

エレクトロスプレーの本質を読み解く

Fundamental Aspects of Electrospray

平岡賢三

山梨大学 クリーンエネルギー研究センター

〒400-8511 甲府市武田 4-3-11

☎055-220-8572

E-mail : hiraoka@yamanashi.ac.jp

1. はじめに

エレクトロスプレーという現象が知られた 1700 年頃から約 300 年経ち、Yale 大学を中心とした伝統的な基盤から Fenn 教授のノーベル賞が誕生しました (2002 年)。それ以来、多くの基礎研究が積み上げられて、エレクトロスプレーの本質が明らかになりつつあります。また、それに伴って、エレクトロスプレーの応用範囲も広がっています。本論では、エレクトロスプレーを応用する上で重要と思われる基礎事項を解説します。

2. エレクトロスプレーは電気化学反応に基づく

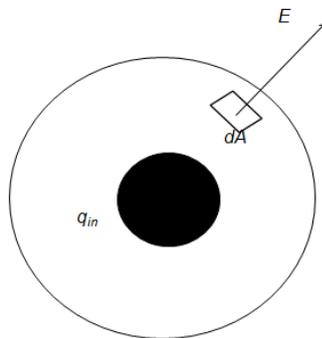


Fig.1. Gaussian surface

エレクトロスプレーは電場によって引き起こされる現象です。電場とは何でしょうか。電荷あるところに必ず電場あり、です。Fig.1 は、大学初学年の時に習ったガウス面です。中心に電荷 q_{in} があると、外側に電場 E が必然的に生じます。帯電した伝導体の表面近傍の電場は、表面電荷密度 σ に比例します。

$$E = \sigma / \epsilon_0 \quad (\epsilon_0 : \text{真空の誘電率})$$

エレクトロスプレーでは、細いキャピラリーを使います。これは、鋭い先端に強い電場 E が誘起されるからです。粗い近似で、電場 E は、先端の曲率半径に反比例します。つまり、先端が細いほど、 E 値が大きくなります。上の関係式から、 E を大きくすることで、表面電荷密度 σ を増大させることができます。 σ が臨界値を超えると、Fig.2 に示すように、先端に形成された円

錐形の Taylor コーン先端からエレクトロスプレーが発生します。これは、同一符号の過剰電荷間の Coulomb 反発によって液体が不安定になるからです。これが、エレクトロスプレー現象です。

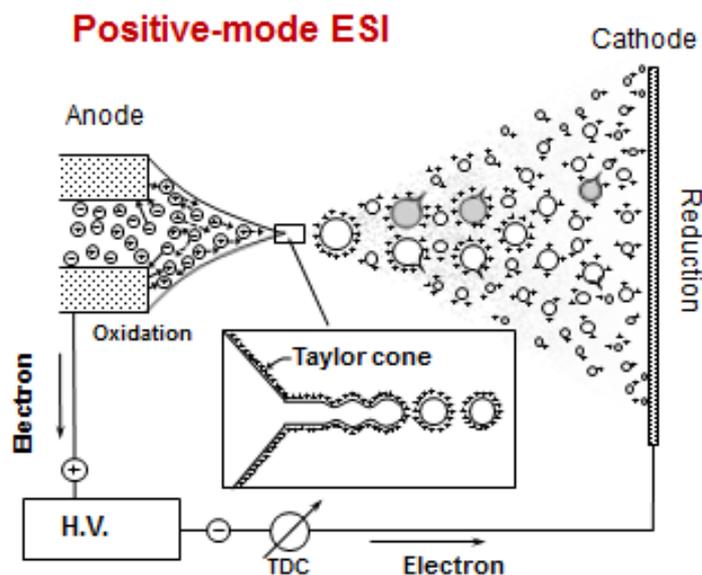


Fig.2. Electrical circuit for ES.

Fig.2 をみると、電気化学の電気分解に似ていることに気づきます。Anode で酸化反応が起こって正イオンが発生し、これらが大気を介して対極に向かって飛び出し、cathode に到達して還元（中性化）されます。これで、電気回路が閉じます。エレクトロスプレーは、いわば、帯電液滴発生銃と捉えることができます。

3. Taylor コーンの形成

Fig.2 から、エレクトロスプレーは、キャピラリー先端に発生した過剰電荷が対極に向かって“漏電”する現象とみなせます。Fig.3 に示すように、電場 E が印加されればキャピラリー先端表面に必ず電荷が現れます ($E = \sigma / \epsilon_0$)。キャピラリーから液体が滲み出してくると、電気化学反応によって金属表面の電荷が液体に移り、液体表面に過剰電荷層が形成されます。この過剰電荷層の下には、クーロン引力により反対符号電荷が集まります。この 2 つの電荷層を電気二重層と呼びます。電気二重層の表面側の単一符号電荷層だけを選択的に剥ぎ取ることができれば、理想的な帯電液滴銃となりますが、現実には、反対電荷も混ざった帯電液滴が発生します。これが suppression 効果につながります。この効果をいかに低減するか、が重要な課題となります。

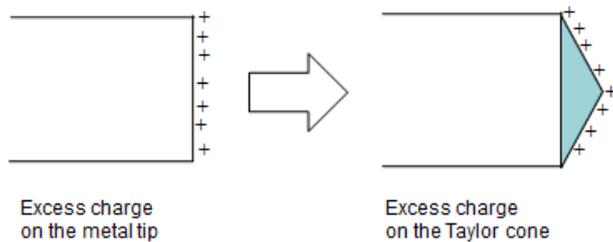


Fig.3. Charge transfer from the metal tip to the liquid droplet

4. 帯電液滴の分裂

Fig.4 にキャピラリー先端からエレクトロスプレーが発生する様子を示します。数 kHz の周波数で形状が(a)→(b)→(c)→(d)→(e)→(a)のような時間変化を示します。これは、電気化学反応で液体先端に溜めこまれた過剰電荷が一挙に吐き出されてあらかた過剰電荷がなくなり、また元に戻る、という現象が繰り返されることによります。この理由で、エレクトロスプレーは“電気的くしゃみ”と形容されます。

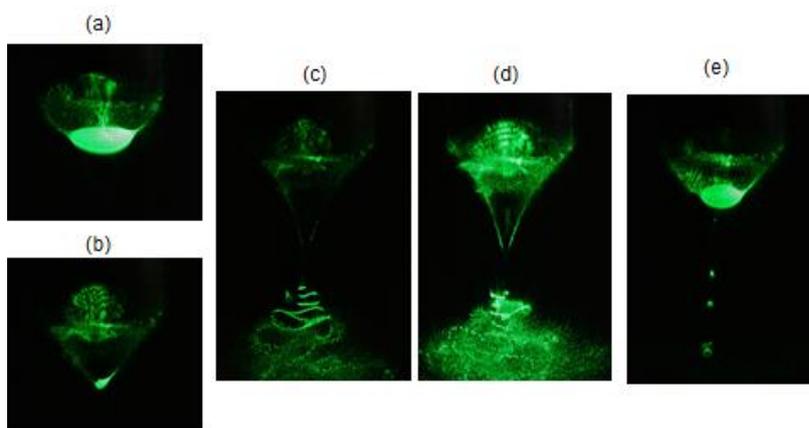


Fig.4. Electric sneezing in ES

Fig.4 のような過程で気相に飛び出した帯電液滴から溶媒が次第に気化し、帯電液滴表面の過剰電荷密度 σ が増加していきます。そして、ついには、Fig.5 に示すような液滴の分裂が起こります。 R は液滴半径 (μm)、 N は過剰電荷数です。帯電液滴の分裂の際、形状がラッキョウのように変形し、尖った先端から 20 個程度の二次液滴が吐き出されます。

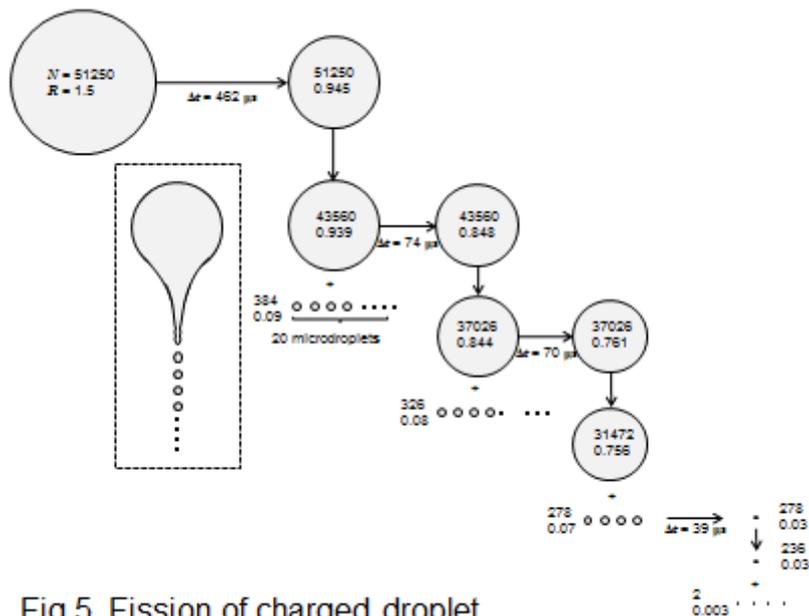


Fig.5. Fission of charged droplet

帯電液滴の分裂が非対称的になるのは、尖った液面の電場がより強くなるからです。これを理解するために、Fig.6 に示した半径の異なる 2 つの金属球体を細い針金でつないだモデルを考えます。両球は同電位で、全過剰電荷 $[Q_1+Q_2]$ をもちます。両球の電場 E と半径 r の関係は以下の式のようになります。

$$r_1 / r_2 = E_2 / E_1$$

つまり、両球ともに同じ電位にありながら、小さい球の方が大きい球よりも大きな電場をもつこととなります。この図は、帯電液滴が非対称的に分裂する液滴のイメージ (Fig.6 上) に重なります。過剰電荷同士の反発で持ちこたえられなくなった帯電液滴が微細な液滴を発生するのは尖った先端部からなのです。

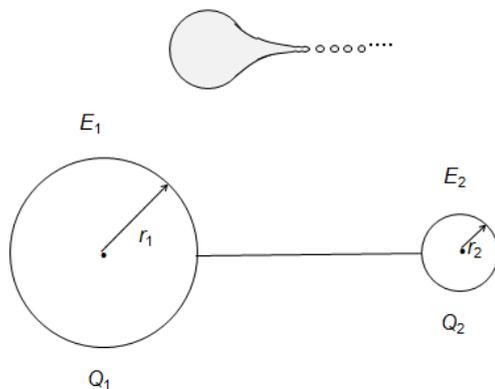


Fig.6. Uneven droplet fission

帯電液滴中の過剰電荷は表面に集まり、内部にはほとんど存在しません。これは、導体の過剰電荷が表面のみに存在するのと同じ原理です。たとえば、金属メッシュで覆われた空間内部は電場ゼロとなります。鉄筋コンクリートの内部では携帯電話に外部から電波が届きにくいのも同じ原理です。さて、分裂直前の Taylor コーン表面、発生した帯電液滴、そして、分裂前後の一次および二次帯電液滴すべては、粗い近似で Rayleigh 式に示される以下の関係にあります。つまり、すべてが Rayleigh 極限（表面張力による内圧とクーロン反発による外圧が拮抗した状態）に近い状態にあるということです。

$$Q = (\gamma \epsilon_0 r^3)^{1/2} \times 8\pi, \quad Q: \text{過剰電荷}, \gamma: \text{表面張力}, r: \text{液滴半径}$$

この式を見ただけでは物理的意味がよく把握できません。そこで、 Q を帯電液滴の表面積で割ってみます。

$$\sigma = Q / 4\pi r^2 = 2(\gamma \epsilon_0)^{1/2} / r^{1/2}$$

過剰電荷は表面にのみ凝集するので上の式は、過剰電荷の表面密度を与えます。式から、帯電液滴の半径（サイズ）が小さいほど、表面電荷密度 σ が大きくなることが分ります。仮に r を極限的に小さくできれば、液滴形成を経ずに、単一イオンの発生さえ可能となります。エレクトロスプレーを上手に使いこなすコツは、まさしく“如何に小さな帯電液滴を形成させるか”、にかかっています。実は、この極限的エレクトロスプレーが超高真空下で行われる電界脱離（field desorption : FD）で実現しているのです。言い換えれば、大気圧下で行われるエレクトロスプレーをできるだけ電界脱離（FD）に近づけることで、エレクトロスプレーイオン化の効率が上がっていき、suppression 効果も低減します。

5. 帯電液滴から気相イオンの生成

帯電液滴は Fig.5 のような分裂を繰り返して、次第にサイズが小さくなり、最終的に液滴中の過剰電荷が気相イオンへと形を変えていきます。気相イオン生成のメカニズムとして、“イオン蒸発（ion evaporation）機構”と“帯電残滓（charged residue）機構”があります。Fig.5 に示した小さなサイズの二次液滴はイオン蒸発機構で、また大きな一次液滴は残滓機構でイオンを生成しやすい傾向にあります。しかし、この二つの機構を明確に分けて考えられるかは、未だによく分かっていません。気相イオンが生成する際の帯電液滴のサイズが小さすぎて、いまのところ適当な測定手段がないからです。

6. エレクトロスプレーと表面張力

液体は表面張力をもち、表面積をなるべく小さくしようとします。ところが、エレクトロスプレーは液体を微細な液滴に分裂させて表面積を桁違いに増大させる現象です。液体が嫌がる表面積増大を強行する原動力とは、過剰電荷同士のクーロン反発力です。同符号の電荷は互いに反発しあって、離れようとします。表面張力という引力とクーロン反発という斥力が拮抗した状態で、キャピラリー先端に 99 度の角度をもつ Taylor コーンが形成されます。そして、さらに電場強度が上がってクーロン反発力が表面張力に打ち勝つと Taylor コーンの先端から微細な帯電液滴

が千切れて逃げ出します。ここで、4節で述べた帯電液滴のサイズ r と表面電荷密度 σ の関係： $\sigma = Q/4\pi r^2 = 2(\gamma\epsilon_0)^{1/2}/r^{1/2}$ から、 σ は二次液滴サイズが小さいほど大きくなるので、イオン生成には好都合です。では、どのようにすれば、サイズの小さな帯電液滴が形成できるのでしょうか？液体の表面張力は生易しくありません。これは、表面張力によって生成する液面の内側に向かう圧力 P_γ が、液滴の曲率 κ (半径の逆数) に比例して増大するからです (サイズが小さいほど内圧が高まる)。

$$P_\gamma = \gamma \times \kappa$$

これは、小さな帯電液滴ほど形成しにくいことを示します。この表面張力に起因する内圧に打ち勝って、より微細な帯電液滴を形成させることが、エレクトロスプレー実験者の腕の見せ所となります。ではどうすればよいのでしょうか？

クーロン反発による外側に向かう力 P_E を増大させて、 P_γ よりも大きくすれば、微細帯電粒子、ついには単独イオンの気化も実現します (FD は正しくこの条件を満たします)。以下の式であらわされるように、 P_E の値は、キャピラリー先端の電場強度 E の二乗に比例します。

$$P_E = 0.5\epsilon_0 E^2$$

したがって、金属先端の電場強度 E をあげることで、液滴サイズは微細化し、ついには、FD のように単独のイオンさえ脱離するようになります。イオンを単独で気相に脱離させるのに必要な電場 E は 10^8 – 10^9 V/m であることが知られています。この値は、FD で用いられる細いワイヤや先端の尖った金属針近傍で容易に発生させることができます。しかし、このような電場を大気中で針やキャピラリーに印加すると気体放電破壊が起こって、エレクトロスプレー発生の条件が失われます (放電プラズマは電気伝導体なので放電発生で針先端の電場が急減します)。そこで、大気圧下で放電破壊を防ぎ、エレクトロスプレーの発生条件を極限に近づける、ことを目指したいくつかの方法が開発されています。たとえば、ソニックスプレーイオン化を好例とする気送支援エレクトロスプレー、探針エレクトロスプレー、超大気圧エレクトロスプレーなどです。気送支援エレクトロスプレーでは、高压ガスがキャピラリー先端から噴き出るので放電が起こりにくく、また、高速ガス流で液滴が微細化されます。探針エレクトロスプレーでは、探針先端の電場 E が非常に強くなるのと、探針先端が液体で濡れるという相乗効果で、FD にもっとも近いエレクトロスプレーを発生させることができます。超大気圧エレクトロスプレーとは、7気圧まで圧力を上げたイオン源内でエレクトロスプレーさせるユニークな方法です。気圧が上がると放電破壊が起こりにくくなる、という Paschen の法則をうまく利用した方法です。

7. エレクトロスプレーの難敵：放電破壊

放電破壊は、宇宙線の作用や固体表面からの光電子放出で発生した一次電子が気体分子と衝突してイオン化し、これで生じた二次電子が雪崩的に増幅されて起こる現象です。放電破壊は、正イオンモードに比べて負イオンモードで起こりやすいという一因は光電子放出に起因します。Fig.7 で、針先端に強い負電場がかかると、ポテンシャル面が対極に向かって下がります。光のエネルギーが金属の仕事関数より小さくても (Fig.7b) 真空準位近傍のポテンシャル障壁の厚さ

が薄いので、電子はトンネル効果で障壁を透過して気相へと脱出することができます。この光電子が放電破壊の一因となります。

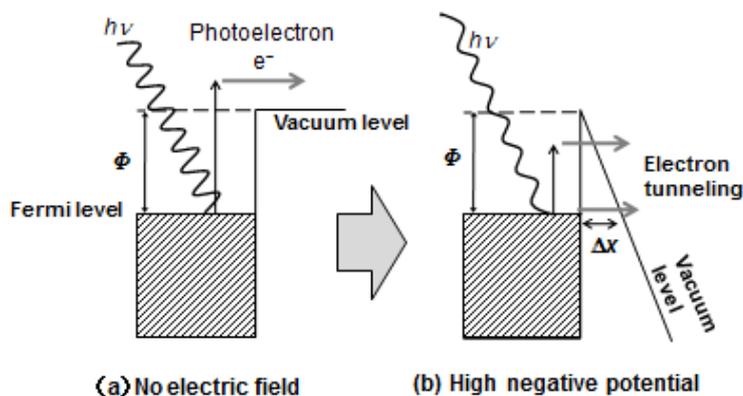


Fig.7. Photoelectron emission

気相で生じた電子は電場によって加速され、ガス分子を次々とイオン化し、放電破壊を起こします。その一方で、電子は周囲の気体分子との衝突でエネルギーを失います。ガス圧が高くなって電子と気体分子の衝突回数（衝突周波数）が増えるにしたがい、電子は電場で得た運動エネルギーを衝突で失いやすくなります。このため、気体圧力が高くなるにつれて、放電は起こりにくくなります（Paschenの法則）。山梨大学のChenらは、圧力を1気圧以上に上げられるエレクトロスプレーイオン源を開発しました。Fig.8では、圧力を7気圧まで上げられます。1気圧下では避けられなかった放電破壊が起こらず、正・負イオンモードで有機溶媒を含まない水溶液試料でも極めて安定に正・負イオンモードでエレクトロスプレーさせることができます。

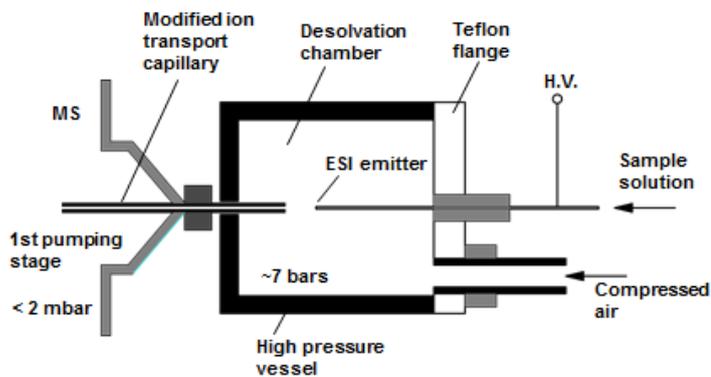


Fig.8. High pressure electrospray

8. 塩による suppression 効果と支持電解質添加効果のバランス

生体関連試料では、緩衝剤や塩がエレクトロスプレーの発生を阻害しやすいです。したがって、これらをあらかじめ除去する方策が開発されています。ところで、電気分解反応では、電解液にわざわざ支持電解質を加えることで、反応速度が増大することが知られています。支持電解質は直接電気分解反応に関与しないのに、反応速度が速くなるのは何故でしょうか？この現象は電気分解反応の一種であるエレクトロスプレーにも当てはまります。たとえば、ある程度の電解質が含まれるとイオンシグナルが強くなることがあります。

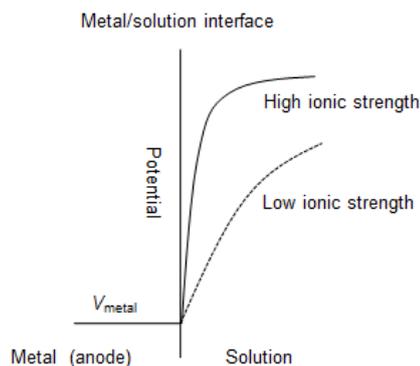


Fig.9. Electric potential near the anode

Fig.9 に示した anode 付近のポテンシャル曲面は、イオン強度 (ionic strength) に強い影響を受けます。anode と cathode 間に印加された電圧による電位勾配は、電極表面で大きく変化しますが、中央付近ではなだらかになります。電極付近の急峻な電位勾配は正と負の電荷の偏りに起因し、Poisson の式で解析できます。

$$\nabla^2 V = -\rho/\epsilon_0, \quad \rho: \text{net charge density}$$

電極付近では、正と負イオンの電荷密度に相違が生じるので、電極表面近傍に急峻なポテンシャル変化が現れます。このポテンシャル勾配は、イオン強度が高くなるほど、急峻になります。すると、この領域に到達したイオンはより強い電場のため、大きな易動度で電極面に到達します。これが、電気化学反応促進につながります。エレクトロスプレーでも同じことが起こります。しかし、電解質濃度が高すぎるとエレクトロスプレーが発生しにくくなるというジレンマがあります。このため、塩梅調節が必要となります。高塩濃度にまで耐えられる探針エレクトロスプレーは、支持電解質効果が最も有効に発現する方法です。探針エレクトロスプレーでは、塩が適量含まれた方が却ってイオンシグナルが強くなる、という現象が見られます。

9. エレクトロスプレーのナノ化：ESI→nanoESI→PESI

Yamashita/Fenn が ESI/MS を開発したのが 1984 年、10 年経って 1994 年に Mann らによって nanoESI が開発されました。この業績で、エレクトロスプレーの守備範囲が大きく広がりました。nanoESI では、キャピラリー内径が 1 μm までナノ化されています。これ以上のナノ化は難しそうです。理由は、詰まり易くなるのと、内径が細くなるにつれて液体がエレクトロスプレーしにくくなるからです。これは、内径が小さいほど液体の表面張力 γ による圧力 P_γ が大きくなるからです ($P_\gamma = \gamma \times \kappa$)。

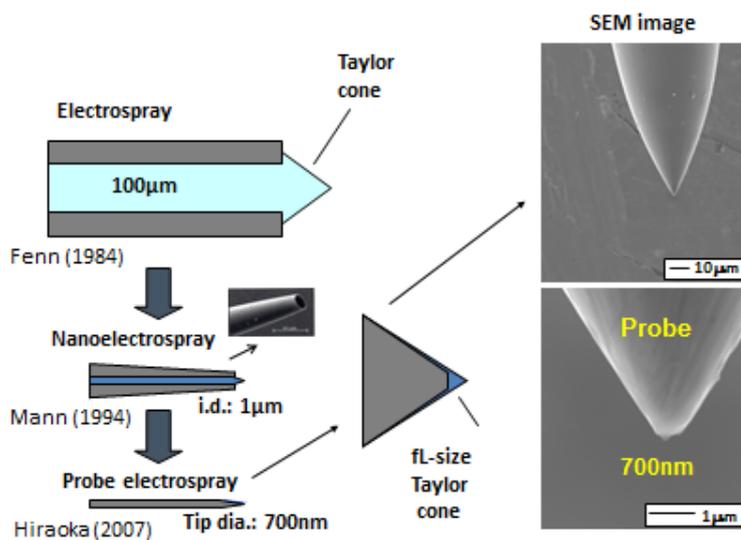


Fig.10. Downsizing of electro spray

筆者らは、nanoESI の限界を超えることを目指して、2007 年に探針エレクトロスプレー (probe electro spray ionization: PESI) を開発しました。キャピラリーではなく、金属針を探針として採用したのは FD からヒントを得たものです。たとえば、通常用いている直径 0.12mm、先端径 700nm の先端に生じる電場強度を単純に計算すると、 $\sim 10^9 \text{ V/m}$ となります。この値は帯電液滴

からイオンが直接気相に脱離できる値に相当します。

Fig.11 に PESI の測定システムを示します。探針を上下運動させ、下端で探針の先端をわずかに試料と接触させて、試料を捕捉します。このとき、探針と試料は接地電位、あるいは浮遊電とします。試料捕捉後、探針を上方に移動させ、上至点位置に達した時点で、数 kV の高電圧を印加して捕捉した試料をエレクトロスプレーさせます。この操作が従来のキャピラリーを用いる方法と異なるのは、試料の捕捉が“不連続的”に行われる点です。この不連続試料採取法が PESI にユニークな特徴を与えます。

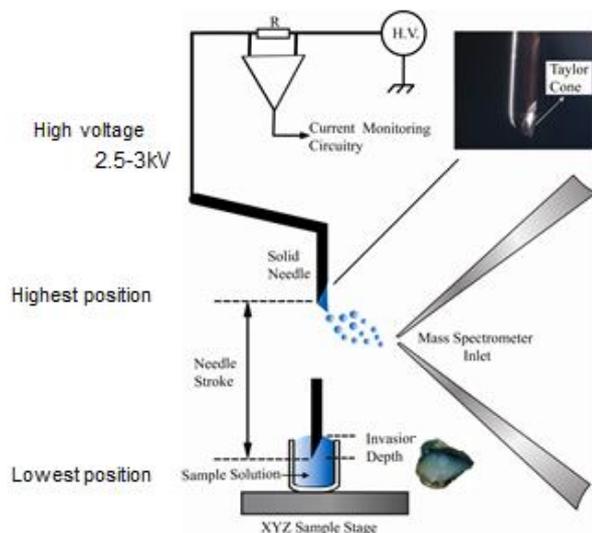


Fig.11. Experimental setup of PESI

例として、界面活性剤 (10^{-3} M Triton X100) とタンパク質 (10^{-5} M cytochrome c) の水・メタノール混合溶液の測定結果を nanoESI によって得られた結果と合わせて Fig.12 に示します。

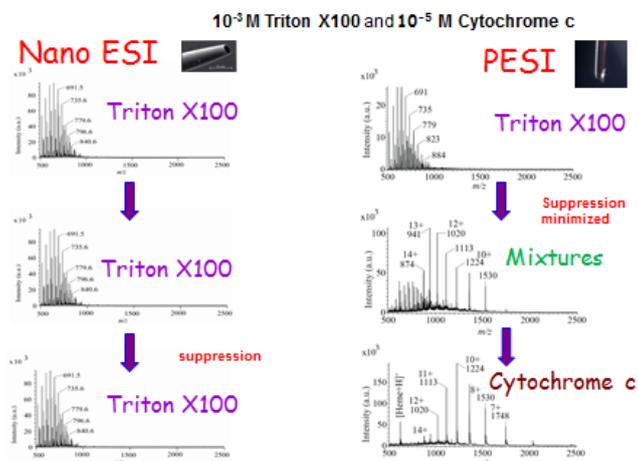


Fig.12. Comparison of nanoESI and PESI

この実験では、直径 0.5mm のチタン線を使いました。この場合、先端に捕捉された約 50nL の試料は 50 秒間でエレクトロスプレーされます。Fig.12 右に示したように、PESI のエレクトロスプレーの初期には、界面活性な Triton X100 のみが現れますが、30 秒経ってから突然 cytochrome c のシグナルが現れ、後半には cytochrome c のみとなります。同じ試料を nanoESI で測ると、Fig.12 左に示すように、初めから終わりまで Triton X100 しか現れません。nanoESI では、タンパク質試料が界面活性剤によって suppression 効果を受けることが分かります。これに対して、PESI では、界面活性度の順にイオンが分かれてエレクトロスプレーされたことが分かります。

次に、塩に対する suppression 効果を検討しました。Fig.13 は、 10^{-5} M insulin と 15×10^{-3} M NaCl の水/メタノール溶液試料の測定結果です。

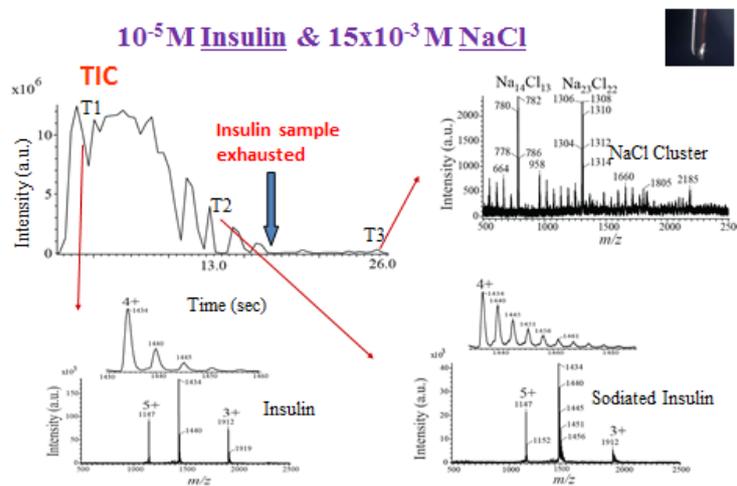


Fig.13. Sequential and exhaustive electro spray in PESI

図の TIC で、大きなイオン電流領域では insulin のみのシグナルが現れ、13 秒のところでは消えます。その後 NaCl 由来のクラスターイオンが観測されはじめます。この結果から、より界面活性な insulin がスプレーされ尽くしてから、NaCl が現れることが分かります。界面活性をもたない NaCl は、insulin がなくなるまで液中に留まっており、insulin が消費され尽くしてから、エレクトロスプレーされることとなります。Fig.13 の場合では、sequential and exhaustive electro spray が起こっていることとなります。

15 mM の NaCl 溶液であるにもかかわらず、初期に発生する帯電液滴が NaCl によって汚染されないという事実は重要な意味を持っています。エレクトロスプレーされる初期では、Taylor コーンの過剰電荷表面層は、インシュリンイオンで占められています。しかし、この正イオン層の下には Cl⁻ がクーロン引力でひきつけられて電気二重層を形成しているはずですが、初期にスプレーされる帯電液滴が NaCl 成分を含まない、ということは電気二重層の正イオン層だけが薄く

剥ぎ取られていることを意味します。この電気二重層の厚さを見積もることができれば、エレクトロスプレーという現象の本質が見えてきます。正イオンと負イオンから成る溶液中（気相でも同じ）では、正-負イオン間のクーロン引力で、お互いの電荷を打ち消すように、互いに相手の周囲に集まります（イオン結晶の構造と類似）。この結果、各々の電荷を打ち消し合います。これによって、各イオンの周囲の電場が遮蔽されます。この遮蔽距離を“Debye 長”といいます。電気二重層の厚さは、この Debye 長 (λ_D)と同じオーダーであることが知られています。Debye 長 (λ_D)は以下の式で近似されます。

$$\lambda_D \text{ (nm)} = 0.305 / C_0^{1/2}, \quad C_0: \text{電解質の濃度(M)}$$

Fig.13 の 15 mM 濃度 NaCl 溶液の Debye 長は、わずか 3 nm と計算されます。これから、Fig.13 の実験条件下では、電気二重層の上層 3nm 程度の正電荷層のみから成る薄い液層が Taylor コーンから吸い上げられて (Fig.2 参照) 正イオン (insulin) のみからなる帯電液滴が形成されることとなります。エレクトロスプレーという現象は、このような極限的電荷分離能力をもって驚きを感じます。

10. PESIの実試料への応用

PESI での試料捕捉は不連続に行われるので、得られるマスペクトルは単一独立事象のエレクトロスプレーから得られることとなります。一例として、乳がん組織の測定結果を示します。この実験では、探針として 0.5mm 直径のチタン線を用いました。

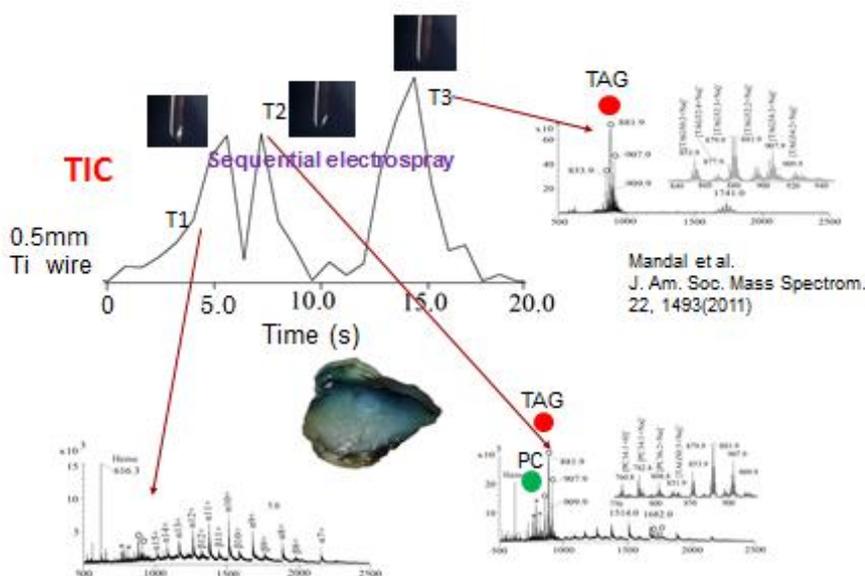


Fig.14. PESI mass spectra for breast cancer

図の TIC から、乳がん組織試料が 3つのグループに分かれてエレクトロスプレーされているこ

とが分かります。最初にヘモグロビン、次に PC(phosphatidylcholine)と TAG(triacylglyceride)、最後に TAG のみが現れています。TAG は中性分子ですが、Na⁺付加体として検出されます。最終段階でのエレクトロスプレーでは、FD と類似した現象、すなわち、大気圧下での FD に類似した“単独イオンの脱離現象”が起こっていると思われます。

1 1. 電界脱離は究極のエレクトロスプレーである

Fig.15(a-e)は、Röllgen らが観測した高真空中での sucrose/NaCl(2/1)が FD される様子を示します。フィラメントの温度を上げていくと、sucrose が軟化して帯電し、大部分が大きな液滴として対極に飛んで失われます。その後、わずかに残った試料が鋭いコーンを形成して、その先端からショ糖分子の Na⁺付加体が脱離するようになります。その FD 脱離の模式図が下部の中央に描かれています。nm オーダーの Taylor コーン先端の電場強度は、イオンを単独に脱離させるのに十分です。

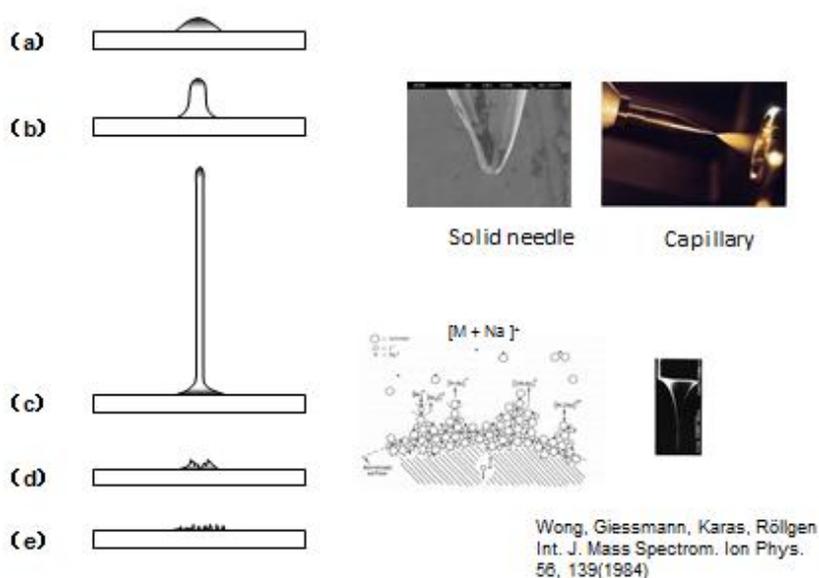


Fig.15. Field desorption in high vacuum for sucrose/NaCl (2/1)

このような単一イオンの脱離が、探針エレクトロスプレーの最終段階 (Fig.14) でも起こっている可能性があります。

1 2. 電界イオン化と電界脱離は異なる

最後に、電界イオン化 (FI) と電界脱離のメカニズムは異なることを述べます。電界イオン化は、高真空下において、鋭利な針電極に気相から近づいた中性分子が、電極先端の強い電場の影響で、電子をトンネル過程で失ってイオン化されるものです。重要なのは、中性分子のイオン化が、針電極とは“非接触状態”で起こることです。

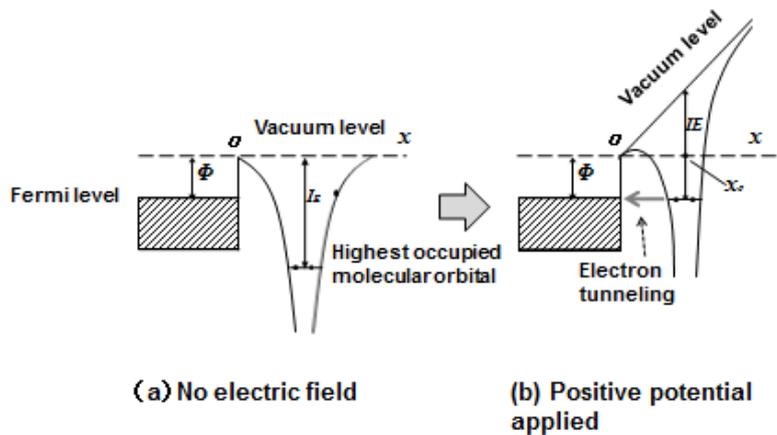


Fig.16. Field ionization

電界イオン化が起こる臨界距離 x_c よりも外側でイオン化が起こります。トンネル現象は、確率事象ですから、中性分子は必ずイオン化されるとは限りません。イオン化されずに x_c の内側に侵入した分子は、無極性分子であっても強い電場によって誘起双極子となって針電極に引きつけられて衝突し電極を汚染することになります。このため、FI では、定期的に針電極を加熱して、“電界吸着” した成分を焼きだす必要があります。

1 3. 最後に

これまで述べたように、エレクトロスプレーという現象は、FD に象徴されるように、極限的なイオン化を可能にします。この性能を PESI でも垣間見ることができました。本論では、エレクトロスプレーの性能を Debye 長から議論しました。nm オーダーの帯電層を剥ぎ取ることができるものの、さらにイオン強度が高くなると、Debye 長が分子レベルとなるので、PEI や FD といえどもエレクトロスプレーできなくなります。これは、反対電荷による遮蔽効果で、同一符号イオン同士のクーロン反発が効きにくくなるからです。また、エレクトロスプレーの欠点は、試料が液体状態でなければならない、という点です。この欠点は、DESI や EASI で改善されています。また、LESA や sheath-flow PEI、あるいは solid probe assisted nanoESI (SPA-nanoESI) でも dry 試料への適用が可能です。エレクトロスプレーの応用範囲は、イメージングを含めて、今後さらに大きくひろがるものと予想されます。本論で述べた内容の詳細は以下の著書に詳しく解説されていますのでご参照ください。

1. 平岡編、質量分析の源流、2011、国際文献社
2. Hiraoka (ed), Fundamentals of Mass Spectrometry, Springer, 2013.
3. Cody/Marek (ed), Ambient Ionization Mass Spectrometry, RSC, to be published.