

ESI-TOF-MS 簡易マニュアル

ESI-TOF-MS Getting Started Guide for beginners

Applied Biosystems 社製 Mariner

Applied Biosystems, Mariner

Mariner 取扱説明書参照

2003/02/14, Merii Kato

(装置について。)

イオン化部；エレクトロスプレーイオン化(ESI)法

質量分析部；飛行時間(TOF)型

*詳細については、別紙参照。

(測定質量範囲)

$m/z = 40 \sim 4000$

(操作上の注意)

・サンプル溶液の濃度は標準で 1mM である。200mM 以上濃くし過ぎると二量体などが生成し、正常な測定が出来ないおそれがあるとともに、汚れのため次の測定者に迷惑をかけることがある。(特に、次の測定が低温の場合は測定不能になる可能性が高い。)

・溶液が濁っている場合はつまる原因になるので、サンプルが確実に溶けていることを確認し、溶けていない場合はシリンジフィルターを用いるなどして対処する。

・用いる溶媒は水よりも有機溶媒のほうがよく、沸点が低い方がよりよい。水の場合、Positive では酸(酢酸、蟻酸)を、Negative ではアルカリ(トリエチルアミン等)を加えるとピークが観測されることもある。

ESI の感度、価数及び付加イオンは溶媒に大きく依存することがあるので注意！

(ある溶媒でピークが観測不可でも、溶媒を変えると検出できることもある。)

1, 測定の準備

①窒素ガスの元栓を開ける。

②Curtain Gas Plate を取り外し、穴のあるノズルに交換し、Curtain Gas Plate を取り付ける。

③測定条件を設定する。(C ドライブ→Mariner→Setting 内から選択。)

*

Positive, 低温（室温での測定。）の場合は Posi, Low の最新の日付のもの、

Positive, 高温（140℃）の場合は Posi の最新の日付のものをそれぞれ選ぶ。

④Instrument を stand by にする。

高温の場合は温度が上がるまで 10 分ほど待つ。

⑤Instrument を on にする。

-以下は Positive について。-

2, Tuning(分解能の調整) -Neurotensin(m/z = 558.3)を用いる。 -

①キャリブレーション用の溶液をシリンジにとり、シリンジポンプにセットして Gas ボタンを押し、Gas がでていることを装置左側のゲージを見て確認した後に、Run/Stop ボタンで注入を開始する。(スピードは始めは 10ml/min で、ピークが観測されるようになったら 5ml/min にする。)

*Infusion Pump の速度変更方法について。

Set→Infuse Rate→数値入力(大体 5~25ml/min まで。)→enter

②TIC が安定するのを待つ。

③Tool→Autotune を選択し、558.3 のピークの横の(括弧の中)の数値をチェックする。この値が、5000 以上であれば以降の作業はする必要がなく、キャンセルを選択する。

④5000 以上ない場合は Start をクリックして、終了するまで 5 分ほど待つ。

⑤Autotuning 終了後、分解能の値が Autotuning 以前よりよければ、Apply をクリックして終了し、悪い場合には Cancel をクリックし、③以降の操作を繰り返す。

3, Calibration -外部標準として Neurotensin(m/z = 558.3)及び Angiotensine(m/z = 433)を用いる。

*本当は、標準サンプルの m/z の値と測定したいサンプルの m/z の値に近いものが望ましい。

①Calibration に使用するピークの Count が 200counts に満たない場合は、Accumulate Spectra をクリックして 1000counts 以上になるまで積算する。

②ツールバーの写真の絵を押して、snap shot を撮る。(積算をしていた場合は、Snapshot を取り終えた後に、Accumulate Spectra のチェックをはずす。)

③スペクトルの Window を選択した状態で、Process Menu→Mass Calibration→Perform Calibration を選ぶ。(TIC の Window を選択していると、Mass Calibration が表示されない。)

④標準物質の Observed Mass(実測値)を 2 ピーク以上入力する。(マウスの右ドラッグで peak をドラッグすることでも代入可。)

⑤対応する Expected Mass(理論値)を右側の四角のボックスから選び、入力する。

⑥OK をクリック。

⑦測定条件を保存する。

File→Save Instrument Settings As...

*この他に、親もしくは必ずでると考えられる peak でキャリブレーションを行う内部標準法もある。

4, Sample 測定

- ①サンプル溶液をシリンジにとり、シリンジポンプにセットして Gas ボタンを押し、Gas がでていることを装置左側のゲージを見て確認した後に、Run/Stop ボタンで注入を開始する。
- ②Data Storage Page で File Name, Data の保存先を指定する。(データの保存には、E ドライブの Mariner 内にフォルダを作ること。)
- ③Comment に、sammples 名、sample 濃度、溶媒名、流速、ガス流速を記入する。
- ④stop on の Spectrum に 5 を代入する。(積算が五回を意味する。time にして一定時間と継続することも可能。)フロッピーに火のマークのボタンを押し、データの取り込みを始める。
- ⑤測定終了後、Infusion Pump を止める。

☆ Count が低い時は。。

- 1, Spray Chamber の左側の黒いつまみを回し、スプレチップノズルを動かす。
- 2, Gas 流量を変化させる。
- 3, Spray Tip Potential を 30~200 の範囲内で調整する。(通常は 120)
- 4, Seconds per spectrum(1 回のスペクトルを表示するまでの積算の数)の値は、標準で 5 なので、この値を大きくする。
- 5, それでも駄目な場合は、飛ばないと思われる。

5, 測定終了

- ①サンプルの溶解する溶媒をサンプルと同じ要領で流し、シリンジ及び流路を洗浄する。(この際、自分のサンプルが残らないようになりにしっかり洗浄を行うこと。)
- ②Menu Bar の Instrument から Off を選択する。
- ③Spray Chamber を取り外す。
- ④高温の場合は Curtain Gas Plate がかなり熱くなっているので、注意しながら外し、MeOH などの溶媒で汚れを拭き取る。そして、細い針金で Nozzle の煙突掃除を行う。
- ⑤穴のない Nozzle に変換して、Spray Chamber を取り付ける。
- ⑥モニターの電源を Off する。

*Negative の測定を行う場合は、読み出すファイルを Negative のものを用い、キャリブレーション及びチューニングには Negative 用のサンプルを用いる。

(Positive から Negative にする時は、一度 Instrument を stand by にしてから mode を変えること。)

6, 測定終了

①Data Explorer を起動する。

②File→Open→必要な File 名を選択する。

③-スペクトルの平均, 積算-

Chromatogram Window 上で, マウスの右ドラッグで TIC をドラッグすることにより, 目的の範囲を平均及び積算することができる。

④-ピークラベルの設定-

Peaks Menu→Peak Label→Charge States をチェックする。(これで, peak の価数(z)が分かる。)

⑤-simulation-

Application→Isotope Calculator を選択し, Formula から Elemental Formula を選び, 目的の分子式を代入する。また, Add/Subtract Group の Group Count/Charge で価数を決定し, Calculte を選択する。

*

+もしくは-で画面の増減が出来るので, 利用する。

7, トラブルシューティング

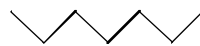
・つまる。

-詰まった場合はねじを順次外して、一部分ずつ溶媒で洗う。うちの Sample はつまりやすいので、この作業はかなり頻繁に行う。この時、かなり圧をかけるので溶媒が飛び出してくることがあり、保護めがねを着用して作業に取り掛かることが望ましい。

1, キャピラリーがつまっている場合は、専用のカッターを用いて両端を切る。それでも駄目な場合は、全部新しいものと交換する。

2, ノズルがつまっている場合は、シリンジの部品を外して直接スプレーの後にねじこみ、溶媒をシリンジで流し込む。これで勢いよく溶媒が出ない場合は、ノズルをはずして溶媒（水が効果的な場合が多い。）に漬け超音波にかける。

・TIC がガタガタしている。



1, つまっている。→掃除

2, ノズルの先端が 1~2mm くらい突き出ているかを確認。全く出ていないとこうなる。

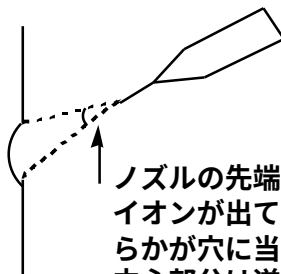
3, シリンジが古くなっている。→新しく購入する。

・感度が低い。

1, Detector Voltage を上げる。

Detector Voltage の値は納入時(2001 年 10 月)1800 に設定されている。年々、検出器が劣化していくので徐々に数値を上げる必要がある。但し、2500 が最高なのでそれでも感度が上がらない場合は修理を依頼する。

2, ノズルの先を動かす。



ノズルの先端からは約30°の角度を持つ円錐状にイオンが出ている。従ってこの円錐の両端のどちらかが穴に当たるようにノズルをセットする。中心部分は逆にイオンが少ないので、ここに当たらないように注意する。

-Spray Chamber-

3, $m/z = 13$ もしくは 14 にピークが見られるかを確認する。

Instrument→System Settings→Analyzer Mass にいき, First Mass の値を 10 にする。これで, ピークが見られると, 検出器の回路は正常。見られない場合は, 修理を依頼する。

・391 にピークが出る。

溶媒特有のものである。詳しくは, 別紙参照。

・tube がぶよぶよになっている。

部分によって種類が違うので, それぞれ選択して専用の tube カッター(黒いもの)で切って用いる。

-clear テフロン(V208045);キャピラリー用, 1/16, 0.17, GL サイエンスの No 6010-35601

- clear テフロン;シリンジ用, 1/16, 0.75, GL サイエンスの No 6010-35607

これは, キットに入っていないので自分たちで注文する。

-green テフロン;シリンジ用、但し, これは少し固いので上記の clear テフロンを用いたほうがよい。

・スキマーがとれにくい。

シリコン付きのプライヤーが機の引き出しに入っているので, それを用いてとるととれやすい。

・スキマーの汚れがひどい。

机の下キットに含まれているヤスリでこする。但し, この場合は削り取ることになるのでよっぽどひどい場合に限る。また, こすったあとは粉が残るのでよく洗浄すること。

・金切り音がする。

内部ポンプの異常である。納入時(2001 年 10 月)から 1 年から 3 年でだいたい起こる。修理を依頼するしかない。

(マニュアルにはない！解析方法)

•peak 間隔から、組成分析を行う方法。

- 1, peaks→peak label→peak mass label type を mass difference from...にする。
- 2, 親イオンが知りたい peak を右ドラッグする。→apply
- 3, elemental composition にすると、親イオンからの差が分かる。

•組成分析法（あまりに多量に出てくる場合に二重結合の数に制限をかける。）

- 1, elemental limit に親イオンの構造をいれる。
 - 2, more parameter の double bound equivalent(dbe)に制限をかける。
- c の数— $1/2 + n/2 + 1 = \text{dbe}$ の数になる。

もし dbe が分からなければ、もとの化合物の組成分析を行うと、右端に dbe が表示される。

注意点としては、環をまいた化合物の場合があるので、dbe の数は計算から得られる dbe の数 + 1 or 2 にしておく方が望ましい。