

第2章 LC/MS 装置の構造と原理

液体クロマトグラフ・質量分析計(LC-MS)では、ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC-MS)のように、カラムと質量分析計(MS)は直結されおらず、HPLCとMSの中間にインターフェイスがあり、LCカラムから出た成分は移動相と分離されて質量分析計に導入される。LC-MSのインターフェイスは、これまで様々な装置が開発されてきたが、近年高感度で保守性の良い装置が普及し、pgオーダーの環境汚染物質の分析も現実的になってきた。最も一般的なインターフェイスは、LCの溶離液を噴霧して大気圧下でイオンを生成させ、イオンと溶媒蒸気を分離してMSに導入する方法である。この大気圧イオン化(API)法は、イオンの作り方の違いから、大気圧化学イオン化(APCI)法、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法に分けられ、ほとんどのLC-MSはAPCIとESIイオン化装置を備えている。連続フロー高速原子衝撃(CF-FAB)法も有用で、この装置ではLCの溶離液を直接MSに導き、高真空下で溶媒分離とイオン化を行っている。また、GC-MSで多用される電子イオン化(EI)装置を備えたパーティクルビームイオン化法も利用されている。表2-1にLC-MSの主なイオン化法の特徴を示す。

表 2-1 LC-MS の主なイオン化法の特徴

項目	A P C I	E S I	C F - F A B
移動相溶液 流量 (ml/min) 組成 バッファー pH	0.4 ~ 2 程度 水 / 有機溶媒 : 任意 不揮発性不可 腐食性、不揮発性不可 イオン化に影響有り	0.1 ~ 0.7 程度 100%無極性溶媒不可 不揮発性および高揮発性不可 腐食性、不揮発性不可 イオン化に影響大	~ 0.1 程度 FABマトリックス添加 不揮発性および高揮発性不可 腐食性、不揮発性不可 イオン化に影響有り
気化部ヒーター 温度 () イオン化エネルギー供給 試料の状態 生成イオン	180 ~ 500 程度 コロナ放電 気体 主に擬分子イオン	~ 130 程度 強い電場 液体 主に擬分子イオン、多価イオン	高速原子と電場 液体 主に擬分子イオン
測定対象物質 分子量 (Da) 極性	~ 1000 程度 低 ~ 中極性	~ 100000 程度 中 ~ 高極性	~ 3000 程度 中 ~ 高極性
質量分析計	四重極MS イオントラップMS 磁場型MS 飛行時間MS	四重極MS イオントラップMS 磁場型MS 飛行時間MS	磁場型MS 飛行時間MS

2.1 LC-APCI-MS

図2.1-1にAPCIイオン化法の概要を示す。LC-APCI-MSでは、以下のようなイオン化が行われる。

LCから溶出する移動相溶液は、ヒーターと乾燥ガス（窒素を用いることが多い）により気化される。この溶媒と測定成分のガス中でコロナ放電を行い、溶媒および測定成分をイオン化する。イオン化の始まりは、気化ガスの主成分である溶媒分子のイオン化で、次に溶媒イオンと測定成分の間で、プロトンや電子などの電荷の移行が起こり、測定成分が大気圧下でイオン化される。この方法は、気化した溶媒を試薬ガスとする化学イオン化(CI)法で、プロトンや電子の移行によるソフトなイオン化が行われる。APCIイオン化法では、移動相溶液中で電離し難い低～中極性成分がイオン化され易く、移動相溶液中で電離する高極性成分は気化し難いためイオン化され難い。

生成したイオンは、コロナ放電針電極とスキマー（通常2または3枚）間の電場により誘導され、スキマー先端のピンホールを通過しMSに導入される。スキマーの間は真空ポンプに接続され、質量分析部に向かって順に高真空になっており（差動排気）、スキマー間にかかる電場により、イオンは高真空の質量分析部に導入され、電荷を持たないガスは排気される。なお、気化しない霧がスキマーに付着してイオンを誘導する電場電圧が低下するのを避けるため、ほとんどの装置で噴霧口とスキマーは向き合わない構造になっている。

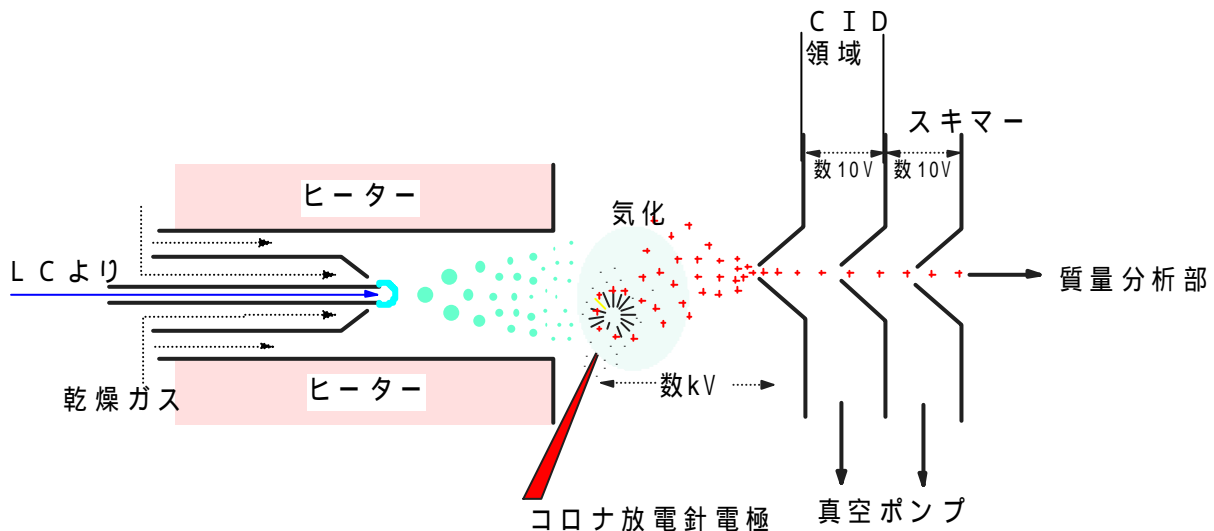


図2.1-1 APCIイオン化法の概要（陽イオン）

2.2 LC-ESI-MS

図2.2-1にESIイオン化法の概要を示す。LC-ESI-MSでは、以下のようなイオン

化が行われる。

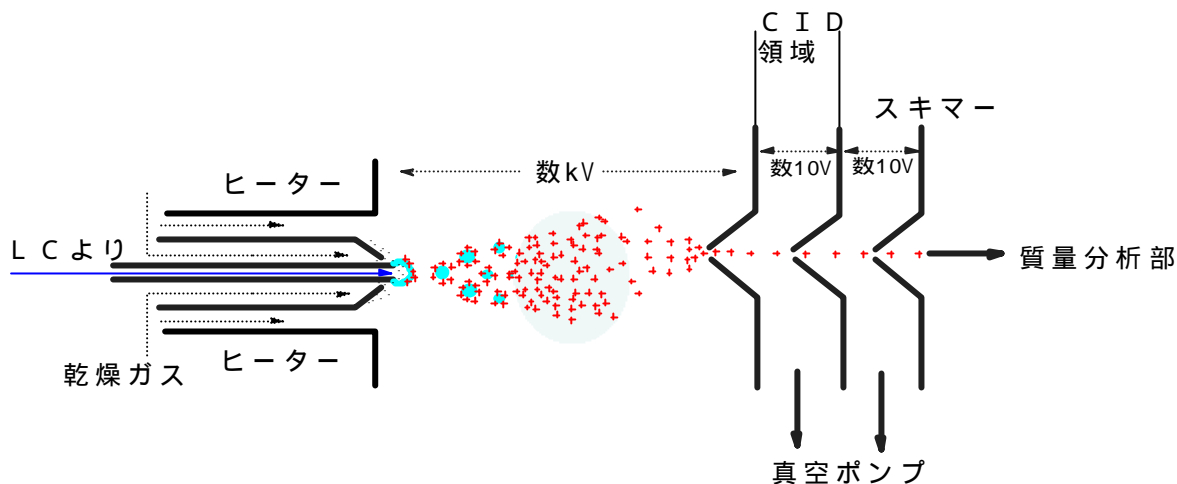


図 2.2-1 ESIイオン化法の概要（陽イオン）

LCから溶出する移動相溶液は、ヒーターで暖められたのち、ノズルから微細な霧となって噴霧される。噴霧直前の移動相溶液は、ノズルとスキマー間に架かる数 kV の電場によって電離しており、噴霧ガスにより帯電した微細な霧として噴霧される（イオン蒸発）。この霧は、乾燥ガスと霧に帯電した電荷の反発（クーロン爆発）により更に微細化し、気化して大気圧下でイオンを生成する。霧が持っていた電荷は、霧を構成する溶媒と測定成分の間でプロトンや電子などを伴って主に測定成分に移り、ソフトなイオン化が行われる。移動相中で電離し易い成分ほど、ESIでイオンを作りやすい。Na、K、Cl、Brなどの付加したイオンや、多価イオンを生成し易いのもESIの特徴である。

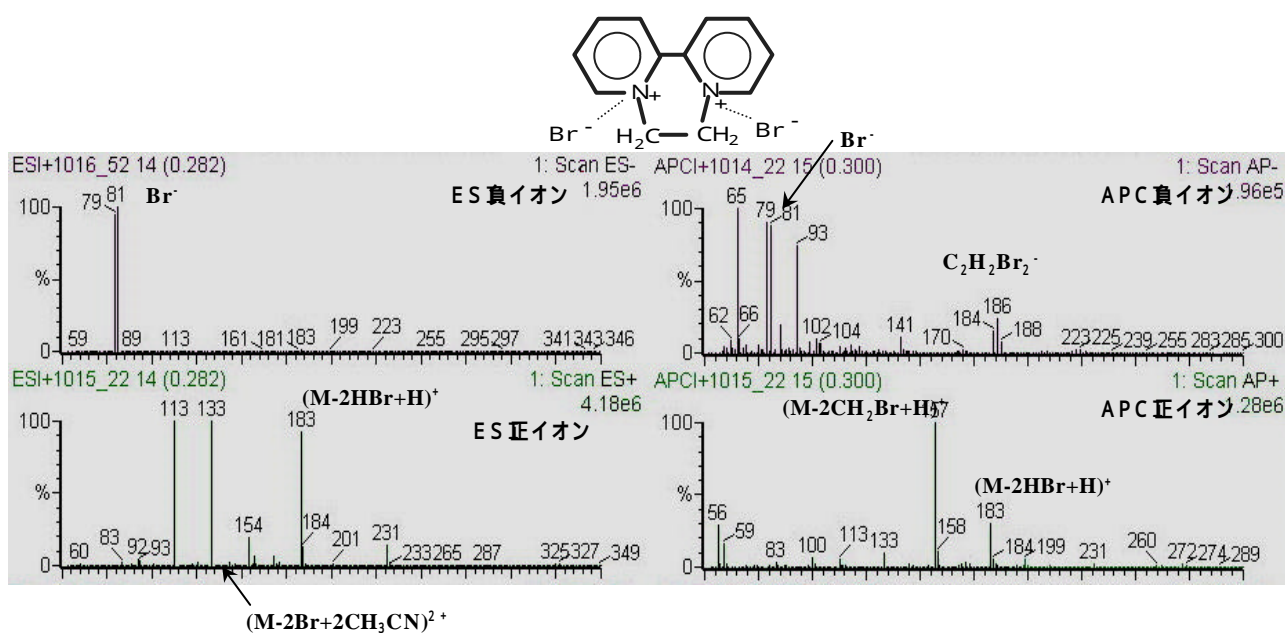


図 2.2-2 ジクワットのESIとAPCIスペクトル

ESIとAPCIのイオン生成方法の違いは、MSスペクトルにも反映する。図2.2-2にジクワットのESIとAPCIスペクトルを示す。ESIの負イオンを見ると大部分が移動相中で電離した Br^- (m/z 79, 81)であるが、APCIの負イオンでは Br^- (m/z 79, 81)のほか気化後熱分解で生じた $\text{C}_2\text{H}_2\text{Br}_2^-$ も観測される。

イオン化した成分はノズルとスキマー間の電場により誘導され、質量分析部への導入は、APCIと全く同じ機構（「2.1 LC-APCI-MS」の項、参照）を通してMSに導入される。

2.3 LC-CF(Frit)-FAB-MS

高速原子衝撃法（FAB：Fast Atom Bombardment）とは、分析対象とする物質をグリセリンのような粘性の大きいマトリックスに溶解させて、ターゲット上に塗布し、これに大きなエネルギーの一次粒子ビームを照射してイオン化する方法である。連続フロー（CF：Continuous Flow）-FABあるいはFrit-FABは、このFABイオン化を質量分析計のインターフェイスとして連続的に行えるようにし、液体クロマトグラフィーへの適用を可能としたものである。本章では、液体クロマトグラフィーでの実用化が既に行われているFrit-FABについて述べる。

Frit-FAB インターフェースの構造を図2.3-1に示す。

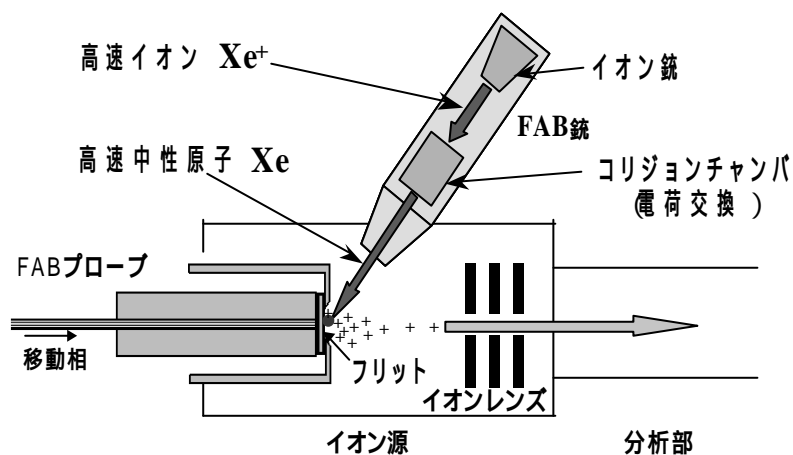


図 2.3-1 F R I T - F A B イオン化法の概要

高速液体クロマトグラフによって分離された被検成分は、移動相と共に内径 0.2 mm ~ 0.4 mm のフューズドシリカキャピラリーを通過してプローブ先端のフリットに入る。移動相には、グリセリンなどの粘性の高い液体（マトリックス）を 0.1~1%の濃度となるように加えた有機溶媒あるいは有機溶媒/水が用いられている。移動相がフリット内を通過するとき有機溶媒あるいは水は揮発し、被検成分を溶かした状態でマトリックスは図 2.3-2 に示すようにフリットの表面に染み出す。このとき溶媒等の気化によって被検成分はマ

トリックスの中に濃縮されるため、高感度の分析が可能となる。

マトリックス中の被検成分は、FAB銃で数kVに加速されたXeやAr等の中性高速原子の衝撃を受ける。高速原子のもつ運動エネルギーによりマトリックスや揮発せずに残った溶媒分子などがイオン化され、イオンと被検成分の間でプロトンや電子の移行が起こる。その結果、 $[M+H]^+$ や $[M-H]^-$ などの被検成分の正及び負イオンを生成する。イオン化した被検成分は、フリットとイオン収束レンズ間の電位差によって加速され、イオン収束レンズを通過後質量分析部に導入される。

Frit-FABは、移動相に溶解する物質であれば分子量の大きな物質もイオン化することができ、また高温加熱の必要がないため、熱に不安定な物質や不揮発性物質も分析することができる。従って、ペプチドのようなアミノ酸などの分子量決定や構造解析に適している。

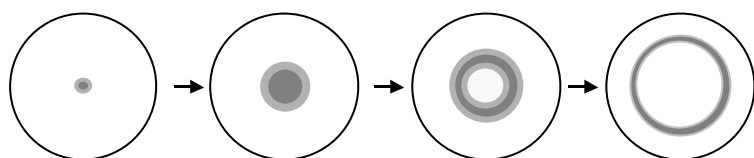


図 2.3-2 Frit 上の被検成分移動の様子

参考文献

- (1) Y.Ito, T.Takeuchi, D.Ishii and M.Goto, J. Chromatogr. 346, 161 (1985)
- (2) LC/MS インターフェイス, 平岡賢三, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., Vol.41, p101 (1993)
- (3) JEOL Application Note MS42
- (4) Luis O. RUZO, Practical Techniques for Mass Spectrometric Analysis of Pesticides and Their Degradation Products, Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators, Vol.XIV, p133 (1986)

2.4 その他の LC-MS

LC-MSのイオン化の多くは、プロトンや電子などの電荷の移行を伴ったCIによって行われる。しかし、CIでは炭化水素などプロトン親和力、或いは電子親和力が低い測定対象成分のイオン化は困難である。電子イオン化(EI)イオン源を備えたパーティクルビームイオン化法は、それらの物質をイオン化するのに適している。LCから溶出する移動相溶液を気化室で加熱気化し、気化室出口のノズルから減圧下のMS入り口に噴霧する。このとき、揮発性の低い成分は凝縮して微細粒子を形成し、慣性力によりMS入り口のピンホールを通過してMSに進入し、EIイオン源でイオン化される。溶媒などの揮発性成分は、凝縮せず、MS入り口で大部分が排気される。EIは、GC/MSなどで蓄えられた豊富な質量スペクトルデータが活用できるが、易分解性物質に不適で、一般に感度はAPI法に比べて低い。