

# 質量分析の基礎 ～マスペクトルの読み方を中心に～

エムエス・ソリューションズ(株)代表取締役

(株)フレックス 代表取締役社長

横浜市立大学非常勤講師

浜松医科大学細胞分子解剖学講座特任研究員

質量分析コンサルタント

**高橋 豊**

2023年4月21日 令和5年度 質量分析初歩講習会

# 演者プロフィール

- 87-90年 群馬高専、群馬大学&大学院で有機イオンの分解機構を研究
- 90年 日本電子(株)入社、LC/MS 応用研究、装置開発
- 2010年6月 日本電子(株)退職
- 2010年8月 エムエス・ソリューションズ(株)設立 代表取締役
- 2011年4月～ 横浜市立大学非常勤講師
- 2019年2月 (株)フレックス設立 代表取締役社長
- 2019年4月～ 浜松医科大学細胞分子解剖学講座特任研究員
  
- 専門:LC-MS関連装置開発、マススペクトル解析、LC/MSメソッド開発、質量分析イメージング
  
- 資格:日本分析化学会認証 LC/MS分析士五段、LC分析士二段
  
- 趣味: ラマソン、ベアフットマラソン、トライアスロン(アイアンマンレース)、スキー(全日本スキー連盟指導員)、フットボール、テニス、サッカーコーチ&審判員(JFA3級)

質量分析に関するコンサルティング、技術指導、セミナー、LC/MS用脱塩チューブ開発

## 質量分析の問題解決を強かにサポート

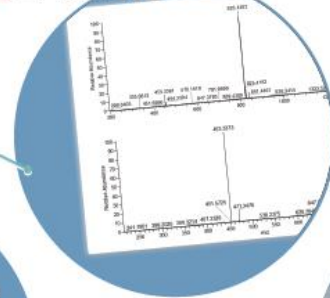
事業開始：2010年8月

### コンサルティング・技術指導等実績

- ・医薬基盤研究所
- ・国立医薬品食品衛生研究所
- ・早稲田大学理工学部
- ・ENEOS株式会社
- ・味の素株式会社 他30機関以上

技術者が現場に出向き分析からデータ解析までを代行いたします。貴社の試料に関する作業上のアドバイスなど、将来的な運用への引き継ぎのご要望にも対応いたします。

#### 分析代行



LC/MS の条件設定やデータの解析でお困りではありませんか？ コンサルタントが現場に出向き、一緒に問題を分析、解決策をご提案します。LC/MS 装置や各種ソフトウェアの選定などについても、貴社の視点に立ってお手伝いいたします。

#### コンサルティング



#### ソルナック

特許申請中のソルナックチューブをはじめとするオンライン脱塩製品。

- リン酸塩緩衝液を用いたオンライン LC/MS 分析
- TFA によるイオン化阻害の改善
- Na, K などの付加イオン削減



#### カスタム品開発

専用の周辺機器があったらよいのに、といったご不満をお持ちではありませんか？ 大手のメーカーさんでは対応できない、一点もののカスタム品についても、受注開発を請け負います。

#### ソルナックを使用した受託分析

ソルナックを貴社の LC/MS に接続して行います。

#### 受託分析

LC/MS を中心に、リーズナブルな価格で分析を請け負います。

#### インハウスセミナーへの講師派遣

初心者向けの質量分析の基礎原理から上級者向けの分析上のノウハウまで、ご要望いただいた内容でセミナーを行います。



事業開始：2019年4月 質量分析イメージング、LC/MSの受託事業

(浜松医科大学発ベンチャー)

「不老不死を目指した知財を世に出す」  
それが弊社のミッションです。



発起人、顧問 瀬藤光利

私たちは超高齢化社会に備え(フレック)して、老化や老化関連疾患の予防、診断、治療の研究を進めています。まずはその中で培われた質量分析とイメージングをコアにした生体分子の同定、観察、操作の技術を世の中に還元しつつ、いずれはよりヒトに直結した技術や製品を世に出して行くことが我々のミッションです。

「質の高い質量分析データを提供する」  
それが私たちの想いです



代表取締役 高橋 豊

近年、IMSやLC/MSに用いられる質量分析計の発展には目覚ましいものがあります。様々なアプリケーションに対応した専用ソフトも次々と開発され、誰でも簡単に分析結果を取得できるようになりました。しかし、装置やソフトに任せて得られた結果が正しいとは限りません。私達は、生データをしっかり確認し、信頼性の高いデータを提供します。

## イメージング質量分析 の受託事業

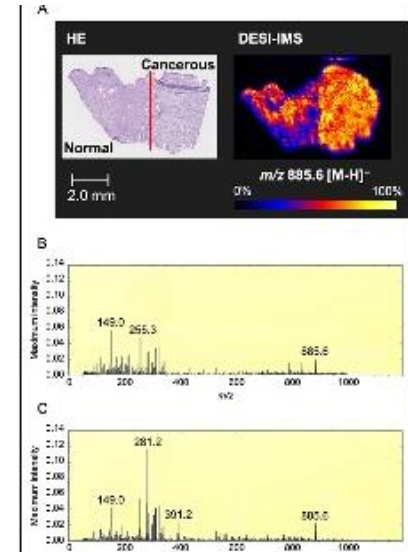
### 使用装置

#### MALDI

Bluker Solarix (FT-ICRMS)  
Ultraflex (TOFMS)  
Shimadzu IMScope (IT-TOFMS)

#### DESI

Waters Xevo QTOF  
Xevo TQ-XS



K. Tamura, M. Horikawa, S. Sato, H. Miyake and M. Setou, *Oncotarget*. 2019; 10:1688-1703

## LC/MS受託事業

### 使用装置

Thermo Q-Exactive  
Bluker Solarix (FT-ICRMS)  
Waters Synapt (Q-TOFMS)  
Xevo TQ-XS

# 講義内容

## 1. 質量分析とは

## 2. マススペクトルの読み方

2.1 マススペクトルから得られる情報

2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて

2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について

2.4 マスティフェクト値の利用

2.5 マススペクトル取得モードについて

## 3. GC/MSにおけるマススペクトルの解析

3.1 分子イオンとフラグメントイオンの見極め

3.2 ライブラリーサーチについて

3.3 フラグメンテーションの解析

## 4. LC/MSにおけるマススペクトルの解析

4.1 イオン種の解釈について

4.2 TICクロマトグラムから如何にして試料成分を探すか

4.2 高分解能マススペクトルの解析

# 1.質量分析とは

# 質量分析(計)とは

原子や分子をイオン化して、その質量を測る事(装置)

## 原子、分子とは

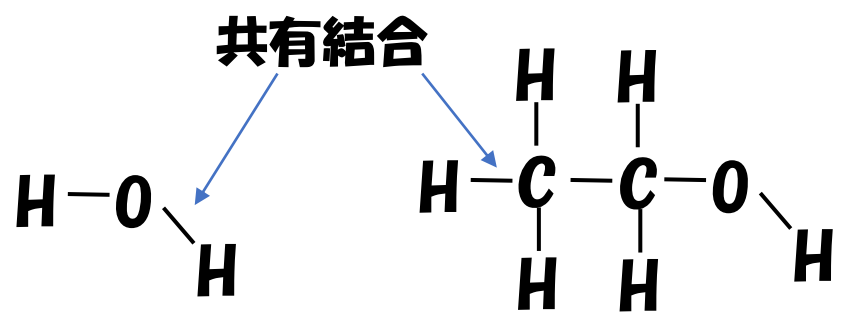
原子は物質を構成する最小単位

分子は複数の原子が結びついて(結合して)出来たもの

物質の多くは分子から成る



水素原子 炭素原子 酸素原子  
質量:約1 質量:約12 質量:約16



水分子  
質量:約18

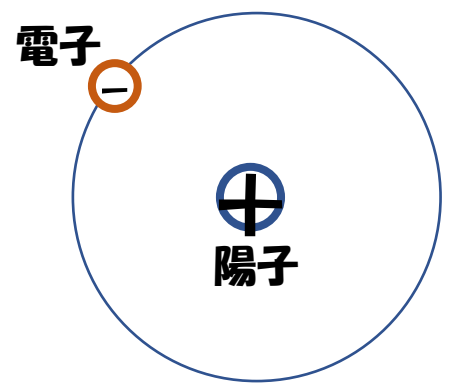
エチルアルコール分子  
質量:約46

# イオン化とは

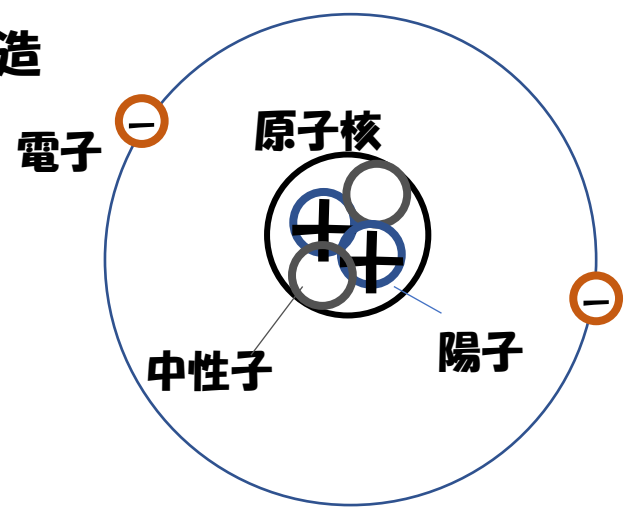
中性の原子や分子が正または負の電荷をもった粒子(イオン)に変換される現象のこと



### 水素原子の構造



### ヘリウム原子の構造



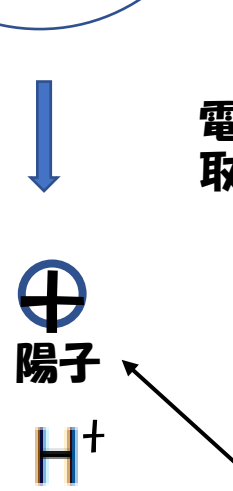
原子  
電氣的に中性

溶液中でのイオン化

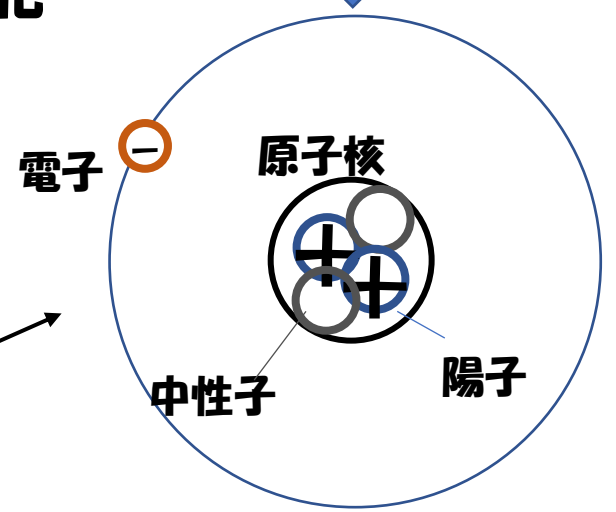
質量分析  
気相イオン

＋の電荷をもつ粒子  
**正イオン** フラスイオン  
陽イオン

－の電荷をもつ粒子  
**負イオン** マイナスイオン  
陰イオン



電子が1つ  
取れる  
イオン化  
＋に荷電  
イオン  
(電荷をもつ粒子)





# 質量分析 = イオンの質量を測ること

- どうやってイオンの質量を測る？

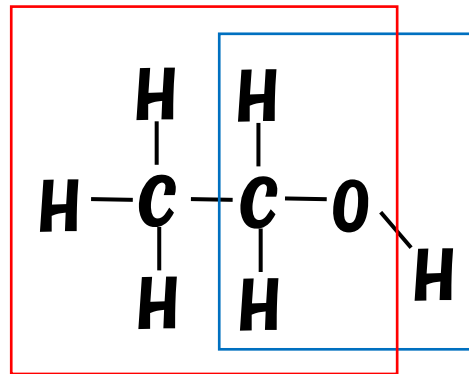
- 質量分析計を使ってマススペクトルを測定

||

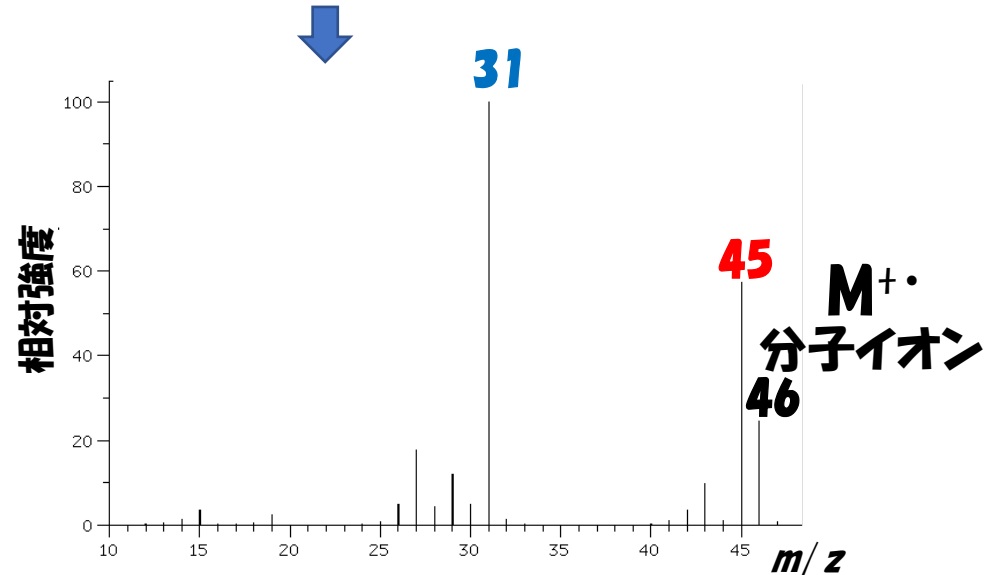
エチルアルコール分子を質量分析すると？

原子や分子をイオン化

質量を計測



質量: 約46



エチルアルコールのマススペクトル

**マスペクトルを正しく読む**



**元(イオン化前)の分子の質量を知る  
未知物質の構造推定**

## **2. マススペクトルの読み方**

- 2.1 マススペクトルから得られる情報**
- 2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて**
- 2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について**
- 2.4 マスディフェクト値の利用**
- 2.5 マススペクトル取得モードについて**

## **2. マススペクトルの読み方**

### **2.1 マススペクトルから得られる情報**

### 2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて

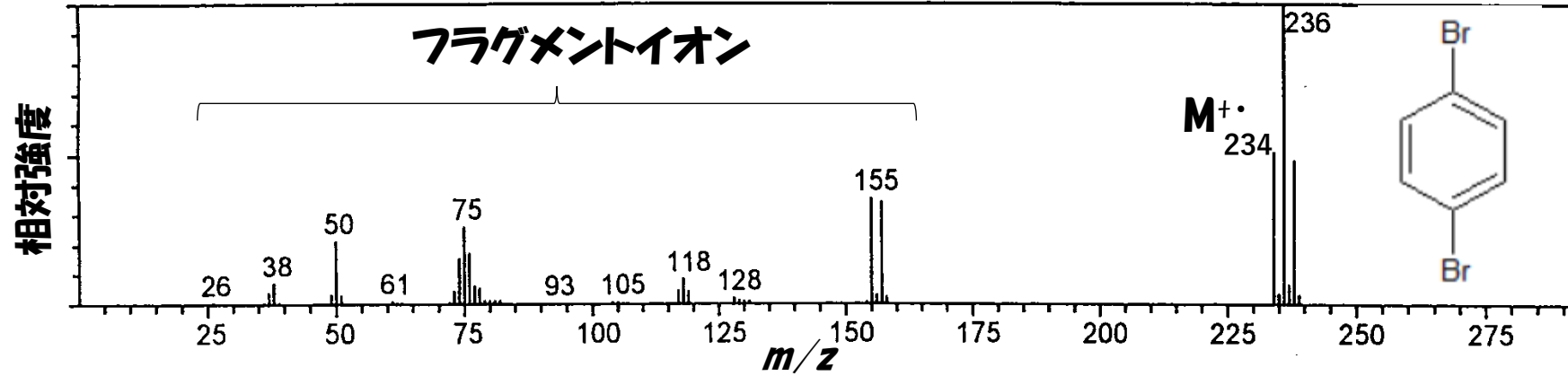
### 2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について

### 2.4 マスティフェクト値の利用

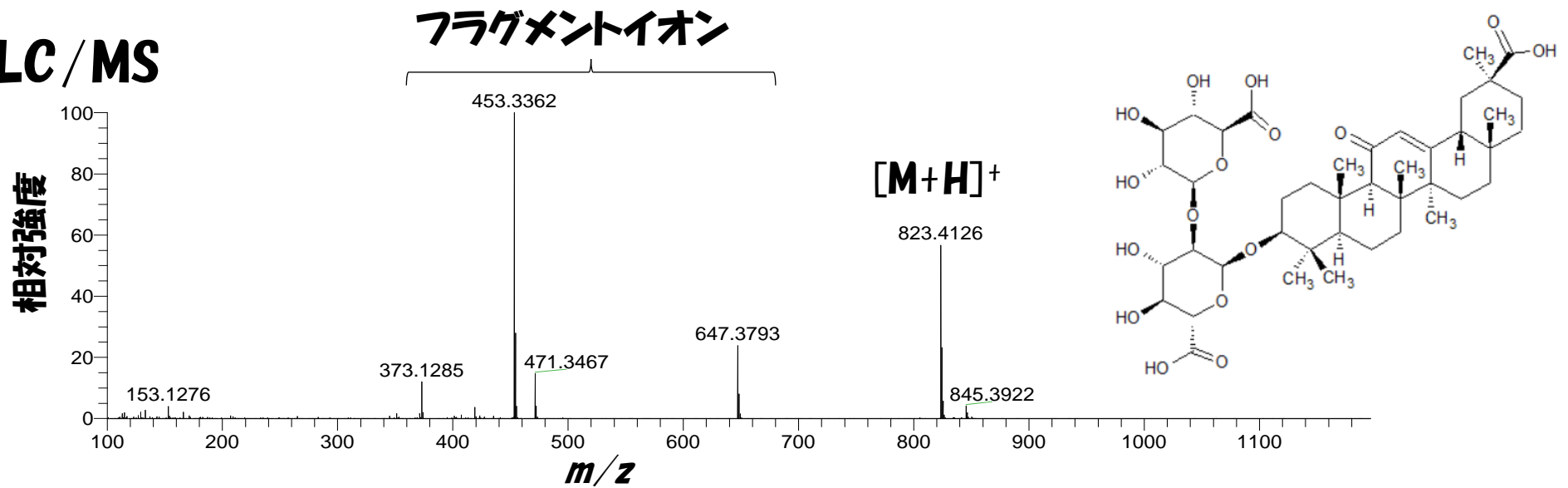
### 2.5 マススペクトル取得モードについて

# マスペクトル例

## GC/MS



## LC/MS



# マススペクトルから何が解る(推測できる)?

- 分子イオンや分子質量関連イオンの  $m/z$  値から 分子の質量

(分子の構造を保持したイオン)

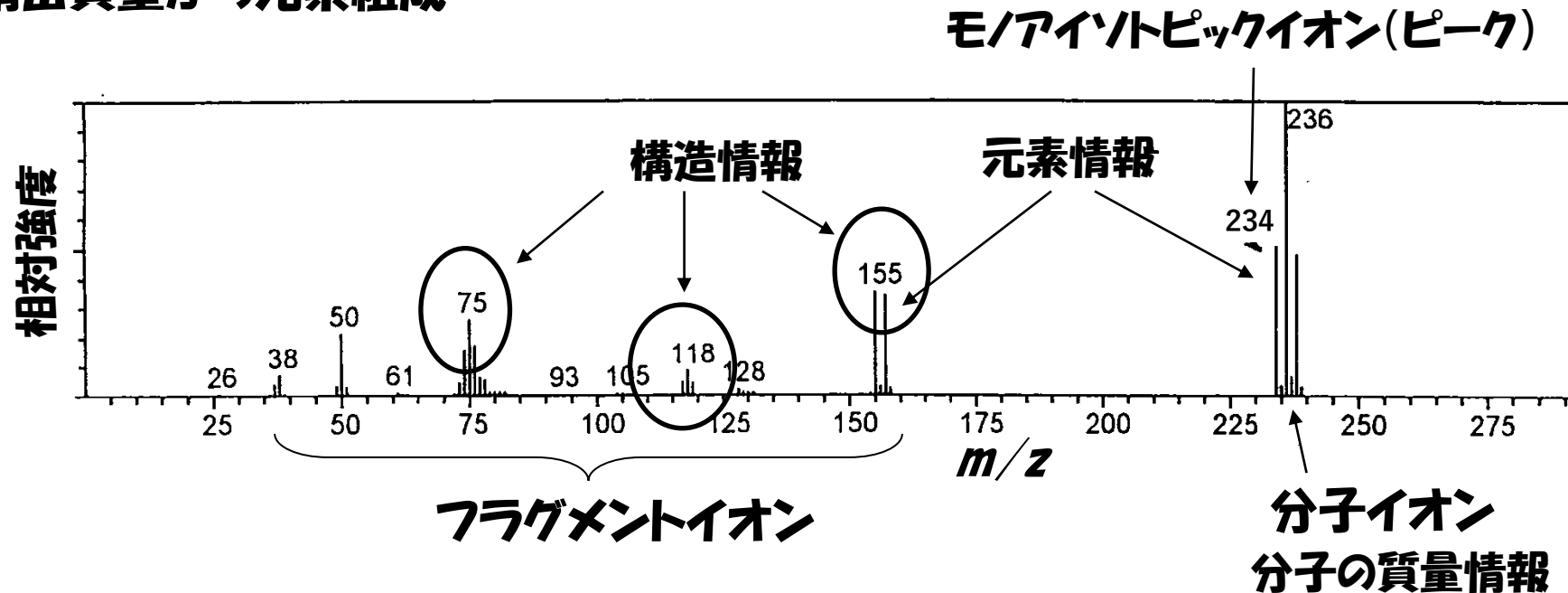


多くの場合分子量ではない!

- フラグメントイオンの  $m/z$  値から分子の部分構造

イオン種 +  $m/z$  値  $\Rightarrow$  分子の質量

- 同位体イオンピークの高さから構成元素の種類と数  
精密質量から元素組成



# マススペクトルの横軸 $m/z$ とは

質量分析で扱う質量は、統一原子質量単位が基本

$m$ : イオンの質量を統一原子質量単位で割った値

$z$ : イオンの電荷数

$m/z$

イタリックで表記  
無次元量

$z$ が1(1価イオン)の時、 $m/z$ はイオンの質量に等しくなる

# 統一原子質量単位

質量の単位 ⇒ SI単位では kg

統一原子質量単位 ⇒  $^{12}\text{C}$ の質量の $1/12$   
単位は Da または u

SI単位では  
 $1.66 \times 10^{-27}$  kg





# 原子・分子の質量 と 原子量・分子量

質量分析で測定される質量は個々(同位体を区別した)の原子あるいは分子などの質量であり、原子の天然同位体存在比を考慮した原子量や分子量とは異なる。

**原子量:** 相対原子質量(Relative atomic mass)ともいう。

炭素原子  $^{12}\text{C}$  の質量の  $1/12$  に対する、ある元素の一原子あたりの平均質量の比で表される無次元量。ある元素の原子量は、その元素の同位体の質量に、各同位体の存在比を重率として掛けて求めた平均値。

(例)  $\text{C} = 12.011, \text{H} = 1.008, \text{O} = 15.999, \text{N} = 14.007$  など

**分子量:** 相対分子質量(Relative molecular mass)ともいう。

分子を構成する原子の種類と数: 原子量の和

	質量(天然存在比最大の同位体で構成される分子)	
ベンゼン $\text{C}_6\text{H}_6$	$12.0000 \times 6 + 1.0078 \times 6 = 78.0469 \text{ Da}$	} 整数では78
分子量	$12.011 \times 6 + 1.008 \times 6 = 78.112$	

原子量&分子量 = 相対値 → 単位をもたない

# ノミナル質量(整数質量)と精密質量

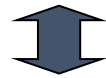
陽子と中性子の数の和

質量数(mass number)

ノミナル質量(nominal mass)

各元素について、天然存在比が最大の同位体(主同位体)の質量に最も近い整数値を用いて計算した質量

(例)  $^{12}\text{C}=12$ ,  $^1\text{H}=1$ ,  $^{16}\text{O}=16$ ,  $^{14}\text{N}=14$ ,  $^{35}\text{Cl}=35$  など



モノアイソトピック質量(monoisotopic mass)

分子を構成する各元素の主同位体の質量を用いて計算した精密質量

測定精密質量

計算精密質量(exact mass)

(accurate mass)

炭素同位体 $^{12}\text{C}$ の質量を基準値として12.000000u(or Da)とし、単一同位体で構成された分子やイオンの質量を、ミリダルトン以下まで計算した質量。

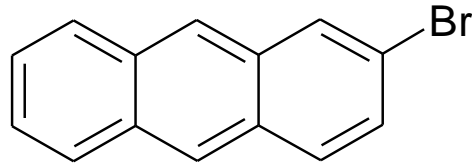
(例)  $^1\text{H}=1.007825$ ,  $^{16}\text{O}=15.994917$ ,  $^{14}\text{N}=14.003074$ ,  $^{35}\text{Cl}=34.968853$  など

# 同位体の天然存在比

原子番号	元素記号	質量数	質量	天然存在比(%)	原子量
1	H	1	1.007825	99.9885	1.00794
		2	2.014102	0.0115	
6	C	12	12	98.93	12.0107
		13	13.00336	1.07	
7	N	14	14.00307	99.632	14.0067
		15	15.00011	0.368	
8	O	16	15.99492	99.757	15.9994
		17	16.99913	0.038	
		18	17.99916	0.205	
16	S	32	31.97207	94.93	32.065
		33	32.97146	0.76	
		34	33.96787	4.29	
		36	35.96708	0.02	
17	Cl	35	34.98665	75.78	35.453
		37	36.9659	24.22	
35	Br	79	78.91834	50.69	79.904
		81	80.91629	49.31	

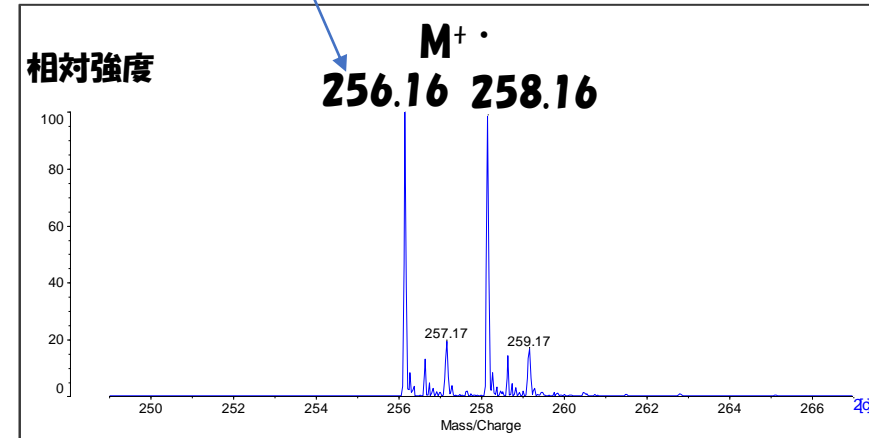
# マスペクトルから得られる分子質量情報

## 2-ブロモアントラセン



$C_{14}H_9Br$   
ノナル質量 **256**  
モノアイソトピック質量 **255.9888**  
分子量 (相対分子質量) **257.1298**

## モノアイソトピックイオン

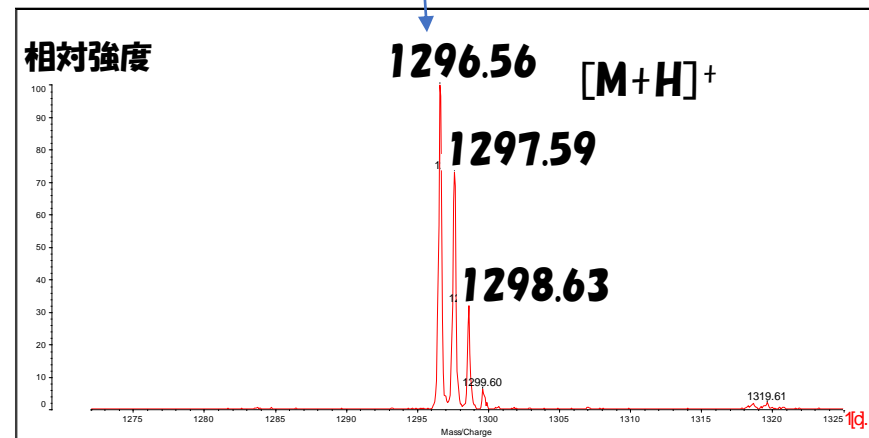


## アンジオテンシン-I

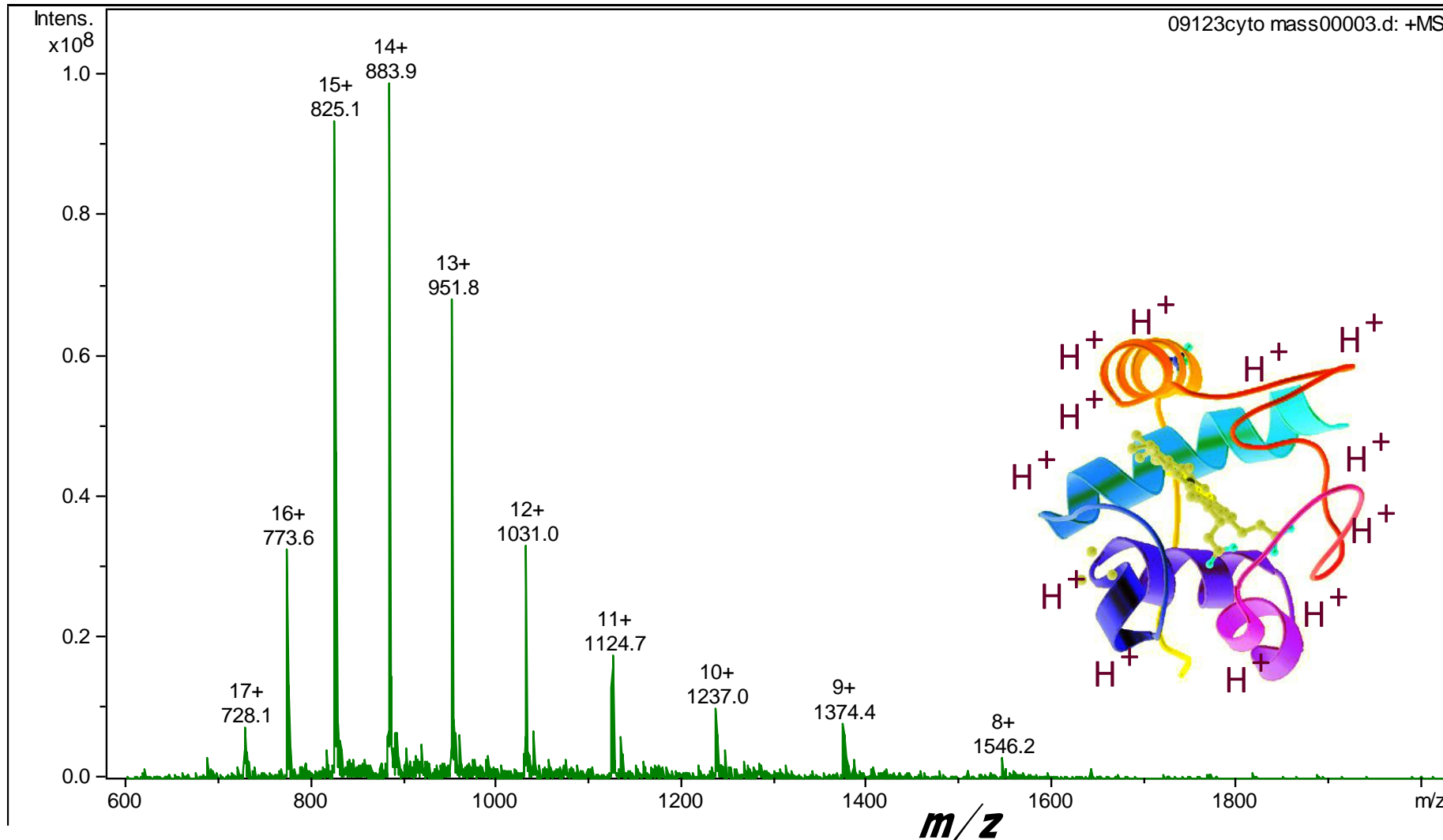
$NH_2 - Asp - Arg - Val - Tyr - Ile - His - Pro - Phe - His - Leu - COOH$

$C_{62}H_{89}N_{17}O_{14}$   
ノナル質量 **1295**  
モノアイソトピック質量 **1295.6775**  
分子量 (相対分子質量) **1296.4987**

## モノアイソトピックイオン

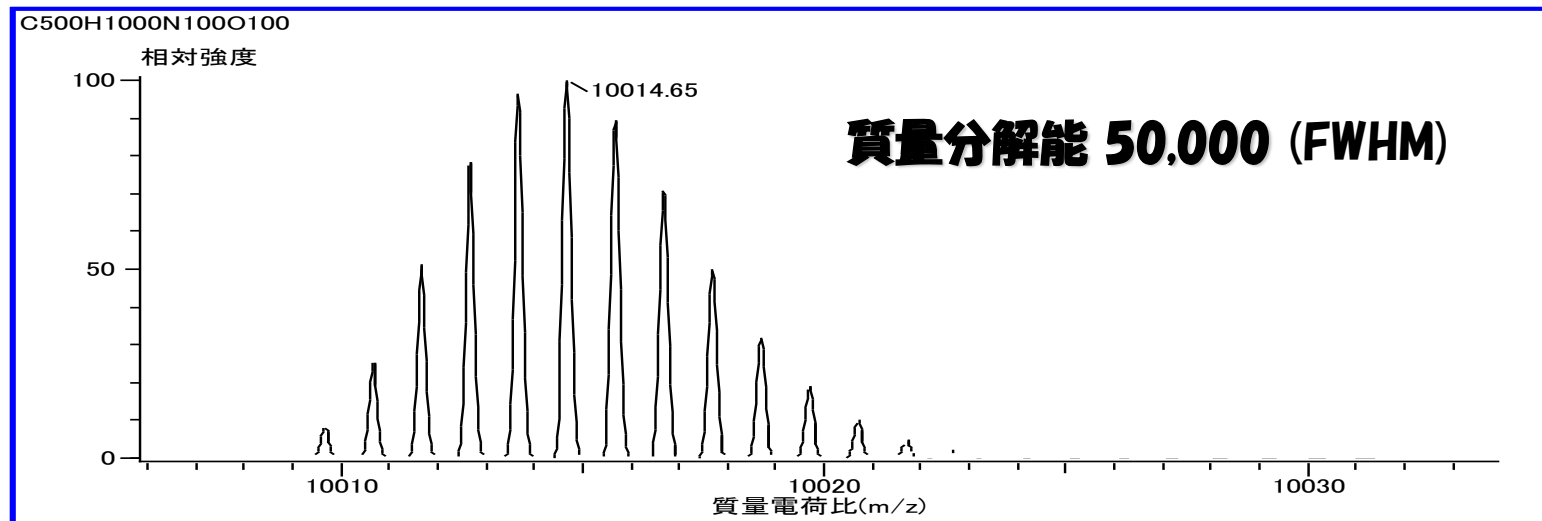
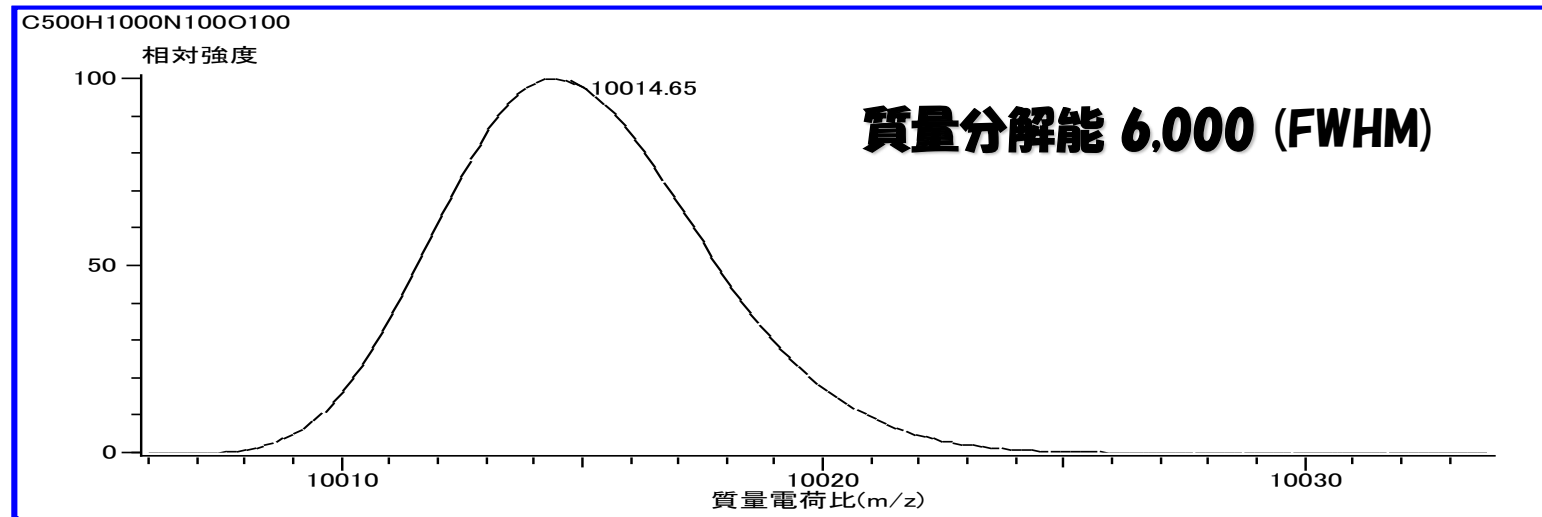


# タンパク質のマススペクトル

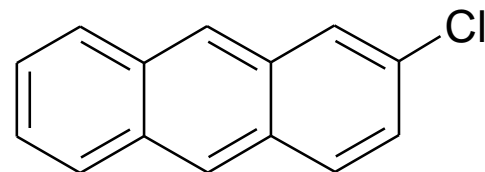
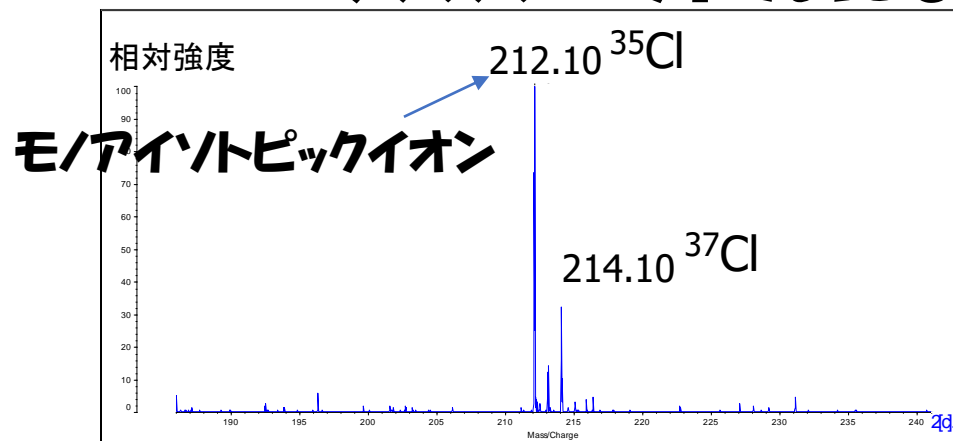


# 質量分解能と分子質量・分子量の関係

分子量約10,000の物質を質量分解能6,000と50,000のMS装置で分析したら...

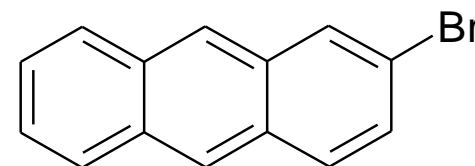
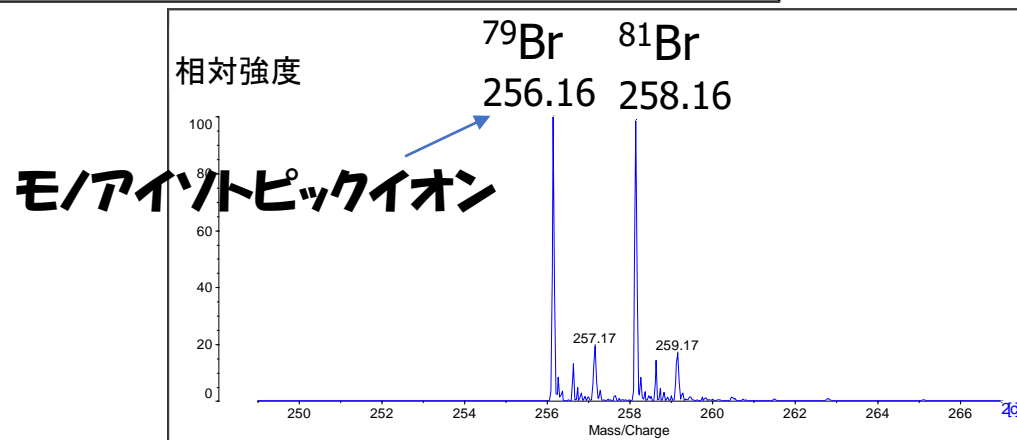


# マススペクトルにおける同位体パターン



$C_{14}H_9Cl$

モノアイソトピック質量 212.0393



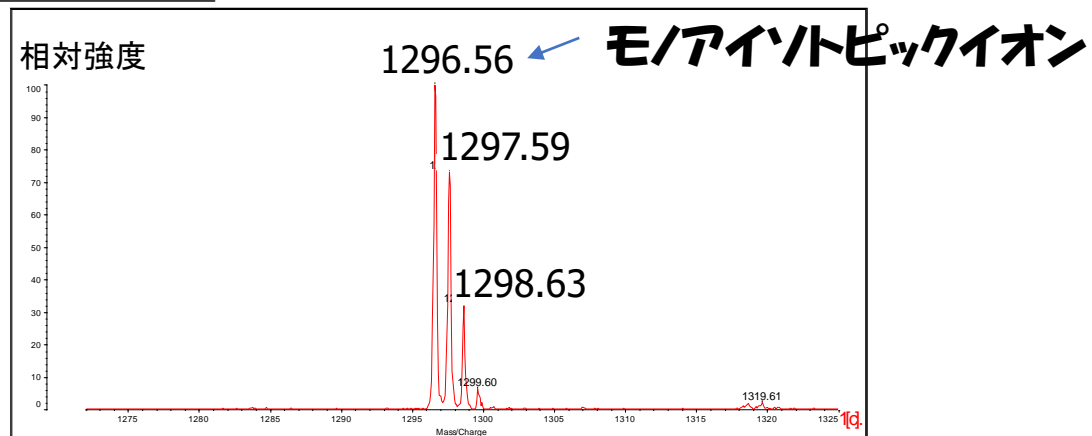
$C_{14}H_9Br$

モノアイソトピック質量 255.9888

$NH_2 - Asp - Arg - Val - Tyr - Ile - His - Pro - Phe - His - Leu - COOH$

$C_{62}H_{89}N_{17}O_{14}$

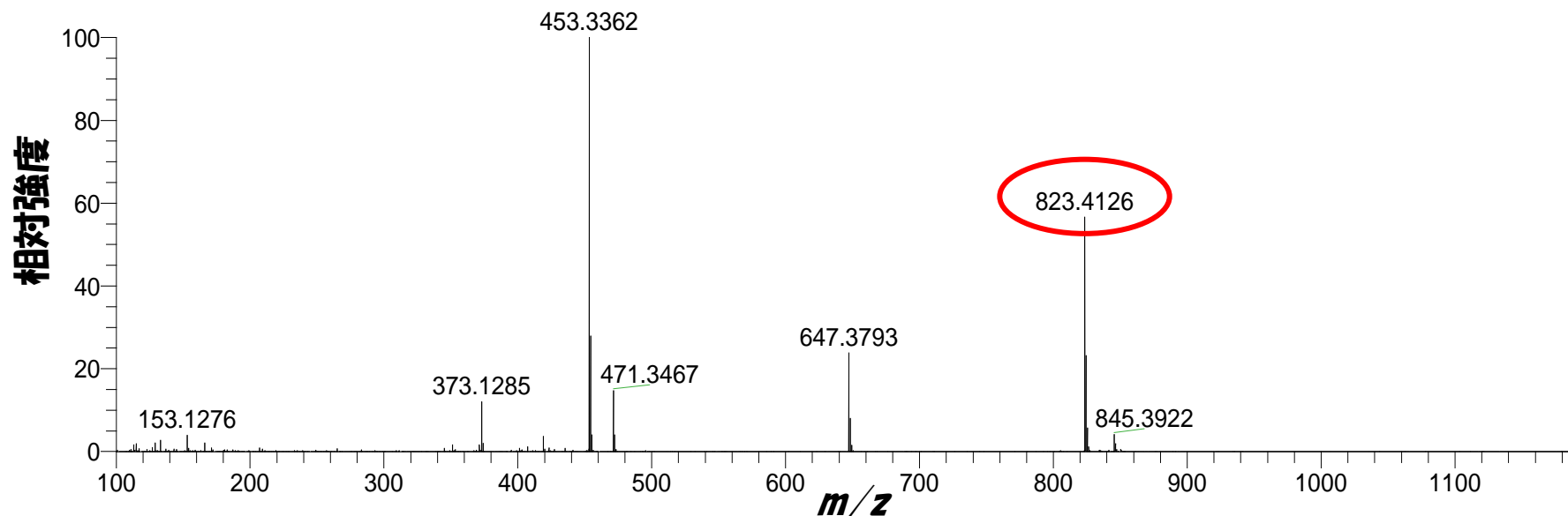
モノアイソトピック質量 1295.6775



# 間違いやすい用語-1

・質量、分子量(相対分子質量)、質量数、 $m/z$

例えば、このマスペクトルで観測されているイオンを説明するのに...



質量数 823.4126 のイオン →×

分子量 823.4126 のイオン →×

質量 823.4126 のイオン →△

$m/z$  823.4126 のイオン →○

$Z=1$ である事を明言すれば

↳ 質量 823.4126 のイオン →○



## 2. マススペクトルの読み方

2.1 マススペクトルから得られる情報

**2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて**

2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について

2.4 マスディフェクト値の利用

2.5 マススペクトル取得モードについて

**イオンの $m/z$ 値 & イオンの種類**



**元の分子の質量**

**イオン化法 ↔ 生成し易いイオンの種類**

# 質量分析で用いられるイオン化 (EI vs. ESI vs. APCI)

# イオン化とは？

## 電子励起によるイオン化

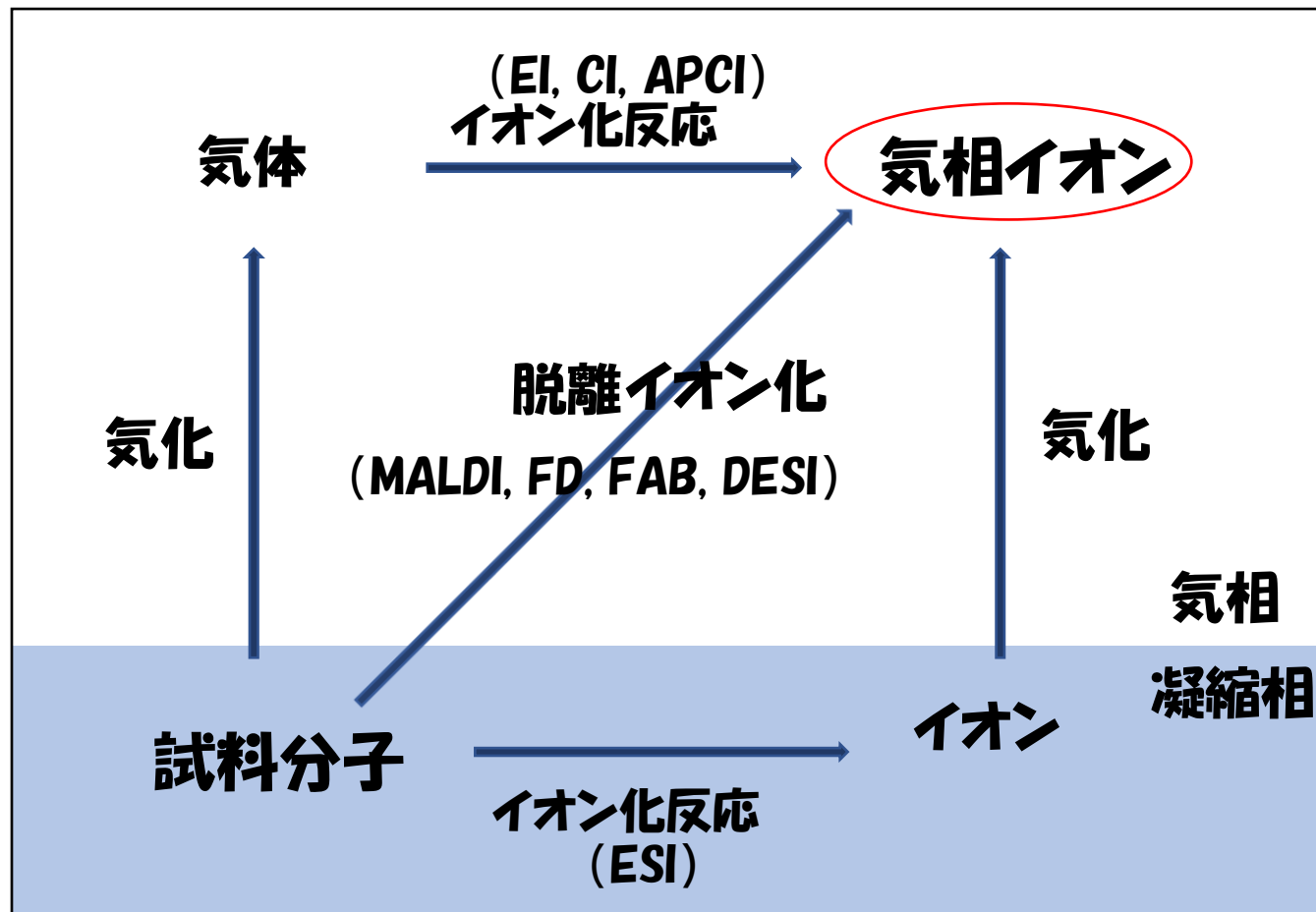
EI, LD, (FD, APCI)

$M^+$ を生成

## プロトン移動によるイオン化

CI, FD, FAB, ESI,  
APCI, MALD

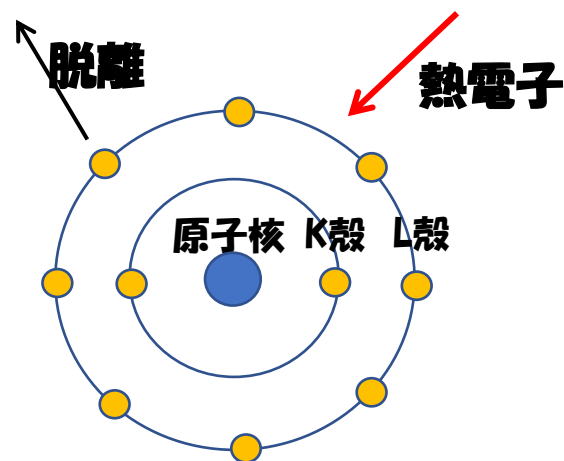
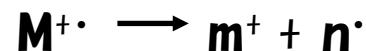
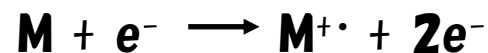
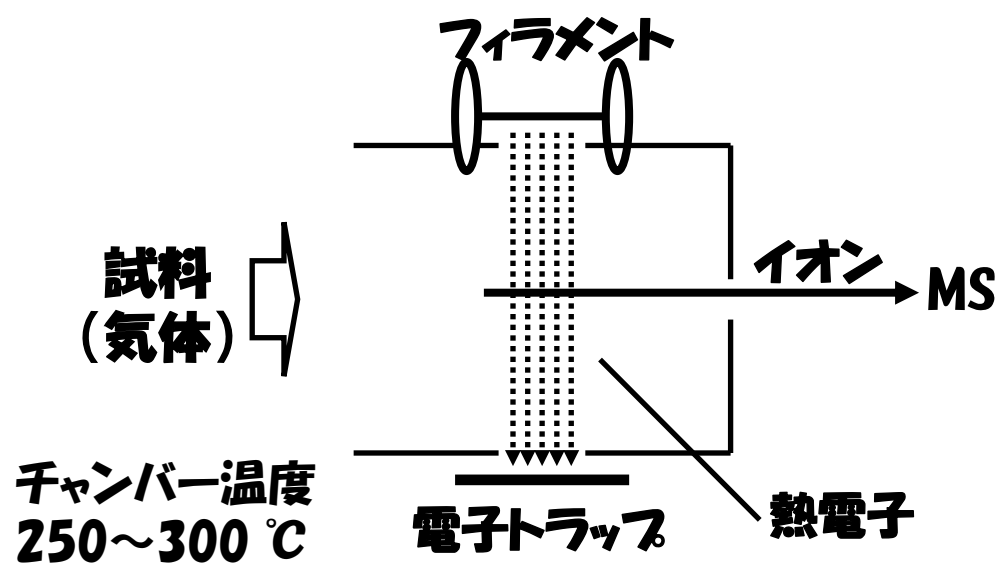
$[M+H]^+$ ,  $[M-H]^-$ などを生成



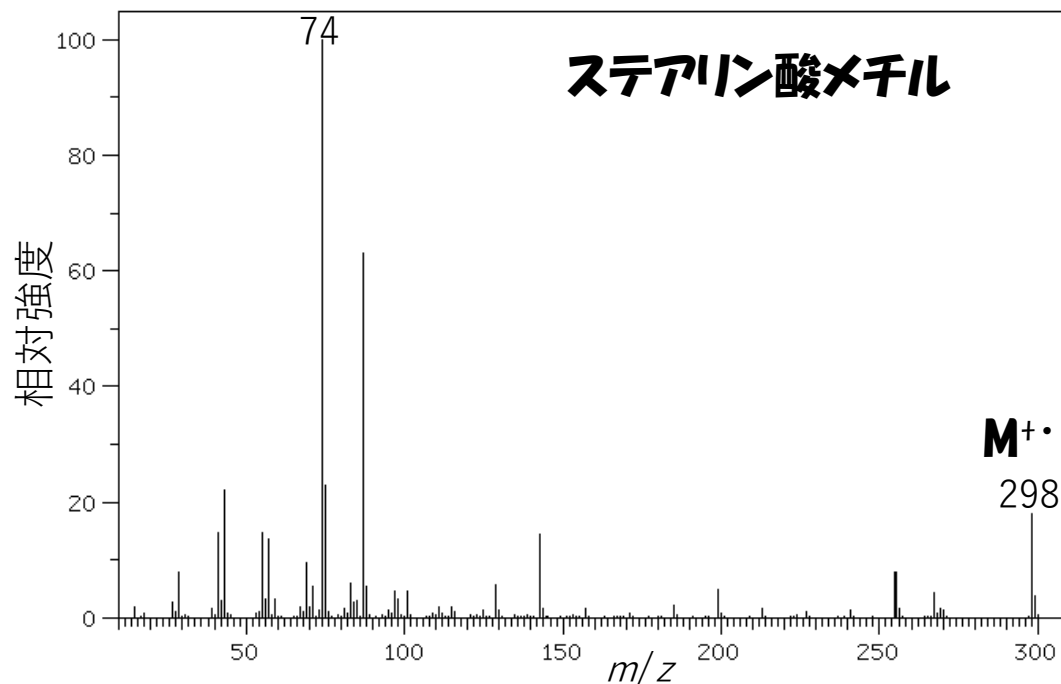
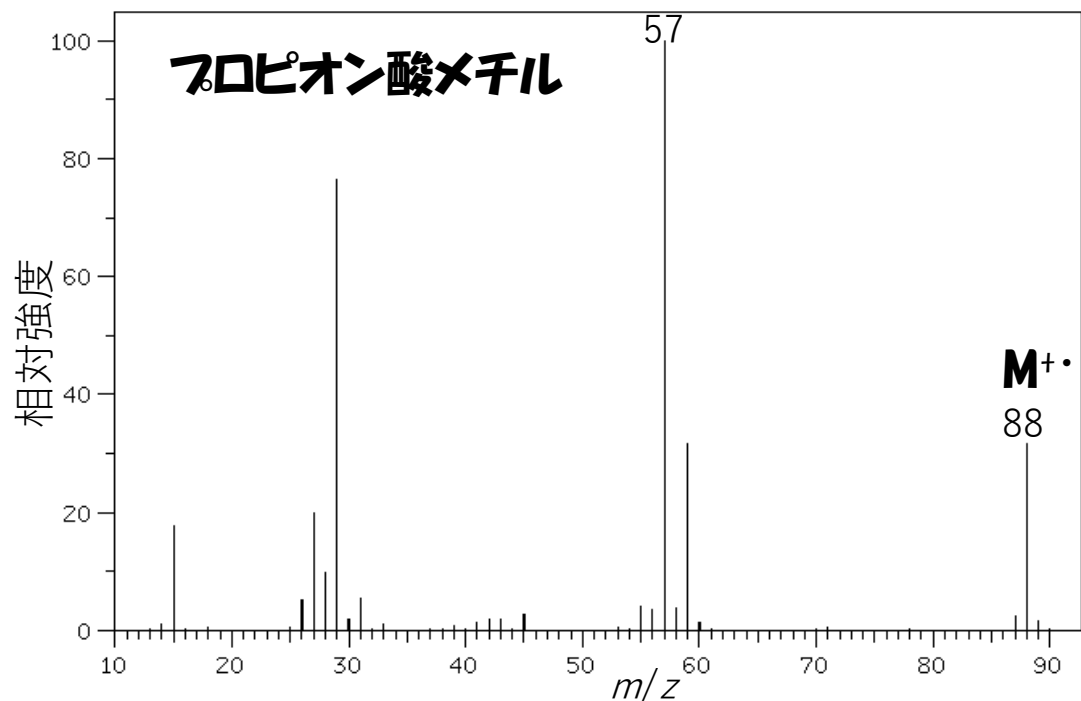
# EI (electron ionization, 電子イオン化)

GC / MS

- 揮発性化合物に有効(加熱による気化が必要)
- 分子イオンが得られているか否かの判断
  - ・ 最大  $m/z$  値のイオンが分子イオン ( $M^{+\cdot}$ ) とは限らない
  - ・ 熱分解 or フラグメンテーション の可能性
- ライブラリーサーチの結果をどこまで信じるか
- 未知試料の場合 CI, FI, PI 等での確認が必要



# EI(GC / MS)で得られるマススペクトル例

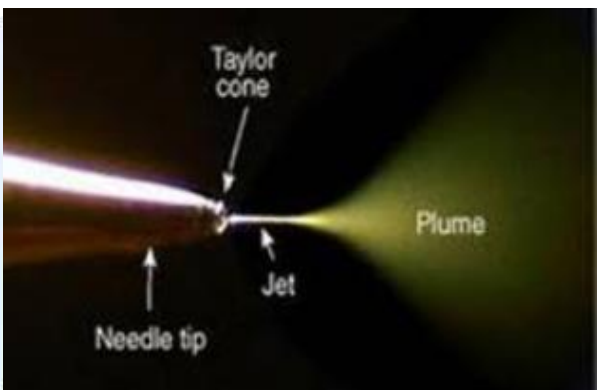
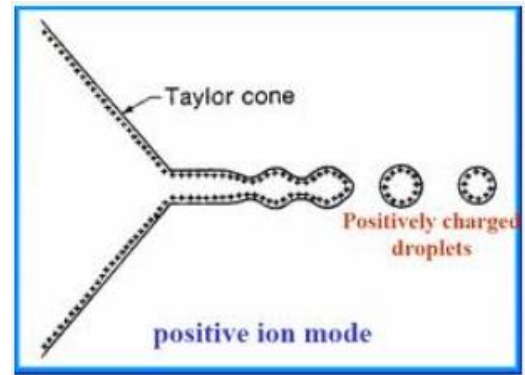
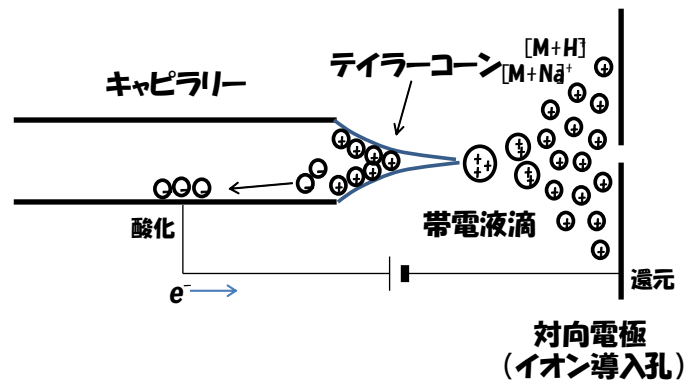


分子イオンが観測されている

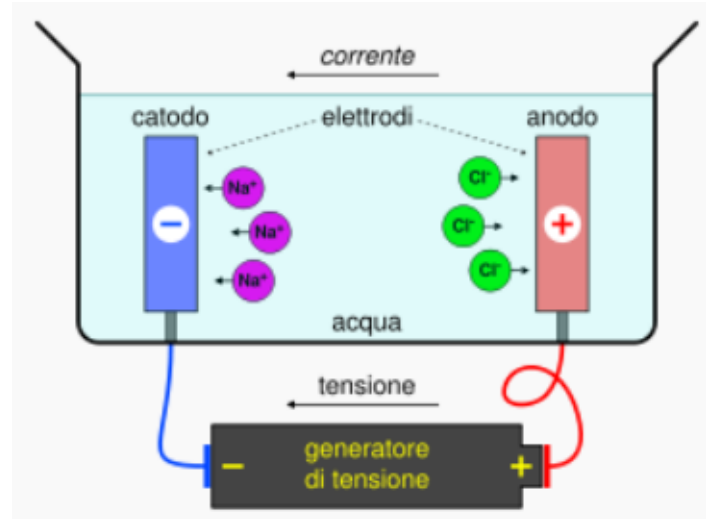
モノアイソトピックイオンの $m/z$ 値 = /ミナル質量(整数質量)

モノアイソトピックイオンの $m/z$ 値 + 電子の質量 = 測定精密質量

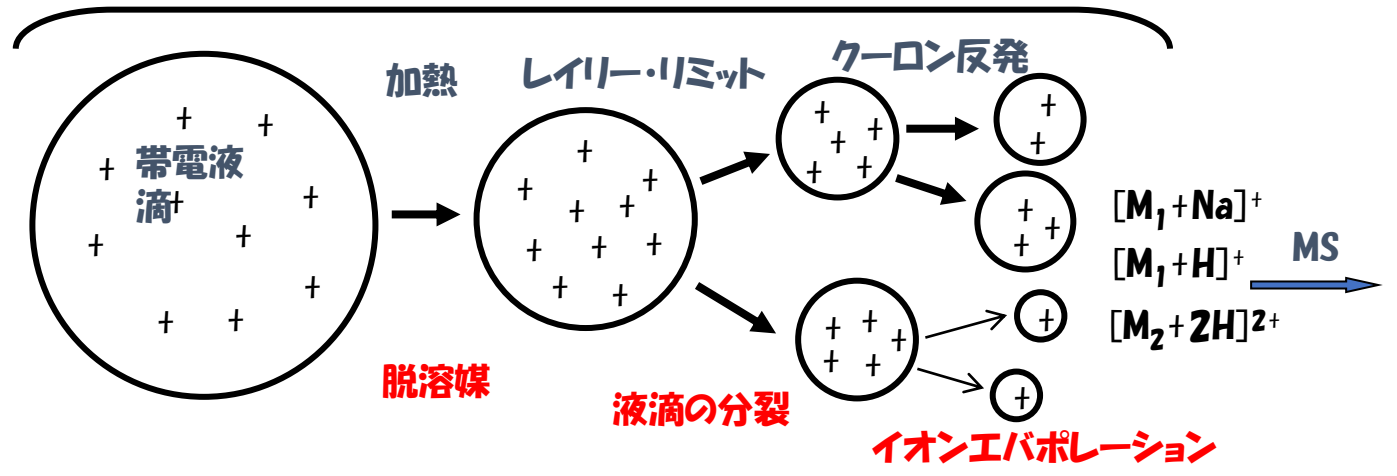
# LC/MS ↔ エレクトロスプレーイオン化 (ESI)



## 電気分解



## 大気圧中

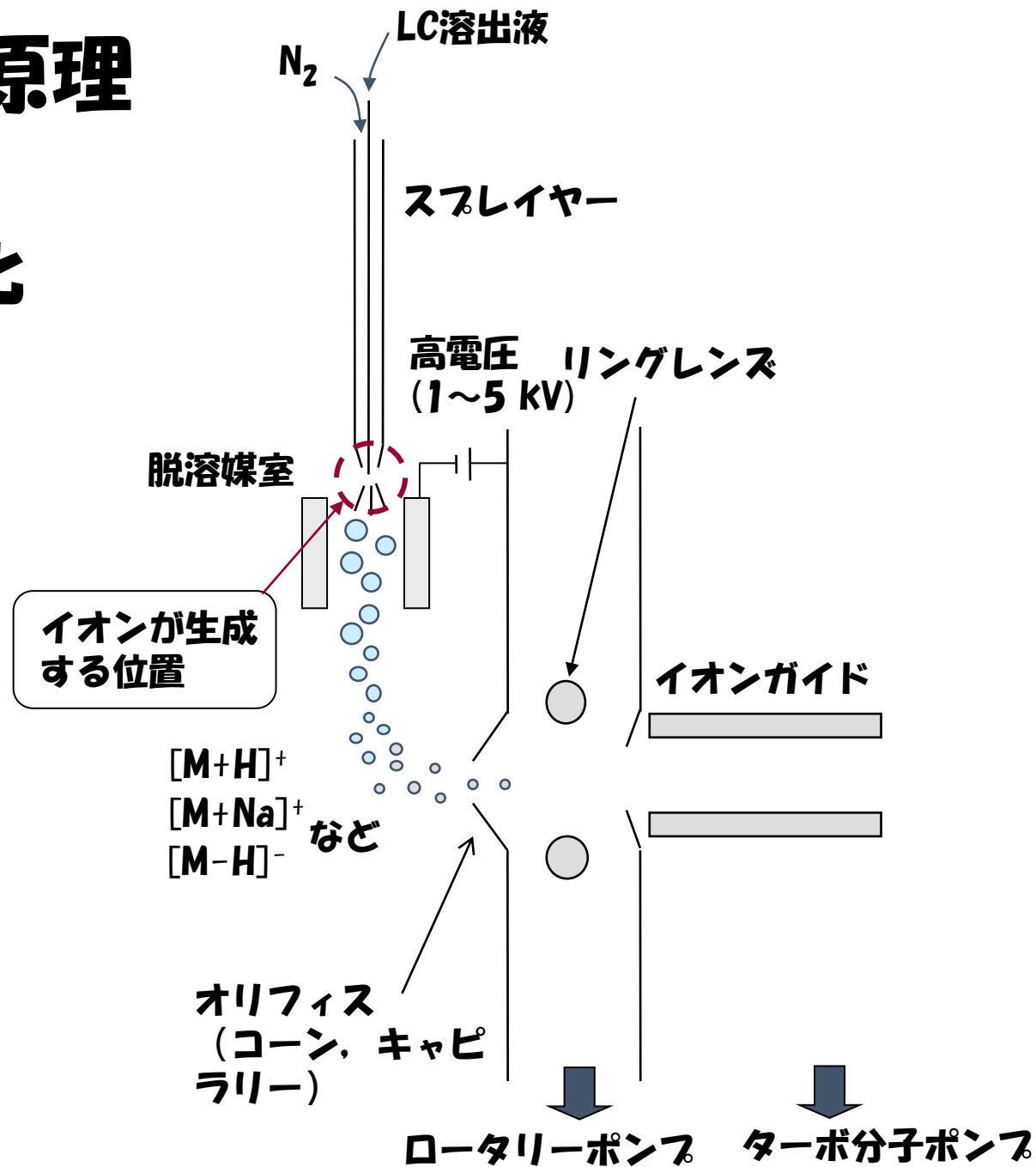


# ESIの構造と原理

## 液相でのイオン化

高電界による静電噴霧 +  
ガス圧による噴霧 → 帯電  
液滴の生成 → 加熱・脱溶  
媒 → イオン蒸発

適する移動相流量：  
0.2 mL/min





# APCIの構造と原理

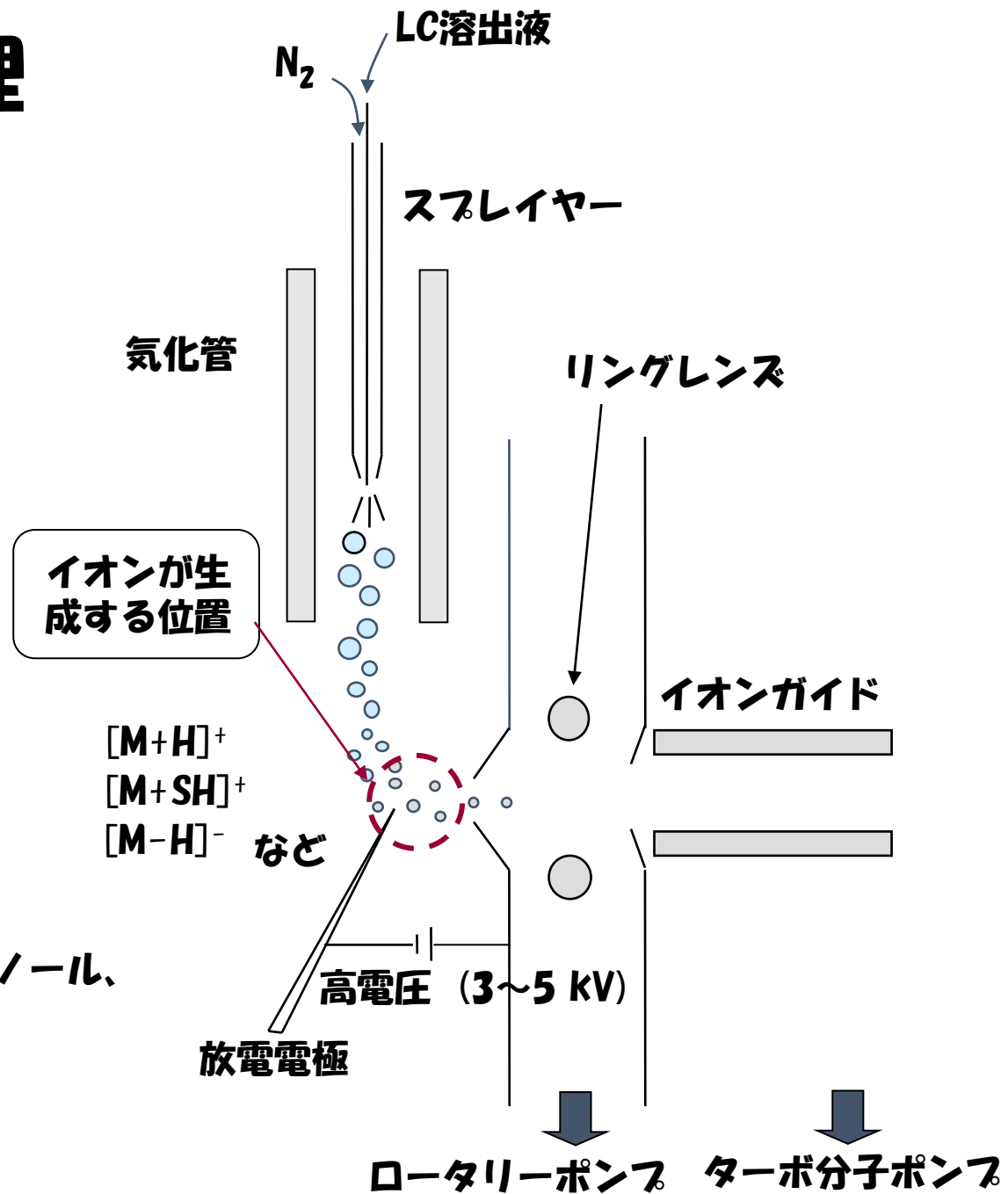
## LC/MS 気相でのイオン化

高圧ガスによる噴霧 → 加熱・  
気化 → コロナ放電 → 溶媒分  
子イオンの生成

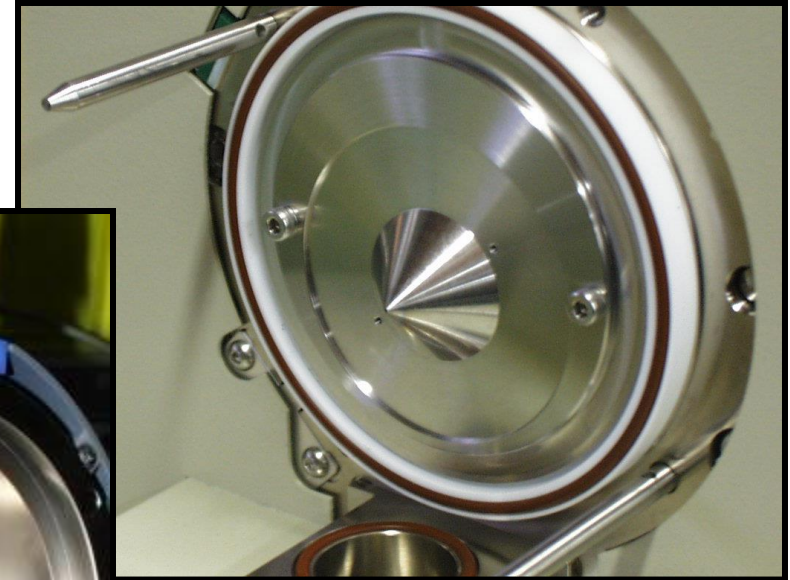
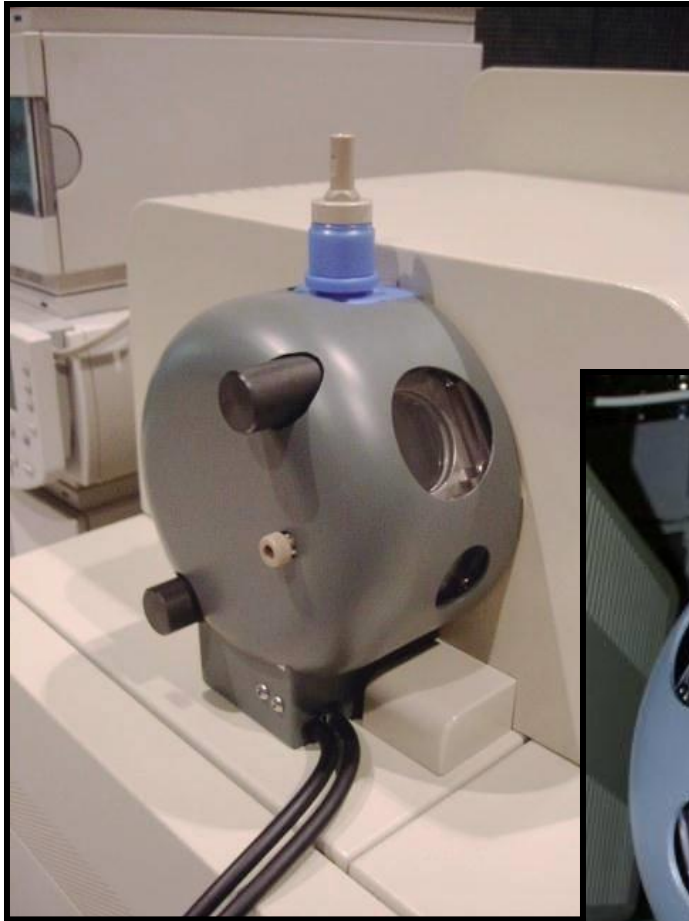
→ 溶媒イオンと試料分子の衝  
突 → 試料イオン生成

適する移動相流量：  
**1 mL/min**

SH：プロトン化した溶媒分子（メタノール、  
アセトニトリルなど）



# APIイオン源の構造



# ESI, APCI(LC / MS)で観測されやすいイオン種

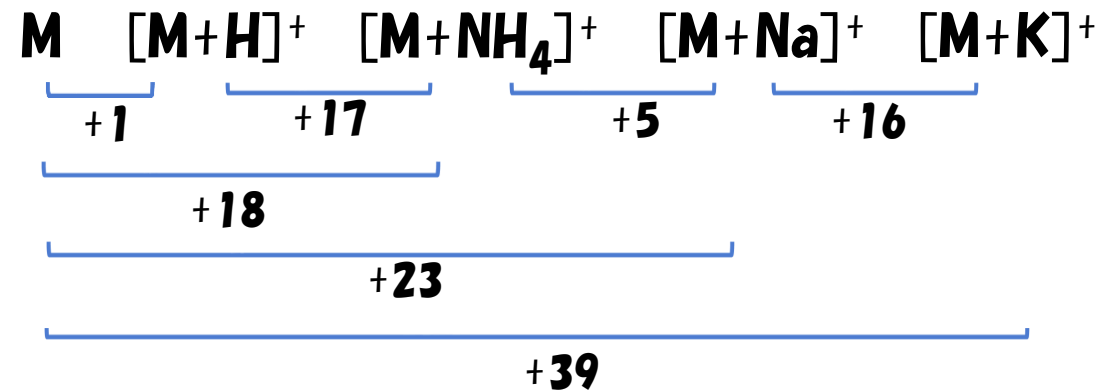
- ソフトイオン化
- プロトン付加分子 ( $[M+H]^+$ )、脱プロトン分子 ( $[M-H]^-$ )
- 溶媒、不純物の付加イオン
  - $[M+Na]^+$ ,  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+H+Solv]^+$ ,  $[M+Cl]^-$ ,
- ESIでは多価イオン ( $[M+2H]^{2+}$ ,  $[M+3H]^{3+}$ )
- クラスターイオン ( $[2M+H]^+$ ,  $[3M+Na]^+$  ...)

# 移動相溶媒と生成しやすい付加イオン

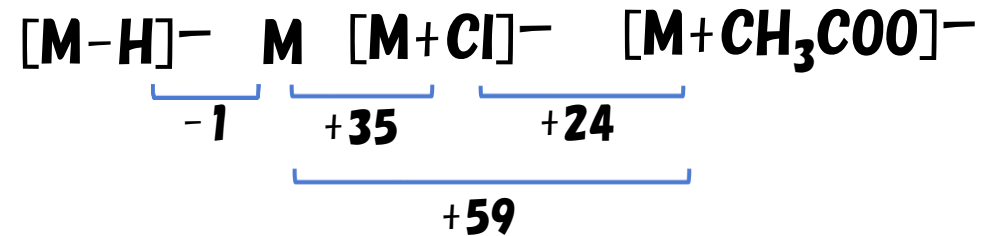
イオン化法	極性	移動相溶媒	生成しやすい付加イオン
ESI	+	メタノール	$[M + H]^+$ , $[M + Na]^+$ , $[M + K]^+$
	+	アセトニトリル	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$ , $[M + Na]^+$
	+	含酢酸アンモニウム	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$
APCI	+	メタノール	$[M + H]^+$ , $[M + H + CH_3OH]^+$
	+	アセトニトリル	$[M + H]^+$ , $[M + H + CH_3CN]^+$
	+	含酢酸アンモニウム	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$
ESI	-	酸を含まない系	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$
	-	含酢酸, 酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
	-	含ギ酸	$[M - H]^-$ , $[M + HCOO]^-$
	-	含酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
APCI	-	酸を含まない系	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$
	-	含酢酸, 酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
	-	含ギ酸	$[M - H]^-$ , $[M + HCOO]^-$
	-	含酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$

# ESIで生成し易いイオン種と質量( $m/z$ )差

## 正イオン



## 負イオン



# 間違いやすい用語-2

分子イオン →  $M^{+\cdot}$ ,  $M^{-\cdot}$  のみ

$[M+H]^+$   
プロトン付加分子

$[M+NH_4]^+$   
アンモニウムイオン付加分子

$[M+Na]^+$   
ナトリウムイオン付加分子

分子質量関連イオン

## 2. マススペクトルの読み方

2.1 マススペクトルから得られる情報

2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて

**2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について**

2.4 マスディフェクト値の利用

2.5 マススペクトル取得モードについて

# 質量分解能とマススペクトル

質量分解能とは

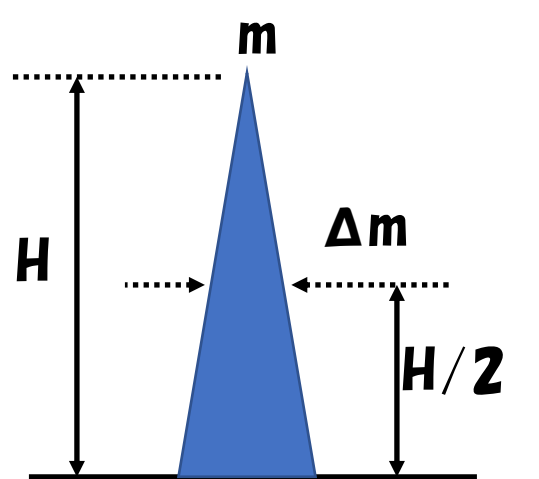
互いに異なる $m/z$ のイオンのピークを分離するための質量分析計の性能のこと。

質量分解能が高いと → { 近接した $m/z$ のイオンを分離できる  
イオンの $m/z$ 値を正確に測ることができる

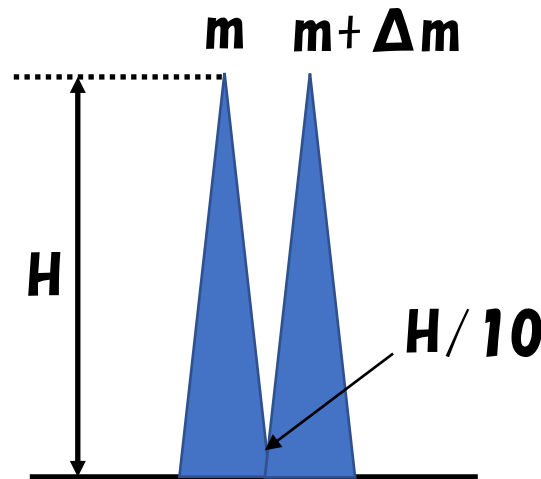
半値幅分解能×2

∴

10%谷分解能



半値幅(FWHM)による定義



10%谷による定義

$m/z$  1,000と1,001を  
半値幅で分離できる



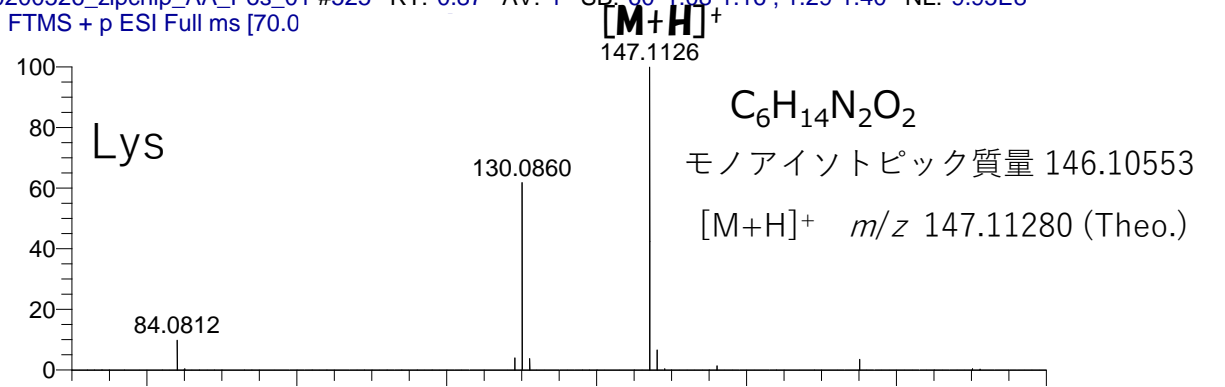
分解能 1,000

$$\text{質量分解能}(R) = m / \Delta m$$

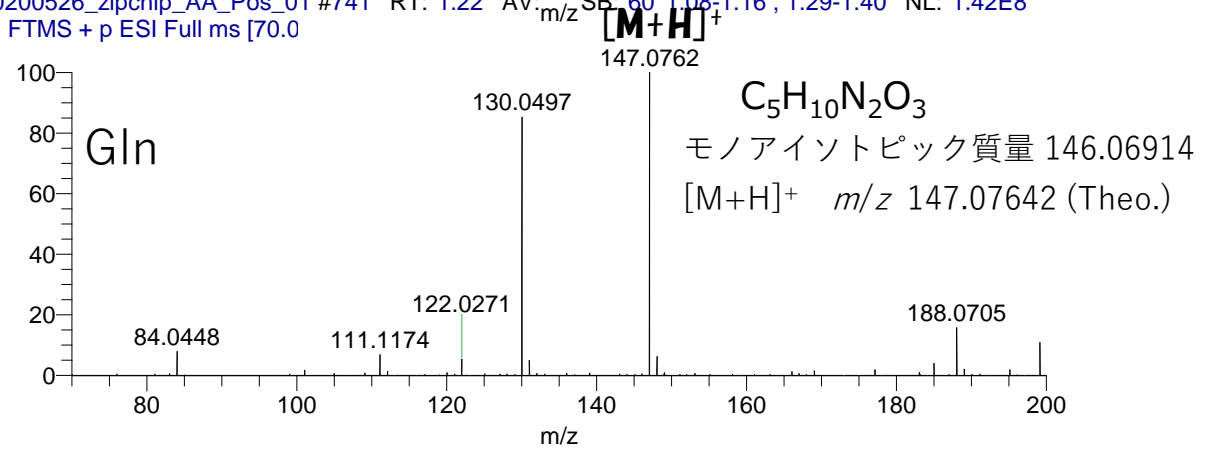


# 高質量分解能(Orbitrap MS)

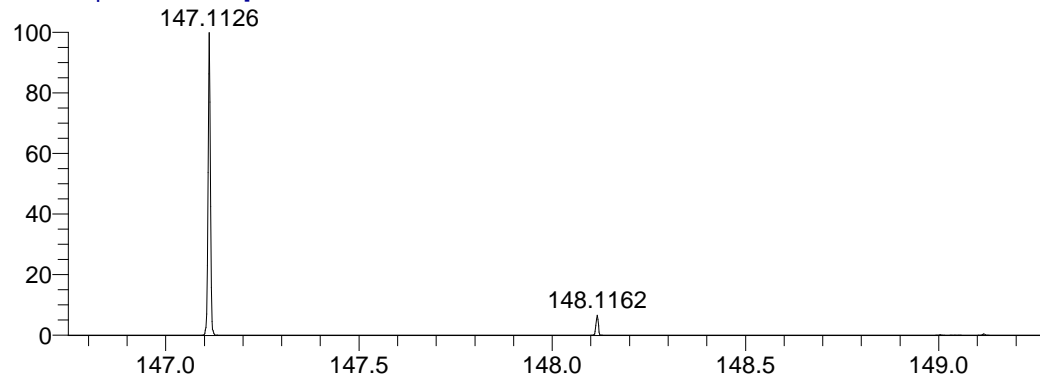
20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #525 RT: 0.87 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 9.95E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



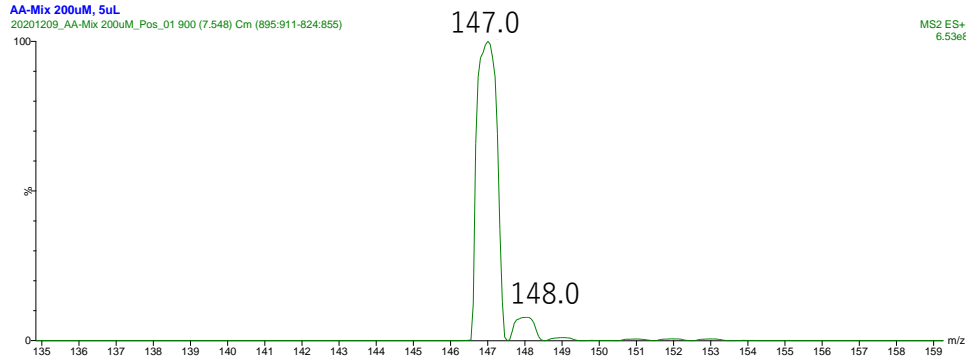
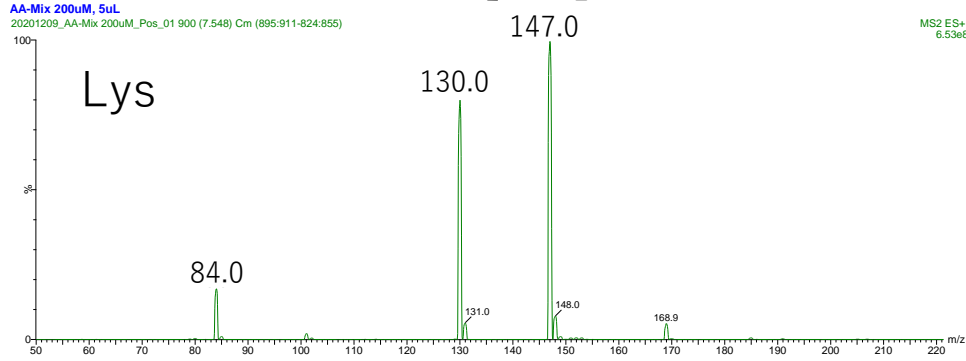
20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #741 RT: 1.22 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 1.42E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #525 RT: 0.87 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 9.95E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



# 低質量分解能(四重極MS)



# 質量分析計の種類と質量確度

得られた $m/z$  値は、小数点以下何桁まで信頼できるか

質量分析計の種類	信頼できる小数点以下の桁数
四重極・イオンラップ	0~1
飛行時間	2~4
フーリエ変換	3~4

例)	化学種	質量
	$\text{CO}, \text{N}_2, \text{C}_2\text{H}_4$	28
	$\text{CO}$	27.9949
	$\text{N}_2$	28.0062
	$\text{C}_2\text{H}_4$	28.0313

**$m/z$**

**質量校正**



**飛行時間**

**電圧**

**周波数**

**質量校正が正しく行われたか？**

**装置が正しく質量校正された状態にあるか？**



**データシステムに100%頼るのではなく  
自分で検証できることが重要**

**バックグラウンドイオンで確認**

**$m/z$  391, 413 (Pos, di-2-ethylhexyl phthalate)**

**$m/z$  255, 283 (Neg, パルミチン酸、ステアリン酸)**

**標品で確認**

## **2. マススペクトルの読み方**

2.1 マススペクトルから得られる情報

2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて

2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について

**2.4 マスディフェクト値の利用**

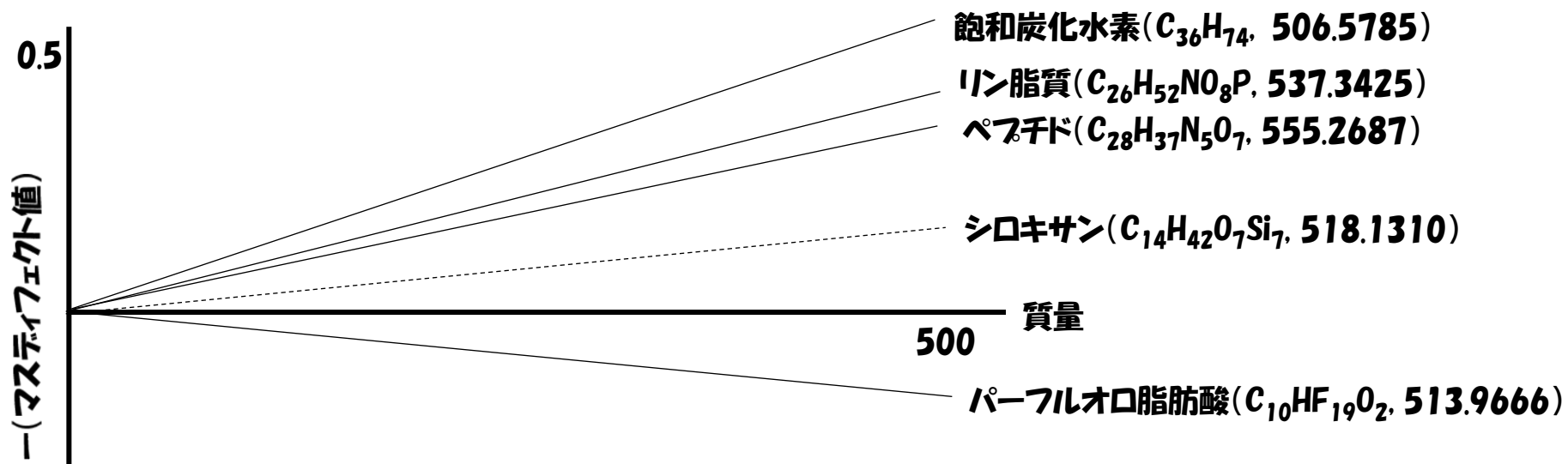
2.5 マススペクトル取得モードについて

# マステイフェクト値

分子のノミナル質量からモノアイソトピック質量を差し引いた値

例) ベンゼン  $C_6H_6$ , ノミナル質量 78, モノアイソトピック質量 78.046950

マステイフェクト値 -0.046950



# 主な元素と精密質量

原子番号	元素記号	質量数	質量	天然存在比(%)	原子量
1	H	1	<u>1.007825</u>	99.9885	1.00794
		2	2.014102	0.0115	
6	C	12	<u>12</u>	98.93	12.0107
		13	13.00336	1.07	
7	N	14	<u>14.00307</u>	99.632	14.0067
		15	15.00011	0.368	
8	O	16	<u>15.99492</u>	99.757	15.9994
		17	16.99913	0.038	
		18	17.99916	0.205	
16	S	32	<u>31.97207</u>	94.93	32.065
		33	32.97146	0.76	
		34	33.96787	4.29	
		36	35.96708	0.02	
17	Cl	35	34.98665	75.78	35.453
		37	36.9659	24.22	
35	Br	79	78.91834	50.69	79.904
		81	80.91629	49.31	

**何の役に立つの？**

**夾雑イオンや  
アーティファクト  
の見極め**



# ペプチドのマスマスペクトル

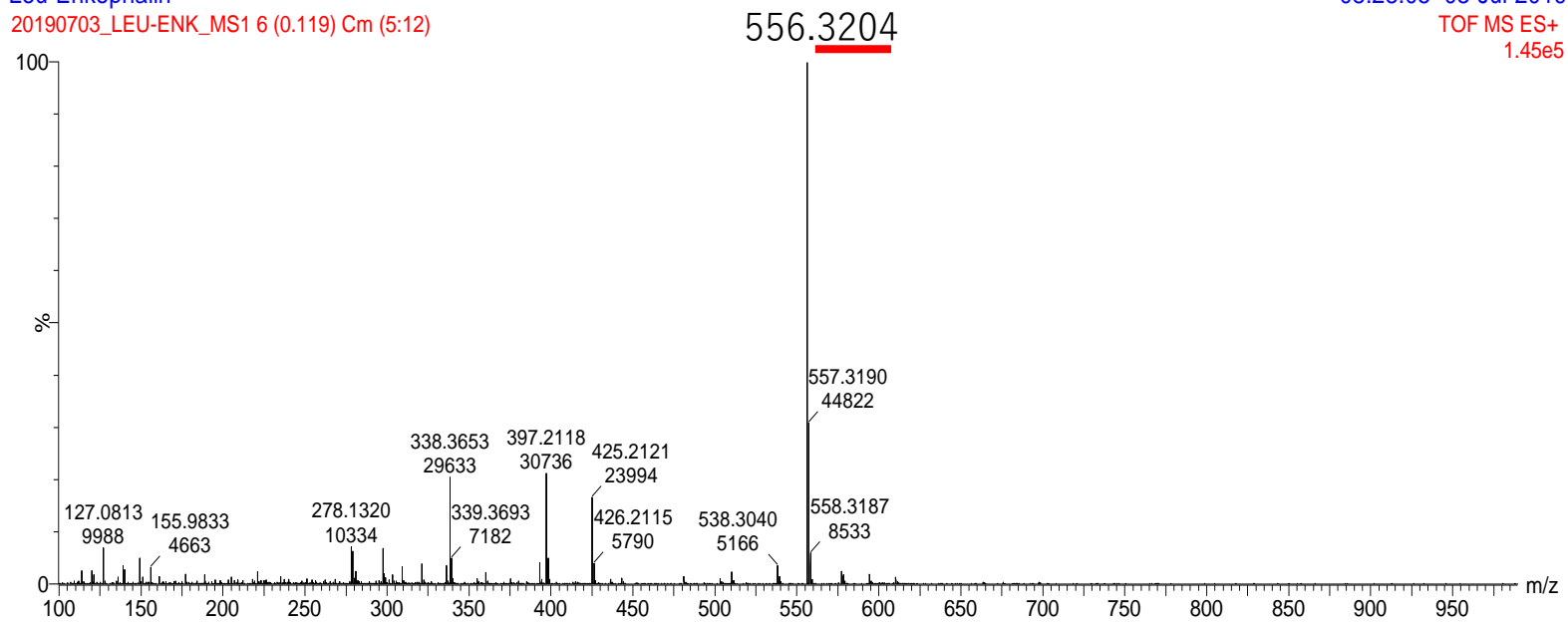
Leu-Enkephalin

20190703\_LEU-ENK\_MS1 6 (0.119) Cm (5:12)

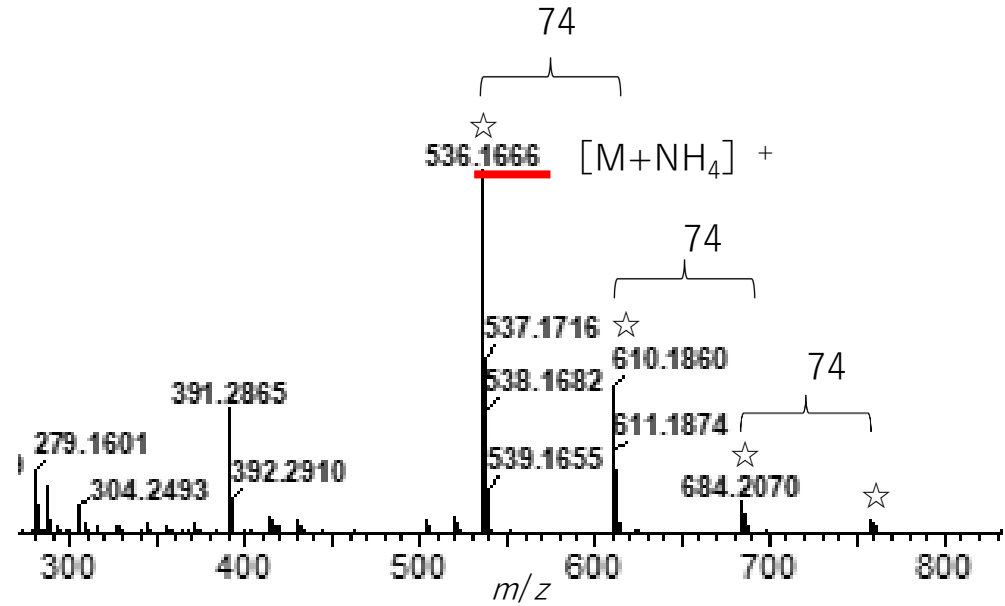
08:28:05 03-Jul-2019

TOF MS ES+

1.45e5



# シロキサン由来のマスペクトル



元素記号	質量数	質量	天然存在比(%)	原子量
Si	28	27.97693	92.223	28.085
	29	28.97649	4.685	
	30	29.97377	3.092	

## 2. マススペクトルの読み方

2.1 マススペクトルから得られる情報

2.2 マススペクトルで観測されるイオンについて

2.3 質量分析計の分解能とマススペクトルの関係について

2.4 マスティフェクト値の利用

2.5 マススペクトル取得モードについて

# MS Method (Waters, QTOF) スペクトル取込み条件設定画面

Acquisition TOF MS Trap CE Control Transfer CE Control

Da range

Acquire TOF MS over the range

Low Mass 100 Da

High Mass 1000 Da

Scanning Conditions

Scan Time 1 sec

Data Format Continuum

Instrument conditions

Override Cone Voltage value specified in tune file

Cone Voltage 40 V

Ramp the Cone Voltage during the scan

Initial Voltage 40 V

Final Voltage 40 V

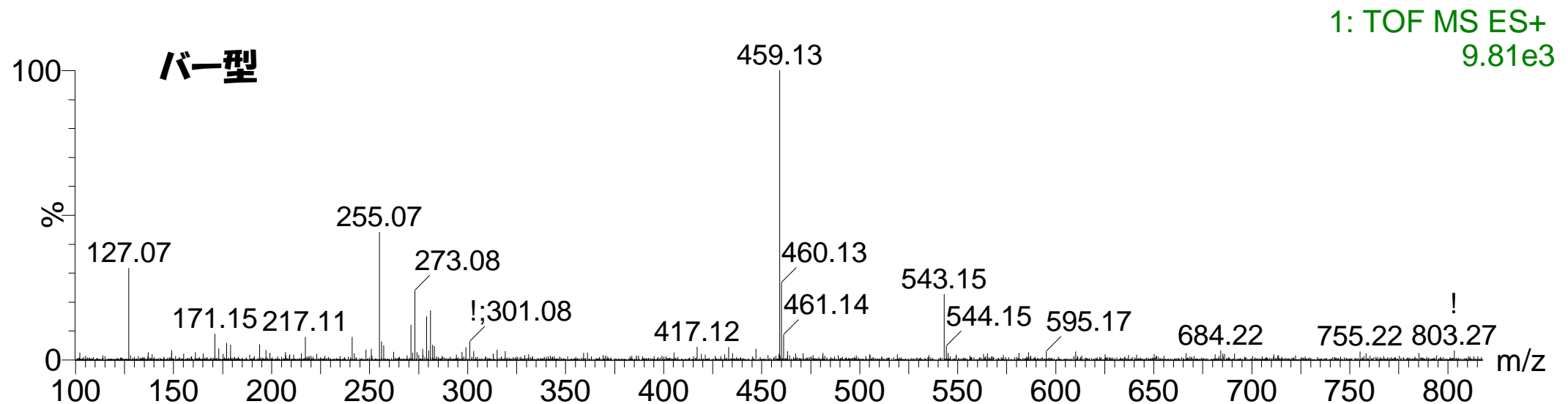
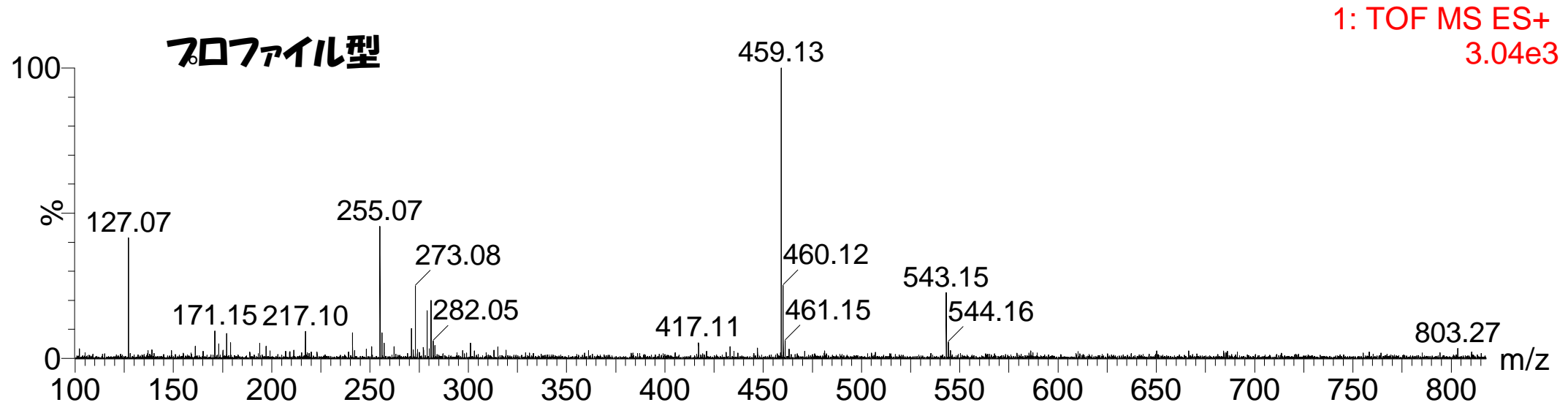
## Continuum = Profile

イオンプロファイルの波形を保持  
した形式のマススペクトルを取り込む方法  
いわゆる生データ

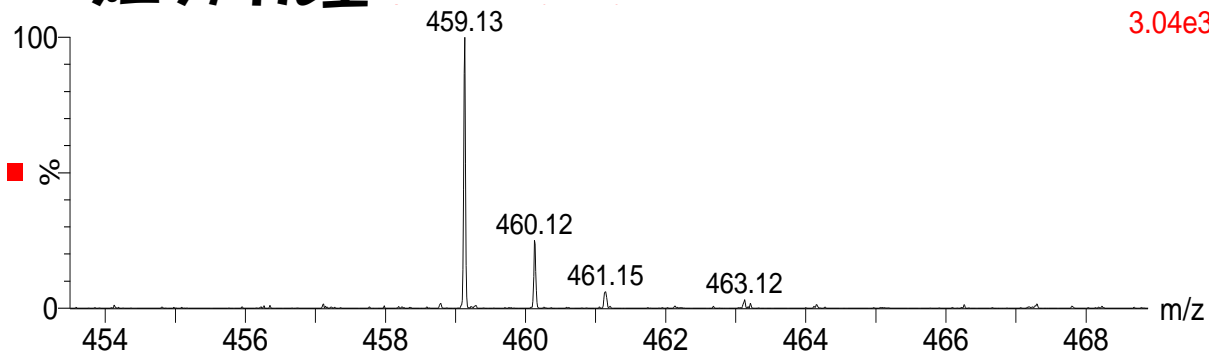
## Centroid = Bar

マススペクトルをデータ処理システムに  
取り込む際に、プロファイルのスペクトルを  
ピーク検出して、バー型にしてから取り込む方法  
加工されたスペクトル

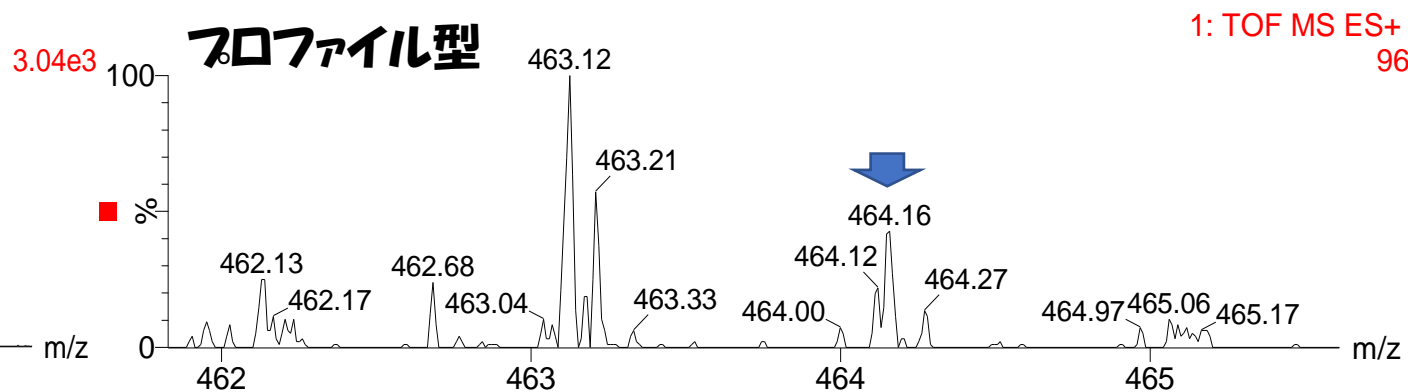
# フロファイル型スペクトルとバー型スペクトル



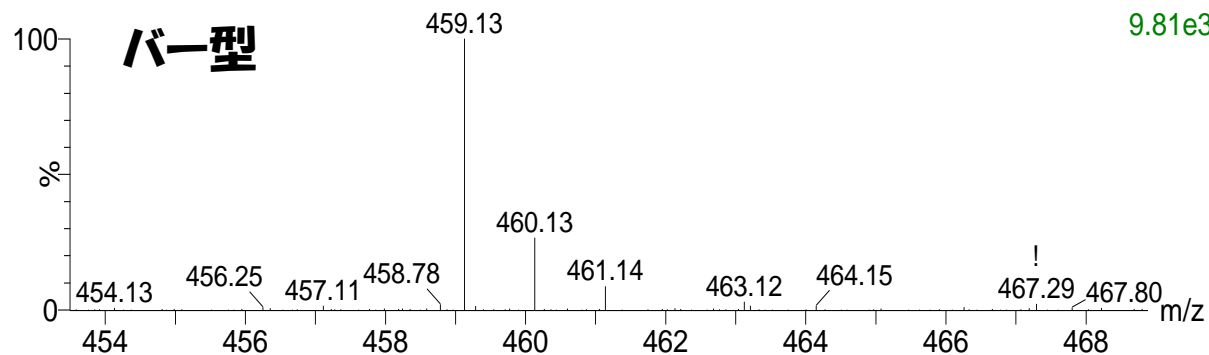
### フロファイル型



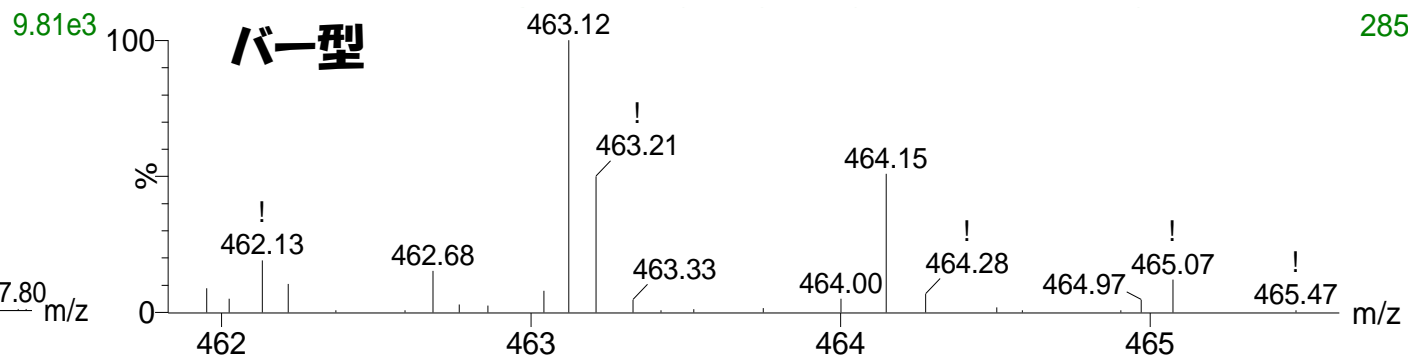
### フロファイル型



### バー型



### バー型



# プロファイル型スペクトルとバー型スペクトルの利点と欠点

## プロファイル型スペクトル

- 利点
  - ピーク形状を確認できる
  - ピークとノイズの判別ができる
  - 質量分解度を確認できる
- 欠点
  - データ容量が大きくなる(質量分解能が高い程大きくなる)

## バー型スペクトル

- 利点
  - データ容量が小さい
- 欠点
  - ピーク形状が確認できない(ピーク検出の良し悪しが判断できない)
  - 分離不十分なピークが消えてしまう、 $m/z$  値がズれる
  - ピークとノイズの判別ができない(ノイズをピーク検出してしまふ可能性がある)
  - 質量分解度を確認できない(データの良し悪しが判断できない)

**最近ではPCの性能が良いので、バー型スペクトルで取り込むメリットはない！  
(HDD容量が大きい)**

## **3. EI (GC / MS)におけるマススペクトルの解析**

- 3.1 分子イオンとフラグメントイオンの見極め**
- 3.2 ライブラリーサーチについて**
- 3.3 フラグメンテーションの解析**



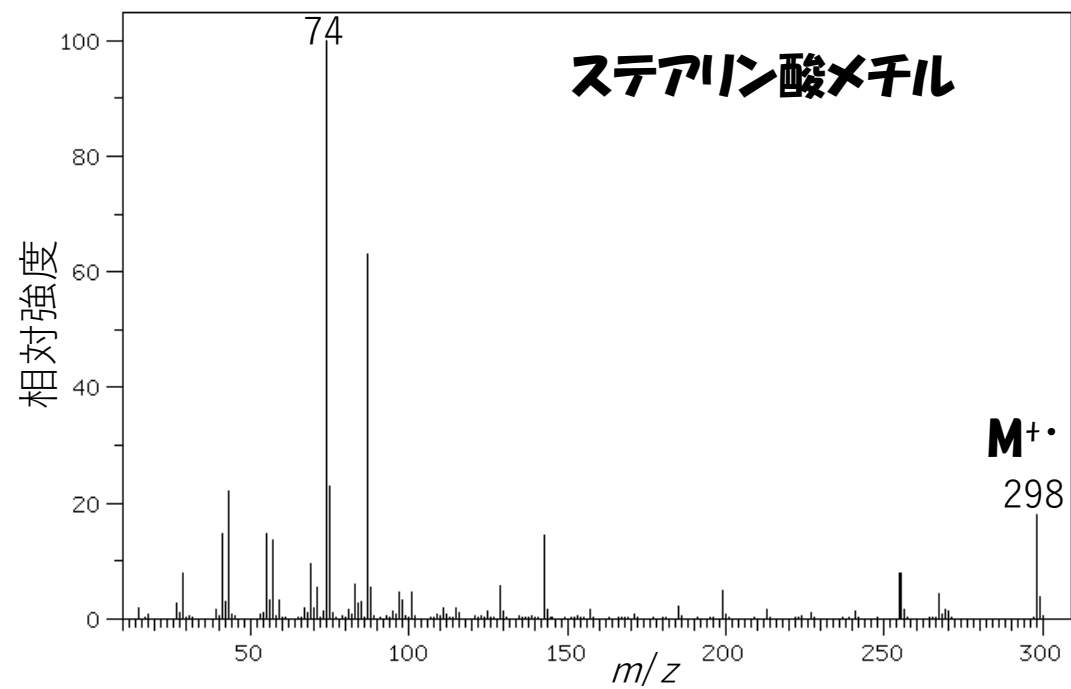
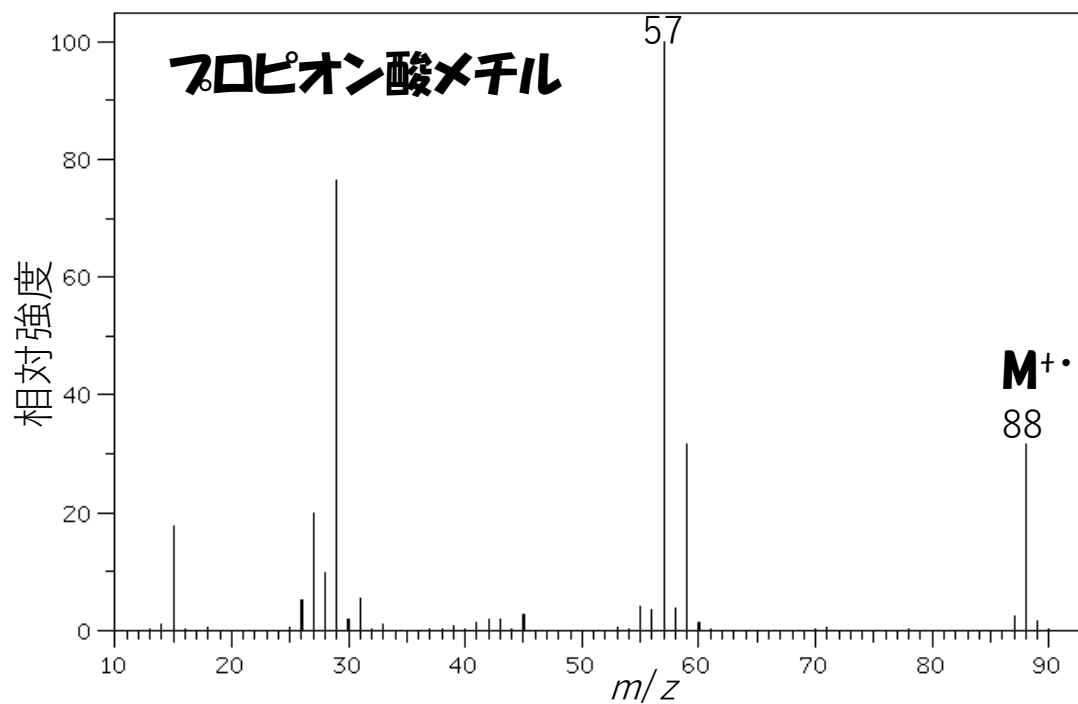
## **3. EI (GC/MS)におけるマススペクトルの解析**

### **3.1 分子イオンとフラグメントイオンの見極め**

### 3.2 ライブラリーサーチについて

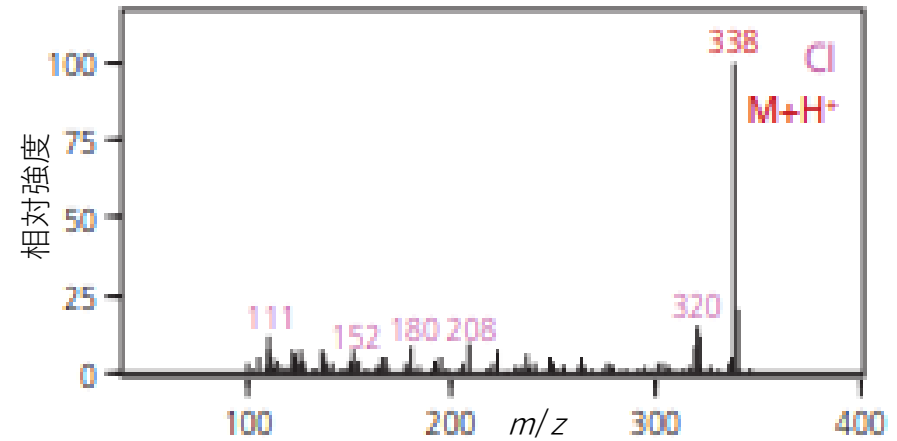
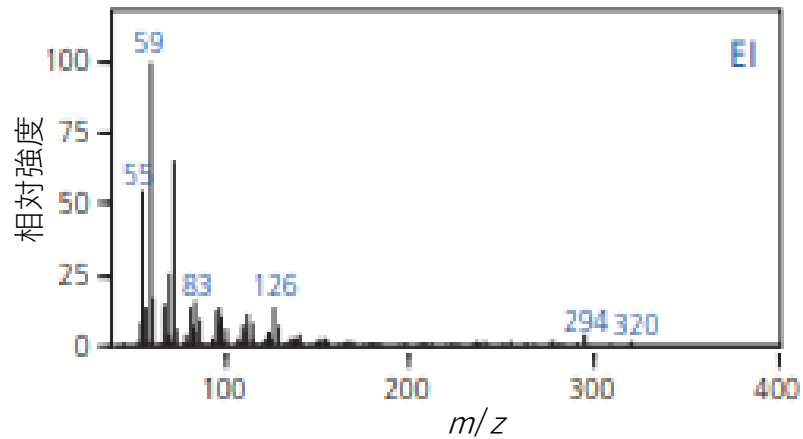
### 3.3 フラグメンテーションの解析

# 分子イオンが観測されている例

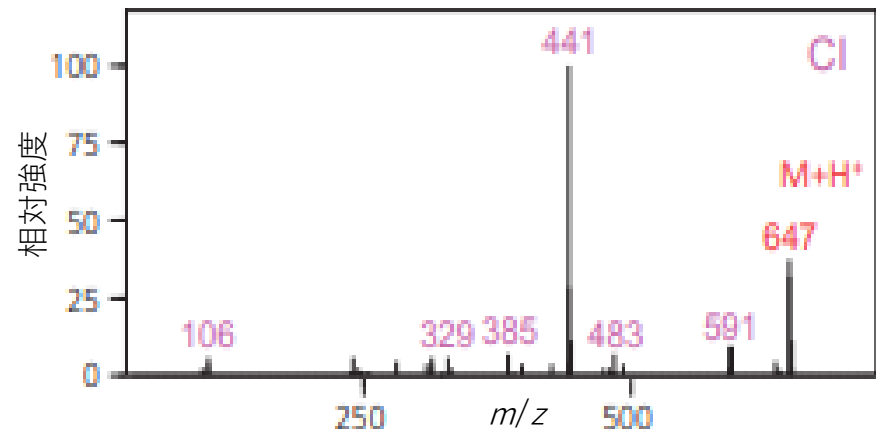
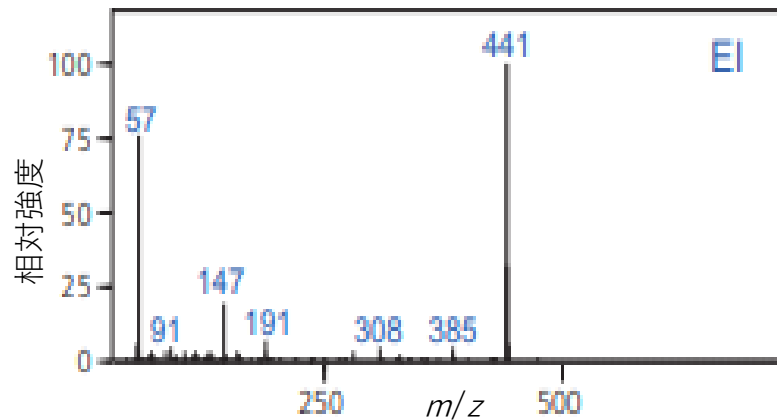


# EIで分子イオンが観測されない例

エルカ酸アミド

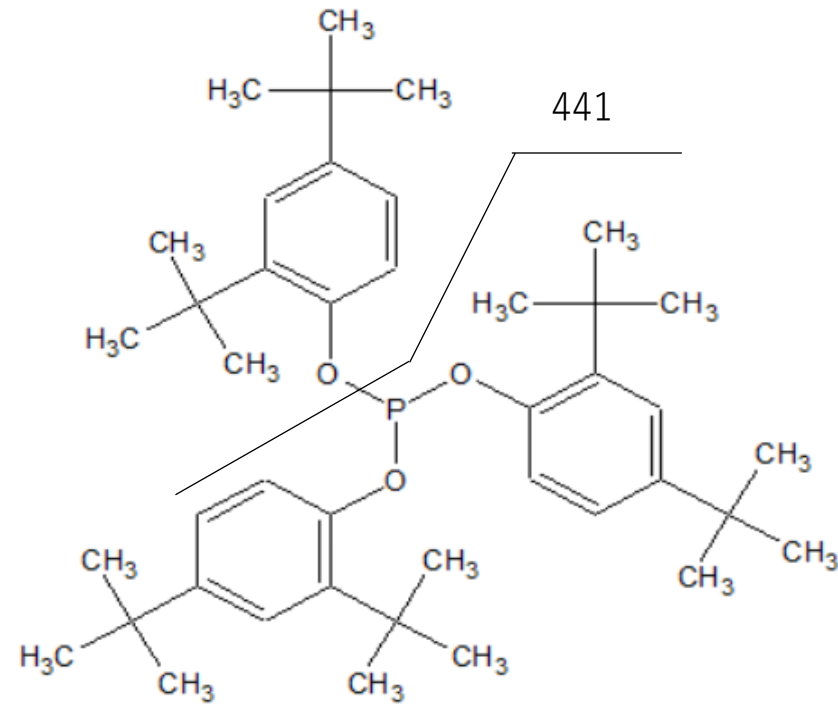


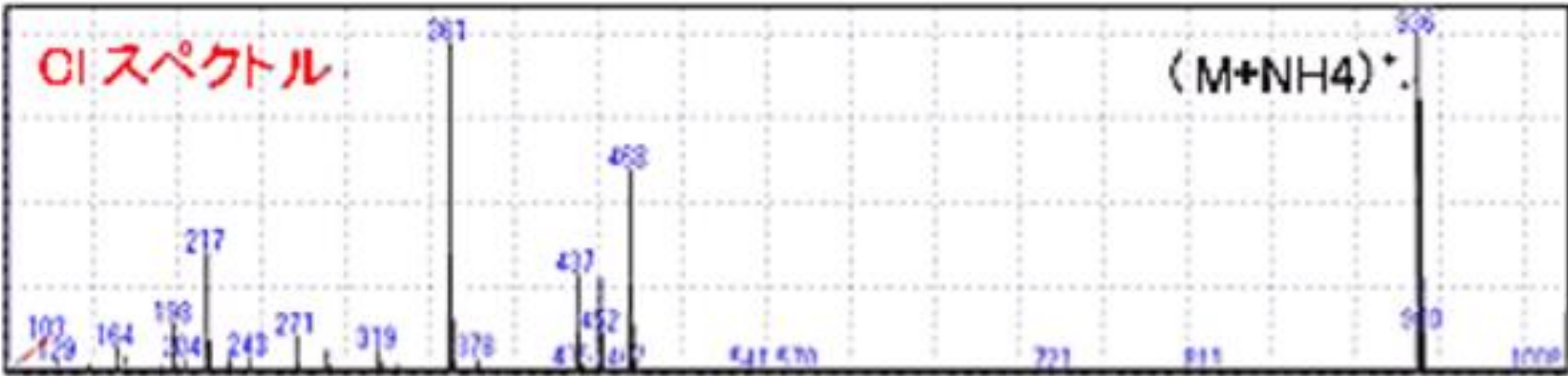
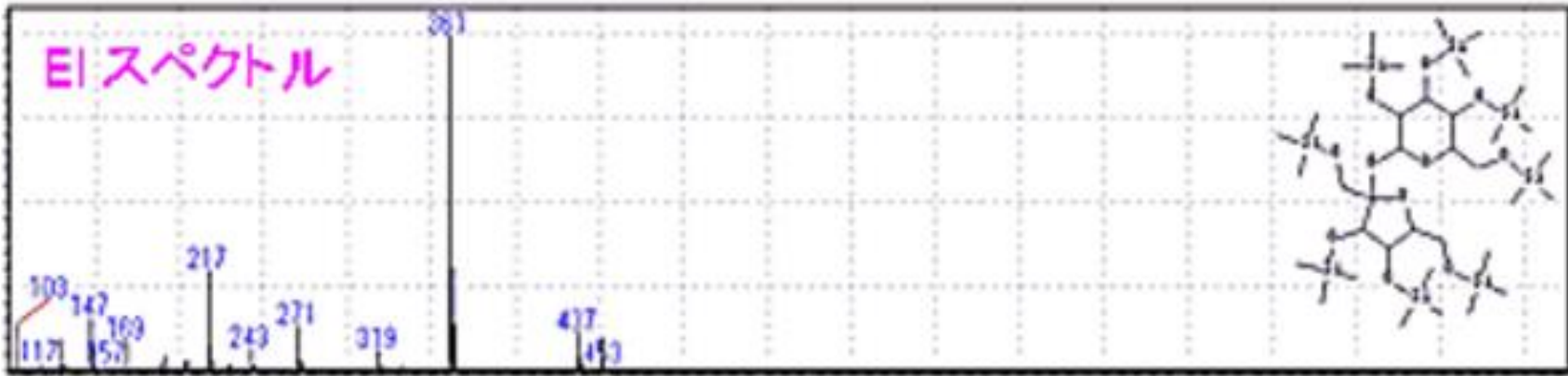
Irgafos 168



株式会社島津製作所技術資料より

# Irgafos 168の構造





**sucroseのTMS誘導体のマススペクトル**

**ある物質のEIマススペクトル**



**分子イオンが検出？ 分子質量の推測**

**既知物質、推定可能な物質 → 可能**

**未知物質 → ほぼ不可能**

**CI, FI, PIを試す**

**EIのイオン化エネルギーを下げる**

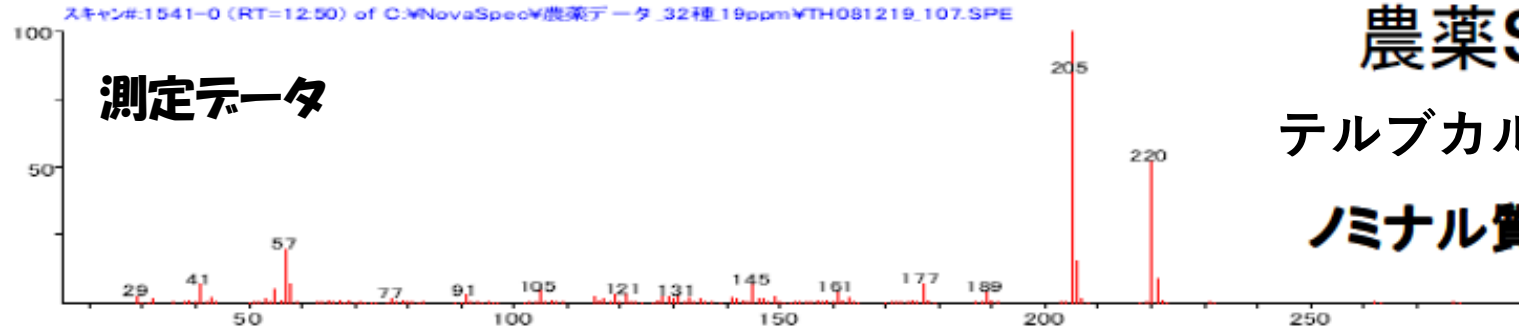
**単品ならESI, FAB, FDなどを試す**

## **3. EI (GC / MS)におけるマススペクトルの解析**

- 3.1 分子イオンとフラグメントイオンの見極め
- 3.2 ライブラリーサーチについて
- 3.3 フラグメンテーションの解析

# ライブラリーサーチは信用できるか？

ライブラリーサーチ結果の類似度は、あくまでも参考値

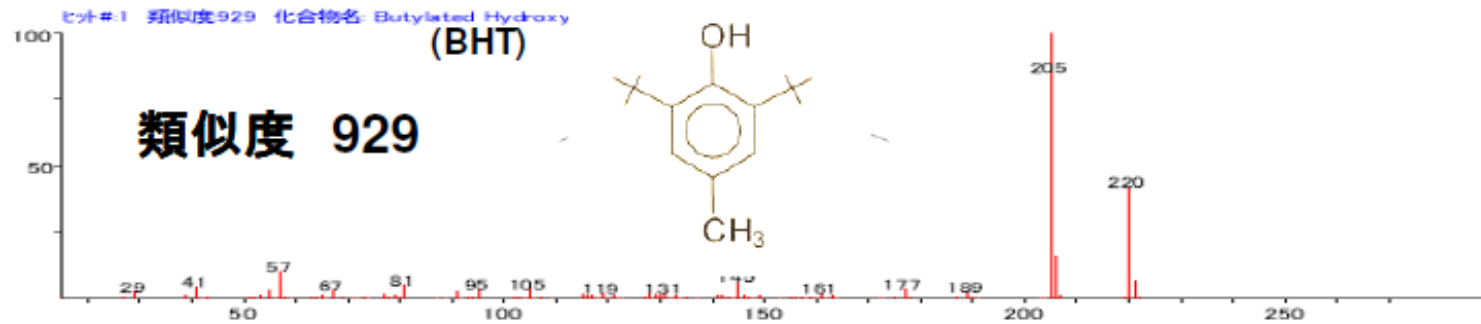


**農薬STD**

テルブカルブ (MBPMC)

**ノミナル質量: 277**

ライブラリーサーチ結果(NISTデータベース)



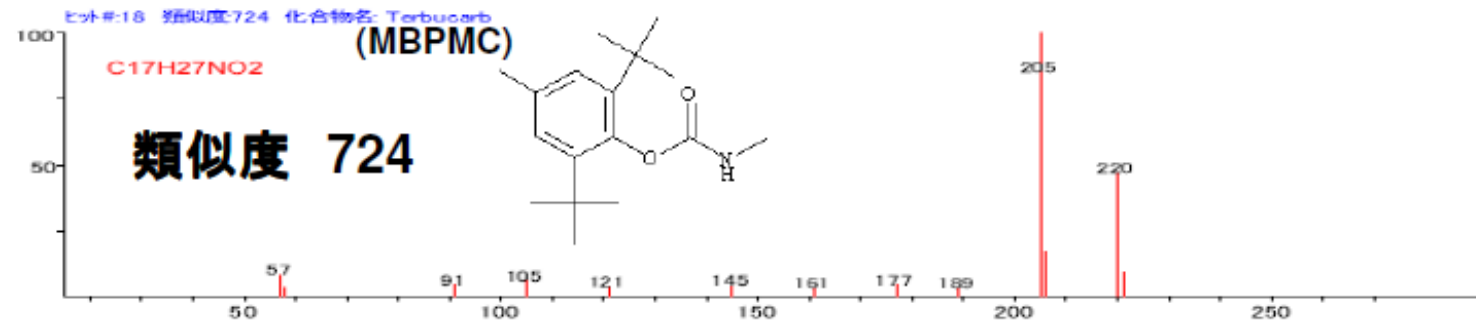
分子イオンが検出されない事が最大の問題！



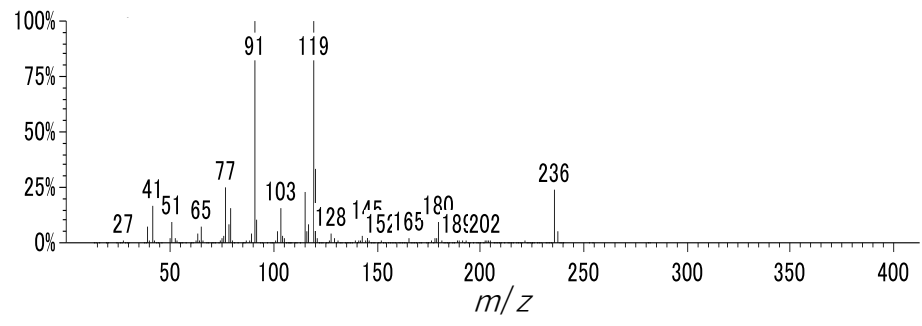
CI, FI(FD), PI等で確認

or

LC/MS

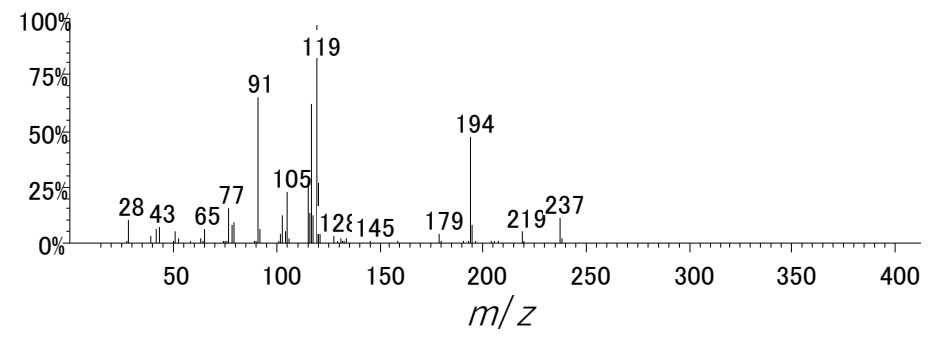
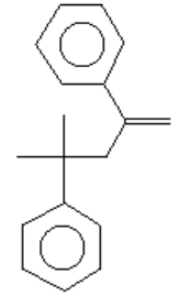






化合物名: 2,4-Diphenyl-4-methyl-1-pentene

ライブラリ:  
 CAS#: 0  
 分子式: C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>  
 ノミナル質量: 236  
 NIST#: 111580



**ライブラリーサーチでヒットしない**  
**低分解能マススペクトル(分子式情報がない)**



**同定は困難**

## **3. EI (GC / MS)におけるマススペクトルの解析**

3.1 分子イオンとフラグメントイオンの見極め

3.2 ライブラリーサーチについて

**3.3 フラグメンテーションの解析**

# 何故、フラグメンテーションの解析について勉強するのか？

## 定性分析

ライブラリーサーチは意外と当てにならない

↳ フラグメンテーションの解析が出来る

化合物同定(構造推定)の確度が高まる

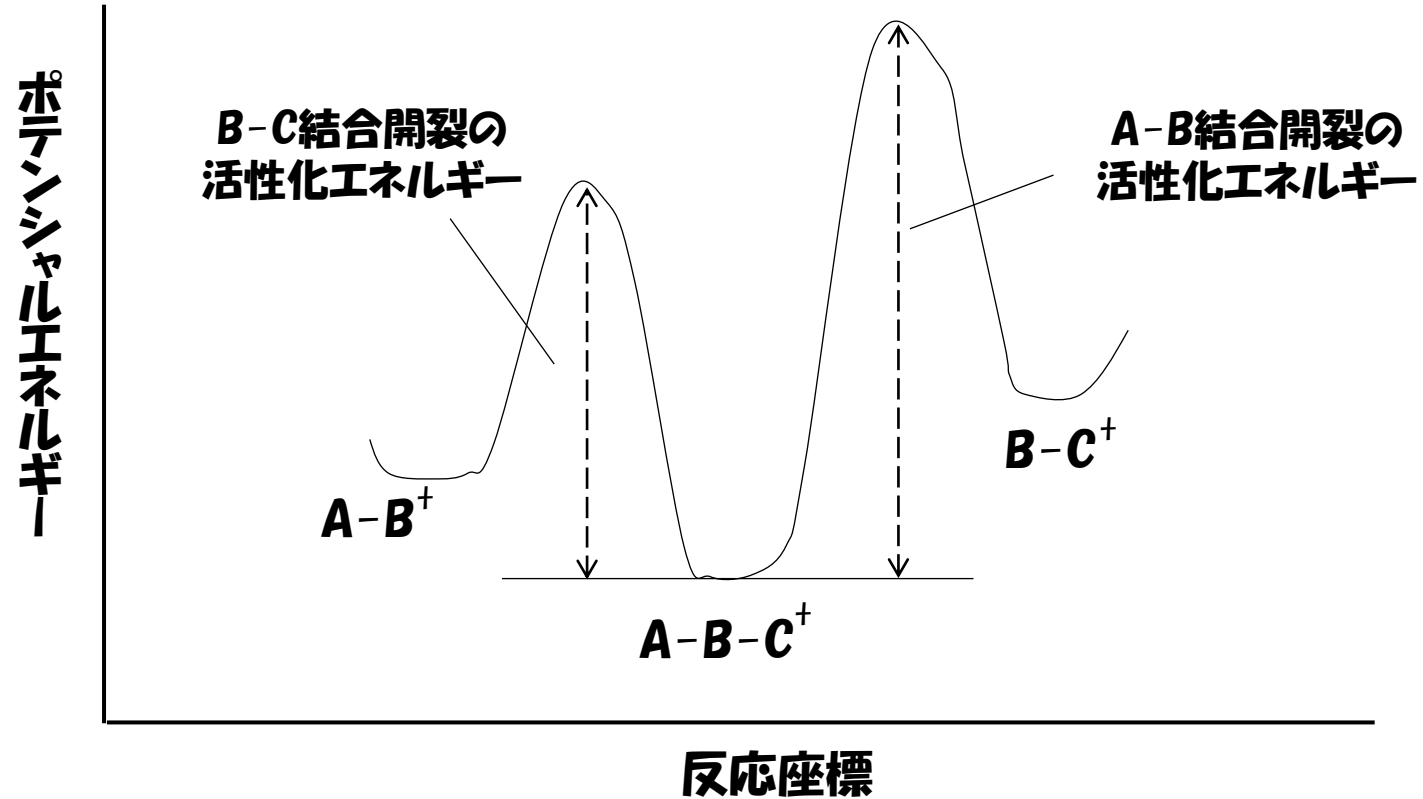
## 定量分析

フラグメントイオンをモニターするケースは多い

↳ フラグメンテーションの解析が出来る

分析条件に対して説得力がある

# フラグメンテーションの考え方



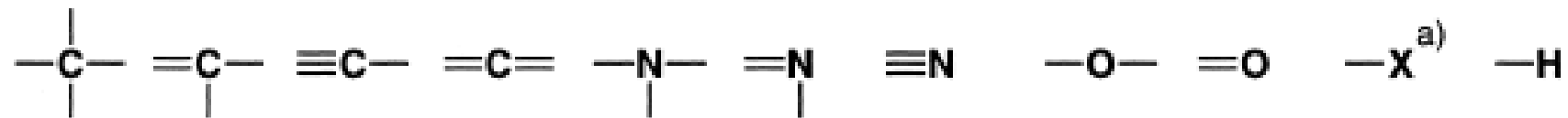
EIは、イオン化の際分子に与えるエネルギーが非常に高いため、通常は複数の結合が同時且つ即座(イオン化部内で)に開裂する



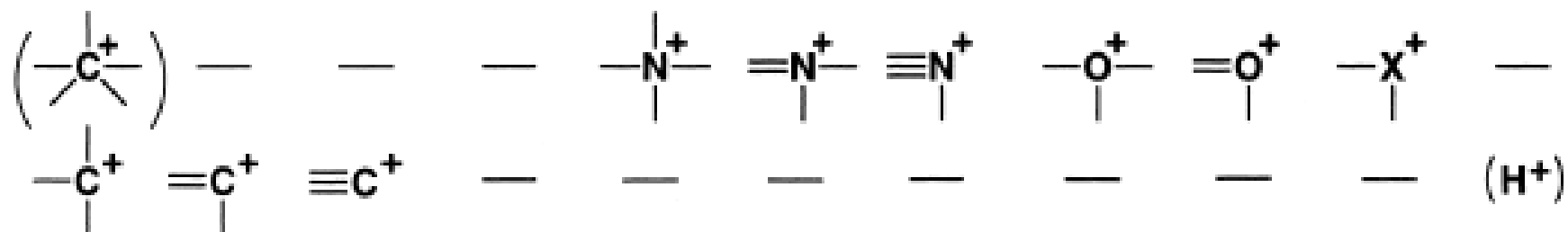
マスペクトルに複数のフラグメントイオンが観測される

# 安定な有機イオンの構造

## Neutral (uncharged) atoms



## Positively charged atoms



## Negatively charged atoms



<sup>a)</sup> X stands for halogen atoms.

# 代表的な中性フラグメント

イオン	脱離する中性フラグメント	化合物の種類
M - 1	<u>H</u> ·	アルデヒド類
M - 2	<u>H<sub>2</sub></u>	ポリオール類
M - 15	· <u>CH<sub>3</sub></u>	
M - 16	O·, NH <sub>2</sub> ·	N-オキシド、アミド
M - 17	OH·	
M - 18	<u>H<sub>2</sub>O</u>	アルコール、ポリオール
M - 26	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	
M - 27	HCN	
M - 28	<u>CO</u> , C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	キノン、エチルエステル
M - 29	CHO, C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ·	
M - 30	<u>CH<sub>2</sub>O</u> , NO·	
M - 31	<u>CH<sub>3</sub>O</u> ·	含メトキシ基
M - 32	<u>CH<sub>3</sub>OH</u>	含メトキシ基
M - 42	<u>CH<sub>2</sub>CO</u> , C <sub>3</sub> H <sub>5</sub>	
M - 43	<u>CH<sub>3</sub>CO</u> ·	アセテート
M - 44	<u>CO<sub>2</sub></u>	カルボン酸
M - 45	COOH·	カルボン酸
M - 46	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, NO <sub>2</sub> ·, HCOOH	

Mは分子イオンや分子質量関連イオンのm/z値

# 奇数電子イオンのフラグメンテーション

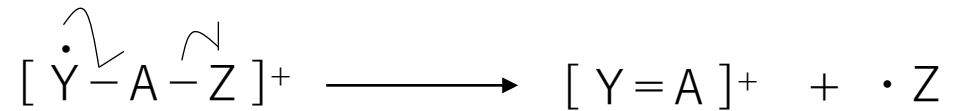
通常、EI のイオン化エネルギーは 70 eV

殆どの有機分子のイオン化ポテンシャルは 10 eV 程度

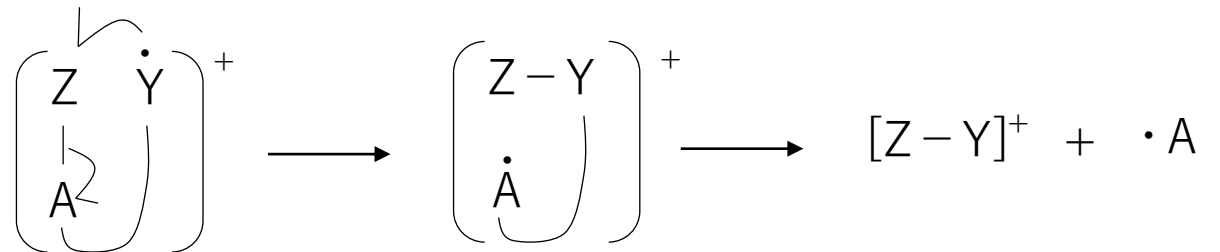
大過剰のイオン化エネルギー & 奇数電子

↳ フラグメンテーションが起こり易い

不対電子によって起こる単純開裂



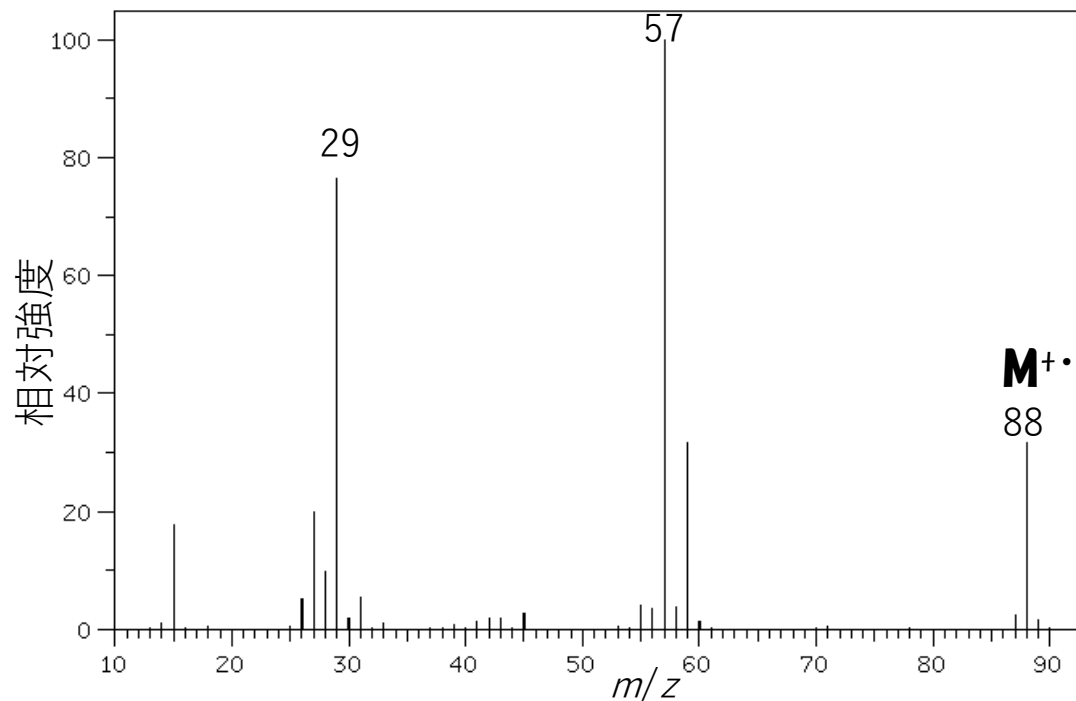
不対電子によって起こる転位反応 & 開裂



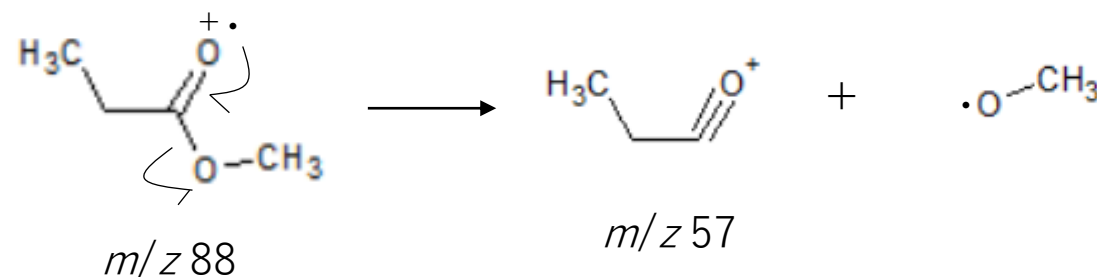
参考: 有機マススペクトロメトリー入門

その他、正電荷によって起こる単純開裂、正電荷によって起こる転位反応

# 不対電子によって起こる単純開裂の例



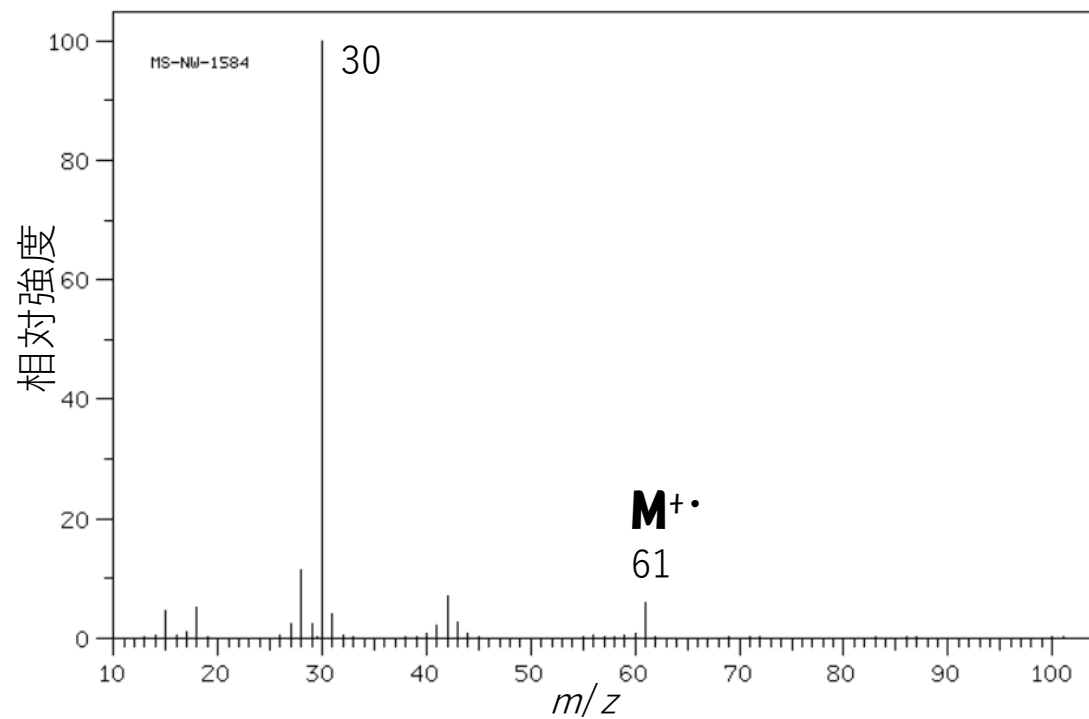
プロピオン酸メチル



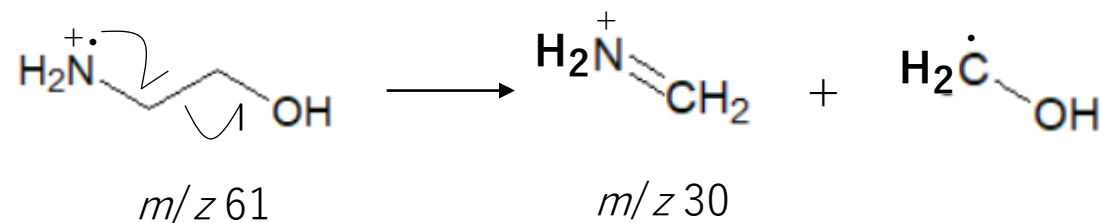
マススペクトル出典

SDBSWeb : <https://sdb.db.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)



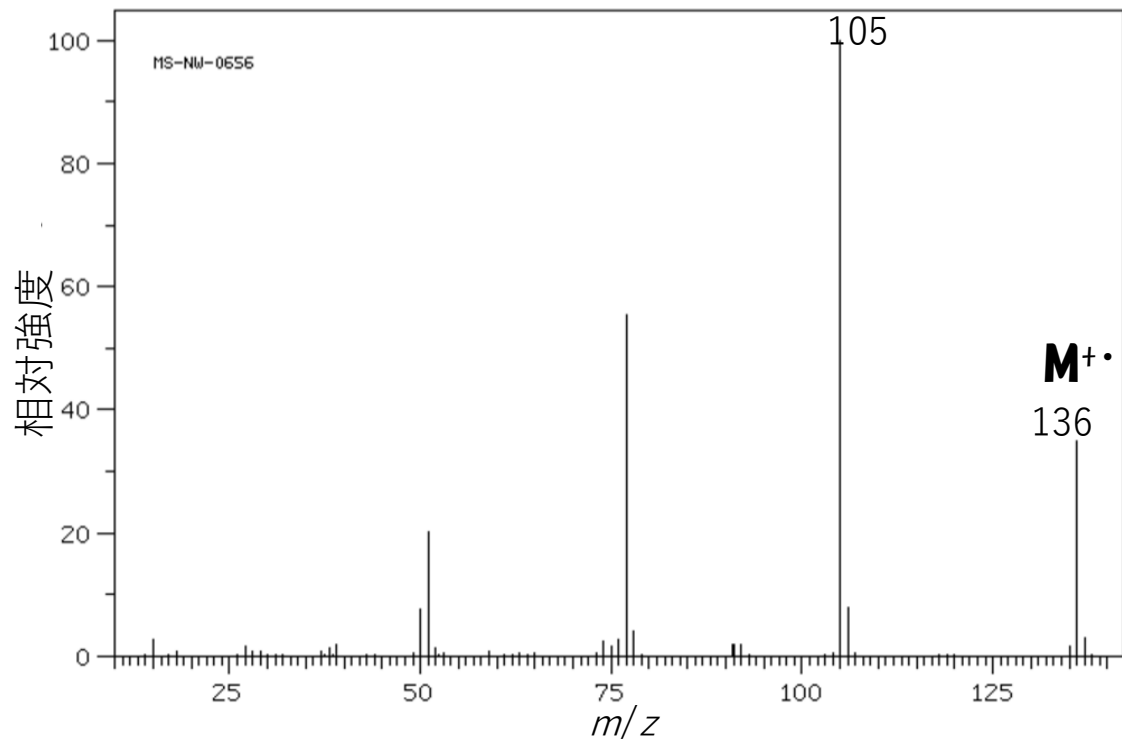


## 2-アミノエタノール

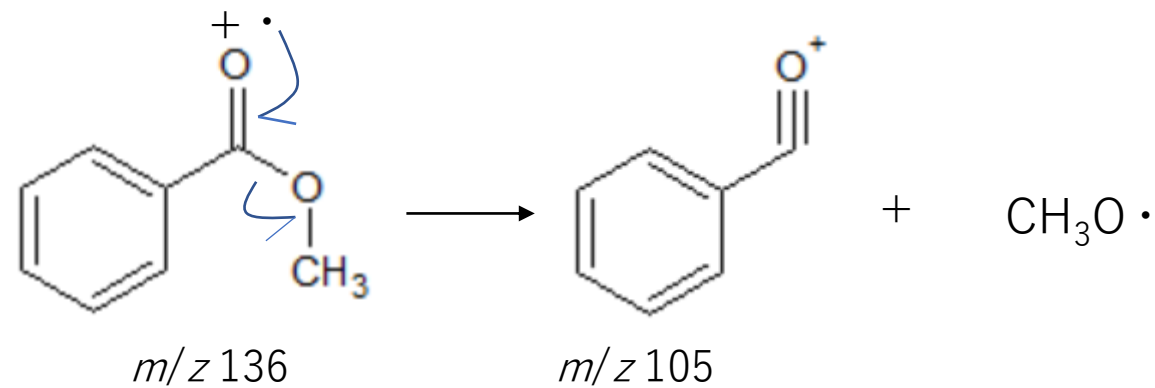


マススペクトル出典

SDBSWeb : <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

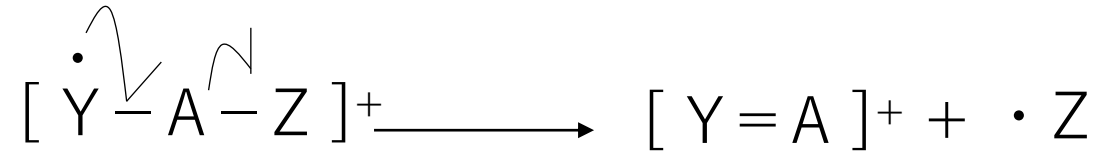


## 安息香酸メチル

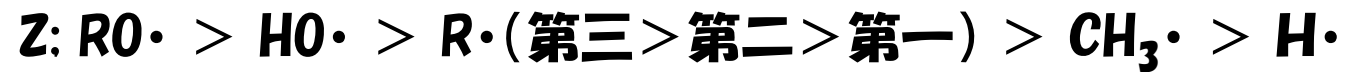


マススペクトル出典

SDBSWeb : <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)



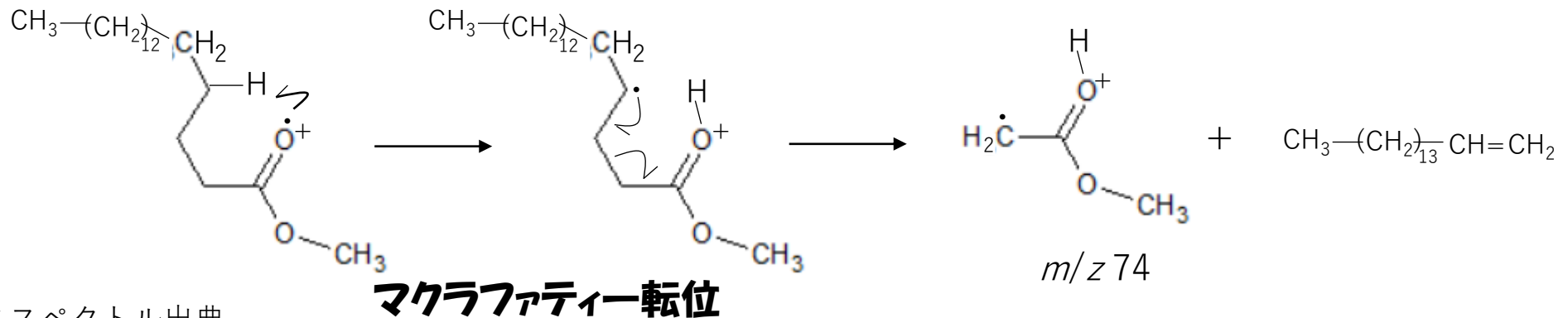
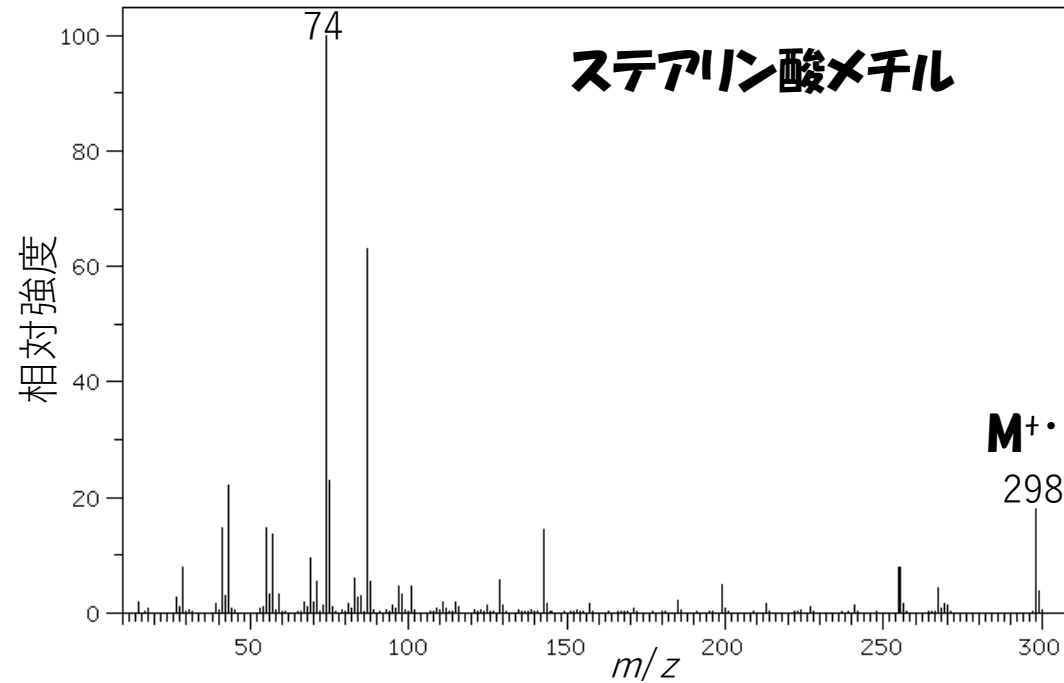
**Zの脱離し易さ = ラジカルの安定性**



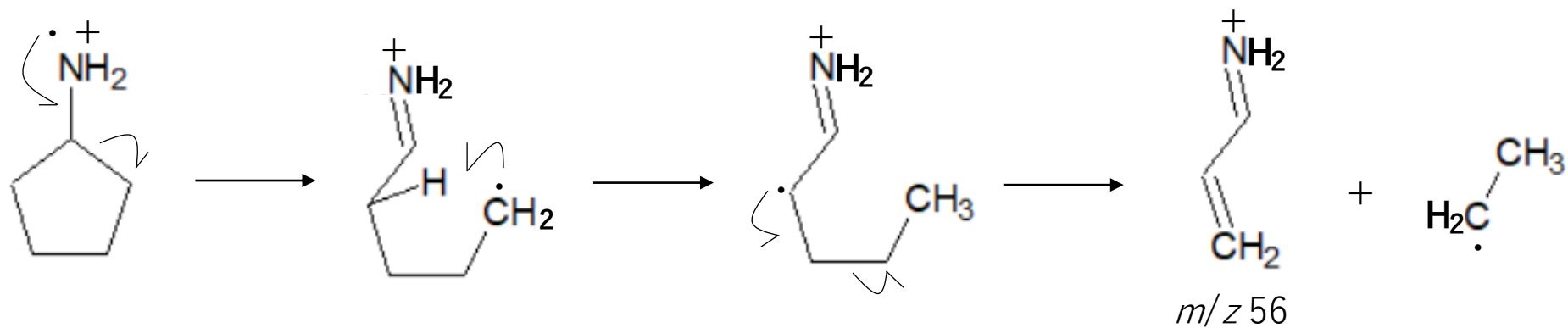
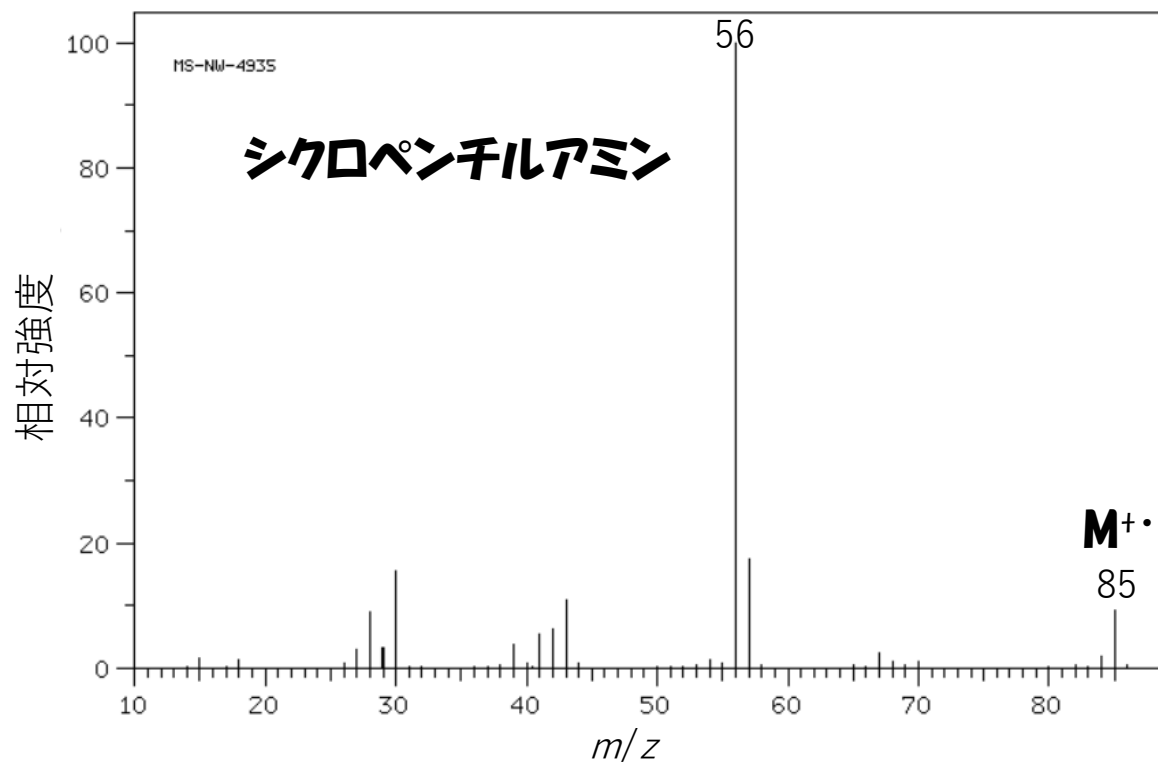
**この反応が分子イオンから起こる場合のY**



# 不對電子によって起こる転位反応&開裂

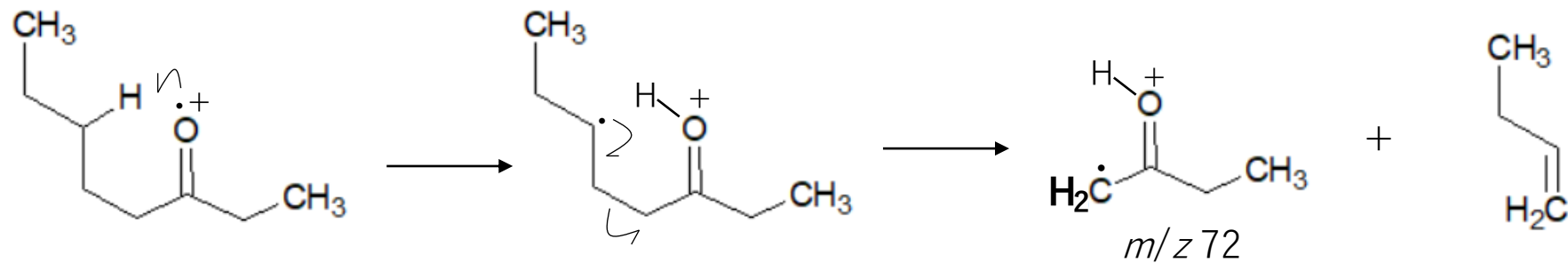
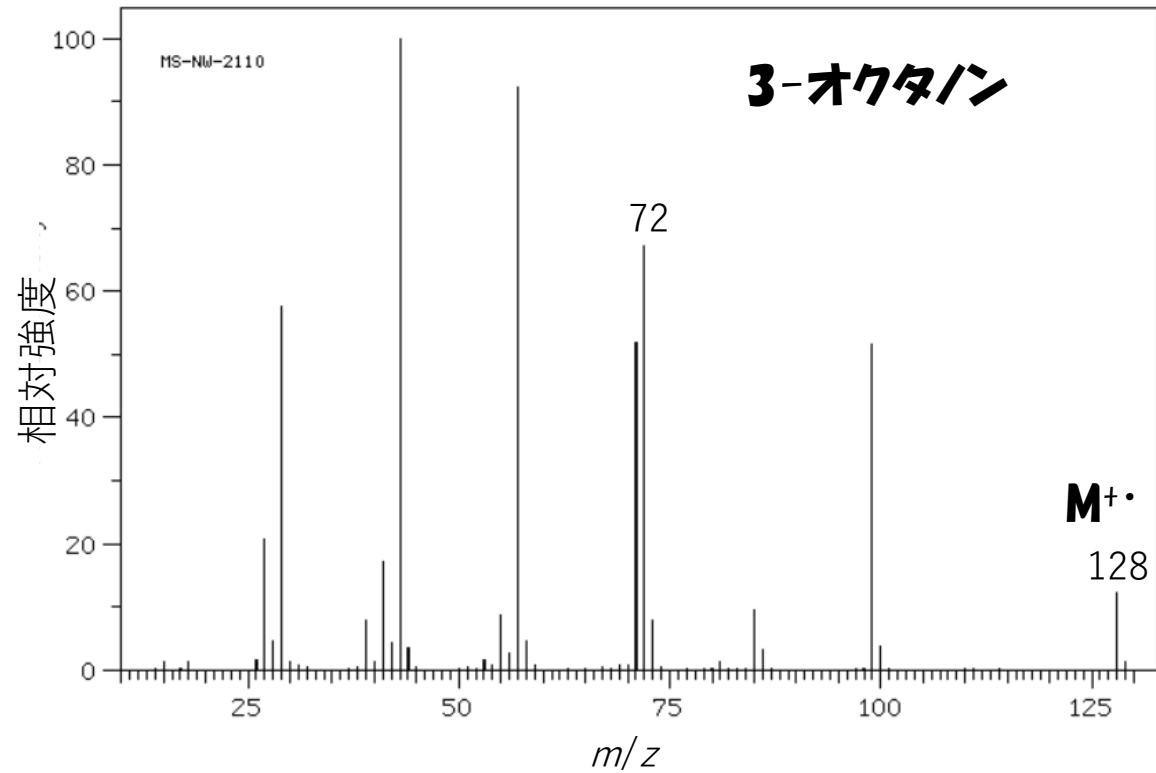


マススペクトル出典



マススペクトル出典

SDBSWeb: <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

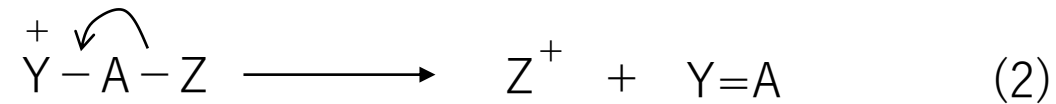
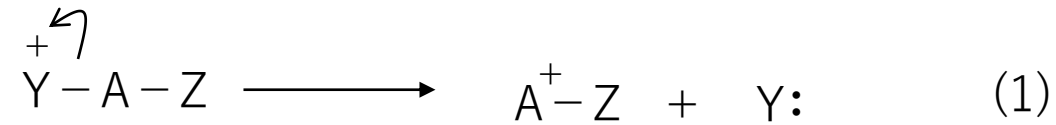


マススペクトル出典

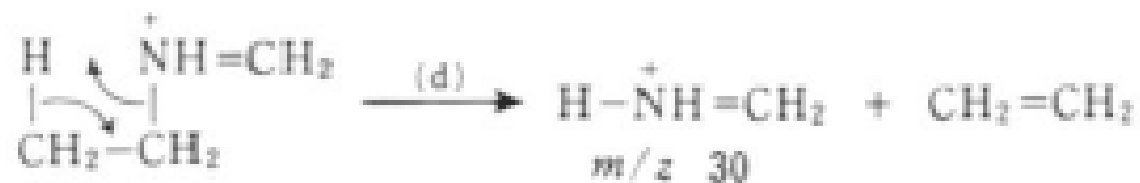
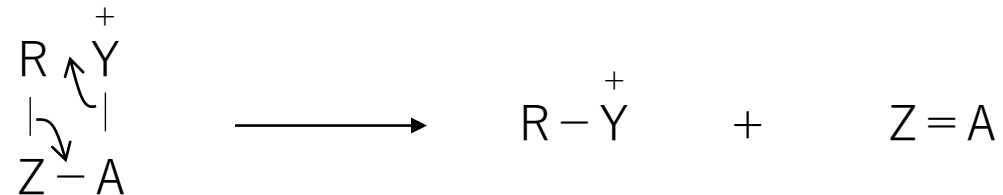
SDBSWeb: <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

# 偶数電子イオンでも見られる開裂・反応

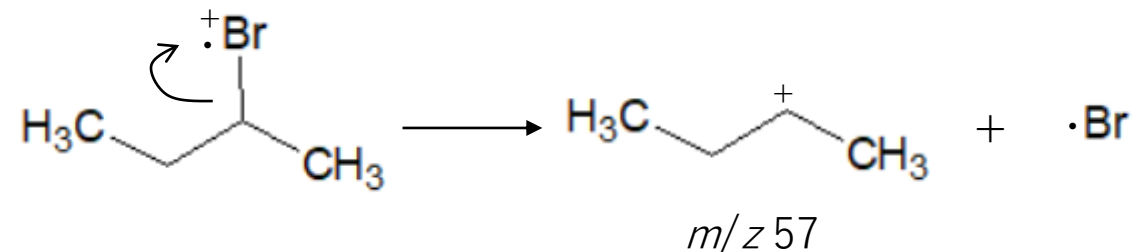
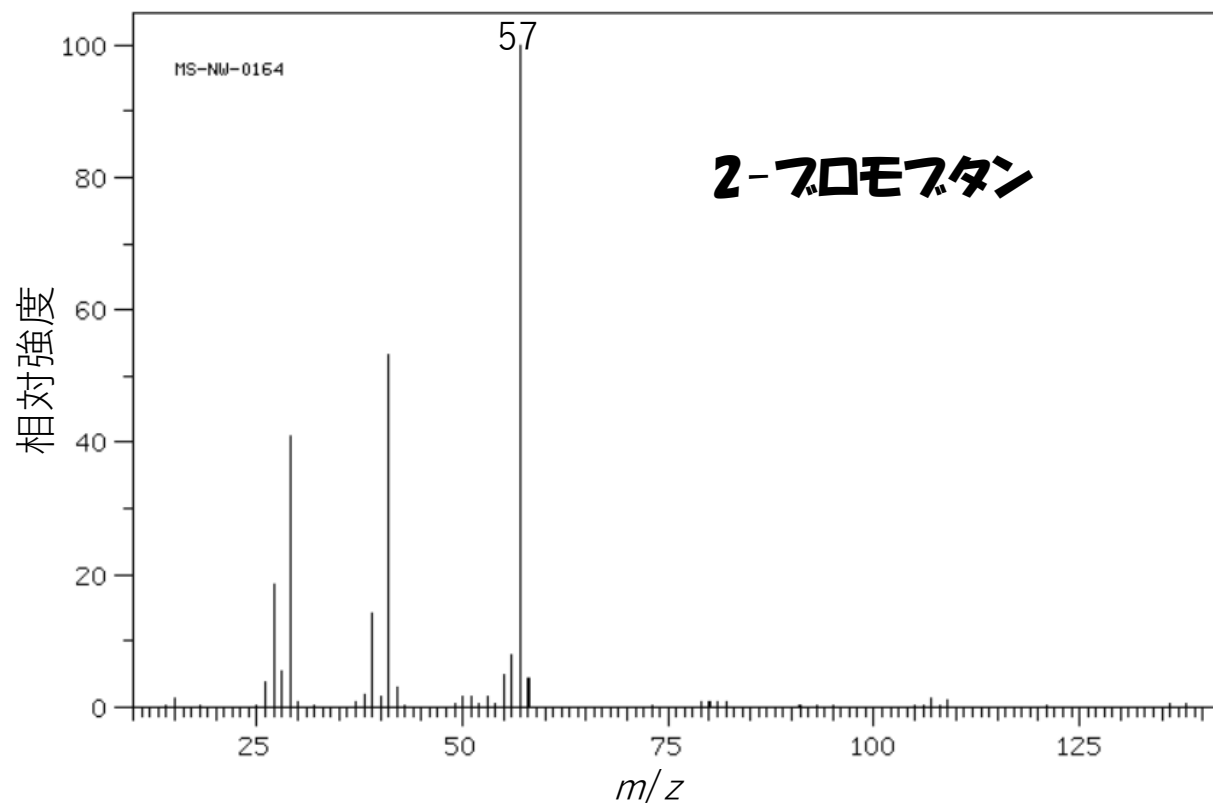
## 正電荷によって起こる単純開裂



## 正電荷によって起こる転位反応&開裂



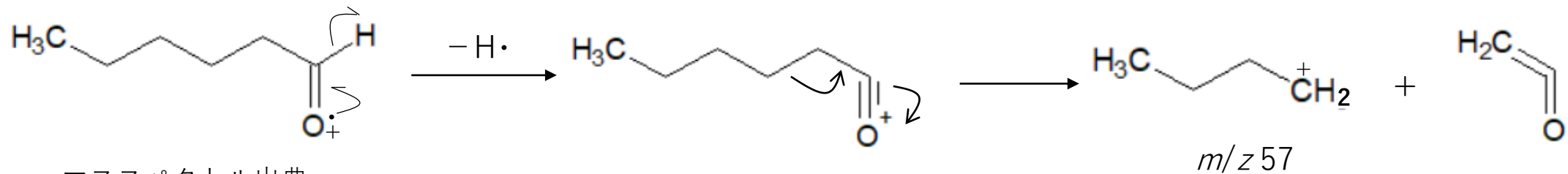
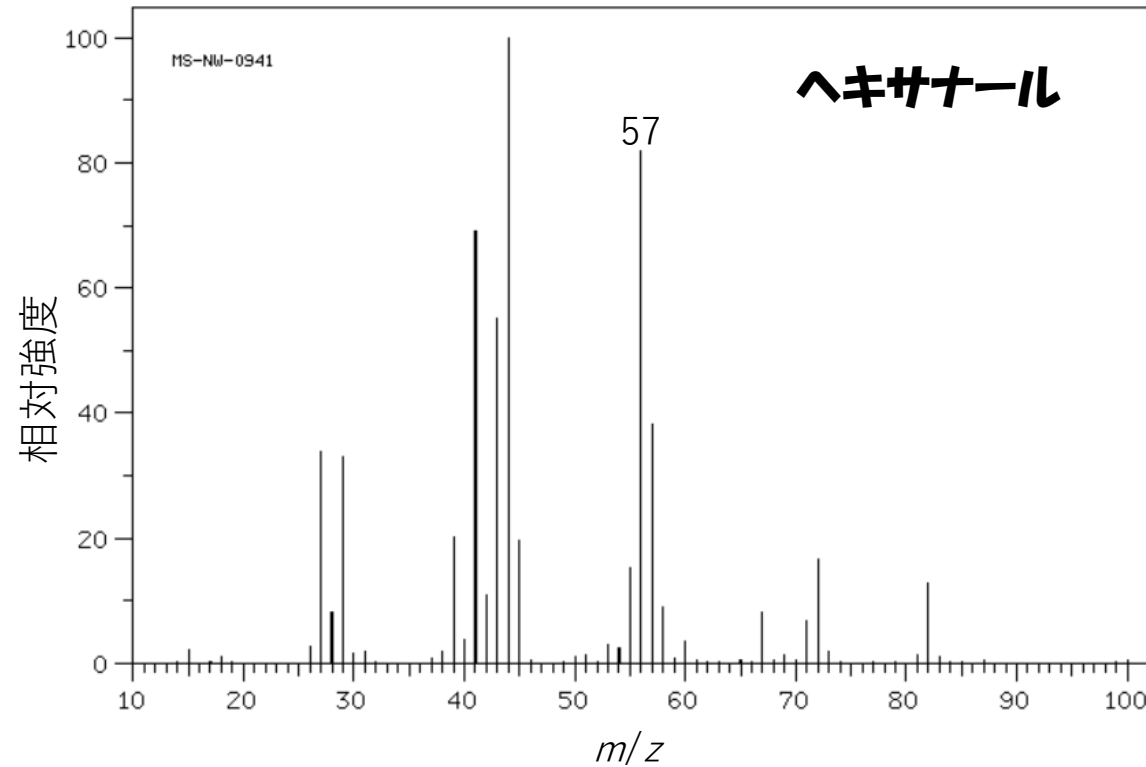
# 正電荷によって起こる単純開裂(1)の例



マススペクトル出典

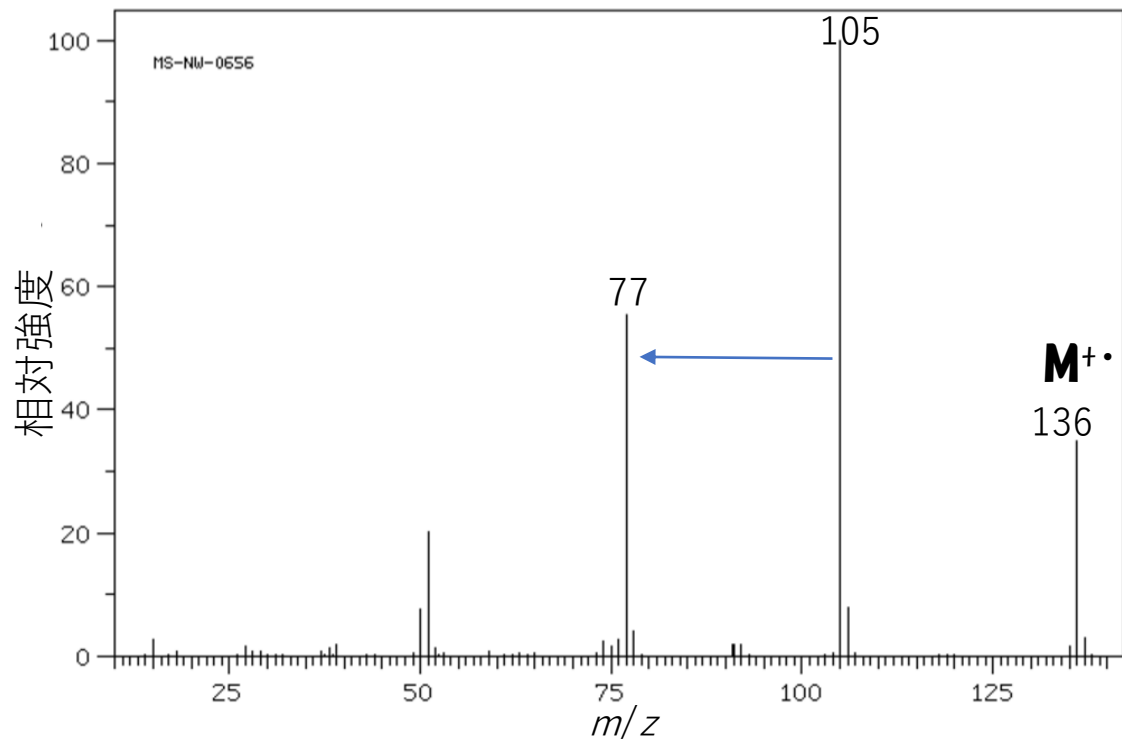


# 正電荷によって起こる単純開裂(2)の例

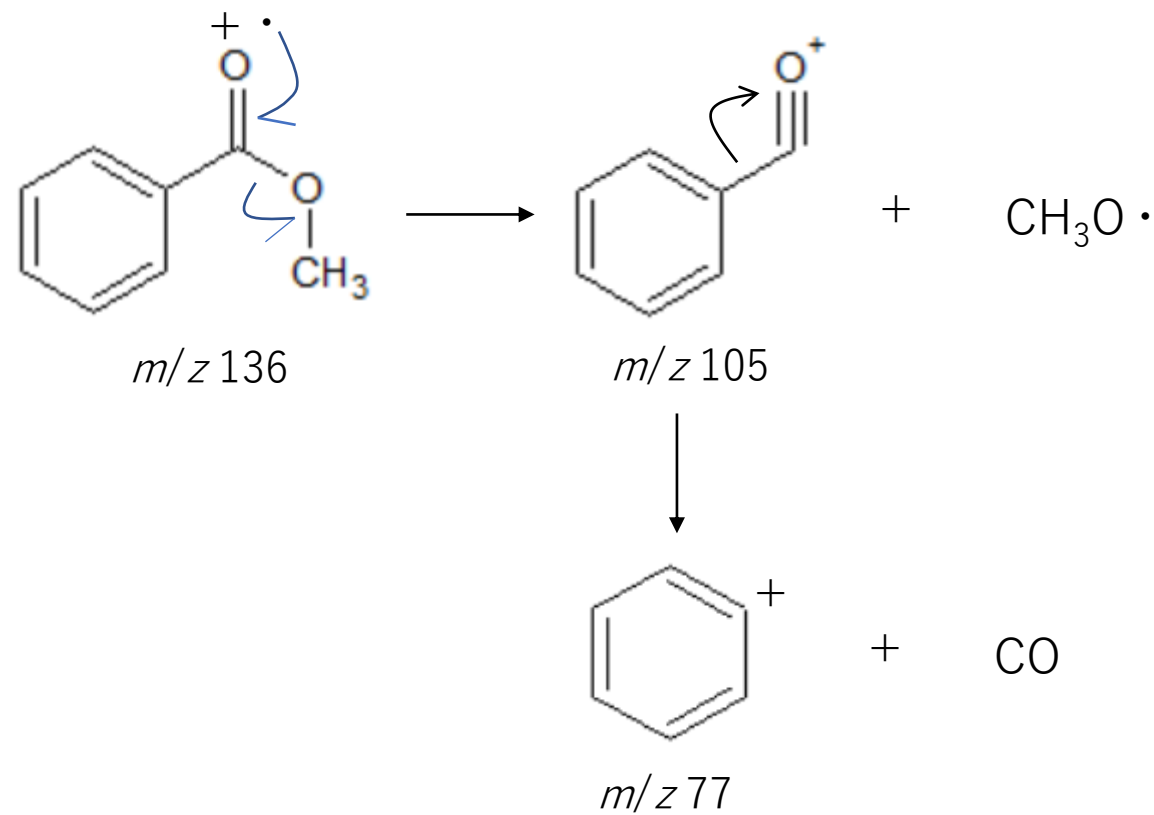


マススペクトル出典

SDBSWeb: <https://sdb.s.db.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

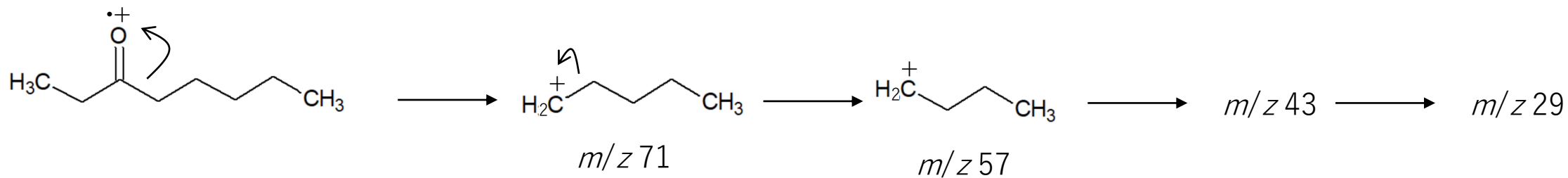
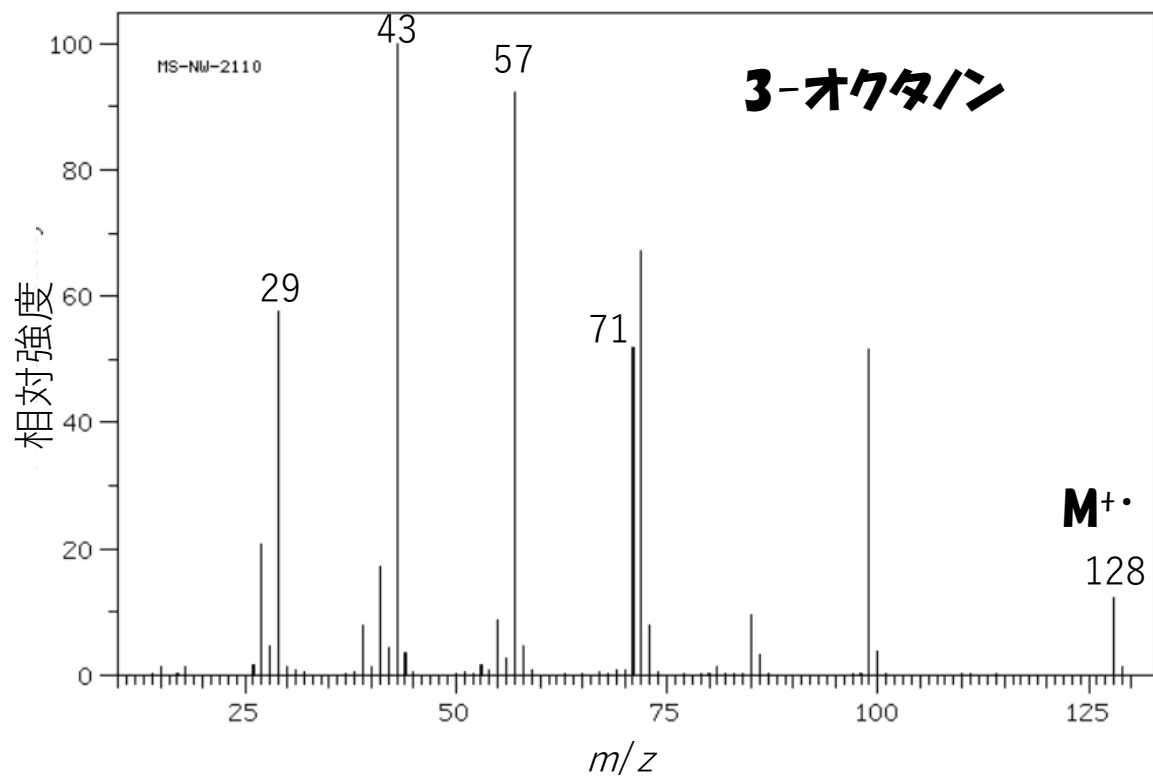


### 安息香酸メチル



マススペクトル出典

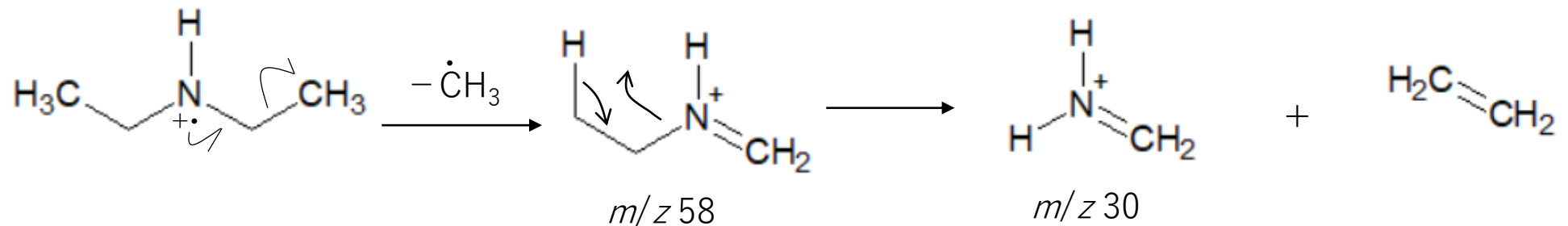
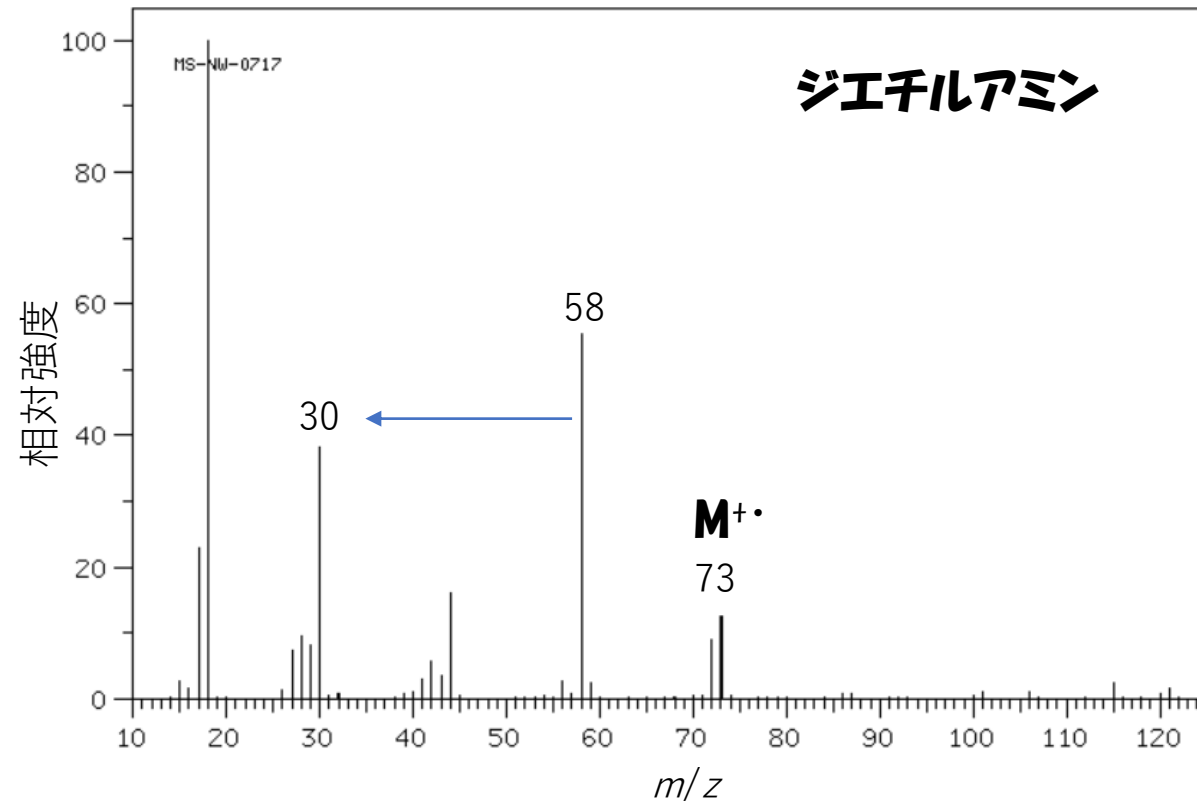
SDBSWeb : <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)



マススペクトル出典

SDBSWeb: <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

# 正電荷によって起こる転位反応&開裂の例



マススペクトル出典

SDBSWeb: <https://sdb.s.db.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2021/1/20)

## EIはある種最も汎用的なイオン化

- ・ 一般的な有機分子のイオン化ポテンシャルは10 eV前後
- ・ 気相分子からはほぼ100 % 何らかのイオンが生成する

↓  
分子イオンが生成しない場合もある

↓  
ライブラリーサーチだけでは同定できない場合が多い

## ESI, APCIはプロトン移動を伴うイオン化

- ・ プロトン親和力(PA)の関係が支配的
- ・ PA 分析種(A) < 夾雑成分(M)



↓  
全くイオンが観測されない場合もある

## **4. LC/MSにおけるマススペクトルの解析**

**4.1 イオン種の解釈について**

**4.2 TICクロマトグラムから如何にして試料成分を探すか**

**4.3 高分解能マススペクトルの解析**

## **3. LC/MSにおけるマススペクトルの解析**

### **3.1 イオン種の解釈について**

### **3.2 TICクロマトグラムから如何にして試料成分を探すか**

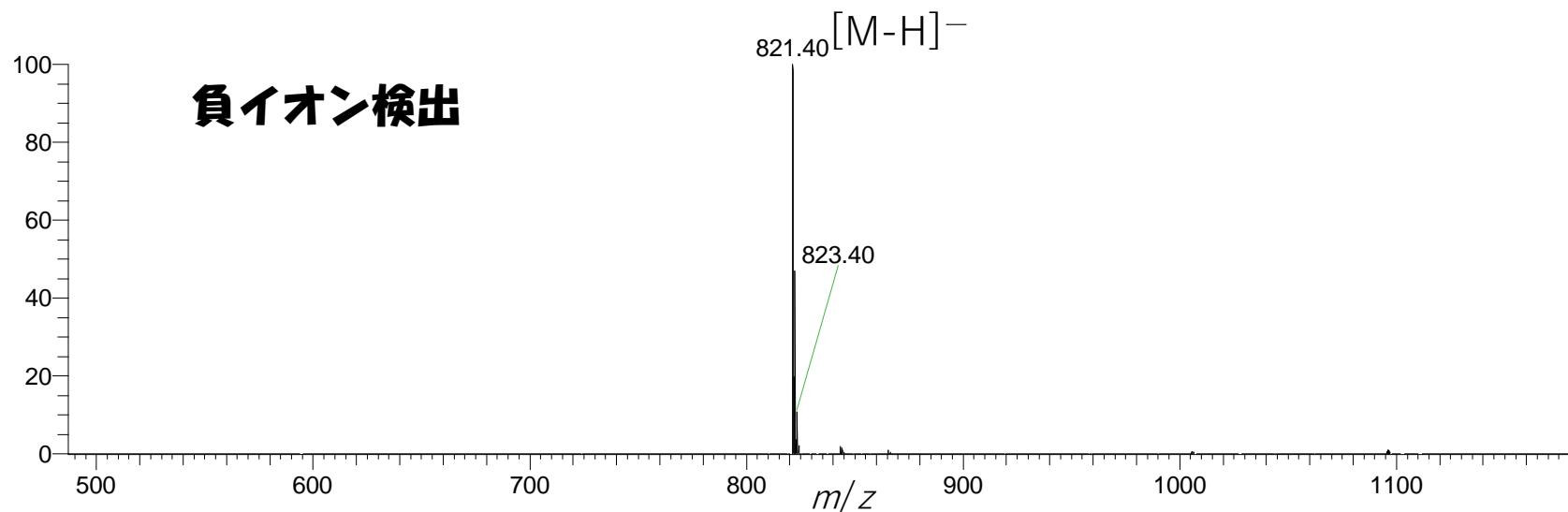
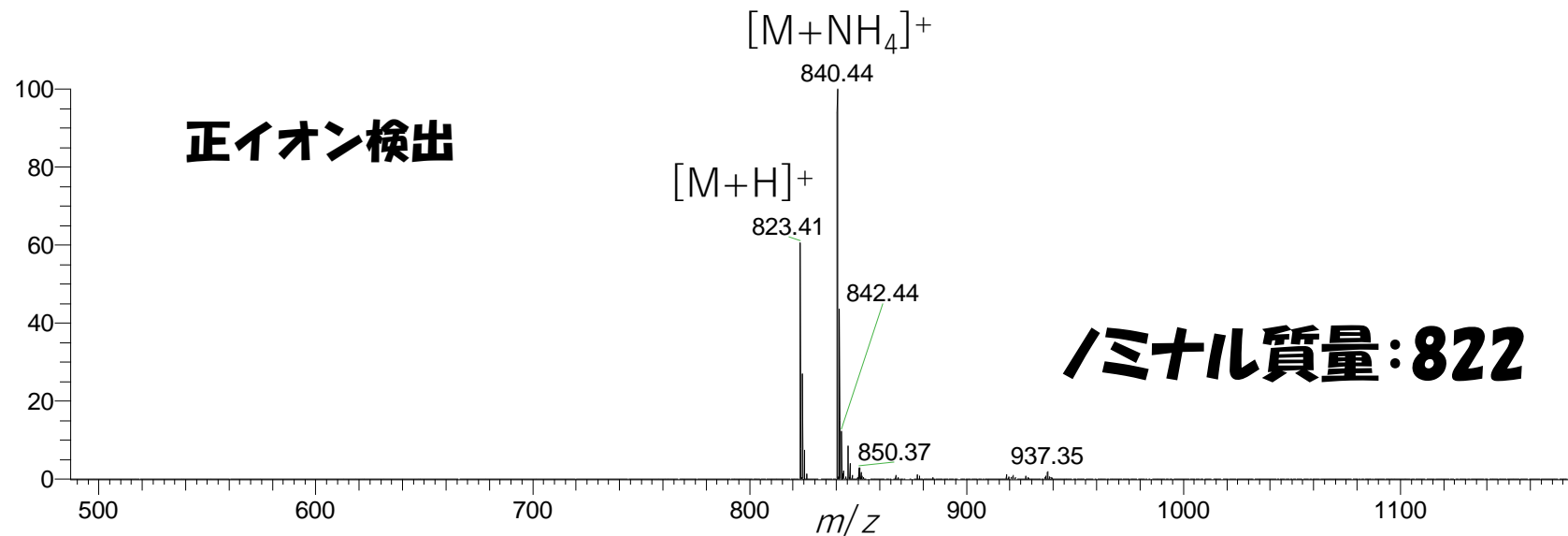
### **3.3 高分解能マススペクトルの解析**

# 移動相溶媒と生成し易い付加イオン

イオン化法	極性	移動相溶媒	生成し易い付加イオン
ESI	+	メタノール	$[M + H]^+$ , $[M + Na]^+$ , $[M + K]^+$
	+	アセトニトリル	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$ , $[M + Na]^+$
	+	含酢酸アンモニウム	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$
APCI	+	メタノール	$[M + H]^+$ , $[M + H + CH_3OH]^+$
	+	アセトニトリル	$[M + H]^+$ , $[M + H + CH_3CN]^+$
	+	含酢酸アンモニウム	$[M + H]^+$ , $[M + NH_4]^+$
ESI	-	酸を含まない系	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$
	-	含酢酸, 酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
	-	含ギ酸	$[M - H]^-$ , $[M + HCOO]^-$
	-	含酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
APCI	-	酸を含まない系	$[M - H]^-$ , $[M + Cl]^-$
	-	含酢酸, 酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$
	-	含ギ酸	$[M - H]^-$ , $[M + HCOO]^-$
	-	含酢酸アンモニウム	$[M - H]^-$ , $[M + CH_3COO]^-$



# マススペクトルから得られる分子質量情報



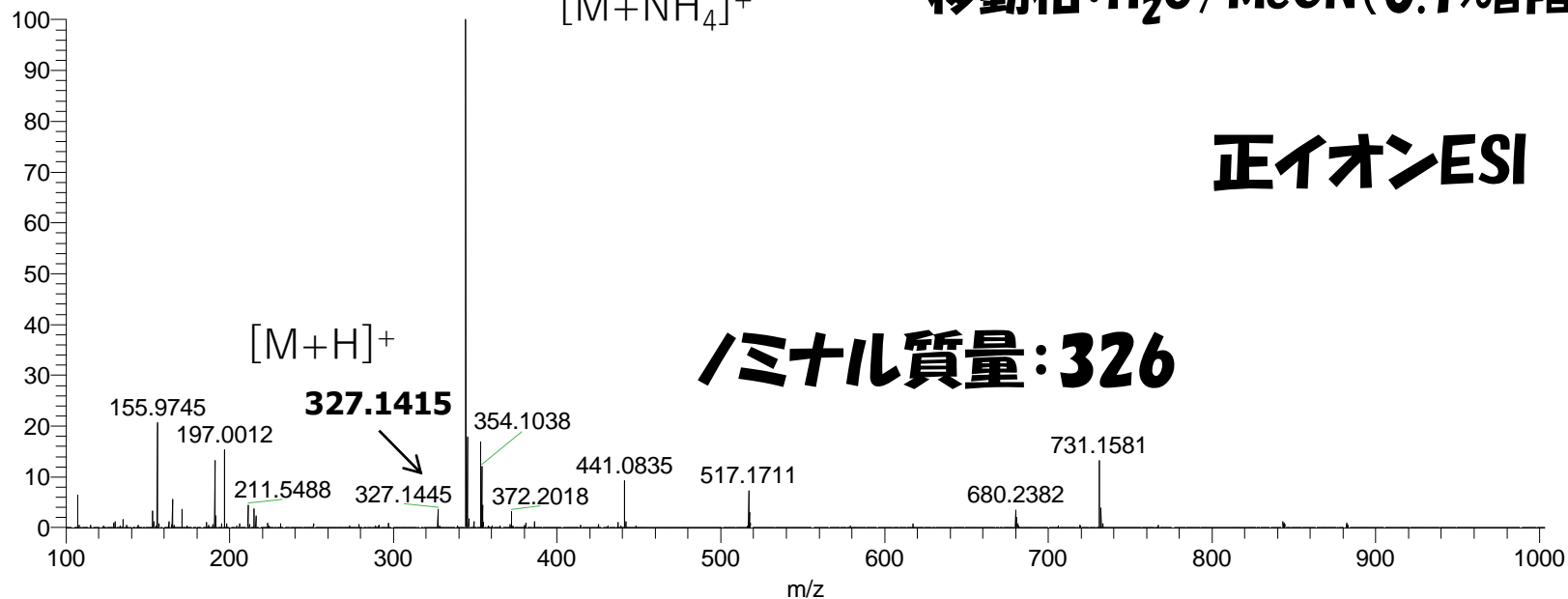
20111110\_Daio-Pos\_1\_09 #678 RT: 10.88 AV: 1 NL: 1.90E7

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2000.0]

**344.1715**  $[M+NH_4]^+$

移動相:  $H_2O/MeCN(0.1\%$ 酢酸)

正イオンESI



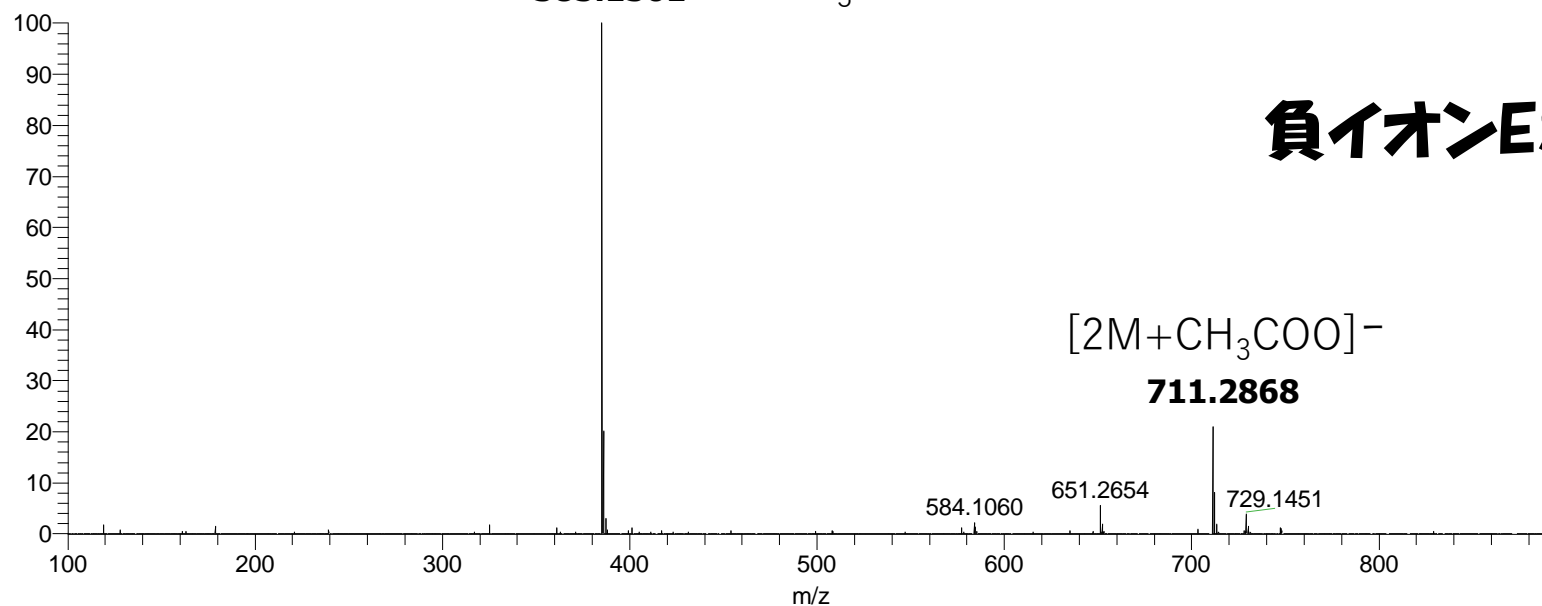
ノミナル質量: 326

20111115\_daio-neg\_09 #555 RT: 11.67 AV: 1 NL: 3.41E7

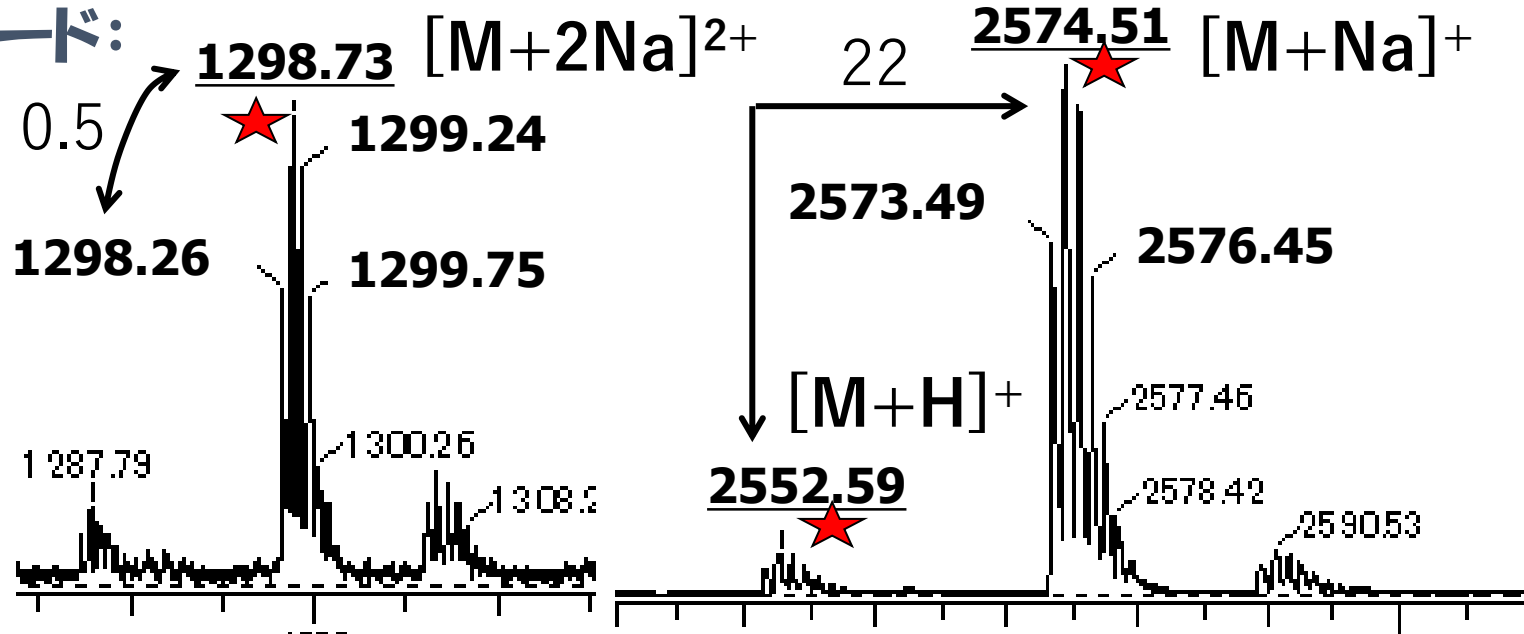
T: FTMS - p ESI Full ms [100.00-2000.0]

**385.1501**  $[M+CH_3COO]^-$

負イオンESI



イオン化モード:  
ESI+



試料: ペプチド

分子質量

モノアイソトピック質量:

相対分子質量:

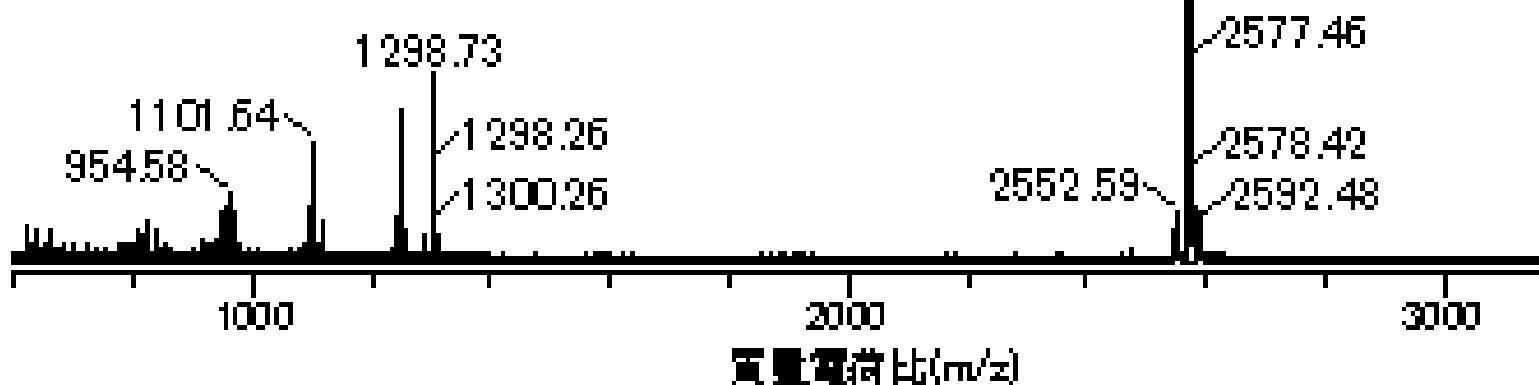
約2550.6

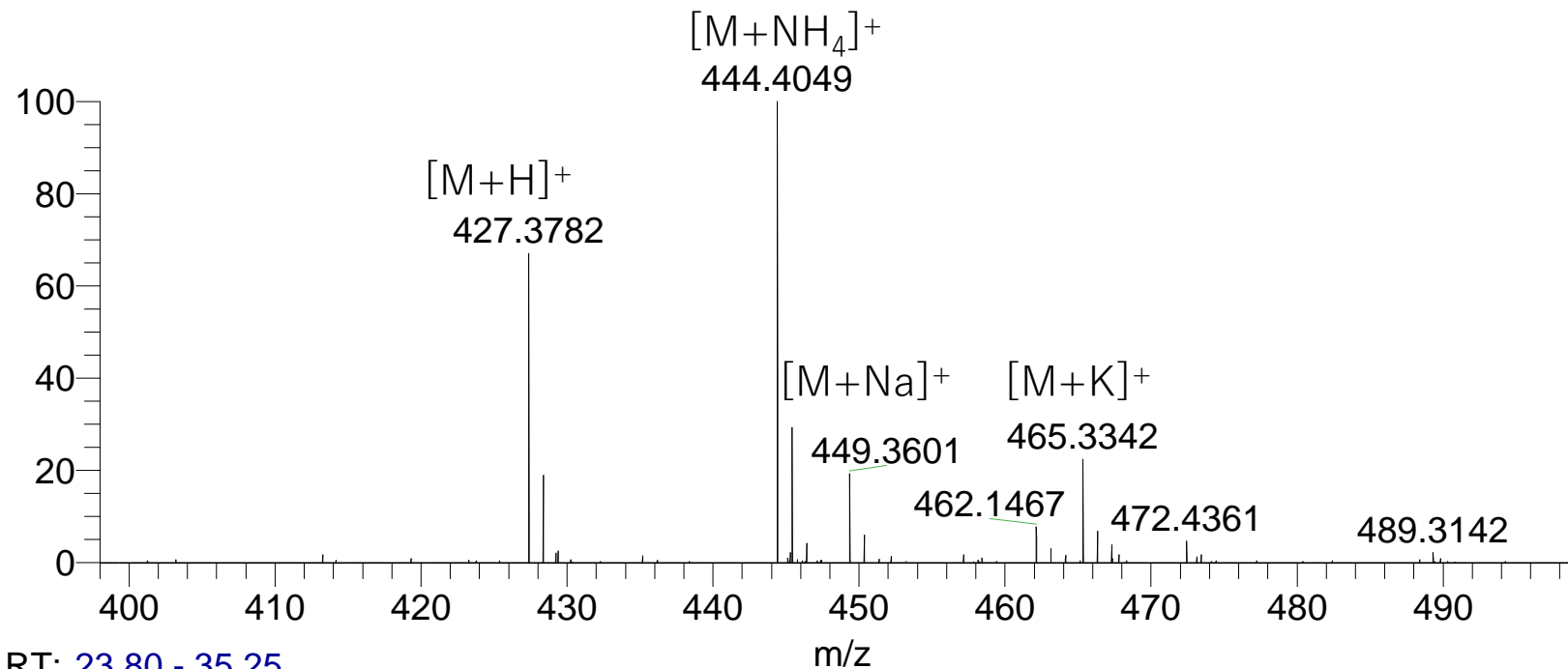
約2552.1

原子質量

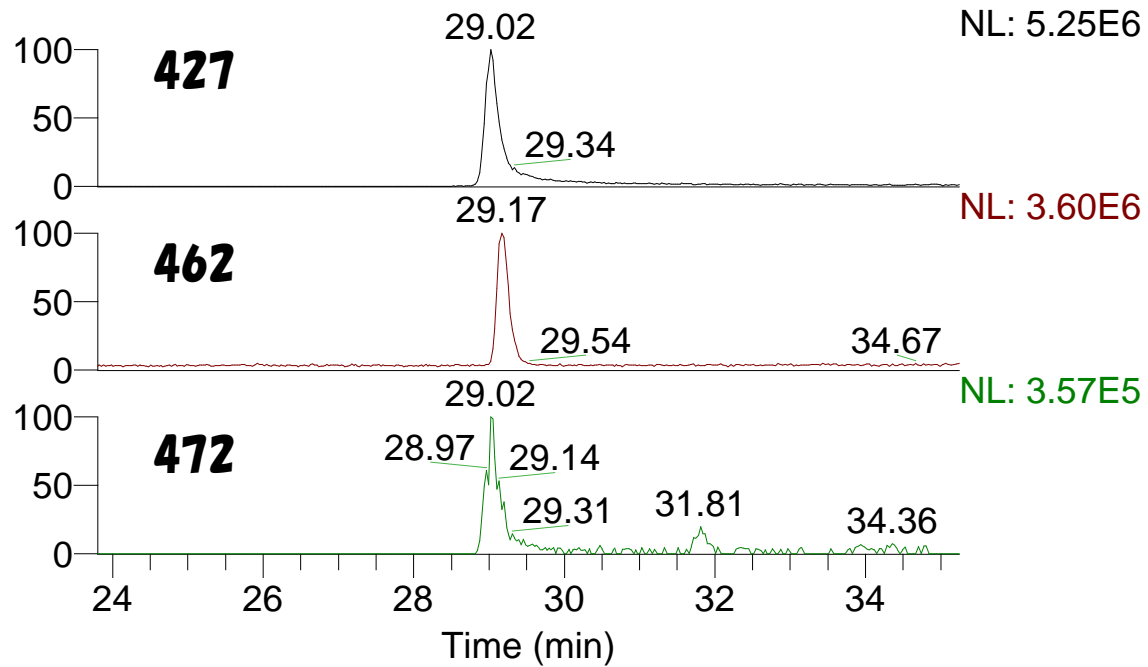
H: 1

Na: 23





RT: 23.80 - 35.25



## **4. LC/MSにおけるマススペクトルの解析**

4.1 イオン種の解釈について

4.2 TICクロマトグラムから如何にして試料成分を探すか

4.3 高分解能マススペクトルの解析

**実際のデータを見てみましょう！**

**サーモフィッシャーサイエンティフィック Q-Exactiveのデータ  
ソフト Xcalibur, Qual Browser**

## **4. LC/MSにおけるマススペクトルの解析**

4.1 イオン種の解釈について

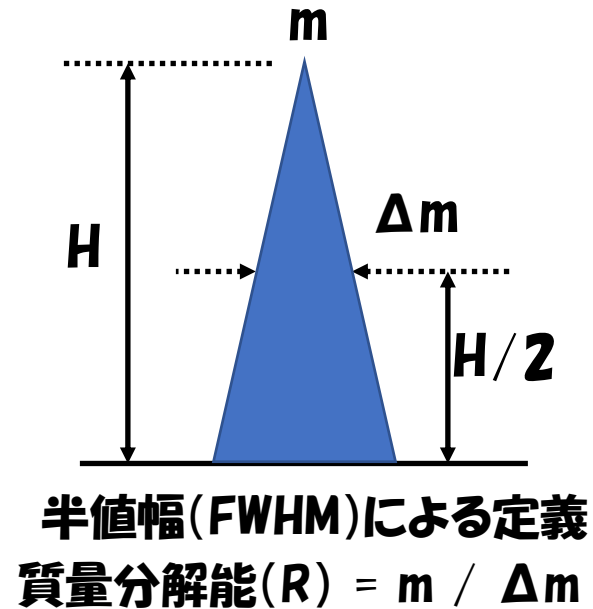
4.2 TICクロマトグラムから如何にして試料成分を探すか

**4.3 高分解能マススペクトルの解析**

# 質量分解能と質量確度

互いに異なる質量のイオンのピークを分離するための質量分析計の性能のこと。

質量分解能が高いと → { 近接した  $m/z$  のイオンを分離できる  
イオンの  $m/z$  値を正確に測る事ができる



元素組成からモ/アイソトピック質量は一義的に決まる

高質量分解能マススペクトル

正確な  $m/z$  値



組成推定



# 質量分析計の種類

- 四重極(Q, Quadrupole)
- イオントラップ(IT or QIT, Ion Trap)

} 低分解能

- 飛行時間(TOF, Time of Flight)
- フーリエ変換(磁場: Ion Cyclotron Resonance, 電場: Orbitrap)
- 磁場(Sector)

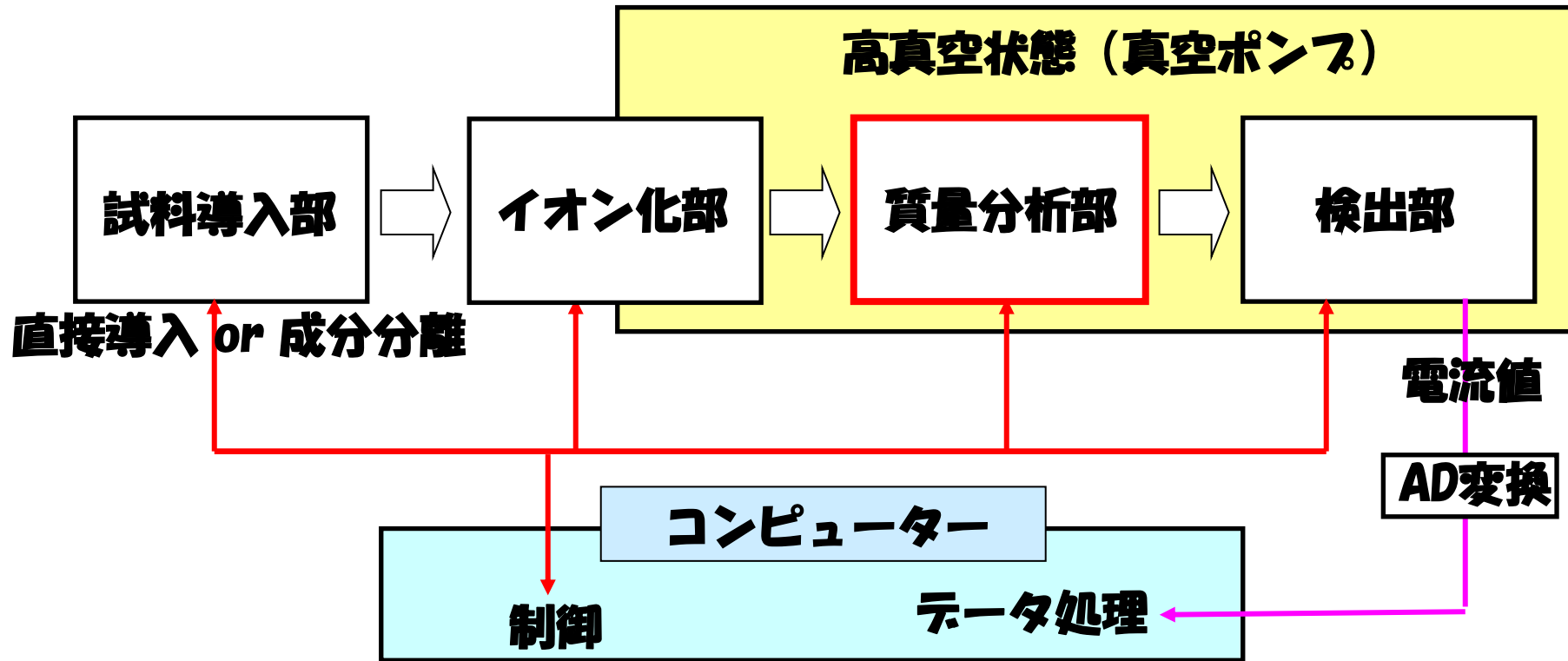
} 高分解能

質量分析部の性能

- タンデム(MS/MS)、ハイブリッドMS/MS
  - Triple-Q, IT, Linear IT, Q-TOF, IT-TOF, LIT-FT, Sector-Q, Sector-TOF

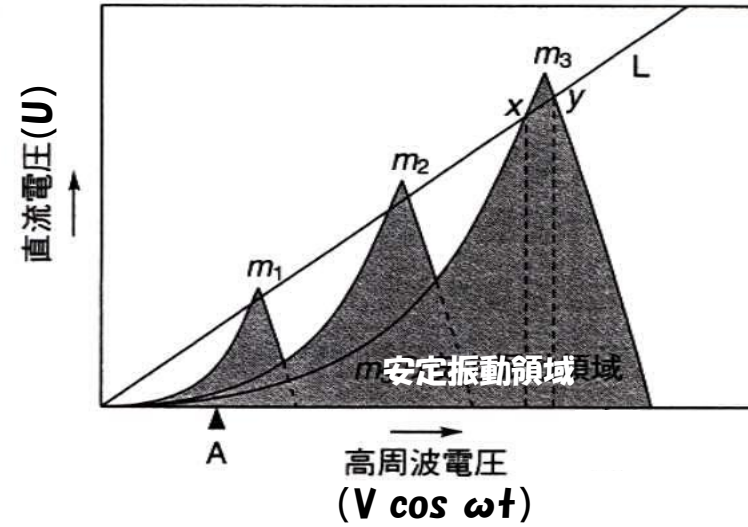
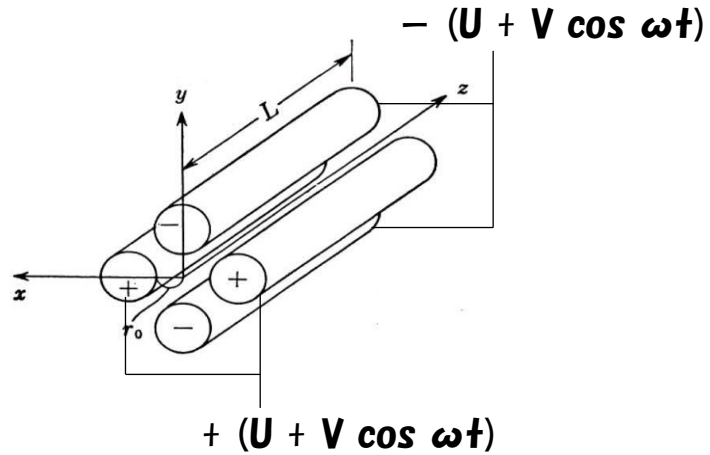


# 質量分析計の構成

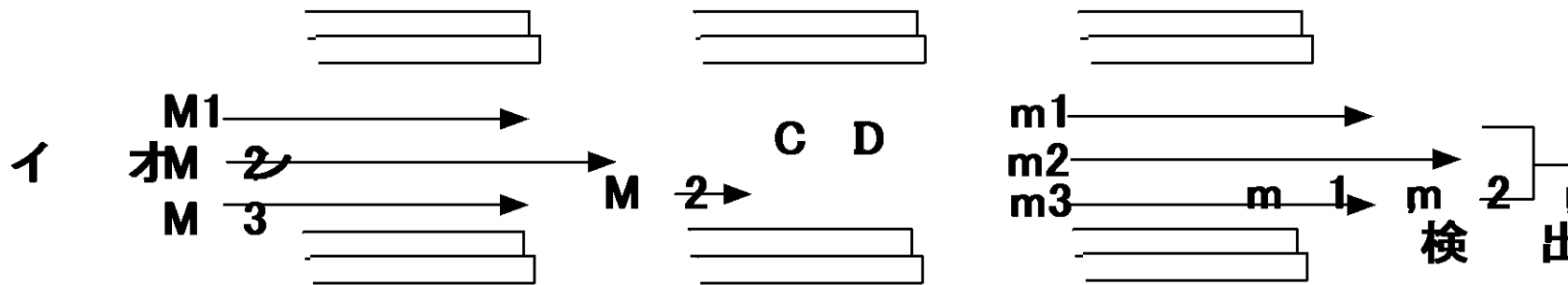


質量分析部：イオンを $m/z$ に応じて分離する場（イオンの飛行や回転運動などを伴う）

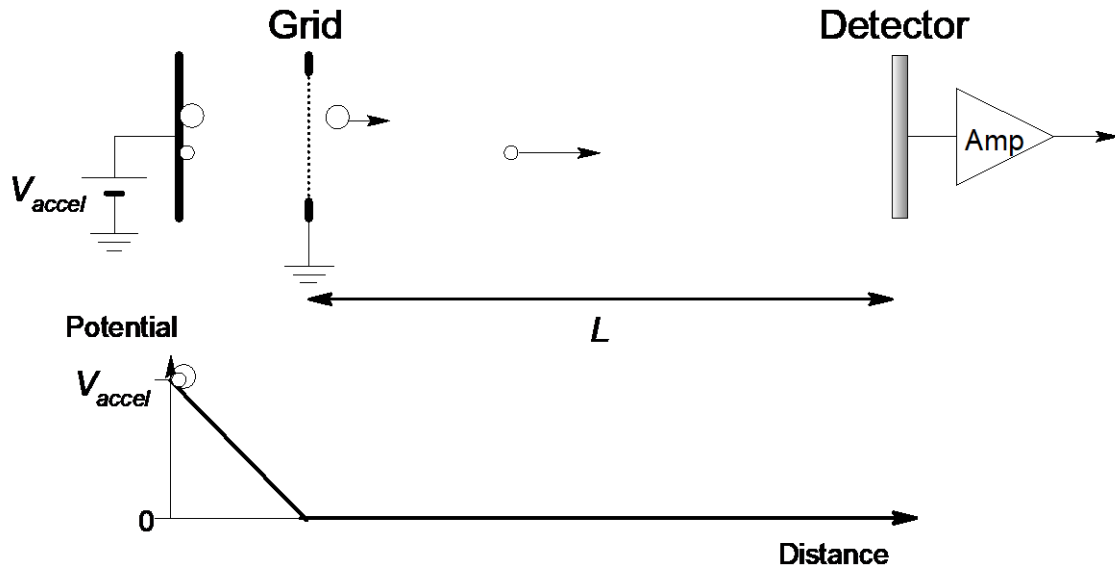
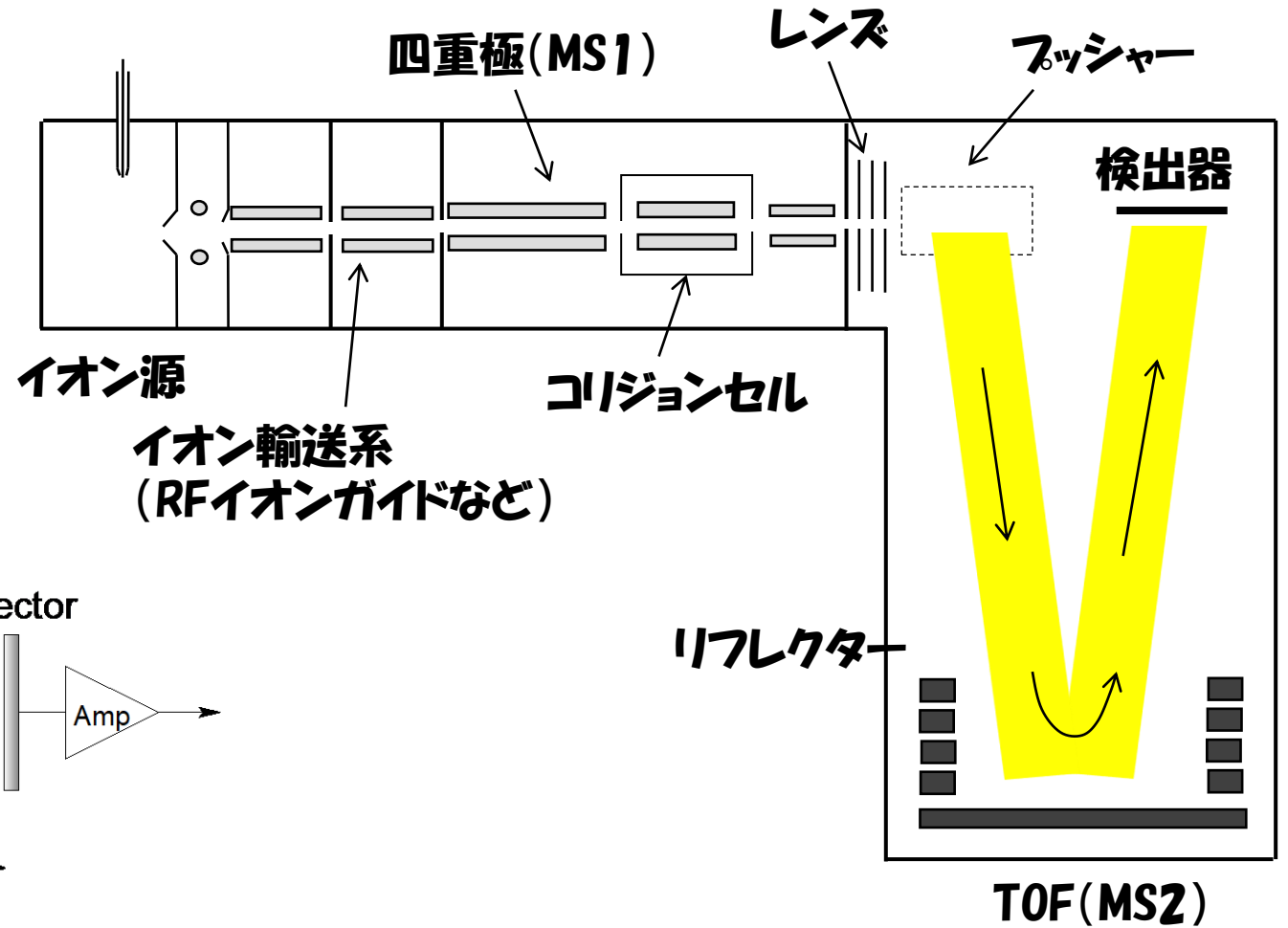
# Q-MS : 四重極質量分析計



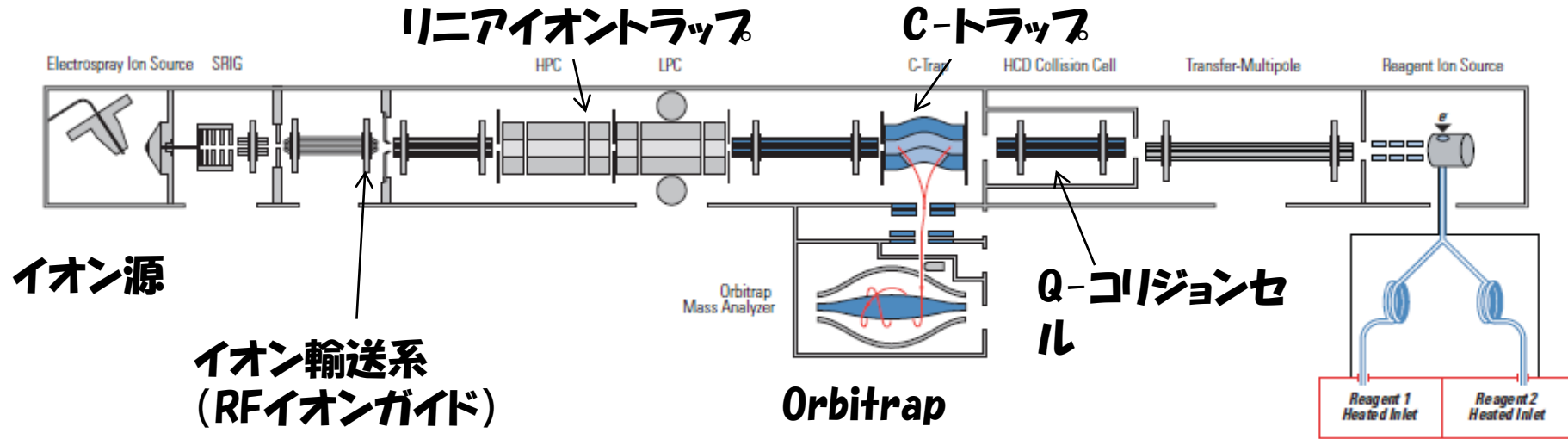
# QqQ-MS : 三連四重極質量分析計



# 四重極-飛行時間質量分析計



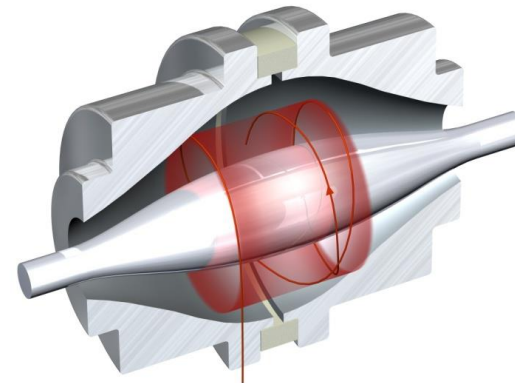
# Orbitrap



もし質量分析計内部が大気圧なら...  
(大気圧での平均自由行程  $< 0.1 \mu\text{m}$ )



イオンは $0.1 \mu\text{m}$ も動けず、他の分子と衝突してしまう



# 間違いやすい用語-3

## スキャン、スキャンスピード

**スキャン**: マススペクトルを取得するための電圧掃引のこと

**スキャンスピード**: 1枚のマススペクトルを取得するのに要する時間

これらの用語が使えるのは... ⇒ 電圧掃引型の質量分析部のみ

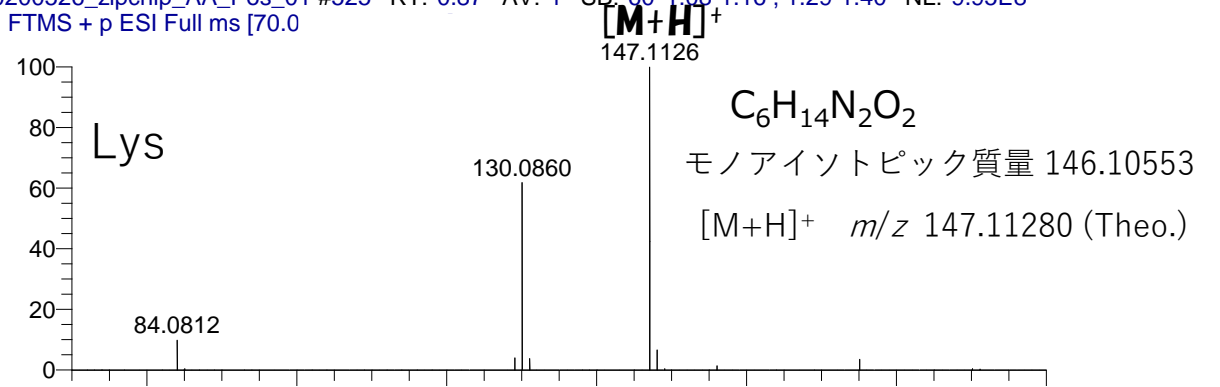
四重極、イオントラップ、セクター ⇒ ○

Orbitrap, ICR, TOF ⇒ ×

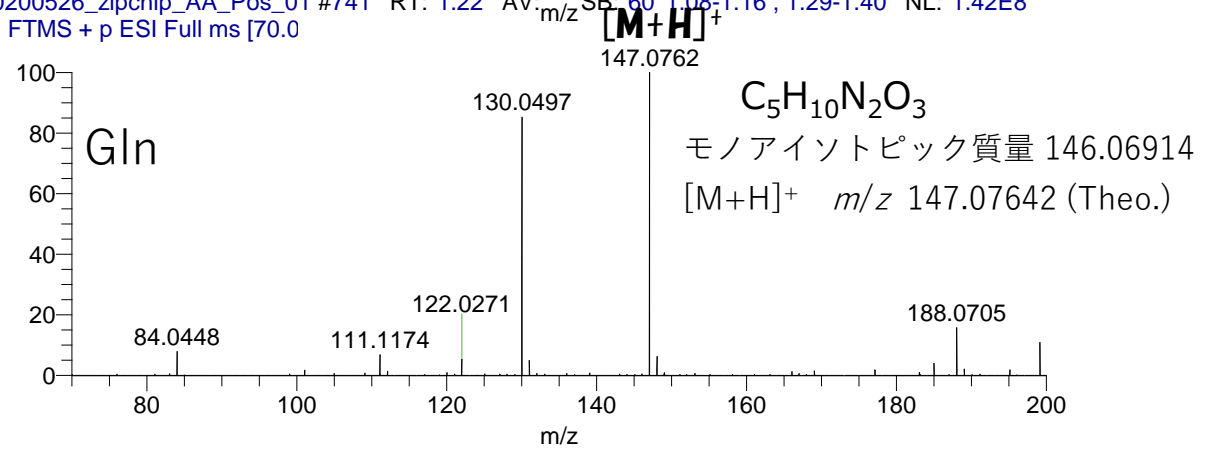
**原理的に正しくない用語は使わない方が良い!**

# 高質量分解能(Orbitrap MS)

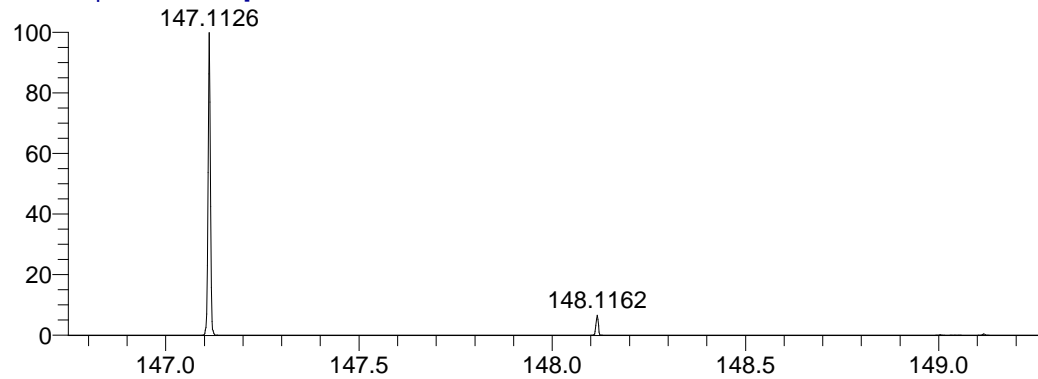
20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #525 RT: 0.87 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 9.95E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



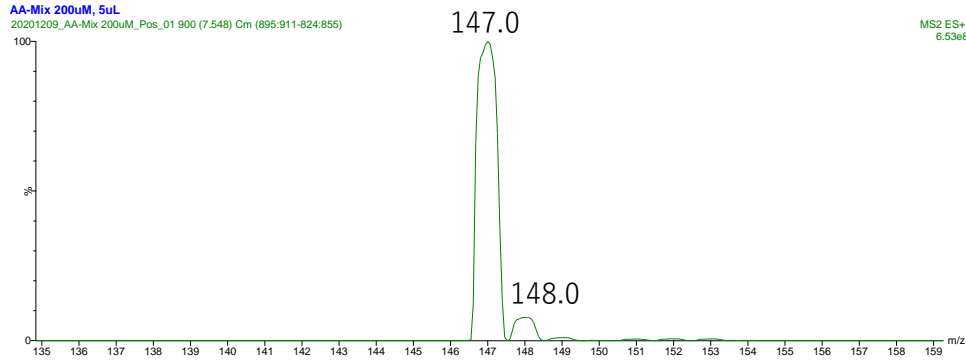
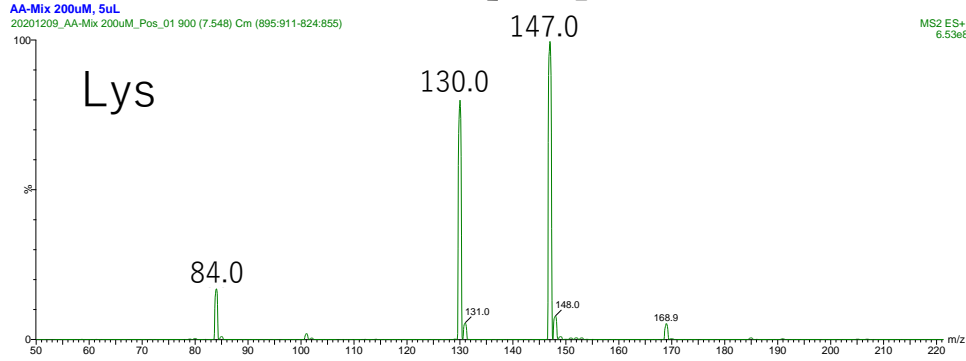
20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #741 RT: 1.22 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 1.42E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



20200526\_zipchip\_AA\_Pos\_01 #525 RT: 0.87 AV: 1 SB: 60 1.08-1.16, 1.29-1.40 NL: 9.95E8  
T: FTMS + p ESI Full ms [70.0]



# 低質量分解能(四重極MS)



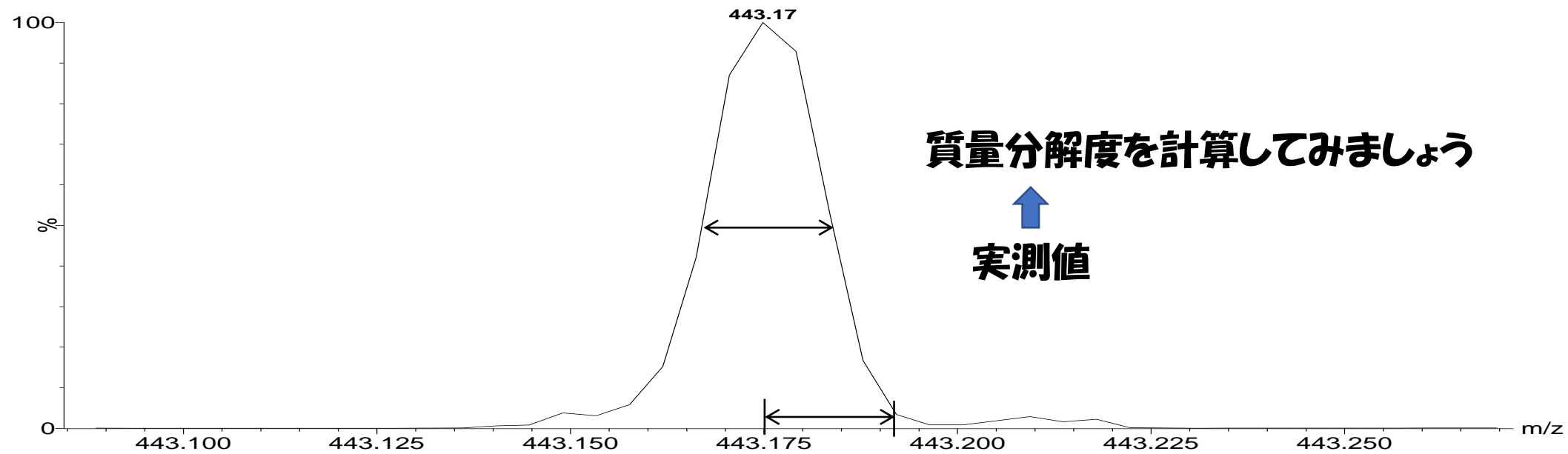
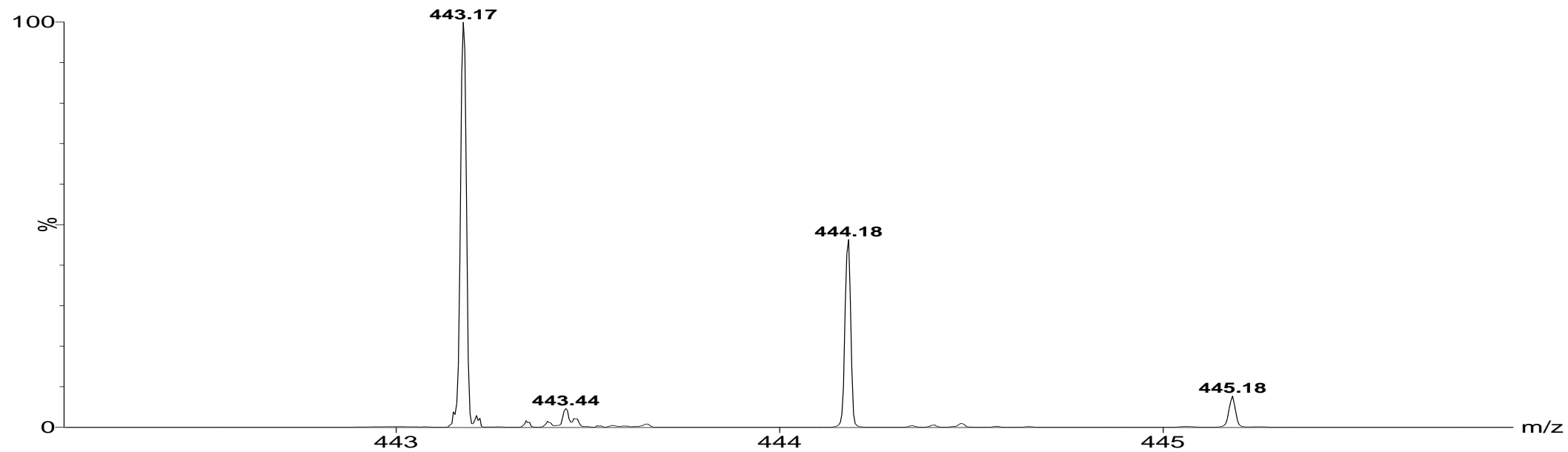
# 質量分析計の種類と質量確度

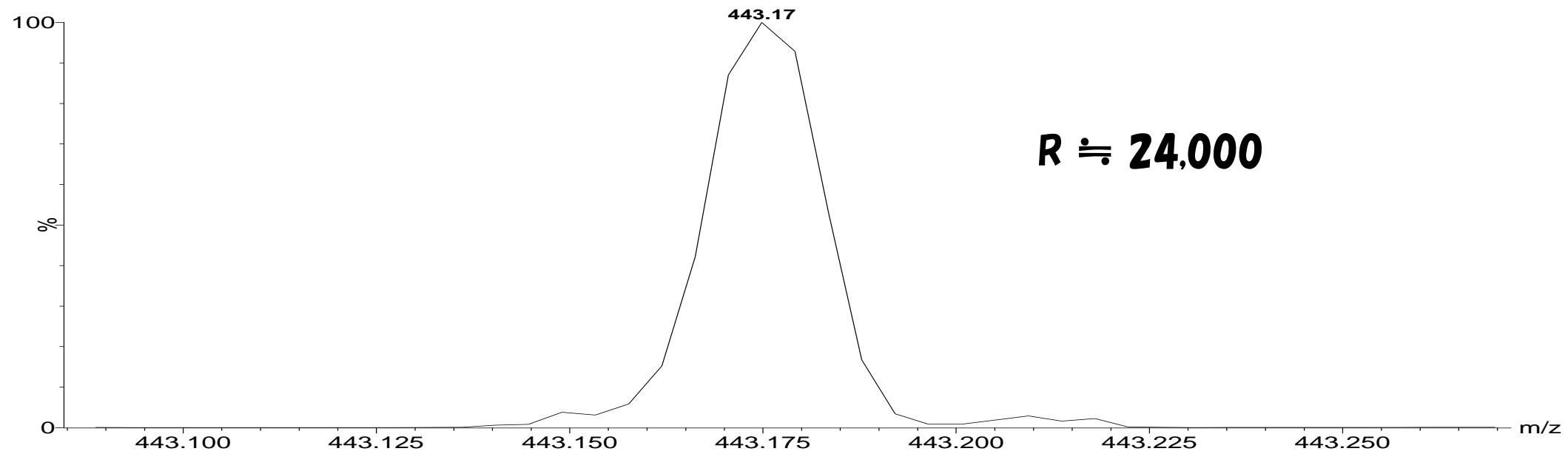
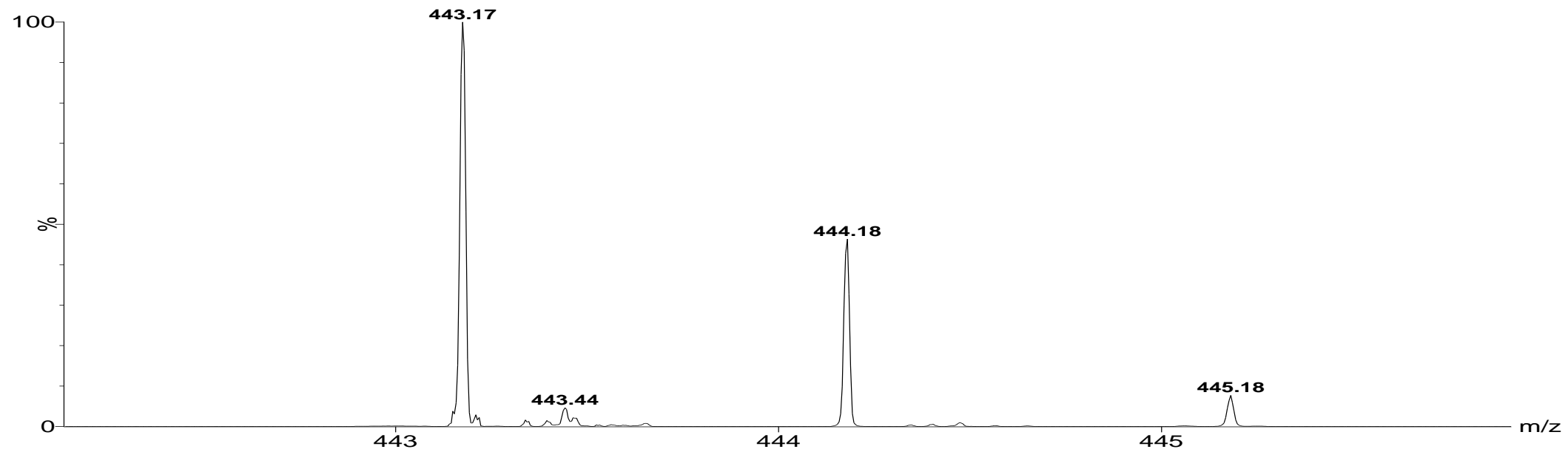
得られた $m/z$  値は、小数点以下何桁まで信頼できるか

質量分析計の種類	信頼できる小数点以下の桁数
四重極・イオンラップ	0~1
飛行時間	2~4
フーリエ変換	3~4

例)	化学種	質量
	$\text{CO}, \text{N}_2, \text{C}_2\text{H}_4$	28
	$\text{CO}$	27.9949
	$\text{N}_2$	28.0062
	$\text{C}_2\text{H}_4$	28.0313







**質量分解能が高い**



**ピークがシャープ**



**ピーク的位置を正確に決められる**



**イオンの  $m/z$  値を正確に測れる**



**イオンの構成元素(分子式)を推測できる**

マスキング  
ロックマス補正

# 高分解能質量分析計と質量確度

## – 従来（20年前）の高分解能装置

分解能：数1,000～10,000、質量確度：< 5 ppm

## – 最近（10年前位以降）の高分解能装置

分解能：**20,000～100,000**、質量確度：< 1～2 ppm

**Q-TOFMS, FT-MSの進歩**

**高分解能質量分析計を使えば、必ず高い質量確度のデータが得られる訳ではない！**

# 正確な $m/z$ 値 (精密質量) からイオンの 元素組成を推定

- イオンの構成元素組成  $\Rightarrow$  精密質量は一義的に決まる  
例: Reserpine ( $C_{33}H_{40}N_2O_9$ )  $[M+H]^+ \Rightarrow m/z$  609.28066
- 測定によって得られた質量  $\Rightarrow$  構成元素組成を推定  
609.28066  $\Rightarrow$  C?H?N?O?

Elemental composition search on mass 609.28

$m/z = 604.28 - 614.28$

$m/z$	Theo. Mass	Delta (mmu)	RDB equiv.	Composition
609.28066	609.28066	0.00	14.5	C <sub>33</sub> H <sub>41</sub> O <sub>9</sub> N <sub>2</sub>
	609.27982	0.84	2.5	C <sub>17</sub> H <sub>41</sub> O <sub>14</sub> N <sub>10</sub>
	609.28199	-1.33	19.5	C <sub>34</sub> H <sub>37</sub> O <sub>5</sub> N <sub>6</sub>
	609.28251	-1.85	1.5	C <sub>21</sub> H <sub>45</sub> O <sub>16</sub> N <sub>4</sub>
	609.27881	1.85	27.5	C <sub>45</sub> H <sub>37</sub> O <sub>2</sub>
	609.28333	-2.67	24.5	C <sub>35</sub> H <sub>33</sub> O <sub>10</sub> N <sub>10</sub>
	609.27797	2.69	15.5	C <sub>29</sub> H <sub>37</sub> O <sub>7</sub> N <sub>8</sub>

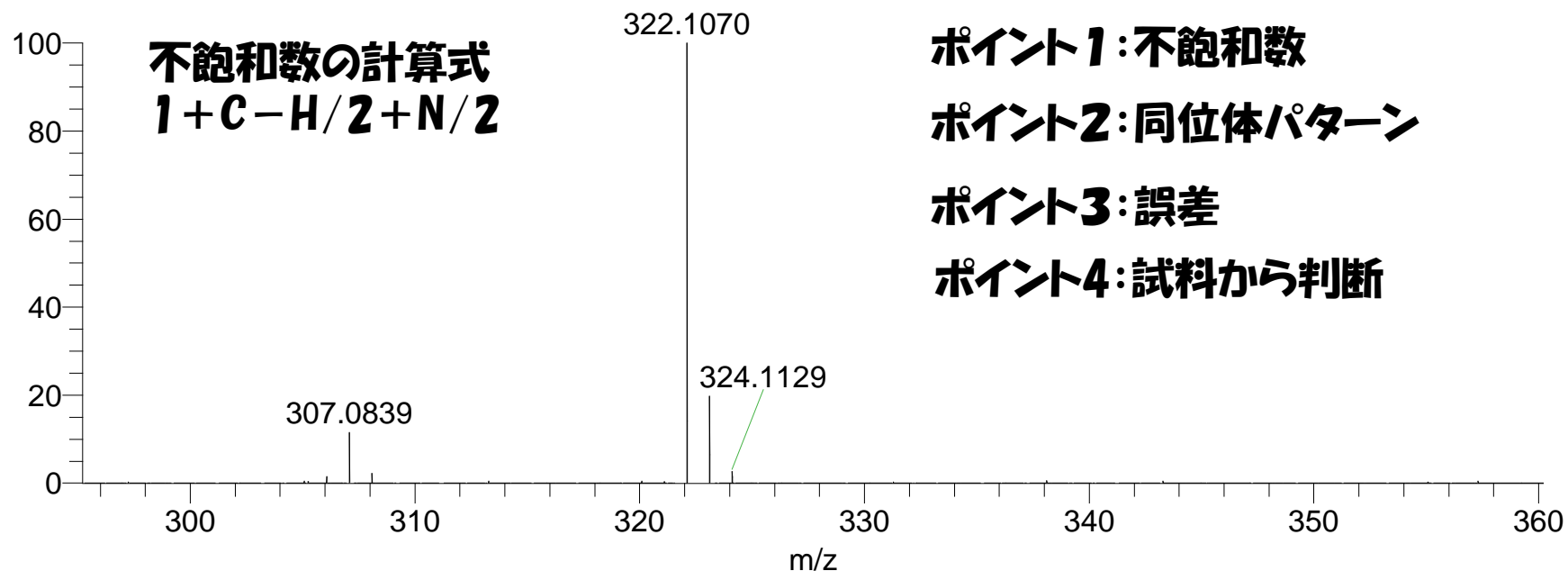
質量許容誤差: 1 ppm

質量許容誤差: 2 ppm

質量許容誤差: 5 ppm

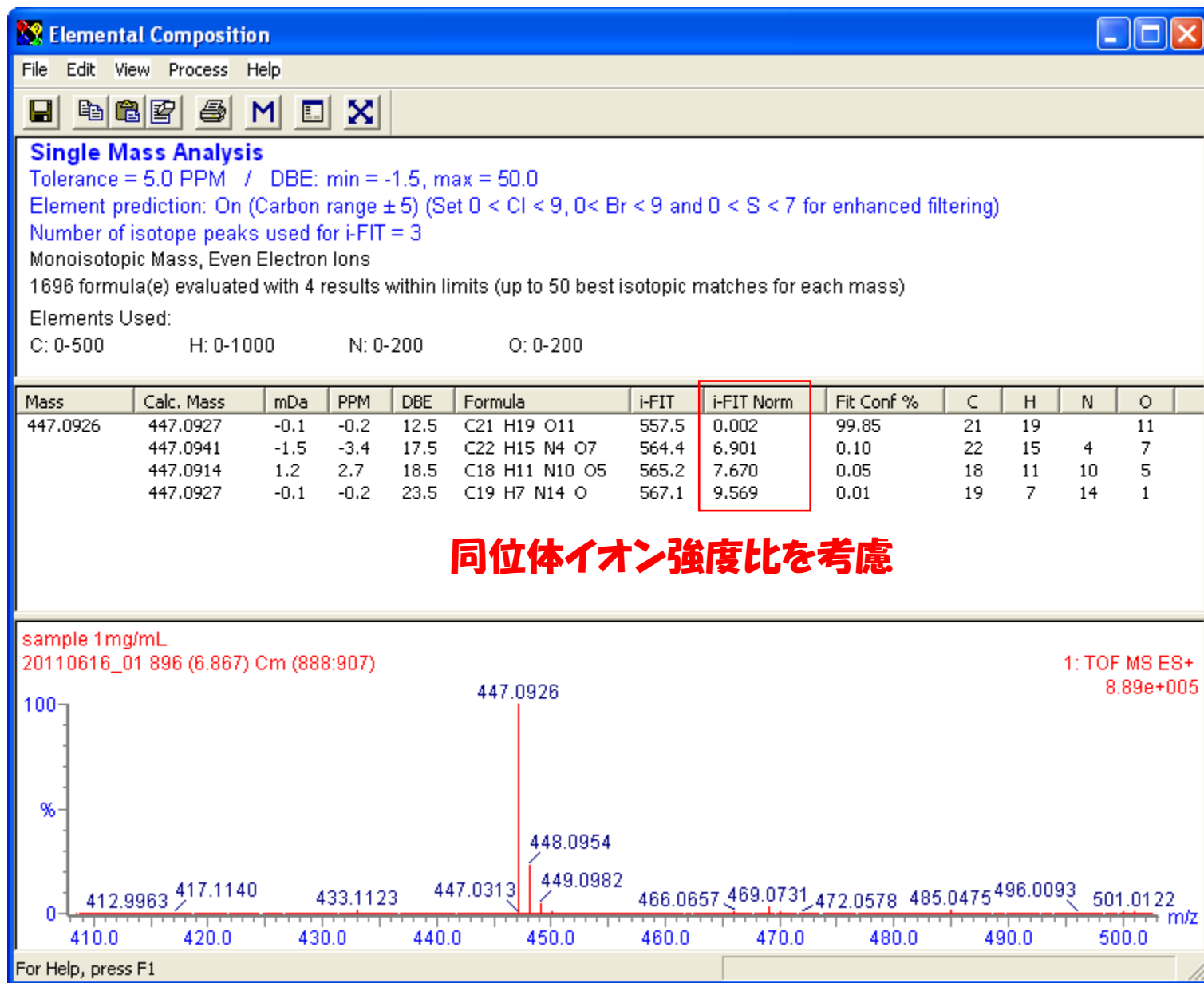
\* C: 0-50, H: 10-00, N: 0-10, O: 0-20の範囲で推定

# 複数の候補から如何に正解を選ぶか！？



m/z	Theo. Mass	Delta (mmu)	RDB equiv.	Composition
322.1072	322.1074	-0.18	12.5	C19 H16 O4 N
	322.1065	0.65	0.5	<del>C3 H16 O9 N9</del>
	322.1079	-0.69	0.0	<del>C5 H18 O10 N6</del>
	322.1060	1.16	13.0	<del>C17 H14 O3 N4</del>
	322.1087	-1.52	17.5	C20 H12 N5

# 組成推定プログラム例1 (Waters)



# 組成推定処理画面 (Agilent)

MS Formula Results: Cpd 368: C21 H18 O11

m/z	Ion	Formula	Abundance							
447.092	(M+H) <sup>+</sup>	C21 H19 O11	76400.6							
Best	Formula (M)	Ion Formula	Coverage	Score	Abund Match	Spacing Match	Mass Match	m/z	DBE	
<input checked="" type="checkbox"/>	C21 H18 O11	C21 H19 O11	100	99.38	97.63	99.84	99.88	447.092	13	
Isotope	Abund%	Calc Abund%	Calc Abund Sum%	m/z	Calc m/z	Diff (ppm)	Abund Sum%			
1	100	100	77.99	447.092	447.0922	0.35	76.95			
2	24.85	23.35	18.21	448.0956	448.0956	-0.04	19.12			
3	5.1	4.86	3.79	449.0973	449.0978	1.04	3.93			
Best	Formula (M)	Ion Formula	Coverage	Score	Abund Match	Spacing Match	Mass Match	m/z	DBE	
<input type="checkbox"/>	C18 H10 N10 O5	C18 H11 N10 O5	100	95.56	96.88	94.56	93.03	447.092	19	

MS/MS Formula Details: Cpd 368: C21 H18 O11 C21 H18 O11

m/z	Loss Formula	Abund%	Diff (ppm)	Diff (mDa)	Loss Mass	Formula
271.0601	C6 H8 O6	100	0.17	0.04	176.03209	C15 H11 O5



# 組成推定処理画面 (Sciex)

Formula Finder

File Edit Help

Find

Found elemental compositions

Hit	Formula	m/z	RDB	ppm	MS Rank	MSMS ppm	MSMS Rank
2	C33H41N2O9	609.2807	15.0	0.1	1	0.2 (20)	1
5	C34H37N6O5	609.2820	20.0	-2.1	4	0.7 (20)	2
4	C34H45N2O4S2	609.2815	14.0	-1.4	3	0.4 (17)	3
1	C37H41N2O4S	609.2782	19.0	4.2	6	0.2 (16)	4
3	C26H49N4O6S3	609.2809	5.0	-0.3	2	0.7 (15)	5
7	C35H33N1O0	609.2833	25.0	-4.3	7	4.0 (9)	6
6	C42H41O2S	609.2822	23.0	-2.4	5	2.5 (1)	7

MS Details MSMS Details

Parent mass 609.2807 Charge <= +1 Mass tolerance (mDa) 2 #C/#heteroatoms > 2

20 MS/MS peaks Display type: Best fragments for formula

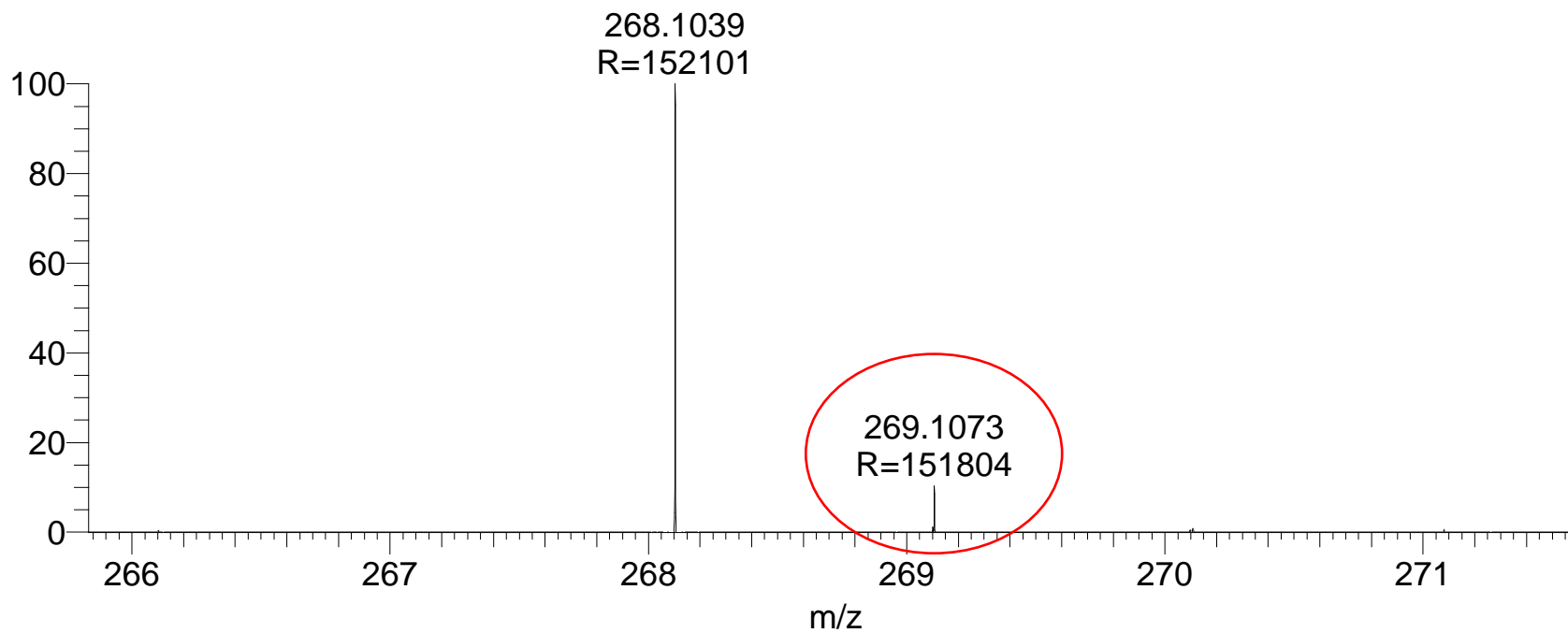
Fragment details for C37H41N2O4S

Mass: Recalibrate

Spectrum from Res-CID.wiff (sample 1) - TOF, +TOF MS<sup>2</sup> of 609.3 (50 - 2000) from 0.198 to 0.588 min

start Analyst: [+TOF Pro... Formula Finder 11:48 AM

# <sup>15</sup>Nを利用する組成推定

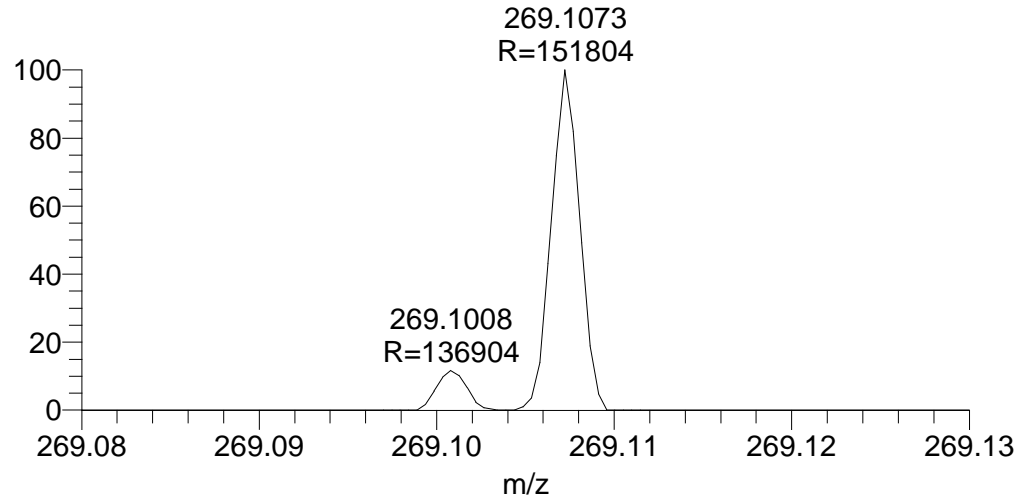


m/z	Theo. Mass	Delta (mmu)	RDB equiv.	Composition
268.1039	268.1040	-0.13	6.5	C10 H14 O4 N5
	268.1027	1.21	1.5	C9 H18 O8 N
	268.1027	1.21	7.0	<del>C8 H12 O3 N8</del>

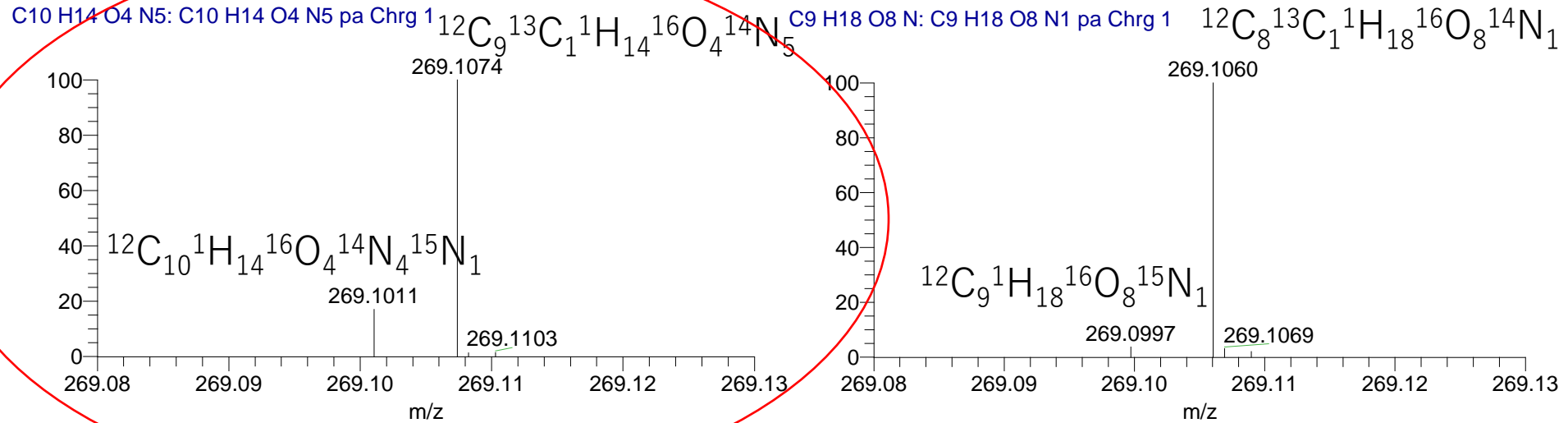
\* C: 0-50, H: 0-100, N: 0-10, O: 0-20, 許容誤差 5 ppm の範囲で推定

# 同位体ピークの拡大

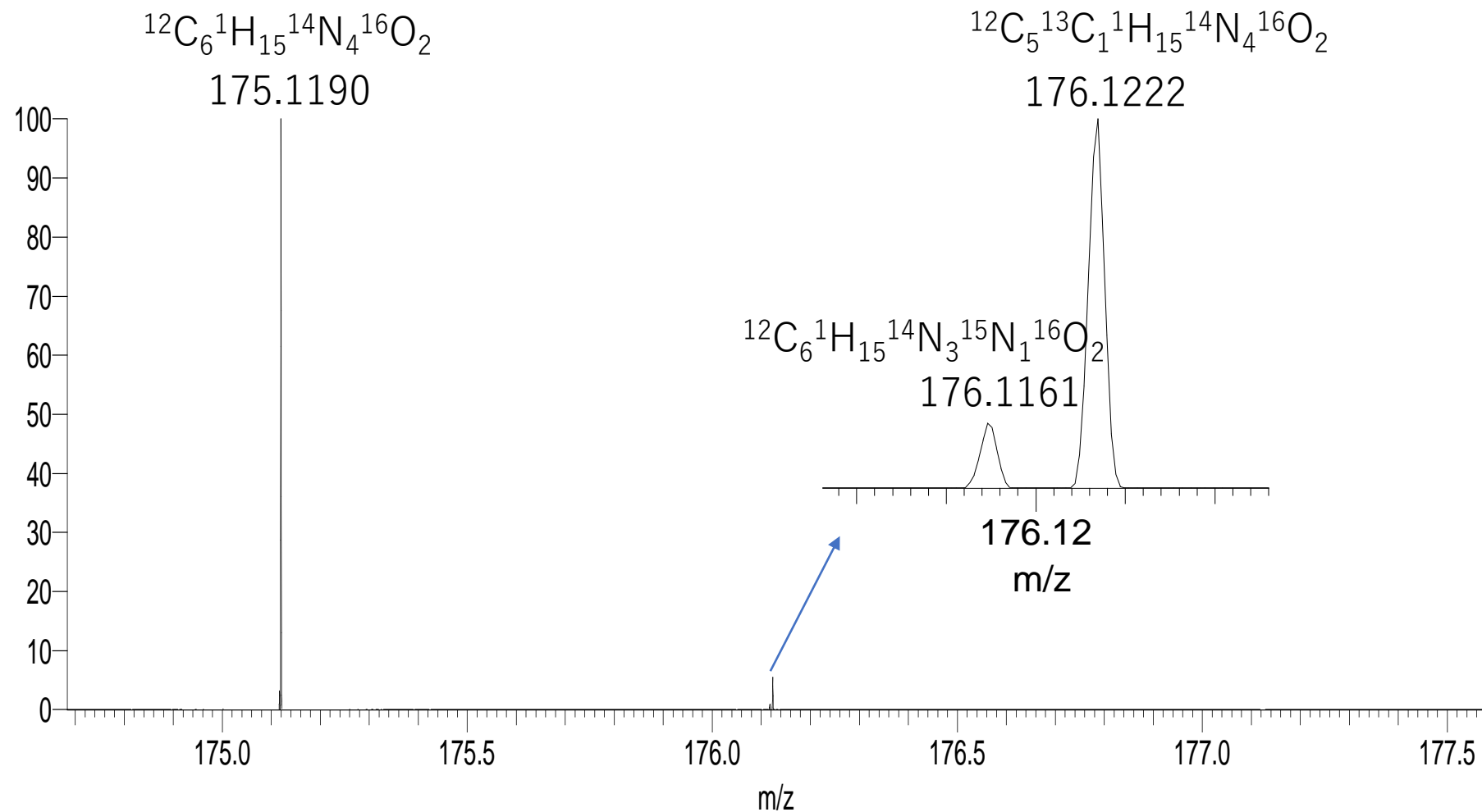
実測スペクトル



シミュレーションスペクトル



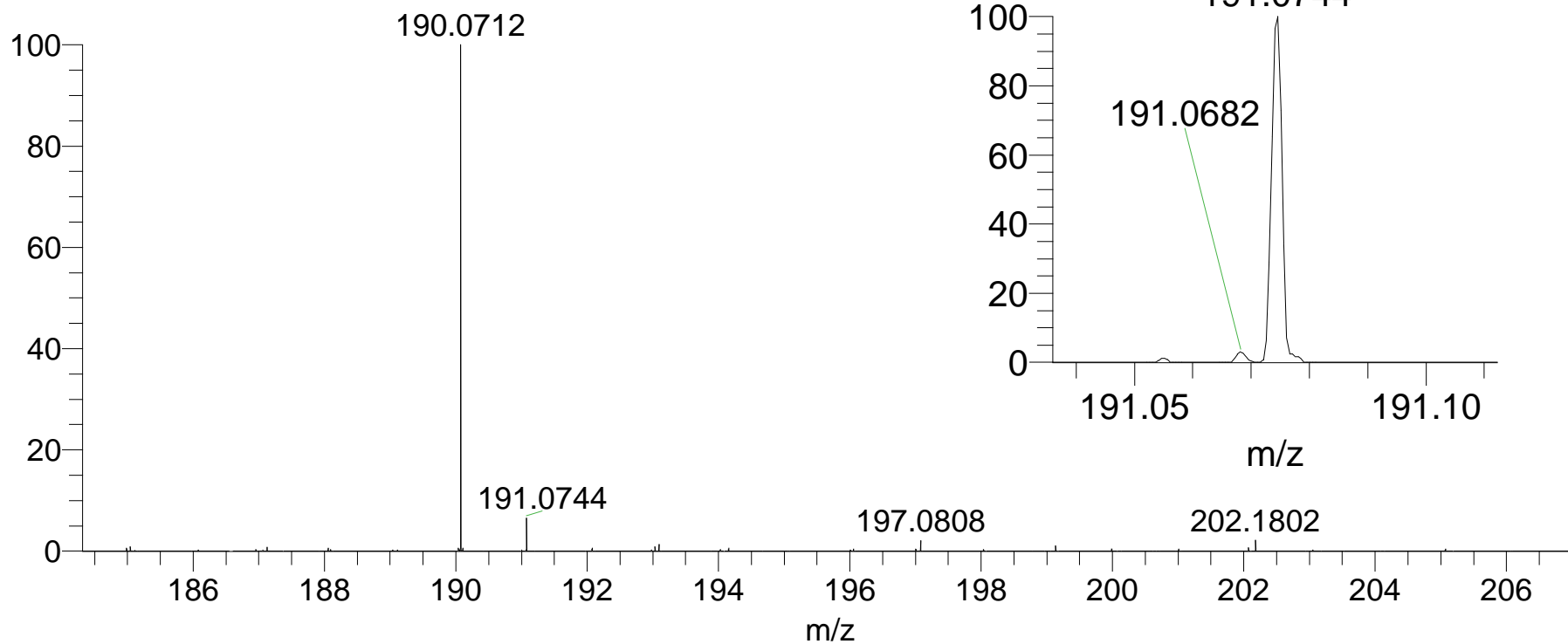
# $^{15}\text{N}$ の観測による含窒素の確認



Elemental composition search on mass 190.07

m/z= 185.07-195.07

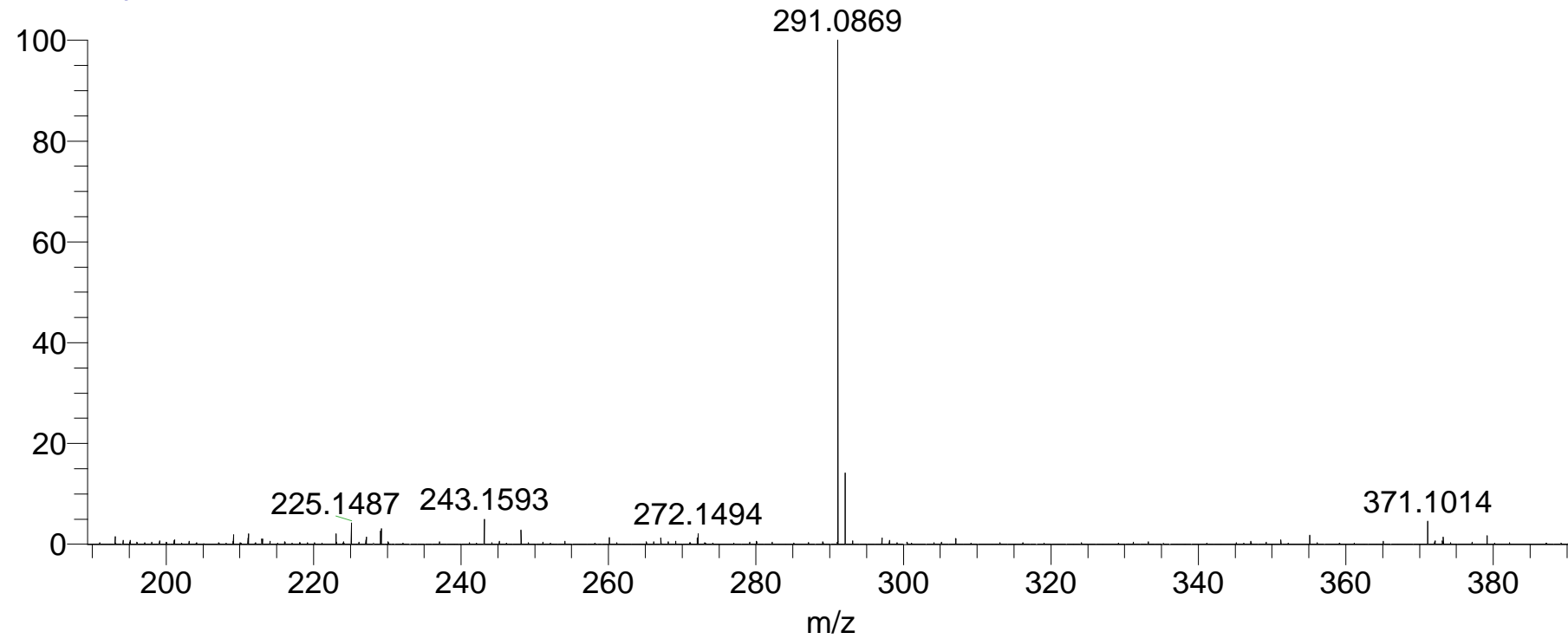
m/z	Theo. Mass	Delta (mmu)	RDB equiv.	Composition
190.0712	190.0710	0.20	2.5	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> N
	190.0723	-1.14	7.5	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ON <sub>5</sub>
	190.0683	2.89	3.5	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> N <sub>7</sub>

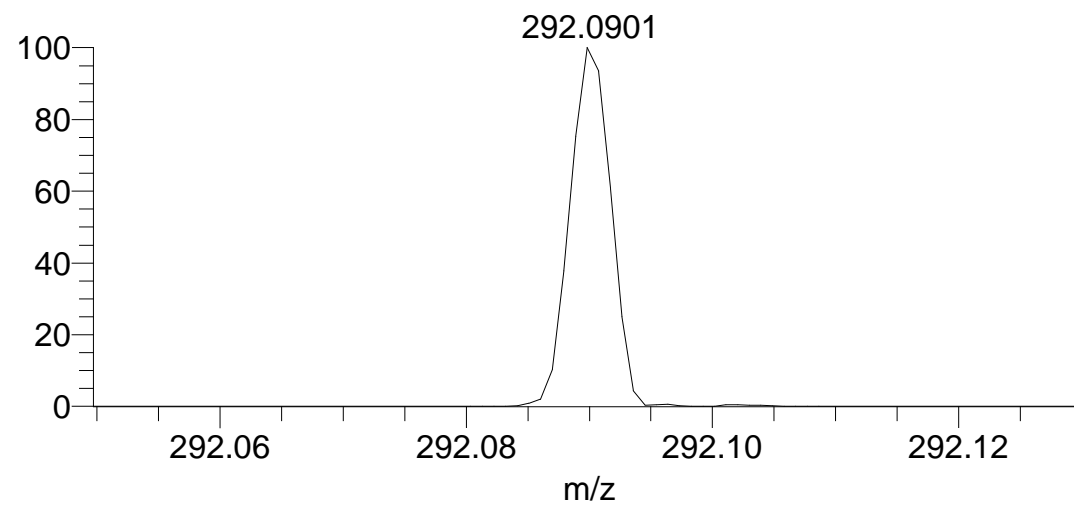


Elemental composition search on mass 291.09

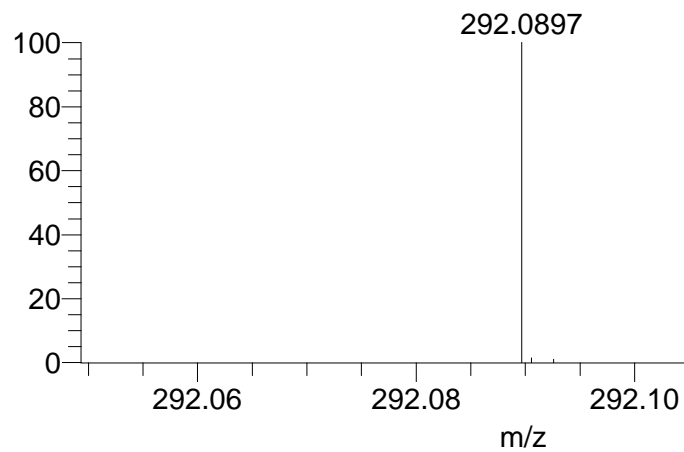
m/z= 286.09-296.09

m/z	Theo. Mass	Delta (mmu)	RDB equiv.	Composition
291.0869	291.0863	0.59	8.5	<u>C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub></u>
	291.0863	0.59	14.0	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ON <sub>7</sub>
	291.0877	-0.75	13.5	<u>C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub></u>
	291.0882	-1.26	1.0	C <sub>2</sub> H <sub>13</sub> O <sub>8</sub> N <sub>9</sub>

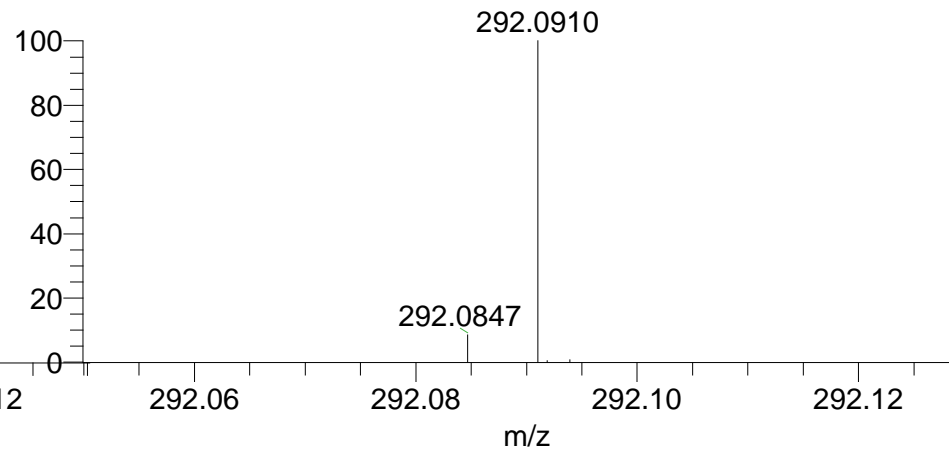




C15 H15 O6: C15 H15 O6 pa Chrg 1



C16 H11 O2 N4: C16 H11 O2 N4 pa Chrg 1



# 間違い易い用語-4

## 質量精度と質量確度

質量精度 2 ppm以内などとカタログに書いてある

質量精度が高い → イオンの実測  $m/z$  値の繰り返し再現性が高い

質量確度が高い → イオンの実測  $m/z$  値が真値に近い

例 : Reserpine ( $C_{33}H_{40}N_2O_9$ )  $[M+H]^+ \Rightarrow m/z$  609.2807

実測値  $m/z$  609.2802 真値との誤差 0.82 ppm  $\left( \frac{609.2807 - 609.2802}{609} \times 1,000,000 \right)$

↑ 質量確度が高い

10回連続測定の実測  $m/z$  値

609.2710, 609.2707, 609.2708, 609.2712, 609.2713, 609.2708, 609.2710, 609.2712, 609.2707, 609.2711

平均 609.2711 真値との誤差 15.7 ppm ← 質量確度は低い

10回測定値の誤差 0.95 ppm ← 質量精度は高い

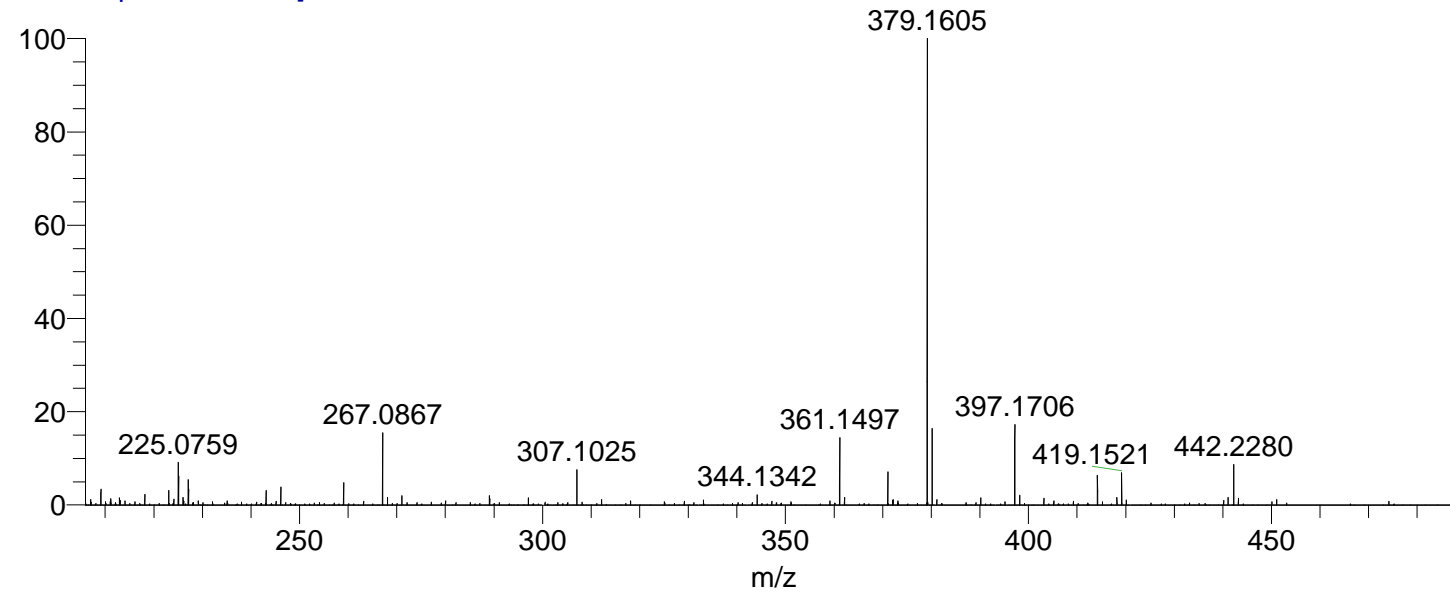


# マススペクトル解析の重要ポイント

ノイズとピークの見極め

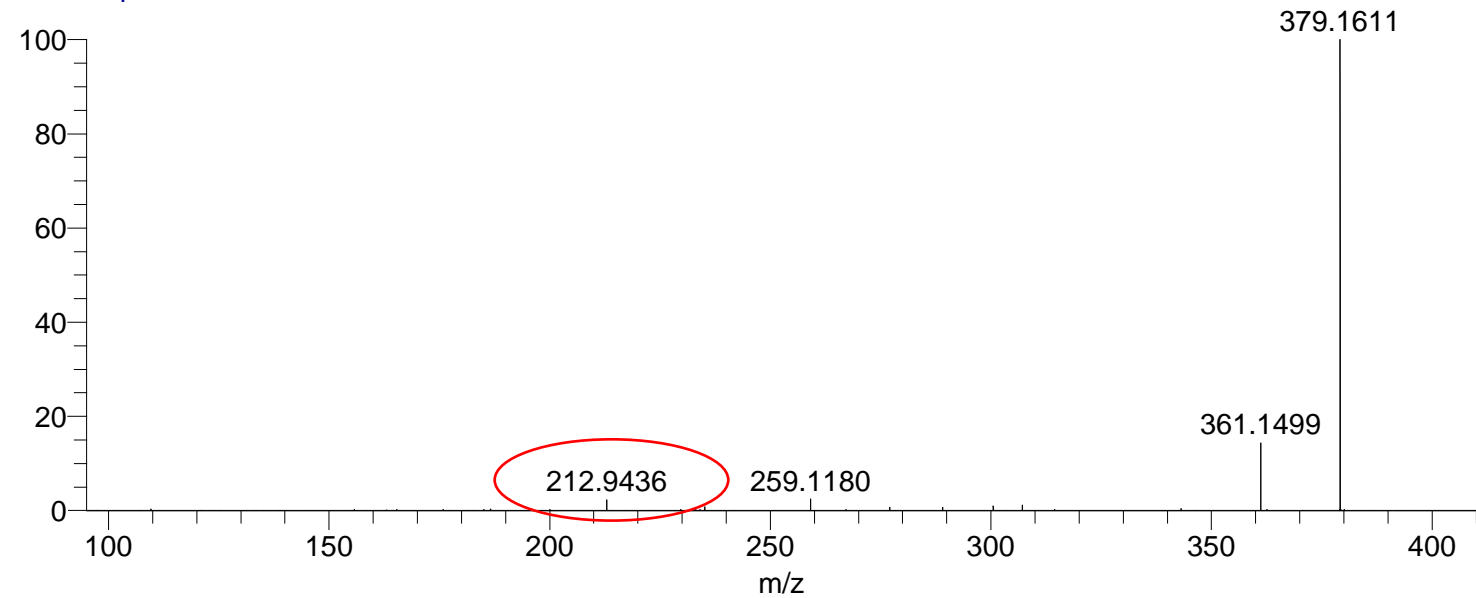
NL: 3.70E6

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2



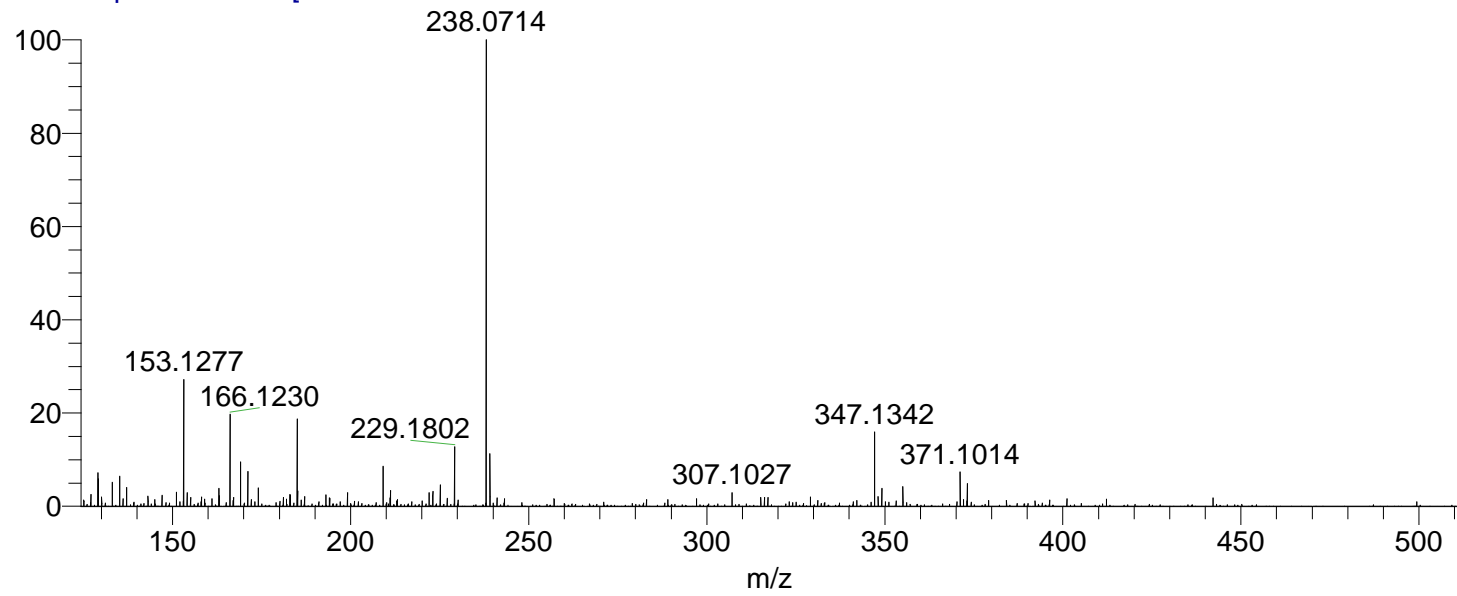
NL: 3.30E5

T: FTMS + p ESI d Full ms2 397.1



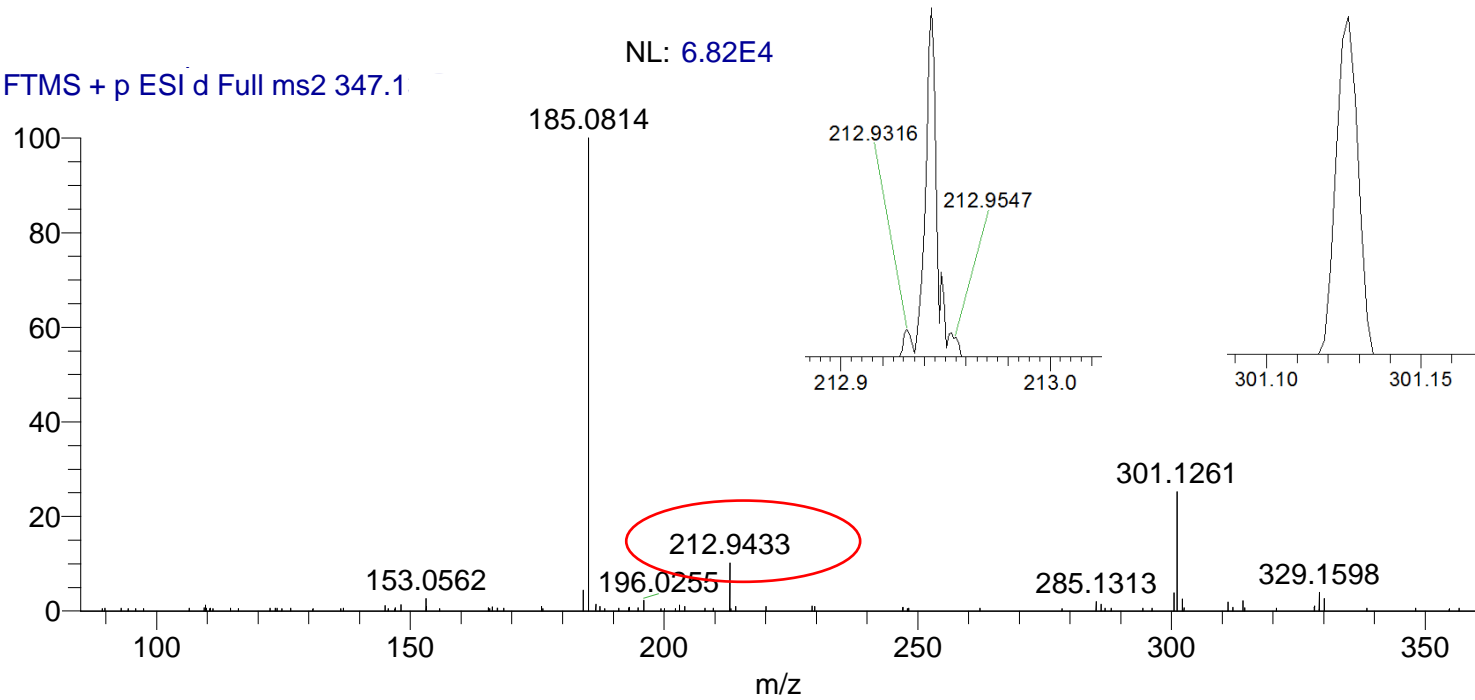
NL: 4.15E6

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2



NL: 6.82E4

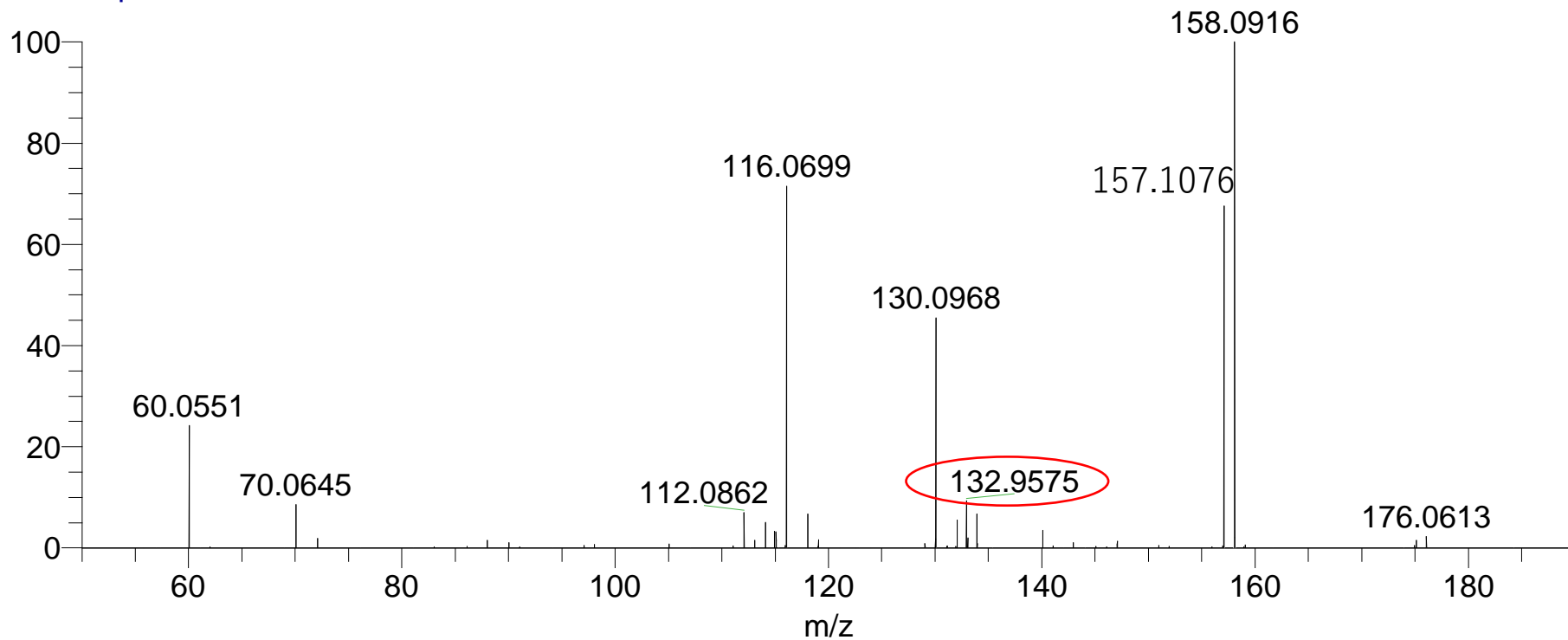
T: FTMS + p ESI d Full ms2 347.1



# アルギニン(MH<sup>+</sup>)のフラグメントイオンスペクトル

NL: 1.01E5

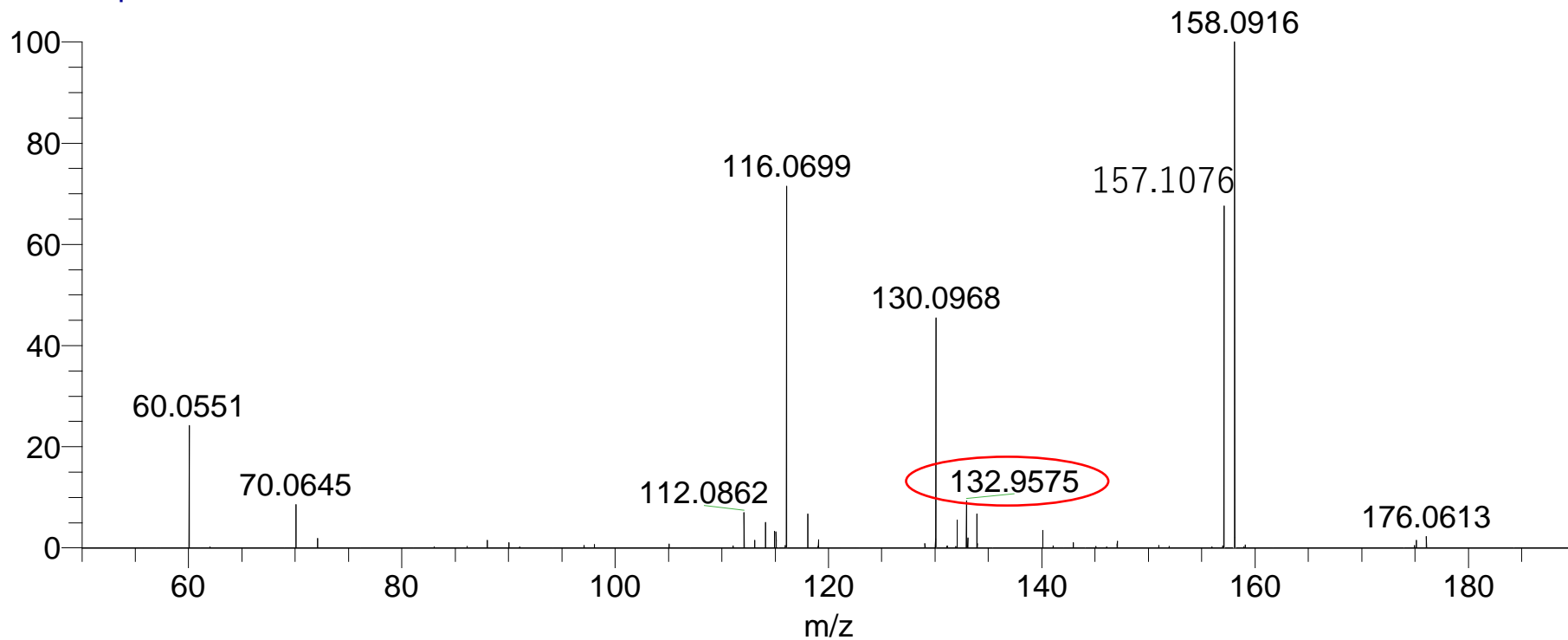
T: FTMS + p ESI d Full ms2 175.1



# アルギニン(MH<sup>+</sup>)のフラグメントイオンスペクトル

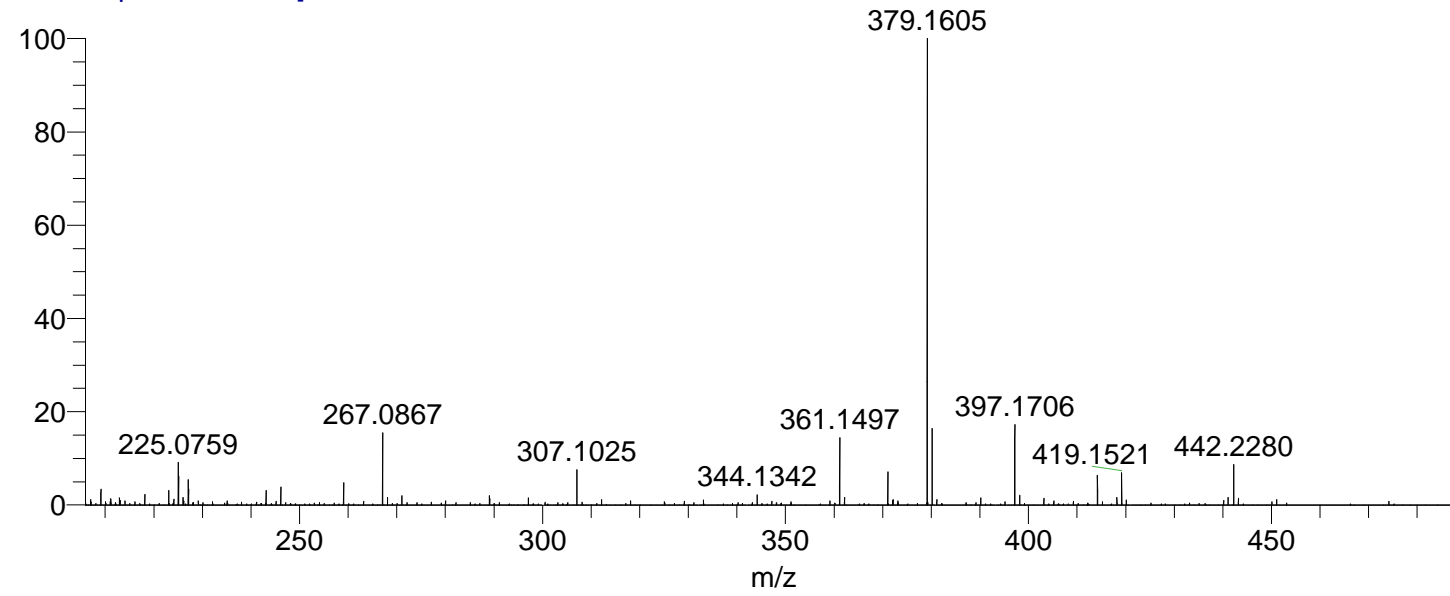
NL: 1.01E5

T: FTMS + p ESI d Full ms2 175.1



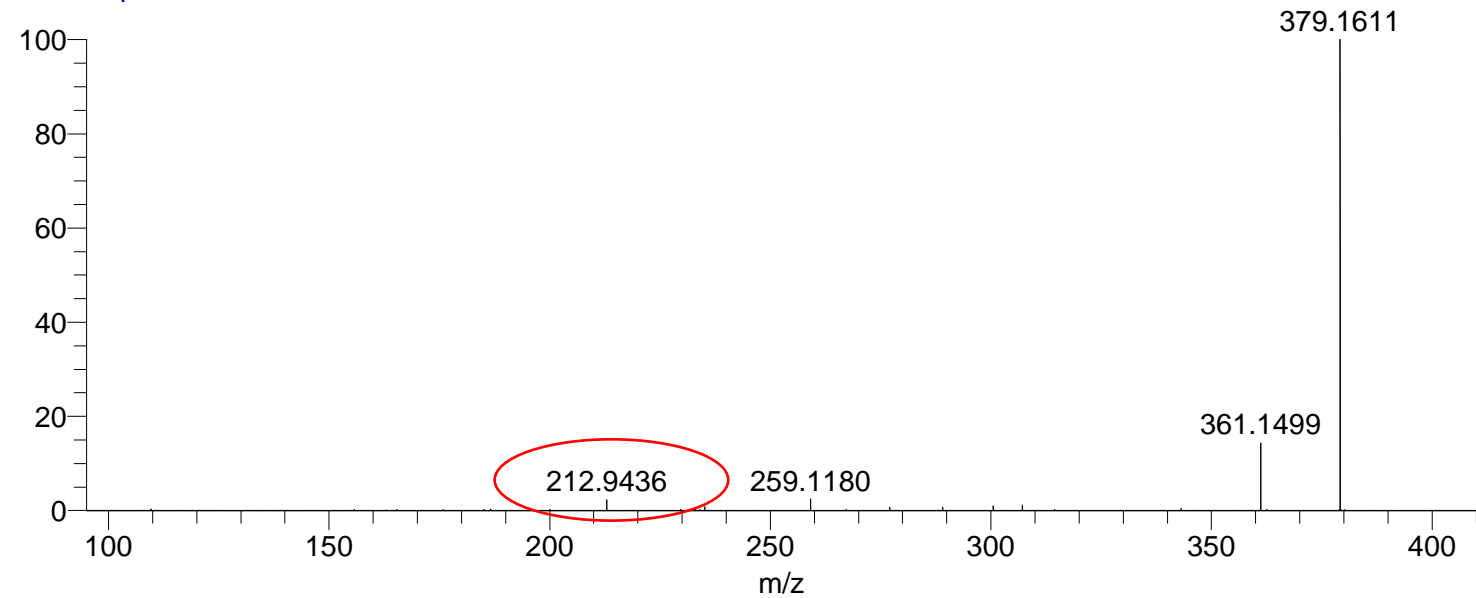
NL: 3.70E6

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2



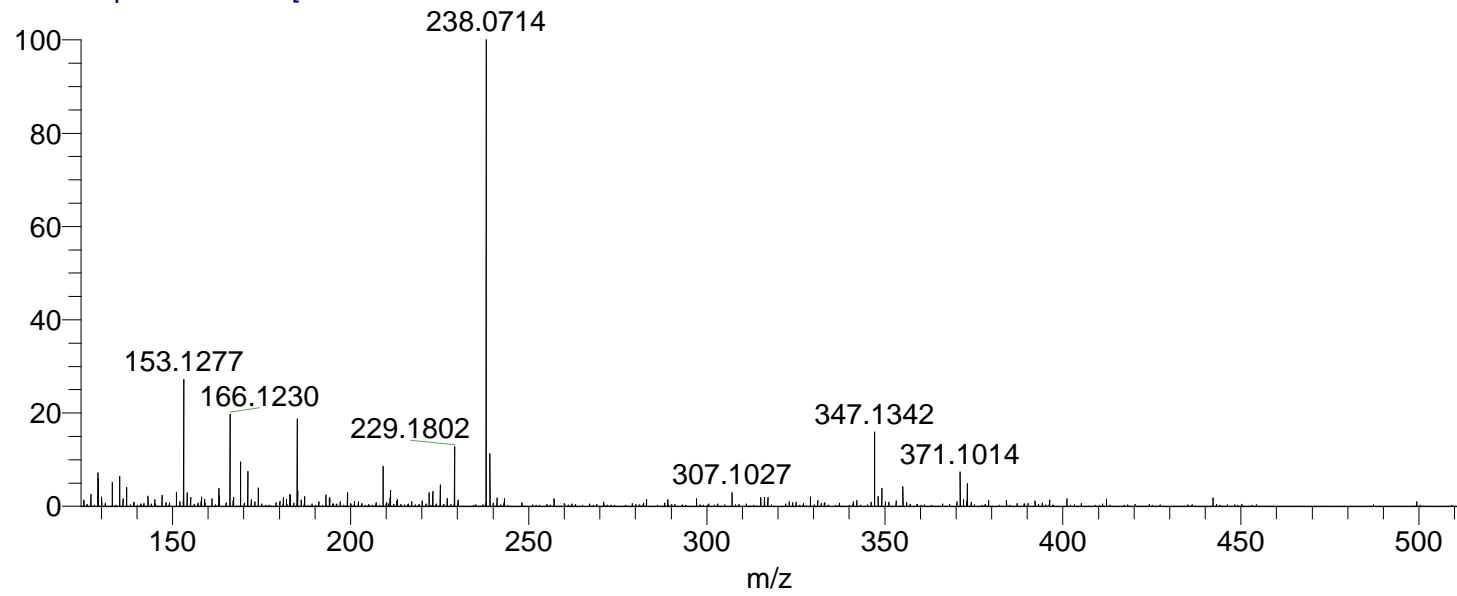
NL: 3.30E5

T: FTMS + p ESI d Full ms2 397.1



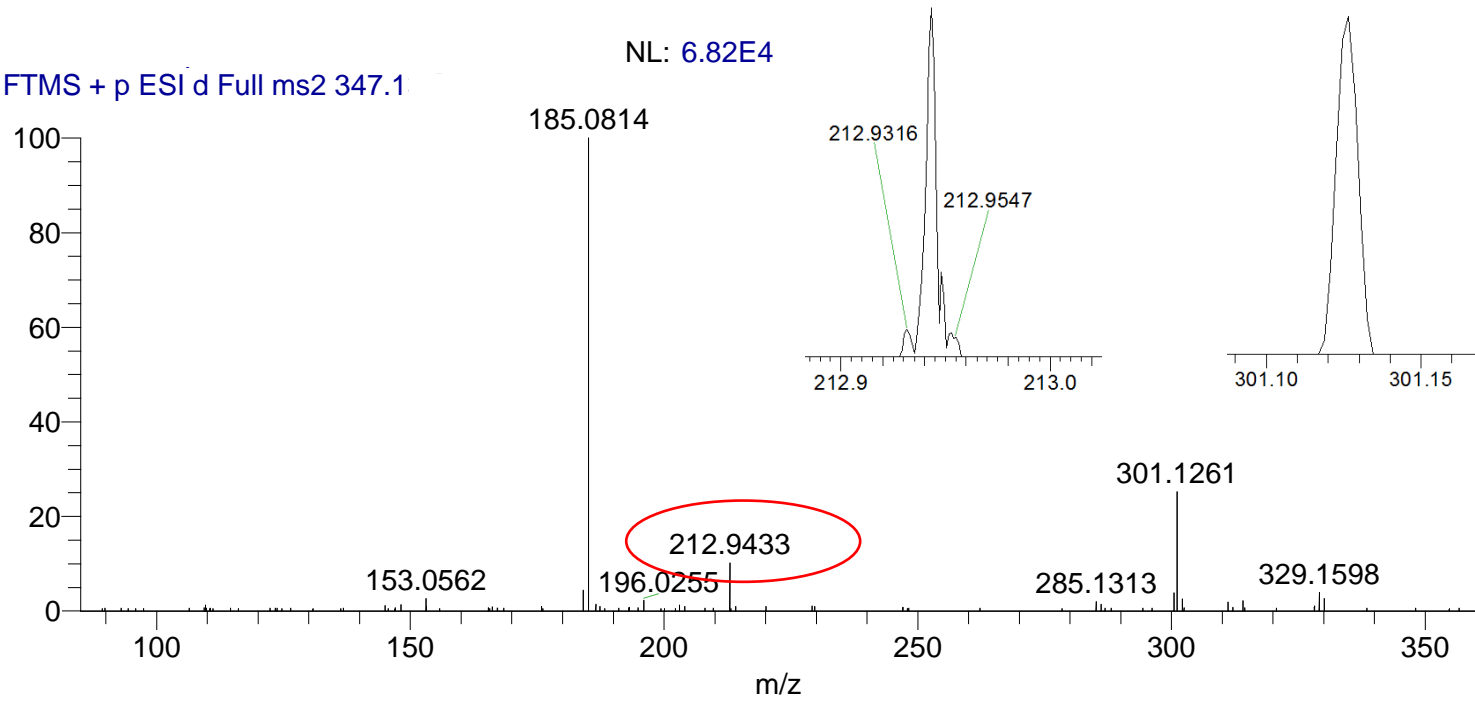
NL: 4.15E6

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2



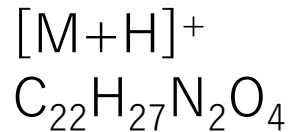
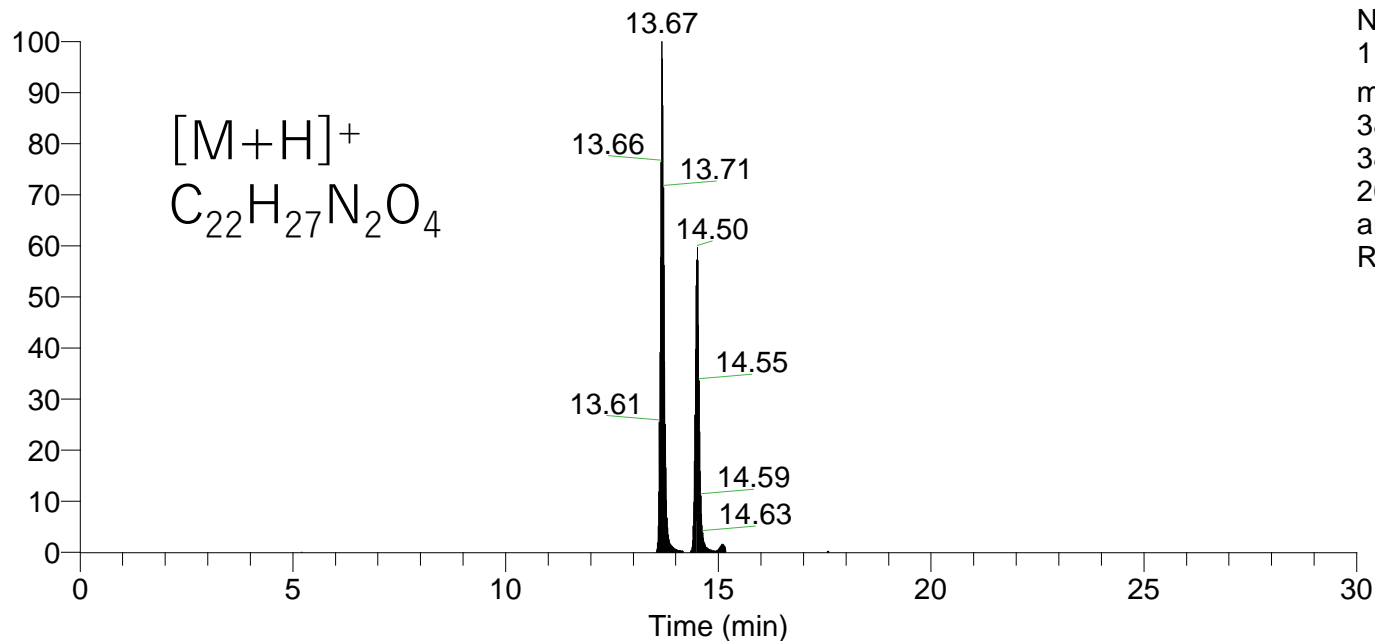
NL: 6.82E4

T: FTMS + p ESI d Full ms2 347.1



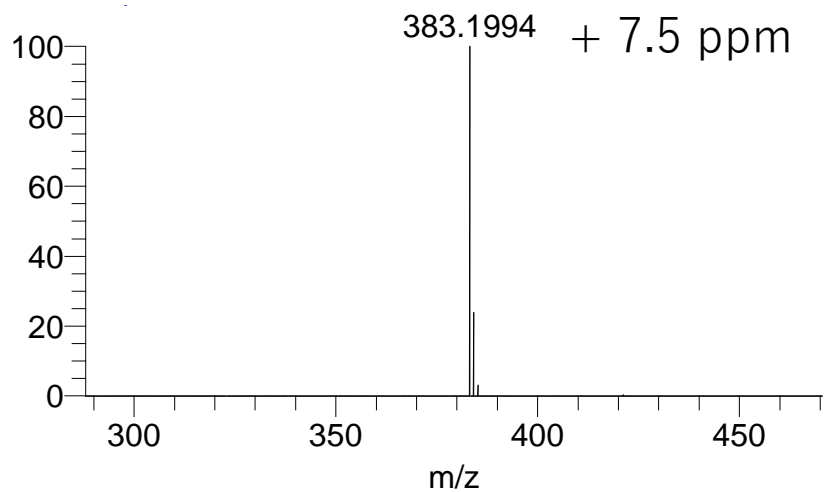
# シグナルの飽和による $m/z$ スリットの例

RT: 0.00 - 30.01

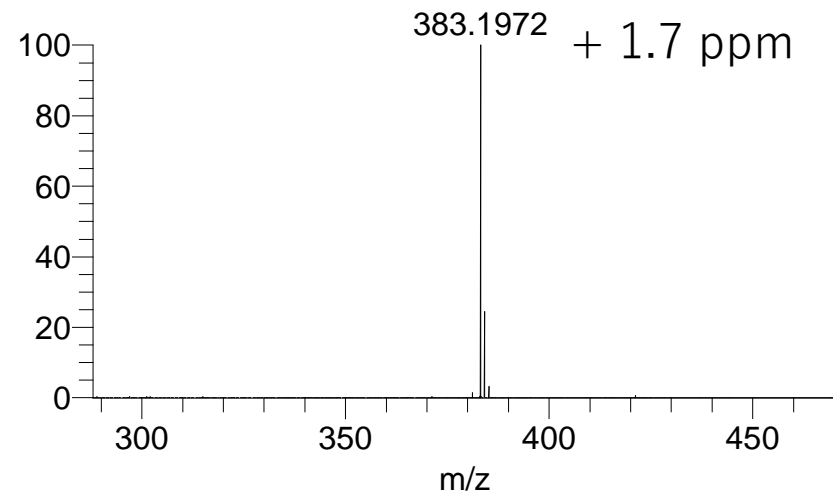


NL:  
1.21E9  
m/z=  
383.19-  
383.20 MS  
20150424\_S  
amples\_Pos\_  
Real\_15

## ピークトップのマスマスペクトル



## ピーク裾位置のマスマスペクトル





# マススペクトル解析の重要ポイント

如何にして正確な  $m/z$  値を得るか

# 装置の特性を理解する-1

## m/z 値の確度と精度

Thermo Q-Exactive

Tryptophan,  $C_{11}H_{12}N_2O_2$

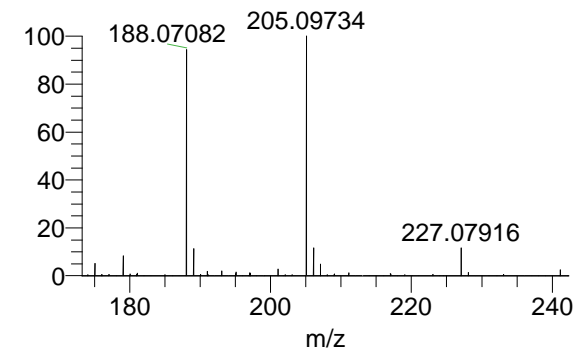
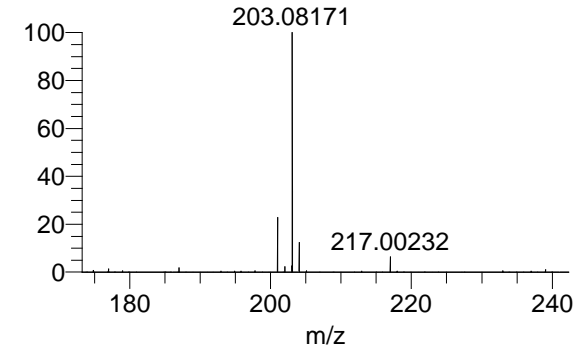
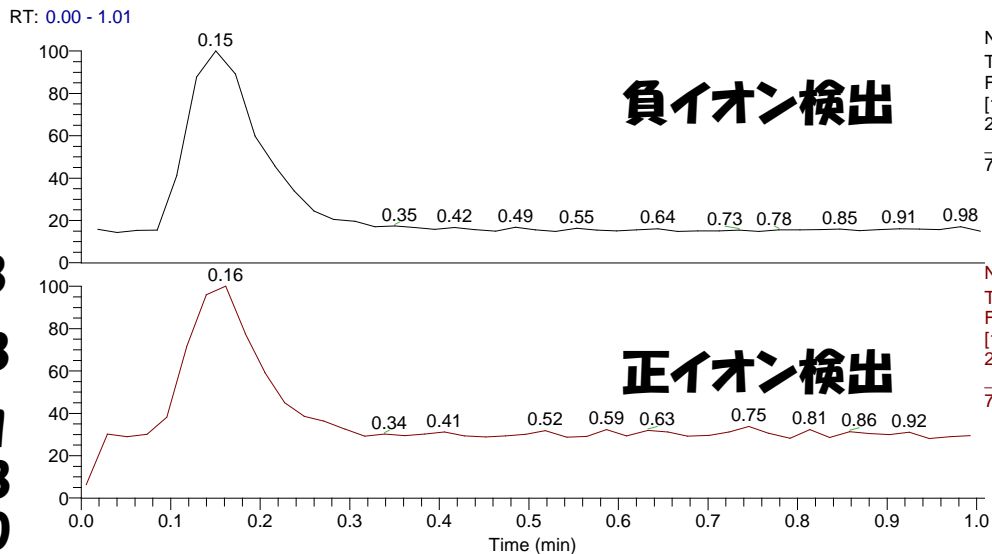
Monoisotopic mass **204.08988**

[M-H]<sup>-</sup> **203.08258**

[M+H-NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> **188.07061**

[M+H]<sup>+</sup> **205.09718**

[M+Na]<sup>+</sup> **227.07910**

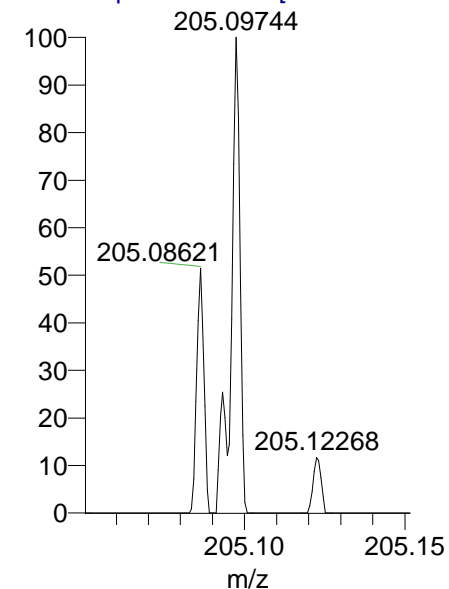


Intensity	Obs. m/z	Error (ppm)
1.10E+08	203.08170	-4.3
2.49E+08	203.08171	-4.3
2.90E+08	203.08171	-4.3
2.78E+08	203.08174	-4.1
1.82E+08	203.08170	-4.3
1.24E+08	203.08170	-4.3
7.52E+07	203.08173	-4.2
8.16E+06	203.08167	-4.5
9.01E+05	203.08173	-4.2
4.91E+05	203.08167	-4.5

Intensity	Obs. m/z	Error (ppm)
4.46E+07	188.07082	1.1
1.97E+08	188.07076	0.8
2.96E+08	188.07079	1.0
3.07E+08	188.07082	1.1
1.06E+08	188.07083	1.2
1.11E+07	188.07083	1.2
2.78E+06	188.07085	1.3
1.47E+06	188.0708	1.0
9.99E+05	188.07086	1.3
6.32E+05	188.07079	1.0

Intensity	Obs. m/z	Error (ppm)
4.13E+07	205.09737	1.0
1.99E+08	205.09727	0.5
2.89E+08	205.09731	0.7
3.25E+08	205.09734	0.9
1.59E+08	205.09744	1.4
5.78E+07	205.0974	1.2
8.17E+06	205.09741	1.2
2.60E+06	205.09744	1.4
7.41E+05	205.09749	1.6
5.84E+05	205.09744	1.4

T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-15



# 装置の特性を理解する-2

## $m/z$ 値の確度と精度

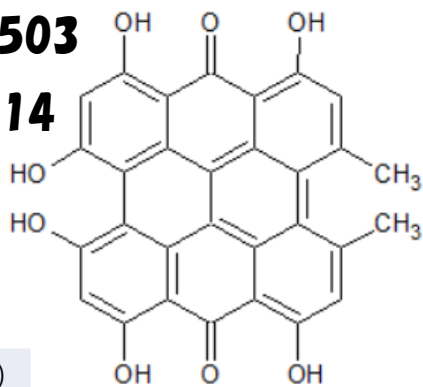
### Thermo LTQ-Orbitrap XL

Hypericin,  $C_{28}H_{34}O_{15}$

Monoisotopic mass **504.084503**

$[M-H]^-$

**503.07614**



Intensity	Obs. $m/z$	Error (ppm)
4.99E+06	503.07617	0.1
4.44E+07	503.07593	-0.4
6.62E+07	503.07593	-0.4
1.53E+07	503.07651	0.7
2.40E+06	503.07617	0.1
1.14E+06	503.0759	-0.5
9.00E+05	503.07602	-0.2
8.86E+05	503.07617	0.1
8.10E+04	503.07532	-1.6
5.09E+04	503.0759	-0.5

(QTOF)

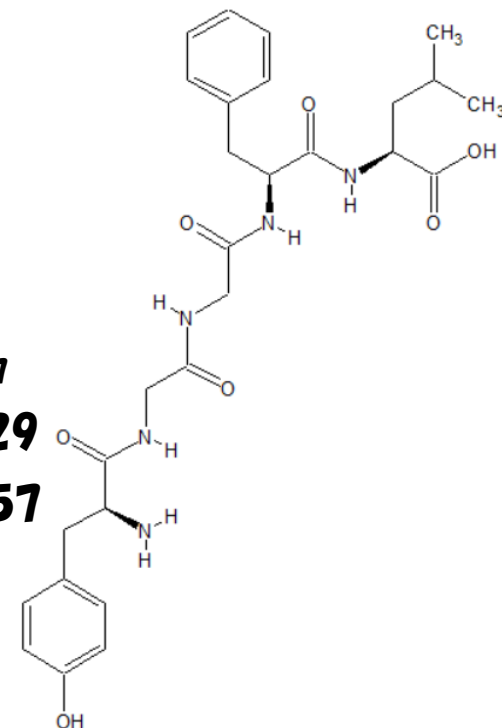
### Waters Synapt G2-XS

Leucin-Enkephalin,  $C_{28}H_{37}N_5O_7$

Monoisotopic mass **555.26929**

$[M+H]^+$

**556.27657**

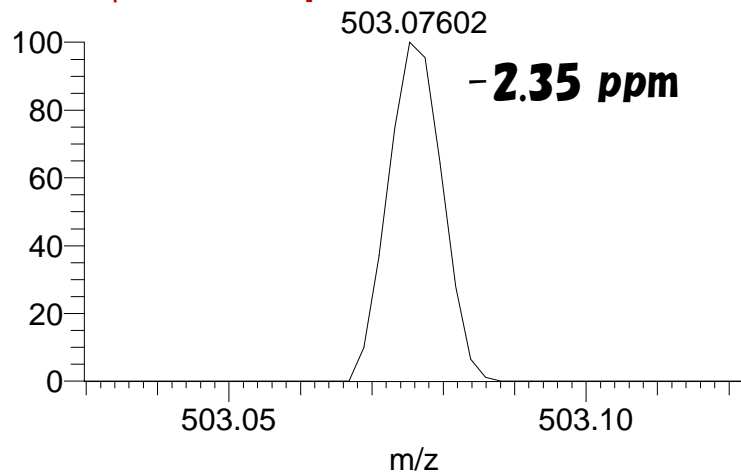


Intensity (Profile)	Intensity (Centroid)	Obs. $m/z$ (Profile)	Centroid $m/z$	Error (ppm)
659	2.44E+03	556.2758	556.2766	0.05
4.00E+03	1.43E+04	556.2758	556.2773	1.31
2.06E+04	6.54E+04	556.2758	556.2775	1.67
1.14E+05	3.16E+05	556.2758	556.2784	3.29
1.58E+05	4.21E+05	556.2758	556.2787	3.83
1.26E+05	3.49E+05	556.2758	556.2783	3.11
3.28E+04	1.03E+05	556.2758	556.2783	3.11
1.25E+04	4.15E+04	556.2758	556.2782	2.93
4.70E+03	1.61E+04	556.2758	556.2793	4.91
990	3.65E+03	556.2758	556.2798	5.81

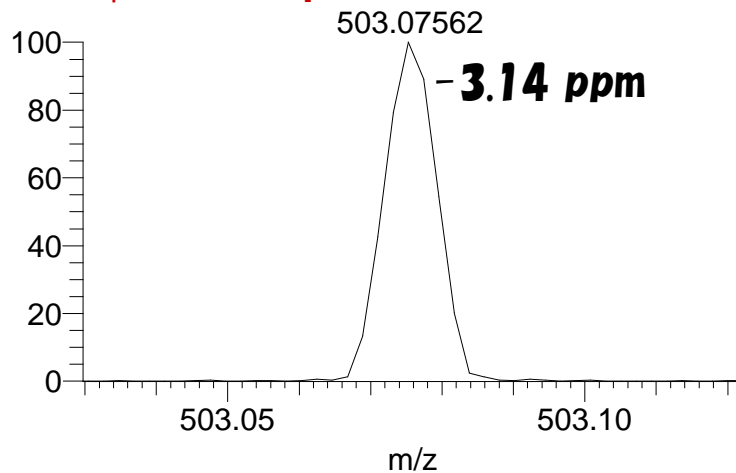
# データポイント毎のピークプロファイルと $m/z$ 値(同一LC/MSデータ)

Thermo LTQ-Orbitrap XL

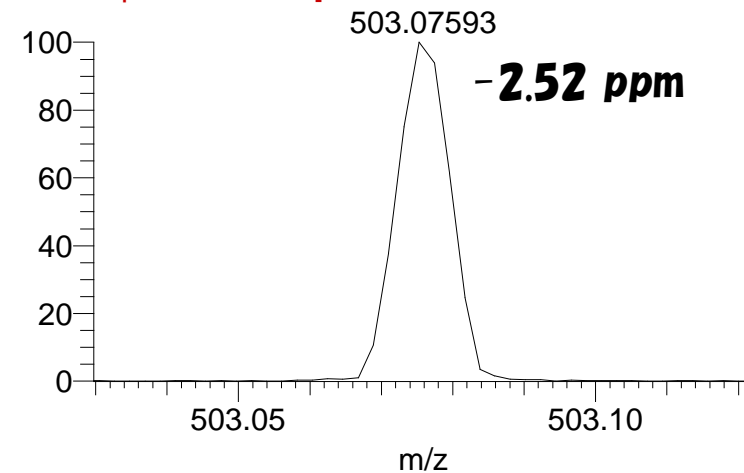
20161107\_std1 #3141 RT: 38.77 AV: 1 NL: 6.75E5  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]



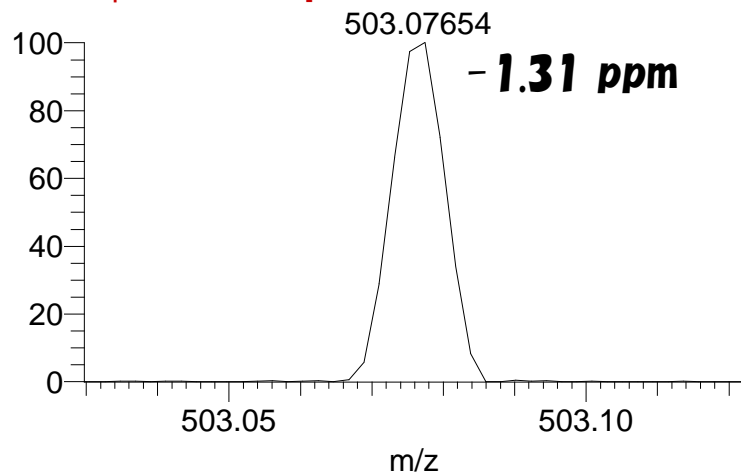
20161107\_std1 #3149 RT: 38.87 AV: 1 NL: 3.38E7  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]



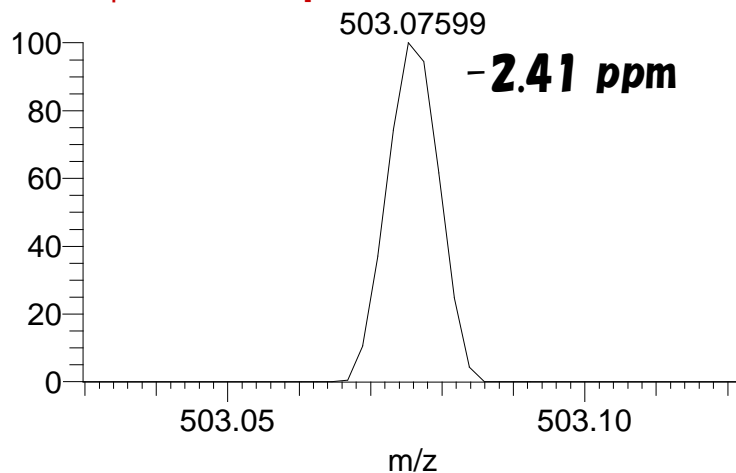
20161107\_std1 #3181 RT: 39.25 AV: 1 NL: 6.62E7  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]



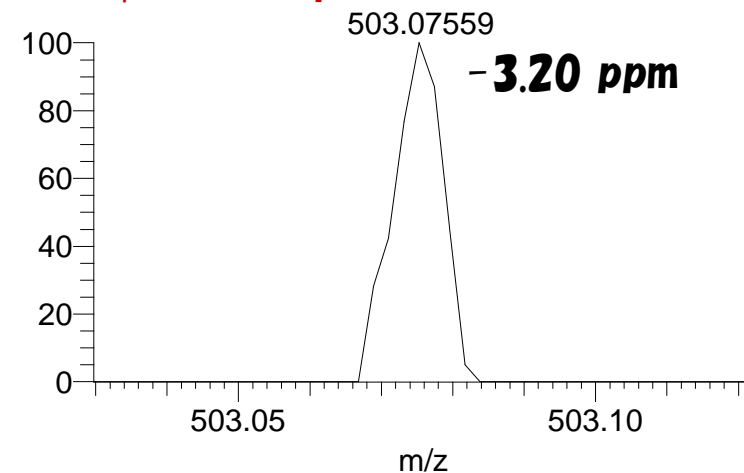
20161107\_std1 #3187 RT: 39.33 AV: 1 NL: 6.17E7  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]



20161107\_std1 #3559 RT: 43.92 AV: 1 NL: 1.88E5  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]



20161107\_std1 #3613 RT: 44.59 AV: 1 NL: 4.46E4  
F: FTMS - p ESI Full ms [10]

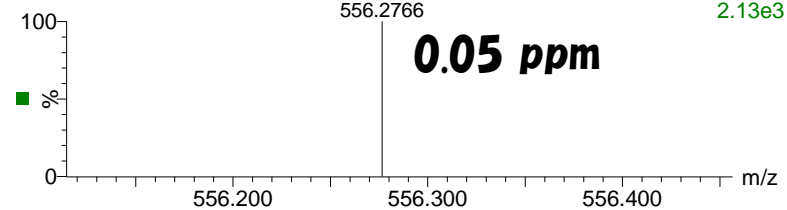


# データポイント毎のピークプロファイルとピーク検出結果(同一LC/MSデータ)

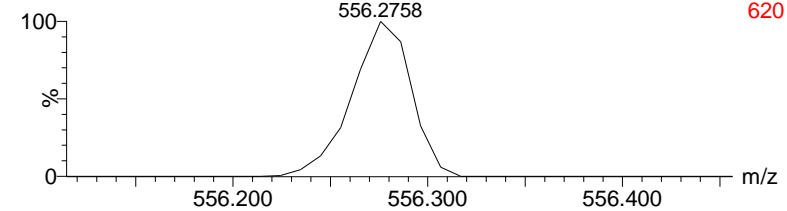
## Waters Synapt G2-XS

Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1025 (9.059) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 2.13e3

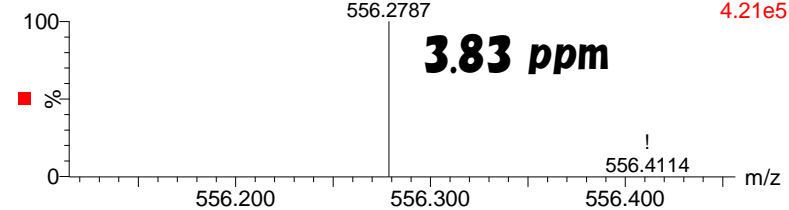


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1025 (9.059) 1: TOF MS ES+ 620

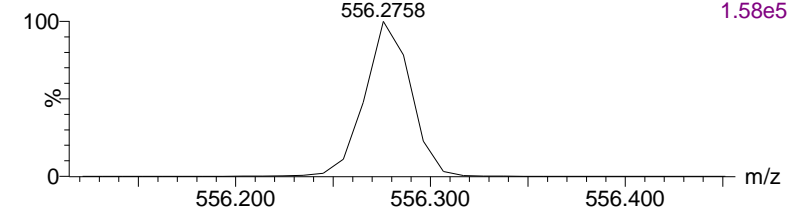


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1031 (9.112) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 4.21e5

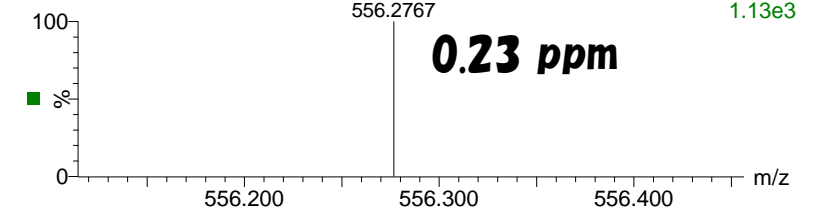


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1031 (9.112) 1: TOF MS ES+ 1.58e5

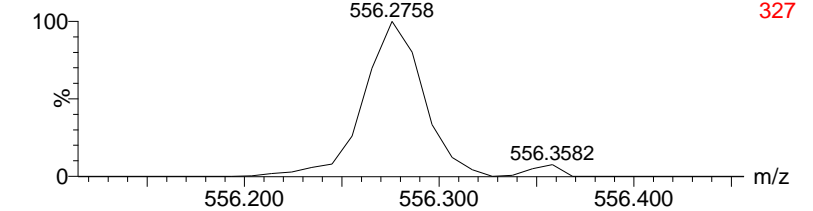


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1060 (9.365) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 1.13e3

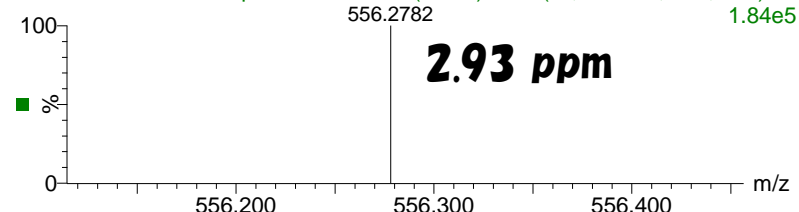


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1060 (9.365) 1: TOF MS ES+ 327

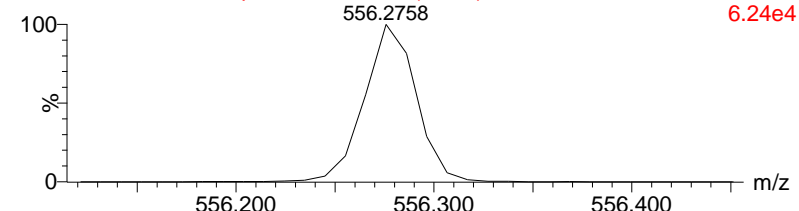


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1028 (9.086) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 1.84e5

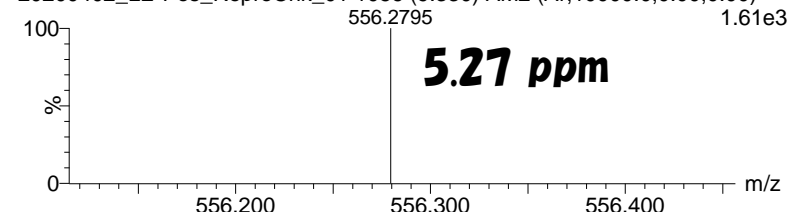


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1028 (9.086) 1: TOF MS ES+ 6.24e4

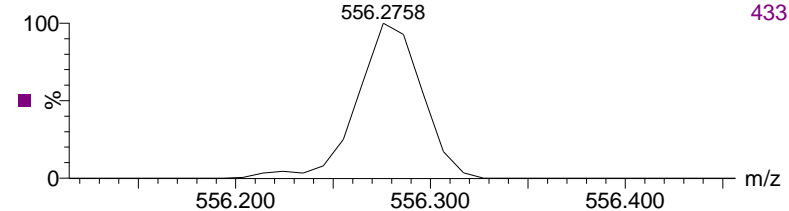


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1056 (9.330) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 1.61e3

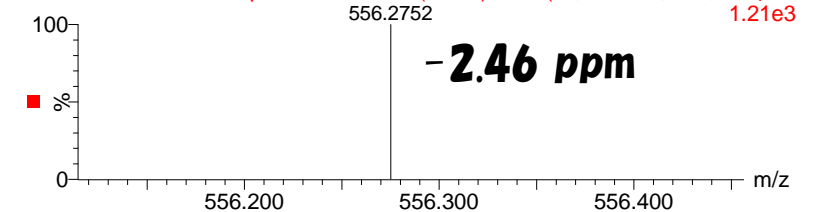


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1056 (9.330) 1: TOF MS ES+ 433

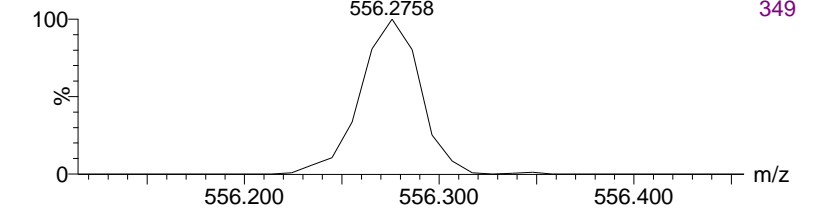


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1062 (9.383) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00) 1.21e3



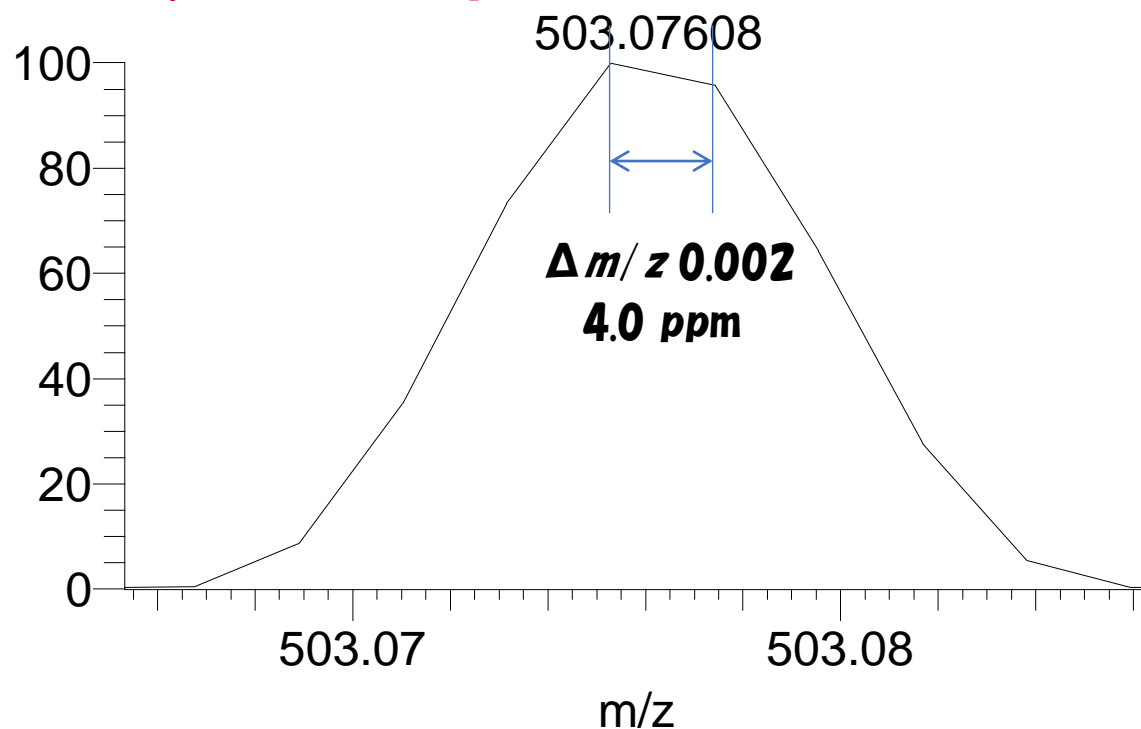
20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1062 (9.383) 1: TOF MS ES+ 349



# プロファイルスペクトルにおけるサンプリングポイントの比較

## Thermo LTQ-Orbitrap XL

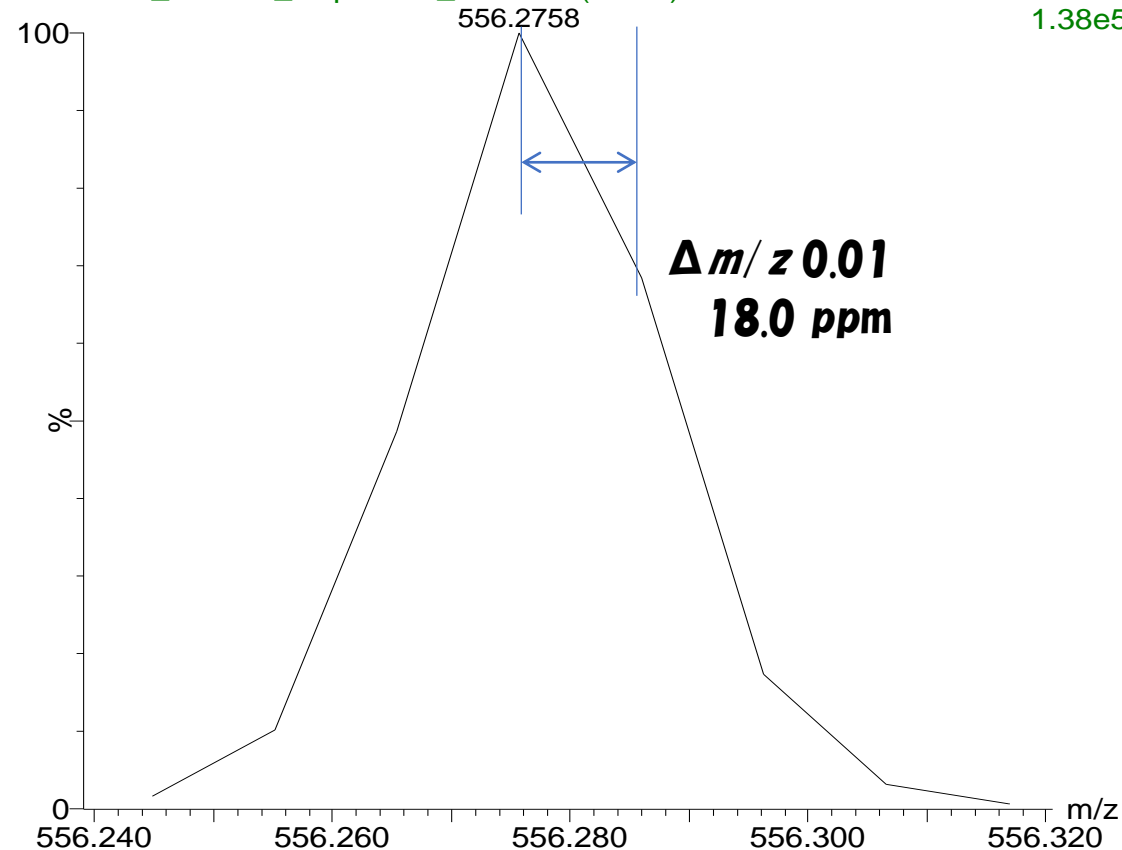
20161107\_std1 #3183 RT: 39.28 AV: 1 NL: 6.49E7  
F: FTMS - p ESI Full ms [100]



## Waters Synapt G2-XS

Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL  
20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_10 1036 (9.155)

1: TOF MS ES+  
1.38e5

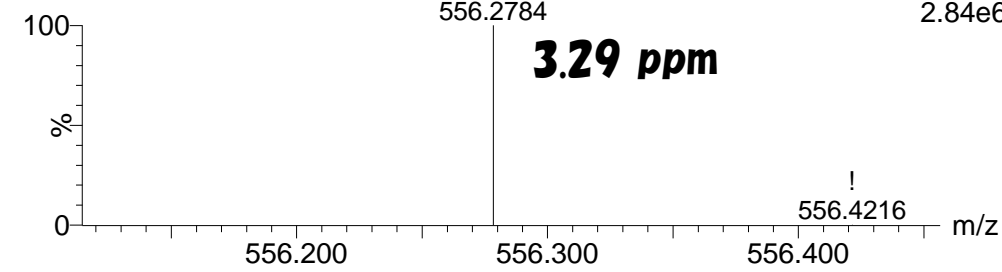


# 積算スペクトルのピークプロファイルとピーク検出結果(異LC/MSデータ)

Waters Synapt G2-XS

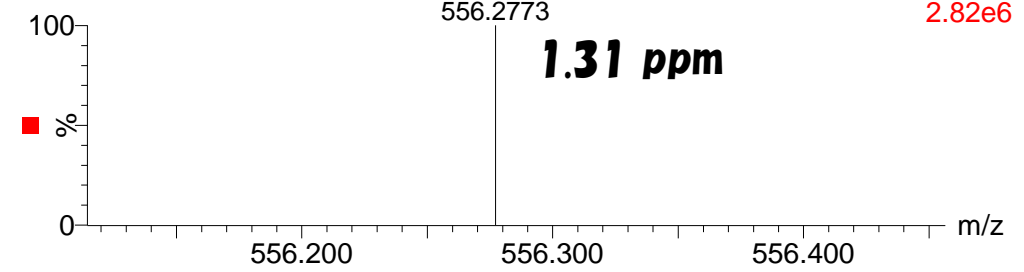
Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1031 (9.112) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00); Cr 2.84e6

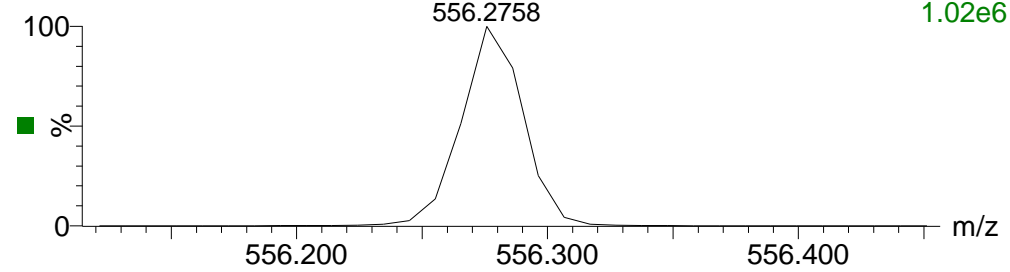


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

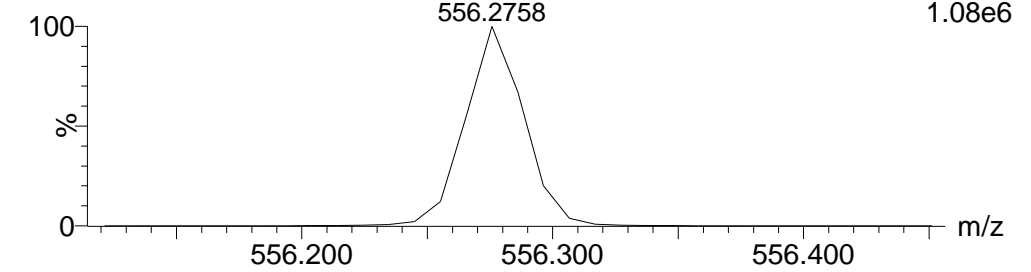
20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_03 1041 (9.199) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00); Cr 2.82e6



20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_01 1031 (9.112) Cm (1028:1037)

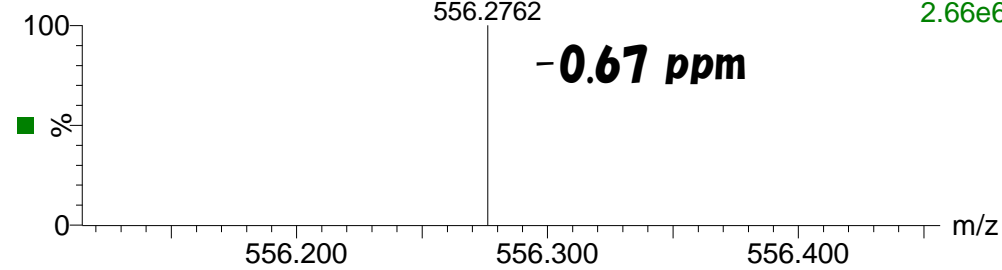


20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_03 1041 (9.199) Cm (1037:1047)



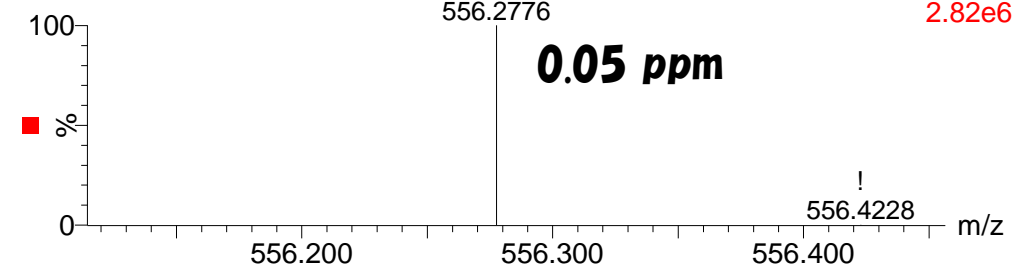
Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_02 1039 (9.181) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00); Cr 2.66e6

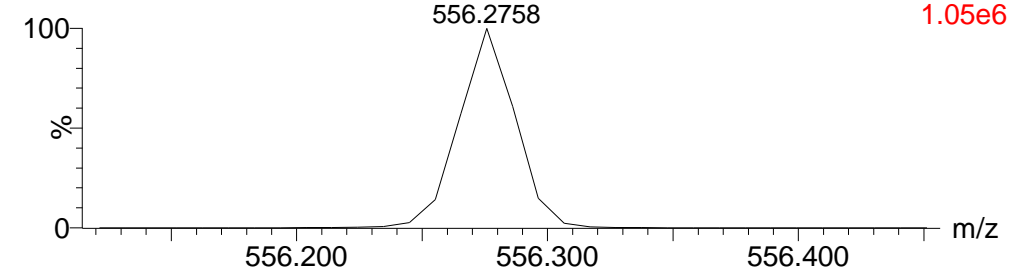


Leu-Enk, 2 ppm/H<sub>2</sub>O, 10uL

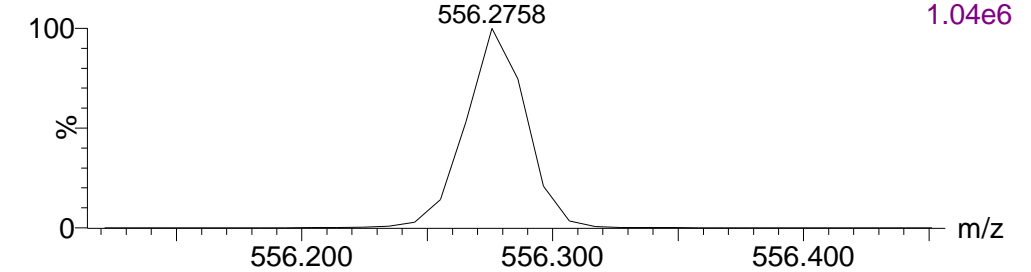
20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_04 1037 (9.164) AM2 (Ar,10000.0,0.00,0.00); Cr 2.82e6



20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_02 1039 (9.181) Cm (1036:1044)



20200402\_LE-Pos\_ReproChk\_04 1037 (9.164) Cm (1033:1044)

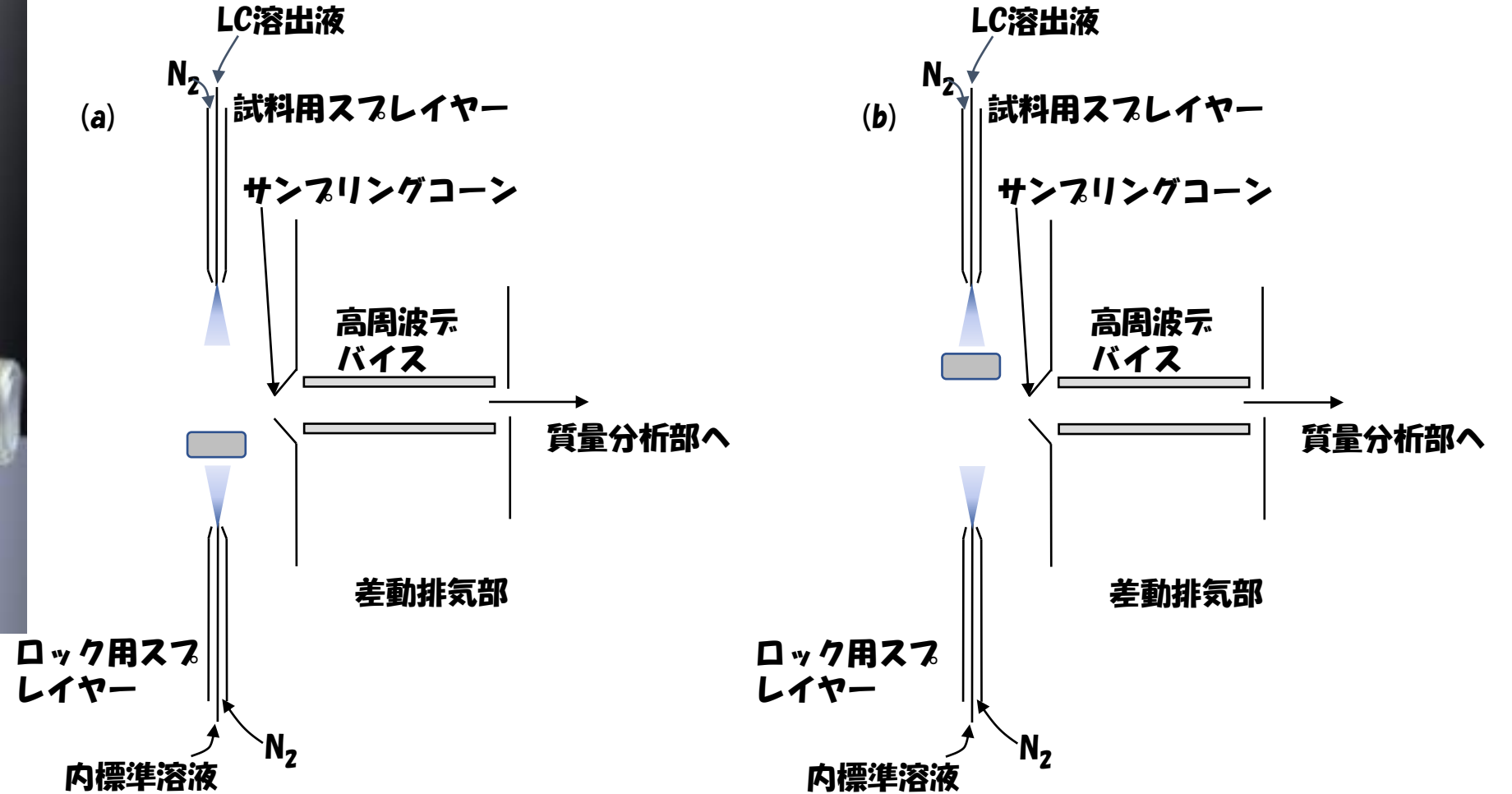


# 積算スペクトルのピーク検出結果再現性

Intensity (Profile)	Intensity (Centroid)	Obs. $m/z$ (Profile)	Centroid $m/z$	Error (ppm)
1.02E+06	2.84E+06	556.2758	556.2784	3.29
1.05E+06	2.66E+06	556.2758	556.2762	-0.67
1.08E+06	2.82E+06	556.2758	556.2773	1.31
1.04E+06	2.82E+06	556.2758	556.2776	1.85
1.05E+06	2.68E+06	556.2758	556.2789	4.19
1.05E+06	2.66E+06	556.2758	556.2784	3.29
1.04E+06	2.70E+06	556.2773	556.2773	1.31
1.01E+06	2.65E+06	556.2758	556.2778	2.21
1.02E+06	2.80E+06	556.2758	556.2778	2.21
1.10E+06	2.81E+06	556.2758	556.2773	1.31



# Wates テュアルスプレーESIソース



# 高分解能質量分析計とロックマス機能

	ロックマス有無	ロックマス方法	必要性
<b>Waters (QTOF)</b>	有	デュアルスプレー	必須
<b>Sciex (QTOF)</b>	有	数測定に1回	必要
<b>Agilent (QTOF)</b>	有	デュアルスプレー	?
<b>Bruker (QTOF)</b>	?	?	?
<b>島津 (QTOF)</b>	有	デュアルスプレー	実用上不要
<b>Thermo (Orbitrap)</b>	有	混合	実用上不要

# 参考資料

- **マスペクトロメトリーってなあに**（質量分析学会編、国際文献印刷社）
- **これならわかるマスペクトロメトリー**（化学同人）
- **マスペクトロメトリー関連用語集**  
（web版：<http://www.mssj/index-jp.html>）
- **現代質量分析学**（化学同人）
- **液クロ龍、彪、犬、武、文の巻**（液クロ研究懇談会編、丸善）
- **液クロを上手につかうコツ**（液クロ研究懇談会編、丸善）
- **液クロ実験 How to マニュアル**（液クロ研究懇談会編、みみずく舎）
- **LC/MS, LC/MS/MSの基礎と応用**（液クロ研究懇談会編、オーム社）
- **LC/MS, LC/MS/MSのメンテナンスとトラブル解決**（液クロ研究懇談会編、オーム社）

★出来るだけ、やさしく、詳しく解説してます！

# LC/MS 定量分析入門 (2021)

## 著者

博士 (工学) 高橋 豊 著

エムエス・ソリューションズ (株) 代表取締役、(株) プレッパーズ 代表取締役社長  
横浜市立大学非常勤講師、浜松医科大学非常勤研究員

### ■ 主経歴

・ 1990 年日本電子 (株) 入社

応用研究センター研究員；LC/MS を用いた応用研究、LC-MS 装置制御ソフトウェアの開発、  
ナノESI イオン源の開発、マイクロチップと分析機器を組み合わせたデバイス開発

・ 2010 年日本電子 (株) 退社、エムエス・ソリューションズ (株) 設立、代表取締役

・ 2019年 浜松医科大学発ベンチャー 株式会社プレッパーズ設立、代表取締役社長

### ■ 専門・得意分野

質量分析全般、LC/MS およびLC/MS/MS による定性・定量分析、マススペクトル解析

### ■ 本テーマ関連の学会・協会・団体等

日本質量分析学会、液体クロマトグラフィー研究懇談会

【早期割引にて申込受付中】

**29,700円 (税込 (消費税10%)) 2021年6月22日のお申込まで！**

## 発刊・体裁・価格

発刊 2021年6月予定 定価 35,200円 (税込 (消費税10%))

体裁 B5判 約160ページ ISBN 978-4-86502-215-5 [詳細、申込方法はこちらを参照](#)