

TOF-MS用の測定回路として何が適切か？

飛行時間型質量分析法Time-of-Flight (TOF) MSは、MALDI法と直接接続されたMSとしてだけでなく、(QIT、QqQ-等との) Hybrid型の最終段MSとしても多種多様な開発が行われ、最近では、従来の広範囲・高感度・高速測定特長のみならず 高精度化 (m/z Error: 1~5ppm)・高分解能化 ($m/\Delta m$: 10,000~1,000,000)が達成されています。

質量分析では、概して下記の手順を辿って計測・解析が行われます。



すなわちTOFMSの高性能化には、(近年のElectronics技術の急速発展に伴う)測定回路の高性能化が不可欠であった、と言えます。本解説書では、LDI (Laser Desorption/Ionization)-TOFMSとして20年以上前(1980年代)に開発され ソフトレーザ脱離法発見のツールとなったLAMS-50K前後のTOF-MS技術歴史を解説することにより、現在・未来 TOF-MS用の測定回路として何が適切か？を概説します。

こぼれ話: TOF とは 何の頭文字？

1980年代当時までは、質量分析装置と言えば 扇型の電場・磁場を用いた大型装置Sector型や四重極型が主流であり、「TOFMSは個々の研究室で手軽に作れるが 性能は低い」と見なされていました。TOFはTime-of-Flightの頭文字です。しかし当時、MS専門家にも十分知られておらず、「TOFは何の頭文字？」「??」「それはToy of F(Physicist(物理学者のオモチャ)だ」といったジョークが話されていました。しかし、現在では、「Tool of Future(未来のための道具)」とも呼べる状況になっています。

1. TOFの時間軸スケールは？

最も単純なLinear型のTOF-MSで、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。イオンが速度 v でドリフト空間Drift Space距離 L を飛行するのに要する(検出器に到達する)時間 t は以下の式で表されます。

$$qV_0 = \frac{1}{2}Mv^2 \quad \text{-- 式(1)} \quad v = \sqrt{\frac{2V_0q}{M}} \quad \text{-- 式(2)} \quad t = \frac{L}{v} = L \cdot \sqrt{\frac{M}{2V_0q}} = L \cdot \sqrt{\frac{u}{2V_0e}} \cdot m/z \quad \text{-- 式(3)}$$

q : イオン電荷 (= z (イオン電荷数) $\cdot e$ (素電荷: 1.602×10^{-19} C)) M : イオン質量 (= $m \cdot u$ (統一原子質量単位: 1.6605×10^{-27} kg))
 v : イオン速度 V_0 : 電位差 L : 飛行距離

通常のMALDI-TOFMS装置定数($V_0=20$ [kV], $L=1$ [m])を式(3)に代入すると、各 m/z イオンの飛行時間 t は下記の様になり、極めて短時間に測定が終了することが分かります。その上、例えば $m/z=1,000$ 付近の $1u$ 飛行時間差が 10 ns以下となり、かつ m/z が大きくなるほど $1u$ 分のTOF時間間隔は狭まるので、極めて時間分解能の高い測定回路が必須であることが明らかです。

$V_0=20$ [kV], $L=1$ [m]の場合の各 m/z における飛行時間 t

<div style="border: 1px solid red; padding: 5px; width: fit-content;"> m/z 値が 100 倍になっても TOF 値は 10 倍になるだけ </div>	$m/z = 1,000 \rightarrow t = 16,097.5$ [ns]	<div style="border: 1px solid blue; padding: 5px; width: fit-content;"> $m/z: 1,000 \rightarrow 1,001$ の時間変化 (~8ns) よりも $m/z: 100,000 \rightarrow 100,001$ の時間変化が少ない (~0.8ns) </div>
	$m/z = 1,001 \rightarrow t = 16,105.5$ [ns]	
	$m/z = 100,000 \rightarrow t = 160,974.8$ [ns]	
	$m/z = 100,001 \rightarrow t = 160,975.6$ [ns]	

2. 1980年代のTOFMS測定技術

1980年代当時、Analog波形をDigital情報として記録するAnalog-to-Digital Convertor (ADC)市販技術は、おおよそ下記の性能でした。

- * 時間分解能: 10 ns (100MHz Digitizer)
- * 強度分解能(1回測定): 8bits (256)
- * 記録範囲: 8k Word長(8,192) ($t = 0 - 81,910$ nsに相当)
- * 積算方法: ソフトウェアを用いて逐次積算

すなわち、TOF-MSスペクトル記録のためには 全ての面において性能が大幅に不足していると思なされ、これが高性能TOF-MSを実現するための足かせになっていました。この様な問題点を解決するために開発されたのが LAMS-50Kです。

3. Multi-Stop TDCとは？

(当時の)ADCでは実現できない時間分解能を達成できる方法の1つが、Time-to-Digital Conversion (TDC)法です。

MALDI-TOFMSの場合、Pulse Laser光をPhoto Diode等で検出してStart信号とし、イオン検出器が電気信号に変換したイオン到達時刻をStop信号にします。TDC法は、この間を精度高く(最近の時間分解能: 10ps~1ns)計測し Digital値に変換します。

TDC法を概説する前に、TOF検出器からの出力波形の状態を概説します。

イオンが到達する時刻がたとえ一瞬(時間幅=0)であっても、電気信号に変換され伝送される間に波形が「鈍る」ため、ピークは大きなり小なり幅を持ち、波高値も異なります(図2「元の信号」参照)。これを一定の閾値Thresholdに到達した時間(Leading Edge Triggering: LET法)で検出すると、通常、ピークが到達した時刻を正確に測ったことになりません。この問題点を解決する方法の1つがCFD(Constant Fraction Discriminator)法です。

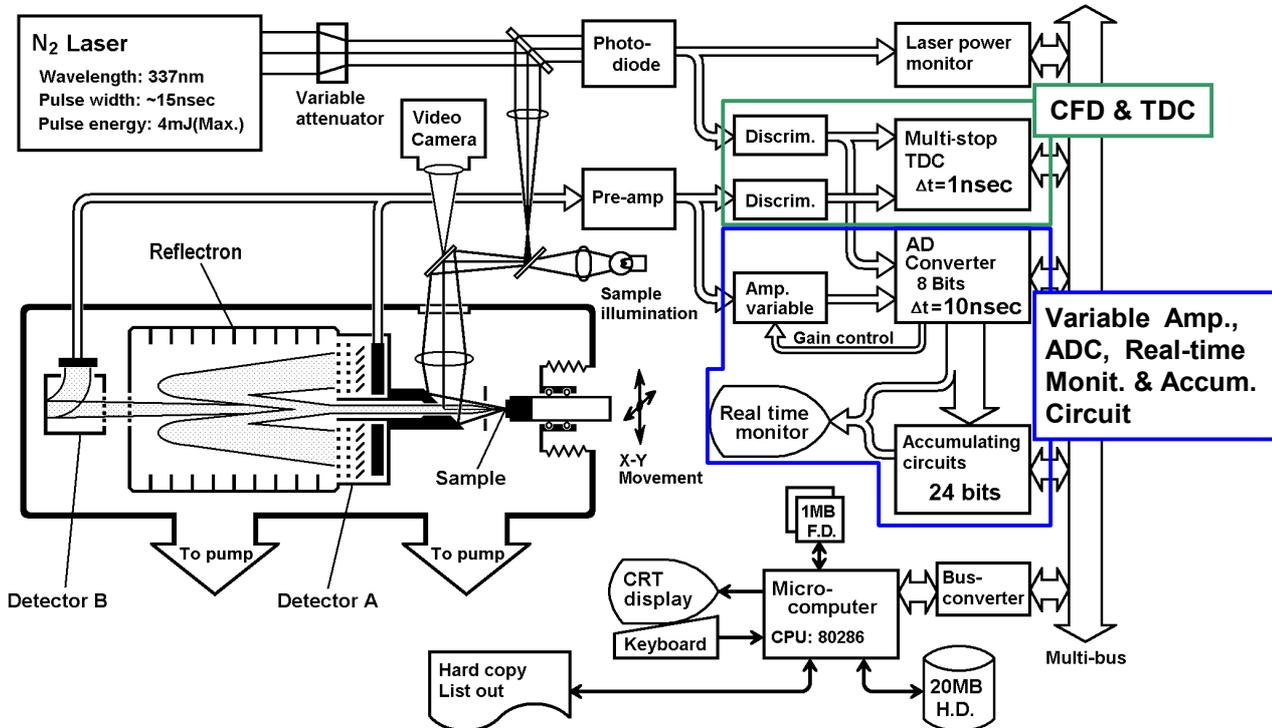


図1 LAMS-50K (LDI-TOFMS) Block Diagram (1985)

CFD法では、減衰波形(通常10~20%)と遅延反転波形を足し合わせ Zero Crossing Timeを検出すれば、波高値に影響されずにピーク到達時刻が計測できます。TDC法では、通常CFD法に類する波形前処理を必要とします。この様にして、Peak波高値の一定割合に達した時刻を正確に求めます。

参) CFD法は正確なTimingを取り出す優れた方法ですが、Noiseに影響されやすい傾向があるため、通常は別途「LET法でも検出」された場合のみに最終判断として「検出された」とする(論理)回路が用いられています。

通常 質量分析では、同時に多数種類のイオンを検出するため、CFDから出力されたStop信号は、数十~数千個になります。特にTOFMSでは m/z 範囲が広がります。LAMS-50Kでは、最大256個のMulti-Stop検出を可能とし、かつ測定するTime-Windowを最大8個設定可能とすることにより、(MA)LDI-TOFMSに適した広範囲 m/z ・高時間分解能測定を可能としました。

(多数回)測定結果は、図3の様に個々のピーク強度情報は失われたピーク到達時間分布を表すヒストグラムになります。個々のピーク幅の情報も失われるため、通常のADC法よりも見た目の分解能が向上します。

参) CFD・TDC法は、上記の様に正確なTimingを算出するために一定の時間Dead Time(LAMS-50Kの場合 43ns)を要します。このため、特に同位体分布を持つMSスペクトル測定など、強度・定量情報を厳密に求める場合には注意を必要とします。

参) 上記問題点があるため、TDC法は、主にイオンが離散的に到達する測定系(現在ではQ(qQ)-TOFMSタイプ)に適しています。

なお、TDC法は最も時間分解能の高い測定方法の1つであるため、現在でも素粒子現象の観測等に多用されています。

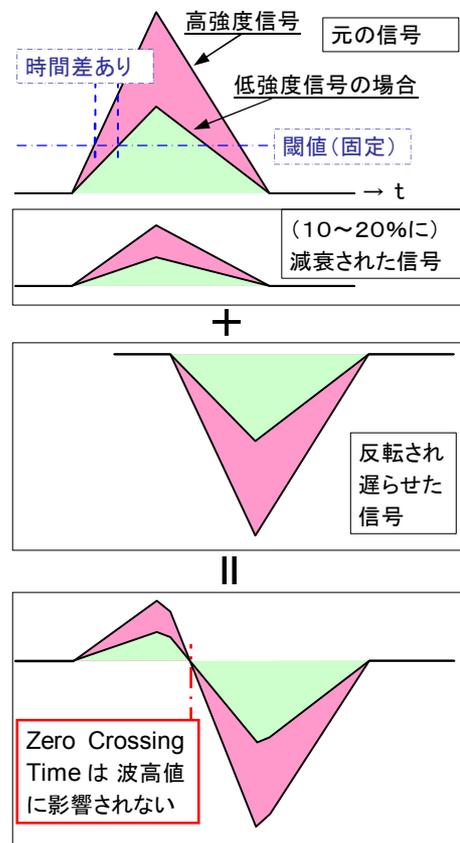


図2 CFD原理説明

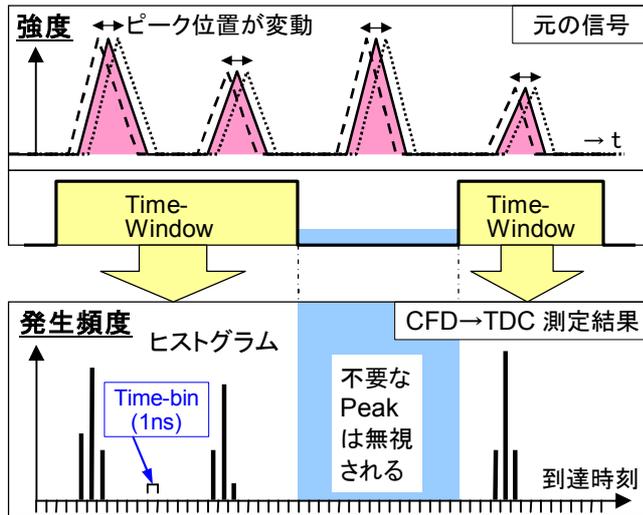


図3 Multi-Stop TDC 測定結果例

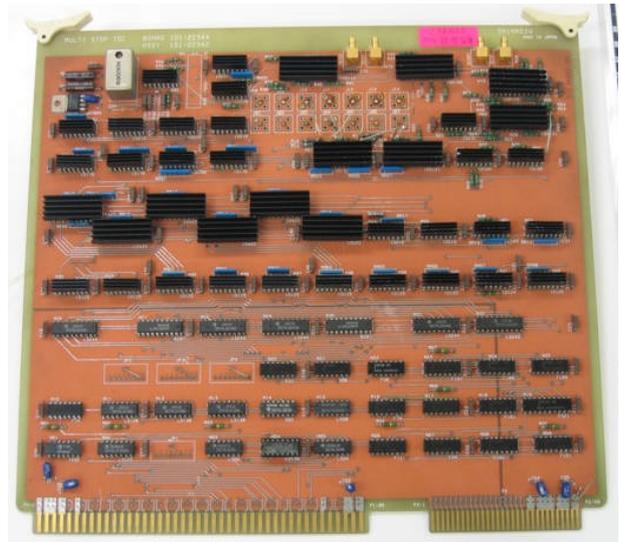


図4 Multi-Stop TDC 回路基板 (1985年製)

4. 高速ハード積算回路を含むADC

特に近年の質量分析装置に対し、広いDynamic Range(波形が歪められずに定量測定可能な範囲)とThroughput(単位時間に測定可能な試料数)の高さが求められています。TOFMSでは、通常1回測定では十分なS/N比と定量性が得られないため、数十～数百回のスペクトル積算を行いますので、測定速度とS/N比向上を両立させることは困難です。

1980年代当時の市販(卓上型)コンピュータの処理スピードは、現在に比べ1桁以上遅かったため、LAMS-50Kでは(Pipe-Line手法を採用した)専用の積算回路を開発し、8bit, 8k Wordの測定データを最速1kHzで(ハードウェアで)直接積算することを可能にしました。

更に、TOF信号入力側に増幅率可変アンプ(増幅率: x1, x2, x4, x8) Variable Amplifierを挿入(ソフトウェアで増幅率制御可能)し、かつ最大8個のTime-Windowを設定可能とし、広いTOF範囲の中から測定したい範囲を選び、個々の範囲に適切な増幅率(感度)を設定可能としました。更に、刻々と変化するTOFスペクトルをReal-TimeでMonitorする機能も付加しました。

これらの設定により、(当時の技術としては限界があった)縦軸・横軸の制限を極力緩和することが可能となりました。

参) 図5の基板上に引き回されている白い線は、同軸ケーブルです。

基板表面の銅薄膜による配線では、複数同時に送受信すべき信号Channel全てに対し、引き回しの道のりやインピーダンスを同一に保つことは困難であり、Cross-Talk(信号が漏れ出す/入る問題点)も発生する可能性があります。信号が外に漏れず、かつ8 Channel信号全てを同時に、歪みが極力少ない状態で伝送させるために、同軸ケーブルが用いられました。同様の手法は、TDC回路にも用いられています。当時、遅延時間を正確に発生させる(安価な)Deviceはありませんでした。TDCでは、Delay Time: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7[ns] 8種類($\Delta t=1\text{ns} \times 8$ 個のTime-bin)を生成させるため、(図4の裏側に)1ns \div 300mm(最大 \sim 2100mm)の同軸ケーブルを取り付けています。

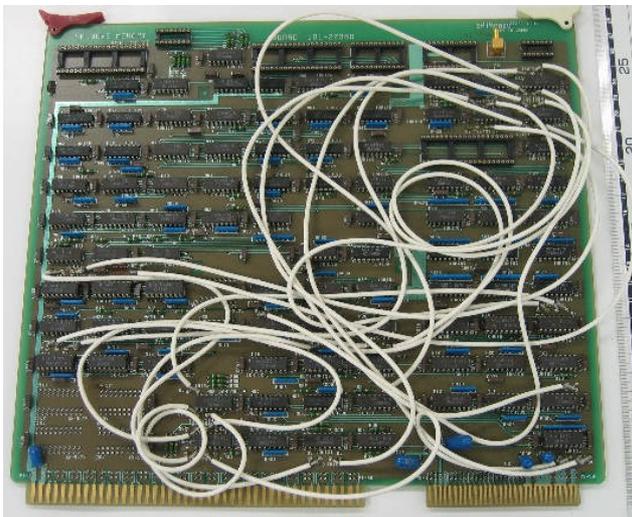


図5 100MHz ADC回路基板 (1985年製)



図6 1kHz 積算回路基板 (1985年製)

5. 2000年代のTOFMS測定技術

1980年代から2000年代になり、Electronics技術の発展に伴ってTOF測定能力も概して1桁以上向上しました。特にADC時間分解能と記憶容量の大幅な向上により、現在では大部分のTOF測定がADCで行われています。現在のおおよその性能は、以下の通りです。

- * 時間分解能: 0.25~1ns (4GHz~1GHz Digitizer)
- * 強度分解能(1回測定): 8bit~12bit (256~4,096)
- * 記録範囲(最大): 1M Word長
- * 積算方法: ハードウェア・ソフトウェアを用いて積算

図7は、元々Analog波形(点線で表示)であったTOFスペクトルが、時間と強度の分解能が各々2倍になった場合に波形再現性がどれだけ向上するか? シミュレーション結果を示しています。

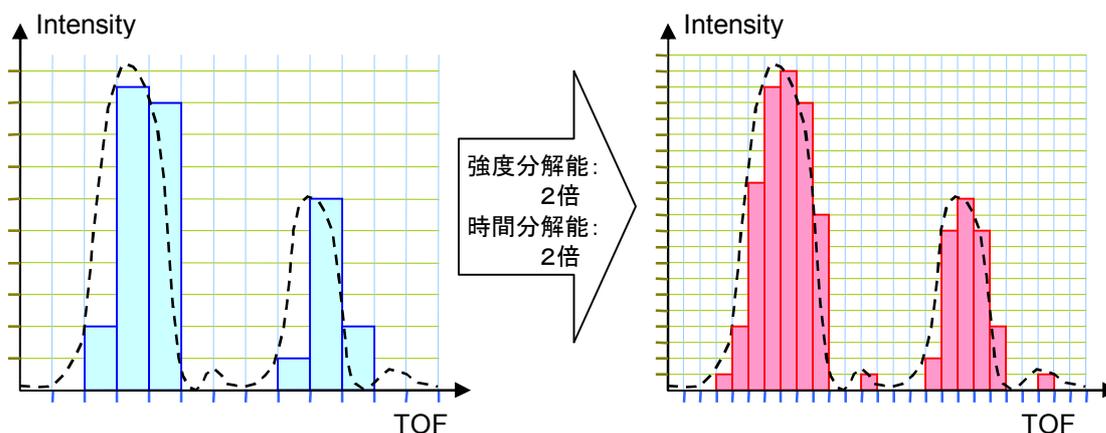


図7 時間・強度分解能増大(各々2倍化)に伴うアナログ波形再現性の変化

6. 測定回路の性能向上のみで 高精度測定が可能?

現在、一部の製品に限られますが、TOFMSでも m/z 精度(Max.): 数ppm* が達成されています。

通常、MS装置に用いられている金属は ステンレスやアルミニウムであり、各々の293K(20°C)での熱(線)膨張率(式(3)ではLの膨張率)は、下記の様になります。

18-8系ステンレス: 14.7 ppm*/deg, アルミニウム(ジュラルミン系): 21.6 ppm*/deg --- 理科年表より

式(3)の関係より、Lの膨張→ TOFの遅延→ m/z のずれ(誤差)になり、On-line測定で求められる長時間高精度性能を確保するためには、温度を一定に保つなどの特別な工夫が必要です。

*ppmとは: pert per millionの略。100万分の1(10^{-6})を意味する。濃度・存在比の単位として一般に知られているが、ここでは(真値からの)誤差や物理量の変化を表す単位として用いている。

図8は、LC-ESI-QIT-TOFMS(製品名: LCMS-IT-TOF)の断面模式図です。この装置では、温度変化によるTOFMS部伸縮とTOFMS用高圧電源の出力値変動を抑制するため、装置の温度調整(内部温度を一定に保つ)を行っています。これにより、MSⁿ全てのモードに渡って 数ppmの質量精度を達成しています。

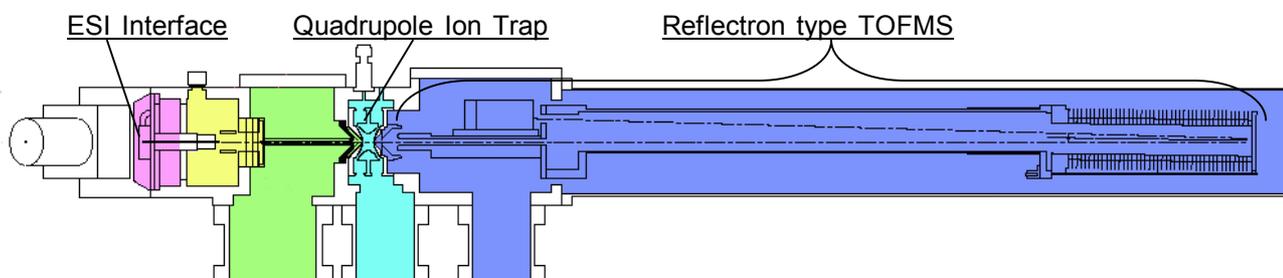


図8 LC-ESI-QIT-TOFMS 断面模式図

< 参考文献 >

1. 秋田, 田中, 井戸, 吉田, 吉田, 質量分析連合討論会予稿集, 1B-2 (1987)