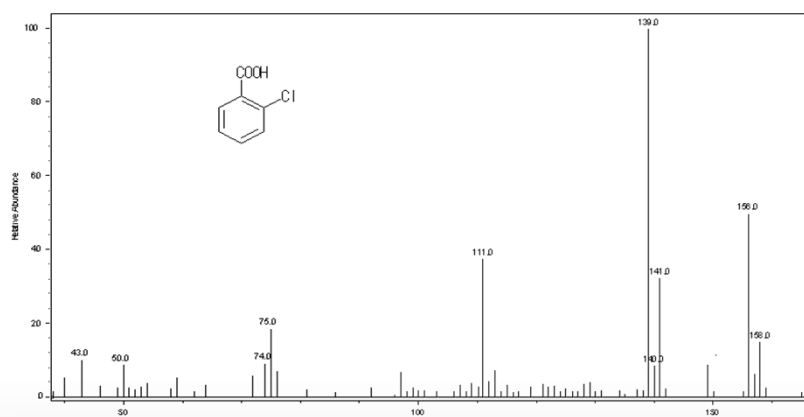
分子量情報

構造情報

組成情報

マスペクトル

精密質量測定結果



PFK		Sample		PFK		PFK	
Observed m/z		Int%		Error[ppm/mDa]		U.S. Composition	
155.9969		42.8		-3.1/-0.9		1.0 C7 H5 O2 ³⁵ Cl	

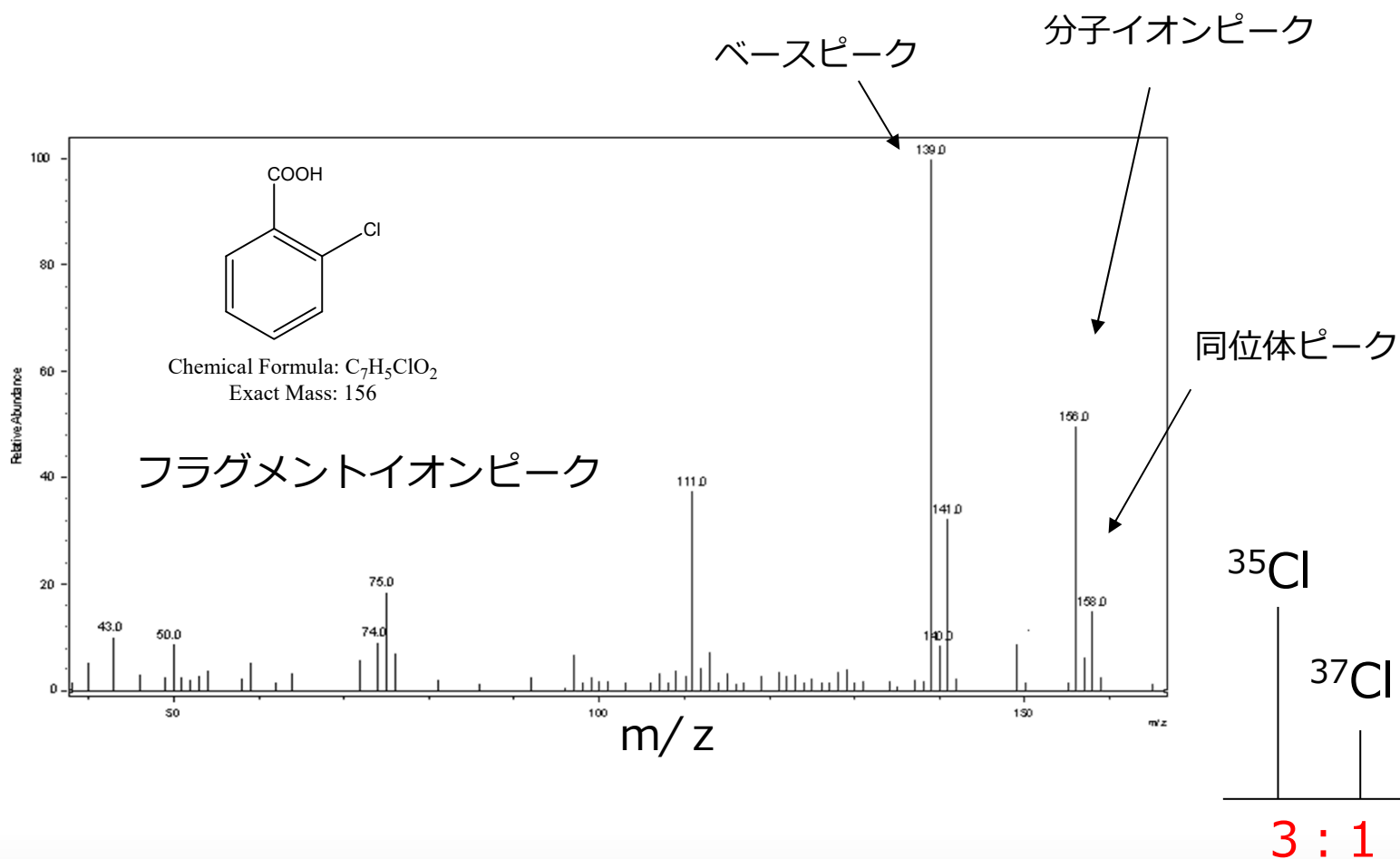
マススペクトルの読み方



★ o-クロロ安息香酸 の EI マススペクトル

 $M^{+\bullet}$

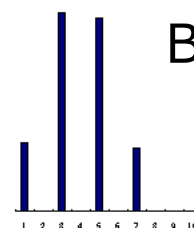
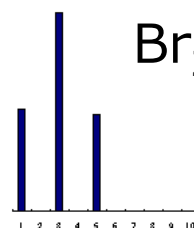
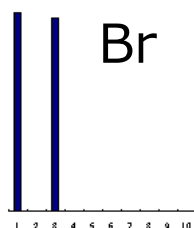
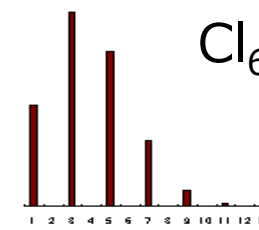
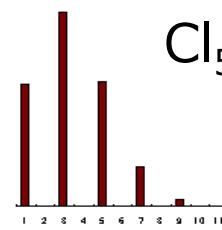
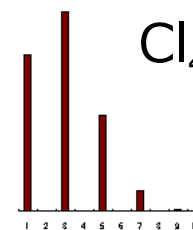
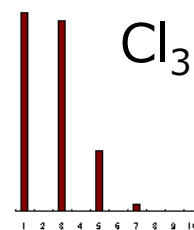
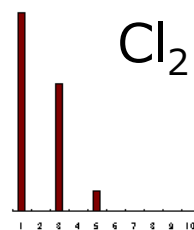
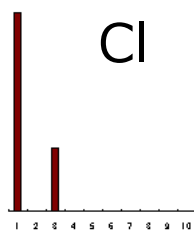
相対強度



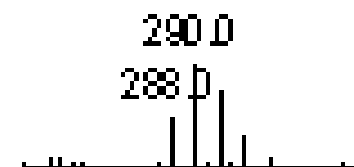
同位体パターンを有効に活用しよう！



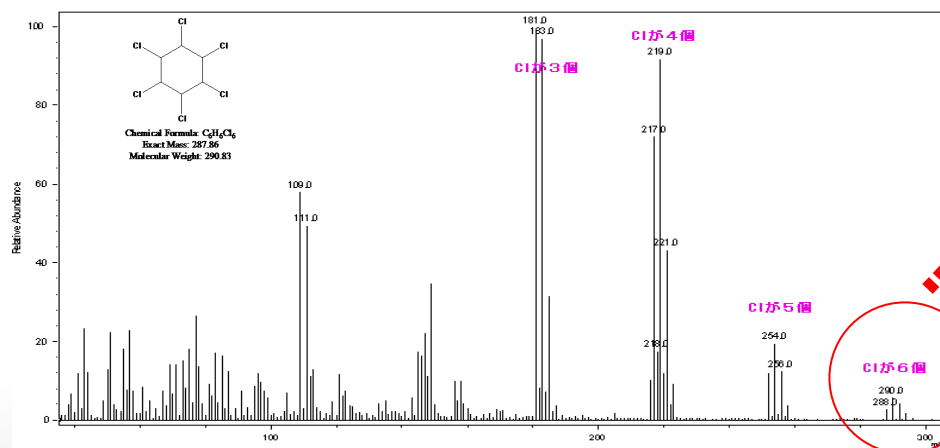
★ 理論パターン



Clが6個



★ ヘキサクロクロシクロヘキサンの EI マススペクトル



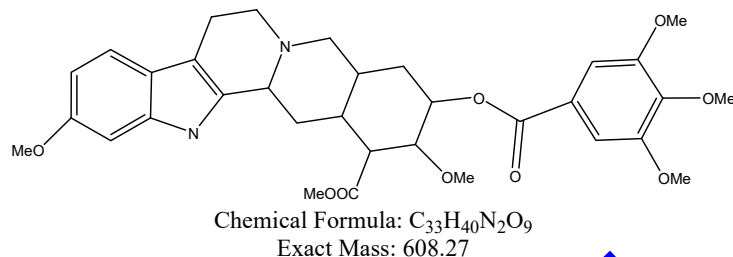
ハロゲンの個数，混合比を
予想することができます。



イオン化違いで、検出ピークも異なります



★レセルピン



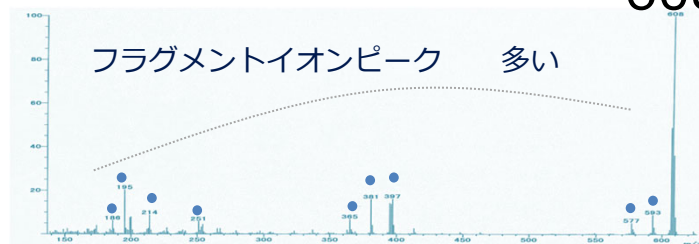
分子量に関する分子種も様々
呼び名も様々

EI

ESI

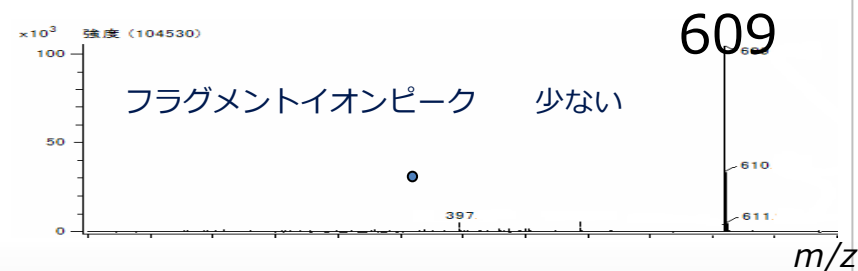
★ EI マススペクトル

● フラグメントイオンピーク 分子イオン M^+
608



★ ESI マススペクトル

プロトン化分子 $[M+H]^+$



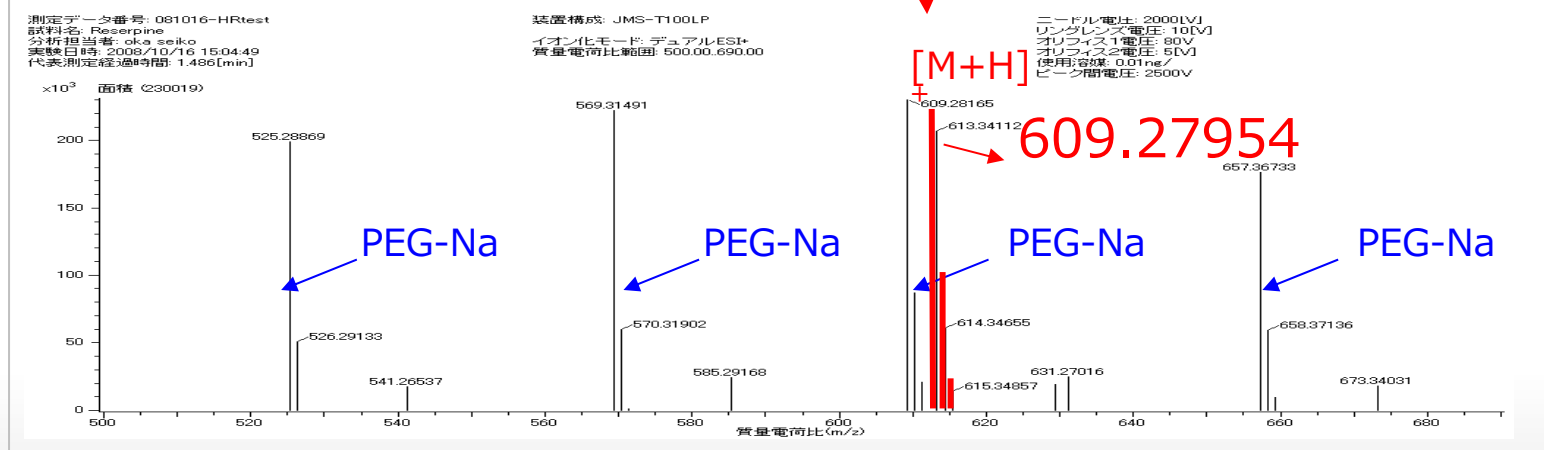
精密質量測定



精密質量測定は、
マススペクトルで確認されたピークに対して 行うことができます。

対象ピークの m/z 値に対して、
小数点以下4~5桁までの精密な値を求めます。

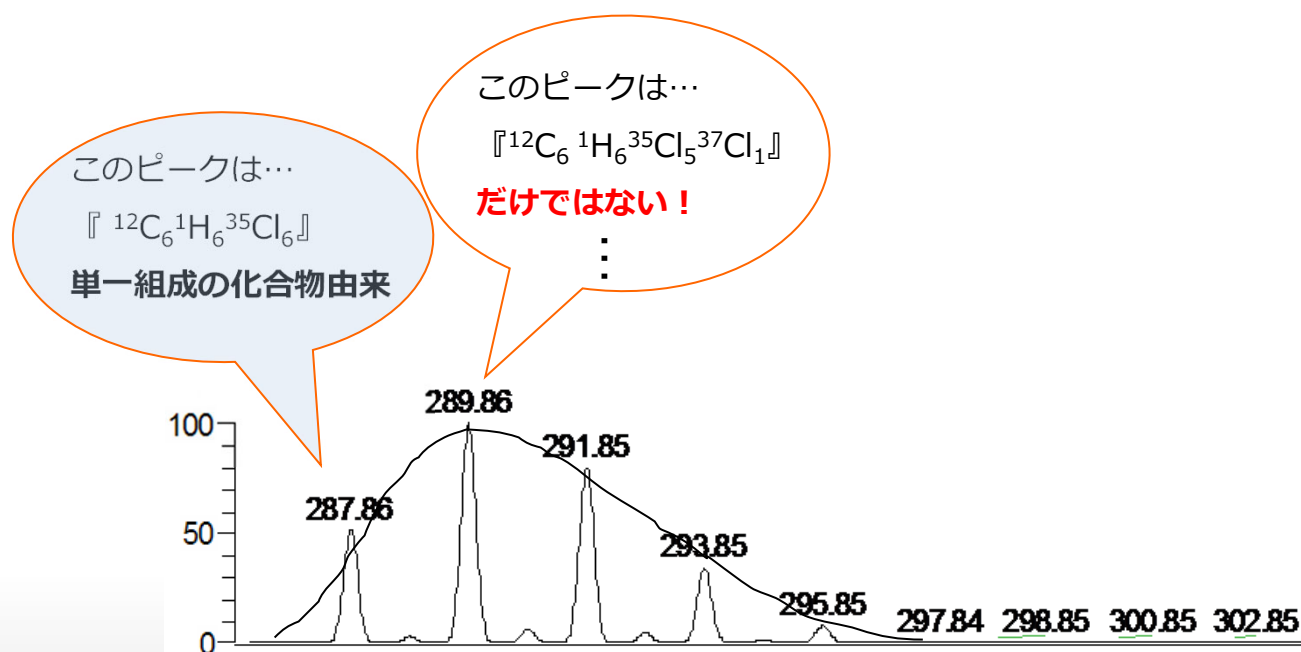
【分析例：内部標準法】



精密質量を測定するピーク



- ◆ 精密質量測定は、基本的に最小質量同位体のみからなるピークに対して行います。
- ◆ 含有元素や分子組成により、最小質量同位体のみからなるピークの強度が小さく、精密質量測定に適さない場合、強度の大きな他のピークで精密質量測定を行うことがあります。この場合、計算質量（後述）は、同位体組成の異なるピークの重なりを考慮したシミュレーション値を使用していただくことになります。



精密質量測定と組成演算



小数点以下4～5桁までの精密な値を用いて，PCは計算を行い
測定精密質量 と 計算精密質量の差 を Delta値 で表します．

Thermo Scientific製品のデータ

Elemental composition search on mass 609.27954

m/z= 604.27954-614.27954

Isotope Min Max

N-14 0 5

O-16 5 10

C-12 0 100

H-1 0 200

Charge 1

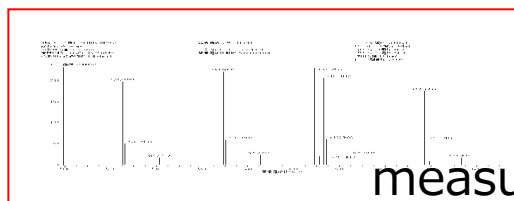
Mass tolerance 10.00 ppm

Nitrogen rule not used

RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
609.27954	609.27931	0.37	15.0	C ₃₁ H ₃₉ O ₈ N ₅
	609.28066	-1.83	14.5	C ₃₃ H ₄₁ O ₉ N ₂
	609.28334	-6.23	19.0	C ₃₆ H ₃₉ O ₆ N ₃
	609.28468	-8.44	18.5	C ₃₈ H ₄₁ O ₇



measured accurate mass

測定精密質量

計算精密質量

calculated exact mass



組成演算の際に必要な情報は

下記4項目の設定が必要ですが、
特に含有元素の範囲指定がなければ演算できません。
未知化合物でも、推定値が必要です。

Thermo Scientific製品のデータ

重要

- ① 含有元素を予想. 同位体元素も考慮
- ② 許容誤差範囲を設定.
- ③ 窒素ルールを適用するかどうか選択
- ④ 化合物の不飽和度を設定.

① Elemental composition search on mass 609.27954

m/z= 604.27954-614.27954

② Isotope Min Max

N-14	0	5
O-16	5	10
C-12	0	100
H-1	0	200

Charge 1

③ Mass tolerance 10.00 ppm

④ Nitrogen rule not used

RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
609.27954	609.27931	0.37	15.0	C ₃₁ H ₃₉ O ₈ N ₅
	609.28066	-1.83	14.5	C ₃₃ H ₄₁ O ₉ N ₂
	609.28334	-6.23	19.0	C ₃₆ H ₃₉ O ₆ N ₃
	609.28468	-8.44	18.5	C ₃₈ H ₄₁ O ₇

精密質量測定の結果は 基本的に3点の演算結果を返却します



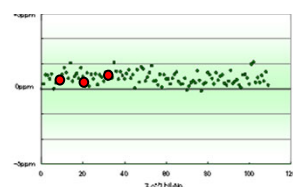
【理由】 分析結果のばらつき度合を ある程度知っていただくため

- 精密質量測定において、1試料1測定で得られる結果は1つではなく、多点での分析結果取得が可能です。
- それぞれの点で分析結果は少しずつ異なりますが、その分析結果はおおよそ数ppm～10ppmに収まるような条件で分析しています。

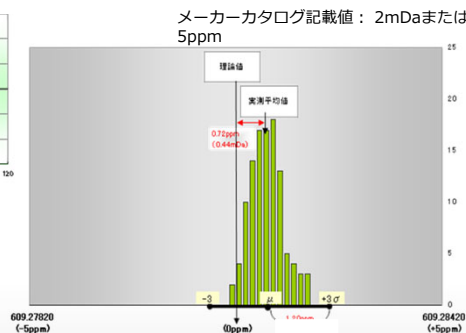
注意点：

- 分析試料の性質やイオン化法、試料濃度、分析装置によってばらつきの出方が変わります。 検出ピークがスペクトルモニター上不安定な形状を示す場合には、上記の誤差範囲に入らない場合があります。 結果に添付されたコメントがある場合は注意してください。
- 当部門ではESI-MSまたはAPCI-MSを選択すると、最も精度高い結果（5ppm以内）が得られます。

★ 実際のテスト結果 (使用機器：JEOL JMS-T100LP)



1 測定100スペクトル分の
データ処理を行いました



★ 精密質量測定結果 (例)

```

Elemental composition search on mass 609.27954
m/z = 604.27954-614.27954
N-14
O-16
C-12
M-1
Charge 1
Mass 101
RDB equl
mass sum
m/z
609.279
N-14
O-16
C-12
M-1
Charge 1
Mass 101
RDB equl
mass sum
m/z
609.279
Elemental composition search on mass 609.27954
m/z = 604.27954-614.27954
Isotope Min Max
N-14 0 100
O-16 5 10
C-12 0 100
M-1 0 200
Charge 1
Mass Tolerance 10.0 ppm
Nitrogen rule not used
RDB equl -1.00-0.00 ppm
mass results 10
m/z Theo. Mass Delta
(ppm) RDB equl Composition
609.27954 609.27931 -0.37 15.0 C4u H20 O4 H5
609.28066 609.28066 0.00 14.0 C5u H4 O4u H2
609.28034 -6.23 19.0 C4u H4 O4u H2
609.28468 -8.44 18.0 C5u H4 O4

```

同一分析内、複数スペクトルデータから取得した
3点の組成演算結果

★ 例外

特殊分析時は、
1点のみ返却する場合があります。

Exactiveで分析したデータは、
3点の精密質量表示とそのうち
1点の組成演算結果を返却します。



最小誤差の組成が正しいとは限らない

Elemental composition search on mass 609.27954

m/z= 604.27954-614.27954

Isotope Min Max

N-14 0 5

O-16 5 10

C-12 0 100

H-1 0 200

Charge 1

Mass tolerance 10.00 ppm

Nitrogen rule not used

RDB equiv -1.00-100.00

max results 10

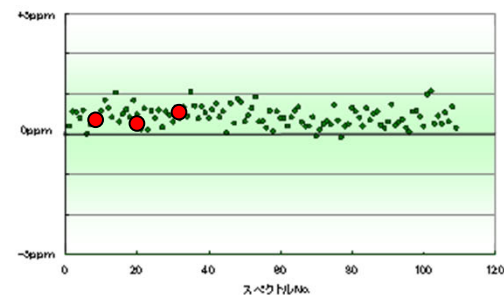
m/z	Theo. Mass	Delta (ppm)	RDB equiv.	Composition
609.27954	609.27931	0.37	15.0	C ₃₁ H ₃₉ O ₈ N ₅
	609.28066	-1.83	14.5	C ₃₃ H ₄₁ O ₉ N ₂
	609.28334	-6.23	19.0	C ₃₆ H ₃₉ O ₆ N ₃
	609.28468	-8.44	18.5	C ₃₈ H ₄₁ O ₇

分析値には
ばらつきもあります



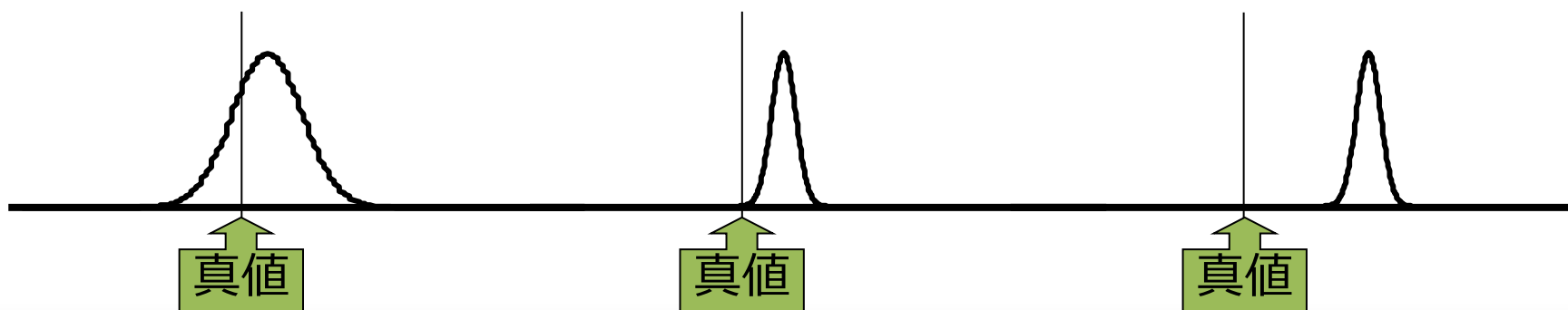
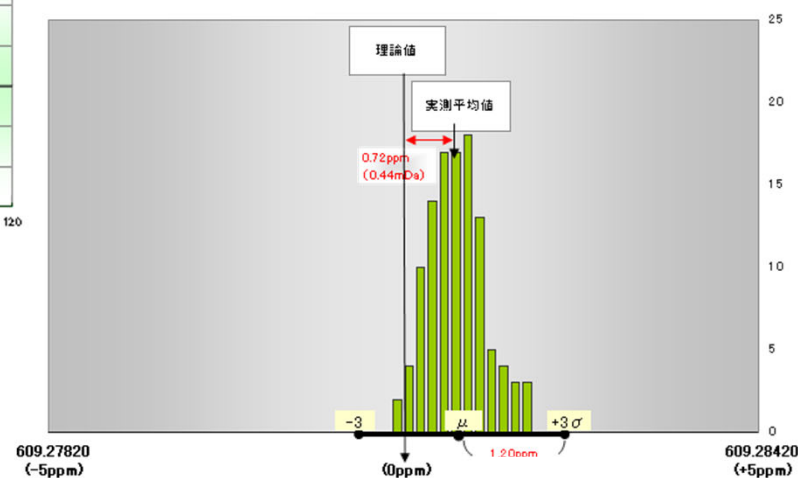
精密質量測定の精度，確度は？

★ 実際のテスト結果 （使用機器：JEOL JMS-T100LP）



1 測定100スペクトル分の
データ処理を行いました

メーカーカタログ記載値：2mDaまたは5ppm

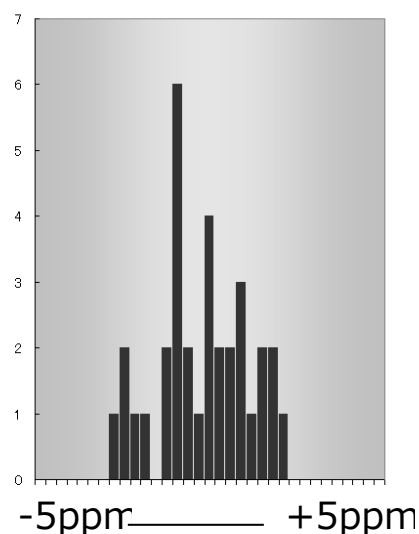


精確度は、機種やイオン化法、試料によって異なります

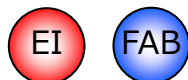


700TZ(停止中)

n=33, Reserpine (FAB)

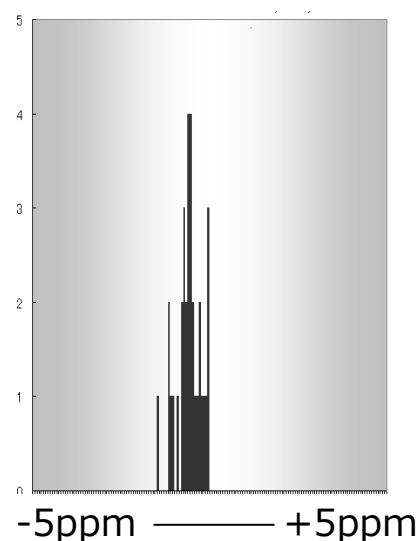


メーカーカタログ記載値



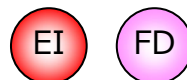
T100GC v

n=37, Metyl Stearate (EI)



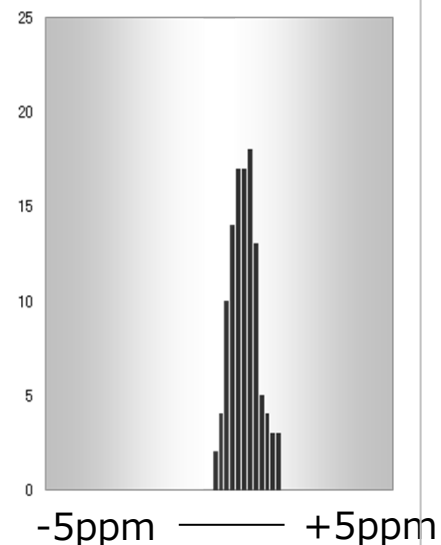
メーカーカタログ記載値

2mDaまたは5ppm



T100LP

n=100, Reserpine (ESI)



メーカーカタログ記載値

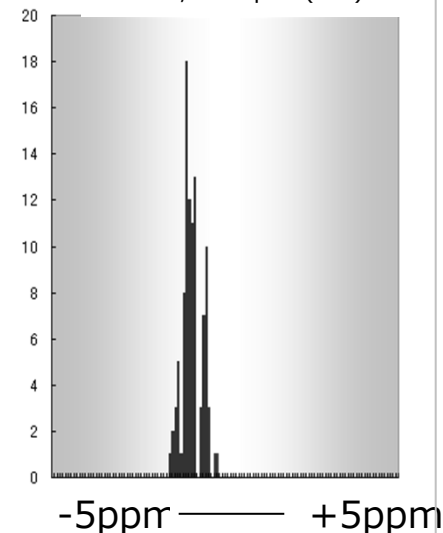
2mDaまたは5ppm



LTQ-Orbitrap

Exactive

n=100, Reserpine (ESI)



メーカーカタログ記載値

内部較正 : 3ppm

外部較正 : 5ppm



一測定例のご紹介です。実際の測定では、様々な要因により上記の精度が得られない場合があります。

質量分析で得たデータを利用して実験を進めるために



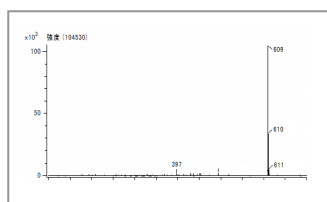
イオン化法によって、得られるマススペクトル情報が変わります。
分析目的にあわせてイオン化を選び、お申し込みください。

機器分析受託部門では、基本的に、**利用者がイオン化法の選択**をします。

ご相談はいつでもお受けしています。

まとめ

★マススペクトル



- 横軸： m/z 縦軸：強度
- **イオン化法**によってスペクトルパターンや検出される分子種が変わる。

★精密質量測定結果

- マススペクトルで確認したピークについて測定を行う。
- 各種条件設定が必要。
- ばらつきを考慮。



特殊分析の取り扱い

特殊分析

- 分析担当者との詳細な打ち合わせが必要な分析
- 一般分析よりも返却までに時間を要する（数週間以上の場合あり）
- 当部門WEBページに依頼時の留意点を掲載中

取扱分析項目

分析を申込むために

1. 申込の流れ
2. 分析項目選択の参考に
3. イオン化法選択の参考に
4. 申込書記入時の留意点(必読)
5. 各種分析項目について

一般分析



特殊分析



5-1. スペクトル測定・
精密質量測定

5-2. タンパク質同定分析

5-3. GC/MS

5-4. LC/MS

5-5. MS/MS

6. 受付場所と提出方法

7. データ返却までの日数

GLOBAL FACILITY CENTER 機器分析受託サービス

English

HOME > 質量分析 > 分析を申し込むために > 5. 各種分析項目について

質量分析をお申込みの方へ

Contact information regarding mass spectrometry
Phone: 011-706-9234 E-mail: maso@glc.hokudai.ac.jp
Staff: Hirose, Oka, Yamada

For the application procedure
Phone: 011-706-9235 E-mail: adm-ia@glc.hokudai.ac.jp

For the payment methods
Phone: 011-706-9316 E-mail: kaiken@research.hokudai.ac.jp

初めてご利用の方 >

分析申込 >

お問い合わせ
メールフォーム >

取扱分析項目

分析を申込むために

1. 申込の流れ

2. 分析項目選択の参考に

3. イオン化法選択の参考に

4. 申込書記入時の留意点(必読)

5. 各種分析項目について

5-1. スペクトル測定・精密質量測定

5-2. タンパク質同定分析

5-3. GC/MS

5-4. LC/MS

5-5. MS/MS

6. 受付場所と提出方法

7. データ返却までの日数

使用機種等

【分析を申し込むために】

5. 各種分析項目について

5-2. タンパク質同定

■ 概要

タンパク質酵素消化後のペプチド断片を nanoLC に供し、造出する画分の MS/MS スペクトルをデータベース解析することにより、タンパク質の同定を行います。

残念ながら、当部門ではゲル片での取扱は出来ませんので、ご了承ください。提供ペプチド溶液をそのまま分析に供します。

■ 試料の準備

* SDS-PAGE等を行った後、ゲル片を脱色、還元アルキル化などの必要な処理を行い、トリプシン等にてゲル内消化をこなす。消化液をペプチド抽出液に抽出し、乾燥処理の後、適切な溶媒に溶解し、分析に供する。

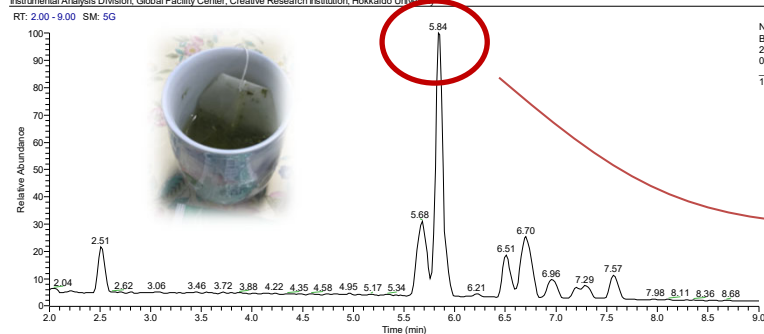
特殊分析の取り扱い



【LC/MS 事例紹介】

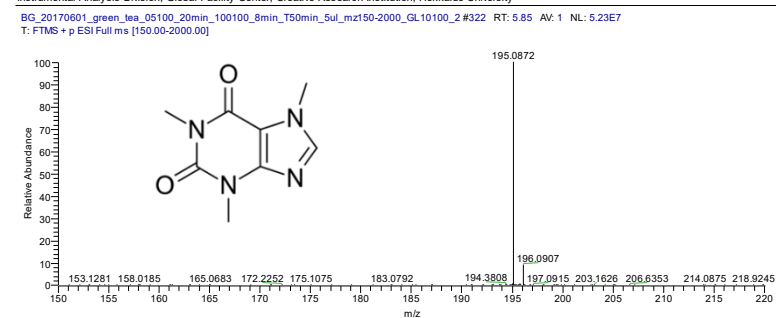
Date_No_Sample name : 20170601_green_tea_05100_20min_100100... Inst name: LTO Orbitrap XL
Operator name : oka seiko Time stamp: 2017/06/01 15:00:08
Comment : 201150_15052
A:2%CH3CN,98%H2O,0.1%HCOOH, B:90%CH3CN,10%H2O,0.1%HCOOH
Instrumental Analysis Division, Global Facility Center, Creative Research Institution, Hokkaido University

ISpray V : 3.5
Capillary V : 30
Tube Lens V : 80



Date_No_Sample name : BG_20170601_green_tea_05100_20min_100... Inst name:
Operator name : oka seiko Time stamp: 2017/06/01 18:50:59
Comment : 201150_15052
A:2%CH3CN,98%H2O,0.1%HCOOH, B:90%CH3CN,10%H2O,0.1%HCOOH
Instrumental Analysis Division, Global Facility Center, Creative Research Institution, Hokkaido University

ISpray V : 3.5
Capillary V : 30
Tube Lens V : 80



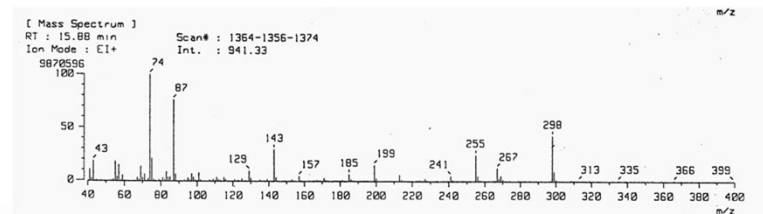
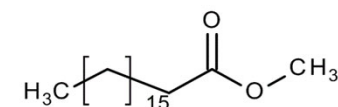
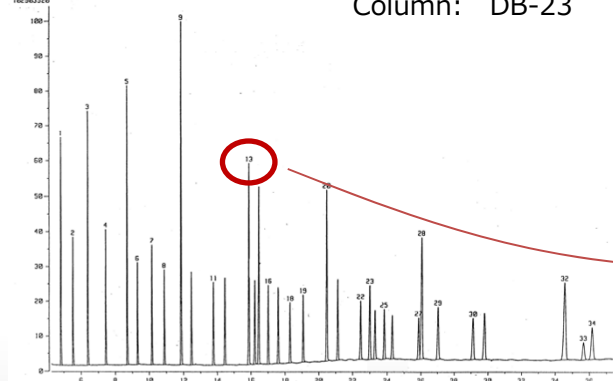
【GC/MS 事例紹介】

[TIC]
Data : B03024-07FEC37-60a-140-002 Date : 24-Aug-2009
Sample Operator name : S.Oka, Instrument : 2050-8002
Note : -
Inlet : GC Ion Mode : EI+
Ion Species : Normal Ion (M+Linear)
TIC Range : m/z 40 to 400 Output RT Range : 4.31 to 37.49 min
10290320

Supelco 37 component FAME Mix

(Lun1811419 47880-0)

Column: DB-23

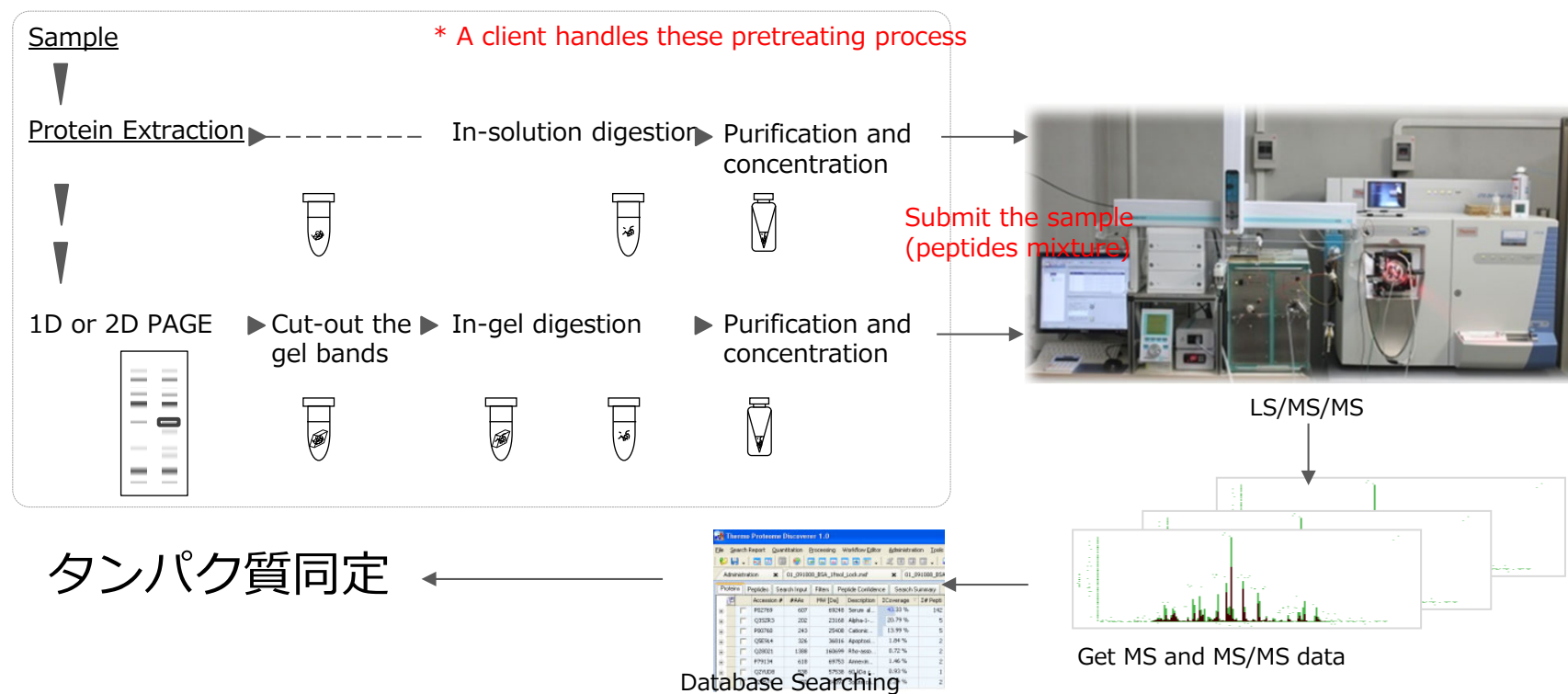




特殊分析の取り扱い

【タンパク質同定】

現在のところ、前処理の受託はしておりません。
今後導入の方向で検討しております。





1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点

EI

ESI

MALDI

APCI

FD

イオン化法を選択していただくために

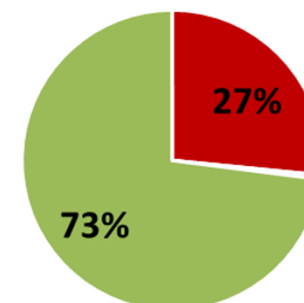


【配布資料の内容】

- 1) 原理概略
- 2) イオン化部の状態
- 3) 試料の適性
- 4) 必要試料量
- 5) 使用溶媒・導入方法等
- 6) サンプルング
- 7) 分析データ例
- 8) イオン化法選択時の留意点

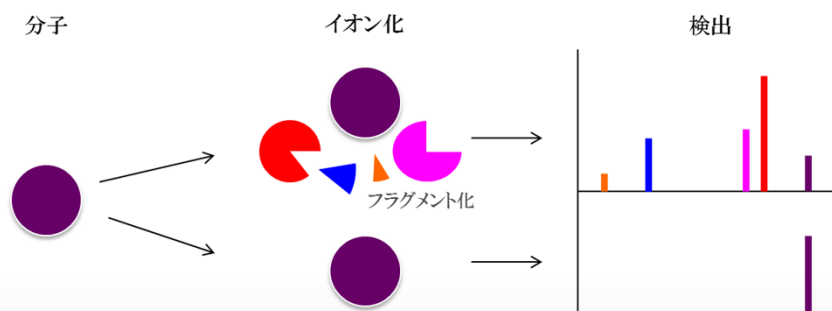
平成28年度 イオン化別受託実績

■ EI ■ FAB ■ ESI/APCI ■ FD/FI



最近では、分子量確認のための分析依頼が多く、ESI-MSが主流となっています。
当分析室に持ち込まれる試料の性質がESI-MSに向いていることも原因の一つです。

【大雑把なイオン化のイメージ】



【イオン化法選択のイメージ】

— フラグメントイオンから構造を推定したいので・・・ → EI にしようかな・・・

— とにかく分子量を確認したいので・・・ 微量しかないので・・・ → ESI にしようかな・・・

選択のためのヒント 1

【分析目的による選択】

- **分子量確認**が主たる目的の場合には，第一選択は**ESI-MS**となります．
- **構造解析**が必要な場合には，**EI-MS** またはESI,APCIを用いた**MS/MS**をおすすめします．
- **組成確認**は，必要精度・確度によって装置選択が変わります．
- 当分析室で最も精度確度の高い分析結果をお求めの場合には，ESI-MSまたはAPCI-MSをご指定ください．装置のご指定も出来ます．

----- 極端に区分すると・・・ -----

	EI	FD/FI	FAB	APCI	ESI
構造解析	◎	△	○	○	△
分子量確認	△	○	○	○	◎
組成確認	○*	○*	○*	○*	○*

フラグメントイオンの有無
に關係します。

対象ピークの検出強度次第。
装置によっても分析精度や
確度が異なります。



選択のためのヒント 2

【必要試料量による選択】

- EI, FD は, 数百 μg 提出していただきます.
- APCI, ESI は, 数十 μg の提出で結構です.

分析で使用しなかった試料は返却いたしますが, より少量で分析したい場合には, GC/MS, LC/MSも合わせてご検討ください.

金属錯体・高分子化合物等, 一部試料量が多めに必要な化合物もあります.
詳しくは分析担当者へお尋ねください.

当分析室で対応できないもの



【2018年4月現在】

- 装置を汚染する溶媒を使用するもの
- 感染性のある試料
- 規定の溶媒・カラム以外を用いたLC/MS

(C18カラム・アセトニトリル・ギ酸系の移動相を使用します。)

注意：分析はドラフト内で出来ません

年度途中で分析可能な範囲が変わる可能性がありますので、
詳細は分析担当者へお尋ねください。

お手元の資料・各種参考書・文献等を参考にしてください。
迷った時には分析担当者へお尋ねください。

機器分析受託部門にて選択可能なイオン化法 5種類.

当部門での試料調整方法等をお知らせします。

2013.11.25 作成

2017.4.11 一部修正

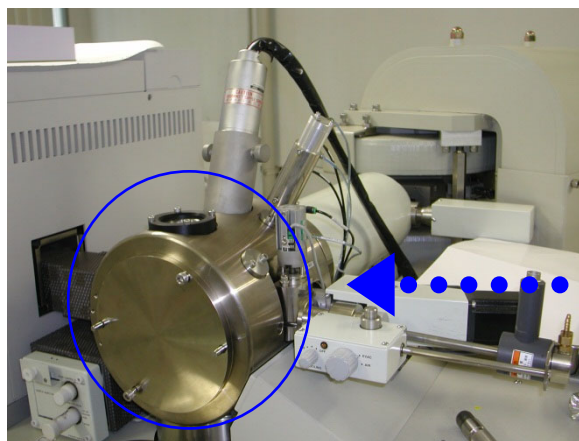
EI electron ionization	FD/FI field desorption field ionization	FAB (FAB) fast atom bombardment ionization	APCI atmospheric pressure chemical ionization	ESI electrospray ionization
1) 原理概要 気化した試料をイオン化しやすい電子の熱電圧を供給してイオン化する手法 2) イオン化の仕組み 電圧: (12~15 kV) 電流: (200 nA~200 pA) 3) 試料の種類 分子量1000以下の低分子量・高揮発性試料、熱安定性を有する試料であること 4) 必要試料量 1測定: $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 0.5 \mu\text{l}$ 程度 検出限界: 数 pg 5) 導入法と検出器 導入法: DIP (Direct Insertion Probe) 検出器: ESI (Electrospray Probe) GC 導入: ESI (Electrospray Probe) GC 導入: ESI (Electrospray Probe) 6) サンプル サンプルは、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある 7) データ例 図1: 分子量分布図 (m/z vs. Relative Abundance) 8) イオン化法選択時の留意点 - 試料は熱安定性がある、気化しやすい試料であること - 分子量が小さい、揮発性が高い試料であること - GCとの組み合わせが可能であること - 必要試料量は $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$、検出限界は数 pg - 検出器は ESI (Electrospray Probe) であること - 試料は、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある	1) 原理概要 試料をエレクトロニクスで蒸発し、電場を渡す。電場中に入射された電子と試料分子との衝突でイオン化する手法 2) イオン化の仕組み 電圧: (10~15 kV) 電流: (200 pA) 3) 試料の種類 分子量2000程度までの低分子量・高揮発性試料、熱安定性を有する試料であること 4) 必要試料量 1測定: $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 1 \mu\text{l}$ 程度 検出限界: 数 pg 5) 導入法と検出器 導入法: Field Desorption GC 導入: Field Ionization 6) サンプル サンプルは、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある 7) データ例 図2: 分子量分布図 (m/z vs. Relative Abundance) 8) イオン化法選択時の留意点 - FD/FIは、揮発性の高い試料であることが必要 - 分子量が小さい、揮発性が高い試料であること - GCとの組み合わせが可能であること - 必要試料量は $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$、検出限界は数 pg - 検出器は ESI (Electrospray Probe) であること - 試料は、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある	1) 原理概要 試料を液体中に溶解し、高速原子束を照射してイオン化する手法 2) イオン化の仕組み 電圧: (10~15 kV) 電流: (200 pA) 3) 試料の種類 分子量2000程度までの低分子量・高揮発性試料、熱安定性を有する試料であること 4) 必要試料量 1測定: $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 0.5 \mu\text{l}$ 程度 検出限界: 数 pg 5) 導入法と検出器 導入法: ESI (Electrospray Probe) GC 導入: ESI (Electrospray Probe) 6) サンプル サンプルは、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある 7) データ例 図3: 分子量分布図 (m/z vs. Relative Abundance) 8) イオン化法選択時の留意点 - 試料は熱安定性がある、気化しやすい試料であること - 分子量が小さい、揮発性が高い試料であること - GCとの組み合わせが可能であること - 必要試料量は $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$、検出限界は数 pg - 検出器は ESI (Electrospray Probe) であること - 試料は、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある	1) 原理概要 試料を液体中に溶解し、高速原子束を照射してイオン化する手法 2) イオン化の仕組み 電圧: (10~15 kV) 電流: (200 pA) 3) 試料の種類 分子量1000以下の低分子量・高揮発性試料、熱安定性を有する試料であること 4) 必要試料量 1測定: $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 0.5 \mu\text{l}$ 程度 検出限界: 数 pg 5) 導入法と検出器 導入法: ESI (Electrospray Probe) GC 導入: ESI (Electrospray Probe) 6) サンプル サンプルは、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある 7) データ例 図4: 分子量分布図 (m/z vs. Relative Abundance) 8) イオン化法選択時の留意点 - 試料は熱安定性がある、気化しやすい試料であること - 分子量が小さい、揮発性が高い試料であること - GCとの組み合わせが可能であること - 必要試料量は $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$、検出限界は数 pg - 検出器は ESI (Electrospray Probe) であること - 試料は、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある	1) 原理概要 試料を液体中に溶解し、高速原子束を照射してイオン化する手法 2) イオン化の仕組み 電圧: (10~15 kV) 電流: (200 pA) 3) 試料の種類 分子量1000以下の低分子量・高揮発性試料、熱安定性を有する試料であること 4) 必要試料量 1測定: $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l} \times 0.5 \mu\text{l}$ 程度 検出限界: 数 pg 5) 導入法と検出器 導入法: ESI (Electrospray Probe) GC 導入: ESI (Electrospray Probe) 6) サンプル サンプルは、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある 7) データ例 図5: 分子量分布図 (m/z vs. Relative Abundance) 8) イオン化法選択時の留意点 - 試料は熱安定性がある、気化しやすい試料であること - 分子量が小さい、揮発性が高い試料であること - GCとの組み合わせが可能であること - 必要試料量は $1 \sim 10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$、検出限界は数 pg - 検出器は ESI (Electrospray Probe) であること - 試料は、試料を溶解し、溶液を注入する必要がある



EI : Electron ionization



ガス化した有機化合物を高いエネルギーをもった熱電子によってイオン化する方法



高真空
($10^{-4} \sim 10^{-5} \text{Pa}$)

高温
($200^{\circ}\text{C} \sim 230^{\circ}\text{C}$)

EI に適する試料

- 分子量1000程度までの低分子量・高揮発性試料.
- 熱安定性を持つ試料であること.

EI : Electron ionization



必要な試料量

- 1測定 : $1 \sim 10 \mu\text{g} / \mu\text{L} \times 0.5 \mu\text{L}$ 程度
- 提出量 : 数百 μg

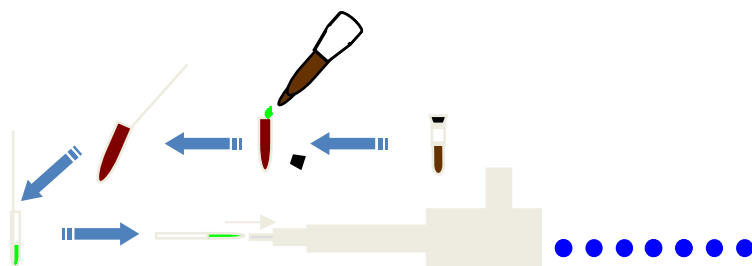
実際の測定方法

導入方法を選択

- 直接導入 : DIP (Direct Insertion Probe)
- 直接導入 : DEP (Direct Exposure Probe)
- GC 導入



サンプリング



* 直接導入法の例

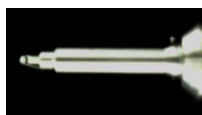
EI : Electron ionization



試料導入方法 振り分け表

導入方法等

DEP



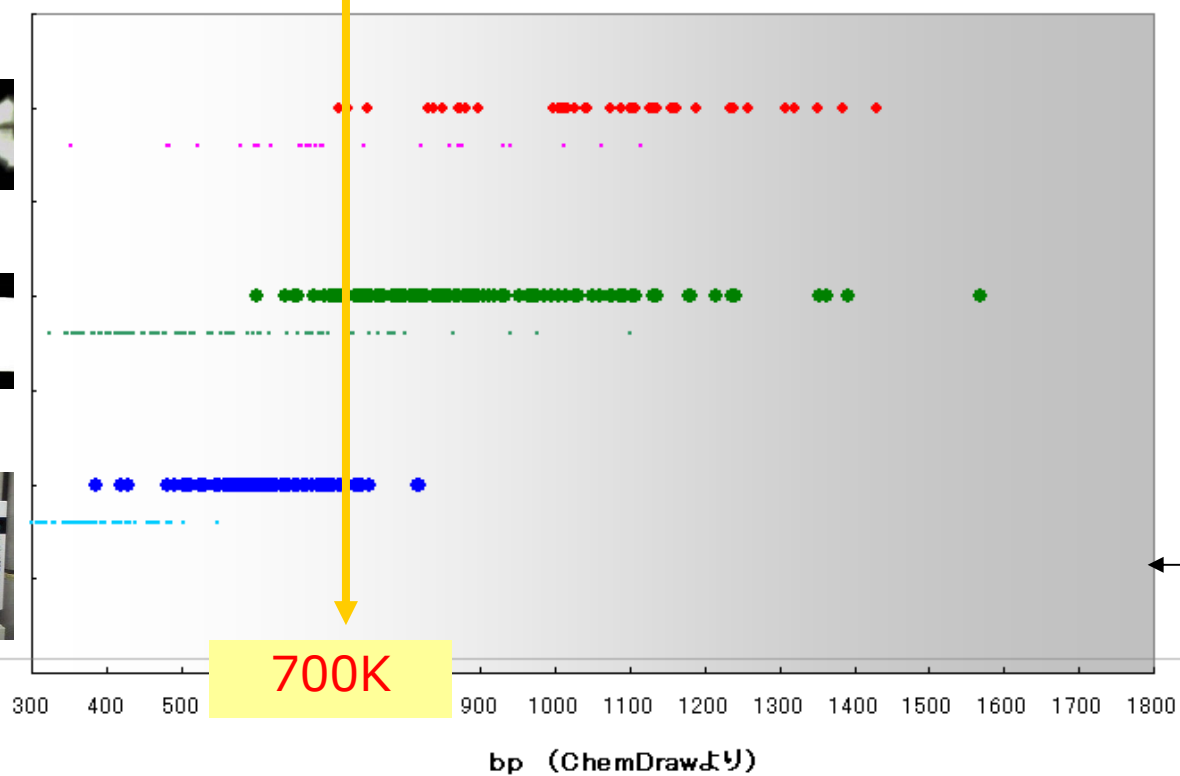
DIP



GC



H21年度 4~7月集計より



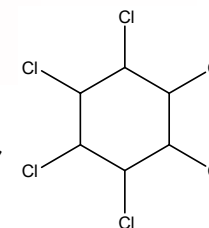
EI : Electron ionization

MS



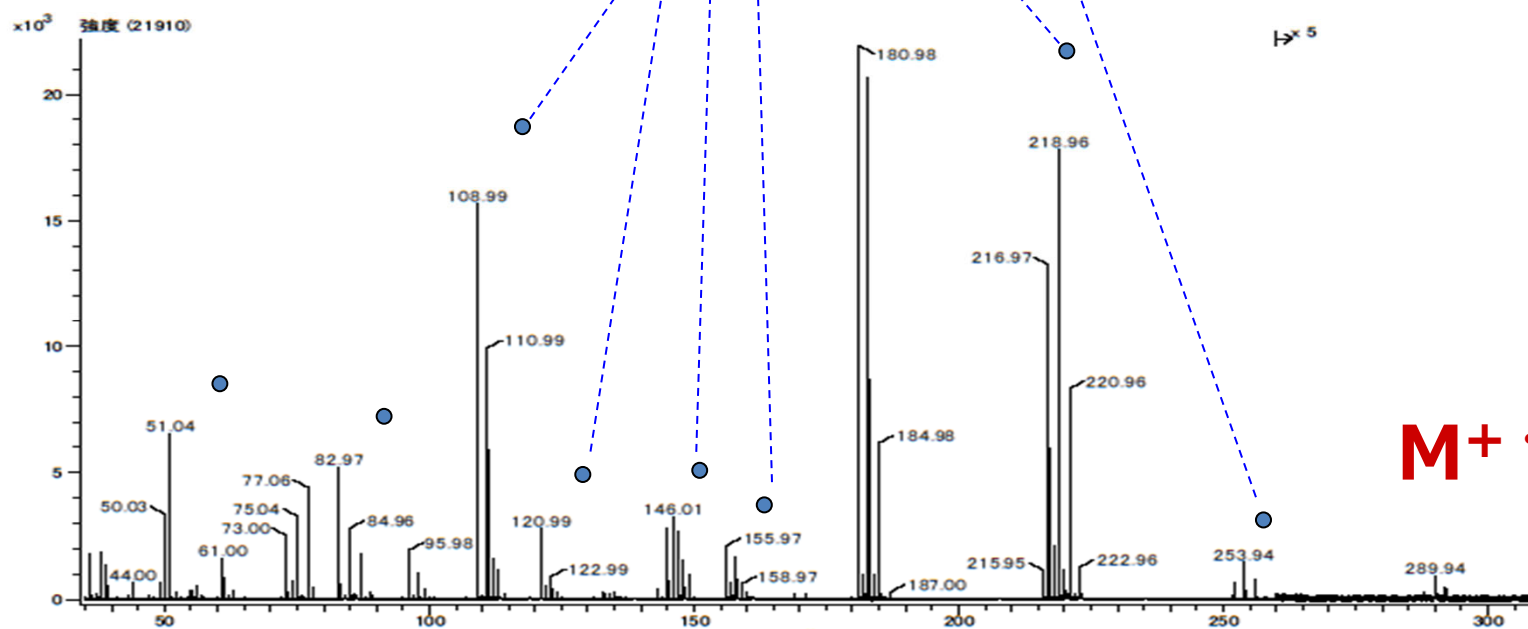
測定例

★ 1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexaneのEI マススペクトル



Chemical Formula: C₆H₆Cl₆
Exact Mass: 287.8601
Boiling Point: 557.66 [K]

フラグメントイオンピーク



M⁺

EI : 依頼時の留意点



- 試料は熱安定性を持ち、ガス化できなければ測定できない.
- 直接導入では、揮発性が高すぎても測定できない場合がある.
bp ~700 K
(Chemdrawより)
- GCと連結したGC-MSも可能である.
- 必要な試料濃度は1~10 μ g/ μ L. 提出量は数百 μ g.
- 検出ピークは一般に $M^{+\cdot}$, フラグメントイオンピーク.
- $M^{+\cdot}$ が出ない構造もあるので注意.

EI : Electron ionization

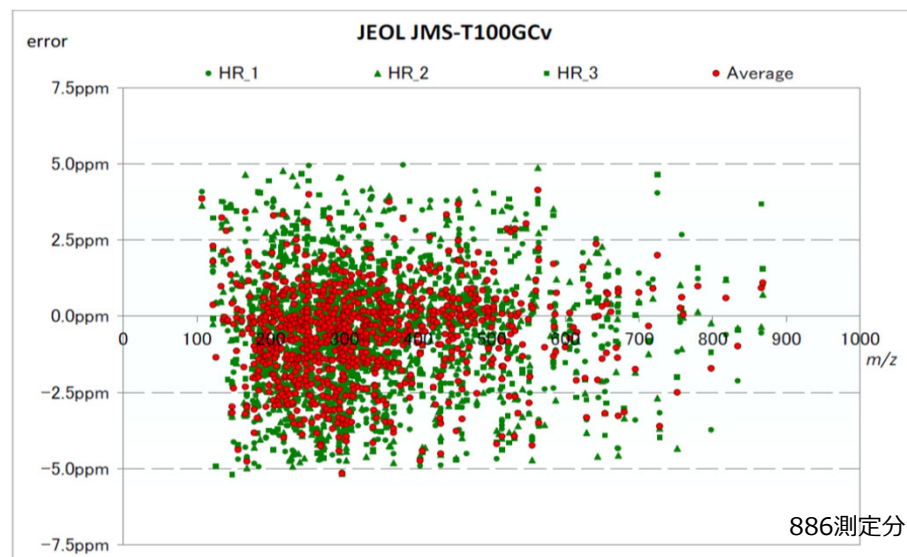
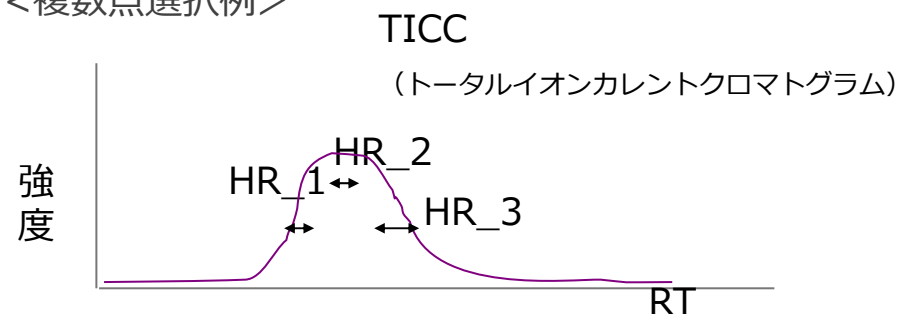


T100GC v における精密質量測定結果

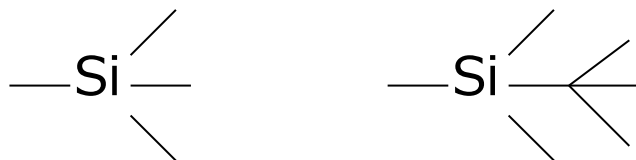
1測定において任意のスペクトルデータ 3点を選択し, それぞれの measured accurate massと calculated exact massの差をグラフ化.

横軸 : m/z
縦軸 : 理論値との差

<複数点選択例>



-OH基をシリル化剤で保護した試料はご注意を！



極性を下げることで揮発性を高めることができ、EI-MSに対応できるようにはなりますが、M-15, M-57などのフラグメントイオンピークしか得られないことが多々あります。

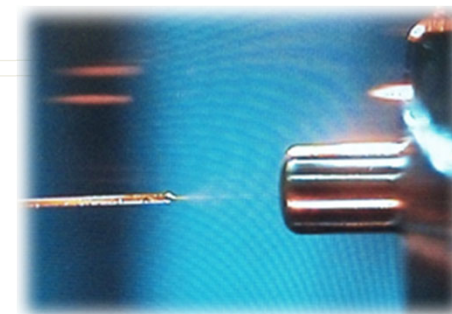
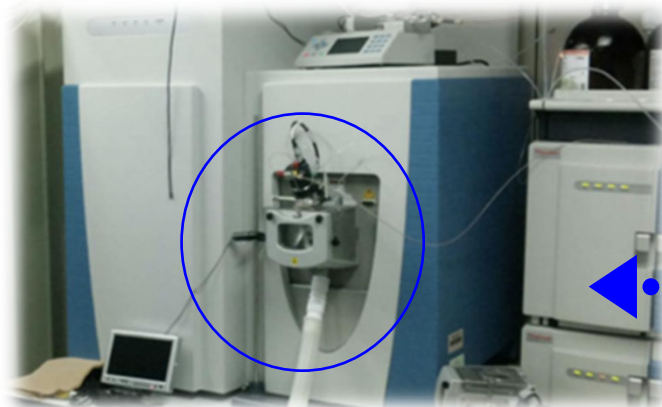
フラグメント情報を必要とされない場合は、はじめからESI-MS等を選択してください。



ESI : Electrospray ionization



高電圧をかけたキャピラリー先端から、試料溶液を乾燥窒素ガスとともに噴霧し、イオン化する方法。



..... 大気圧下
ソフトなイオン化法

ESI に適する試料

- 一般に高極性・不揮発性高分子量化合物に有効といわれるが・・・
熱不安定性試料，構造不安定性試料も○
- 分子量50～50000程度までの化合物を対象とする。

ESI : Electrospray ionization



必要な試料量

- 1測定 : 0.1~10ng/ μ L $\times$ 100 μ L 程度
- 提出量 : 数十 μ g

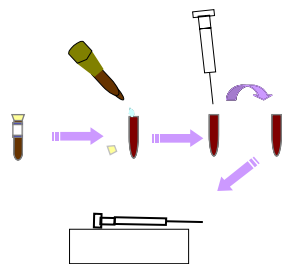
実際の測定方法

使用溶媒を選択

- MeOH, CH₃CN, CHCl₃, Acetone等
- 第一選択はMeOH

サンプリング

<JMS-T100LP : インフュージョン法 (特殊測定)>



MeOH以外の溶媒を使用した測定を中心に行う。

<Exactive : フローインジェクション法 (一般測定)>



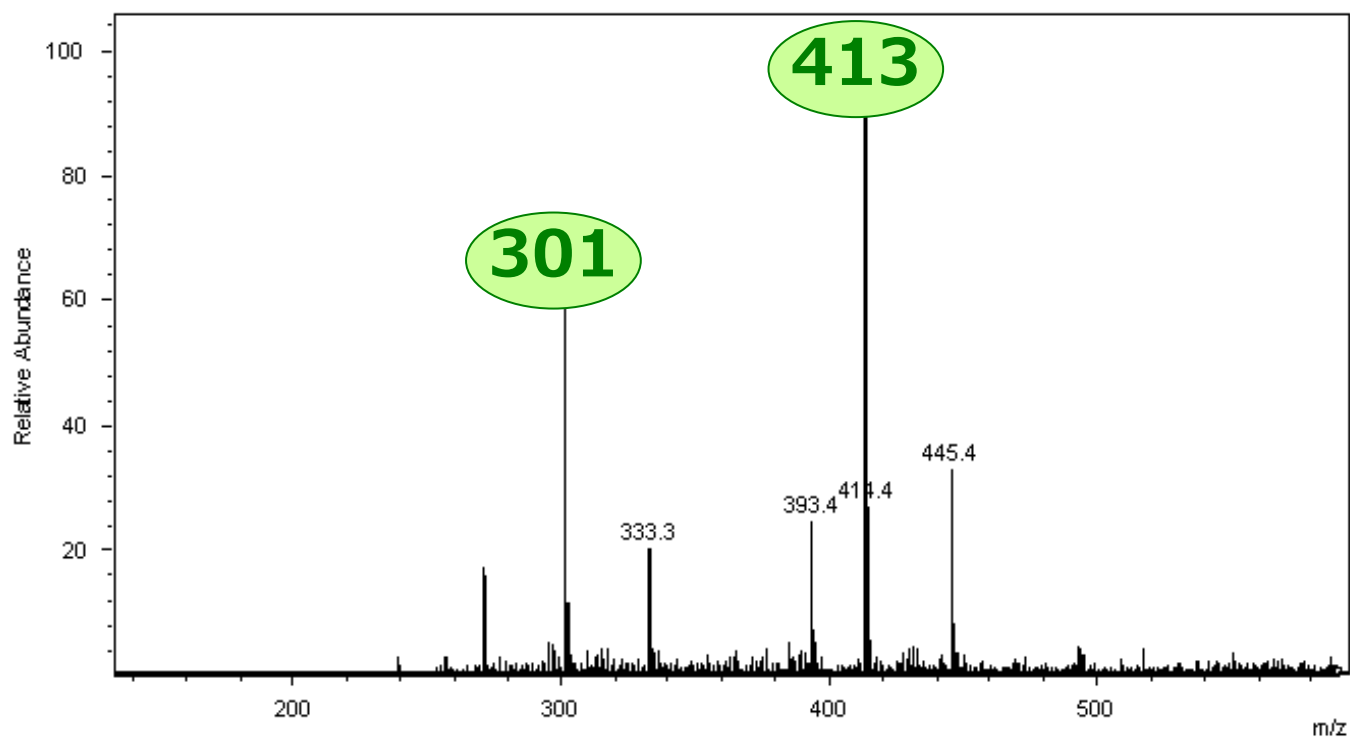
移動相にMeOHを使用した測定を行う。

ESI : Electrospray ionization



測定例

- ★ 市販のマイクロチューブに、開封したてのHPLC用MeOHを加え、
そのMeOHのみを流した際のESIマスペクトル

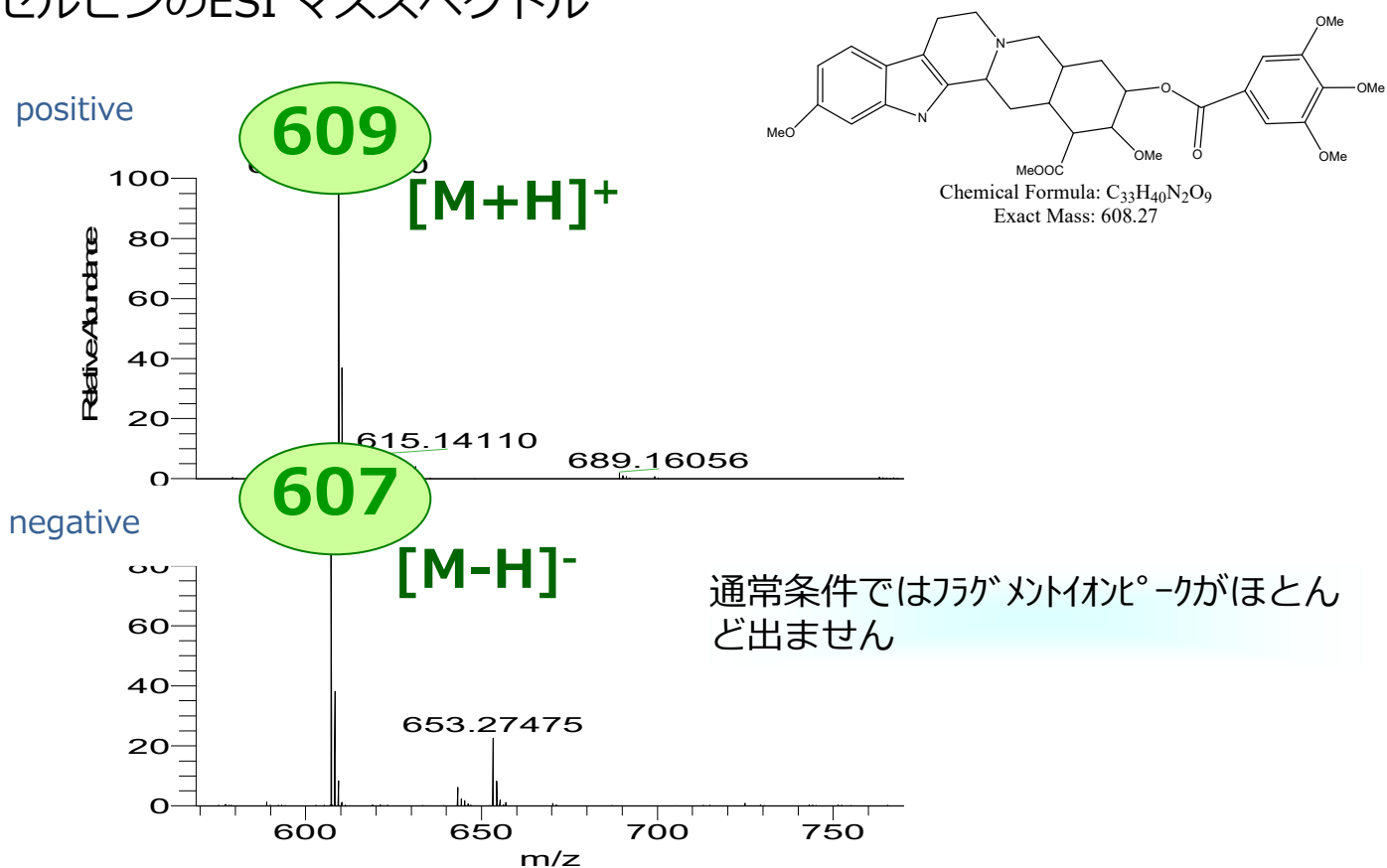


ESI : Electrospray ionization



測定例

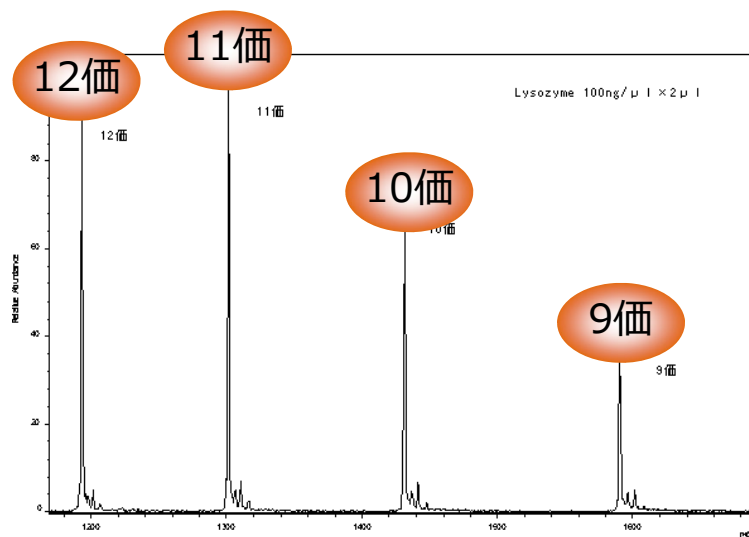
★ レセルピンのESI マススペクトル



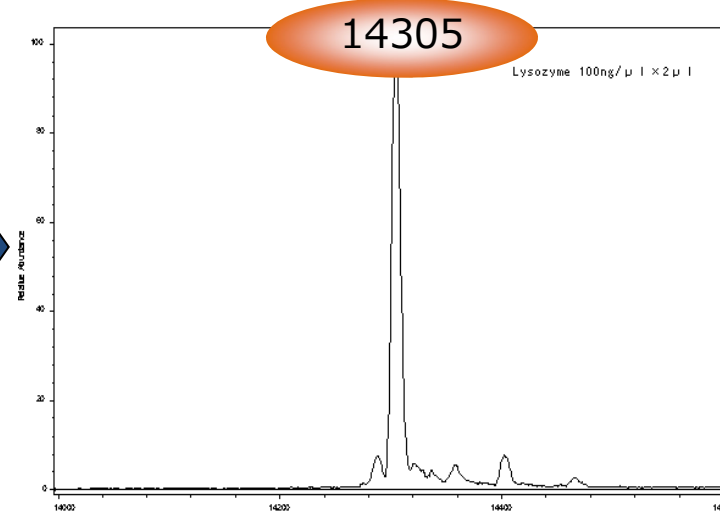
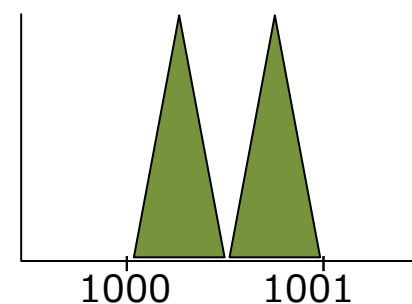
ESI : Electrospray ionization

測定例

★ LysozymeのESIマスペクトル



測定範囲 m/z 1100~1700



デコンボリューションデータ

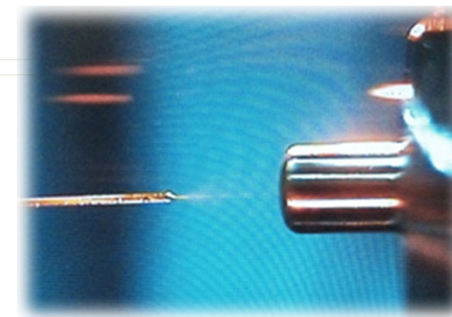
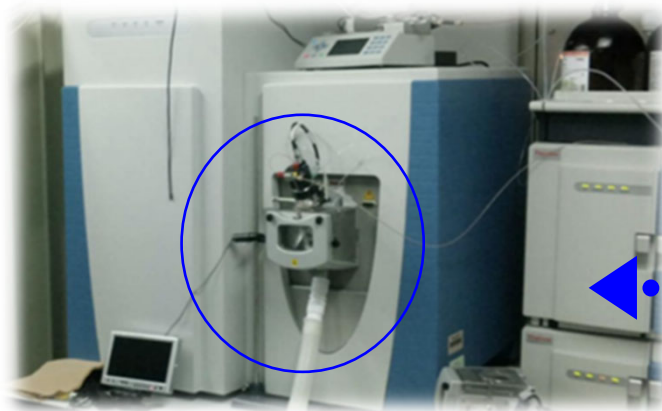
ESI : 依頼時の留意点



- 試料を溶液にすることが必要.
- 使用溶媒に制限がある. (不揮発性bufferは使用できない.)
- 必要な試料濃度は0.1~1ng/ μ L. 提出量は数 μ g. (nanoESI時の例外あり)
- 検出ピークは一般に $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M-H]^-$, $[M+Cl]^-$
多量体, $[M+K]^+$, $[M]^+$, $[M+nH]^{n+}$, $[M-nH]^{n-}$ なども・・・
フラグメントイオンピークは出にくい.
- 試料濃度に注意を払い, 精製はしっかり行うこと.
不純物により, 目的化合物のピークがまったく出なくなることも...

APCI : Atmospheric pressure chemical ionization

高電圧をかけたキャピラリー先端から、試料溶液を乾燥窒素ガスとともに噴霧し、コロナ放電によりイオン化する方法。



..... 大気圧下

ややソフトなイオン化法

APCIに適する試料

- 分子量1500以下の有機化合物.
- 熱安定性を持つ試料であること.

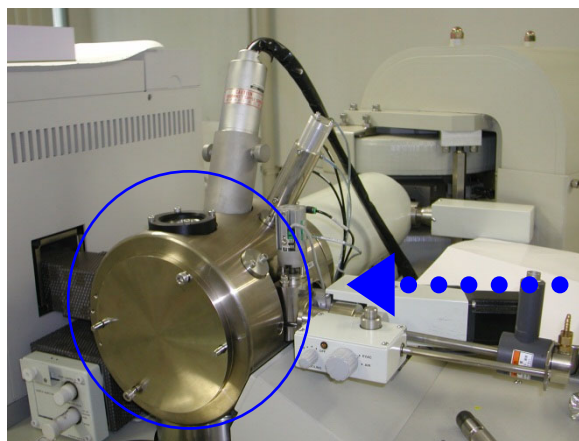
FD/FI : Field desorption/Field ionization



試料をエミッターに塗布し，電流を流す．

(エミッター：カーボンのウィスカを30μm程度成長させたもの)

高電界中に置かれたエミッターとカソード間でのトンネル効果によりイオン化する方法．



高真空
($10^{-4} \sim 10^{-5} \text{Pa}$)

室温～
($\sim 200^\circ\text{C}$)

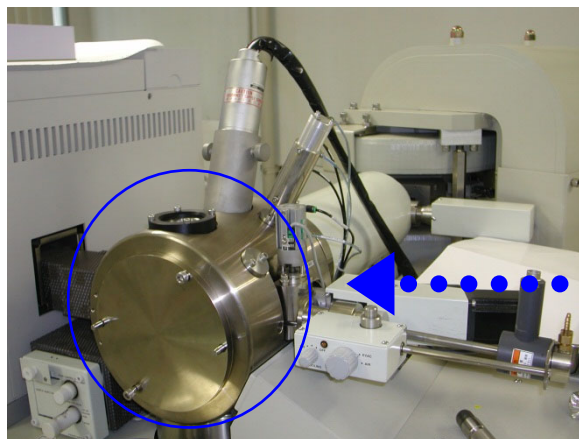
FDに適する試料

- 分子量2000程度までの低中分子量・難揮発性試料．
- 熱安定性を持つ試料であること．

FAB : Fast atom bombardment ionization



試料を溶媒に溶解し，グリセロールなどの液体マトリックスと混合してターゲット上に塗り，この試料層にXeの高速中性粒子を直接衝撃することによってイオン化する方法．



高真空
($10^{-4} \sim 10^{-5} \text{Pa}$)

室温

FAB に適する試料

- 分子量6000程度までの難揮発性試料．
- Xeの衝撃で壊れてしまうような構造不安定性試料は難しい．

MALDI : Matrix assisted laser desorption ionization



オープンファシリティ利用 対応中

試料をシナピン酸などの固体マトリックスと混合してターゲット上に結晶化させ、この試料層に窒素などの紫外線レーザーを照射することによってイオン化を促す方法.

- マトリックスと試料の相性が大切.

1. 身近なところの質量分析
2. 質量分析装置の構成
3. 質量分析で得られる情報
4. イオン化法
5. 申込時の留意点

- 試料の種類・性質・純度
- 試料の分子量
- 測定目的
- 提出試料量
- 取り扱い上の注意点

申込書記入内容



試料名

①

料名* : Sample1 x
半角英数字 10 文字以内で記入してください。

MS一般分析 分析項目選択

各イオン化法の中から希望する分析項目を指定してください。精密質量測定のための申込についてはスペクトル測定が行われていることが前提となります。デフォルト設定は「ESI（通常）スペクトル+精密質量」としておりますので、適宜修正してください。

②

EI * :

精密質量測定のみのお申し込みには、同じイオン化法でのスペクトルデータ添付が必要となります。スペクトルデータがない場合はスペクトル+精密質量を選択して下さい。

ESI * : (通常) スペクトル+精密質量

精密質量測定のみのお申し込みには、同じイオン化法でのスペクトルデータ添付が必要となります。金属錯体の分析をご希望の場合、特殊測定をご指定下さい。

APCI * :

精密質量測定のみのお申し込みには、同じイオン化法でのスペクトルデータ添付が必要となります。スペクトルデータがない場合はスペクトル+精密質量を選択して下さい。

FD, FI * :

割り増し項目選択

有料にて追加のデータ処理など対応いたします。Table添付はピークの m/z 値とその強度の表を添付する項目です。EI測定でフラグメントピーク強度を把握したい時等にご利用ください（ESI等ではピーク強度に再現性は無いことが多いです）。

必要項目にチェック : ☐ Table添付 ☐ 画像で返却 ☐ デコンボリューション ☐ E-メール返却希望
(残試料返却-不要) ☐ E-メール返却希望 (残試料返却-要)

すべて有料での対応です。料金概算でご確認ください。データ処理料金は、かかった時間により増加することがあります。

① 英数字10文字以内

② 適切なイオン化法が不明な場合はご相談ください。

※デフォルトでESI測定の「（通常）スペクトル+精密質量測定」が選択されています。他のイオン化法を希望される場合はESIを空白にしてください

※金属錯体の**ESI**測定を希望の場合は、（特殊）と付いている項目を選択してください

※精密質量測定のみをご希望の場合は、マススペクトル、測定条件、推定元素組成等を必ず添付してください

申込書記入内容



試料情報入力欄

頂いた情報をもとに分析を行いますので、なるべく正確にご入力ください。

③ 試料量 (μg, μg/μL) * : 100μg
単位もあわせて記入してください。

溶液提出時の使用溶媒 :
溶液で提出される場合は、使用溶媒を入力してください。

精製方法 * : シリカゲルカラム
試料提出前の最終段階での精製法を選択してください。

測定使用可能溶媒 * : ☐ H₂O ☐ MeOH ☒ Acetone ☒ CHCl₃ ☐ その他
④ サンプルが良く溶解し、急激な分解等を起こさない溶媒をお知らせください。

測定使用不可溶媒 : ☒ H₂O ☒ MeOH ☐ Acetone ☐ CHCl₃ ☐ その他
⑤ 特に、EI測定希望でAcetoneまたはCHCl₃を使用できない場合、ESI測定希望でMeOHが使用できない場合は、必ずチェックしてください。

器具洗浄溶媒 : ☒ 使用可能溶媒と同じ ☐ その他

試料の性状等-1 * : ☒ 固体 ☐ 液体 ☐ 粘性のある油状 ☐ その他

⑥ 試料の性状等-2 * : ☒ 特記事項なし ☐ 揮発性 ☐ 昇華性 ☐ 分解性 ☐ 毒性
分解性、毒性については、その程度も入力してください。悪臭等ある場合も必ず別記にご記載ください。

⑦ 取り扱い上の注意 * : ☐ 特記事項なし ☒ 手袋着用 ☐ ドラフト内試料調整 ☐ その他
特殊な取り扱いが必要な試料については、立ち合い測定も可能ですので、分析担当者までご相談ください。

試料提出場所 * : ☐ 室温 ☒ 冷蔵庫 ☐ 冷凍庫

③ 通常は1mgは多すぎます。

目安量でかまいません

④ 常備試薬以外は分析担当者へ相談。

水分禁忌の試料は溶媒持参も可。溶解性を記載。

⑤ 使用不可溶媒は明記。

⑥ 危険性についての情報、対応方法を詳しく記載。

臭気の強い試料は必ずご記載ください。当室の設備で対応できない感染性試料、危険有害試料の分析はできません。

⑦ 依頼者立会いのもと、測定を行うことも可能。

分析室の見学も受け付けています。

申込書記入内容

分子式、分子量、推定構造はデータベース保存いたしません

データの機密性を考慮し、データベース上には保存いたしません。「履歴からコピー」される時は、お手数ですが再度ご入力ください。申込内容を訂正して再度申込書を印刷される場合も同様です。未知試料は推定値をご入力ください。

分子式 * : C₂₇H₄₆O

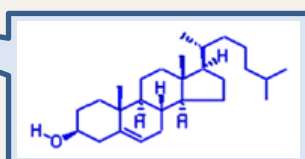
分子量 * : 386

推定構造・骨格 :

参照...

⑧

アップロード可能な画像はjpgまたはpng形式で5MBまでです。別紙添付でも、手書きでも結構です。



分析に関する要望

測定範囲 m/z 値 : 35~800

指定がない場合は、分析担当者が適宜設定いたします。

測定の目的 * : ☒ 反応チェックおよび構造解析 ☒ 報文記載 ☐ その他

⑨

の測定情報
以前に分析を依頼されたことのある試料のときは、入力をお願いいたします。

必要な情報 * : ☒ 分子量情報 ☒ フラグメント情報 ☐ その他

目的ピークが検出できない : ☐ 他のイオン化法を試みる ☒ そのままデータ返却する ☐ 一度電話連絡が欲しい

場合の対応

フラグメントでの精密質量測定 : ☒ 可 ☐ 不可 ☐ その他可否

その他要望

300字以内 自由記載

自由記載欄 : 古いサンプルのため、分解している可能性あり。

⑧ 構造不明でも空欄はなし！

他の分析データ、合成時の反応試薬や単離したときの条件から、予想される官能基、極性、骨格などを記載

※記載間違いにご注意※
印刷後にミスに気が付いた場合は、手書きで訂正をお願いいたします

⑨ 目的を共有していただくことで、より適切な分析が可能に。



良くある質問 ①

Q : 構造不明なのです。 どうしたらよいですか。

A : 予想される分子量範囲, 官能基情報, 極性, 骨格などを必ず記入してください。

⑧ 分子式: $C_{25-28}H_{30-50}O_{0-5}N_{0-5}$
 ⑨ 分子量: 300-500

お申し込み欄

試料の推定構造・骨格

不明

negative向きと考える
カルボン酸あり
極性高め

類似化合物の測定: No.

測定希望範囲: m/z 300 ~ 800

試料について: お問い合わせください

お申し込み欄

試料の推定構造・骨格

不明

アルカロイド系と考える

類似化合物の測定: No.

測定希望範囲: m/z 50 ~ 500

試料について: お問い合わせください

良くある質問 ②



Q : Tableとは何ですか.

A : スペクトル測定にて検出されたピークの強度比を一覧にしたものです.

※ E I 測定では, フラグメントピークの強度比が化合物同定に用いられることがあります, 他のイオン化法の場合は強度比が不安定なため, m/z値のリスト以上の意味がないことが多いです.

```
Reserpine_090415151957#21-28 RT: 3.57-4.83 AV: 8
T: FTMS + p ESI Full ms [50.00-2000.00]
m/z= 50.00-750.00
```

m/z	Intensity	Relative
87.67	41.1	3.09
87.68	62.9	4.72
185.11	61.8	4.63
187.10	169.6	12.72
199.24	50.3	3.77
301.14	241.3	18.09
312.36	93.2	6.99
365.10	126.0	9.45
413.27	1333.8	100.00
414.27	248.4	18.62
441.30	62.4	4.68
476.10	45.2	3.39
476.14	74.3	5.57
476.15	56.9	4.27
476.17	75.1	5.63
493.35	112.6	8.44
609.28	519.0	38.91
610.28	153.8	11.53
685.66	95.8	7.19
685.68	48.0	3.60

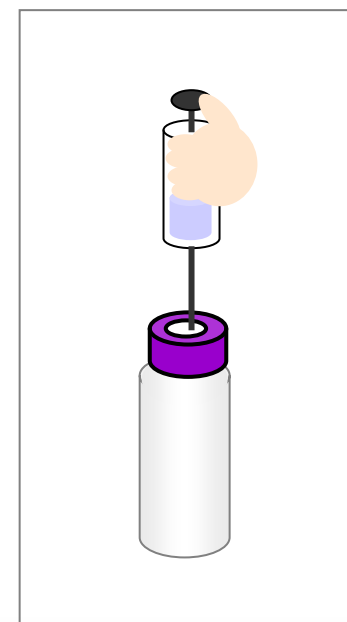
②0 その他要望など: フラグメントピークでの精密質量測定 ☒ 可, 不可

Table : 要 ☒ 不要

良くある質問 ③

Q : グローブBOX内では安定なのですが、水、酸素に弱いのです。
どのように持っていけば良いですか。

A : 試料を イオン化法に適した溶媒 にて 適した濃度に調整し、バイアル内をガス置換した状態で 受け取ることができます。バイアルキャップは、マイクロシリンジの針を差し込むことができるようなシリコンキャップなどにしてください。
反応溶液を直接測定する場合など、10ml程度の小型の枝付フラスコにバルーン等を繋いでガス置換したものでも可能です。
試料濃度および溶媒の種類は、
分析担当者へお問い合わせください。

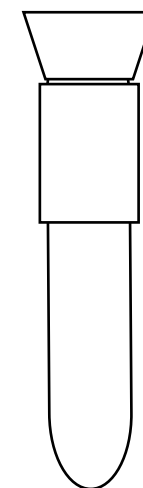


良くある質問 ④

Q : どのような試料管にサンプルを用意すればよいでしょうか.

A : 試料が吸着したり分解しない容器であり,
分析を妨げる溶出物が出ない容器を選択してください.
直接LC-MSに仕掛ける予定の場合には、オートサンプラー用の
バイアルに入れてくださって構いません。

Φ8mm,H50mm程度の試料管
(材質,形状問いません)





迷った際には、分析担当者へお声かけください

参考図書



- 有機化合物のスペクトルによる同定法
--- MS,IR,NMR,UVの併用 ---
- マススペクトロメトリー関連用語集
- マススペクトロメトリーってななに
- これならわかるマススペクトロメトリー
- マススペクトロメトリー
- 質量分析学—基礎編—
- 現代質量分析学

SILVESTERSTEIN / BASSLER / KRILL 著
荒木峻 / 益子洋一郎 / 山本修 訳

日本質量分析学会

日本質量分析学会

志田 保夫、黒野 定、高橋 利枝、笠間 健嗣、
高山光男

J.H. グロス 日本質量分析学会出版委員会

編者：豊田岐聡 編著、日本質量分析学会 監修

高山 光男 編
早川 滋雄 編
瀧浪 欣彦 編
和田 芳直 編

