

## TOF/MS について

### はじめに

TOF/MS とは、質量分析法の一種で Time of Flight Mass Spectrometry (飛行時間型質量分析法) の略称です。1946 年に W.E. Stephens により紹介され、田中耕一氏のノーベル賞受賞で一躍有名になったマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) 法と組み合わせ高質量の生体高分子の分子量決定などに広く利用されてきました。最近では高速液体クロマトグラフ (LC) と組み合わせることにより、食品・環境・高分子分析、薬物動態研究などにおいて未知化合物の構造推定、網羅的解析など多岐の用途に活用されるようになってきています。TOF/MS は幅広い質量範囲の精密質量を網羅でき、測定条件の設定が容易なため農薬・動物用医薬品やカビ毒などのスクリーニング分析にも使用されています。

今回は、TOF/MS の原理・特徴とともに、弊財団での LC-QTOF/MS (詳細は後述) の活用例についてご紹介します。

### TOF/MS の原理

イオン源において一定の電圧で加速されたイオンは、 $(m/z)^{1/2}$  に比例した時間の経過後に検出器に到達します (図-1 参照)。したがって、イオンが検出器に到達するまでの時間 (飛行時間) を精密に測定することにより、イオンの  $m/z$  を精密に測定することができます。(注:  $m/z$  は従来、質量電荷比と呼ばれていたもので、イオンの質量を統一原子量単位で割り、さらにイオンの電荷数で割って得られる無次元量<sup>2)</sup>。)

TOF/MS の原理的には図-1 に示すような、イオン源から検出器までイオンを直線的に飛行させる「リニアモード」がシンプルですが、単純に飛行時間を長くして分解能を高めようとすると装置が巨大になるため、直線的に飛行させた後にイオンミラーを用いて反転させる「リフレクターモード」のような改良型が一般的です。その他、同一軌道を複数回飛行するようにすることにより、小型で分解能を数万以上にまで向上させたタイプも開発されています。TOF/MS は原理上、測定できる質量範囲に制限がないため高分子の分析に適した質量分析法ともいえます。

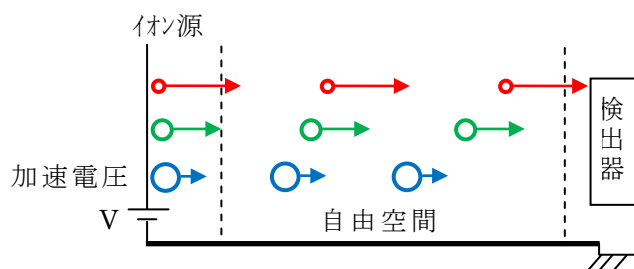


図-1 TOF/MS の原理 (簡単のためイオンミラーの無いリニアモードで示しています。)

○印はイオンを示し、その大きさの違いは  $m/z$  の違いを表しています。

## イオン化

原理的には高質量まで測定できるとしても目的物質をイオン化しなければ測定はできません。TOF/MS に使用されるイオン化法には、一番相性のよいといわれる MALDI の他にもエレクトロスプレーイオン化 (ESI)、大気圧化学イオン化 (APCI) などがあります。詳細は JFRL ニュース Vol.4 No.15 ([http://www.jfrl.or.jp/jfrlnews/files/news\\_vol4\\_no15.pdf](http://www.jfrl.or.jp/jfrlnews/files/news_vol4_no15.pdf)) をご参照ください。

## 質量校正 (キャリブレーション)

TOF/MS の特徴として、測定された精密質量数から物質の組成式推定が可能ながあげられますが、そのためには質量数の精度が大変重要となります。質量数の明らかな化合物の溶液を分析し、質量軸の校正を行います。また、イオンに適用するエネルギーのごくわずかな変化でさえも質量軸のずれを引き起こす可能性があり、このような質量のずれを補正する機構も必要です。

質量校正や微妙な質量のずれを補正する手法はメーカーにより様々ですが、必要に応じた校正を行い、精密な質量数を得ることが組成式推定においては不可欠です。

## 精密質量数と組成式の推定

炭素原子の安定同位体には  $^{12}\text{C}$  と  $^{13}\text{C}$  が存在しますが、 $^{12}\text{C}$  の質量数を 12 とする各元素の精密質量数は、 $^1\text{H}=1.0078$ 、 $^{14}\text{N}=14.0030$ 、 $^{16}\text{O}=15.99490$  になります。精密質量数が得られると、このわずかな質量数の差を基に化合物の組成式を推定できるようになります。例えば、ともに質量数 44 の二酸化炭素 ( $\text{CO}_2$ ) とプロパン ( $\text{C}_3\text{H}_8$ ) はこのままでは識別できませんが、精密質量数を見るとそれぞれ 43.9898 と 44.0624 となり識別可能です。

元素には同位体が存在しますが、天然存在比が最大の同位体  $^{12}\text{C}$  (98.93%)、 $^1\text{H}$  (99.9885%)、 $^{16}\text{O}$  (99.757%)、 $^{14}\text{N}$  (99.632%) だけからなるイオン (主イオン) から求めた質量を monoisotopic mass といい、組成式の推定に用います。一方、 $^{13}\text{C}$ 、 $^2\text{H}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{15}\text{N}$  など主イオン以外の同位体を含むイオンを同位体イオンといいます。その中には塩素 ( $^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl}=100 : 31.98$ ) や硫黄 ( $^{32}\text{S} : ^{33}\text{S} : ^{34}\text{S}=100 : 0.79 : 4.43$ ) のように独特の同位体パターンを持つ元素が存在します。推定した組成式にこれらの元素が含まれる場合、そのマススペクトルには含まれる元素の同位体パターンが反映されることとなります。したがって、同位体パターンが一致するかを調べることにより特定の元素の存在を確認することができます。これらの情報は、組成式推定の大きな手助けとなります。

## 分解能

質量分析における分解能は、隣接する二つのイオンの  $m/z$  を互いに分離させる能力のことです。分解能の高い装置ほど、微小な質量差のイオンを分離することができます。質量 9999 と質量 10000 のイオンを分離できるとき分解能は 10000 であるといえます。

ここで、 $m/z$  が 500 付近での分解能 25000 と 100000 の分離例を図-2, 3 に示しました。分解能 100000 では  $m/z$  500.00 と 500.01 のイオンが完全に分離できているのに対し、分解能 25000 では完全な分離には至らず、分解能による分離の違いが見て取れます。

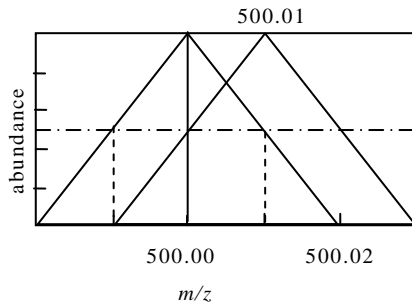


図-2 分解能 25000 の例

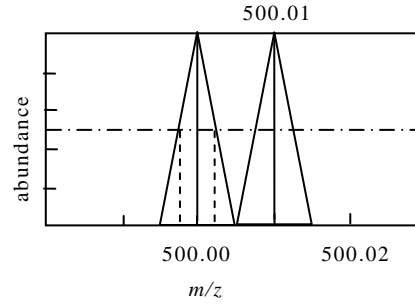


図-3 分解能 100000 の例

### LC-QTOF/MS

LC-QTOF/MS とは、四重極型質量分析計(QMS)と TOF/MS が直列に連結されているタンデム型質量分析計に試料導入部として LC を結合した装置のことをいいます。

QTOF/MS の構造図を図-4 に示しました。イオン源で生成したすべてのイオンから、目的のイオンのみを QMS で選別します。選別後のイオンは衝突室に導かれ、必要に応じて分子衝突法 (CID) によりプロダクトイオンを生成させ、TOF/MS により検出します。すなわち、1 段階目の QMS は狙ったイオンだけを選択通過させるフィルターであり、2 段階目の TOF/MS は目的イオンを高感度で検出するとともにその質量を精密に測定する優れた検出器です。これらの情報から物質の組成式を推定するとともに、CID によるプロダクトイオンから構造情報も得られ、構造推定の有力なツールとして威力を発揮します。

LC-QTOF/MS では、試料導入部に LC を用いていることから、LC による測定対象物と夾雑物との分離ができるため、事前の分離精製が不要となるメリットがあります。また、イオン化には LC との相性が良い ESI または APCI といった大気圧下でのイオン化法が一般的です。一方、試料導入に LC を用いていることにより、移動相の組成に依存した付加イオンの生成、イオン化法に伴う脱離イオンの生成等が観測されるため、それぞれの特徴を考慮したイオンの解析が不可欠でもあります。

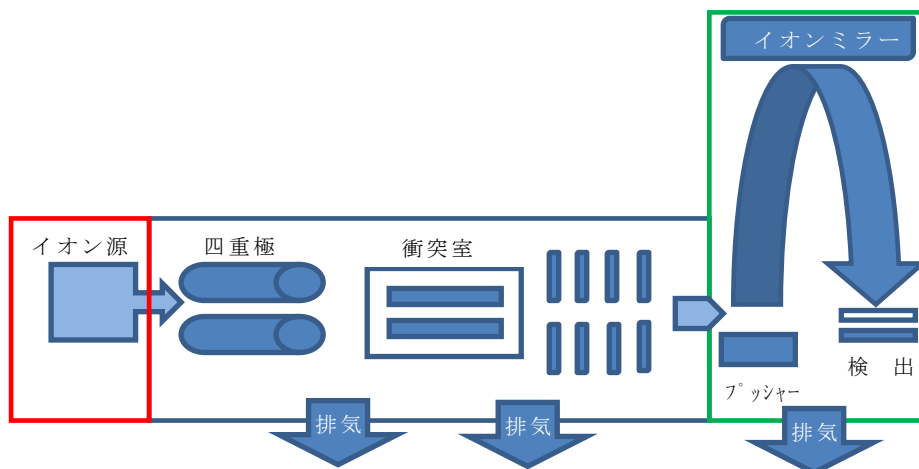


図-4 QTOF/MS の構造図

## 活用例

弊財団では LC-QTOF/MS を導入して、微量色素や油脂の簡易定性、未知ピークの同定、成分の調査及び異物検査等に活用しています。以下に数例をご紹介します。

- 1) 食肉の青色変色原因調査において、食肉の検印スタンプに使用される色素をごく微量ながら検出でき、変色原因を明らかにすることができました。
- 2) 腸内細菌であるセラチア菌由来と考えられる食品の赤色変色についての調査でしたが、食品はすでに加熱処理されていたため原因菌の培養・検出はできず、原因の特定には至りませんでした。一方、赤色変色部からの抽出物の精密質量数からは、セラチア菌産生色素であるプロジギオシンの可能性が示唆されました。そこでセラチア菌を別途培養し、その産生色素を抽出して LC-QTOF/MS 分析に供したところ、保持時間とマススペクトルが変色部と一致し、食品の赤色変色はセラチア菌由来のプロジギオシンが原因であると確認できました。
- 3) 香料中に析出した結晶状物質の調査では、プロダクトイオンを用いた推定から、香料中の配合成分の一部が結合した構造の分子が結晶状に析出した可能性が示唆されました。
- 4) 食品表面に付着した微量の油状物質を APCI ダイレクトプローブ法により測定したところ、トリグリセリド、ジグリセリドの他に植物ステロールである $\beta$ -シトステロール及びカンペステロール由来のイオンが検出されました。この結果から食品表面に付着した油状物質は、植物性油脂であると推定しました。

## おわりに

LC-QTOF/MS による測定においては、目的物質がイオン化できているかを先ず判断する必要があります。また、移動相やイオン化法によって多種多様な付加イオン、脱離イオンが観測されるため、それぞれの特徴を考慮しつつ、得られたイオンを精査して組成式を推定します。次に、一つの組成式からなる数十の候補から物質を絞るために、プロダクトイオンスペクトルの解析や保持時間データベースによる照合を行います。プロダクトイオンから基本骨格を想定し、想定した構造からの開裂の妥当性を確認し物質推定につなげていきます。

弊財団では LC-QTOF/MS 以外にもフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR)、核磁気共鳴装置 (NMR) など可能な限り多くの分析情報を収集・活用し、総合的な判断に基づいて物質推定を試みています。お気軽にお問合せください。

## 参考資料

- 1) 志田保夫, 笠間健嗣, 黒野定, 高山光男, 高橋利枝: これならわかるマススペクトロメトリー, 化学同人 (2001)
- 2) 日本質量分析学会編「マススペクトロメトリー関係用語集第3版 (WWW版)」  
[http://www.mssj.jp/publications/books/glossary\\_01.html](http://www.mssj.jp/publications/books/glossary_01.html)