

液体クロマトグラフィー 質量分析(LC/MS) 初心者コース

日本電子
松浦健二
TEL 042-542-5502
kmatuura@jeol.co.jp

1

講義内容(初心者コース)

- ・日本電子の紹介
- ・分析について
- ・元素の概念
- ・質量分析のこと

2

会社概要(2009年3月末現在)

- 商号: 日本電子株式会社 (JEOL Ltd.)
(Japan Electron Optics Laboratory)
- 本社: 東京都昭島市武蔵野三丁目1-2
- 代表者: 代表取締役社長 栗原 権右衛門
- 設立: 1949年5月30日
- 資本金: 6,740百万円
- 従業員数: 3,103人(連結)



3

事業セグメントと主な製品

事業のセグメント		主な製品
理 学 機 器	電子光学機器	
	分析機器	
産 業 機 器	計測検査機器	
	半導体機器	
	産業機器	
	医用機器	

4

事業分野

●JEOL事業環境イメージ—— JEOLのポジションとフォローの風



我が国の産業を支える 研究支援装置の 開発・製造販売

- ・高い技術力と装置を操る技術
社会に貢献

6

分析とは

高い品質の製品を提供、社会に貢献する

製品

農産物、加工食品
工業製品

高度な製品ほど精密な分析が必要

7

分析装置

- 形態観察(電子顕微鏡 TEM、SEM、EPMA)
- 構造解析(NMR、質量分析)

8

分析とは？(何を分析するのか)

- 精神分析、鑑定
- 医者が診察
- 今後の日本経済動向を考察
- 犯人を推理
- 美味しさを評価
- 化学分析

9

分析するのは:人(技術者)

五感.....技術力

眼、耳、鼻、舌、触

思い(考察、分析)

はかる

計る、量る、測る 計量、計測

10

- 体温を計る、気温を計る 温度計
- 物の大小 橋の長さ、川の長さ
定規、巻尺
人工衛星
- プールの水の量、お酒の量、米の量
メスシリンダー、マス
- 体重、金の重さ 体重計、天秤

11

- 音の大きさ、高低
- 花のにおい 良いとか悪い
- プールや水道水中の塩素濃度
- 虫めがね、光学顕微鏡で観察
- 味(すっぱい、辛い、甘い)

12

五感で受けた信号の評価

- 科学的には計測装置を使用して評価
- 美味しい、美しい、まずい: 主観
統計的手法で評価

13

どのように計測しているか考えてみる

温度計: 100°Cの水とゼロの水で補正

秤: 標準の重りを計測して、校正
感度、精度

野菜の重さ、金の重さの価値観

14

- 電子顕微鏡(形態観察)
ミクロの大きさのものを観察、
電子線、X線を当て反射X線から元素を分析
- 構造解析
NMR: 試料に高磁場を掛け、
物質特有な信号を解析
MS: 質量を計測
周期律表H~Uの元素分析

15

質量分析

- 質量を計る(分子量)
- 周期律表のH~U 質量スペクトルから元素の存在を判別できる。
- 有機化合物の場合は判定が難しい。
質量数18 H₂OとNH₄の可能性
質量数28 N₂, CO, C₂H₄, Si
分子量が大きくなるほど無限の可能性

16

周期律表

Periodic Table of the Elements

ATOMIC NUMBER
SYMBOL
ELEMENT
ATOMIC WEIGHT

Atomic weights:
2005 IUPAC values

● Lanthanides
▲ Actinides

18

元素:

同じ原子番号を持つ同位体の総称

同位体:

同じ原子番号(陽子、電子数)を有し、
中性子数が異なる原子

水素 H 原子番号1

^1H 陽子 1個、電子1個

D 陽子1個、中性子1個 電子1個

炭素 C 原子番号6

^{12}C 陽子6個、中性子6個 電子6個

^{13}C 陽子6個、中性子7個 電子6個

窒素 N 原子番号7

^{14}N 陽子7個、中性子7個 電子7個

^{15}N 陽子7個、中性子8個 電子7個

19

原子量: 元素の質量

同位体の質量とその存在率から計算した平均値

H: **1.00794**

^1H : 1.0078(99.98%)

D: 2.0141(0.011%)

C: **12.0107**

^{12}C : 12.0000(98.93%)

^{13}C : 13.0033(1.07%)

20

質量の取り扱い

化合物の分子量は原子量から計算されるが、質量分析では同位体質量から計算する。

H_2O : 18.0153

$^1\text{H}_2^{16}\text{O}$: **18.0106**

CO_2 : 44.0095

$^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$: **43.9898**

21

主同位体の質量

- ^1H 1.0078
- ^{12}C 12.0000
- ^{14}N 14.0031
- ^{16}O 15.9949
- ^{32}S 31.9721
- ^{35}Cl 34.9688
- ^{79}Br 78.9688
- ^{127}I 126.9045

22

同位体

- H_2O : **18.0153**
- $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$ 18.0106
- $^1\text{H}^1\text{D}^{16}\text{O}$ 19.0168
- $^1\text{H}_2^{17}\text{O}$ 19.0148
- $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$ 20.0148
- D_2^{16}O 20.0231

23

同位体率の大きい元素

- Cl $^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl} = 3 : 1$
- Br $^{79}\text{Br} : ^{81}\text{Br} = 1 : 1$
- S $^{32}\text{S} : ^{34}\text{S} = 100 : 4.5$
- Si $^{28}\text{Si} : ^{29}\text{Si} : ^{30}\text{Si} = 100 : 5.1 : 3.3$
- C $^{12}\text{C} : ^{13}\text{C} = 100 : 1.1$

同位体率 100% F、P、I

24

同位体比率の計算

- 二項定理の展開項の比に相当する

$$(a+b)^n = \sum_{k=0}^n {}^n C_k a^k b^{n-k}$$

$$a^n + {}^n C_1 a^{(n-1)} b + {}^n C_2 a^{(n-2)} b^2 + \dots + {}^n C_k b^n$$

1項目 : 1

2項目 : $n \times b$

- 同位体計算プログラムを用いる

25

C60 分子量700

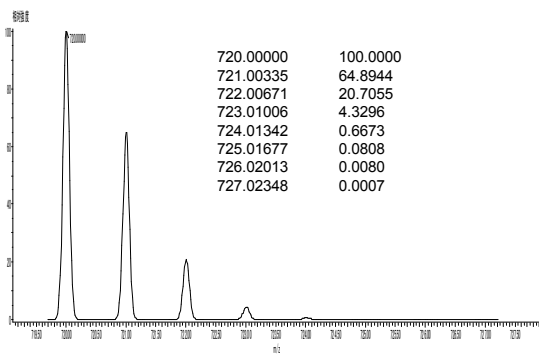
- $^{12}\text{C} : ^{13}\text{C} = 1 : 0.011$

$$(1 + 0.011)^{60}$$

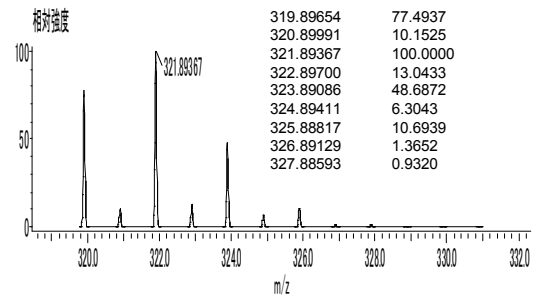
$$720 : 721 : 722 = 100 : 66 : 21 \dots\dots$$

26

C60のスペクトル



TCDD(C₁₂H₄Cl₄O₂)のマススペクトル



28

リン酸(H₃PO₄)と硫酸(H₂SO₄)

リン酸

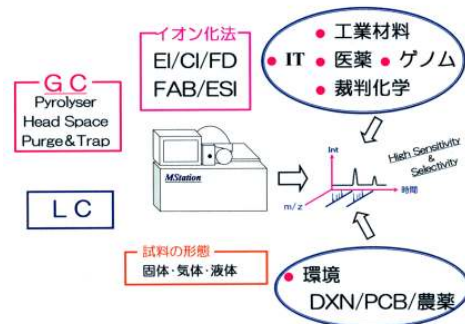
- 97.97689 100.0000
- 98.98149 0.1869
- 99.98114 0.8221

硫酸

- 97.96738 100.0000
- 98.96768 0.9760
- 99.96448 5.3426

29

質量分析の利用



30

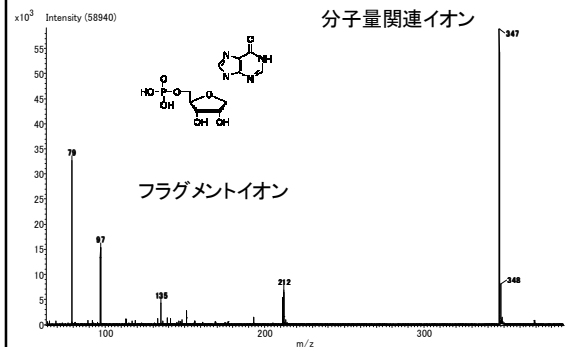
MSから得られる情報

1. 分子量
2. 同位体の存在(元素分析)
3. 分子組成
4. 構造情報(置換基)
5. クロマト情報

フェムトグラムオーダーで高感度に検出
高い特異性(信頼性)

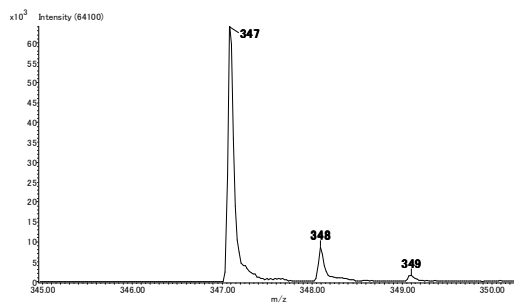
31

イノシン酸のESIスペクトル



32

同位体スペクトル



33

マススペクトルを得るために

- ・前処理
- ・試料導入(GC, LCなど)
- ・イオン化 ESI, EI, FAB.....
- ・イオンの分離 TOFMS, 磁場型、四重極
- ・イオンの検出
- ・イオン電流を変換
- ・マススペクトル

34

イオンを作る(イオン化)

イオンとは.....電荷を帯びた原子、原子団
マイナスイオン
水溶液中で解離($\text{NaCl} \rightarrow \text{Na}^+ + \text{Cl}^-$)
陽イオン(カチオン)、陰イオン(アニオン)
質量分析では
正イオン、負イオンと呼び、
質量を持った原子、原子団である。

35

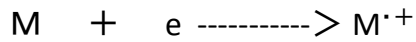
イオン化

- ・電子、粒子、光照射したり、高電界を与える

電子: 電子衝撃(EI)
粒子: 高速粒子衝撃(FAB)
光: レーザーイオン化(MALDI)
高電界: エレクトロスプレーイ(ESI)

36

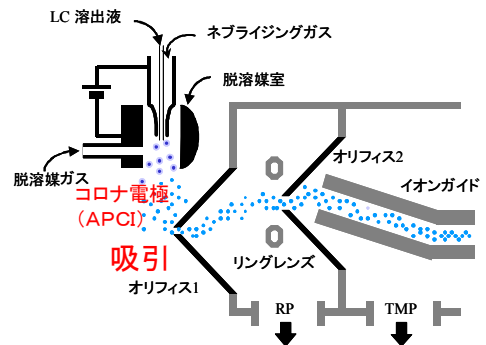
電子衝撃



古典的なイオン化法。GC/MS
ライブラリー検索

37

T100LC ESIインターフェース



38

APCI

噴霧するところにコロナ電極を置き、イオン化する手法をAPCIと呼ぶ

Atmospheric pressure chemical ionization

放電によるイオン化であるので熱不安定物質には不向き。熱安定性物質の測定。

39

溶媒や試料のイオン

- M^+ 、 $(2M+H)^+$ 、 $(3M+H)^+$
- 溶媒付加イオン
- $(M+Na)^+$ 、 $(M+NH_4)^+$ 、 $(M+K)^+$
- $(M+2H)^{2+}$ 、 $(M+3H)^{3+}$
- M^- 、 $(2M-H)^-$ 、 $(3M-H)^-$
- $(M+Cl)^-$ 、 $(M+CH_3CO)^-$
- $(M-2H)^{2-}$ 、 $(M-3H)^{3-}$

これらのイオンは非常に安定。
分子量情報を読む操作：スペクトル解析

40

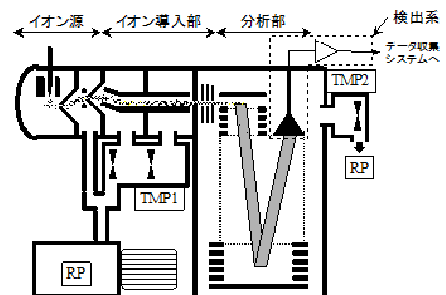
イオンの分離(質量分離)

生成したイオンに電界、磁界を掛けることにより場の強度の大きさにより、イオンは質量の大きさの順に分離する。

場の制御法により質量分離の仕方により磁場型質量分析計とか飛行時間型質量分析計などに分類される

41

T100LC 飛行時間型質量分析計



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

- $m/z=(t/k)^2$
- m: 質量 z: 価数
- t: 飛行時間
- K: 加速電圧

$$z=1, K=\text{一定} \quad m=ct^2 \quad (c:\text{定数})$$

検出される質量は飛行時間 t に比例

43

質量分解能

イオンを分離する能力

$$R=M/\Delta M$$

$\Delta M=1$ であれば $R=M$ に等しい

質量数1000とその同位体1001を質量分離する分解能は1000である。

44

質量分解能

質量数28はCO、N₂、C₂H₄が存在する
それぞれのイオンを分離する分解能

CO 27.9949

N₂ 28.0062

C₂H₄ 28.0313

COとN₂ $R=28/0.0113=2477$

COとC₂H₄ $R=28/0.0364=769$

N₂とC₂H₄ $R=28/0.0251=1115$

45

質量校正

既知の質量 (m) と飛行時間 (t) をあらかじめ補正する作業。

質量校正 (マスキャリブレーション) と呼ぶ

質量校正結果を基に質量を演算する。

46

イオンの検出

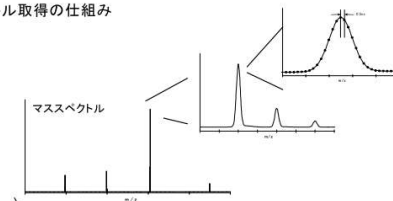
MCP (Micro-channel plate) によりイオンを検出して、信号 (電圧) に変換してスペクトルとして出力。

47

マスペクトル:

プロフィールあるいはバースペクトルとして表示
0.5nsecでサンプリングして、ピーク検出

スペクトル取得の仕組み



48

測定の準備

- ・目的意識(何を測るのか?)

試料の気化性、溶解性

- ・試料濃度

- ・溶媒

49

イオン化(ESI)の程度

- ・イオン化されない:疎水性が大きい
炭化水素類などヘキサンとかクロロホルムに
溶けやすい
- ・正イオンになりやすい(カチオン性化合物)
含窒素、酸素化合物(M+H)⁺
- ・負イオンになりやすい(アニオン系化合物)
カルボン酸とかスルホン酸(M-H)⁻
- ・中性化合物
(M+NH₄)⁺、(M+Na)⁺、(N+K)⁺

50

試料濃度

- ・100ppm以下に調製
1mg/10mL

1000ppm以上の高濃度になるとメモリー、
2量体、3量体や不純物の影響が出てきて
スペクトルが複雑になる

51

濃度単位

%、10⁻² 1g/100g
ppm part per million 10⁻⁶ 1mg/L 1μg/mL
ppb part per billion 10⁻⁹ 1ng/mL
ppt part per trillion 10⁻¹² 1pg/mL

mg 10⁻³g
μg 10⁻⁶g
ng 10⁻⁹g
pg 10⁻¹²g

52

移動相溶媒、流量、

メタノールを中心に選択。
極性の高い化合物の場合:たとえばタンパク

0.1%酢酸/メタノール=3/7

流量 0.2mL/min

管理者の指示に従い、測定すること

53

まとめ

- ・分析とは五感
- ・元素の概念
同位体の理解
- ・質量分析について:分子量情報
イオン化、質量分離、検出→マスペクトル

54