

# 高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC/MS)

## 1. 装置概要

機種：i) アジレントテクノロジー製 LC/MSD TOF 1100 システム

[Agilent 1100 LC/MSD TOF System]

ii) アジレントテクノロジー製キャピラリー電気泳動装置

[Agilent Capillary Electrophoresis System]



設置場所：駿河台校舎 2 号館 地下1 階 209A号室

設置年度：平成 16 年度設置

特 徴：高分解能質量分析が可能

## 2. 原理と概要

原子や分子のレベルで質量をはかる装置が質量分析装置である。マススペクトロメトリーでは、原子、分子、クラスターなどの粒子を気体状のイオンにして真空中で運動させ、それらイオンを質量電荷比( $m/z$ ) に応じて分離・検出する。単一成分の試料のマススペクトルを解析すると、次の三つの基本的な情報が得られる。

- ① 分子量関連イオンから分子量の情報 (分子量情報)
- ② フラグメントイオンから分子の構造 (構造情報)
- ③ 同位体イオンの高さパターンから構成元素の種類と数 (元素情報)

本装置で用いる事が出来るイオン化法は次の 2 種類で、それぞれ特徴があり、自分の測定したい化合物の性質によってイオン化法を使い分ける必要がある。

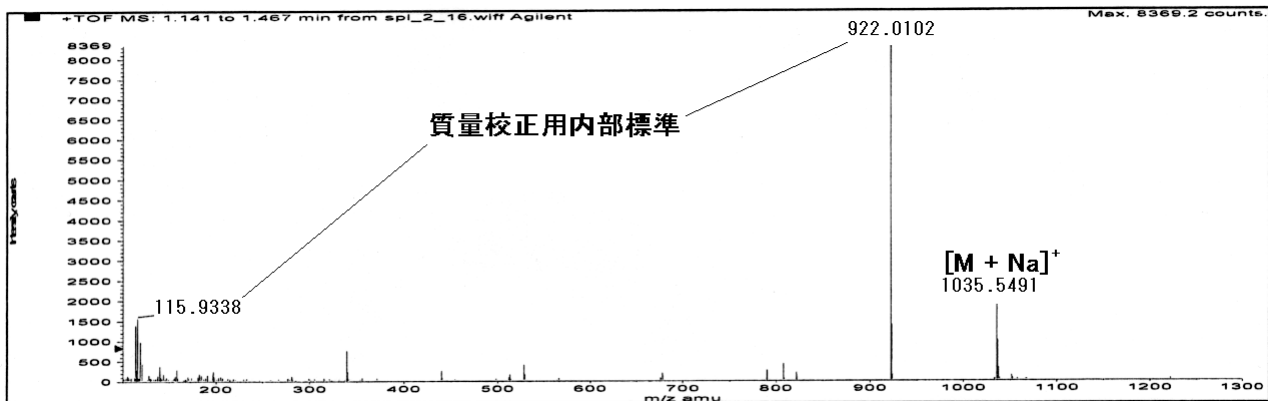
- ① エレクトロスプレーイオン化 (ESI)：電気伝導性の液体を細管に通し高電圧を印加すると、帯電した均一で微細な液滴として噴霧され、それらの液滴から溶媒を蒸発させることによって試料分子の多価イオンが生成するという原理に基づいている。分子量が 10 万程度以下の全分子量領域で測定が可能であり、生体関連物質や難揮発性の試料に有効である。プロトンやナトリウムイオンが複数付加した正の多価イオンやプロトンを放出した負の多価イオンを生成するのが特徴。
- ② 大気圧化学イオン化 (APCI)：液体クロマトグラフなどのキャピラリー先端から流出する試料溶液を加熱噴霧し、針電極によるコロナ放電を使いイオン分子反応を起こさせ、試料イオン (主にプロトン化分子 $[M+H]^+$ ) を生成させる手法。ESI に比べて比較的低極性の化合物に適用可能だが、多価イオンを生成しにくいいため実用上のイオン化可能な分子量範囲は 1000 程度が目安である。

### 3. 試料

マスマスペクトロメトリーは微量分析法であるため、一般にナノモル( $10^{-9}$ mol)からピコモル( $10^{-12}$ mol)の試料量があれば分子量情報や構造情報が得られる。試料は溶媒 (LC の移動相) に溶かすので、溶媒に溶けない化合物の測定は出来ない。マスマスペクトロメトリーでは、試料中の一個一個の原子や分子をイオンにして気相中へ取り出して分析するため、気化やイオン化に与える試料の質が分析の成否を決める。試料量が十分あっても、質の悪い試料からは質の悪いスペクトルしか得られないのがマスマスペクトロメトリーの特徴である。

### 4. LC/MSの測定例

例として Calendulaglycoside B butyl ester (分子量 1012, 分子式  $C_{52}H_{84}O_{19}$ ) の質量スペクトルを示した。マスマスペクトルの横軸は、生成したイオンの質量数  $m$  をそのイオンの電荷数  $z$  で割った値、すなわち質量電荷比  $m/z$  を表している。縦軸は、イオン化室で生成したイオンの量あるいは数を表している。生成したイオンの存在割合は相対存在量(%)で表示する。試料化合物の分子量情報の獲得に直接役立つイオンのことを分子量関連イオンと言い、通常、マスマスペクトルの最も高質量側に出現するピーク群を指す。下の図では  $m/z$  1035.5491 にあるピークが分子量関連イオンで、ナトリウム付加分子が検出されている。



Species	Abundance(counts)	Target Mass (amu)	Measured Mass (amu)	Mass Error (m/z)	Mass Error (ppm)
$[M+Na]^+$	1967.20	1035.54990	1035.54907	-0.00083	-80

$^{12}C=12.0000000Da$  とすると、各元素の質量は整数ではなく次のような値を持つ。

$^1H = 1.00782503$ ,  $^{14}N = 14.0030740$ ,  $^{16}O = 15.9949146$ ,  $^{35}Cl = 34.9688527$

従って、例えば同じ整数質量 28 を持つ  $CO(27.9949)$ ,  $N_2(28.0062)$ ,  $C_2H_4(28.0313)$  でも実際には精密質量が異なるため、これらを区別する事が出来る。つまり、高分解能質量分析を行えば、正確な分子量から分子の元素組成 (分子式) を知る事が出来る。ここで測定した  $m/z$  1035.5491 は  $C_{52}H_{84}O_{19}Na$  の分子式に一致すると計算される。

## 5. 測定

- ・測定はライセンス所得者（ライセンサー）が行ってください。
- ・ライセンサー以外の使用は認めません。
- ・不明な点は装置管理者にお尋ねください。

## 6. 申し込み

- ① 材料創造研究センターに掲示されている月別予約表を確認，記入後，申込書に必要事項を記入してください。申込書は当センターに設置してあります（または本ホームページからダウンロードしてご利用ください）。また，測定をキャンセルする場合には，ただちに予約を取り消してください。
- ② 使用期間は3時間を1単位とします。

## 7. 使用方法

### i) LC/MSD TOF

- ① 分離カラム、移動相溶媒、バイアルびん等測定に必要な器具や試薬類は申込者が用意してください。マイクロシリンジは装置備え付けのものを使用してください。
- ② 本装置は基本的には逆相系溶媒（水-メタノール-アセトニトリル系など）にて使用してください。順相系溶媒の使用はご相談下さい。緩衝液は揮発性のもののみ使用できます。
- ③ 使用開始前に装置および附属装置の点検をしてください。また，終了後は，使用開始前の状態に戻すようにしてください（原状回復義務）。
- ④ 装置は通常連続運転していますが，停止している場合は始動して測定可能な状態になるまで数日間必要となります。
- ⑤ 試料はあらかじめ精製，誘導体化などを行い，試料の分解，重合等による装置の汚れを最小限に抑えてください。また，必ずフィルターを通し，細かいゴミを取り除いてください。
- ⑥ 測定データはハードディスクに各自のフォルダを作成し，必ずその中に保存してください。個人フォルダ以外の場所にあるデータは消去することがあります。また，不測のトラブルによりデータが消失する可能性がありますので，重要なデータは必ずバックアップをとってください。データの消失につきましては，装置管理者および当センターでは一切責任を負いません。
- ⑦ 測定室利用中は，ライセンサーが責任を持って同室の管理をしてください。測定室での飲食，喫煙は厳禁です。また，ゴミはゴミ箱に捨て，測定後の試料やミスプリントは持ち帰ってください。
- ⑧ 測定終了後は必ずイオン源の洗浄を行ってください。
- ⑨ 装置の不調，故障などの場合は必ず管理者に報告してください。用紙などの消耗品が残り少ない場合にも管理者に報告してください。
- ⑩ 測定開始時刻，終了時刻など必要事項を専用ノートに必ず記入してください。測定終了後は，装置使用報告書に必要事項を記入の上，当センターに提出してください。

### ii) キャピラリー電気泳動装置

キャピラリー電気泳動装置の使用については管理者にお尋ね下さい。