

なぜ Reflectron Modeでは 分解能が向上できるのか？

島津グループで販売しているMALDI-MS装置の中で、AXIMA-**C**onfidence、-**P**erformance、-**R**esonanceは Reflectron Modeを標準採用しています。通常、Reflectron Modeは Linear Modeと比較し、質量分解能・精度の高い測定が行えます。

本解説書では、Time-Of-Flight Mass Spectrometry TOFMS(Linear Mode)基本原理から出発し、Reflectron Modeにて分解能が向上できる理由を導き出します。

1. 飛行時間型質量分析法(Time-Of-Flight Mass Spectrometry)TOFMSの原理概略

図1に示されるように、様々な大きさの正イオンがサンプルスライドSample Slide上で発生した、とします。サンプルスライドと接地Ground間には V_0 の電位差があるので、イオンは図1の右方向に引き出されます。引き出し完了後の各々のイオン速度 v は、エネルギー保存の法則[式(1)]より求められます。

$$qV_0 = \frac{1}{2}Mv^2 \quad \text{--- 式(1)} \quad \therefore v = \sqrt{\frac{2V_0q}{M}} \quad \text{--- 式(2)}$$

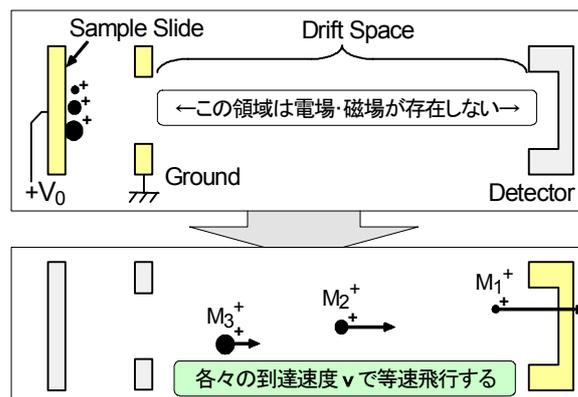
q : イオン電荷 M : イオン質量 v : イオン速度 V_0 : 電位差

ここで V_0 は どのイオンに対しても一定であるから、 M/q 値が小さいイオン(図1では M_1^+)ほど 高速でドリフト空間Drift Spaceを飛行し、検出器Detectorに到達します(加速領域“Sample Slide”-“Ground”間の現象は無視)。

この様に、 M/q 値の違いによりイオンの飛行時間が異なることを利用して質量分析を行う方法を、「飛行時間型質量分析法」(TOFMS)と呼びます。

補足)上記式を $q=z$ (イオン電荷数) $\cdot e$ (素電荷)、 $M=m \cdot u$ (統一原子質量単位)と変形すると、実質的に“ m/z ”が導き出されます。

素電荷 e : 1.602×10^{-19} C (電子1個の電荷量に等しい) 統一原子質量単位 u : ^{12}C 原子の質量の $1/12$ (1.6605×10^{-27} kg)



M_1, M_2, M_3 の電荷量は同一 重量: $M_1 < M_2 < M_3$

図1 Time-Of-Flight Mass Spectrometry (TOFMS)

2. TOFMSの実際 --- Linear Modeの欠点

上記原理説明で紹介したTOFMSは、イオンを直線飛行させるだけの最も基本的なものであり、リアモードLinear Modeと呼ばれています。 m/z 値が同一のイオン全てが 式(2)の速度で同時に検出器に到達できれば、無限大の分解能で測定できます。

--- 式(2)は、全てのイオンが初期エネルギーを持たない(静止した)状態でイオンが発生したと仮定しています。

--- TOFMSで分解能を低下させないためには、さらに「発生位置・時間が限定されている」という必要条件が課せられます。(狭義の)パルスレーザーイオン化では、レーザー光の照射時間が 1-10 nsecであり、レーザー光が収束された領域($\sim \phi 100 \mu\text{m}$)のみがイオン化されるため、通常、この必要条件を満足しているといえます。

しかし、MALDI法の様にレーザー光照射によって(間接的に)イオン化する場合、(数10eV分に相当する)初速度を持ったイオンが発生し易い傾向があります。この初期エネルギー ε が一定していない(分布をもつ)ため m/z 値が同一でも速度 v は同一とはならず(式(1)、(2)で $V_0 \rightarrow V_0 + \varepsilon$ になる)、飛行時間にばらつきができることにより、分解能の低い測定結果しか得られないことになります。

3. 振り子の等時性 --- Reflectron Modeの原理説明導入部

図2に示されるように、振り子の重りには重力 G が働いており、振幅角が θ の時に、 $G \cdot \sin\theta$ の大きさで振れの中心に引き戻す力が働きます。振れ角 θ が小さい($\theta \cong 0$)場合、 $G \cdot \sin\theta \cong G \cdot \theta$ となります。

従って、振り子には「振幅角 θ に比例した原点に引き戻す力が働く」ことになり、単振動が行われることとなります。

すなわち、「振り子は、振幅・重りの重さが異なっても、弦の長さ・重力が等しければ周期が等しい」こととなります。ただし、厳密な意味でこれが成立するためには、上記条件「振幅が微小である」($\Delta\theta \cong 0$)あるいは「振幅の差が微小である」(振れ角 θ が $\theta + \Delta\theta$ に変化しただけの場合)が課せられます。

この「振り子の等時性」をTOFMSに当てはめたのが「Reflectron Mode」です。

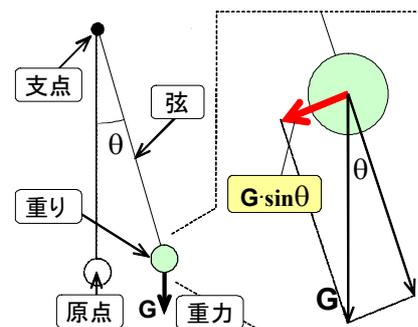


図2 振り子の単振動

4. TOFMSでエネルギー収束を行う方法 --- なぜReflectronで分解能を向上できるのか？

図3に示されるように、加速が完了した(Drift Spaceに到達した)ときの速度は、Linear/Reflectronいずれのモードでも、同じ大きさのイオンでありながら、初速度のあるイオン●の方が初速度のないイオン○より速くなります。

Linear Mode(図3左側)では、その状態のまま検出器に到達するため、分解能の低い測定結果となります。

Reflectron Mode(図3右側)では、引き出し部の下り坂とは逆に、登り坂を形成する**Ion Reflector***を設けています。このReflectron Modeでも、Reflectorにイオンが入射するまで(Ion Source&Drift Space)は、初速度のあるイオン●の方が飛行時間が短く(速度が速く)なります。しかし、Reflectron内では、初速度のあるイオン●の方が[運動エネルギー]=0になるまで坂道をより長く登らなければならない、飛行時間が長くなります。

*) Ion Reflectorは、図3右上に示されるように、通常、リング状の電極(図3は断面図)を並べ、最後尾に V_R を印加し、抵抗分割で各電極に電圧を印加させ、内部に適切な電場が発生するようにしています。図3の場合、電場が漏れたり乱れたりしないように、Gridを設けています。

Reflectron Modeとは、恒に[TOF(Ion Source)+TOF(Drift Space)+TOF(Reflector)=Constant]が成立する、すなわち **m/z 値が同一であるイオンの全飛行時間がエネルギーの大小によらずに等しくなるようにできる、質量分解能を高められるモード**です。この様に、エネルギー収束が行えるIon Reflectorは、これまで数多く考案されています。いわば、坂道の形態は多種類あります。--- 参考文献参照

図3の場合、「緩やかな坂道」*部位でエネルギー収束を行っています。エネルギーが分散しているのは、 V_0 近傍のみであり、この付近のみ収束すればよく、それ以外は急坂でも構わないこととなります。また、この領域での傾きは一定となっています。図2にて、振りが最下点近傍でのみ振動した場合に直線近似($G \cdot \sin\theta \approx G \cdot \theta$)できた条件を、図3では、いわば、 V_0 の近傍に置き換えて当てはめていることとなります(通常、 $|V_0| \gg \varepsilon$ であるため)。すなわち、前ページ<振り子の等時性>の表現に当てはめれば、「Reflectron Modeでは、イオンの初期エネルギー ε が異なっても、イオンの大きさ・電荷量が等しければ飛行時間が等しい」と表現できます。

**) 全範囲にわたってエネルギー収束を行うためには、全ての坂道に渡って(直線近似を行う)「緩やかな坂道」にする必要があり、極めて長大なReflectorとなってしまいます。

また、Linear ModeよりもReflectron Modeの方が一般に飛行時間が長くなります。従って、 m/z 値が近接しているイオンどうしの間隔が広がることとなります。これが、Reflectron Modeで分解能が高くなる もう一つの理由です。

以上の理由により、Linear Modeでは質量分解能: 数百~数千 であったものが、Reflectron Modeでは質量分解能: 数千~数万 に大幅に改善できます。

5. Linear Mode vs. Reflectron Mode --- 両モードを如何に使い分ければよいのか？

Linear Modeにも利点があります。

[飛行時間, 強度] の関係を計測/記録する回路/コンピュータは、測定範囲(データ量)が限られています。測定を行う飛行時間範囲が同一ならば、**Linear Modeの方が広い質量範囲を測定できます**。逆に同一質量範囲ならば、**Linear Modeの方が測定データ点数が少なく済み**ます。

イオン源で生成したイオンにも、寿命があります。特に高質量イオンは分解し易く、Drift Spaceを飛行している間にも分解してしまいます。Reflectron Modeの場合、最後までイオンとして存在したものしか(元のイオンとして)検出することができません。Linear Modeは、途中(Drift Space)で分解したイオン***や中性粒子も 分解しない元のイオンと同一速度で同一時刻に検出器に到達できます。すなわち、**Linear Modeは感度の高い測定が行えます**。

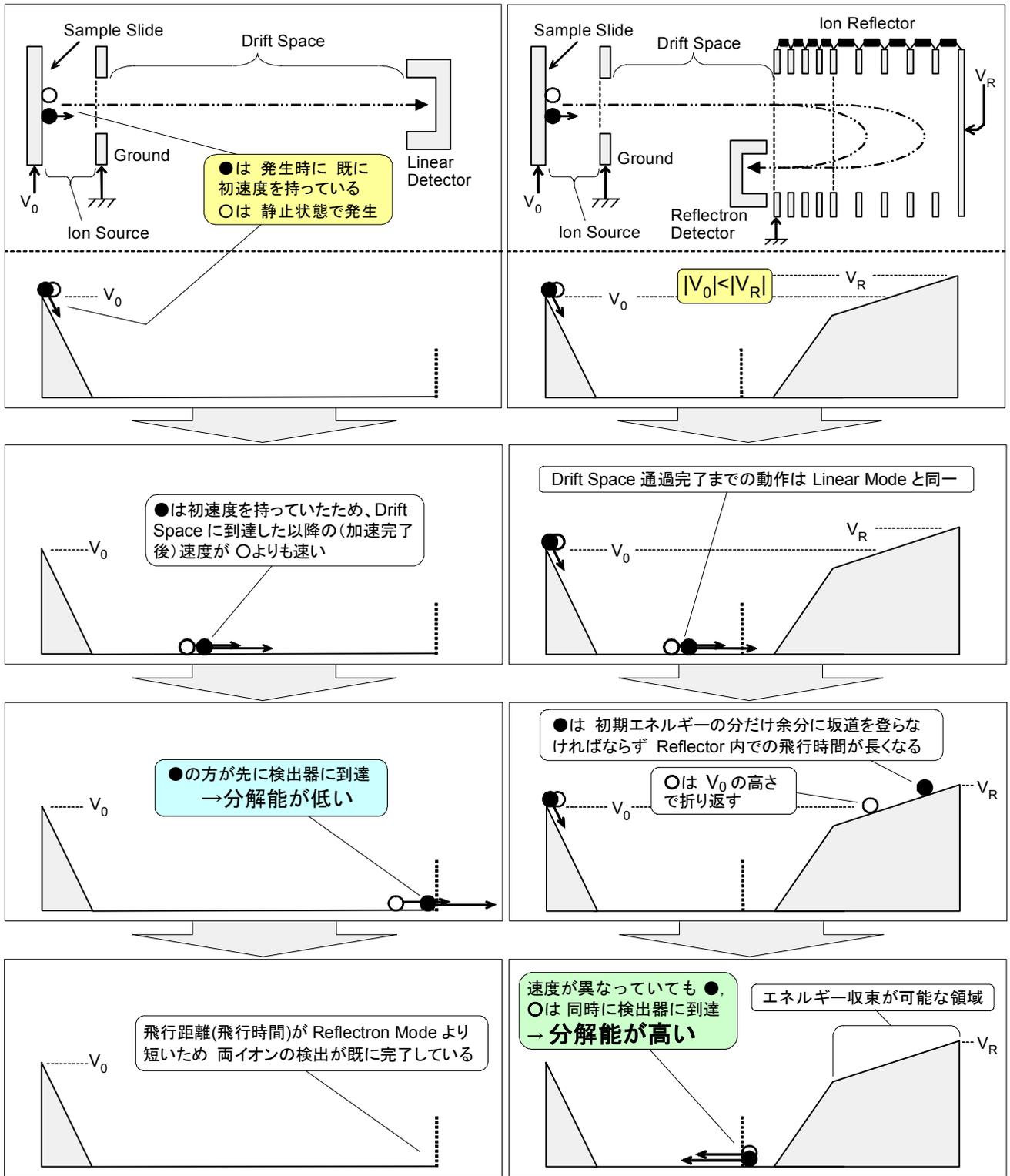
***) Ion Source以降で分解したイオンをPost Source Decay (PSD) Ionと呼びます。これらのイオンを収束させ検出器へ導くことが可能であれば、MS/MS測定が行えることとなります。

--- 「なぜReflectron ModeでMS/MSが可能なのか？」<3.Curved Field ReflectronでのPSD Ion検出>参照

実際のMALDI試料測定で比較した場合、Reflectron Modeでも数10kDa程度のイオンの測定が可能ですが、通常、この領域ではLinear Modeより大幅な分解能向上が期待できず、しかも感度が1ケタ以上低下する場合があります。個々のイオンの寿命もまちまちであり、Linear Modeと比較すると強度分布に差異がでる場合もあります。

一般に、TOFMSが最も得意とし期待もされる特長は、感度の高さ・質量範囲の広さであると言えます。

従って、特に未知(試料量?・分子量?・安定度?・純品or混合物?)の物質を測定する場合は、まず、Linear Modeで測定すべきであると言えます。



<Linear Modeの場合>

<Reflectron Modeの場合>

○: 初期エネルギー = 0 のイオン ●: 初期エネルギー > 0 のイオン

両イオンは同時(レーザー照射時)に発生したものとす。両イオンの m/z 値は同一とする。

最上段図の上図は、Linear Mode/Reflectron Modeの電気・機械的な構造を表している。

最上段図の下図から以降は、イオン飛行軸上の電位の高さと 各時点におけるイオンの飛行状態を表している。

図3 初期エネルギーの異なるイオンを測定する場合における Linear/Reflectronの比較

表1 Linear Mode/Reflectron Mode 特徴比較表

	感度	質量範囲	定量性・再現性	質量分解能	質量精度	MS/MS
Linear Mode	○高い	○広い	○高い	×低い	×低い	×不可
Reflectron Mode	×低い	×狭い	×低い	○高い	○高い	○可能****

図4は、卓上型KOMPACT MALDI III の装置概略図です。Deflectorに印加する電圧 V_D を変更するだけで Linear Mode、Reflectron Modeの切り替えが行える装置です。

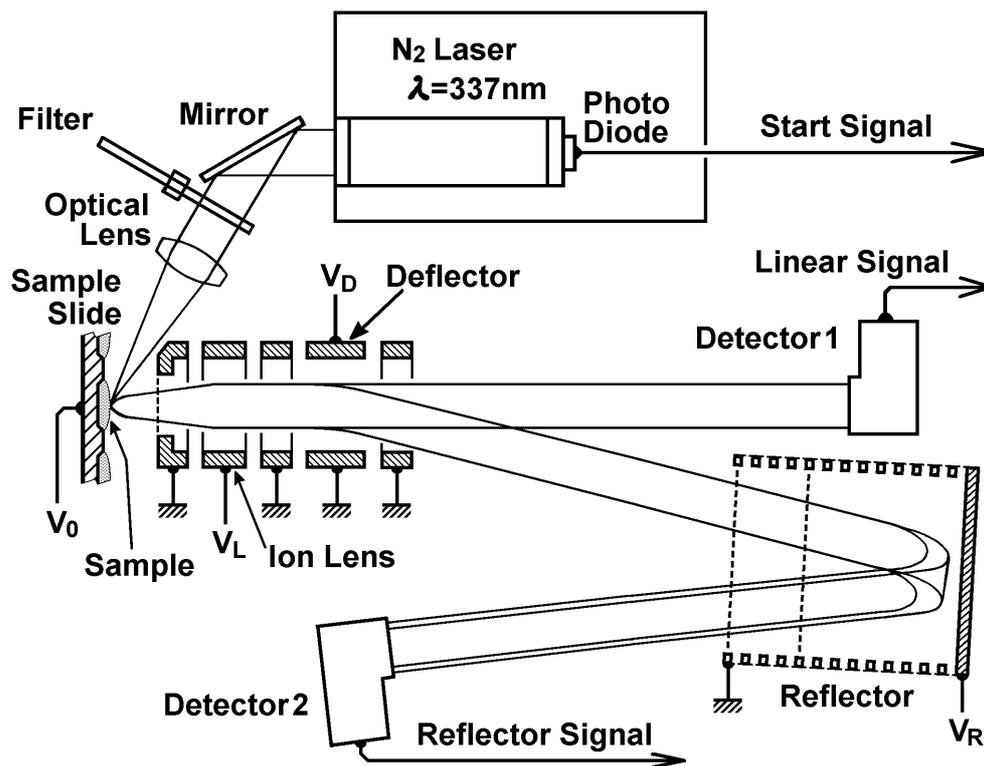
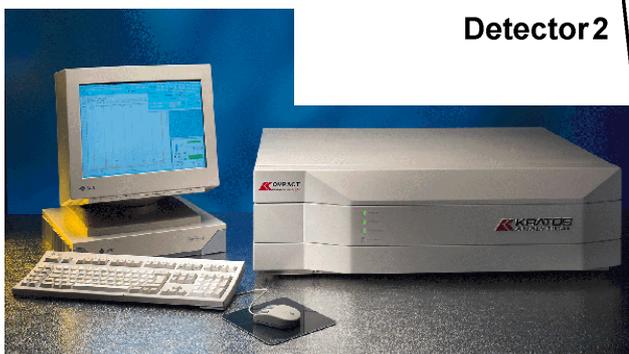


図4 Shimadzu/KRATOS
KOMPACT MALDI III MALDI-TOFMS

****) 「なぜReflectron ModeでMS/MSが可能なのか？」
<3.Curved Field ReflectronでのPSD Ion検出>参照



< TOFMS 参考文献 >

1. B.A.Mamyrin, et al., Sov.Phys.JEPT, Vol.37, p45-** (1973)
2. 吉田佳一, 田中耕一, 井戸豊, 秋田智史, 吉田多見男, 質量分析 Vol.36, No.2, p49-58 (1988)
3. T.J.Cornish, et al., Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol.7, p1037-1040 (1993)
4. 早川滋雄, 質量分析 Vol.41, No.3, p121-158 (1993)