

LC/MSの最新技術

滝埜 昌彦

アジレント・テクノロジー

【はじめに】

LC/MSは、エレクトロスプレーイオン化 (Electrospray Ionization; ESI)法に代表される大気圧イオン化 (Atmospheric Pressure Ionization; API)法が開発されて以来急速に拡がり、現在では医学、薬学、法医学、食品、環境など様々な分野で用いられている。特に、ESI法はイオン化効率が高く、様々な化合物をイオン化できるイオン化法であることから最も広く使用されている。このESIもFennらが1989年に発表して以来多くの改良が加えられ現在に至っている。また、質量分析計に関しても様々な改良が加えられ現在では四重極型が最も汎用的な装置として使用されている。更に最近では飛行時間型質量分析計 (Time Of Flight Mass Spectrometer; TOFMS)が高分解能質量分析計として急速に普及してきている。

そこで、今回弊社のイオン源の最新技術及び四重極型及び飛行時間型分析計の最新技術について紹介する。

【イオン源】

現在のLC/MSのイオン化法として最も広く使用されているのはESI法であるが一例を図.1に示す。このイオン源は1995年に当時HPが開発したイオンの導入口に対してネブライザーを直交に配置した直交スプレー型ESIであり、従来のESIと比較してネブライザー先端の位置合わせが不要で高移動相流量(<1mL/min)でも使用できることから最近のESIの主流である。しかしESIを含めてAPI法の課題は大気圧中で生成した気相中のイオンをいかにして効率よく真空のMS部に導入するかである。本来、ESI法はイオン化効率が非常に高いことからイオン透過効率が向上すれば更なる高感度化が期待できる。

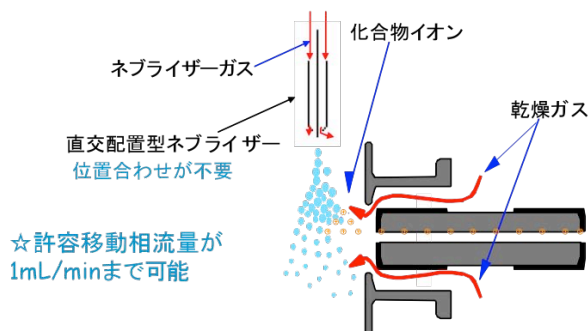


図.1 直交型ESIイオン源

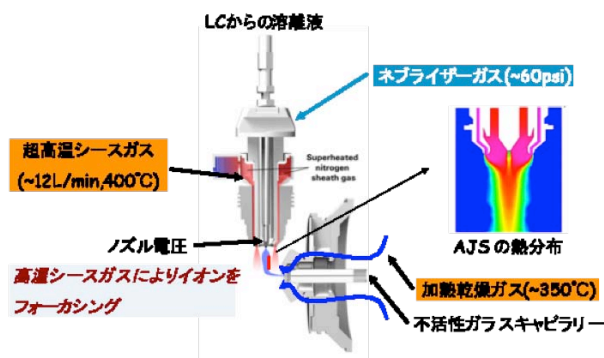


図.2 Agilent Jet Stream(AJS)イオン源

Agilent Technologiesは2008年にESIのイオン透過効率の向上を目的とした新たなイオン源であるAgilent Jet Stream(AJS)を開発した。その構造は図.2に示したが、従来のESIと比較してネブライザーの部分のみの改良であり、その他イオン源の構造は同一である。このイオン源の特徴はネブライザーに従来のネブライザーガスに加えて高温のシースガスを大量に導入することでネブライザーから噴出するスプレー液滴を柱状にフォーカスすることで液滴から生成したイオンをある部分に集中させることが可能である。その結果、イオン源でのイオン透過効率が向上しイオン強度が増加する。図.3にマラカイトグリーンと呼ばれる食品で禁止されている抗菌剤のSRMクロマトグラムを示

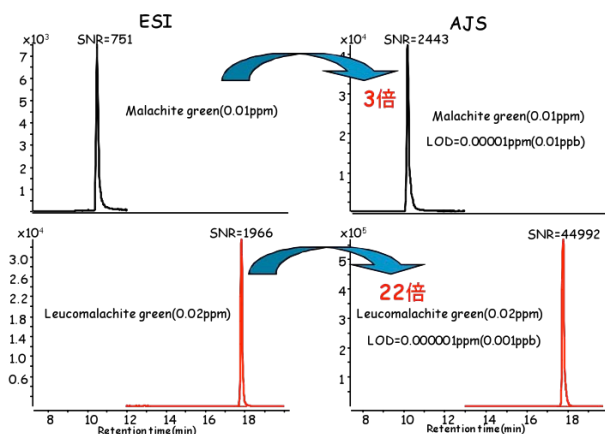


図.3 マラカイトグリーン及びロイコマラカイトグリーンのSRMクロマトグラム

したが、ESIと比較してAJSではS/N比がマラカイトグリーンで約3倍、代謝物のロイコマラカイトグリーンでは約20倍の向上がみられた。

このイオン源での改良では柱状スプレーの形成によりイオン透過効率が向上するが、更に、イオン透過効率を上げるにはイオン取り込み口を大きくすることで可能である。しかし、イオン取り込み口を大きくすることで大量に真空系に導入されたガスを取り扱う工夫が必要である。これらの問題を解決したのが2001にKimらが発表したマルチチャンネルキャピラリー及びイオンファネルを用いた手法である。この技術ではマルチチャンネルキャピラリーにより大量のイオンをガスと共に取り込み、その後イオンファネルでイオンのみをフォーカスすることが可能である。Agilent Technologiesは2010にこのマルチキャピラリー/イオンファネル方式とAJSを採用した新型LC/MS、Agilent 6490 triple quadrupole LC/MSを発表した。図.4にヘキサボアマルチチャンネルキャピラリー/イオンファネル形式のイオン光学系を示した。このイオン源を使用することで10倍以上の感度向上が可能である。図.5に従来の装置とAgilent 6490で測定したレセルピン及びクロラムフェニコールのSRMクロマトグラムを示したが、Agilent 6490での感度が10倍程度高かった。

以上、簡単に最近のイオン源の技術を述べたがその他直接試料を測定することが可能なDARTやDESIなど脱離型イオン化法も開発されている。

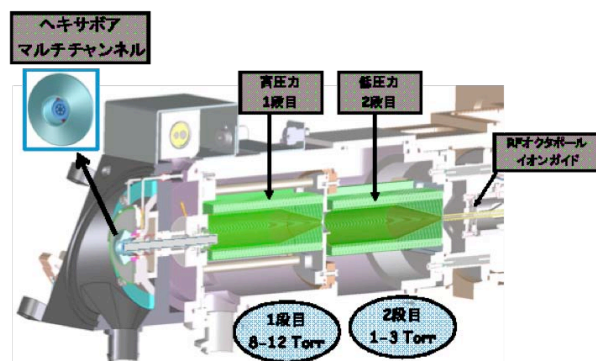


図.4 Agilent 6490 triple quadrupole LC/MSのイオン源

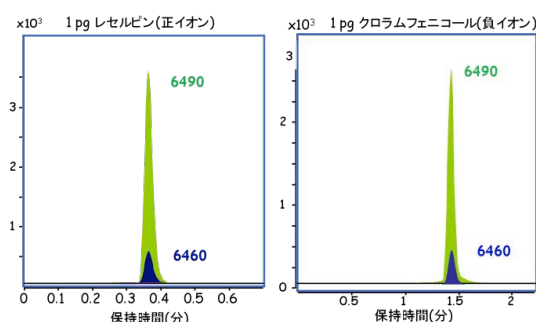


図.5 Agilent 6490 triple quadrupole LC/MSの感度

【四重極型質量分析計】

四重極型質量分析計は最も広く使用されている質量分析計であるが特に三連四重極型質量分析計は高感度、高選択的な分析が可能なることから微量分析では不可欠の装置である。三連四重極型質量分析計での技術革新はコリジョンセルの改良であり、現在ではクロストークがなく、コリジョン効率が高く安定な装置が開発されている。図.6にはAgilent 6490で採用している屈曲型テーパーコリジョンセルを示した。

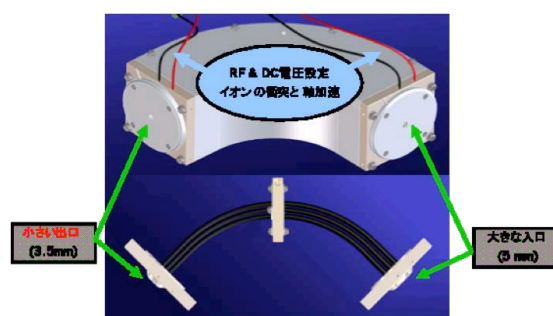


図.6 Agilent 6490 triple quadrupole LC/MSの屈曲型テーパーコリジョンセル

このコリジョンセルは形状を屈曲型にすることでノイズの低減が可能となり、更に入口と出口の径が異なるテーパ状にすることでコリジョンセルでのイオン透過効率を改善している。その他、四重極に印加するRF電圧の周波数を大きくすることで分解能の高い装置も開発されている。



図.7 Agilent 6540 time-of-flight LC/MSシステム

【飛行時間型質量分析計】

TOFMSは近年、急速に発展した質量分析計であり、高分解能、精密質量測定が可能なることから最近では広い分野で使用されている。また、TOFMSに四重極及びコリジョンセルを取り付けたMS/MS測定が可能なハイブリッド型LC/Q-TOFも多くのメーカーから市販されている。図.7にはLC/Q-TOFの一例としてAgilent 6540 time-of-flight LC/MSを示した。この装置ではQ-TOFの性能を向上させたため下記に示す最新技術が利用されている。

・テーパ型イオンガイド及び極細スリット

TOF部のパルサーヘイオンを導入する部分であり、テーパ型ヘキサポールイオンガイドであり、この技術によりイオンのエネルギー収束(クーリング)及びイオンビームのフォーカシングが可能であり分解能、質量精度の向上及び感度の向上が可能。

・1.5mフライトチューブ及び2段式イオンミラー

1.5mフライトチューブ及び2段式イオンミラーの使用により実質3mの飛行距離及び2次の運動エネルギーの補正が可能であり分解能が向上する。

・超高速バイポーラ検出

バイポーラ検出器とはマルチチャンネルプレート(MCP)-シンチレーター-フォトマルチプライアー(PMT)を組み合わせることでイオンを高速に電子を介して光に変換し、生成した光をPMTで検出する検出器である。この検出器の使用で超高速応答が可能となり分解能が向上する。

・4GHzアナログデジタルコンバーター(ADC)及びデュアルゲインアンプ

4GHzのADCを使用することで32Gbit/secの超高速サンプリング速度を実現し分解能が向上する。また低ゲインと高ゲインチャンネルの両方で検出器シグナルを同時に処理するデュアルゲインアンプにより105以上のダイナミックレンジを実現する。

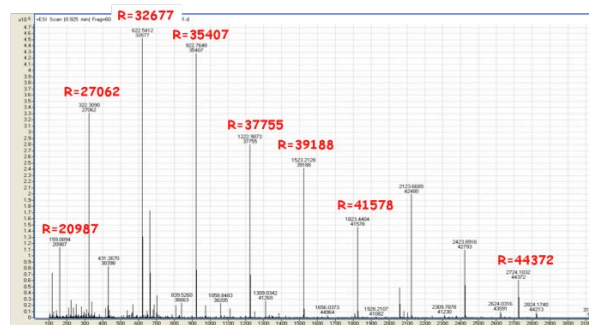


図.8 分子量120~2723の化合物の質量スペクトル

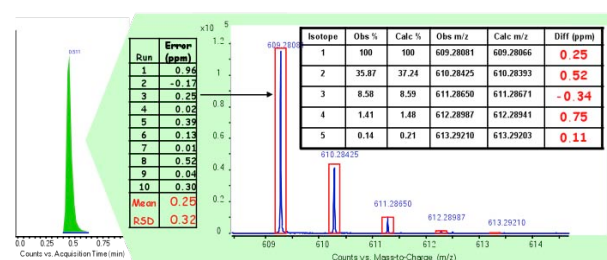


図.9 レセルピン(40pg)のEIC及び質量スペクトル

以上の技術を用いたAgilent 6540LC/Q-TOFで分子量100~3000程度の化合物を測定した質量スペクトルを図.8に示す。この質量スペクトル中で各化合物のプロトン化分子が検出され、分解能は $m/z=158.09$ で20987、 $m/z=2724.10$ で44372と非常に分解能の高い測定が可能である。図.9にはレ

セルピン(40pg)のEIC及び質量スペクトルを示したが、この濃度で $n=10$ でのプロトン化分子のモノアイソトピック質量の相対質量誤差は平均0.25ppm、相対標準偏差が0.32%と非常に精度良く測定が可能であった。また、同位体イオンの相対質量誤差は全て1ppm以内で相対強度も理論値と非常に良く一致した。

以上、今回最近のLC/MSの最新技術について弊社装置を中心に述べたが、更にLC/QQQ-TOFといったハイブリットな装置の研究も進んでおり今後ますますLC/MSの技術が進歩することを期待したい。