

質量分析法：原理

有機分析化学第10回
(2020/5/19)

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

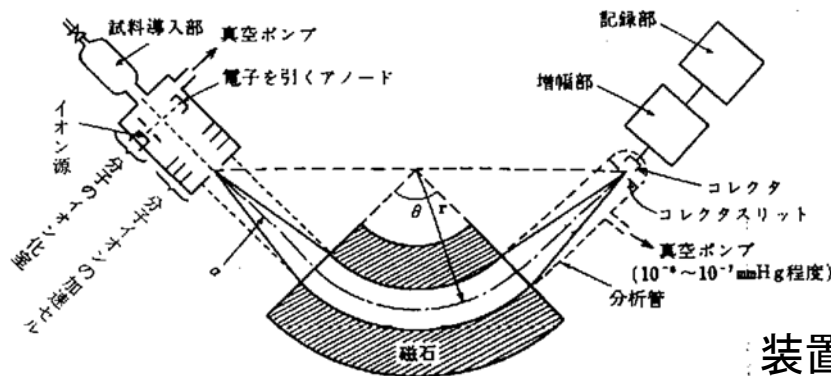


フレミングの
左手の法則

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

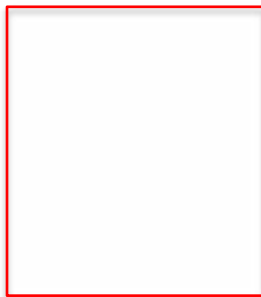
主に3つの部分から構成される

- ・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



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

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



二乗して v に左の式を代入



質量分析法：基本用語の整理と測定でわかること

基本用語の整理

※質量数＝原子・分子・イオンを構成する陽子と中性子の数の合計＝必ず整数

※統一原子質量単位(unified atomic mass unit)

=

例： ^1H 1.00783, ^{13}C 13.0034

※原子量＝特定の元素において同位体質量と存在比を考慮した加重平均値のuに対する比

例：炭素(^{12}C が98.9%, ^{13}C が1.1%)の原子量 = $12.0000 \times 98.9\% + 13.0034 \times 1.1\% = 12.011$

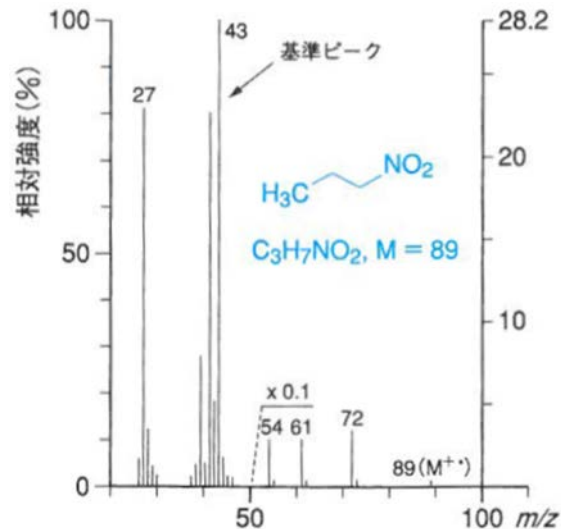
水素(^1H が99.99%, ^2H が0.01%)の原子量 = $1.00783 \times 99.99\% + 2.0141 \times 0.01\% = 1.00794$

※分子量＝分子を構成する原子の原子量の和

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

実際の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 m/z ←

※ m/z はノミナル質量とほぼ同じ

※ノミナル質量：

ノミナル質量の計算例：

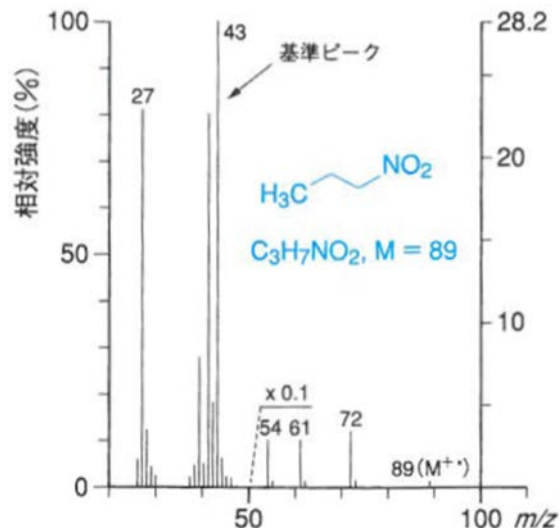
C_3H_8 : $12 \times 3 + 1 \times 8 = 44$

CO_2 : $12 + 16 \times 2 = 44$

質量分析法：分子イオンピークと同位体ピーク

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



イオンが分解した小さな質量のピークも観測される
(フラグメンテーション：後に詳しくやります)

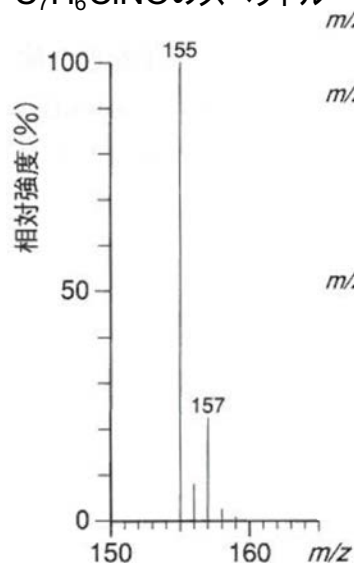
最も大きな質量のピークは

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

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

$\text{C}_7\text{H}_6\text{ClINO}$ のスペクトル

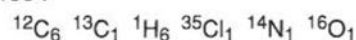


$m/z = 155$:

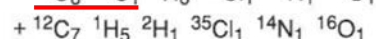


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$

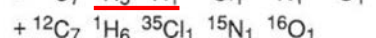
$m/z = 156$:



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



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

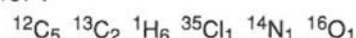


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 0.366\% \times 99.762\%$$

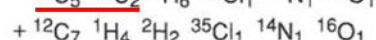


$$98.9\%^7 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 0.038\%$$

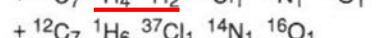
$m/z = 157$:



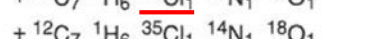
$$98.9\%^5 \times 1.1\%^2 \times 99.985\%^6 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$



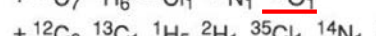
$$98.9\%^7 \times 99.985\%^4 \times 0.015\%^2 \times 75.77\% \times 99.634\% \times 99.762\%$$



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



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



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

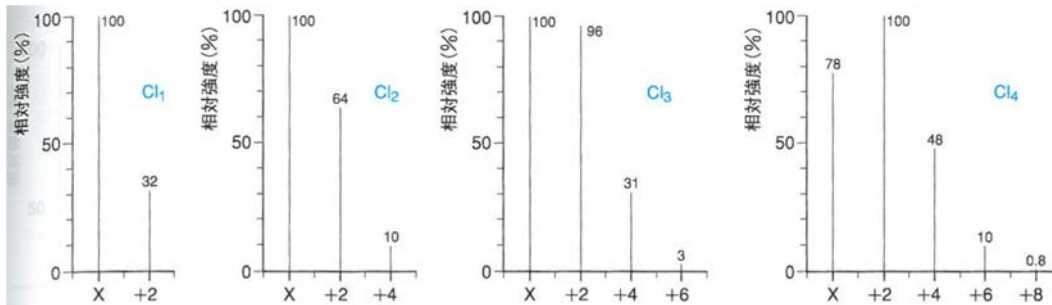
⋮

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



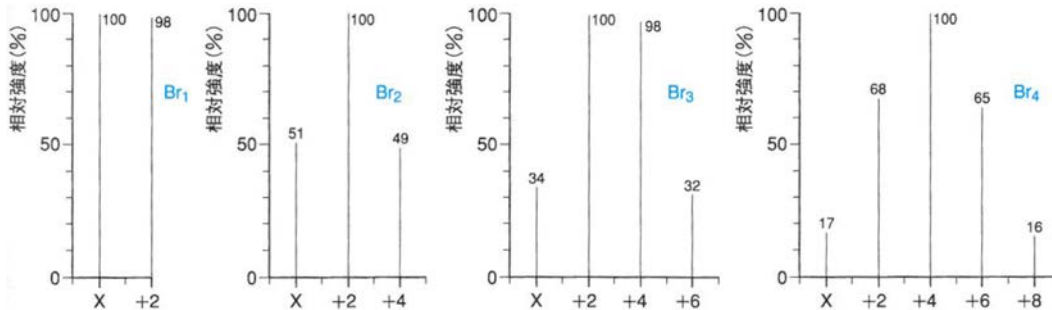
塩素をn個含んだ場合の
ピーク強度比は $(3a+1b)^n$ の
式の係数になる

※

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

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

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



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

※

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

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

$$(a+b)^4 = a^4 + 4a^3b + 6a^2b^2 + 4ab^3 + b^4 \rightarrow 1:4:6:4:1$$

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)
 $\Leftrightarrow$ 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 =

分子の計算精密質量・ノミナル質量・分子量の違いについて

※計算精密質量＝各元素について天然存在比が最大の同位体の精密な質量を用いて計算したイオンまたは分子の質量 (モノアイソトピック質量とも呼ぶ)

※

※ノミナル質量＝各原子の最も多い同位体の質量を整数に近似して合計したイオン・分子の質量

※分子量＝分子を構成する原子の原子量の和＝1 molの分子の質量(g)＝重さを量るときに使用

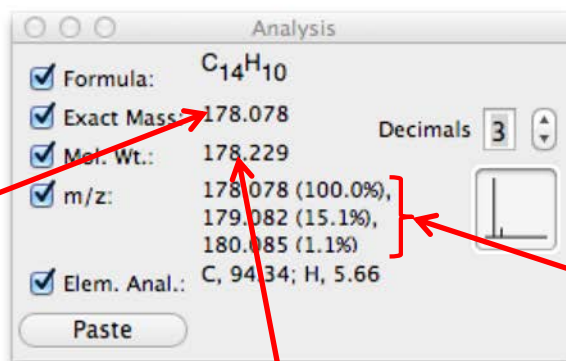
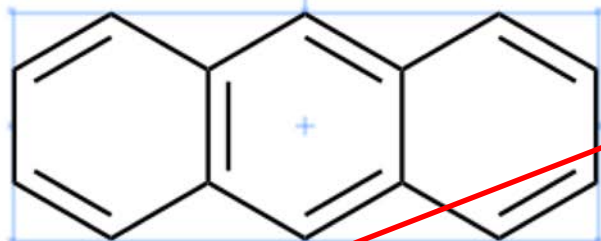
※

例: C_3H_8 : $12 \times 3 + 1 \times 8 = 44$
 CO_2 : $12 + 16 \times 2 = 44$

※

例: C_3H_8 : $12.000 \times 3 + 1.00783 \times 8 = 44.0626$
 CO_2 : $12.000 + 15.9949 \times 2 = 43.9898$

ChemDrawのAnalysis機能



観測される同位体ピークの
質量ごとの割合

計算精密質量
＝存在比最大の分子の質量

分子量＝分子1個あたりの平均質量

※

質量分析法：計算精密質量と高分解能測定

高分解能測定により測定精密質量(accurate mass)を決められる

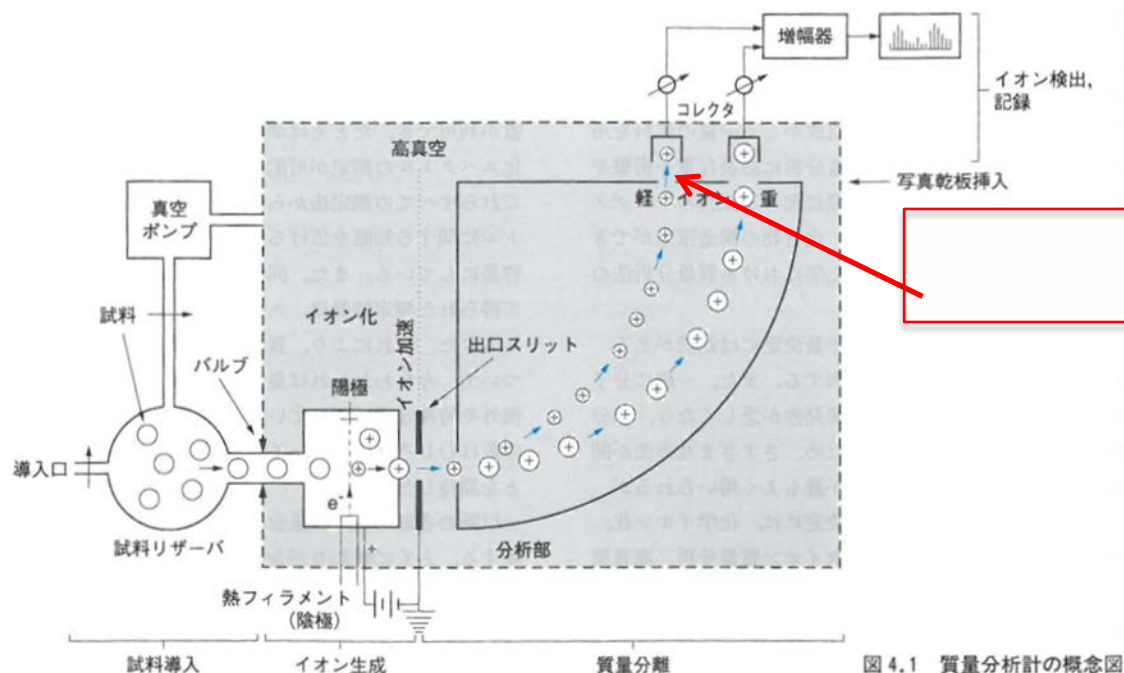
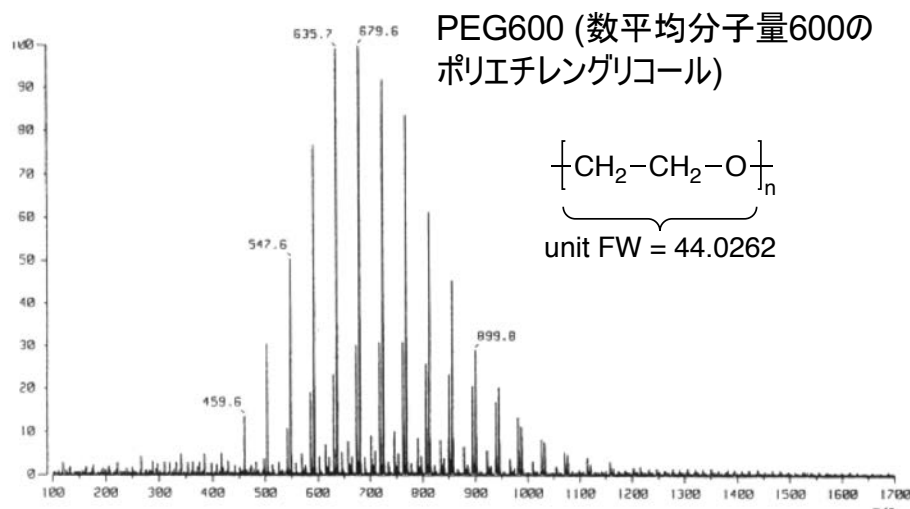


図 4.1 質量分析計の概念図

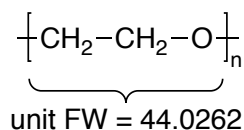
一般に高分解能測定においては
測定精密質量と計算精密質量の誤差が
以下の値より小さくなれば十分な精度で
組成が正しいと言える

計算精密質量が
500以下なら誤差3ppm以下
500-800なら誤差4ppm以下
800-1000なら誤差5ppm以下

高分解能測定の実際



PEG600 (数平均分子量600の
ポリエチレングリコール)



例: PEG400, PEG600, PEG1000...
PFK [perfluorokerosene: $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n\text{CF}_3$]
CsI [$\text{Cs}_{n+1}\text{I}_n$]⁺や[$\text{Cs}_n\text{I}_{n+1}$]⁻が検出される
YOKUDERUNA (CF_3COONa)
YOKUDEMASE-7000 ($\text{C}_3\text{F}_7\text{COONa}$)

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

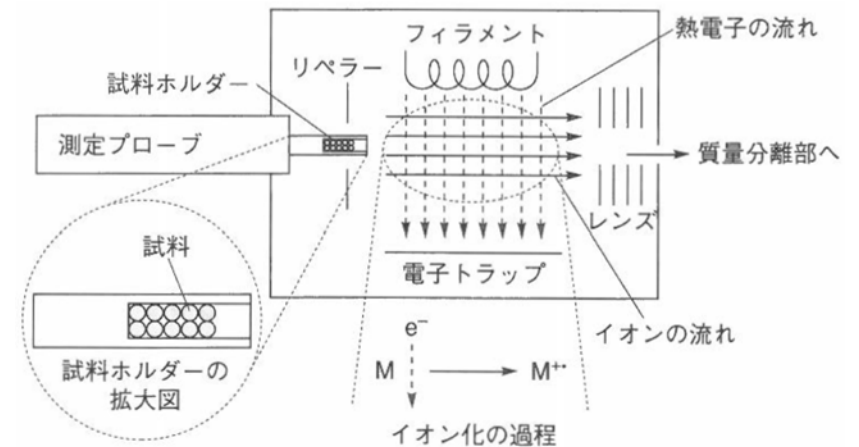
分子質量は1000程度まで

◎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



化学イオン化法(CI: chemical ionization)

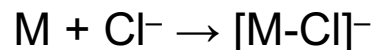
有機化合物に

分子質量は1000程度まで

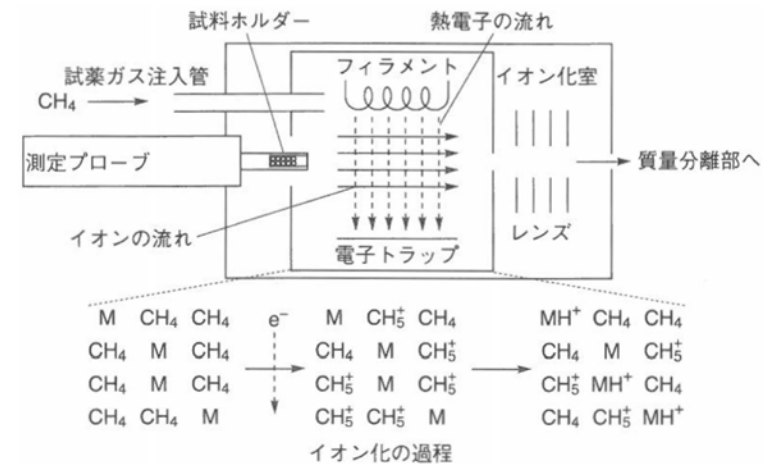
◎装置が簡単

◎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



×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

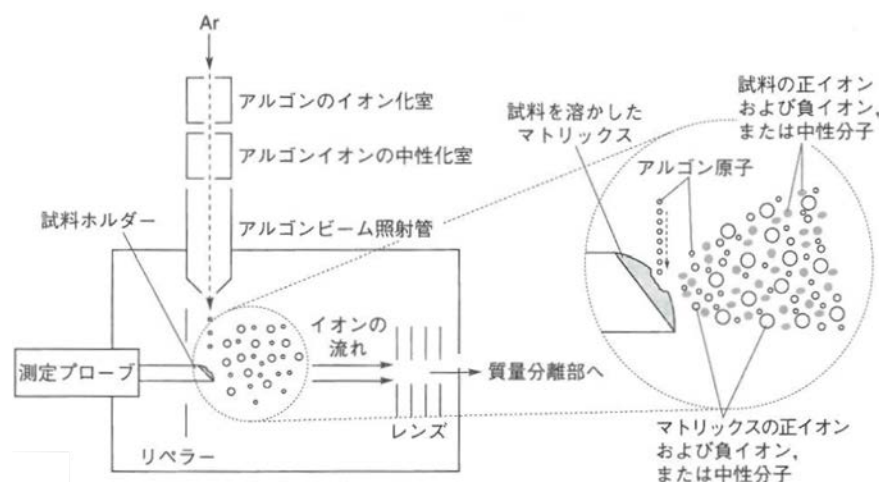
◎熱に不安定な試料も測定可能

◎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

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 $[M+H-H_2O]^+$, 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 $[M+H-H_2O]^+$, 154 $[M+H]^+$, 289 $[2M+H-H_2O]^+$, 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) $NH(CH_2CH_2OH)_2$	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) $N(CH_2CH_2OH)_3$	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

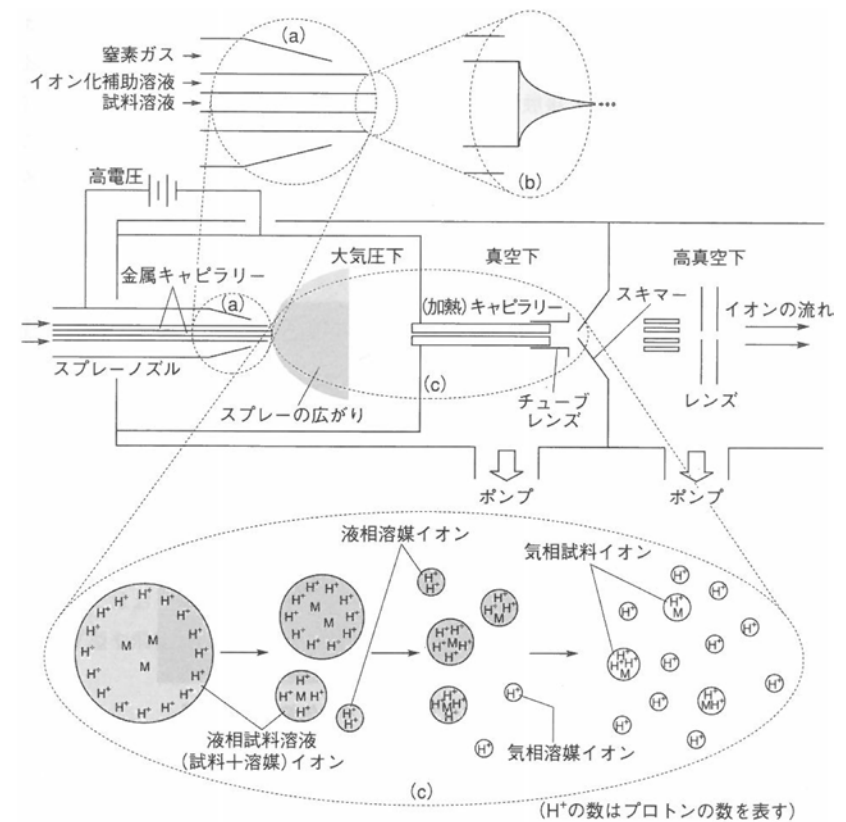


質量分析法: 様々なイオン化法③

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

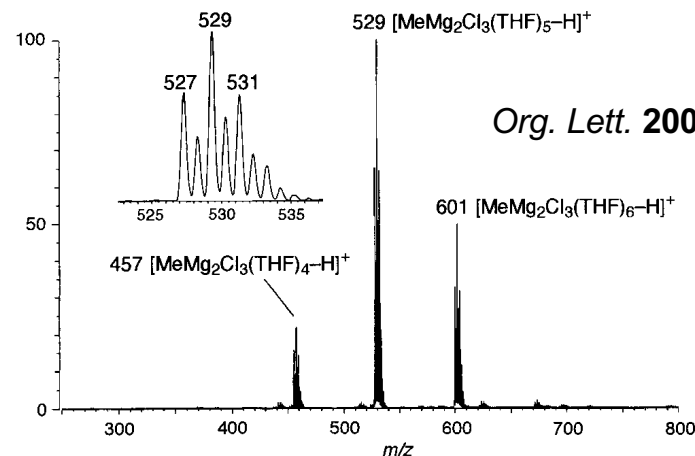
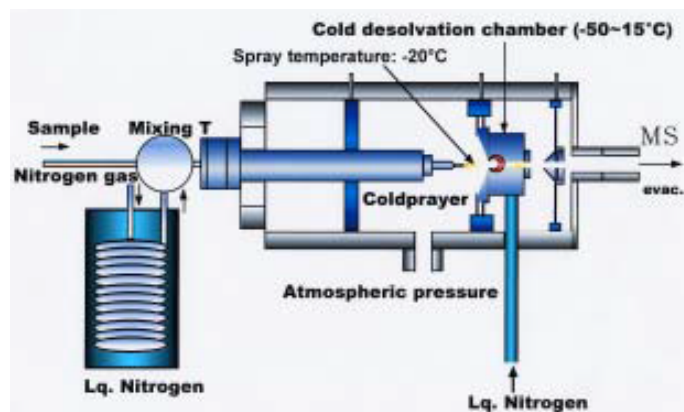
有機化合物の溶液に電圧をかけると

- 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ならない



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

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

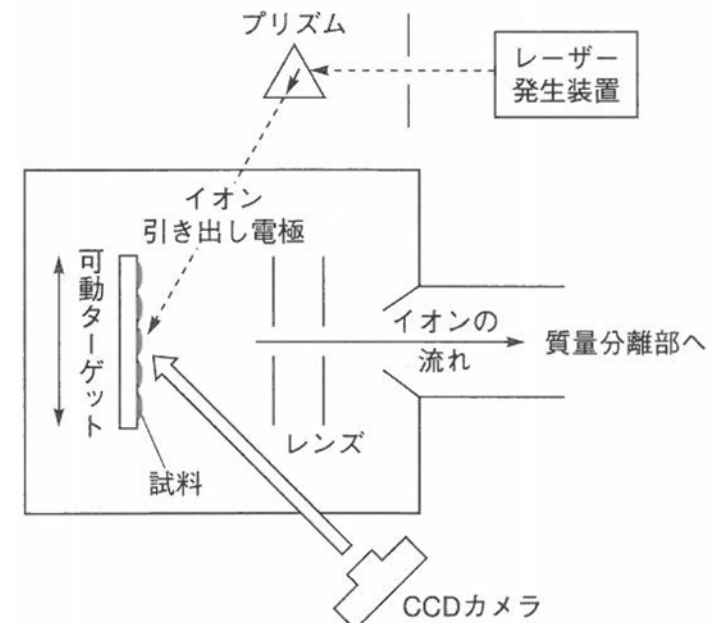
分子質量は1,000,000程度まで

◎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)

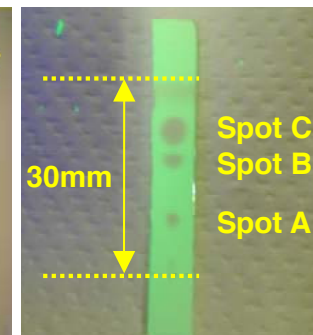
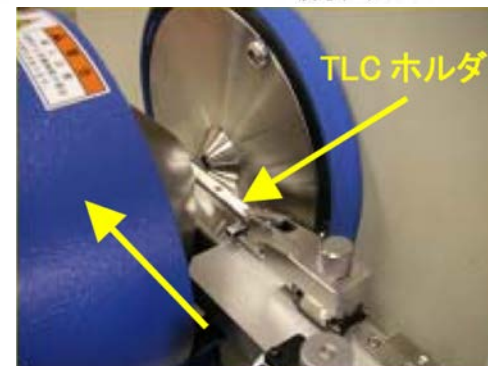
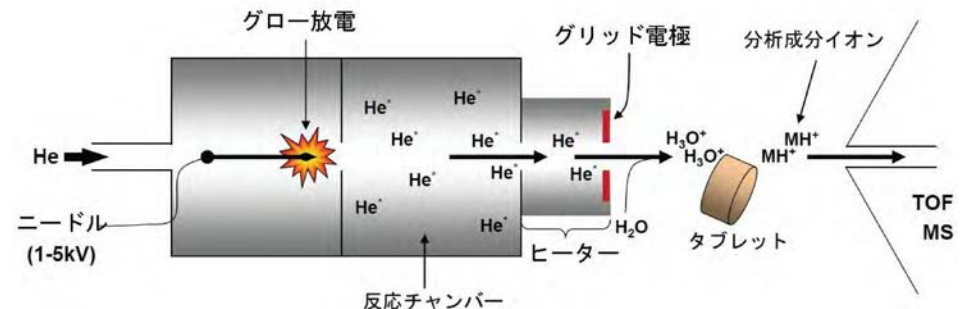
電極からの放電でヘリウムがイオン化され

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



質量分析法：様々なイオン化法⑤

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

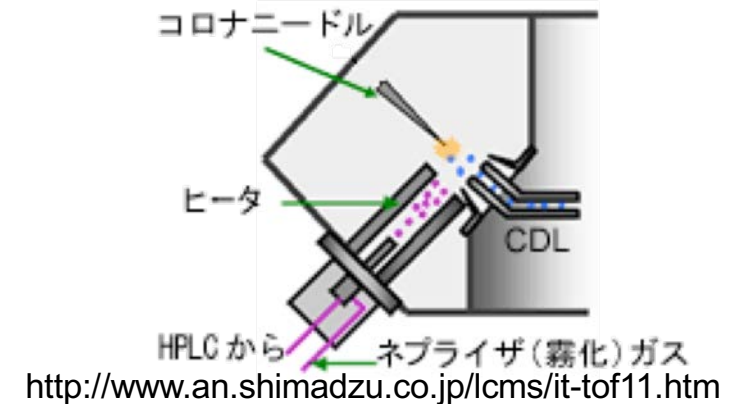
有機化合物の溶液をヒーター(400℃)中でスプレーして
気化した溶媒分子がコロナ放電でイオン化された後に

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いけない

×一部フラグメンテーションが起こる



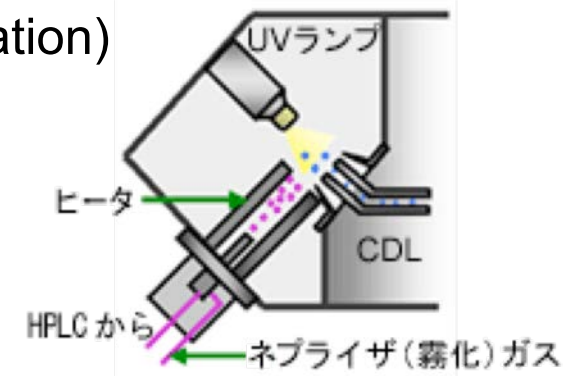
大気圧光イオン化法(APPI: atmospheric pressure photo-ionization)

有機化合物の溶液をヒーター(400℃)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

