

有機化学実験のための易しいマススペクトロメトリー

藤嶽美穂代

Concise Mass Spectrometry for Experiments of Organic Chemistry

Mihoyo FUJITAKE

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

Mass spectrometry (MS) is a powerful and indispensable tool for identification and structural analysis of organic compounds like NMR or X-ray crystal structure analysis. This guidebook of MS is described for undergraduate students and beginners of organic experiments, in which the following items are covered. 1) Overview of MS. 2) Construction of apparatus for MS. 3) Principles of ionization methods and mass analysers. 4) Spectral interpretation.

key words — mass spectrometry; MS; isotopes; fragmentation

1. はじめに

筆者はここ数年、講義担当者あるいは研究室の先生方からマススペクトロメトリー (MS) の講義及びセミナーの依頼を受けてきた。それらの機会を通して、本学における MS の講義時間が極めて少ないことや、学生のほとんどがマススペクトルの解析については全く経験していない現状を知った。また、特別実習に進む5年次生あるいは有機化学の初学者のために MS の要点を簡潔にまとめた教材を見つけることはできなかった。そこで MS の専門技術者であり、また MS の新しい測定法を開発する研究者としての長年の経験から、「学生と研究者のための新しくかつ分かり易いマススペクトルガイド」を自ら作成する必要性を強く感じた。本稿では、質量分析計の構成と原理、最新の多様な測定法、マススペクトルの解析について順を追って解説した。また自ら開発した測定法は、筆者が日々の測定の中で使用しているものであるため、本稿に取り入れた。最後に、薬剤師国家試験の傾向、本学における MS の利用状況を

述べた後、近年混乱がみられる MS 関連用語について付記した。

2. マススペクトロメトリーとは何か

MS とは端的に述べると、イオン化した原子や分子を高真空中で飛行させ、電界や磁界の働きによって、その質量を物理的に求める方法である。現在、原理が異なる様々な質量分析計が活用されているが、どのような装置であってもマススペクトルを測定するためには必ず分析対象物を「イオン化」しなければならない。次に、生成したイオンは大気中の窒素や酸素分子と衝突すると軌道を妨害され、検出器まで到達できなくなるので、その分析部は常に「高真空」(10^{-4} ~ 10^{-6} Pa) に保たれていなければならない。試料をイオン化するため、NMR や赤外分光法などのように測定後に試料を回収することができない破壊測定である。また質量分析は正確には質量ではなく、イオンの質量 (m) と電荷数 (z) の比 (m/z) を測定することによって質量を求める分析法である。以上のこと

がMSの特徴であるといえる。

対象とする試料は合成品、植物からの抽出物、河川や湖沼など環境中からの採取物、食品や薬品中の成分、生物由来のタンパク質や代謝産物など幅広い。試料の形状は固体、液体、気体を問わない。

MSは、純品の定性能力に優れるが、混合物そのままの定性、同定は困難であり、極少量の不純物が目的化合物のイオン化を阻害し、スペクトルに大きく影響することがある。そのため、試料は純品であることが前提となる。一方、多成分混

合物を測定する場合は、GCやLCによって分離した各単一成分を、順次質量分析計に導入することで成分ごとのマススペクトルを得ることができる。つまり、混合物の場合でも装置に導入されるのは単一成分ずつである。

マススペクトルを測定することにより得られる情報は、分子量、分子構造、組成式、さらにGCやLCと接続することにより、定量分析も可能である。

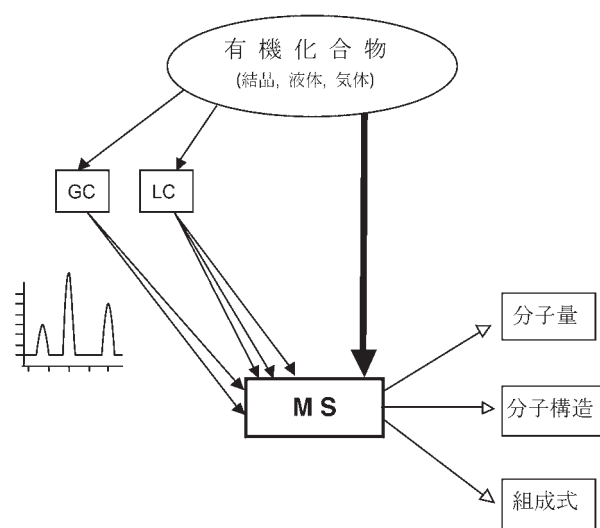


Fig. 1. MSの概略

3. 質量分析計の構成

質量分析計は、試料を入れる1)試料導入部、試料をイオン化する2)イオン化部、生成したイオンをそれぞれの質量に分離する3)イオン分離部、分離したイオンを検出する4)イオン検出部、そして検出されたイオンをバーグラフやクロマト

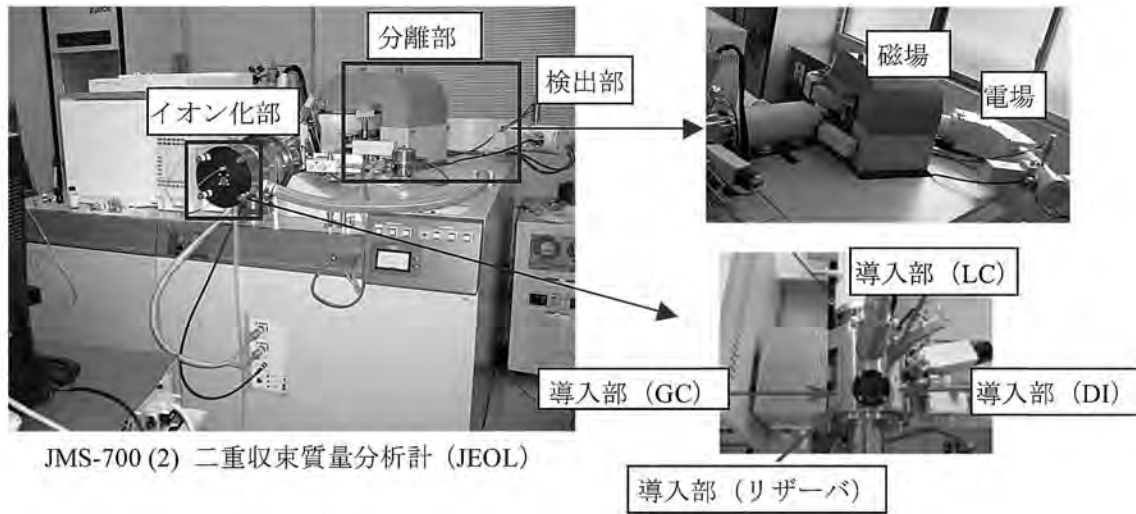
グラムに変換する5)データ処理部から構成されている。

大気圧下でイオン化する場合のイオン化部を除き、イオン化部から検出部に至るまで、分子間の相互作用を避けるため、高真空 ($10^{-4} \sim 10^{-6}$ Pa) に保たれている。この構成はすべての質量分析計において共通である。



Fig. 2. 質量分析計の構成

本学 MS 室に設置されている JEOL JMS-700 (2) を例に装置の構成部分を以下に示す。



JMS-700 (2) 二重収束質量分析計 (JEOL)

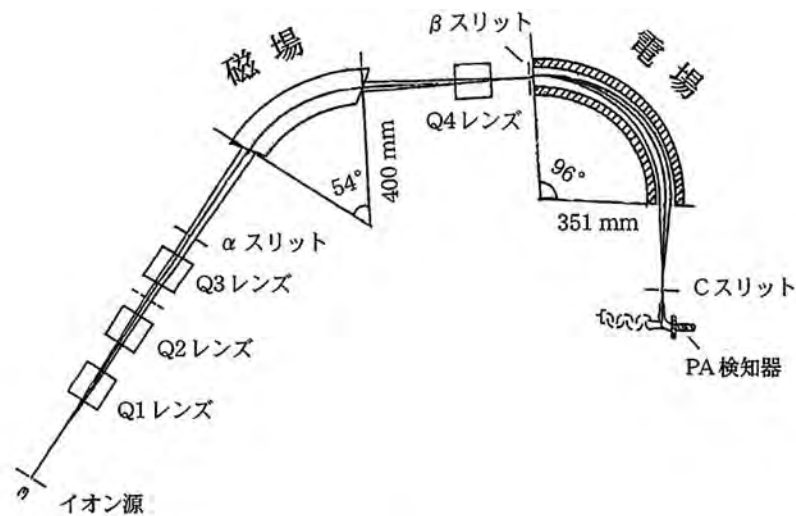


Fig. 3. 二重収束磁場型質量分析計

4. 質量分析計の原理

質量分析計を構成する5つの各部には、それぞれいくつかの種類があり、試料に応じて使い分けが必要である。各部の主な種類と原理について述べる。

4-1. 試料導入部

Fig. 3のようにプローブによって直接試料をイオン源に導入する方法 (Direct Insertion : DI法), GCやLCの出口とイオン源を結合させる方法, リザーバーに試料を入れておき, 微小な穴 (オリフィス) を通じ約10~500 μ L/secで徐々にイオン源に導入する方法などがある。

4-2. イオン化部

すでに述べたように、MS では試料をイオン化する必要がある。最初に開発された電子イオン化 (electron ionization*: **EI**) 法は実用性が高く、ライブラリー (既存物質の EI マススペクトルデータ集) も充実しているため、現在においても第一選択される普遍的なイオン化法である。しかし、開裂を起こしやすく揮発し難い物質など、EI 法ではイオン化が困難である化合物は分子量情報が得られない。そこでこれらの化合物をイオン化する方法が色々開発されてきた。まず試料を間接的にイオン化する化学イオン化 (chemical ionization: **CI**) 法が考案され、分子内開裂を抑えることができるようになった。しかし EI および CI 法は試料を揮発させる必要があるために、分子量が大きく難揮発性の化合物の測定は困難である。そのため、これらの試料をイオン化する方法として二次イオン質量分析 (liquid secondary ion mass spectrometry: **LSIMS**) 法、高速原子衝

4-2-1. EI 法の原理と特徴

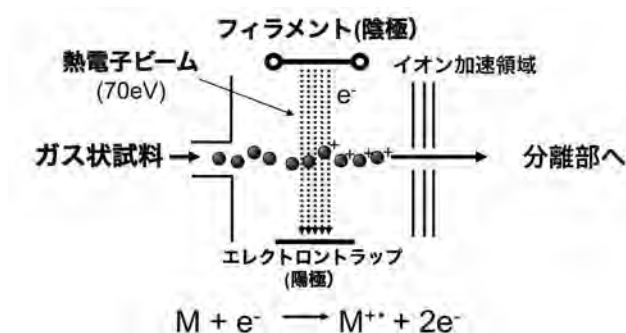


Fig. 4. 1. EI 法のイオン源

【原理】イオン化室に設置したフィラメントに電流を流し熱電子を放出させる。この熱電子に電子加速電圧をかけて加速し、電子ビームを作っておく。気化させた試料分子にこの熱電子を衝突させると、試料ガス分子から電子1個が弾き出され (あるいは付加され) イオンが生成する。

普通の安定な有機分子では、電子を1個ずつ出し合って共有結合している。また、酸素原子を含

撃 (fast atom bombardment: **FAB**) 法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (matrix-assisted laser desorption ionization: **MALDI**) 法などが開発され、その分子量情報を得ることができるようになった。

また、LC と MS を結合させるために開発された大気圧化学イオン化 (atmospheric pressure chemical ionization: **APCI**) 法、エレクトロスプレーイオン化 (electrospray ionization: **ESI**) 法は、生体高分子や錯体にも応用できるイオン化法である。

ここに述べた以外にも多数のイオン化法が開発されているが、本稿では EI 法を中心に上記のイオン化法の原理について簡単に述べる。

* 第82回薬剤師国家試験 (平成9年実施) 問題では「EI 法を electron impact 法という」を正解としているが、現在では electron ionization が推奨されている。(IUPAC, マススペクトロメトリー関係用語集)

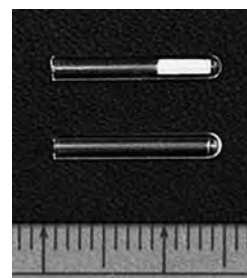


Fig. 4. 2. EI 及び CI 法に用いる毛細管：上は試料の揮発を緩和するために quartz wool を詰めている。

む結合のように、結合に関与していない非共有電子対も電子は2個である。そのため、1分子の電子の総数は必ず偶数個であり、電子1個がはじき出されると正に帯電する。従って、分子イオンを表すには molecular ion の頭文字に不対電子1個の存在と正電荷を持っていることを表し、 M^+ と書く。

現在知られているほとんどの有機化合物のイオ

ン化エネルギーは 70eV 以下であるため、熱電子ビームは通常 70eV を用いる。ここで、イオン化の際に受けたエネルギーが過剰であると結合の開裂が起こり、いくつかの小さな断片ができる。このような過程をフラグメンテーションといい、生じた断片をフラグメント、電荷を持つ場合はフラ

グメントイオンという。このフラグメントイオンもイオンであるので質量分析計で検出され、構造解析に利用できる。

【特徴】イオン化するためには試料分子をガス状にする必要があるため熱不安定物質や極性が高く気化し難い化合物には適さない。

4-2-2. CI 法の原理と特徴

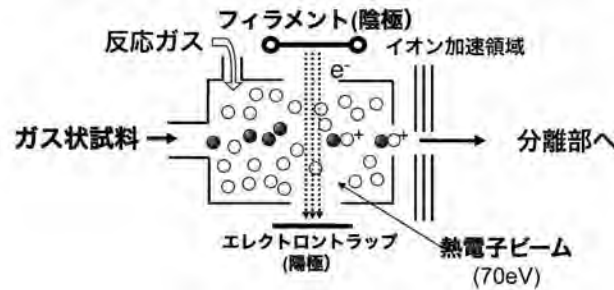
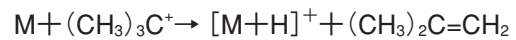
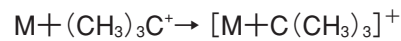


Fig. 5. CI 法のイオン源

【原理】EI 法と同じイオン源を用い、試料と共に試料分子の 100~1000 倍の分子の数の反応ガス (reactant gas) をイオン化室に導入し、フィラメントからの熱電子と衝突させ、まず量の多い反応ガスを EI 法でイオン化する (一次イオン)。反応ガス相互のイオン分子反応により反応イオン (二次イオン) が生じ、この反応イオンが試料分子とイオン分子反応を起こし、試料がイオン化する。反応ガスにはメタン、イソブタン、アンモニアなどが用いられる。例えば反応ガスにイソブタン ($i\text{-C}_4\text{H}_{10}$) を用いた場合、二次イオンは $(\text{CH}_3)_3\text{C}^+$ であり、下記の 3 通りの反応が起こる。



……プロトンの付加



……反応イオンの付加



……水素の引き抜き

多くの場合これら反応のうち、プロトン付加が主反応になるため、イソブタンを利用した CI マスペクトルでは主に $[\text{M} + \text{H}]^+$ が検出される。

【特徴】EI 法と同じように試料分子をガス状にするため、熱不安定物質や難揮発性物質には適さない。

生成した $[\text{M} + \text{H}]^+$ のピークは強く、フラグメンテーションも少ないソフトイオン化法である。

4-2-3. LSIMS と FABMS の原理と特徴

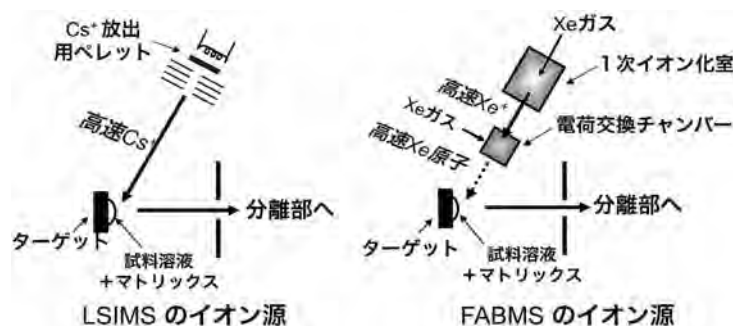


Fig. 6. 1. LSIMS と FABMS のイオン源 (JEOL Ltd. 資料より抜粋)



Fig. 6.2. 上：LSIMS用ターゲット
下：FABMS用ターゲット

【原理】LSIMS, FABともにマトリックスと呼ばれる支持母体と試料を混合させ、ターゲット (Fig. 6.2. の窪んだ部分) に置く。その混液に高速イオンビーム (Cs^+ , Xe^+ , Ar^+ など) を照射する場合を **LSIMS**, 高速中性原子 (Cs , Xe , Ar など) を照射する場合を **FAB** といい、どちらも混液表面の分子を弾き出すと同時にマトリックスから試料分子へプロトンや電子の授受が行われ、試料分子がイオン化する。このマトリックスは試料をイオン源内で長時間安定にイオン化するためにも重要な役割を果たしており、その選択によっては分子イオンの確認が全くできない場合がある。

マトリックスは粘稠性があり揮発性の低い、グリセロール (G) や meta-ニトロベンジルアルコール (NBA) が用いられることが多く、試料と均一に混合できるものを随時選択する。

【特徴】熱不安定物質や難揮発性物質、極性物質などの測定に有効である。

主にプロトン付加分子 $[\text{M}+\text{H}]^+$ が生成する。ごく微量の Na^+ や K^+ の存在により、 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 及び $[\text{M}+\text{K}]^+$ が検出される。ソフトイオン化法

であるため、分子の開裂が少なく分子イオン (付加イオン分子) 強度が高い場合が多い。

最近筆者が見出した新しいマトリックスシステムを用いて、マトリックスの選択の重要性を以下に示す。

ヌクレオシド及び非ヌクレオシドホスホロアミダイト (PAs) はオリゴヌクレオチド固相合成のビルディングブロックとして重要な化合物である。しかし PAs は酸や塩基に対して不安定な結合を多く含むため MS による構造確認ができない場合が多い。そこで、イミダゾール C-ヌクレオシド PA1 (Fig. 7) について種々検討の結果、LSIMS および FABMS におけるマトリックスとしてトリエタノールアミン (TEOA)-NaCl を用いることで、初めて精密質量が得られることを見いだした (Fig. 8)。この手法は、様々なヌクレオシド及び非ヌクレオシド PAs にも適用可能であることも実証し、実際に日々の測定において積極的に使用している。

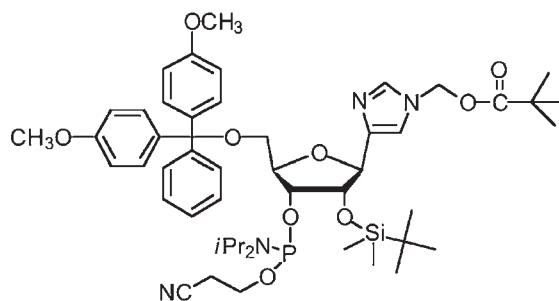


Fig. 7. Structure of PA 1

Table 1. PA 1 のマスペクトル測定結果

Entry	Ionization Method	Matrix ^a	Sodium ion adduct	RI ^c (%)	Observed mass ^d (<i>m/z</i>)	Error ^e (ppm)
1	EI (70eV)		- ^b	ND ^f		
2	(20eV)		-	ND		
3	CI		-	ND		
4	LSIMS	G	-	ND		
5		NBA	-	ND		
6		DEOA	-	ND		
7		MB	-	ND		
8		TEOA	-	ND		
9		DTT/TG	-	ND		
10		G + NaCl	[M+Na] ⁺	0.2		
11		NBA + NaCl	[M+Na] ⁺	0.6		
12		DEOA + NaCl	[M+Na] ⁺	0.7		
13		MB + NaCl	[M+Na] ⁺	0.4		
14		DTT/TG + NaCl	[M+Na] ⁺	0.3		
15		TEOA + NaCl	[M+Na] ⁺	20.1	953.4625 ^g	0.4
16	FAB	G	-	ND		
17		G + NaCl	-	ND		
18		TEOA + NaCl	[M+Na] ⁺	2.6		
19	ESI		-	ND		
20	MALDI-TOF	THAP	[M+Na] ⁺	25.2	953.5199 ^g	60.6

^a G, glycerol; NBA, *m*-nitrobenzyl alcohol; DEOA, diethanolamine; MB, dithiothreitol/dithioerythritol (3/1); TEOA, triethanolamine; DTT/TG, dithiothreitol/thioglycerol (1/1); THAP, 2,4,6-trihydroxyacetophenone.

^b M⁺ or [M+H]⁺ was not detected.

^c RI; Intensity relative to the base peak ion (100%).

^d The mass was measured by HRMS.

^e The error can be calculated using the following equation:

$$\text{Error (ppm)} = 10^6 \times (\text{observed mass} - \text{theoretical mass}) / \text{theoretical mass}.$$

^f ND; < 0.1%.

^g PA1: C₃₀H₇₁N₄O₉PSi, [M+Na]⁺, Theoretical mass (*m/z*) = 953.4621.

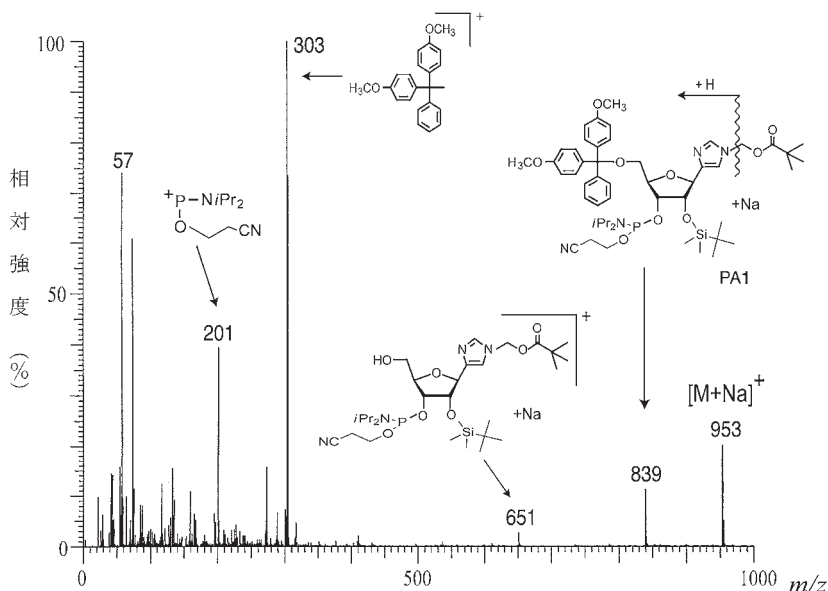


Fig. 8. マトリックスとして TEOA-NaCl を用いた PA 1 の LSIMS スペクトル
 1) M. Fujitake *et al.*, *Tetrahedron*, **61**, 4689-4699, 2005.
 2) *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, 10. 11. 1-10. 11. 16. 2006.

4-2-4. MALDI 法の原理と特徴

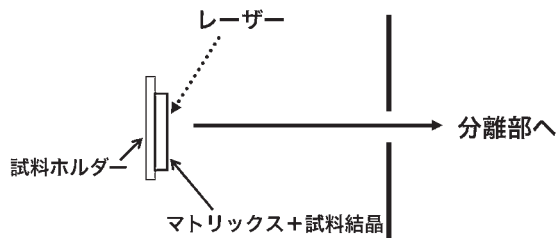


Fig. 9. 1. MALDI 法のイオン源 (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

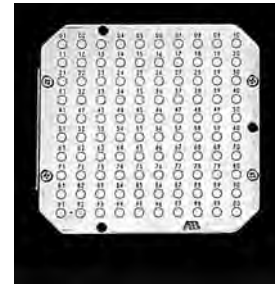


Fig. 9. 2. MALDI 用ターゲット：一枚のプレートに約 100 検体の試料を塗布することができる。

【原理】マトリックスと試料を混合溶解し，溶媒を蒸発させて乾固（混晶）する．これにパルス状のレーザー光を照射することによりマトリックスと試料を脱離させる．同時に，マトリックスから試料分子へプロトンや電子の授受が行われ，試料分子がイオン化する．

マトリックスは使用するレーザー光波長（通常 337nm）に吸収帯を持ち，試料の分子量，極性などにより随時適切に選択する必要がある．

【特徴】試料の化学的性質に左右されにくいソフトイオン化法であり，現在使用されているイオン化法の中で最も高質量領域まで測定が可能である．従って，生体に存在するタンパク質など分子量のきわめて大きな化合物の測定に適する．

4-2-5. APCI 法と ESI 法の原理と特徴

タンパク質などの生体高分子は LC によって精製分離されることが多く，LC と質量分析計を結合できれば生化学分野での MS の応用範囲はますます広がる．しかし，LC と質量分析計の結合には特殊なインターフェイスが必要である．なぜなら，LC から流出する試料量は 1 分間に数 μL ~ 1mL の液体であり，これが気化すると体積は約 1000 倍にもなるので装置の真空状態を維持できなくなり，測定不可能になるからである．

そこで脱溶媒するインターフェイスとして様々なイオン化法が開発されてきた．その中で現在最も汎用されている APCI と ESI について述べる．

【APCI の原理】

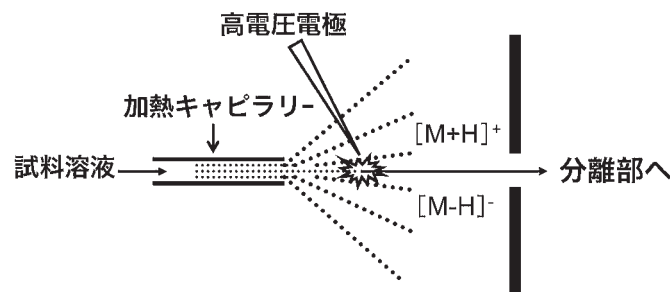


Fig. 10. APCI 法のイオン源 (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

LC の出口の送液管を数百 $^{\circ}\text{C}$ に加熱し，同方向に窒素ガスを流して試料溶液を噴霧する．噴霧口近くで，針電極に電圧を印加してコロナ放電を起

こし，まわりに大量に存在する窒素ガスや大気中の水分子及び溶媒分子をイオン化し，そのイオンと試料分子とを反応させてイオン化する方法（大

気圧下での CI 法) である。

【APCI の特徴】 CI と同様にソフトイオン化法で

ある。難揮発性、熱不安定な化合物はイオン化されないことがある。

【ESI の原理】

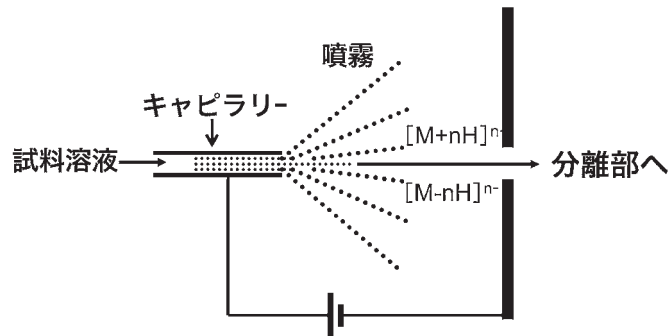


Fig. 11. ESI 法のイオン源 (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

大気圧下で高電圧を印加することによりイオン化する方法である。

LC の出口の送液管 (キャピラリー) と対向電極の間に数 kV の高電位を印加することにより送液管先端の液体中で正と負のイオン分離が起こる。たとえば先端に正の高電圧を掛けた場合は液体表面に正イオンが集まり、これらは対極に向かって引きつけられ液体が円すい状になる (テイラーコーン)。そしてその先端から液滴が切り離され、帯電した微細な液滴として噴霧し、それらの液滴から溶媒を蒸発させると液滴の体積が減少して液滴内の電荷密度が増大する。その過剰電荷によるクーロン斥力が液の表面張力を越えた時 (レイリーリミット)、液滴は爆発的に細分化し (クーロン崩壊) 試料分子がイオン化する。

【ESI の特徴】 プロトン付加あるいは多価イオンを生成しやすい。

多価イオンとは、複数の電荷を持つイオンのことで、 Mn^+ 、 $[M+nH]^{n+}$ 、 $[M+nNa]^{n+}$ 、 Mn^- 、 $[M-nH]^{n-}$ などのように記す。マススペクトルの横軸は m/z (質量/電荷数) であるので、電荷数 z (n) が大きくなると検出される m/z 値は小さくなる。例えば10価イオンが生成すればそのピークは分子量の10分の1の値のところ、20価イオンであれば分子量の20分の1の値のところを観測される。すなわち、分子量が1000や2000までしか測ることのできない分析計でも、タンパク質などの高分子量物質が測定できるということになる。

また、非常にソフトなイオン化であるので、非共有結合性複合体に由来するイオンを検出することが可能である。

4-2-6. イオン化法を選ぶ目安

分離部の種類やメーカーなどにより多少異なるが、以下にイオン化法を選ぶ際の目安を示す。

Table 2. イオン化法を選ぶ目安

イオン化法	対象試料	分子量 (約)	試料量 (約)
EI, CI	約 400°C で $10^{-2} \sim 10^{-4}$ Pa の蒸気圧を有する有機化合物 (揮発性の高い固体, 液体, 常圧で気体)	1,000u 以下	1 ng 以上
SIMS, FAB	熱不安定物質, 難揮発性物質, 生体内物質	10,000u 以下	数百 pmol 以上
MALD	熱不安定物質, 難揮発性物質, 生体高分子, 合成ポリマー	1,000,000u 以下	数 fmol 以上
APCI	熱に安定な中性 ~ 中極性有機化合物	1,000u 以下	数十 pmol 以上
ESI	熱不安定物質, 難揮発性物質, 生体高分子, 複合糖質, 極性有機化合物	200,000u 以下	数 pmol 以上

4-3. イオン分離部

何らかの方法でイオン化されたイオンを質量電荷数比ごとに分けるところであり、様々なイオン化法が存在するように、分離部にもさまざまな分離方法が存在する。イオン化法との組み合わせは、技術の進歩とともに変化し続けている。イオン加速電圧や電場電圧の正負、磁場のN-S極などをそれぞれ逆に切り替えることにより、負イオンを検出することもできる。

代表的な分離部として、磁場型 (Magnetic

sector mass spectrometer : **sector MS**), 四重極型 (Quadrupole mass spectrometer : **QMS**), イオントラップ型 (Ion trap mass spectrometer : **ITMS**), 飛行時間型 (Time-of-flight mass spectrometer : **TOFMS**), フーリエ変換型 (Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometer : **FTICRMS**), タンデム質量分析法 (tandem mass spectrometry : **MS/MS**) がある。このように分離部の名称が質量分析計の種類を示す言葉として用いられることが多い。

それぞれの原理と特徴を簡単に述べる。

4-3-1. 磁場と電場型 (sector MS)

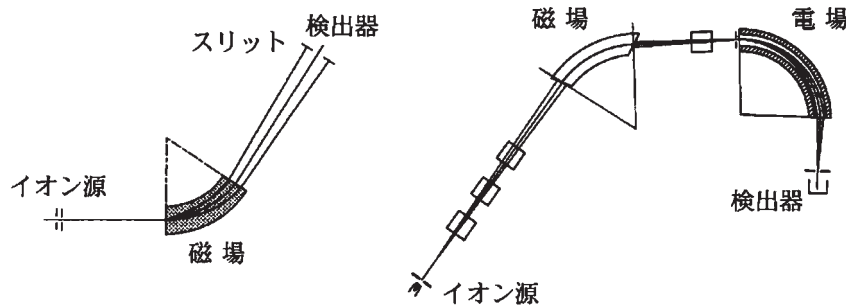


Fig. 12. 磁場型質量分析計

イオンの質量 (統一原子質量単位) を m , 電子の電荷 (1.60×10^{-19} クーロン) を e , 磁場半径 (cm) を r , 磁場の強さ (ガウス) を H , イオン化室における加速電圧 (V) を V , イオンの速度を v とすると,

$$mv^2/r = Hzev \quad \text{-----①}$$

$$mv^2/2 = zeV \quad \text{-----②}$$

①②から

$$\boxed{m/z = er^2H^2/2V} \quad \text{-----③}$$

【原理】電圧 V で加速されたイオンを磁場 H の中に入れる。するとフレミングの左手の法則で、イオンの運動方向と、この紙面に垂直の磁場の向き、の両方に対して直角な方向から力を受けるため、ローレンツ力が向心力となってイオンは円軌道を描くように曲げられる。この時のイオンの向心力と磁界の強さは釣り合うことから、①式が成立し、イオンは電界 V で加速していることから②式が成立する。これらの式よりイオンの速度 v

を消去すると③式が導き出される。

③式から、磁場半径 r と加速電圧 V を一定に定めておき、磁場強度 H を変えていけば (このことをスキャンするというが)、スキャンするごとにこの式を満足する m/z だけが順次この磁場を通過することができる。③式から外れた質量を持つイオンは曲がりすぎたり曲がりきれなかったりして壁に当たり、消滅していく。そこで、イオンが検出された時の磁場強度を読み取っていくことで質量を分離していく。磁場ではイオンを方向収束 (質量数に差のあるイオンを収束) するだけなので、電場を組み合わせると速度収束 (イオン線の運動エネルギーの広がり収束) をさせて分解能を上げたものが二重収束質量分析計である。

また磁場と電場を逆に配置した質量分析計もある。

【特徴】高分解能が得られ、現在汎用されている。装置が大型である。

4-3-2. 四重極型 (QMS)

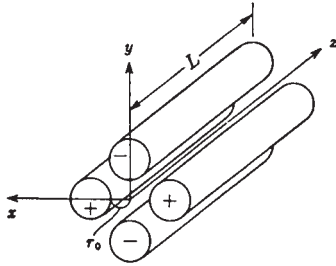


Fig. 13. QMS (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

$$m/z = k(\text{Vac}/r_0^2 f^2)$$

Vac : 高周波交流電圧 (V)

r_0 : z 軸と電極の距離 (mm)

f : 高周波数 (MHz)

【原理】4本の柱状電極（ロッド）を互いに平行で対称の位置に配し，数 MHz の周波数の交流電圧をかける．磁場型同様に，ある一定の周波数で特定の質量のイオン（上式を満足する m ）だけが，

z 軸上を安定な振動をしながら進み，検出器に到達できる．

【特徴】小型で扱いやすいが，測定範囲が狭く高分解能が得られない．

4-3-3. イオントラップ型 (ITMS)

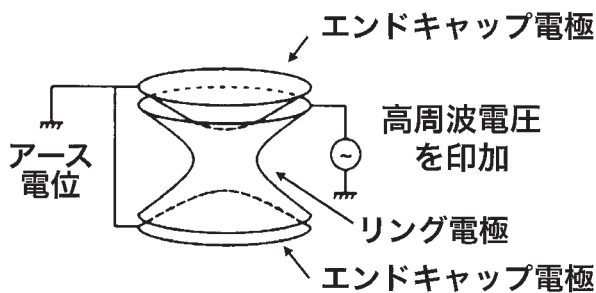


Fig. 14. ITMS (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

$$m/z = ka\text{Vac}$$

Vac : 高周波交流電圧 (V)

【原理】四重極型と同じ原理で，四重極ロッドの入り口と出口をつないでリング上にしたもの．ある m/z より重いイオンを全て安定に振動させてトラップしておいてから，高周波の電圧を徐々に変化させ，振動が不安定になったイオンだけが順次

トラップ外へ出ていき検出器に到達する．

【特徴】与える高周波電圧を操作することで，イオンを選択的にトラップできる．トラップされたイオンにレーザー照射を行うことで開裂を起こすことができるので，構造解析に有効である．

4-3-4. 飛行時間型 (TOFMS)

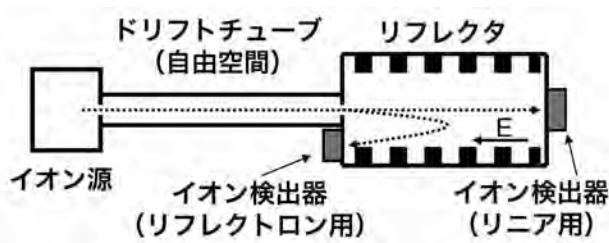


Fig. 15. TOFMS (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

$$m/z = 2eVt^2/l^2$$

V : イオンの加速電圧 (V)

t : イオンの飛行時間 (μs)

l : イオンの飛行距離 (m)

【原理】質量の小さいイオンは飛行管内を速く、質量の大きいイオンは遅く飛行するため、飛行時間を測定すれば質量が計算できる。

【特徴】多くの分離装置がある質量のイオンを測

定している時に他のイオンを捨てているのに対し、**TOF**は全てのイオンを同時にスタートさせるので、イオン化はパルス的に行うMALDIとの組み合わせが多い。

4-3-5. フーリエ変換型 (FTICRMS)

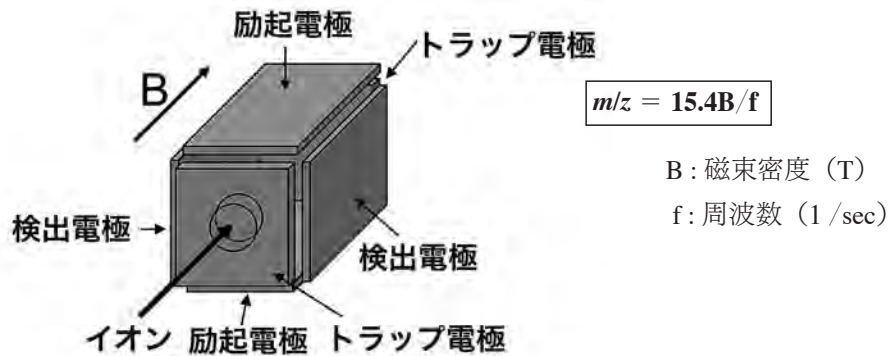


Fig. 16. FTICRMS (JEOL Ltd. 資料より抜粋)

【原理】磁場型質量分析計のところで述べたように、フレミングの左手の法則により、磁場を十分に強くすると（超伝導磁石）、磁場の中でイオンは円弧を描くだけでなく、磁場方向を中心軸とした回転運動をするようになる。一塊となって回転する同じ m/z のイオンが、検出電極に離れたり近

づいたりすることにより周期的に発生する誘導電流をフーリエ変換し、 m/z 比に換算する。

【特徴】周波数を測定する精度は電圧、電流に比べ非常に高いので、高質量領域においても高分解能が得られる。装置が大型であり、高額である。

4-3-6. タンデム型 (MS/MS)

【原理】



Fig. 17. MS/MS

タンデム型とは、2台の質量分析計を結合させた装置を意味する。

2台以上の質量分離部を連動させて1台目の分離部で、ある特定のイオンを選択し、中性の分子（ヘリウムや窒素、アルゴンなどのガス）と衝突

させることで（衝突活性化, collisional activation: CA）強制的に開裂させ、新たに生成したイオンの m/z を2台目で測定することによって構造を推定する。逆に生成したイオンから、その元となったイオンを検出することも出来る。このような測

定法を、MS/MS または MS^2 と表す。3 台目を結合すれば MS/MS/MS または MS^3 、さらに CA を繰り返すとき MS^n と表す。

一方、IT 型や FTICR 型のように特定のイオンをトラップできる装置では 1 台で MS^n が可能である。開裂する前のイオンをプリカーサイオン (precursor ion : 前駆イオン)、開裂して生成したイオンをプロダクトイオン (product ion) と

いい、CA によるフラグメンテーションを、衝突誘起解離 (collision-induced dissociation : CID)、または衝突活性化解離 (collisionally activated dissociation : CAD) という。

【特徴】FAB, ESI などのソフトなイオン化で生成したフラグメントイオンからもプロダクトイオンが得られるので、構造解析に非常に有効である。

4-4. イオン検出部

イオンが金属表面に衝突すると複数の二次電子が放出される性質を利用。

分離部から飛んできたイオンの信号を二次電子増倍管やチャンネルトロン、マルチチャンネルプレートなどにより増幅させる。

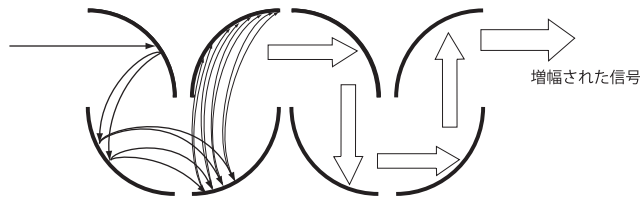


Fig. 18. ion multiplier

4-5. データ処理部

検出部からの信号をバーグラフやマスクロマト

グラム、テキストなどへ変換し、定量計算など様々な処理を行うコンピュータ部である。また分析条件の制御も行う。

5. マススペクトルの見方と基本用語

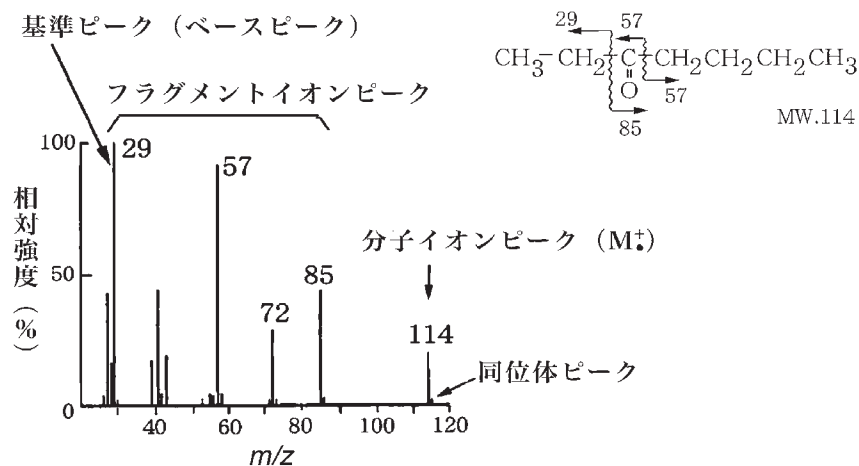


Fig. 19. EI spectrum of ethyl-n-butyl ketone

エチル-n-ブチルケトンの EI マススペクトルを例に基本用語を説明する。横軸はイオンの質量 m をそのイオンの電荷数 z で割った値で質量電荷比 m/z を表す。EI では1個のイオンが検出されるので質量に等しい値になる。

m/z は無次元量なので単位を持たない「記号」であり、 m と z 間にスペースを入れずに小文字のイタリック体で表す。

分子量を表す分子イオンピーク114が同位体ピークを除いて、一番高質量部に検出され、分子イオンはイオン源内で分子構造に依存して次々に

5-1. 分子イオンピークの判定

一番高質量部に現れたピークが本当に分子イオンピークであるかを判断する基準として、

①窒素ルールの利用

1分子に含まれる窒素原子の数が偶数（0個の場合を含む）の時、その化合物の分子量（整数質量）は偶数になり、窒素原子の数が奇数の時、分子量は奇数になるというルールにあてはまるか。当てはまらない場合は H^+ や Na^+ 、 K^+ などの付加、フラグメントイオン、不純物の可能性がある。

②分子イオンだと考えたピークから一番近いピークとの質量差が有機化学的に妥当か

すぐ左横のピークとの質量差が m/z 15であれば

5-2. 同位体ピークについて

同位体ピークは、フラグメントイオンピークや分子イオンピークに隣接して現れる。同位体ピークに関する問題は薬剤師国家試験にも頻出してお

開裂し、図のように m/z 29や57などのフラグメントイオンを生じ、それぞれが対応する m/z のところに検出される。縦軸はイオンの量を表し、全イオンのうち一番多く存在するものをベースピークといい、これを100%としてその他の各イオンはその存在割合を、相対強度（相対存在量）%で表示する。

フラグメントイオンは、結合の開裂だけでなく、Fig.19の m/z 72のように、McLafferty 転位などによっても生成される。これらについてはフラグメンテーションの項で述べる。

メチル基、 m/z 29であればエチル基やアルデヒドと、有機化学的に妥当に推定できるが、その差が m/z 5や、 m/z 11などはありえない質量数なので、分子イオンであると考えたピークは不純物のピークであるか、もっと大きな分子量のフラグメントイオンであるなどが考えられる。

③分子の構造が推定できている時、分子イオンピークの強度を見る

一般に分子イオンの安定性は、芳香族、共役不飽和化合物、脂環式化合物、飽和炭化水素、チオール、ケトン、アミン、エステル、エーテル、カルボン酸、アルコールの順なので、予想構造通りのピーク強度であるか。

①～③などを考え合わせて判断する。

り、マススペクトル解析において重要な意味を持つピークである。

下表のように各元素には天然に多くの同位体が存在する。

Table 3. 主な元素の同位体天然存在比

元素	[A]		[A+1]		[A+2]	
	同位体	存在比	同位体	存在比	同位体	存在比
H	1H	100	2H	0.016	—	—
C	^{12}C	100	^{13}C	1.08	—	—
N	^{14}N	100	^{15}N	0.36	—	—
O	^{16}O	100	^{17}O	0.04	^{18}O	0.20
F	^{19}F	100	—	—	—	—
Si	^{28}Si	100	^{29}Si	5.10	^{30}Si	3.40
P	^{31}P	100	—	—	—	—
S	^{32}S	100	^{33}S	0.80	^{34}S	4.40
Cl	^{35}Cl	100	—	—	^{37}Cl	32.50
Br	^{79}Br	100	—	—	^{81}Br	98.00
I	^{127}I	100	—	—	—	—

分子を構成する各原子において一番多く存在する同位体のみから成る分子の精密質量をモノアイソトピック質量といい、化合物の分子量に相当する。その分子イオンから m/z 1 及び 2 高質量部に現れるピークのことを同位体ピークといい、これは化合物を構成する原子が、より存在率の低い同位体に置き替わった分子のイオンピークである。マススペクトルでは 1 質量ごとの区別が出来るので、これら同位体も分離して、その存在率に応じた強度で検出される。例えば炭素原子だけに注目した場合、炭素原子を 20 個含む化合物があったとする。この ^{12}C 原子の 1 つが ^{13}C 原子に置き換わった分子の相対イオン（同位体ピーク）強度は、すべての炭素原子が ^{12}C で構成される分子イオンの 1.08×20 (^{13}C の天然存在比 $\times 20$ 個) すなわち、21.6% になる。このように ^{15}N や ^{17}O などの同位体についても考え合わせることで同位体ピークの

強度から C や O の数を推定することができる。特に、塩素原子 (^{35}Cl , ^{37}Cl) と臭素原子 (^{79}Br , ^{81}Br) の同位体については、存在の有無や個数を一目で確認することができる特徴的なピークを示すので、薬剤師国家試験に頻繁に出題されている。一方、注意しなければならないことは、特に炭素原子数が 90 を越えるような高分子量の化合物では、同位体ピークの方がモノアイソトピック質量のピークよりも高く検出される（例えば炭素原子 100 個含む化合物では、 $1.08 \times 100 = 108\%$ の強度で同位体ピークが現れる）ことである。

以下に塩素原子、臭素原子を含む実際のマススペクトルを示す。

^{35}Cl , ^{37}Cl の天然存在比は上の表から約 3 対 1, ^{79}Br , ^{81}Br の比は約 1 対 1 であることとよく一致している。

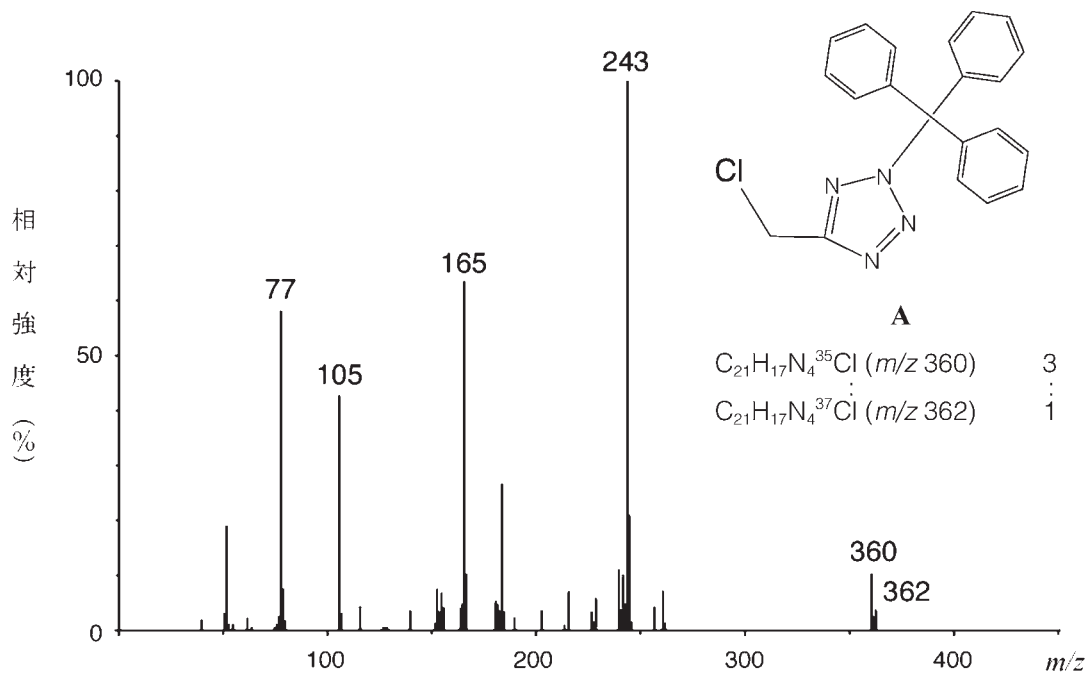


Fig. 20. EI spectrum of compound A containing one Cl atom

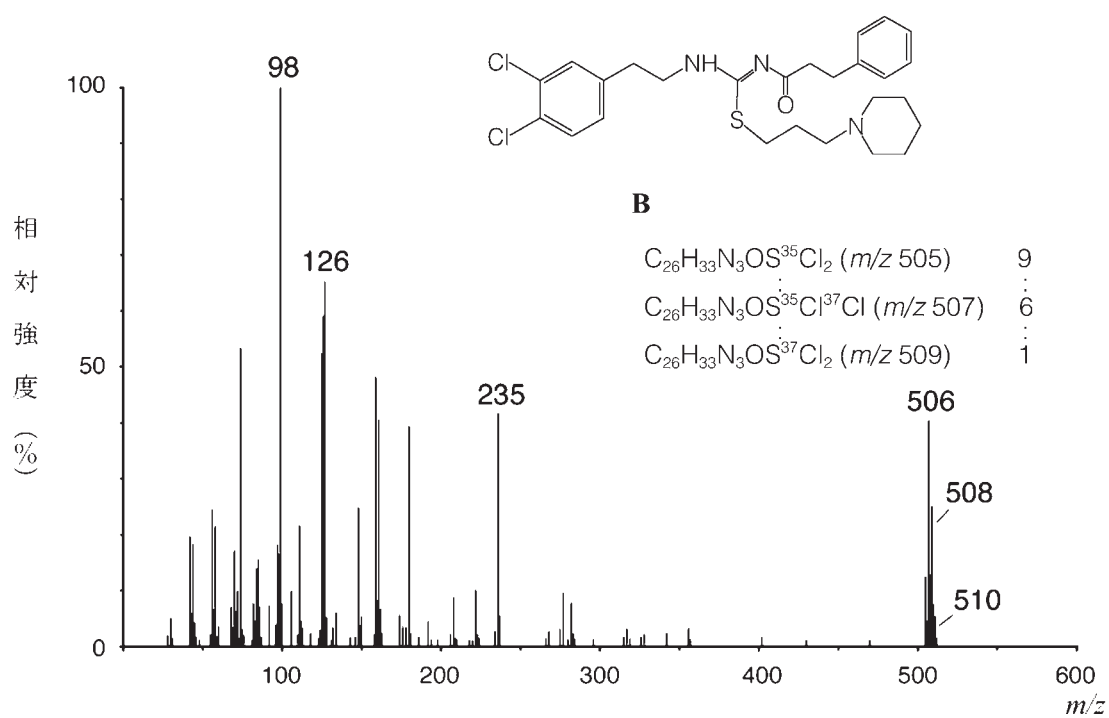


Fig. 21. FAB spectrum of compound B containing two Cl atoms

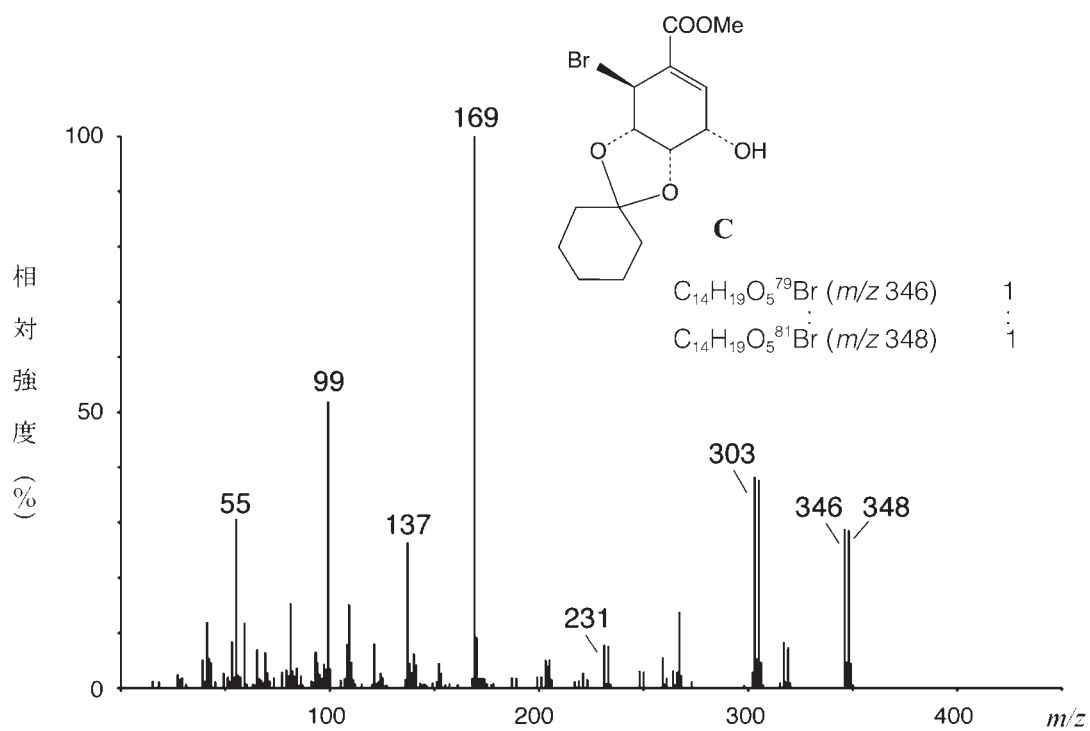


Fig. 22. EI spectrum of compound C containing one Br atom

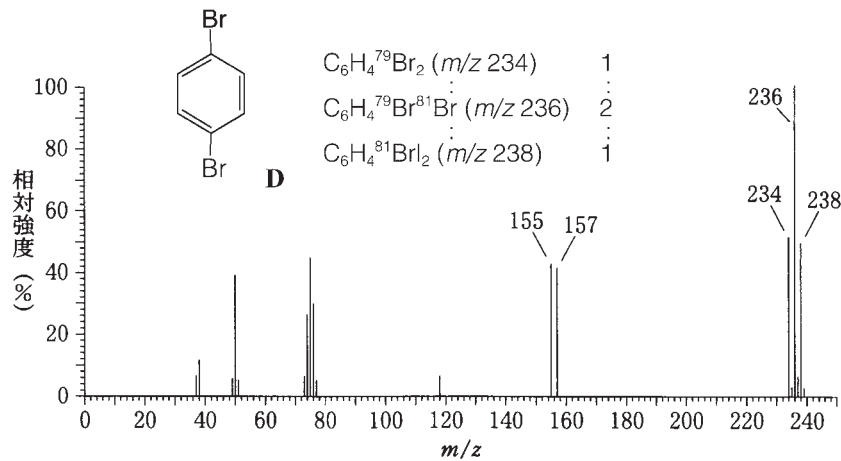


Fig. 23. EI spectrum of compound D containing two Br atoms (第 94 回 薬剤師国家試験問題より)

塩素 1 個を含む化合物はモノアイソトピック ^{35}Cl のイオン強度 3 に対し、同位体 ^{37}Cl に置き替わったイオンは強度 1 で現れる。塩素が 2 個存在する場合は二項条理の展開で求められるように、《 ^{35}Cl 2 個 : $^{35}\text{Cl} + ^{37}\text{Cl}$: ^{37}Cl 2 個》のイオンピークは《9 : 6 : 1》の強度割合で出現する。

臭素 1 個を含む化合物では《 ^{79}Br : ^{81}Br 》が《1 : 1》に、臭素が 2 個存在する場合は《 ^{79}Br 2 個 : $^{79}\text{Br} + ^{81}\text{Br}$: ^{81}Br 2 個》が《1 : 2 : 1》の強度で検出される。

二項条理の展開

$$(a+b)^n$$

a : 一方の同位体の存在度

b : もう一方の同位体の存在度

n : 元素の数

(例)

$$\text{Cl を 1 個含む化合物 } (3:1)^1 = 3:1$$

$$\text{Cl を 2 個含む化合物 } (3:1)^2 = 9:6:1$$

$$\text{Cl を 3 個含む化合物 } (3:1)^3 = 27:27:9:1$$

$$\text{Br を 1 個含む化合物 } (1:1)^1 = 1:1$$

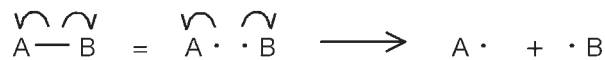
$$\text{Br を 2 個含む化合物 } (1:1)^2 = 1:2:1$$

$$\text{Br を 3 個含む化合物 } (1:1)^3 = 1:3:3:1$$

6. フラグメンテーション

一般に、A-B という 1 つの結合が切れるとき共有結合の電子の移動の仕方によって 2 つの開裂様式がある。

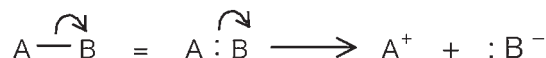
ラジカル開裂



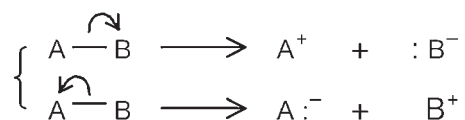
1 電子の移動の方向を示す片矢印 \curvearrowright (矢印の羽根がひとつだけ) を用いて、この開裂は次のように略して書く。



イオン開裂



2 個の電子が 2 個ともどちらか一方の原子に移動して結合が切れる開裂は普通の矢印 \curvearrowright (両矢印) で表す。



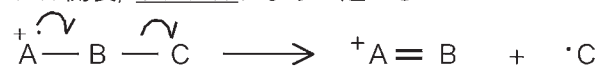
先のラジカル開裂の場合と違い、矢印の向きにより生成するものが違ってくる。

一方マススペクトルにおけるフラグメンテーションでは、

大きく分けて 単純開裂 と 転位反応 の2種類の反応がある

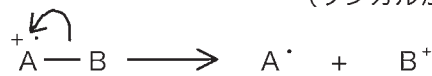
単純開裂

* ラジカル開裂; ラジカルによって起こる



* イオン開裂; カチオンが電子を引き寄せて起こる

(ラジカルが有っても無くても構わない)

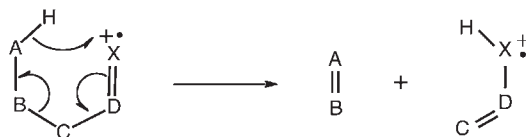


転位反応

* ラジカルによって起こる転位反応

[代表例]

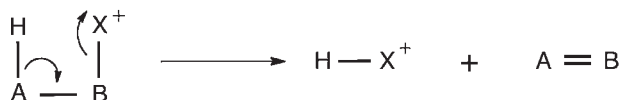
McLafferty 転位 (安定な6員環遷移状態を経てγ位水素とラジカルが結合)



* イオンによって起こる転位反応

[代表例]

4員環転位 (カチオンが水素を引き寄せ4員環遷移状態を経て新しい結合が生成)

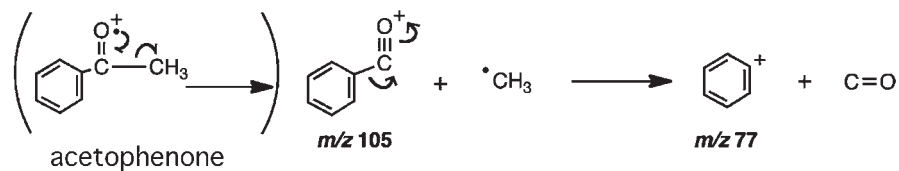


[フラグメンテーションの例]

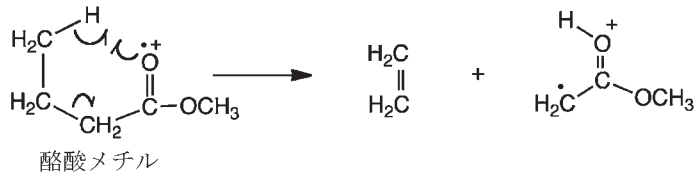
ラジカルによる開裂



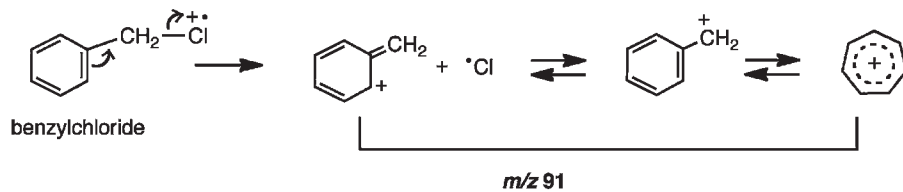
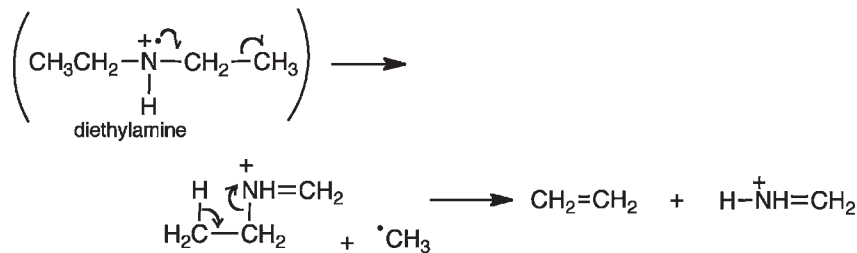
イオンによる開裂



ラジカルによる転位反応



イオンによる転位反応



ここで示した benzoyl (m/z 105), benzene (m/z 77), benzyl (m/z 91)などは、マススペクトルで強度の強いピークとなることが多く、解析に大いに役立つ。またこれらの骨格を含む化合物のマススペクトルは国家試験に頻出している。

また、benzene (m/z 77) と benzyl (m/z 91) から ethylene (m/z 26) がそれぞれ脱離した m/z 51, m/z 65, のピークもセットで覚えておくと解析に役立つ。

7. 高分解能測定 (精密質量測定)

7-1. 分解能について

この図のように強度の等しい隣接した2本のピークの重なるの谷がベースラインからピークの高さの10%の位置にある時、分解能をピークの質量と2つのピークの質量差の比 $m_1/m_2 - m_1$ で表す。

このような分解能の表し方を10%谷定義の分解能という。

この式から、 m/z 100.0と m/z 100.1を区別するには、分解能1000を、 m/z 1000.0と m/z 1000.1を識別するには分解能10000の能力を持つ装置が必要であることがわかる。

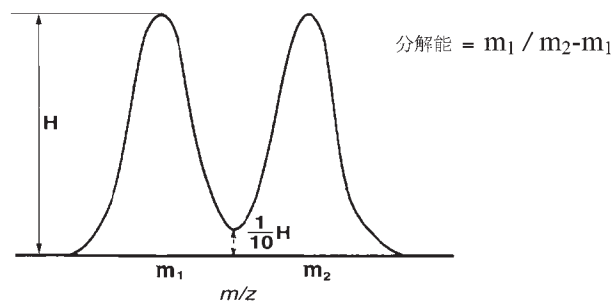


Fig. 24. 10%谷定義による分解能

一方、一本のピークの高さの50%の位置におけるピーク幅により分解能を表す定義 (FWHM, full width at half maximum) もよく使われる。同じ分

離度でも FWHM で表した分解能は10%谷のそれより2倍ほど高い値になる。

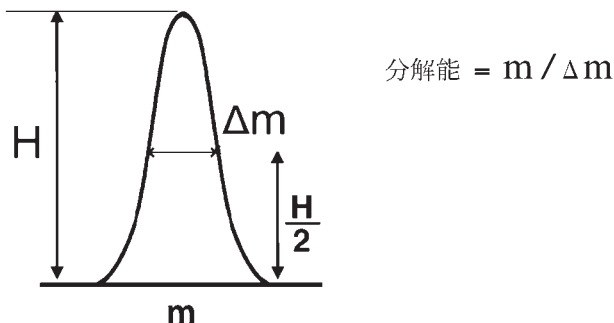


Fig. 25. FWHM による分解能

7-2. 高分解能測定 (精密質量測定) について

高分解能とは 1u 以下の識別ができる分解能をいうが、ここでの高分解能測定は、分子の質量を $1 \times 10^{-3} \text{u}$ 以下まで精密に測定する (精密質量測定) ことによって組成式を決定する方法をいう。

炭素 ^{12}C の質量を 12.00000 とすると、 ^1H は 1.00782, ^{14}N は 14.00307, ^{16}O は 15.99491 のように、必ず端数を持つ。従って分子量が同じ化合物でも構成元素の種類や数が異なれば、その端数は組成に従って固有の値をもつ。たとえば、分子量が 32 の化合物として O_2 , $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, N_2H_4 など様々

な原子の組み合わせが考えられるが、その精密質量はそれぞれ 31.9898, 32.0262, 32.0375 のように異なるため、小数点以下 4 桁くらいまで精密に測定できればその原子組成が決定できる。

[例]

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$ (精密質量 534.2479u) と $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$ (精密質量 534.2465u) を分離するために必要な分解能 (10% 谷定義) は、 $534.2465 / (534.2479 - 534.2465) \approx 380000$ である。ただし、汎用されている二重収束磁場型質量分析計の分解能は数万くらいなので、二重収束磁場型質量分析計では、これら 2 つの化合物は識別困難ということになる。

7-3. 高分解能測定結果の見方

JEOL JMS-700 (2) で測定した結果は、以下のように出力される。

Observed m/z	Int %	Err [ppm/mmu]	U.S.	Composition
534.2468	100.0	-2.0/-1.1	15.0	$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_6$
		+0.5/+0.3	10.0	$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$
		+3.0/+1.6	10.5	$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_3\text{O}_9$

Observed m/z は測定値, Int % はイオン強度, Err [ppm/mmu] は測定値と理論値 (計算精密質量) の差を ppm と 10^3 倍で表わした Error 値,

U.S. は不飽和度 (環の数, 二重結合, 三重結合の数の和) を組成式から算出した値, Composition は組成式を示す。

一般に, Error 値は m/z 500までの化合物で ± 3 ($\pm 0.003u$), m/z 500から1000なら ± 5 ($\pm 0.005u$)

であればその組成式である可能性が高い.

8. MS に関する薬剤師国家試験問題

ここ10数年間の薬剤師国家試験をみると, マススペクトルの問題が毎年必ず1問出題されている.

各設問の正誤を消去法で選ばずに明確に答える

ためには, 高度な MS の原理, 解析能力が必要であると思われる. しかし, 本稿で述べた原理や窒素ルール, McLafferty 転位, 芳香環を持つ化合物の特徴的なフラグメント, 特徴的な同位体ピークなどの基礎を十分理解しておけば, 自信を持って正誤判断できる設問がほとんどである.

9. 本学の利用状況

JMS-700 (2) が本学で稼働し始めた2006年度

から2011年9月現在までの学内測定件数は, EI (CI): 1636件, FAB: 2201件, ESI: 392件であった. その他学外からの依頼は43件であった.

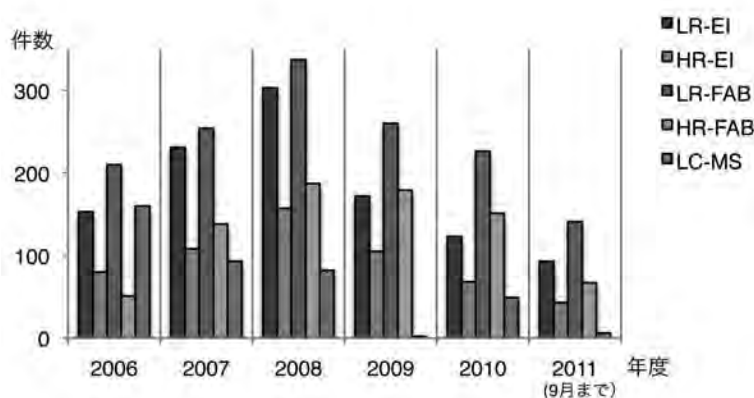


Fig. 26. 過去5年間における本学でのマススペクトル測定件数

10. おわりに

質量分析装置の発展とともに, 質量分析を取り巻く環境も刻々と変化してきている. ここ20年くらいで変わってきたことをいくつか述べてみる.

まず, 質量の単位としてよく用いられる, amu (atomic mass unit, 原子質量単位) や mu (mass unit, 原子質量単位), mmu (milli-mass unit, 原子質量単位の千分の一) などは, 単位として公認されていないため, 現在は推奨されておらず, 質量の公式単位としては, u (unified atomic mass unit, 統一原子質量単位) もしくは Da (Dalton,

ダルトン) だけが認められている ($1 u = 1 Da$). もちろん u, Da に10の整数乗倍を表す接頭語 m (milli, ミリ), k (kilo, キロ) などを用いた単位は認められている.

また, 慣用的によく使われていた「親イオン」「娘イオン」は科学的でなく, 現代にそぐわない呼び方であることから推奨されなくなった.

「MS (マス)」という略語が, マススペクトロメトリーという分析法, 質量分析計という装置, チャートの一マス, 質量, マススペクトルなど様々な意味を持ち, 何を表わしているのが不明瞭であるため, 複数の略語として MS を使わない

こと。従ってMSをマスとは読まず、エムエスと読むことが推奨されるようになった。

FABやESI, APCIなどのイオン化が実用化し、分子イオンにプロトンやナトリウムイオンが付加したイオンが分子量を表すピークとして検出されることが多く見られるようになった。そこでこれらイオンの付加した分子イオンのことを「疑似分子イオン」と呼んだり、「分子量関連イオン」と言われたりしたが、現在では M^+ は分子イオン、 H^+ が付加すればプロトン化分子、 Na^+ が付加すればナトリウムイオン付加分子のように具体的に呼ぶことが推奨されている。

最後に、本稿では本学において測定可能である手法に重点をおいて述べたが、本学の学生及び研究者のマススペクトルガイドとして、質量分析を理解する一助となれば本稿の目的の大方は達成され、幸いに思う。

謝 辞

本学で質量分析に携わるにあたり、初歩からMSについてご教示、ご指導頂きました神戸薬科大学、齋木加代子元准教授に深く感謝致します。また、終始ご指導ご鞭撻頂きました大阪薬科大学、春沢信哉教授に心より感謝申し上げます。さらに、技術、知識両面において有益なご教示を頂きました武庫川女子大学薬学部、堀山志朱代博士に厚くお礼申し上げます。また、適切な助言を頂きました大阪薬科学、箕浦理佐博士元助教に深く

お礼申し上げます。本稿にマススペクトル掲載を許可して頂きました大阪薬科大学、宇佐美吉英准教授に感謝致します。最後に、常に暖かく励まして頂きました大阪薬科大学、栗原拓史名誉教授に深く感謝致します。

参考文献

- 1) 中田尚男, 有機マススペクトロメトリー入門, 講談社 (1986).
- 2) 立松晃, 宮崎浩, 鈴木真言, 医学と薬学のためのマススペクトロメトリー, 講談社(1984).
- 3) 上野民夫, 平山和雄, 原田健一, バイオロジカルマススペクトロメトリー (現代化学増刊31), (1997).
- 4) 松田久, マススペクトロメトリー, 朝倉書店 (1983).
- 5) 山口健太郎, 有機質量分析 (分析化学実技シリーズ, 機器分析編16), 日本分析化学会 (2009).
- 6) マススペクトロメトリー関係用語集, 日本質量分析学会 (2009).
- 7) 吉野健一, 目から鱗のマススペクトロメトリー, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **54-58** (2006-2010).
- 8) Michael Berglund, Michael E. Wieser, *Pure Appl. Chem.*, **83**, pp.397-410 (2011).
- 9) Alison E. Ashcroft, *Ionization Methods in Organic Mass Spectrometry*, The Royal Society of Chemistry (1997).