

総論

高山 光 男

質量分析装置におけるイオン源は、ブラックボックス化が進む分析機器において、ユーザー自身が条件設定を工夫でき、かつ独自のアイデアを凝らすことができる数少ない部分の一つです。本入門講座は、大学、企業等の分析現場において汎用性の高い各種質量分析法におけるイオン化法に焦点を当て、イオン化原理等の基礎知識とともに、イオン化にかかわる条件設定が実際の分析にどのような影響を与えるかについて、具体例をもとに解説していきます。

〔「ぶんせき」編集委員会〕

1 はじめに

質量分析のイオン化法をやさしく理解するにはどうしたらよいか。イオン化法をその部品や手法（イオン化デバイス）から捉えようと、難しくそうに見えていたイオン化法がやさしく見えてくる。質量分析が対象とする試料の性質と測定目的が極めて多様であることから、特殊な研究用まで含めるとイオン化法の種類は数十種類にも及び、その適切な選択には頭を悩ますことが多い。しかし、イオン化法を“気化”と“イオン化反応”の二つの要素で考えると驚くほどわかり易くなる。実際、最近登場してきた次世代型の大気圧イオン化法は、この二つの要素を明確に使って組み上げられている。ここでは、質量分析の各イオン化法の機構には触れずに、一般的な特徴が“気化”と“イオン化反応”にあることを具体例を挙げて示す。また、簡単なイオン化デバイスを用いた大気圧イオン源の製作法を紹介する。

2 イオン化法は「複合科学」

質量分析装置は、一般には〔試料導入装置〕・〔イオン源〕・〔質量分離部〕・〔検出器〕・〔データ処理部〕の順に構成されている（図1）。各部分に相当する専門は、試料導入装置ではクロマトグラフを扱う「分離科学」、質量分離部では「イオン光学」、検出器では「電子工学」、

データ処理部では「情報科学」といった具合である。また、構造解析に利用されるイオンのフラグメンテーションは「有機反応論」や「計算化学」で扱われる。このように質量分析は、装置自体が各種専門分野の複合からできていることから、単なる分析科学の枠組みでは捉え難いところがある。図1のイオン源に相当するイオン化法も、その種類が多いだけでなく原理も多様である。その専門は気体状イオン（gaseous ion）を扱う「複合科学」であり、以下に述べるように、化学現象（イオン化反応）と物理現象（気化）を同時に扱う必要がある。

イオン化法の専門が「複合科学」になる理由は、イオン源に使われているイオン化デバイスの種類とその選択の自由度から理解することができる。表1にはいくつかのイオン化法とそこに使われているデバイスをまとめる。高電界、イオン分子反応、噴霧、マトリックスは、試料分子を比較的穏和に気化させたりイオン化反応を起こさせたりするデバイスである。また、加熱、粒子衝撃、エネルギー照射は、分子を破壊する傾向をもつことが想像できる。これらのデバイスは、結晶状態や溶液中にある試料分子をその化学構造を壊さずに気体中に取り出し（気化）、さらに電荷を付与（イオン化反応）して質量 m と電荷数 z をもった気体状イオンを作り出すために使われる。表1から、試料のイオン化のためにいかに様々なデバイスが組み合わされているかがわかる。重要なことは、イオン化法がレーザーなどの先端技術だけでなく、マトリックス材や噴霧気化のような身近な材料を組み合わせてできていることである。現在では、デ

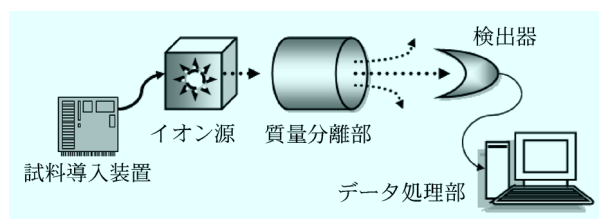


図1 質量分析装置の構成（複合的な技術から構成される全体装置）

Elementary Guide to Ionization Methods for Mass Spectrometry—Introduction to Ionization Methods for Mass Spectrometry.

表1 各種イオン化法とそこに使われているイオン化デバイス

イオン化法	ソフトデバイス				ハードデバイス		
	高電界	イオン分子反応	噴霧	マトリックス	加熱	エネルギー照射	粒子衝撃
ESI	○		○				
MALDI				○		●	
FAB				○			●
APCI		○	○		●		
APPI			○		●	●	
CI		○			●		
EI					●	●	
FD	○				●		

ソフトデバイスは穏和に試料分子を気化させイオン化し、ハードデバイスは分子を分解させる傾向がある。
 ESI (electrospray ionization), MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization), FAB (fast atom bombardment), APCI (atmospheric pressure chemical ionization), APPI (atmospheric pressure photo ionization), CI (chemical ionization), EI (electron ionization), FD (field ionization)

デバイス選択の自由度は極めて高く新しいイオン化法の開発はアイデアしだいである。

3 イオン化法の種類が多いのはなぜか

現在の質量分析の共通原理は、 m/z (質量電荷比；イオンの質量 m を電荷数 z で割った値) をもった気体状イオンを真空中で運動させ、 m/z 値に応じて分離することである。しかし、“試料分子を壊さずに気体状イオンにする”ことはやさしいことではない。例えば、DNA やタンパク質を気体にして浮遊させ、そのうえプラスやマイナスの電荷を付与することを考えてみれば、その難しさが想像できる。質量分析の対象となる試料は、単純な原子や気体分子、水やアルコールなどの溶媒分子、アミノ酸や塩基や脂質などの生体小分子、合成有機分子や各種天然物、タンパク質・核酸・糖鎖といった生体高分子、化学材料の合成高分子などときわめて幅広い。その質量範囲も 1~100 万 Da と広範であり、それに依りて性質も中性、塩基性、酸性、親水性、疎水性、イオン性、芳香族性などと多様である。そのほかに揮発性や難揮発性、光や熱に対する不安定性等々、考え得るあらゆる性質が付随する。すなわち、およそ原子や分子と名の付くものは、どのような性質をもっていてもすべて質量分析の対象になると言っても過言ではない。このような試料の性質の多様性のために、現在でも、効率的に気体状イオンを作り出すための工夫がなされている。イオン化法の種類が多く原理も多様でその選択が難しいのは、分析対象である試料の性質が多様なためであると同時に、新規の性質をもった材料が次々と生まれてくるためでもある。

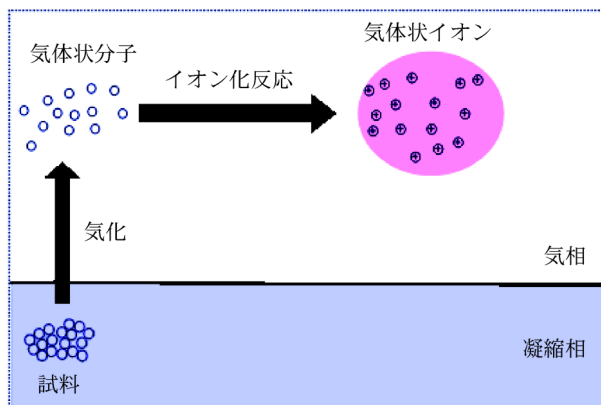
4 イオン化法のコンセプトは意外にやさしい：“気化”と“イオン化反応”に分けるだけ

質量分析の共通原理、すなわち“ m/z をもつ気体状イオンを真空中で飛行分離すること”が今後も変わらないとすれば、イオン化法に求められる共通原理、すなわち“試料を壊さずに気体状イオンにすること”も変わらないはずである。このことを実際のイオン化の技術面から見ると、質量分析のイオン化法は、一般に結晶や溶液などの凝縮相にある試料分子 (molecule, M) を壊さずに気体状分子にする“気化”のデバイスと、気体状分子にプラスまたはマイナスの電荷を付与する“イオン化反応”のデバイスからできていることがわかる。このことは、次のような簡単な形で表すことができる¹⁾²⁾。

$$J_i = I \times J_v \dots\dots\dots (1)$$

各記号の意味はさておいて、この式は次のように表現することができる：“与えられた試料分子がイオンになりやすい性質を持っていたとしても (I が大きい)、まったく気化しない性質ならば (J_v がゼロ)、気体状イオンは作られず (J_i がゼロ)、質量分析することはできない”。逆の場合も言うことができる：“試料分子が簡単に気体になっても、イオンにならなければ気体状イオンはできない”。各記号の意味は次のようである： J_i (ions/cm² sec) は分子イオン収量でイオン源でのトータルイオン生成量、 I (ions/molecules) は試料分子のイオン化効率、 J_v (molecules/cm² sec) は凝縮相から気化する試料分子の気化流束。分子イオン収量は検出器まで到達するイオン量に直接関連し、実際にはマスペクトルに観測される分子イオン M^+ やプロトン化分子 $[M+H]^+$ のピーク強度で評価される。イオン化効率は分子イオンの生成効率やプロトン化効率などを表し、イオン化エネルギーやプロトン親和力、気相酸性度などの熱化学量と関連する。気化流束は溶液や結晶から試料分子が気化あるいは脱離する傾向を表し、溶液では疎水性度などと関連するが特定の物性と関連づけることが困難な量である。いずれにしても、現在報告されているイオン化法のほとんどは式(1)で表現することができる。また、これまでの系統的な研究の結果¹⁾²⁾、質量分析の微量解析能と関係するトータルなイオン生成量 (J_i) を決定づけているのは、イオン化反応 (I) ではなく、むしろ結晶や溶液からの試料分子の気化し易さ (J_v) であることがわかっている。

以下には電子イオン化 (EI)、エレクトロスプレーイオン化 (ESI)、高速原子衝撃 (FAB)、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) を具体例として、式(1)で共通に表現できることを示したい。

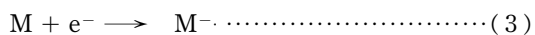
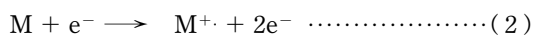


試料の加熱気化と電子線によるイオン化反応の順序が明確。GC/MSや化学イオン化法もこのスキームで説明できる。

図2 電子イオン化法における気体状イオンの生成

4.1 電子イオン化法の場合

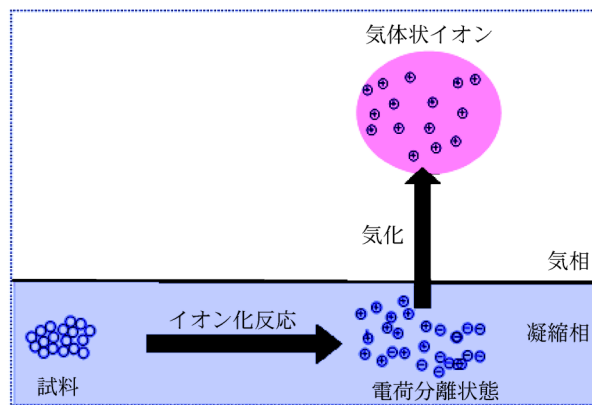
電子イオン化 (EI) 法は式(1)で直接理解できる好例である。EIは、最初に結晶試料をガラス試料管などに入れ真空のイオン源に導入し、加熱操作によって試料を気体分子にする。ガスクロマトグラフ (GC) と結合した場合には、GC オープンによって加熱気化させた気体状分子をカラムによってイオン源まで導入する。この気化過程は式(1)の気化流束 J_v に相当し、単純にはこの量が大きいほど高い分子イオン収量が得られる。次いで、気体状分子は通常 70 eV の熱電子流の中へ導入され、電子衝撃によって正の分子イオン M^+ になるか、または運動エネルギーの小さい二次電子 e^- の付加によって負の分子イオン M^- になる。すなわち、



このとき、正の分子イオン生成に関係する熱化学量はイオン化エネルギー (有機分子では 10 eV 程度) であり、イオン化効率 (50~100 eV で最大) も重要である。負の分子イオン生成については、ニトロ基やハロゲンなど電子親和力の高い官能基の存在がイオン化効率を決める。これらの熱化学量は、式(1)のイオン化効率 I と直接関連する。このように EI 法では、与えられた試料から気体状イオンの生成までの経路 (気化→イオン化反応) が明確である (図2)。

4.2 エレクトロスプレーイオン化法の場合

エレクトロスプレーイオン化 (ESI) における最初の過程は、~5 kV 程度の高電界によって溶液中で正イオンと負イオンの多い部分に分ける操作である。この段階は電荷分離と呼ばれ、式(1)のイオン化効率 I に相当する。これに関連する試料の熱化学量は、プロトンの授受と関連するプロトン親和力、塩基性度、酸性度である。実際、ESI におけるイオン生成量は、正イオンではアミ



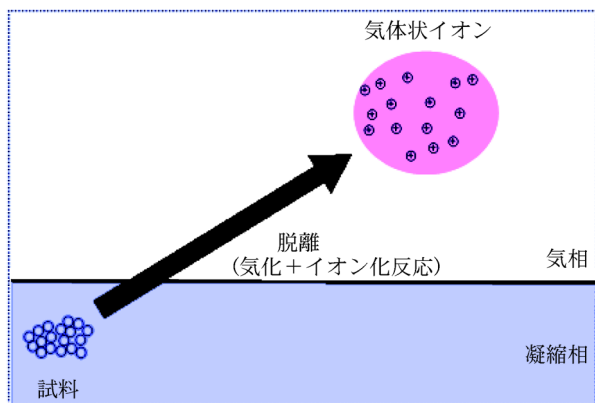
電荷分離状態は、溶液中で正イオンの多い部分と負イオンの多い部分に分かれている状態。正イオンが高密度に存在する溶液部分からは正イオンが噴霧気化する。

図3 エレクトロスプレーイオン化法における気体状イオンの生成

ノ基をはじめとする塩基性官能基 (プロトン受容部位) の存在によって高められ、負イオンでは酸性官能基 (プロトン放出部位) の存在によって高められる¹⁾。ESI では、電荷分離の後に、同電荷のイオンを高濃度に含む溶液部分が大気中で噴霧気化し気体状イオンを生成する。この過程は式(1)の気化流束 J_v に相当し、この量に影響するのは水溶液中からその表面への移動しやすさを表す表面活性または疎水性度であることがわかっている¹⁾。ESI 法における気体状イオンの生成過程も、EI 法と同様にその順序を示すことが容易である (図3)。

4.3 脱離イオン化法も“気化”と“イオン化反応”に分けられる

上に述べた EI と ESI は原理的にはまったく共通性のないイオン化法であるが、質量分析におけるイオン化法の技術面から見ると、“気化”と“イオン化反応”の二つの要素から成る共通性を持っている。興味深いことに、EI と ESI とはさらに原理の異なる FAB と MALDI も、同様の考え方で整理することができる。FAB と MALDI は脱離イオン化法と呼ばれ、それぞれ溶液中および結晶中にある試料分子が凝縮相表面からイオン化しながら気相中へ脱離する現象を利用している (図4)。この場合、イオン化と気化は同時 (ナノ秒以下の現象にこだわらなければほぼ正しい) に起こるが、分子イオン収量と試料の性質との関係を調べてみると、現象的にはプロトン授受反応に関連する酸性・塩基性と凝縮相からの脱離 (気化) しやすさに関連する物性 (疎水性や紫外光吸収能) に分けて考えることができる¹⁾²⁾。すなわち、脱離イオン化法においても、最終的なイオンになりやすさは、試料分子の“イオン化反応”の進みやすさと凝縮相からの“気化”しやすさの二つの要素に支配されている。前者は典型的な化学現象であり、後者は典型的な物理現象であり、質量分析のイオン化法が“複合科学”で



溶液表面または結晶表面の爆発的気化（ナノ秒スケールで起こる）により、気化とイオン化反応が起こりながら試料イオンが表面から脱離する。

図4 脱離イオン化法における気体状イオンの生成

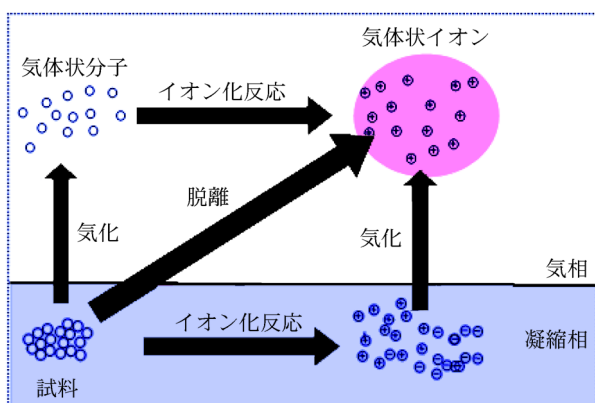


図5 質量分析イオン化法的设计とデバイス考案に役立つイオン化の一般的な図式

取り扱われる理由がここでもよく理解できる。

以上に述べたように、EI, ESI, FAB, MALDIのように原理のまったく異なるイオン化法も、技術的には意外に簡単な二つの要素，“気化”と“イオン化反応”の組み合わせでできている。これをまとめてみると、現在の質量分析イオン化法のほとんどは，“気化”，“イオン化反応”，“脱離”を生じさせるイオン化デバイスの組み合わせから成り、簡単なスキームで表すことができる(図5)。最後に、これまで複雑で難しそうにみえた質量分析イオン化法を、ひとまとめにやすく理解するための式(1)と図5のコンセプトをそのまま利用した最近の大気圧イオン化法を紹介する。

5 だれでも作れる大気圧イオン源

ESIとMALDIの出現により、だれでもタンパク質や核酸のマスペクトルを得られるようになった。これで究極のイオン化法が完成したように見えたが、2000年以降、新しい考え方の大気圧イオン化法が次々と発表されている。新しい考え方とは、目の前にある野菜や果物、紙幣や衣服といった身近な周辺環境 (ambient) に

あるものを分析する、という意味である。これは、従来の真空中でのイオン化法とはまったく異なっている。例えば、大気圧下で紫外光を照射する大気圧光イオン化 (APPI)³⁾、大気圧 MALDI (AP MALDI)⁴⁾、ESIプローブを応用した脱離 ESI (DESI)⁵⁾、ESIプローブとレーザー脱離を組み合わせた ESI 支援レーザー脱離イオン化 (ELDI)⁶⁾、コロナ放電と窒素気流を利用した大気圧固体分析プローブ (ASAP)⁷⁾、ペニングイオン化と窒素気流を利用したリアルタイム直接分析 (DART)⁸⁾⁹⁾などである。これらのイオン化法の多くに共通する点は、試料を“気化”させる過程と気化した分子を“イオン化反応”によってイオンにする過程を明確に区別している点である。また、大きな特徴として、既存のデバイスを使った大気圧下での操作であるため、質量分析の専門家だけでなくも容易に応用や改良の余地があることが挙げられる。このことを反映して、質量分析の最先端研究が発表され、1万人規模の参加者がある米国質量分析会議 (2008年はデンバーで開催された) では、工夫をこらした様々な名称の大気圧イオン化法が登場している。

ここで、身近なイオン化デバイスを使っただけでも作れる大気圧イオン化法を紹介する。なお、以下で紹介する大気圧コロナ放電イオン源を実際に製作したい読者は、実験操作上の安全を確保するため、質量分析装置メーカーの安全指針に従い、事故等があった場合の責任の所在を明確にしてから実行されたい。APCI, ASAP, APPEI¹⁰⁾などの大気圧イオン化法における反応イオンを作るためのデバイスとしてコロナ放電がある。材料として5 cm程度の縫い針を1本用意するだけなので、最も身近で安価なイオン化デバイスである。読者がこれで大気圧イオン源を製作するには、ESIやAPCIのイオン源を取り外し、試料イオンが吸い込まれるオリフィス孔 (数百 μm 直径の小孔で外から簡単に見える) の近くに

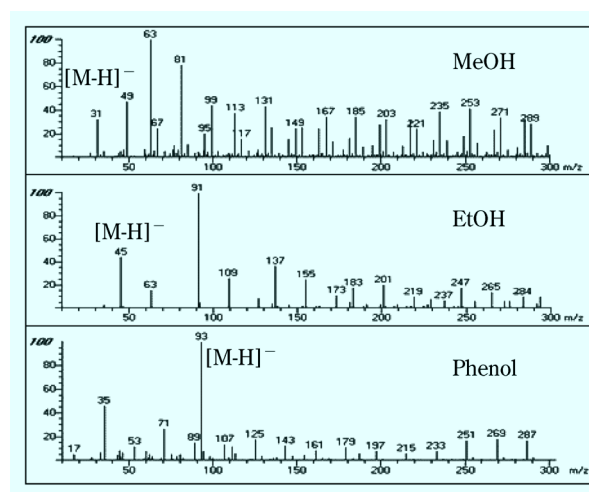
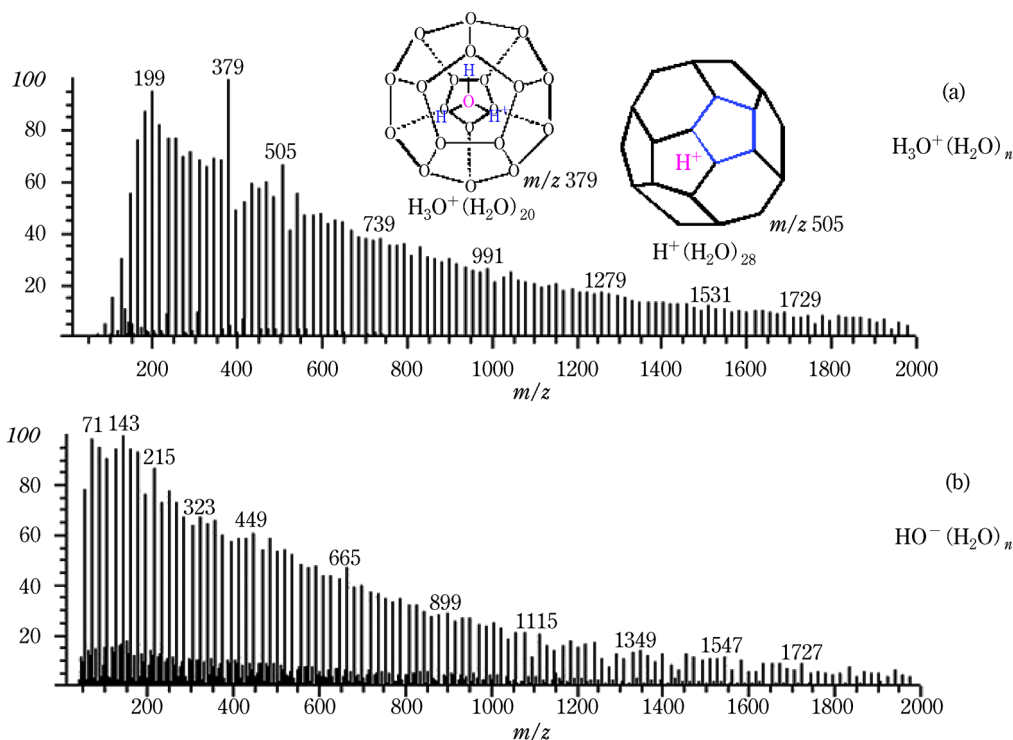


図6 メチルアルコール、エチルアルコール、フェノールの負イオン大気圧コロナ放電イオン化マスペクトル (各負イオンは水和物イオンとして観測される)



正イオンスペクトルにはクラスレート構造をもつマジッククラスターイオン m/z 379 (正 12 面体) と m/z 505 (16 面体) が観測される。

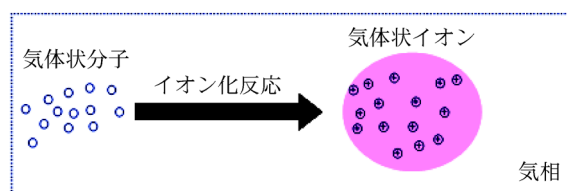
図 7 二重収束質量分析計に針を設置した大気圧コロナ放電イオン化法で生成した水クラスタの (a) 正イオンと (b) 負イオンマスマスペクトル

針を設置するだけでよい。針にプラスまたはマイナスの電圧を印加すると先端が太陽コロナのように光る。この段階で大気中の空気成分 (主として窒素, 酸素, 水分子) がイオン化され, 数段階の反応を経て生成したイオンがオリフィス孔に吸い込まれ質量分析計で検出される¹¹⁾。オリフィスやイオンの透過部分の温度を室温にしておくと, 生成した正イオン X^+ や負イオン Y^- の周りに水分子が凝集してできた水和物イオン $X^+(H_2O)_n$ や $Y^-(H_2O)_n$ が観測される。アルコールやフェノールなどの揮発性物質は, この方法で簡単に検出することができる (図 6)。典型的な水クラスターイオンは, 正イオン $H_3O^+(H_2O)_n$ および負イオン $HO^-(H_2O)_n$ とともに m/z 2000 以上まで等間隔のピークが観測され (図 7), 機器の汚染もないのでキャリブレーションに最適である¹²⁾。

大気圧コロナ放電イオン化法は, 放電用の針 (縫い針でも可能) を用意するだけなので現存するイオン化法の中では最も単純である。従って, イオン化の図式もきわめて簡単であり (図 8), 式 (1) でもイオン化効率 I だけを考慮すればよい。しかし, 大気成分や揮発性物質のイオン化機構を探ろうとすると, とたんに難しくなるのは他のイオン化法と同じである。

6 まとめ

質量分析において, イオン化法とフラグメンテーション



気体状分子 (主に窒素, 酸素, 水分子) にコロナ放電を作用させるだけで図 6 の気体状イオンが生じるのは興味深い, その機構は複雑。

図 8 大気圧コロナ放電イオン化法におけるイオン生成

の機構は難解なテーマの双壁をなすが, イオン化法については, 試料分子をイオン化できさえすれば問題解決であることが多い。ノーベル化学賞の受賞対象になるほどの技術であるが, 実用性に重きを置かれるために, ほとんどのイオン化法の機構は解明されずにいる。本稿では, 複雑で難しいと敬遠される質量分析イオン化法を, “気化” と “イオン化反応” の二つの要素によって共通に理解できることを示した。これによって, 利用者がイオン化法に興味をもち, どのイオン化法でもよいから機構を解明してみたいと考えてもらえれば幸いである。

文献

- 1) T. Nishikaze, M. Takayama: *Int. J. Mass Spectrom.*, **268**, 47 (2007).
- 2) T. Nishikaze, M. Takayama: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20**, 376 (2006).

- 3) D. B. Robb, T. R. Covey, A. P. Bruins : *Anal. Chem.*, **72**, 3653 (2000).
- 4) V. V. Kaiko, M. A. Baldwin, A. L. Burlingame : *Anal. Chem.*, **72**, 652 (2000).
- 5) Z. Takats, J. M. Wiseman, B. Gologan, R. G. Cooks : *Science*, **306**, 471 (2004).
- 6) J. Shiea, M.-Z. Huang, H.-J. Hsu, C.-Y. Lee, C.-H. Juan, I. Beach, J. Sunner : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**, 3701 (2005).
- 7) C. N. McEwen, R. G. McKay, B. S. Larsen : *Anal. Chem.*, **77**, 7826 (2005).
- 8) R. B. Cody, J. A. Laramée, H. D. Durst : *Anal. Chem.*, **77**, 2297 (2005).
- 9) 草井明彦 : ぶんせき, **2007**, 124.
- 10) K. Hiraoka, S. Fujimaki, S. Kambara, H. Furuya, S. Okazaki : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2323

(2004).

- 11) K. Sekimoto, M. Takayama : *Int. J. Mass Spectrom.*, **261**, 38 (2007).

- 12) 関本奏子, 高山光男 : 日本分析化学会第 55 年会講演要旨集, p. 8 (2006).



高山光男 (Mitsuo TAKAYAMA)

横浜市立大学大学院国際総合科学研究科 (〒236-0027 横浜市金沢区瀬戸 22-2)。工学院大学工学部工業化学科化学工学コース卒。《現在の研究テーマ》質量分析のイオン化機構, 大気イオン化学, 基礎プロテオミクス。《主な著書》“材料学シリーズタンパク質入門”(単著)(内田老鶴圃)。《趣味》散歩登山, スキー, 写真。E-mail : takayama@yokohama-cu.ac.jp

新刊紹介

Q&A と事故例でなっとく！ 実験室の安全 [化学編]

田村昌三・若倉正英・熊崎美枝子 編集

化学実験を行うにあたっては、薬品や実験器具、実験装置に関する正しい知識をもって、正しい取り扱いを行い、安全に努めることが重要である。また、万が一の火災や爆発、薬品による健康障害などに備えて予防と被害抑制のための対応をあらかじめ考えておく必要がある。実験室には化学実験の安全についてまとめた書籍を常備しておくことも重要である。本書は、大学や高専の学生、大学院生や教官、高校や中学あるいは小学校の理科の先生向けに、実験や実験指導のための疑問点のチェックや学習用に、化学実験の安全について解説された書である。本書の構成は、実験を始める際の初心者の心得に始まり、化学実験を行う際に用いる化学薬品、ガスおよび液化ガスの潜在危険性と安全な取扱い、実験終了後の廃棄物の安全な処理、実験器具・装置、電気機器の安全な取扱い、VDT 作業の安全、無人実験や無人運転の安全、防火と防爆、予防と救急、地震対策と警戒宣言の各章からなる。化学実験を安全に行う際に重要となる主要な項目について、見開き 2 ページの Q&A 方式でコンパクトにまとめられ、大変分かりやすく解説されている。さらに各項目には具体的な事故例を挙げて、潜在的な危険を実感できるように配慮されている。化学実験を安全に行う上で必要な知識が網羅されており、安全に対する知識を身に付けるのに有用な書である。

(ISBN 978-4-87211-897-1・A 5 判・211 ページ・2,500 円+税・
2008 年刊・みみずく舎)

高分子分析ハンドブック

日本分析化学会高分子分析研究懇談会 編

日本分析化学会高分子分析研究懇談会編の「高分子分析ハンドブック」が 13 年振りに改訂された。1965 年刊行の初代から数えて四代目に当たる。これまでの版と同様、大学、企業等の第一線で活躍中の方々の執筆で、約 130 種類のほとんどすべてのポリマーを網羅し、合成法・使用法・物性並びにその分析法が記述されている。本ハンドブックは、版を重ねるごとに、様々な工夫がなされてきたが、この第 4 版でも大きく二つの新たな企画が組み入れられている。第一は、本の最初に新たに設けられた「目的別分析ガイド」で、材料判定、化学構造解析、分子量といった基本的項目から、不純物分析、発生ガス分析、異物分析、劣化解析といった、高分子にかかわるものが日常遭遇する実用的な項目まで 31 項目にわたって簡潔なガイドが示されており、目的に適した手法により適切にアプローチできる。第二は付属の CD で、本体の補足手段として、ページ数の制約から本体に収められなかった詳細な記述、鮮やかなカラー表示の図や写真が記載され、さらには、入手にくい文献のフルコピーが著作権の許す範囲で収められている。また、分析技術の進歩の影に隠れて、本体からは姿を消したが、伝承に値する古典的分析法も CD に収められており、アーカイブとしての役割も果たしている。体裁も B5 判 2 段組みになって一層読みやすくなった。これらの新たな工夫により、ハンドブックとしての利便性が従来以上に高まっており、旧版にもまして、様々な場所で、また様々な機会に、色々な形で、高分子にかかわる研究者・技術者など多くの方々にとっての座右の書となるであろう。

(ISBN 978-4-254-25252-1・B 5 判・1268 ページ・
50,000 円+消費税・2008 年刊・朝倉書店)