

質量分析法: 原理

有機分析化学特論+有機化学4
第10回(2015/06/26)

基本: 磁場中をイオンが移動するとイオンの質量に反比例した力を受ける

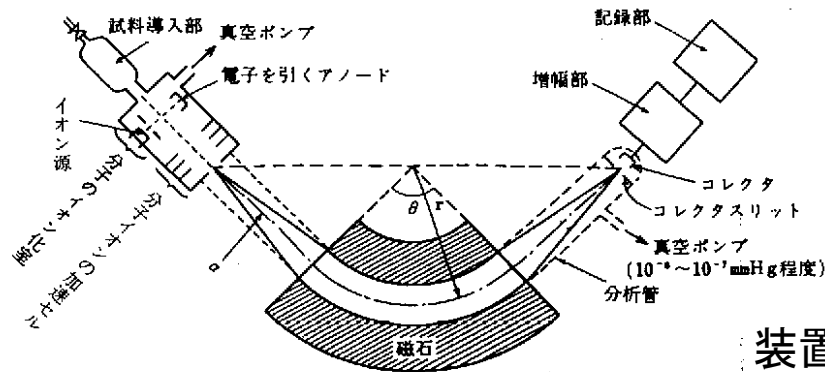


フレミングの
左手の法則

陽イオンが移動＝
→

イオンの電荷も影響:
電荷が大きい＝
＝

質量分析計の概観



質量分析計の概念図

主に3つの部分から構成される

- ・試料導入
- ・イオン生成
- ・質量分離

それぞれを理解することが
質量分析を使いこなすコツ

装置内はイオンが飛びやすいように真空にしている

イオンの持つ運動エネルギーは
加速電圧と電荷に比例

飛び出したイオンの曲がり具合は
運動量に比例、電荷と外部磁場に反比例

z : イオンの電荷
 m : イオンの質量
 v : イオンの速度
 U : 加速電圧
 r_m : 湾曲半径
 B : 磁場強度

二乗して v に左の式を代入

質量分析の
基本式

分子質量と分子量の違いについて

※原子量＝

例：炭素の原子量＝ $12.011 = 12.0000 \times 98.9\% + 13.0034 \times 1.1\%$

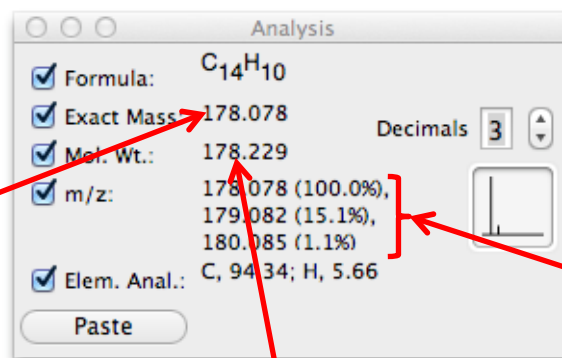
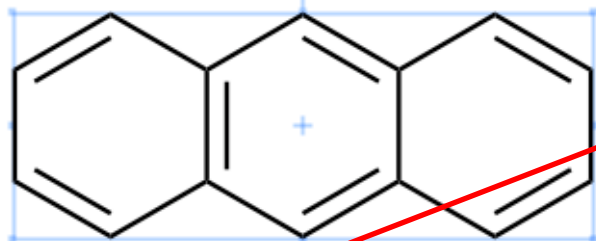
水素の原子量＝ $1.00794 = 1.00783 \times 99.99\% + 2.0141 \times 0.01\%$

※

→分子量は同位体質量と天然存在比を考慮して
分子1個あたりの平均質量として計算される

→質量分析では異なる分子質量ごとの
ピークが別々に観測される

ChemDrawのAnalysis機能



存在比最大の分子質量

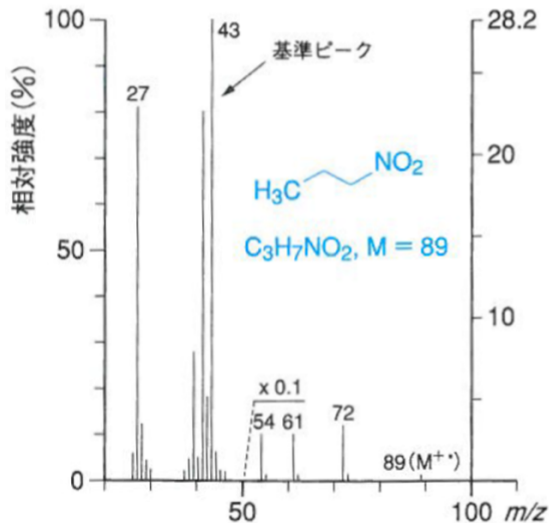
分子量＝分子1個あたりの平均質量

観測される同位体ピークの
分子質量ごとの割合

質量分析法：測定でわかること

イオンの質量≒試料分子の質量がわかる

質量分析スペクトル



縦軸：各イオンの相対強度

横軸：質量と電荷の比←

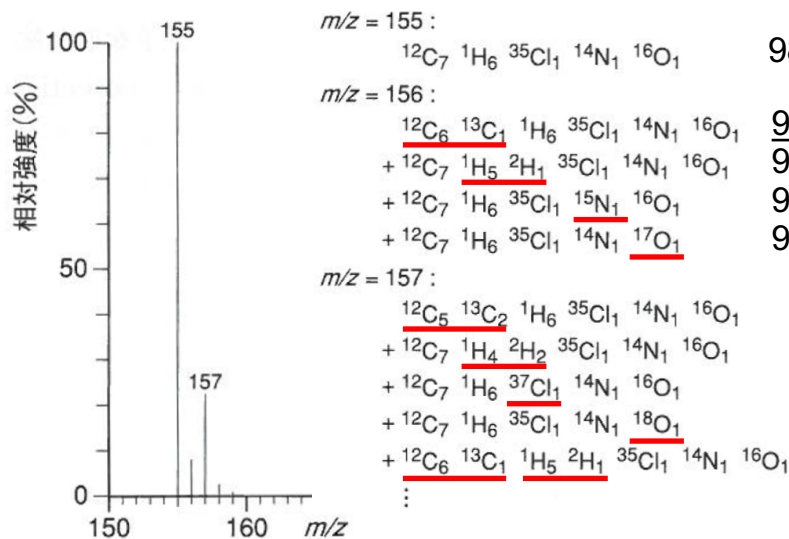
最も大きな質量のピークは

塩基性の非共有電子対を持つ化合物では
プロトン化された

同位体ピーク

C_7H_6ClNO のスペクトル

同じ組成を持つ分子でもどの同位体がいくつ含まれるかにより
質量の異なるピークを与える

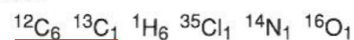


$m/z = 155 :$

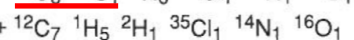


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$

$m/z = 156 :$



$$\underline{98.9\%^6} \times \underline{1.1\%} \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$



$$98.9\%^7 \times \underline{99.985\%^5} \times \underline{0.015\%} \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$

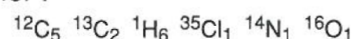


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times \underline{0.366\%} \times 99.762\%$$

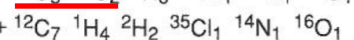


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times \underline{0.038\%}$$

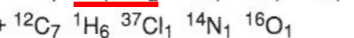
$m/z = 157 :$



$$\underline{98.9\%^5} \times \underline{1.1\%^2} \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$



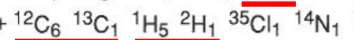
$$98.9\%^7 \times \underline{99.985\%^4} \times \underline{0.015\%^2} \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$



$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times \underline{24.23\%} \times 99.634\% \times 99.762\%$$



$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times \underline{0.200\%}$$



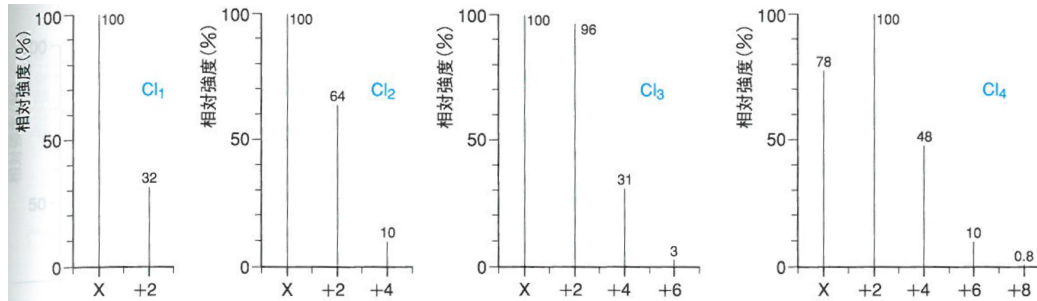
$$\underline{98.9\%^6} \times \underline{1.1\%} \times \underline{99.985\%^5} \times \underline{0.015\%} \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$

質量分析法：塩素と臭素の特殊性

塩素と臭素における同位体の天然存在比

塩素： ^{35}Cl (76%), ^{37}Cl (24%) = 約3:1

臭素： ^{79}Br (51%), ^{81}Br (49%) = 約1:1



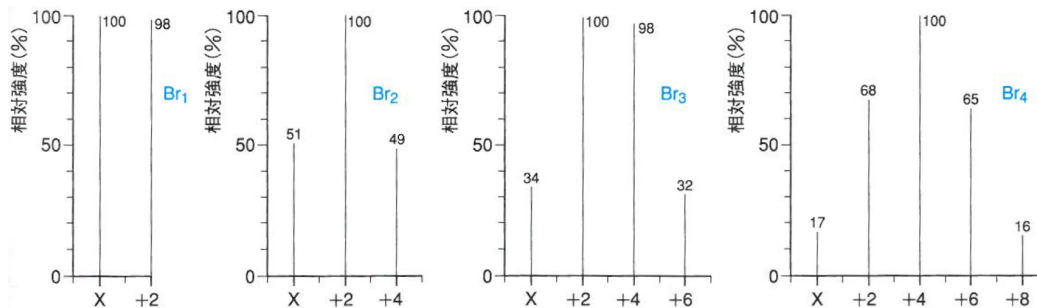
塩素をn個含んだ場合の
ピーク強度比は $(3a+1b)^n$ の
式の係数になる

※

$$(3a+1b)^2 = 9a^2 + 6ab + b^2 \rightarrow 9:6:1$$

$$(3a+1b)^3 = 27a^3 + 27a^2b + 9ab^2 + b^3 \rightarrow 27:27:9:1$$

$$(3a+1b)^4 = 81a^4 + 108a^3b + 36a^2b^2 + 12ab^3 + b^4 \rightarrow 81:108:36:12:1$$



臭素をn個含んだ場合の
ピーク強度比は $(a+b)^n$ の
式の係数になる

※

$$(a+b)^2 =$$

$$(a+b)^3 =$$

$$(a+b)^4 =$$

質量分析法: 不飽和度と窒素ルール

窒素原子(^{14}N): 偶数の原子量と奇数の原子価を持つ

※

(メチル基 CH_3 をアミノ基 NH_2 に変えたと考えれば
水素が1個減り、分子質量が1増えると想像しやすい)

⇔ 偶数個の窒素を含むor窒素を含まない化合物は偶数の分子量

不飽和度(水素不足指数):

炭素が n 個の有機分子がアルカンであれば、 $2n+2$ 個の水素を持つ

→ アルケンなら $2n$ 個の水素、アルキンなら $2n-2$ 個の水素、

シクロアルカンなら $2n$ 個の水素を持つ

→ アルカンからいくつの水素が不足しているかを計算し、

2で割ると π 結合と環の個数を求められる

不飽和度 =

質量分析法：精密分子質量と高分解能測定

整数質量と精密分子質量

整数質量：各同位体の質量を整数に近似して計算した分子質量

※組成式が異なっても

例： C_3H_8 ：

CO_2 ：

精密分子質量：各同位体の質量を正確に計算した分子質量

通常は最も存在比の大きなもののみに注目

※組成式が異なると

例： C_3H_8 ：

CO_2 ：

→

高分解能測定により精密分子質量を決められる

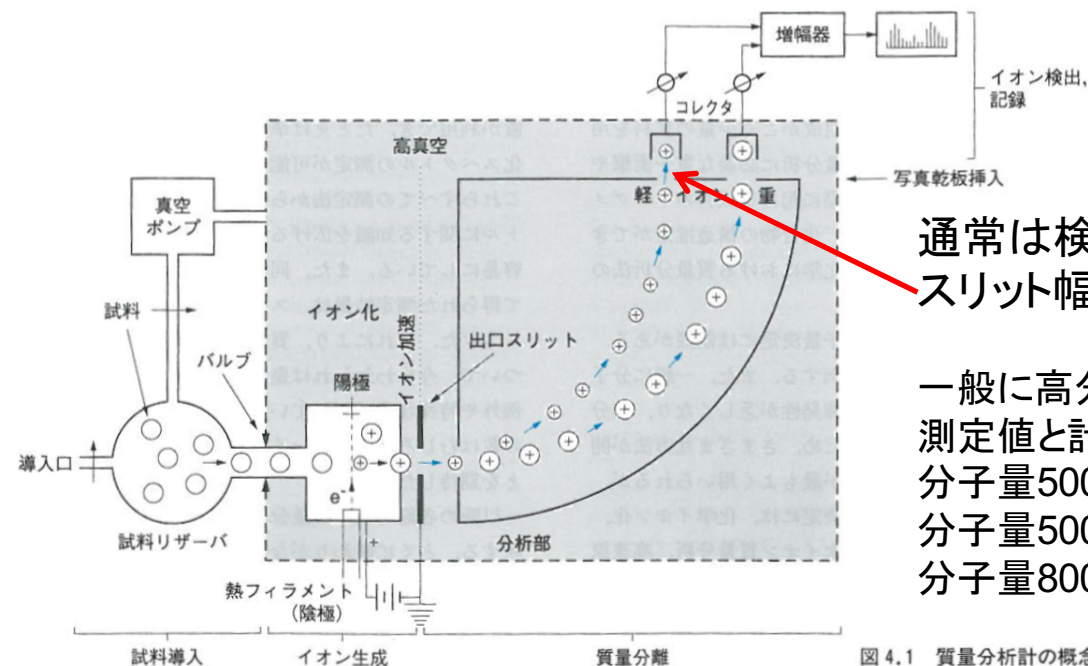


図 4.1 質量分析計の概念図

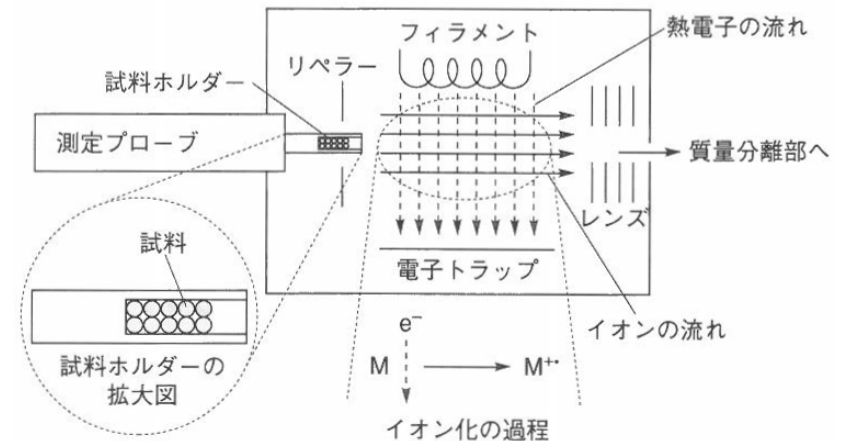
通常は検出部へイオンが到達する際に
スリット幅を狭くすると分解能が上がる

一般に高分解能測定においては
測定値と計算値の誤差が小さくなる必要あり
分子量500以下なら3ppm以下
分子量500-800なら4ppm以下
分子量800-1000なら5ppm以下

質量分析法: 様々なイオン化法①

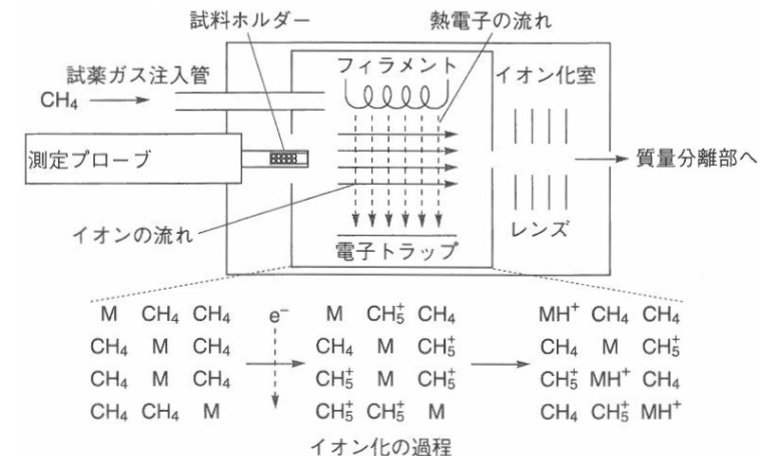
電子衝撃イオン化法(EI: electron ionization or electron impact)

- 有機化合物に
- 最も古典的なイオン化法
- 分子質量は1000程度まで
- ◎装置が簡単
- ◎大きなデータベースがある
- ×有機化合物の骨格が壊れやすい
(フラグメンテーション)
- ×気化しやすい試料にしか使えない



電子衝撃法(CI: chemical ionization)

- 有機化合物に
- 分子質量は1000程度まで
- ◎装置が簡単
- ◎EI法よりも分子が少し壊れにくい
- ◎反応ガスに CH_2Cl_2 を使うと陰イオンも検出可能
- $M + Cl^- \rightarrow [M-Cl]^-$
- ×気化しやすい試料にしか使えない



質量分析法:様々なイオン化法②

高速原子衝撃法(FAB: fast atom bombardment)

マトリックスと混合した有機化合物に

分子質量は3000程度まで

◎揮発性の低い試料も測定可能

◎熱に不安定な試料も測定可能

◎数ナノモル程度で測定できる

×マトリックス分子のピークも現れる

×気化しやすい試料にしか使えない

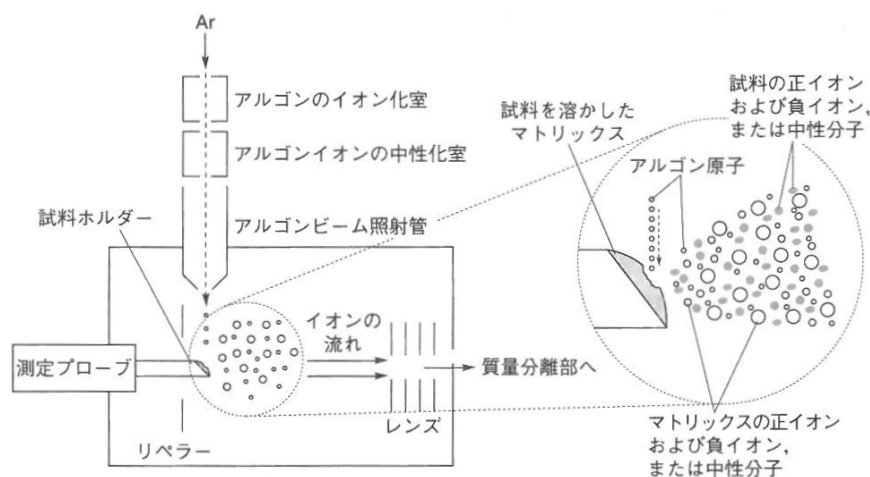


表 3-2 FAB 法で使用されるおもなマトリックス

種 類	分子量	性 質	おもに検出されるマトリックスの m/z 値 (+) : 正イオンモード測定 (-) : 負イオンモード測定	測定に適した試料 (分子量約 3000) (以下の化合物)
グリセロール (glycerol)	92	水溶性の試料とよく混和する。試料にプロトンを与えやすくプロトン化分子を生成させる。自身のプロトン化分子も容易に生成する	(+) : 45, 57, 75 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 93 [M+H] ⁺ , 115 [M+Na] ⁺ , 185 [2M+H] ⁺ , 207 [2M+Na] ⁺ , 277 [3M+H] ⁺ , 369 [4M+H] ⁺ , 461 [5M+H] ⁺ (-) : 91 [M-H] ⁻ , 183 [2M-H] ⁻ , 275 [3M-H] ⁻ , 367 [4M-H] ⁻ , 459 [5M-H] ⁻	塩基性化合物 中性化合物
3-ニトロベンジル アルコール (3-nitrobenzyl alcohol; 3-NBA)	153	試料にプロトンを与え、プロトン化分子を生成させる。また、試料から電子を引き抜きやすく、試料のラジカルカチオンも生成させやすい	(+) : 136 [M+H-H ₂ O] ⁺ , 154 [M+H] ⁺ , 289 [2M+H-H ₂ O] ⁺ , 307 [2M+H] ⁺ (-) : 152 [M-H] ⁻ , 153 M ⁻ , 305 [2M-H] ⁻ , 306 2M ⁻ , 458 [3M-H] ⁻ , 459 3M ⁻	塩基性化合物 難水溶性化合物
チオグリセロール (thioglycerol)	108	蒸気圧が高いため持続力に欠けるが、グリセロールよりも試料にプロトンを与えやすい。一般に、グリセロールと混和させて用いる	(+) : 単独ではあまり用いられない	グリセロール使用時にプロトン化分子の強度が弱い化合物
ジエタノール アミン (diethanolamine; DEA) NH(CH ₂ CH ₂ OH) ₂	105	おもに負イオンモードで用いられる。試料からプロトンを引き抜きやすく、脱プロトン化分子を生成させる	(-) : 104 [M-H] ⁻	酸性化合物
トリエタノール アミン (triethanolamine; TEA) N(CH ₂ CH ₂ OH) ₃	149	ジエタノールアミンよりも難水溶性試料とよく混和する。おもに負イオンモードで用いられる。試料からプロトンを引き抜きやすく、脱プロトン化分子を生成させる	(-) : 148 [M-H] ⁻	酸性化合物 難水溶性化合物

質量分析法: 様々なイオン化法③

電子スプレーイオン化法(ESI: electrospray ionization)

有機化合物の溶液に電圧をかけると

分子質量は100,000程度まで

水/MeOH/CH₃CN/THFなどを混合溶媒として使用

◎小さめのペプチドや糖オリゴマーなども測定可能

◎多価イオンが生成するので

測定範囲以上のイオンでも検出される

◎金属錯体などの不安定化合物も

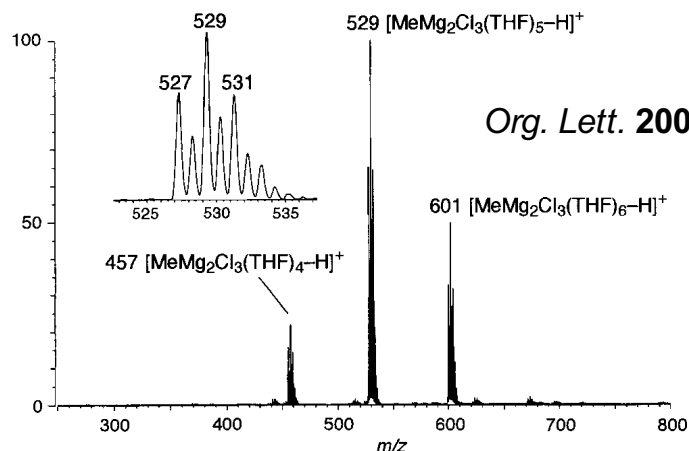
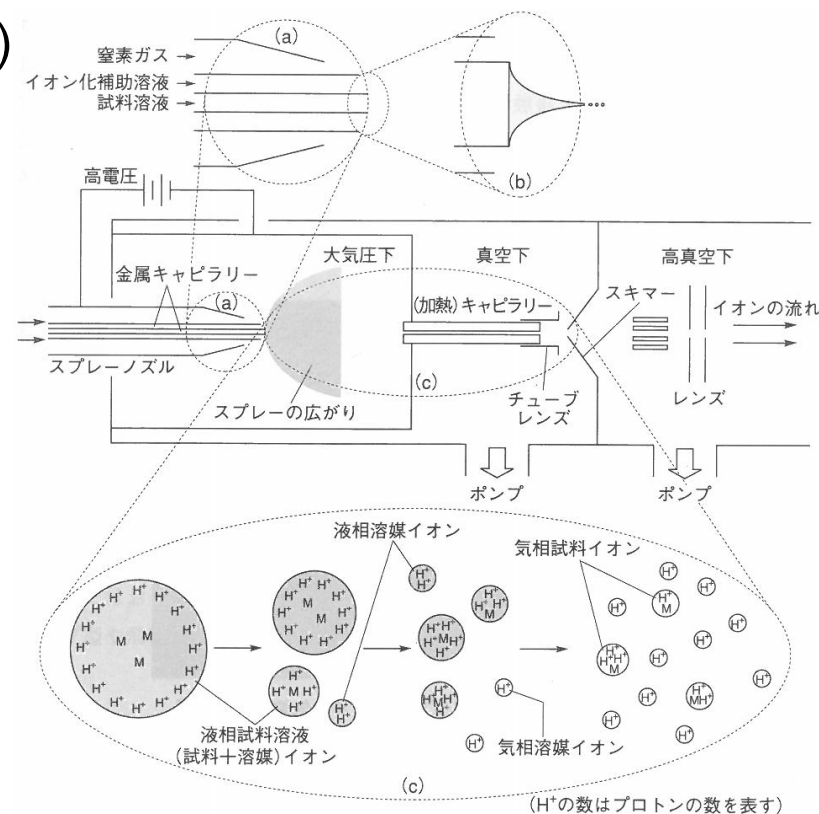
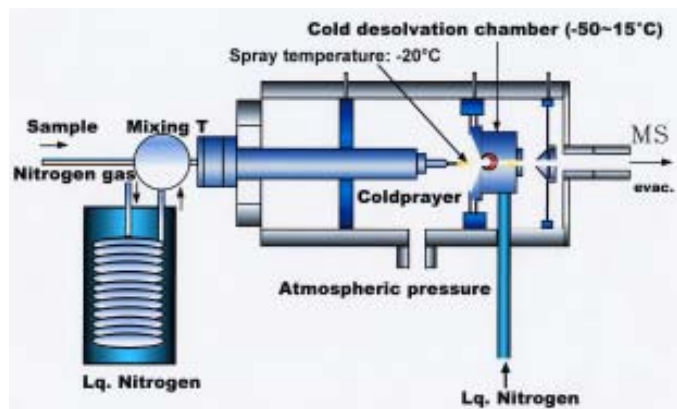
状況によっては測定可能

×試料を溶液にしなければいけない

低温スプレーイオン化法(CSI: coldspray ionization)

◎解離しやすい大型の金属錯体や

加水分解しやすい有機金属化合物を測定できる



質量分析法: 様々なイオン化法④

大気圧化学イオン化法(APCI: atmospheric pressure chemical ionization)

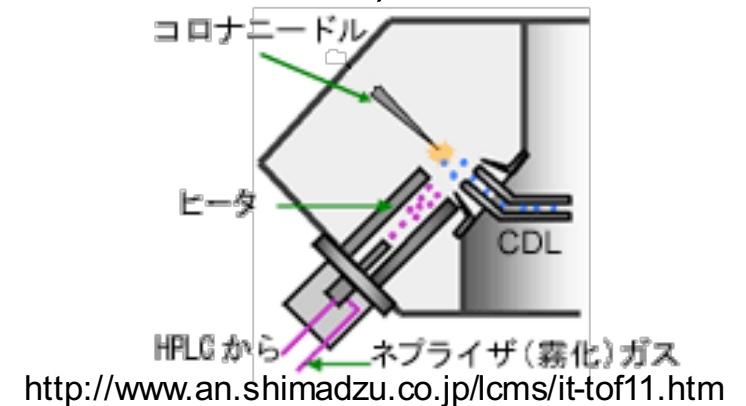
有機化合物の溶液をヒーター(400°C)中でスプレーして
気化した溶媒分子がコロナ放電でイオン化された後に

分子質量は1000程度まで

◎主に脂溶性の高い化合物・溶液中でイオン化
しにくい化合物の分析に使用

×試料を溶液にしなければならない

×一部フラグメンテーションが起こる



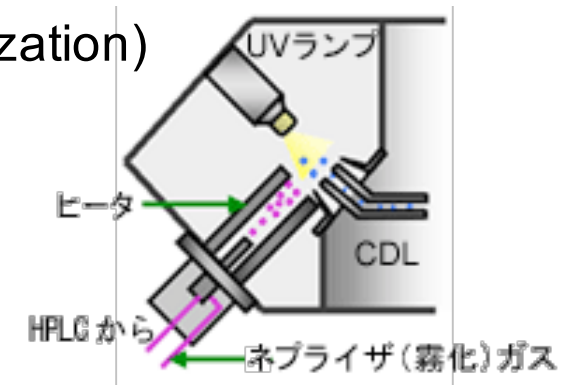
大気圧光イオン化法(APPI: atmospheric pressure photo-ionization)

有機化合物の溶液をヒーター(400°C)中でスプレーして

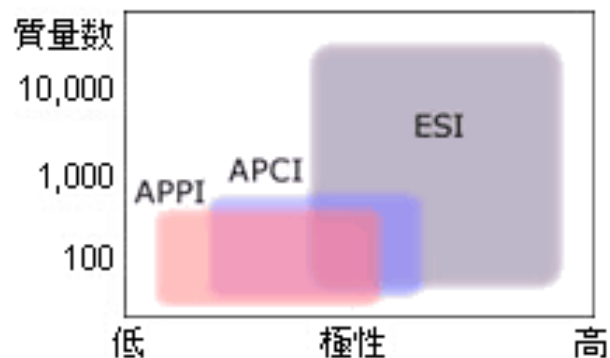
分子質量は1000程度まで

◎APCI法よりも低極性の化合物に使える

◎フラグメンテーションが起こりにくい



ESI vs. APCI vs. APPIについて



質量分析法: 様々なイオン化法⑤

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI: matrix-assisted laser desorption ionization)

有機化合物をマトリックスと混合して混晶を作り

分子質量は1,000,000程度まで

◎最も汎用性の高いイオン化法

◎低分子から高分子化合物まで測定可能

◎タンパク質の測定が可能になる

×マトリックスに含まれる Na^+ などが結合した
 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ が検出されることがあり

DART MS (DART: direct analysis in real time)

電極からの放電でヘリウムがイオン化され

固体・液体・気体のサンプルを直接分析可能

◎TLC上のスポットを直接分析できる

◎生体組織などを直接分析できる

◎タンパク質の測定が可能になる

