

## 0. 使用前に

その日の最初の方は、サンプル注入部位がついている黒いボックス(ESIの装置)を取り外して、内部のコーン(銀色)部分をメタノールで拭いてください。

## 1. サンプルの調整

>原則的に 1mg/l (1ppm)以下にする。最大でも 10mg/l (10ppm)。

>溶かす溶媒は基本的には MeOH。溶けない場合は、DMSO 以外の溶媒を加えることも可。重要なことは、サンプルを溶ける溶媒でしっかりと溶かしてインジェクションすること。つまる原因になります。

>測定後の洗浄は、溶ける溶媒で洗浄した後に MeOH で置換する。

## 2. 準備

>窒素発生装置 ON→圧力が上がり始めたらコックを open にする。圧力が 600kpa にならなかつたら、中心にある黒いノズルで調整する。

>パソコンのモニターON (name: administrator、pass: JEOL) →Mass Center メインを起動(p.4)。

>「ファイル」→「プロジェクトを開く」→

HRMS: brilliance

錯体: endeavor or sakura or Athena

汎用: discovery

>「装置」→「MS 調整」(p.8); 以下 MS 調整ウインドウにて

>「ファイル」→「MS 調整条件ファイルを開く」→ポジティブ MS の場合: 090903\_DTM\_ESI+、ESI+for small(低分子用);ネガティブ MS の場合:090903\_DTM\_ESI->gas が流れていることを確認(MS 前面の浮き玉)する。

>「排気完了」を「ウォームアップ」にする(p.8)。→電圧表示部の窓が白から黄色に変わる。→再び白に戻ったら、「ウォームアップ」から「待機」にする。(温度が設定値±20℃になるまで待つ。一度温度がかなり上がってから設定温度に近づくので注意。)

電圧条件の変更(別紙参照):強度が出やすい分子量が変化します。変更して使った場合は、MS 調整条件の上書きはしないでください。

検出器電圧: 上げると強度は強くなるが、検出器の劣化が早まる。基本設定は 1900。サンプルが薄い場合や出づらい場合は、2500 まで可。強度が弱い場合は、サンプルの濃度を濃くするよりも検出器電圧を上げることを優先させてください。

## 3. 測定

>「待機」を「操作」にする。

>レンジの設定(p.10)：スペクトルモニターのウインドウ内で右クリック→「設定」→収集範囲の開始と終了の値を設定→「終了」

>チューブの先にシリンジをセットして、(出来るだけ一定強度で)インジェクション開始。

>Positive Mass の場合、**+23(+ナトリウム)もしくは+1(+水素)**でスペクトルが観測される。

>レンジの設定はここでもできる。また、スペクトル上で見たい範囲をドラッグすると拡大できる。スペクトル上でダブルクリックすると元のレンジに戻る。(電圧の設定も可。)

>「測定」→「単発測定」→「次へ」→ (p.17)

測定データ名:20120830 などご自由に。サンプルごとに変える。測定データフォルダ:kanai motomu など名前を入力。二回目からは、左の逆三角を押して自分のフォルダを選択。→「次へ」(p.18)→現在の MS 測定条件を使うにチェック；右に測定時間を入力(0.5~2 min 程度)→押せなくなるまで「次へ」→「完了」→「測定開始」

>**ピーク強度は 5000~10000 ぐらい**が望ましい。電圧(特に検出器電圧)を調整することでピーク強度を調整する。

>シリンジの出が良い場合、シリンジポンプの使用を推奨する。流速は、0.02ml/min~0.2ml/min が目安。

>終わったら**溶ける溶媒で洗浄した後に MeOH で置換する**(通常は MeOH で大丈夫)。基本的に自分のピークが消えるまで行うこと。

#### 4. 解析

>測定したサンプル名を右クリック→「開く」→クロマトビューワ上で、スペクトルにした部分<sup>①</sup>を右ドラッグ→スペクトルが出る。拡大したい場合はスペクトル上で水平ドラッグ。

>印刷：普通の Windows と同じ。

#### High MS の測定法 (p.26~p.34)

標準サンプルは基本的に、レセルピン(高分子量、分子：609.28)、TFA ナトリウム(分子量：158.96,294.94,430.91,566.89)、PEG(代表分子量：151.10,239.15,327.20,415.25,503.30)を使用。(分子量がわかっている目的のサンプルと分子量が大きく離れていないものならば可能。)

測定法は大きく分けて二つ。

①サンプルと標準物質を混合する方法

②サンプルと標準物質を別々に打つ方法

①サンプルと標準物質を混合する方法(従来の方法)

i)サンプルと標準物質のピーク強度が同程度の混合希釈溶媒を調整する。

ii)単発測定を行い、スペクトルデータを表示する。

iii)スペクトルを棒グラフにする。(p.27 step.5)

>「スペクトル」→「質量電化比の決定」→「実行」→「閉じる」

iv) キャリブレーション (p.29 ~ p.31)

> 「ツール」 → 「質量校正情報の変更」 → 質量ドリフト補正データの左の「変更」をクリック → 「内部質量ドリフト補正」 → 「次へ」 質量電荷比にチェックを入れ、標準物質の質量を入力（レセルピン、TFA ナトリウム、PEG の場合は質量参照情報から読み取る） → 「次へ」 → キャリブレーションのためのウインドウが開く。

> 一番上のスペクトルの中の標準物質のピークをクリック（ドラッグで拡大できる） → 「校正」 → 「ピークの割り当て」 → 「\*1:xxx.xxx(選んだ分子量)」 → 標準物質のピークが青くなる → 「ファイル」 → 「更新」 → 「ファイル」 → 「閉じて戻る」 → 質量校正情報の変更ウインドウにて「OK」 → スペクトルビューに補正後のスペクトルが追加される。

> TFA ナトリウムや PEG を標準資料として用いた場合、標準とするピークが複数存在するので、1つもしくは複数のピークを割り当てることが可能。目的のサンプルのピークを標準物質のピークで挟むと良いらしい。

> ピークの割り当てを全解除したい場合は「校正」 → 「割り当ての全解除」 ができる。

> HRMS の実測値は計算値の **5ppm 以内** に収めるのが普通。(Organic Letter の投稿規定)  
(例：計測値 → 423.4242 ならば、実測値 → 423.4263 ~ 423.4221 の間)

② サンプルと標準物質を別々に打つ方法

i) サンプルと標準物質の希釈溶媒を **別々に** 用意する。

ii) 単発測定を行う。 **一回の測定で、サンプルと標準物質を別々にインジェクションする。**

iii) クロマトグラムビューワを開く → **標準物質のクロマトグラムを右ドラッグ** → 標準物質のスペクトルが現れる。

iv) スペクトルを棒グラフにする。(p.27 step.5)

> 「スペクトル」 → 「質量電化比の決定」 → 「実行」 → 「閉じる」

v) キャリブレーション (p.29 ~ p.31)

> 「ツール」 → 「質量校正情報の変更」 → 質量ドリフト補正データの左の「変更」をクリック → 「内部質量ドリフト補正」 → 「次へ」 質量電荷比にチェックを入れ、標準物質の質量を入力（レセルピン、TFA ナトリウム、PEG の場合は質量参照情報から読み取る） → 「次へ」 → キャリブレーションのためのウインドウが開く。

> 一番上のスペクトルの中の標準物質のピークをクリック（ドラッグで拡大できる） → 「校正」 → 「ピークの割り当て」 → 「\*1:xxx.xxx(選んだ分子量)」 → 標準物質のピークが青くなる → 「ファイル」 → 「更新」 → 「ファイル」 → **複製保存** → 適当に名前を付けて保存(後で削除するのを忘れないこと) → 「閉じて戻る」 → 質量校正情報の変更ウインドウ右下の「詳細」をクリック → **ファンクションの質量校正情報(測定後指定)内の質量ドリフト補正データの左の「変更」をクリック** → 「変更」 → **保存したファイルを読み込む (質量ドリフト補正データに保存したファイル名が出ていれば OK)** → クロマトグラムビューワからサンプルのピークを右ドラッグ → 「質量電荷比の決定」 → スペクトルビューに補正後のスペクトルが

追加される。

>同じ測定データでの、サンプルピークと標準ピークを用いることに注意する。

>HRMS の実測値は計算値の **5ppm 以内** に収めるのが普通。(Organic Letter の投稿規定)

(例：計測値→423.4242 ならば、実測値→423.4263~423.4221 の間)

## 5. 切り方

>終了時は「操作」を「排気完了」にする。

(一時休憩時は、「操作」を「ウォームアップ」にして、検出器電圧を 0 にする。)

>イオン源-測定条件ウインドウ中の「温度/ガス」タブをクリック→脱溶媒室温度、オリフィス 1 温度がともに 100°C以下に下がったら、ガス欄にあるチェックボックスをクリックしてガスを止める。

(一時休憩時は、イオン源-測定条件ウインドウ中の「温度/ガス」タブをクリック→脱溶媒室温度、オリフィス 1 温度の制御のチェックボックスを解除する→温度が下がる)

>MS 調整ウインドウ、スペクトルビューウインドウ、クロマトビューウインドウを閉じる。

このとき、MS 調整ウインドウの中の電圧や温度が表示されている小さなウインドウは閉じない。また、090903\_DTM\_ESI+ファイルを上書きするか聞かれたら、No。MS Center メインのウインドウを閉じる。電源を切る。

>窒素発生装置の電源を切る。

>窒素発生装置のコックを close 側にする。

## 注意

自分のピークを残さない。

自分のものは片づける。

使用簿に記入する。

## 0. 使用前に

その日の最初の方は、DART の装置を取り外して、内部のコーン（銀色）部分をメタノールで拭いてください。

## 1. サンプルの調整

測定の仕方は二つ。

### ①溶液をかざす方法

特に指定はなし（良心的な濃さで）。NMR サンプルを直接かざしても大丈夫です。

### ②TLC をかざす方法

溶液をかざす方法に比べ検出感度が悪いので、できるだけ濃いスポットの方が好ましい。

TLC の横の長さは 0.4mm ぐらいが好ましい。

どうしても検出できない場合は、目的のスポットの上にグリセリンを乗せると良いことがある。

## 2. 準備

>窒素発生装置 ON→圧力が上がり始めたらコックを open にする。圧力が 600kpa にならなかつたら、中心にある黒いノズルで調整する。

>パソコンのモニターON (name: administrator、pass: JEOL) →Mass Center メインを起動(p.4)。

>「ファイル」→「プロジェクトを開く」→

HRMS: brilliance

錯体: endeavor or sakura or Athena

汎用: discovery

>「装置」→「MS 調整」; 以下 MS 調整ウインドウにて

>「ファイル」→「MS 調整条件ファイルを開く」→ポジティブ MS の場合 : 090903\_DTM\_DART+ ; ネガティブ MS の場合 : 090903\_DTM\_DART-

>「排気完了」を「ウォームアップ」にする。→電圧表示部の窓が白から黄色に変わる。→再び白に戻ったら、「ウォームアップ」から「待機」にする。(オリフィス 1 温度が設定値 ±20°Cになるまで待つ。一度温度がかなり上がってから設定温度に近づくので注意。)

>青い機械(DART)の電源を ON にする→He ガスボンベを open にする(圧力は 550MPa ぐらい)

>Internet Explorer をつける→「Off」から「Standby」に変える（窒素ガスが選択されている）→温度を設定し、上昇するのを待つ。溶媒をかざす場合、温度は通常 300~350°C ぐらい。TLC を用いる場合、温度は 400~450°C ぐらい。測定してみて、ピークが観測できな

い場合は適宜変更させる。

電圧条件の変更(別紙参照):強度が出やすい分子量が変化します。変更して使った場合は、MS 調整条件の上書きはしないでください。

検出器電圧:上げると強度は強くなるが、検出器の劣化が早まる。基本設定は1900。サンプルが薄い場合や出づらい場合は、2500まで可。強度が弱い場合は、サンプルの濃度を濃くするよりも検出器電圧を上げることを優先させてください。

### 3. 測定

>「待機」を「操作」にする(Mass 画面)。「Standby」を「Run」に変える(Internet Explorer 画面)。この時、gas が窒素からヘリウムに変わっていることを確認すること(Internet Explorer 画面)。スペクトル画面が、ノイズから低分子量にピークが出ているスペクトルに変化していることを確認(アセトン:59のピークなどが現れる)。現れない場合は、詰まっている。

(以後は Mass 画面での操作のみ。)

>レンジの設定:スペクトルモニターのウインドウ内で右クリック→「設定」→収集範囲の開始と終了の値を設定→「終了」

>溶液をガラス棒に付けてかざすか、TLC プレートをかざしてピークを観測する。

>Positive Mass の場合+1(+水素)でスペクトルが観測される。

>レンジの設定はここでもできる。また、スペクトル上で見たい範囲をドラッグすると拡大できる。スペクトル上でダブルクリックすると元のレンジに戻る。(電圧の設定も可。)

DART の場合、ESI と違い一瞬でピークが消えることが多々あるので、基本的にはすぐに単発測定を行うことを推奨する。

>「測定」→「単発測定」→「次へ」→(p.17)

測定データ名:20120830 などご自由に。サンプルごとに変える。測定データフォルダ:kanai motomu など名前を入力。二回目からは、左の逆三角を押して自分のフォルダを選択。→

「次へ」(p.18)→現在の MS 測定条件を使うにチェック;右に測定時間を入力(0.5~2 min 程度)→押せなくなるまで「次へ」→「完了」→「測定開始」

>ピーク強度は5000~10000 ぐらいが望ましい。電圧(特に検出器電圧)を調整することでピーク強度を調整する。

>スペクトルビューワを確認しながら測定を行うと、いつサンプルが飛んだかがわかりやすい。

>TLC をかざすときは、TLC の表面に熱源が当たるように台を調整する。

### 4. 解析

>測定したサンプル名を右クリック→「開く」→クロマトビューワ上で、クロマトグラム全体を右ドラッグ→スペクトルが出る→調べたいスペクトルピークを右ドラッグ(拡大したい

場合はスペクトル上で水平ドラッグ)→新たにクロマトグラムが現れる→もっとも強度の強い部分を「Shift」キーを押しながら右ドラッグ→もっとも強度の低い部分を「Ctrl」キーを押しながら右ドラッグ→差スペクトル(ピークからバックグラウンドピークを引いたスペクトル)が現れる。

>印刷:普通のWindowsと同じ。

#### High MSの測定法 (p.26~p.34)

標準サンプルは基本的に、PEG(代表分子量:151.10,239.15,327.20,415.25,503.30)を使用。

(分子量がわかっている目的のサンプルと分子量が大きく離れていないもの、かつDART測定条件でイオン化するものならば可能。)

測定法はサンプルと標準物質を別々に打つ方法のみ。基本的に溶液をかざす方法で行う。

#### サンプルと標準物質を別々に打つ方法

i)サンプルと標準物質の希釈溶媒を別々に用意する。

ii)単発測定を行う。一回の測定で、サンプルと標準物質を別々にかざす。

iii)クロマトグラムビューワを開く→標準物質のクロマトグラムを右ドラッグ→標準物質のスペクトルが現れる。

iv)スペクトルを棒グラフにする。(p.27 step.5)

>「スペクトル」→「質量電化比の決定」→「実行」→「閉じる」

v)キャリブレーション (p.29~p.31)

>「ツール」→「質量校正情報の変更」→質量ドリフト補正データの左の「変更」をクリック→「内部質量ドリフト補正」→「次へ」質量電荷比にチェックを入れ、標準物質の質量を入力(PEGの場合は質量参照情報から読み取る)→「次へ」→キャリブレーションのためのウインドウが開く。

>一番上のスペクトルの中の標準物質のピークをクリック(ドラッグで拡大できる)→「校正」→「ピークの割り当て」→「\*1:xxx.xxx(選んだ分子量)」→標準物質のピークが青くなる→「ファイル」→「更新」→「ファイル」→「複製保存」→「適当に名前を付けて保存(後で削除するのを忘れないこと)」→「閉じて戻る」→質量校正情報の変更ウインドウ右下の「詳細」をクリック→ファンクションの質量校正情報(測定後指定)内の質量ドリフト補正データの左の「変更」をクリック→「変更」→保存したファイルを読み込む(質量ドリフト補正データに保存したファイル名が出ていればOK)→クロマトグラムビューワから標準物質以外のクロマトグラムを右ドラッグ→スペクトルが出る→調べたいスペクトルピークを右ドラッグ(拡大したい場合はスペクトル上で水平ドラッグ)→新たにクロマトグラムが現れる→もっとも強度の強い部分を「Shift」キーを押しながら右ドラッグ→もっとも強度の低い部分を「Ctrl」キーを押しながら右ドラッグ→差スペクトル(ピークからバックグラウンドピークを引いたスペクトル)が現れる→「質量電荷比の決定」→スペクトルビューに補正後のスペクトルが追加される。

>同じ測定データでの、サンプルピークと標準ピークを用いることに注意する。

>HRMS の実測値は計算値の **5ppm 以内** に収めるのが普通。(Organic Letter の投稿規定)

(例：計測値→423.4242 ならば、実測値→423.4263~423.4221 の間)

## 5. 切り方

>終了時は「操作」を「排気完了」にする(Mass 画面)。「Run」を「Standby」に変え、温度を「Heater Off」に変える(Internet Explorer 画面)。

(一時休憩時は、「操作」を「ウォームアップ」にして、検出器電圧を 0 にする(Mass 画面)。)

>イオン源-測定条件ウインドウ中の「温度/ガス」タブをクリック→オリフィス 1 温度、DART の熱源の温度がともに 100℃以下に下がるのを待つ→「Standby」を「Off」に変える。

(一時休憩時は、イオン源-測定条件ウインドウ中の「温度/ガス」タブをクリック→オリフィス 1 温度の制御のチェックボックスを解除する→温度が下がる)

>MS 調整ウインドウ、スペクトルビューウインドウ、クロマトビューウインドウを閉じる。

このとき、MS 調整ウインドウの中の電圧や温度が表示されている小さなウインドウは閉じない。また、090903\_DTM\_DART+ファイルを上書きするか聞かれたら、No。MS Center メインのウインドウを閉じる。電源を切る(Mass 画面)。

>Internet Explorer を閉じる。

>窒素発生装置の電源を切る。DART の電源を切る。

>窒素発生装置のコックを close 側にする。ヘリウムガスを切る。

## 注意

自分のピークを残さない。

自分のものは片づける。

使用簿に記入する。