



Title	農学部の質量分析(MS)の歩と私
Author(s)	渡部, 賢二
Description	研究・技術発表
Citation	北海道大学大学院農学研究科技術部研究・技術報告, 9, 11-22
Issue Date	2002-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/35430
Type	departmental bulletin paper
File Information	9_p11-22.pdf



農学部の質量分析(MS)の歩と私

GC-MS・NMR測定室 渡部 賢二

はじめに

昭和45年度にGC-MS 1号機が設置されて以来、農学部の質量分析計は全学からの依頼測定を引き受けて30年を超えた。この間、農学部GC-MS及びNMR委員会委員の先生方の計らいによって計6台の質量分析計が購入され、時々を担ってきた。

また、私の質量分析の仕事に関して周囲の方々から推して頂いて「平成12年度日本化学会化学技術有功賞」を幸運にも受賞することができた。

この機に農学部の質量分析(MS)の歩を自分との関わりと重ね合わせて報告する。

1. 農学部質量分析計の変遷

GC-MS 1号機

- ・日立製 RMS-4型 GC-MS
- ・昭和45年度(1970年度)～約7年間
- ・単収束(磁場のみ)で分子量は最高1000ダルトン、最小試料量は0.1 mg。
- ・コンピュータが付いていない時代の機械で、マススペクトルは感光紙に焼付けた。

この感光紙が高価なため、目的の化合物が出る位置をモニターで捕えて、的確にその位置で測定をした。マススペクトルは1マスユニットずつ数えなければならず、チャートは現像も必要とした。イオン源のフィラメントの交換は酸素ガスを使ったガラス細工が必要であった。

抽象的な言い方になるが、私にとって「これくらい試料を入れると、これくらいの強さでどこに出る」と言う基本的な感覚が養われた7年間であった。

GC-MS 2号機

- ・日本電子製 JMS-D300型 GC-MS
- ・昭和52年度(1977年度)～約7年間
- ・二重収束(電場、磁場)で最高質量は2400ダルトン、最小試料量は1 ng。
- ・1号機と比べて時代の差とは言え、感度、分解能ともに高く、コンピュータ付きでマススペクトルを1マスユニットずつ数えなくて済み、全ピークの質量数と相対強度のテーブルを打ち出すことができるようになった。

良いことばかりではなく、高感度、高分解能になった分機械が繊細になり、サンプルを入れ過ぎても少な過ぎても駄目な面があり気を遣った。又、サンプルを気化させるヒータが間接的に熱を伝える仕組みになったためシャープに気化させることが難しくなったり、融点の高い物質では出難くなった。それをカバーするためチャンバー温度を高目に設定し、サンプルヒータの値段を頭に浮かべながら許容温度を100度も超え

るまで上げました。納得できる結果が出てホットした。シャープに気化させることがS/Nの良いスペクトルを得ることになるだけでなく、サンプル量が少なくて済み機械の汚れを小さくすることに繋がる。もうひとつ困り事があった。測定データを取り込むテープの容量が小さく、GC-MSで長い測定をするとテープの最後まで行ってしまう。そうすると何故か取り込んだデータが全部だめになってしまう。即ちイニシャライズをしてデータを消してしまわないと言うことを聞かなくなる。測定前の段取を含めると「2～3時間の労力」と「貴重なサンプル」を失って涙が出てきた。そこでイオンマルチを最低にして、テープの使用量を節約してスタートし、ピークが出てきたならタイミングを合わせてイオンマルチを1測定分上げる。この時の電圧と測定番号を筆記する。すぐに電圧を下げ、ピークが出終わったならば再び電圧を前と同じ数値に上げて1測定する(バックグラウンド分)。この測定番号も筆記し、すぐに電圧を下げる。複数のピーク全部が出終わるまでこれを繰り返す。この間、息をしていなかったかと思うくらい秒単位で集中して測定した。テープの使用量を節約できるのと、測定番号を筆記しているのでデータを打ち出す手間を楽にさせた。私自身この機種との付き合いは1年半ほどだったが、最も力が身に付いた時と思っている。

高分解能質量分析計 1号機

- ・日本電子製 JMS-01SG-2型
- ・昭和53年度(1978年度)～約16年間
- ・加速電圧10KVの大型の二重収束質量分析計で最高質量は3500ダルトン、最小試料量はGC-MSで10ng
- ・FD-MS(電界脱離イオン化質量分析法)と言う今までと全く違うイオン化法ができるように造られていた。このイオン化法は分子イオンが強く出て、対応できる有機化合物の範囲も広い。現在いろいろなイオン化法が出てきているが、今でもFD-MSでなければ測定できないものも多々ある(後述の3. 最近の測定例で一部紹介する)。単純明快な結果が出ることが性に合ったのか夢中になった。エミッタ(化合物を直接載せてイオン化させる陽極部)を作る機械があって、私の所では作っていた(買うと高い)。マニュアルでは1昼夜で作るところを、良いものを作るため私は2～3日かけて作った。又、マグネットが大きいと高速で測定ができず積算回数が限られてくる。感度を得るため次のことをした。エミッタに電流を流して昇温するが、普通は自動昇温のところを私は手動で行った。秒単位でタイミングを計って2台の計器を見ながら手でツマミを回していった。イオンを無駄にしないように、シャープに出るように、強く出過ぎて放電しないように行った。多分2～3分息を止めていたと思う。その他、FD-HR-MS(ミリマス測定)を可能にした。農学部技術部報告集第1号に掲載したように難イオン化化合物の測定範囲を広げた。化合物の揮発性、難揮発性がどの程度かを知らないと測定結果に大きな影響を与えることがしばしばあるが、経験による判断で構造式の難揮発性度を数値化する試みをした(現在も利用してお

り、機会があれば発表するつもり)。この頃は一番神経(感覚)が研ぎ澄まされていたと思う。一人部屋だったので機械とばかり対話をし、人と一言も話さない日もありましたが、精神衛生上あまり良くなかったなと思っている。

昭和60年度(1985年度)の農学部増改築により現在のGC-MS・NMR測定室に移ったが、結局この機種は16年間働いた。後半はメーカーの製造ラインから外れ部品の調達も難しくなり苦勞をした。

GC-MS 3号機

- ・昭和59年度(1984年度)～10年間
- ・日本電子製 JMS-DX300型 GC-MS
- ・GC-MS 2号機の後継機として入替えになった機種で、私自身はほとんどタッチしていない。
- ・最高質量3000ダルトン、最小試料量50 pg

GC-MS 4号機

- ・平成6年度(1994年度)～現在
- ・日本電子製 JMS-AX500型 GC-MS
- ・GC-MS 3号機の後継機として入替えになった機種で、これも私はタッチしていない。
- ・最高質量4500ダルトン、最小試料量50 pg

高分解能質量分析計 2号機

- ・平成6年度(1994年度)～現在
- ・日本電子製 JMS-SX102A型
- ・高分解能質量分析計1号機の後継機としてGC-MS 4号機と一緒に納入された。
- ・最高質量24000ダルトン、最小試料量100 pg
- ・イオン透過率が良い機種で、今まで感度面で不十分なため測定不可としていた化合物が測定可能になったり、FD-MSでエミッタ電流を自動で上げてても十分な感度を得られるようになった。処理能力もアップして大変楽になった。新しいイオン化法ESI-MS(エレクトロスプレーイオン化質量分析法)ができるようになり、蛋白質等の高分子も測定可能となった。このESI-MSでの技術、研究発表は第5回農学部技術部職員研修で行った(報告集第4号に掲載)。ESIは繊細な面があり、イオンが不安定になったり出なくなったりすることがしばしば起きる。このイオンの不安定をおさえる工夫をしてみた。多少効果があるので利用している(機会があれば発表するつもり)。

以上、農学部の質量分析(MS)の歩は昭和45年度(1970年度)に始まって平成13年度(2001年度)まで合計6台の機種、30年を超す年月になる。「農学部GC-MS及びNMR委員会」のもと、質量分析(MS)に関しては現在の職員2名を含めて過去4名の職員とアルバイトの大学院生が担ってきた。

※ 農学部核磁気共鳴装置(NMR)の変遷

90MHz NMR : 昭和46年度(1971年度)

日立製 R-22型 現在はない。

500MHz NMR : 昭和62年度(1987年度)

BRUKER AM500型

↓グレードアップ

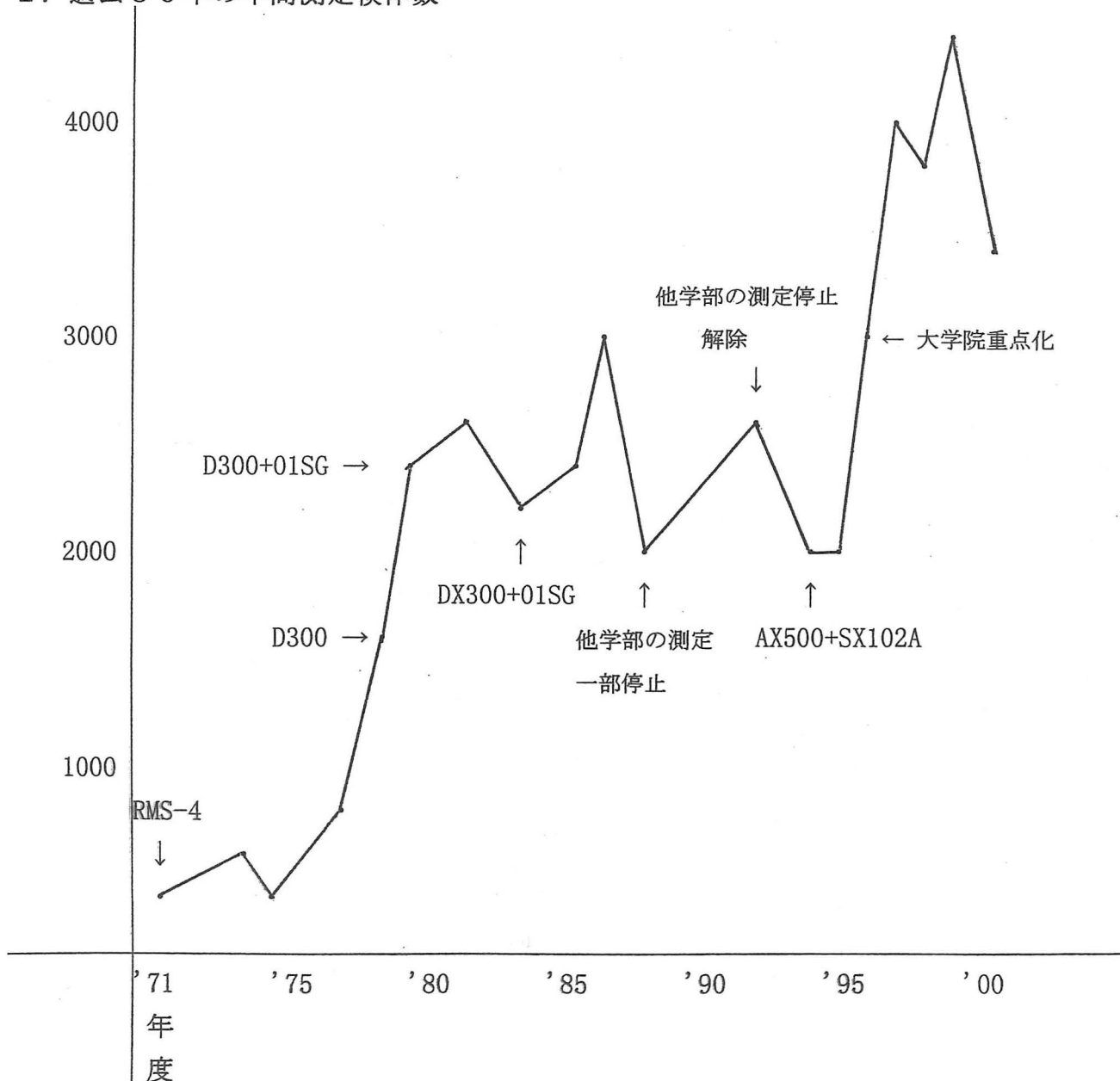
: 平成8年度(1996年度)

BRUKER AMX500型

270MHz NMR : 平成3年度(1991年度)

日本電子製 JNM-EX270型

2. 過去30年の年間測定検体数

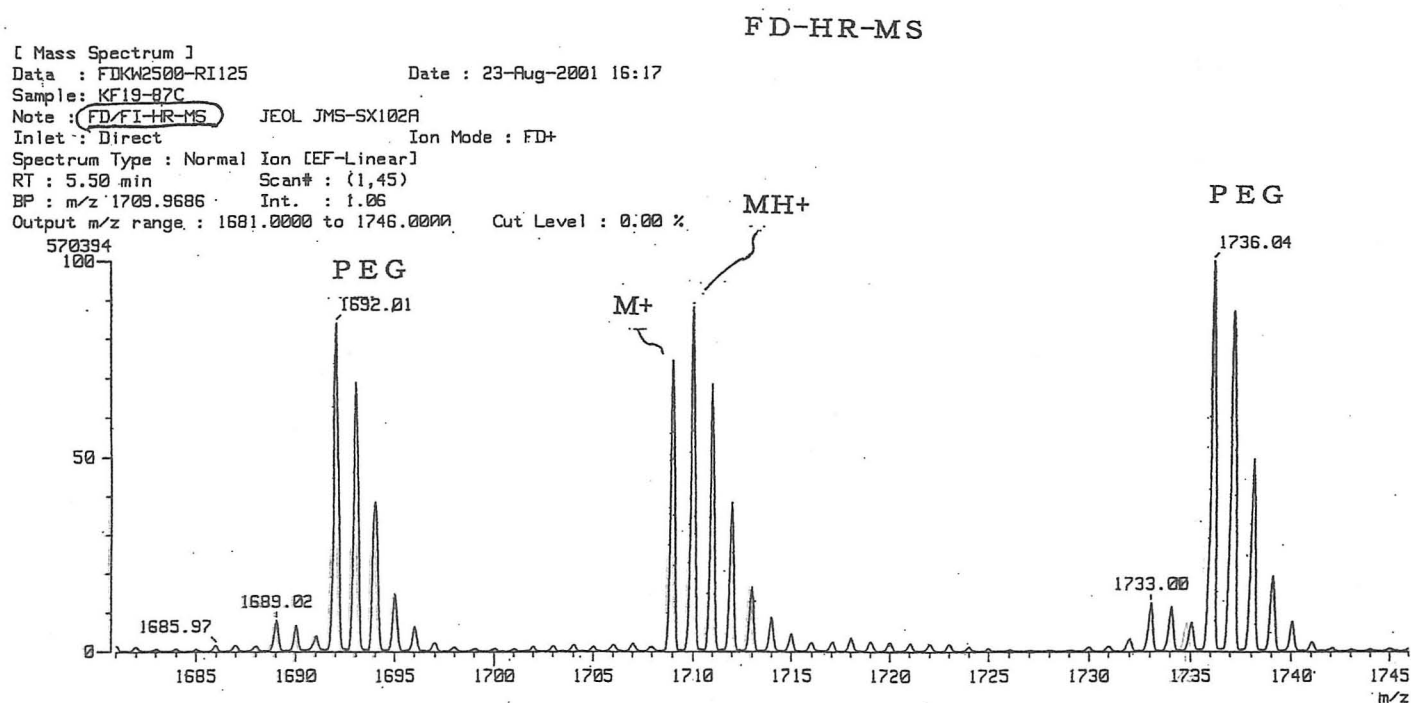


3. 最近の測定例

測定例 ①

- ・比較的高分子のFD-HR-MS(ミリマス測定)
- ・FD-MSのミリマス測定はEI、FAB、ESIに比べて精度が落ちると思うが測定例①は分子量が大きいにもかかわらず大変良い精度の値を得ることができた。作りたての良いエミッタを使用することと積算回数を多くすることでS/Nの良いシャープなピークを得た。又、標準物質(PEG)とサンプルの強度がほぼ1対1になるように調整した。これくらいきれいに出すことができれば高分子のFDミリマス測定でも良い結果が得られる。
- ・このマスペクトルの掲載は理学研究科「有機化学第一研究室」の許可を得ている。研究中のデータの一部なので精密質量数、分子式は載せない。

(理) 有機化学第一

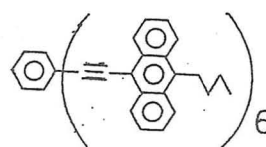


測定例 ①

測定例 ②

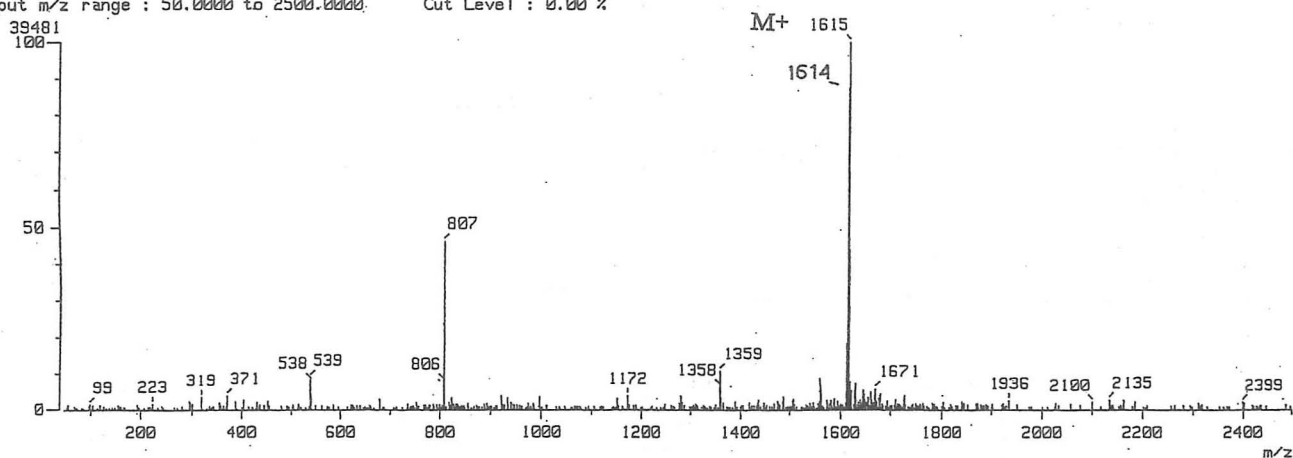
- ・FD-MSでのみ良い結果が得られた化合物のマススペクトル。
- ・C、Hのみで極性基がない化合物はFDが得意とし、FAB、ESIは不得手と言える。
- ・このマススペクトルの掲載は理学研究科「有機反応論研究室」の許可を得ている。

(理) 有機反応論



C₁₂₆H₁₀₂=1614

[Mass Spectrum]
 Data : FIKW2500-R1526 Date : 28-Jun-2000 11:05
 Sample: 17(2)GPC 1
 Note : FD-MS / E.C. 1MA—30mA JEOL JMS-SX102A
 Inlet : Direct Ion Mode (FD+)
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 2.50 min. Scan# : (9;24)
 BP : m/z 1615.0000 Int. : 3.77
 Output m/z range : 50.0000 to 2500.0000 Cut Level : 0.00 %



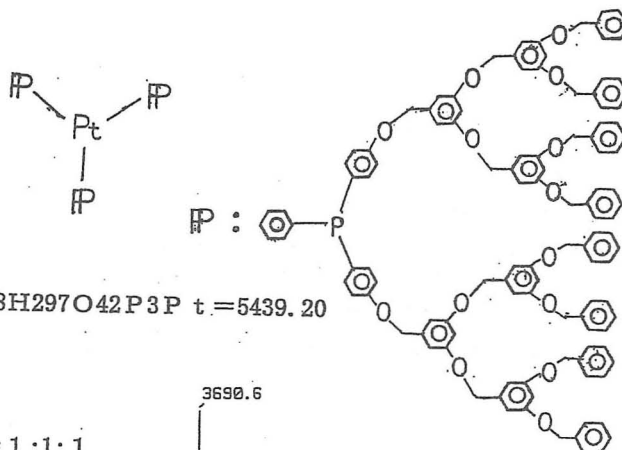
FD-MS ○
 FAB-MS △
 ESI-MS ×

測定例 ②

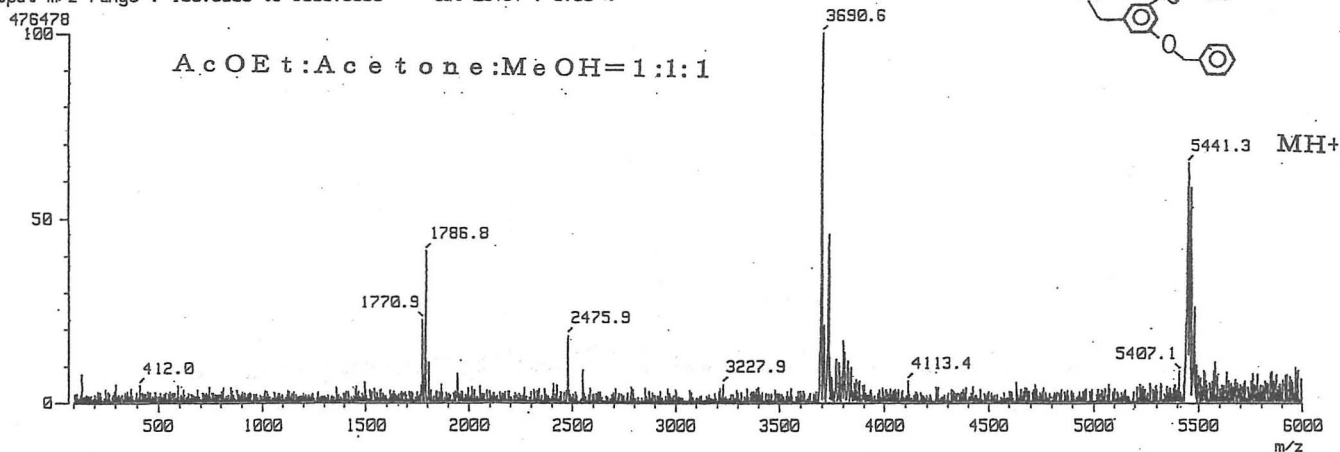
測定例 ③

- ESI-MSで良い結果が得られた化合物のマススペクトル。
- ESIの得意とする極性基 (-OH、-CO-、-COOH、-NH-、-NH₂等) がないので得意の分野ではないが金属と-O-を多数含んでいるのでイオン化されたと思う。
- FAB-MSでは測定範囲を限ったプロファイル型で測定するとM⁺が観測される。
- FD-MSは本来この様な極性が低い化合物は得意とするところであるが分子量の限界 (正確に言えば融点の限界) がある。この構造で分子量が2000以下ならば測定できる。
- このマススペクトルの掲載は触媒化学研究センター「分子集合体化学研究室」の許可を得ている。

(触) 分子集合体化学



[Mass Spectrum]
 Data : ESI3K8500KW-SYOKUBAI564 Date : 11-Dec-2000 17:18
 Sample: Pt(O)(G2)3
 Note : JEOL JMS-SX102A
 Inlet : Direct Ion Mode : ESI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear] C₃₄₈H₂₉₇O₄₂P₃ t = 5439.20
 RT : 7.37 min Scan# : (1,35)
 BP : m/z 3690.6104 Int. : 1.30
 Output m/z range : 100.0000 to 6000.0000 Cut Level : 0.00 %



ESI-MS ○
 FAB-MS △
 FD-MS ×

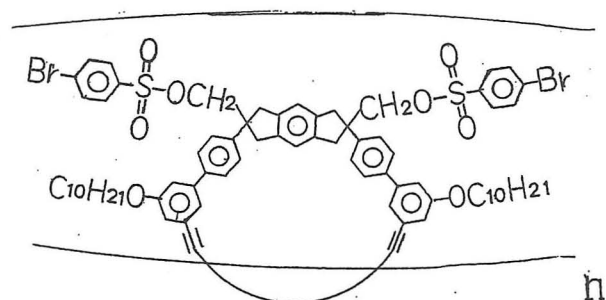
測定例 ③

測定例 ④

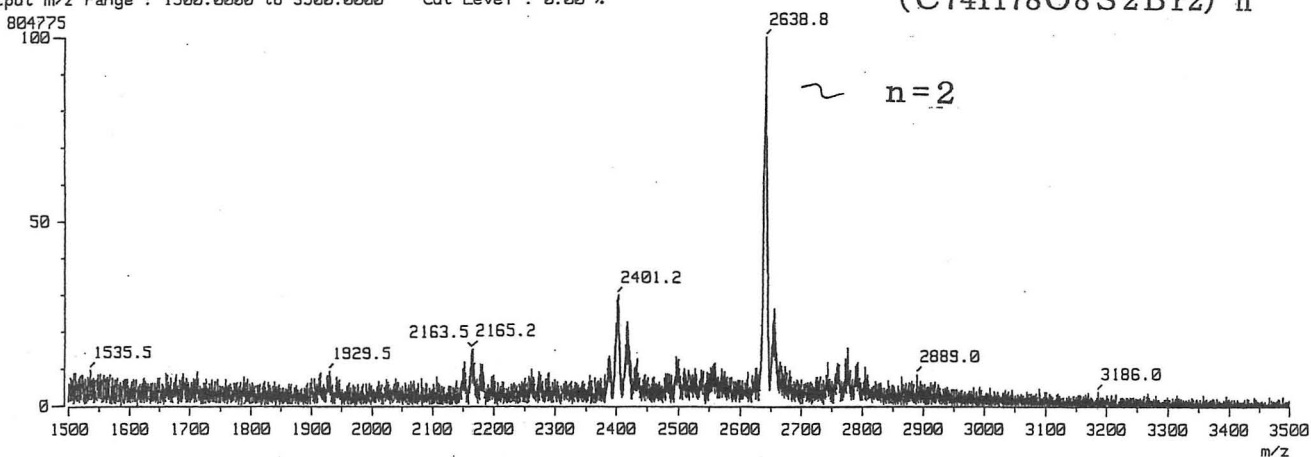
- ・ F A B - M S のプロファイル型で測定できた化合物のマススペクトル。
- ・ F D - M S では分子量が半分の $n=1$ ならば測定可能。
- ・ E S I - M S にとってこの化合物は極性基が少ない上、直鎖の $(-O C_{10}H_{21}) \times 4$ が不利に働いていると思う。ただし、 $(-S O_2-)\times 4$ があるので頑張れば $(M+Na)^+$ 等が出るかもしれない。
- ・ このマススペクトルの掲載は理学研究科「有機反応論研究室」の許可を得ている。

(理) 有機反応論

[Mass Spectrum]
 Data : FABW4300-RI480 Date : 17-Sep-2001 17:24
 Sample: AS-220-B1
 Note : Matrix:m-NBA JEOL JMS-SX102A
 Inlet : Direct Ion Mode : (FAB+)
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 2.88 min Scan# : (12,13)
 BP : m/z 2638.7844 Int. : 38.37
 Output m/z range : 1500.0000 to 3500.0000 Cut Level : 0.00 %



(C₇₄H₇₈O₈S₂Br₂) n



F A B - M S ○ ※但し範囲を限ったprofile型
 F D - M S ×
 E S I - M S ×

測定例 ④

測定例 ⑤

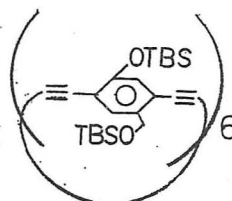
- ESI-MSによる測定例
 - ESIは極性基が多い化合物、イオン性化合物が有利でペプチド、蛋白質の測定は代表的なものである。私が測定した最高は分子量6万台の蛋白質で、30～50個くらいの多価イオンで出たので実際の測定範囲は1000～2500ダルトンで済んだ。（※酸性及び中性ペプチドは分子量が大きくなればなるほど難しくなる）
- 測定例⑤はESIで得意としない低極性化合物であるが、-O-が多いのとNa⁺が存在したのが良かったと思う。ESI+の場合、ナトリウム、カリウムが付加した方がイオンが強く出る。
- このマスペクトルの掲載は理学研究科「有機反応論研究室」の許可を得ている。

(理) 有機反応論

MeOH:CHCl₃=1:1

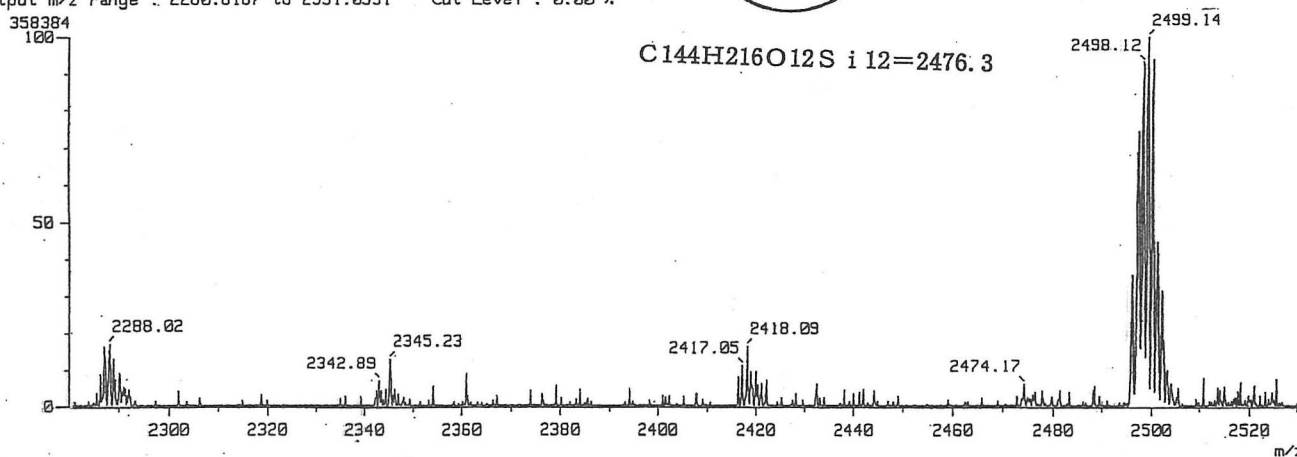
[Mass Spectrum]
 Data : ESI5KKW-ri308
 Sample: KA-Hexmer-Ar
 Note : JEOL JMS-SX102A
 Inlet : Direct
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 2.34 min Scan# : (1,21)
 BP : m/z 2499.1389 Int. : 1.63
 Output m/z range : 2280.8167 to 2531.0591 Cut Level : 0.00 %

Ion Mode (ESI+)



C₁₄₄H₂₁₆O₁₂S₁₂ i 12=2476.3

(M+Na)⁺



測定例 ⑤

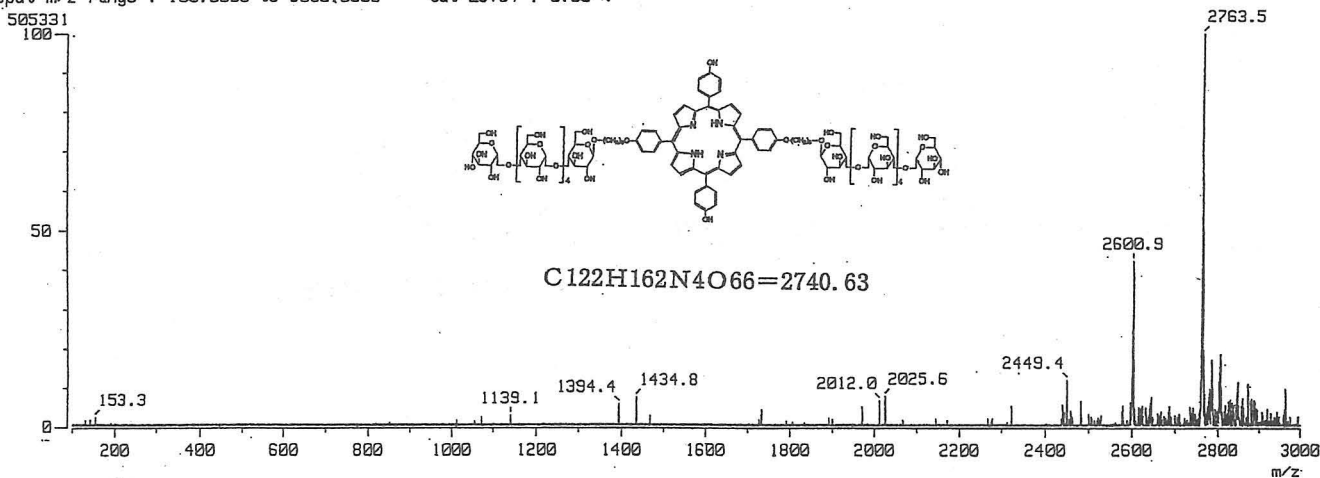
測定例 ⑥

- ESI-MSによる測定例
- 合成高分子配糖体であるが、分子量2～3千までならば(M+Na)+で出る。
- このマスペクトルの掲載は地球環境科学研究科「覚知豊次研究室」の許可を得た。

(地) 覚知豊次研究室

MeOH:H2O=1:1

[Mass Spectrum]
 Data : ESI5K4-CHIKANN204 Date : 09-Mar-1999 15:34
 Sample: HexTPP-OH4
 Note : JEOL JMS-SX102A
 Inlet : Direct Ion Mode : ESI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear].
 RT : 7.35 min Scan# : (1,64)
 BP : m/z 2763.4602 Int. : 0.75
 Output m/z range : 100.0000 to 3000.0000 Cut Level : 0.00 %



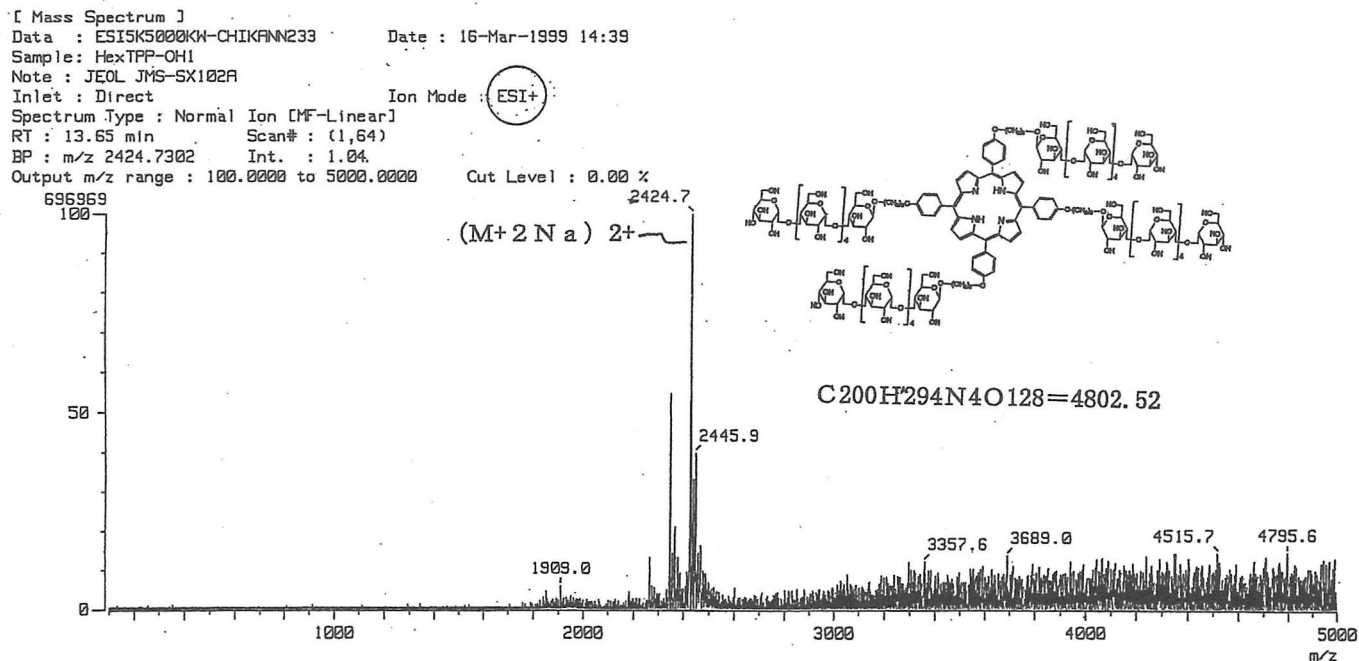
測定例 ⑥

測定例 ⑦

- ESI-MSによる測定例
- 同じく合成高分子配糖体であるが、ここまで分子量が大きくなると多価イオンの方が優位になる様だ。中心のNを含んだ環状の構造は測定例⑥と同じなのでナトリウムは糖の方に付加していることになる。 $(M+2Na)^{2+}$ で出るところはESIらしいが、糖が多くなるとその分ナトリウムの付加する確率が高くなるということであろうか。 Na^+ 、 K^+ はガラス器具から水やメタノール等の溶媒に溶け出したりするなど、あらゆるところで汚染されやすい。又、質量分析では微量でも影響を受けやすい。
- このマスペクトルの掲載も地球環境科学科「覚知豊次研究室」の許可を得た。

(地) 覚知豊次研究室

MeOH:H₂O=1:1



測定例 ⑦

4. おわりに

農学部質量分析計の変遷を書いて思ったことは、分析機器の驚異的な発展である。質量分析計について言えば30年前と比較するにはおよばず、多種多様な機種とイオン化法があり目的に応じた使い分けができる。それだけ科学界のニーズが広がり、メーカーが応えてきたことになる。その中で依頼分析を引受けてきた私達の役割は正確な測定を数こなすだけでなく自分の測定してきた蓄積データを情報として外に出すことも必要と考える。

今回の測定例は7件だが、データを蓄積して次の機会に発表したいと考えている。

5. 謝辞

マススペクトルの掲載を快く承諾くださいました理学研究科の「有機化学第一研究室」、「有機反応論研究室」、触媒化学研究センターの「分子集合体化学研究室」、地球環境科学科の「覚知豊次研究室」にお礼申し上げます。

最後になりましたが、今回の「化学技術有功賞」を受賞するにあたってはいろいろな方のご尽力をいただきました。推薦していただきましたGC-MS及びNMR委員会委員長、測定室のスタッフの方々ありがとうございました。選考していただいた日本化学会の北海道支部長、選考委員の方々ありがとうございました。