

飛行時間型質量分析

技術概要

はじめに

飛行時間型質量分析 (TOF MS) は、1940 年代に開発された技術ですが、1990 年代になるまでは、その普及は限られたものでした。最近では、直交加速、イオンミラー (リフレクトロン)、高速エレクトロニクスといった TOF 技術が改良されたことで、TOF の分解能は大幅に向上しています。この分解能の向上と、堅牢性に定評のあるイオン源や四重極マスフィルタ技術により、Q-TOF GC-MS は、ガスクロマトグラフィー分離が可能な低分子の分析に用いられる主要な技術となっています。

この技術概要では、以下のことを説明しています。

- 直交加速飛行時間型 (oa-TOF) 質量分析計の動作の基本原理
- TOF 質量分析の飛行時間および基本方程式
- TOF 測定サイクル
- アナログ/デジタルコンバータ (ADC) およびタイム/デジタルコンバータ (TDC) という 2 つの主要 TOF デジタイザの利点の比較
- 質量精度の理論上および実際の限界
- ダイナミックレンジに関する考慮点



Agilent Technologies

oa-TOF MS の動作の基本原則

直交加速飛行時間型質量分析計 (oa-TOF MS) は、さまざまなイオン源と連結できますが、ここでは電子イオン化および化学イオン化 (EI および CI) イオン源を用いた oa-TOF MS を主に取りあげます。第 1 の真空チャンバに設置されたこれらのイオン源から出たイオンは、第 2 の真空チャンバにあるマスフィルタに導入されます。マスフィルタは、ヘキサポールコリジョンセルに続いています。ヘキサポールコリジョンセルは、6 つの並行する小さな金属ロッドのセットで、イオンが通過できる共通の開口軸を備えています。ロッドに高周波 (RF) 電圧をかけると、電場が発生し、特定の質量を超えるイオンがロッドセット中央の開口部に閉じ込められます。セル内のコリジョンガスにより、衝突誘起解離 (CID) が生じます。図 1 に、oa-TOF 質量分析計である Agilent GC Q-TOF の略図を示しています。イオン源で生成されたイオンは、マスフィルタにより質量選択され、高い運動エネルギーにまで加速してからコリジョンセルに入り、そこで衝突誘起解離 (CID) を受けます。

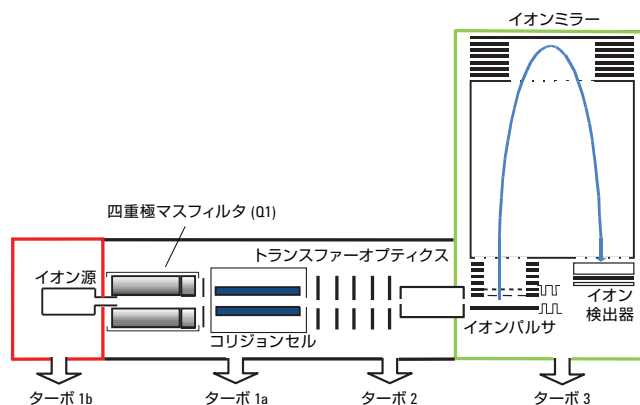


図 1. Agilent GC Q-TOF 質量分析計のイオン源、イオンオプティクス、マスフィルタ

コリジョンセルを出たイオンは、トランスファーイオンオプティクスによりイオンビームが最適平行に保たれている領域に入り、コリジョンセルの過剰なガスが除去されます。イオンビームの平行性が高いほど、より高い分解能が得られます。平行ビームの形状になったイオンは、1 対のスリットを通過して、第 3 (最後) の真空ステージに入ります。そこで、飛行時間質量分析がおこなわれます。各イオンの質量は、飛行時間をもとに割り当てられるので、このステージのバックグラウンドガス圧力は、きわめて低いものでなくてはなりません。残留するバックグラウンド分子とイオンが衝突すると、イオンの飛行時間が変化し、質量割り当ての精度に影響が出ます。

飛行時間型質量分析計では、ほぼ平行になったイオンビームは、まずイオンパルサを通過します。このパルサはプレートがスタック状になったもので、各プレートの中央に穴が開いています (バックプレートを除く)。イオンは、バックプレートと最初のプレートの間にあたる側面から、このスタックに入ります。イオンの検出器への飛行を開始させるためには、高電圧 (HV) パルスをバックプレートに印加します。こうしてパルサプレートのスタックを通過しながらイオンが加速していきます。イオンパルサを出たイオンは、長さ 1 m ほどのフライトチューブを通過します。フライトチューブの反対側には、2 ステージ静電イオンミラーがあり、これがイオンの移動方向をイオンパルサのほうへ逆転させます。2 ステージミラーには、入口の部分と奥の部分に、2 つの

明確な電位勾配があります。これにより、検出器でのイオンの2次タイムフォーカスが向上します。イオンは特定の水平運動量をもってイオンパルサに進入するため、飛行中に垂直方向の移動を続けると同時に水平方向にも移動します。そのため、イオンはイオンパルサに跳ね返されず、そのまま検出器に到達します。

図2は、検出器の概略を示しています。検出器の第1ステージは、マイクロチャンネルプレート (MCP) です。これは、多数の精密微細チューブ (チャンネル) が穿孔された薄いプレートです。十分なエネルギーをもつイオンが MCP に衝突すると、1つまたは複数の電子が解離します。各マイクロチャンネルは、エレクトロンマルチプライアとして機能します。電子が MCP を出る時点では、進入した各イオンにつき、およそ10個の電子が存在する状態になります。MCP を出る電子は、加速してシンチレータに到達します。電子が衝突すると、シンチレータは光子を放出します。シンチレータの放出した光子は、光学レンズを通過して集束し、フォトマルチプライアチューブ (PMT) に到達します。PMT は光子の数を増幅し、光子の数に比例した電気信号を生成します。

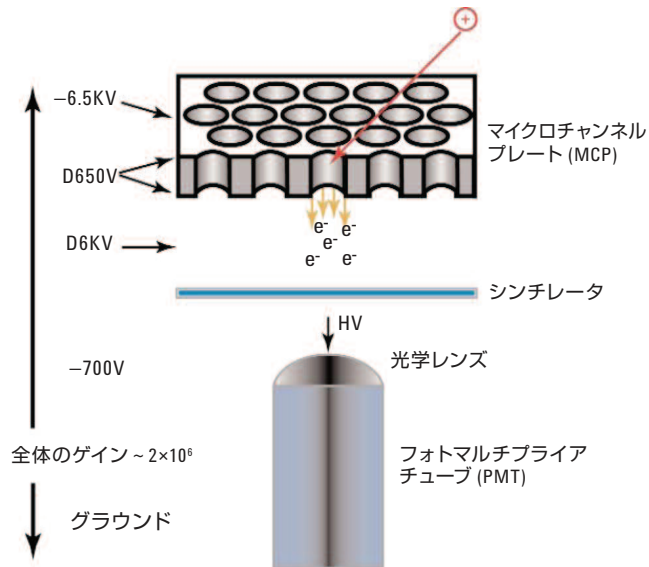


図2. ポジティブイオンに対する場合の TOF 検出器の電位

このように、電気信号を光学信号に変換し、また電気信号に戻すのは、およそ -6,500 ボルトのフライトチューブと検出器前部を、グラウンド電位の信号を出す PMT から電気的に分離するためです。

飛行時間と質量の関係

飛行時間の方程式

飛行時間は質量によって固有のもので、イオンパルサのバックプレートに高電圧が印加された時点で飛行開始し、イオンが検出器に衝突した時点で終了します。飛行時間 (t) は、イオンが加速されるエネルギー (E)、イオンが移動する距離 (d)、質量 (厳密には質量電荷比) により決定されます。飛行時間分析に適用される方程式としては、2つの式が広く知られています。そのうちの1つは、運動エネルギーに関する方程式です。

$$E = 1/2mv^2$$

これを m で解くと、次のようになります。

$$m = 2E/v^2$$

v で解くと、次のようになります。

$$v = \sqrt{2E/m}$$

この方程式から、運動エネルギー E が一定の場合、質量が小さいほど速度が大きくなり、質量が大きいほど速度が小さくなるのがわかります。飛行時間質量分析計では、まさにその通りのが起きています。図3に示すように、質量の小さいイオンのほうが、検出器に早く到達します。速度よりも、イオンが検出器に到達するのにかかる時間のほうが、ずっと簡単に測定できます。

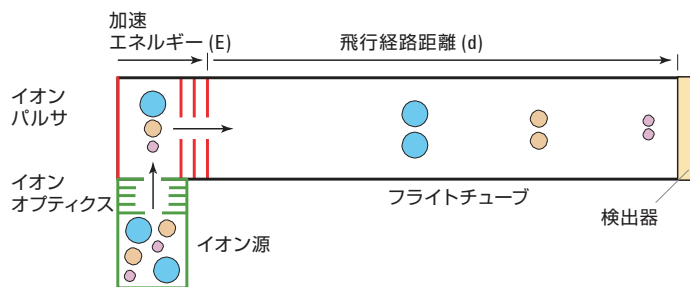


図3. 各種の質量をもつイオン (単一電荷) の飛行時間分析。わかりやすく単純にするために、ここではイオンミラーのない直線飛行時間型質量分析計を示しています

2つ目の方程式は、速度 (v) が距離 (d) を時間 (t) で割ったものに等しいことを示す、おなじみの公式です。

$$v = d/t$$

1つ目の式と組み合わせると、次のようになります。

$$m = (2E/d^2)t^2$$

この式から、飛行時間の基本的な関連性がわかります。エネルギー (E) と距離 (d) が一定の場合、質量はイオンの飛行時間の二乗に比例します。oa-TOF 質量分析計は、イオンにかかるエネルギー (E) とイオンが移動する距離 (d) の値が一定になるように設計されています。そのため、飛行時間を正確に測定すれば、正確な質量の値が得られます。これらの項が一定の場合、A という 1 つの変数にまとめられ、次のように表されます。

$$m = At^2$$

この方程式は、イオンの飛行時間と質量の関係を決定するのに最適です。飛行時間と質量は二乗の関係にあるため、観測されたイオンの飛行時間が 2 倍になれば、質量は 2 倍ではなく、4 倍になります。

実際には、制御エレクトロニクスが開始パルスを送ってから、高電圧がイオンパルスのバックプレートに印加されるまでに、遅延が生じます。また、イオンが検出器の前面に到達してから、イオンの生成するシグナルが採取エレクトロニクスによりデジタル化されるまでにも、遅延が生じます。こうした遅延はごくわずかですが、重要なものです。実際の飛行時間を測定することはできないため、開始時および終了時の遅延時間の合計を減算し、測定時間 t_m を補正する必要があります。遅延時間の合計は、 t_0 で表されます。

$$t = t_m - t_0$$

この減算を考慮すると、実際の測定に適用される基本公式は、次のようになります。

$$m = A(t_m - t_0)^2$$

質量較正

測定した飛行時間 t_m を質量に変換するためには、A と t_0 の値を決定しなければなりません。そのため、キャリブレーションを実施します。正確な質量がわかっている化合物の溶液を分析します。その後、飛行時間と、それに対応する既知の質量をまとめた簡単な表をつくります。以下に、表の例を示しています。

表 1. TOF 質量較正

| キャリブレーション化合物の質量 (u) | 飛行時間 (μsec) |
|---------------------|-------------|
| 49.99626 | 13.2900 |
| 68.99466 | 15.8984 |
| 130.99147 | 20.8786 |
| 218.98508 | 26.6954 |
| 263.98656 | 29.2101 |
| 413.97697 | 36.3206 |
| 501.97058 | 39.8914 |
| 613.96421 | 44.0092 |

質量範囲全体の多くの値について m と t_m が得られたら、機器からデータを受信したコンピュータが計算をおこない、 A と t_0 を算出します。キャリブレーションミックスの 8 つの質量値のすべてについて、以下のキャリブレーション方程式の右側の項が、

$$m = A(t_m - t_0)^2$$

左側の項 (m) とできるだけ近くなるように、非線形回帰を用いて A と t_0 を決定します。

この最初に決定された A と t_0 の値はきわめて正確ですが、飛行時間質量分析で最高の質量精度を得るためには、十分に正確とはいえません。そのため、2 つ目のキャリブレーションステップが必要となります。キャリブレーション係数 A と t_0 が決定されたら、較正質量の実際の質量値と、方程式を用いて計算した値を比較します。通常、これらの値の差は、わずか数 ppm 程度です。この差が小さく、時間が経っても比較的一定に保たれるため、セカンドパス補正により、さらに厳密な質量較正をおこなうことが可能です。このキャリブレーションは、質量範囲全体の小さな差を補正する方程式を用いておこなわれます。この補正方程式 (高次多項式関数) は、機器較正の一部として保存されます。機器上の要因をすべて無視した場合、この 2 ステップのキャリブレーションメソッド後にも残る質量エラーは、通常は較正質量範囲全体で 1 ppm 以下です。

リファレンスマス補正

精密質量較正は、精密質量測定を実現するための最初の一步です。3 ppm レベル以下の質量精度を得ることが目標の場合は、イオンに適用するエネルギーのごくわずかな変化でさえも、大きな質量の変動を引き起こすことがあります。しかし、リファレンスマス補正を用いれば、こうした要因を相殺することができます。このテクニックでは、質量のわかっている 1 つまたは複数の化合物を、サンプルと同時にイオン源に導入します。この既知の質量を標準として用いて、機器ソフトウェアが未知の質量の測定値を継続的に補正します。

内部リファレンスマス (IRM) 補正は、Agilent Q-TOF GC-MS では自動化されているテクニックです。リファレンスマスを導入する際には、ヘリウムガス流により、揮発性のリファレンスマス化合物を保管球からイオン源に流します。質量分析計のコントロールソフトウェアには、これらのリファレンス化合物イオンの精密質量の表が編集可能な形で掲載されています。飛行時間型質量分析計で各スペクトルが採取されている間に、これらの既知の質量が特定され、 A と t_0 の値がふたたび最適化されます。保存された各スペクトルには固有の A と t_0 があるため、ごく小さい機器の変動でも、ソフトウェアにより補正することができます。その後、これらの値と、上で説明した 2 番目のキャリブレーションステップで得られた補正方程式 (高次多項式関数) を用いて、各スペクトルが補正されます。質量範囲におけるごくわずかな変動は、時間を経てもほぼ一定に保たれるため、質量方程式の決定は 1 回だけで十分です。2 つの未知係数 A と t_0 を決定するためには、2 つ以上の既知質量の成分がリファレンス化合物に含まれている必要があります。

TOF 測定サイクル

TOF 測定は、イオンパルスに印加された単一のパルスによるイオンの到達時間だけではなく、多くのパルスで得られたシグナルの合計をもとにおこなわれます。高電圧がイオンパルスのプレートに印加されるたびに、データ採取システムにより、単一トランジェントと呼ばれる新たなスペクトルが記録されます。総数があらかじめ設定された数になるまで、この新たなスペクトルが過去のトランジェントに追加されます。求められるスキャンスピードが1 スペクトル/秒の場合、機器のデータをホストコンピュータに戻してディスクに書き込むまでに、およそ 10,000 にのぼるトランジェントを合計することができます。目的のアプリケーションが高速クロマトグラフィーを伴う場合は、スキャンスピードが速くなるため、合計されるトランジェントは少なくなります。

イオンパルスが起動する 1 秒あたりの回数と、記録されるトランジェント数は、質量範囲によって制限されます。イオンパルスが 1 回起動したあとは、最後の分析対象質量が検出器に到達するまで、次のイオンパルスの起動を待つ必要があります。そうでなければ、1 回目のトランジェントの重いイオンよりも早く、2 回目のトランジェントの軽いイオンが検出器に到達し、スペクトルがオーバーラップすることになります。

表 2 では、一部の質量について、おおよその飛行時間と可能なトランジェント数を示しています。これらの値は、2 m の飛行距離と、6,500 ボルトの飛行電位について算出したものです。この条件下では、800 m/z のイオンの飛行時間は、約 0.05 ミリ秒 (msec)、つまり 50 マイクロ秒 (μ sec) になります。トランジェント間の遅延時間はほぼないため、800 m/z の質量範囲に対応する 1 秒あたりのトランジェント数は、20,000 ということになります。質量範囲が小さくなると、イオンパルスのトリガースピードを上げることができます。たとえば、質量 200 m/z (800 m/z の 4 分の 1) の場合、飛行時間は $0.050 \text{ msec}/4$ (0.025 ミリ秒) と短くなるため、質量範囲 200 m/z では、1 秒あたり 40,000 のトランジェントを記録できます。逆に、トランジェントを 0.075 ミリ秒にすると、質量範囲は 2 倍の 1,600 m/z になります (質量は時間の二乗の関数)。

表 2. 質量の関数としての飛行時間とトランジェント/秒

| m/z | 時間 (μ sec) | トランジェント数 |
|-------|-----------------|----------|
| 200 | 25 | 40,000 |
| 800 | 50 | 20,000 |
| 1,600 | 75 | 14,000 |

トランジェントはきわめて短いため、任意のトランジェントにおいて特定化合物から生じる特定質量のイオンの数は、一般にきわめて少なくなります。多くの oa-TOF 機器では、この数は平均で 1 を大きく下回ります。この点は、現代の商用機器におけるデータ採取システムの基本設計に大きく影響しています。

到達イオンのデジタル記録

各イオンは、ある特定の一瞬に検出器に衝突しますが、これを完璧にデジタルデータに変換するのは困難です。検出器シグナルをデジタルデータに変換する方法としては、2つの基本的なアプローチが用いられています。Agilent Q-TOF GC-MS で用いられているアナログ/デジタルコンバータ (ADC) と、他の多くの商用 TOF システムで用いられているタイム/デジタルコンバータです。次の 2 セクションでは、この 2 つのアプローチを説明します。

アナログ/デジタルコンバータシステム

アナログ/デジタルコンバータ (ADC) の機能は、イオン検出器から来たシグナルをデジタルで表現することです。ADC がイオンの正確な到達時間を決定するものではありません。ADC は単なる記録装置 (レコーダー) です。データレコーダーである ADC は、増幅された検出器のアウトプットを一定の間隔でサンプリングします。Q-TOF GC-MS の場合、この間隔は 1.0-0.25 ナノ秒 (10^{-9} 秒) です。これを周波数に変換すると、1~4 ギガヘルツ (GHz) または 10 億サイクル/秒ということになります。各サイクルの間に、検出器アウトプットのシグナル強度がデジタル値に変換されます。このデジタル値は、8 ビットで表されます。これはダイナミックレンジでは 2^8 カウント、または 10 進表で表すと、0~255 カウントになります。採取システムがパルサを起動させるシグナルを出すと、ADC は検出器アンプリファイアから到着するシグナルの変換を開始し、一連の変換をメモリに保存します。パルサが起動するたびに、すでにメモリに記録されている前回トランジェントの値に、新たな測定値が追加されます。このように使用する場合、ADC は積分式トランジェントレコーダーと呼ばれます。

ADC では、検出器アンプリファイアをゼロに近い値にして (アンプオフセット)、イオンシグナルが存在しないときにはゼロシグナルが記録されるようにする必要があります。そうしないと、イオンシグナルが存在しない場合のシグナルにより、システムノイズが増加してしまいます。検出器とアンプリファイアのゲインは、個々のイオンが最低 1 カウントと記録されるように、十分な高さにする必要があります。実際には、ゲインは通常、イオンあたりの平均カウント数が 1 を上回るように設定されます。アジレントの Q-TOF GC-MS では、オートチューンルーチンにより、こうした条件を満たすように、検出器ゲインとアンプオフセットパラメータが自動的に設定されます。

TDC 採取システム (次のセクションで説明) と比べた場合の ADC 採取システムの利点は、1 回のトランジェントにおいて、特定の質量をもつ複数のイオンが検出器に到達する場合に顕著になります。検出器はアナログ装置で、ほぼ同時に到達した複数のイオンのシグナルをまとめて増幅します。8 ビットの ADC では、図 4 に示すように、このシグナルの上下動が、質量ピークのデジタルプロフィールに変換されます。連続する各トランジェントが、メモリ内の値として蓄積されます。この値は、イオン電流の大小にかかわらず、検出器のアウトプットシグナルを正確に表すものです。次のセクションでは、TDC ではこうしたダイナミックレンジを得られない理由を説明します。

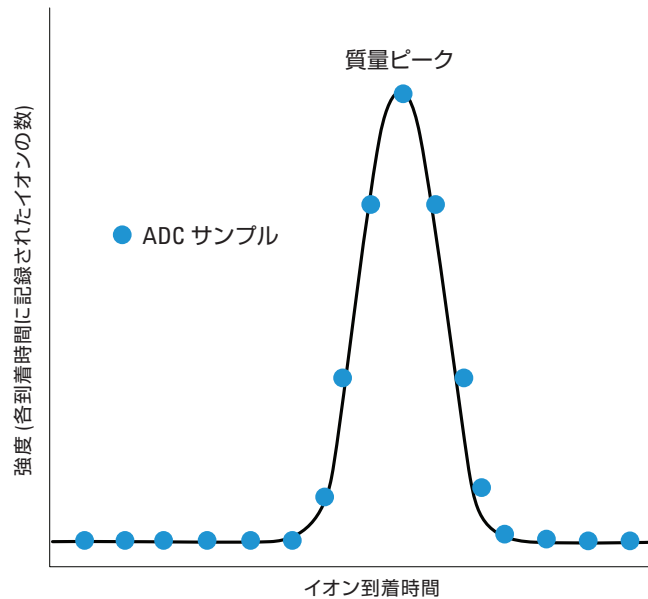


図 4. ADC は、1 回のトランジェントで複数のイオンを記録できるので、イオンシグナル強度を正確に追跡できます

タイム/デジタルコンバータシステム

タイム/デジタルコンバータ (TDC) は、TOF シグナルをデジタル化する 2 つ目のアプローチです。TDC 採取システムは、弁別器からスタートします。弁別器は、特定レベルのシグナルが到達したときにトリガーシグナルを発する電子装置です。この弁別器のトリガーシグナルは、飛行時間を記録するカウンターにより記録されます。短いデッドタイムの後、弁別器とカウンターは次に到着するイオンを記録する態勢を整えます。

弁別器は質量ピークの立ち上がりでトリガーを発するため、TDC システムには、検出器やアンプリファイアに起因する質量ピークの拡散を排除できるという利点があります。一方の欠点は、ダイナミックレンジのロスです。弁別器は到着するイオンシグナルの立ち上がりでトリガーを発するため、検出器シグナルの剰余が無視され、シグナルの元が 1 つのイオンでも複数のイオンでもレスポンスは同じになります。TDC はイオンの到着だけを記録し、イオンの数は記録できません。トランジェントの反復速度が高く、トランジェント 1 回あたりの任意の質量におけるイオンの平均数は 1 を大きく下回るため、一般にはこうした点はそれほど問題になりません。しかし、イオン源やイオンオプティクス効率が高くなると、トランジェント 1 回における任意の質量のイオン数が増加し、測定結果に影響が出るようになります。

この点を説明するために、TDC 採取システムを用いた Q-TOF に相当する架空の機器を見てみましょう。図 5 は、1 回のトランジェントで到着する 1 化合物のイオン数と、サンプル量の関連性を示しています。TDC では、1 回のトランジェントにおいて一定質量のイオンが複数到着する事実を反映できないため、サンプル濃度が 1,000 ピコグラムを超えると、架空の TDC システムでは、シグナルレスポンスが上昇しなくなります。

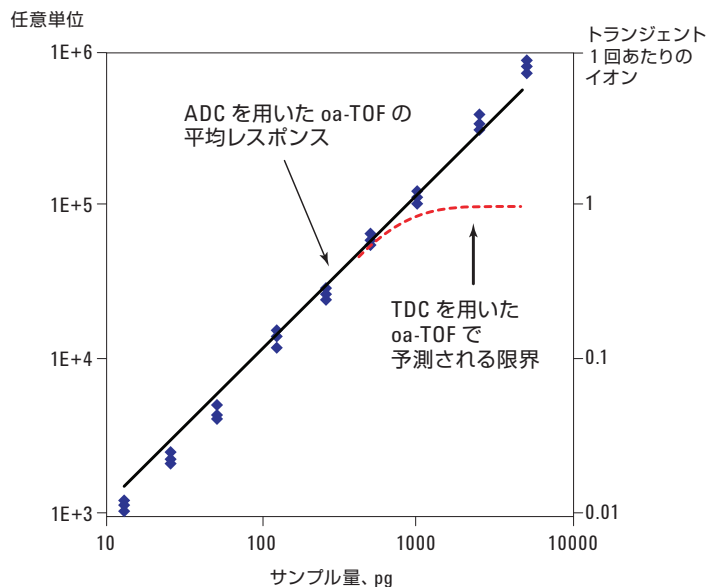


図 5. TDC の限界を示す、サンプル量とトランジェント 1 回あたりのイオン数の関連グラフ

TDC 採取システムの 2 つ目の問題は、高イオン電流において、イオン到着時間の測定値に変動が見られることです。1 回のトランジェントにおいて、特定質量のイオン 1 つが検出器に到着する場合、TDC はカウンターの分解能の範囲内で、正確な到着時間を記録します。同じ質量をもつ複数のイオンが (機器の分解能により測定可能な) わずかに違う時間に到着した場合、検出器のシグナルが閾値を下回る値に戻っていなければ、2 つ目のイオンは弁別器を反応させることができません (図 6 参照)。この現象と、それに伴う弁別器やカウンターのリセット時間は、TDC デッドタイムと呼ばれます。TDC デッドタイムは、正確なイオンの平均到着時間を測定しようとする場合に、大きな影響を及ぼすことがあります。TDC デッドタイムの間に、多くの数のイオンが検出器に到着したら、到着分布の平均が変動することになります。この場合のイオン到着時間は、任意のトランジェントにおいて到着する 2 つ目のイオンが常にカウントされないため、常に短くなる方向に変動します。見かけの到着時間の変動はそのまま質量の値に反映され、到着時間が短くなると質量値は小さくなります。ppm レベルの精度で精密質量測定をする場合、わずか数個のイオンを見落とすだけでも、測定結果に大きな影響が出る場合があります。

TDC システムで使用される弁別器には、さらに第 3 の問題があります。各イオンの到着時間においては、測定可能な幅をもつピークが生じます。ADC システムの場合、このピークは、1 回のトランジェントにおける複数のポイントにより記録されます。これらのポイントを用いれば、数学的な重心法により、高い精度で到着時間を計算することができます。重心法を利用すれば、オリジナルのデータポイントで得られるものよりも高い分解能で、イオンの到着時間を算出することが可能です。TDC システムでは、イオンの到着は単一の値として捕捉されます。そのため、同様の時間分解能を得るためには、データ採取の間の時間を短くする必要があります。到着プロフィール情報が得られない TDC システムでは、同様の質量精度を得るためには、飽和効果が生じていない場合でも、高いサンプリングレートで測定しなければなりません。

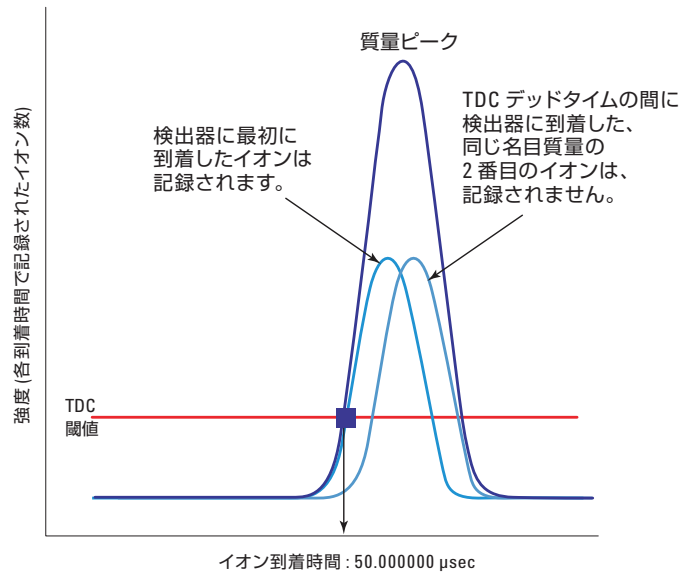


図 6. ポジティブイオンに対する場合の TOF 検出器の電位

質量精度の理論上および実際の限界

採取システムが TDC でも ADC でも、メモリに蓄積されたシグナルの到着時間は、各トランジェントの質量測定値の重心を求めることにより決定されます。TDC の設計は、各イオンの到着時間を個別に測定することに重点が置かれていますが、名目上の到着時間は、すべてのトランジェントを合わせた集団の平均 (重心) ということになります。重心の決定の精度については、いくつかの限界があります。

イオン統計

1 つ目の理論上の限界は、測定されるイオンの数とその時間分布によるものです。分布幅が狭く、十分な数のイオンが存在する場合は、シグナルは静かで安定したものになるため、重心や平均を正確に求めることができます。その際の公式は、以下のようになります。

$$\sigma = 10^6 / (2.4 * R * \sqrt{n})$$

σ は測定結果の標準偏差、R は質量分析計の分解能、n は質量ピークで検出されたイオン数です。ここで、95 % の信頼度と 3 ppm の 2σ 質量精度が求められると仮定します。その場合、分解能を 10,000 ($1\sigma = 1.5$ ppm) とすると、約 1000 個のイオンが必要ということになります。重心スペクトルのイオン数を増やすためには、一般には、データ解析ソフトウェアを用いて、溶出したクロマトグラフィーピークの幅全体でスペクトルを平均化します。

ここで注意しなければならないのは、oa-TOF に高速スキャンサイクル機能が備わっている一方で、スキャン時間を短くすると、トランジェント数が少なくなるという点です。トランジェント数が少なくなると、精密質量測定に必要なイオンの集積が低下します。高速スキャンと精密質量分析は、相反する性能目標です。精密質量測定が最も容易になるのは、低速のスキャン条件下です。

ケミカルバックグラウンド

質量精度の限界を決める 2 つ目の重要な要素は、ケミカルバックグラウンドです。TOF では、高い分解能のおかげで、分析対象ピークがバックグラウンドと混ざり合う可能性は低くなりますが、分離されない不純物がわずかに存在するだけでも、予想質量の重心が変動することがあります。この影響の大きさは、簡単な加重平均計算で見積もることができます。

$$\Delta_{\text{obs}} = \frac{\Delta_{\text{contaminant}} \text{Abd}_{\text{contaminant}}}{(\text{Abd}_{\text{contaminant}} + \text{Abd}_{\text{sample}})}$$

記号の説明

Δ_{obs} は、観察された質量の変動 (単位 ppm)。

$\Delta_{\text{contaminant}}$ は、サンプルと汚染物質の質量差 (単位 ppm)。

$\text{Abd}_{\text{contaminant}}$ と $\text{Abd}_{\text{sample}}$ は、汚染物質およびサンプルの質量ピーク高さまたは面積。

たとえば、分解能が 10,000 で、サンプルと汚染物質の質量差が 50 ppm、相対質量ピーク高さが 10:1 (サンプル対バックグラウンド) の場合、観察される質量の変動は $50 \times 1/(1+10)$ 、つまり約 5 ppm になります。

ケミカルバックグラウンドを低減する対策は数多くあります。1 つ目の対策は、イオン源の交換や洗浄です。Agilent Q-TOF GC-MS のイオン源設計では、イオン源領域が質量分析計の真空システムから切り離されているため、イオン源の交換や洗浄の際にも、質量分析計のベントをする必要がありません。2 つ目は、極めて純度の高いガスを必ず使用することです。3 つ目は、GC インジェクタ/ライナ、カラム、MS イオン源に関して、定期的かつ体系的な洗浄/交換プログラムを遵守することです。こうした対策をとれば、最高品質の質量測定が可能になります。

ダイナミックレンジ

ダイナミックレンジは、さまざまな方法で測定できます。おそらく、質量分析の場合、もっとも正確な定義となるのが、インスキャン条件でしょう。これは、単一スペクトル内のダイナミックレンジで、使用可能な最大および最小の質量ピークのシグナルアバウンダンス比として定義されます。

ダイナミックレンジをインスキャン定義に限ったとしても、上限と下限を決定しなければなりません。その場合、理論上と実際の両方の限界を考慮する必要があります。理論上では、単一のイオンを検出することができますが、現実には、ほとんどの場合、ごくわずかなケミカルバックグラウンドが混在します。実際の限界は、アプリケーションによって異なります。たとえば、機器を精密質量測定に使用する場合、下限は、精密質量を得られる最小サンプル量により決まります。

最小サンプル量を決定するには、イオン統計にもとづく限界を考慮する必要があります。目標の質量精度を 5 ppm と仮定し、単一の非平均スペクトルにもとづく信頼度 (1σ) を 67 %、許容されるキャリブレーションエラーを 1 ppm とした場合、 $1\sigma = 4$ ppm となります。分解能を 10,000 と仮定すると、測定には約 200 個のイオンが必要となります。この計算は、イオン統計と分解能にもとづいていて、採取技術とは無関係です。また、測定値がバックグラウンド汚染による影響を受けない有意な感度 (シグナル/ノイズ比) が存在することを前提としています。

精密質量測定が可能な上限値を決定する際には、採取システムの種類を考慮する必要があります。TDC システムの場合、特定質量におけるトランジェント 1 回あたりイオン 1 つという理論上の限界が存在します。ADC システムの場合、検出器ゲインによって異なりますが、1 回のトランジェントで、特定質量の多くのイオンを精密に測定できます。Q-TOF オートチューンソフトウェアは、検出器ゲインをターゲットとして、5 カウントの平均イオンレスポンスを決定します。したがって、8 ビットまたは 225 カウントの ADC の場合、1 回のトランジェントで、特定質量について最大 50 のイオンを測定できることとなります。

TDC システムと ADC システムのいずれについても、精密質量測定が可能な上限値の制限要因となる、実際上の考慮事項が存在します。TDC システムの場合、トランジェント 1 回において特定質量のイオン 1 つというレベルに到達するよりもずっと前に、大きな質量変動が観察されます。この点はデッドタイム補正アルゴリズムにより補正できますが、こうした補正の効果が出るのは、この理論上の限界の一部分のみで、通常は 0.2~0.5 イオン/トランジェントの範囲内に限られています。ADC システムでも TDC システムでも、上下動するクロマトグラフィーピークの測定に用いる場合には、2 倍のバッファの余地が必要です。これは、トランジェント 10,000 回の平均を用いた最終的な質量測定値が 50 % のレベルにとどまる場合でも、クロマトグラフィーピークが飽和状態になる可能性があるためです。

表 3 に、ADC および TDC ベースの oa-TOF 質量分析計について、理論上および実際上のダイナミックレンジの限界をまとめています。この数字は、単一スペクトルのインスキャンダイナミックレンジをもとにしたものです。

アプリケーションによっては、実際上のダイナミックレンジを拡張できることもあります。そのためのアプローチの 1 つが、複数のスペクトルを合計 (平均) することです。これにより、イオン統計が向上し、低濃度サンプルで質量精度を向上させることができます。

ハイエンドのダイナミックレンジを拡張するためには、それとは反対のアプローチをとり、クロマトグラフィーピークの頂点のスペクトルを平均から除外します。インテリジェントなスペクトル平均機能は、Q-TOF GC-MS の自動精密質量レポート作成ソフトウェアにおける重要な機能です。これらのテクニックにより、ダイナミックレンジ (~10³) の実際上の限界を最大 100 倍に拡張することが可能です。ADC ベースのシステムを用いた精密質量アプリケーションでは、事実上 10⁵ のダイナミックレンジを得ることができます。

表 3. 単一スペクトルのインスキャンダイナミックレンジ

| 理論上の限界 | GC Q-TOF | 仮想の TDC システム |
|--------------------------------------|----------|--------------|
| スペクトルあたりの検出可能な最小値 (イオン/スペクトル) | 1 | 1 |
| トランジェントあたりの検出可能な最大値 (イオン/トランジェント) | 50 | 1 |
| スペクトルあたりの検出可能な最大値 (x 10,000 トランジェント) | 500,000 | 10,000 |
| ダイナミックレンジ | 500,000 | 10,000 |
| 実際上の限界 (精密質量分析が可能な限界) | | |
| スペクトルあたりの下限 (イオン/スペクトル) | 200 | 200 |
| トランジェントあたりの上限 (イオン/トランジェント) | 25 | 0.1~0.25 |
| スペクトルあたりの上限 (x 10,000 トランジェント) | 250,000 | 1000~2500 |
| ダイナミックレンジ | 1,250 | 10~25 |

ダイナミックレンジの拡張

ADC には、4 GHz (4×10^9 サンプル/秒) という最大実効レートでデジタル化をおこなう能力があります。これは、シグナルのサンプリングを交互におこなう (インターリーブ) 2 つの 2 GHz ADC を用いると可能になります。図 7 に示すように、ADC-1 に続いて ADC-2 がシグナルをデジタル化し、そのあとでまた ADC-1 がデジタル化する、というように処理を続けることで、4 GHz という実効サンプリングレートが得られます。デュアルアンプファイア/ADC 設計 (図 8) では、イオン検出器のシグナルが 2 つのアンプファイアに送られます。2 つのアンプファイアは、同じシグナルゲインをもつ同一のもので、アウトプットシグナルは 2 つの同一の ADC に送られます。その後、シグナルプロセッサが、2 つの ADC アウトプットを単一のアウトプットに統合します。

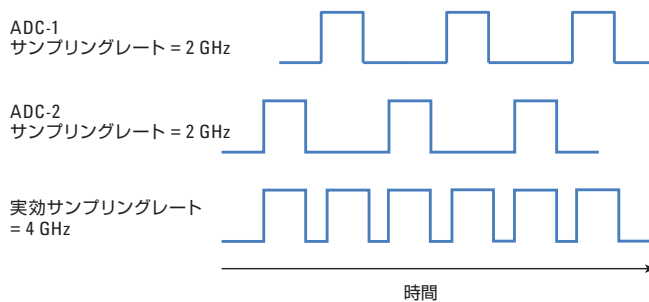


図 7. 2 つの 2 GHz ADC のインターリーブにより、4 GHz という実効サンプリングレートが実現

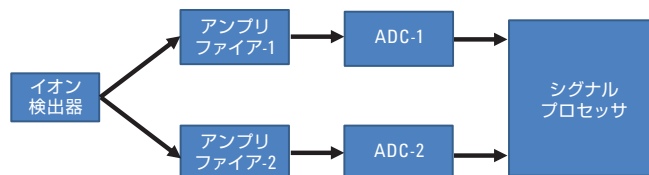


図 8. 2 つのアンプファイアゲインを用いた同一イオンシグナルの処理

デュアルアンプファイア/ADC 設計の別の使用法としては、各アンプファイアを異なるゲインに設定するというものがあります。イオン検出器のアウトプットシグナルは、5~6 桁の直線アウトプットレスポンスに対応できます。この範囲は通常、単一のアンプファイア/ADC がデジタル化できる範囲よりも大きくなります。アンプファイアの最大アウトプットシグナルは、ADC が対応できる最大インプットシグナルと同じになるように設定されます。シグナルアンプファイアのゲインは通常、単一イオンのシグナルをデジタル化できるように設定されます。単一スペクトル内のイオン検出器のシグナルは、1 イオンから、シグナルアンプファイアと ADC が飽和するほどの高い値まで、多岐にわたります。こうした条件下では、第 2 のアンプファイア/ADC のゲインを第 1 のものよりも低くすることが可能です (通常は 10 分の 1~15 分の 1)。

第1のアンプリファイアを飽和させる大きなシグナルは、これにより10分の1~15分の1になり、第2のアンプリファイア/ADCが飽和することはありません。第2のアンプリファイア/ADCのゲインは、単一のイオンをデジタル化するのに十分なものではありませんが、そうした低レベルのシグナルは、すでにゲインの高い第1のアンプリファイア/ADCがデジタル化しています。もっともゲインの高いアンプリファイア/ADCで低レベルシグナルをデジタル化し、もっともゲインの低いアンプリファイア/ADCで高レベルシグナルをデジタル化します。その後、シグナルプロセッサが、デジタル化されたデータをアンプリファイアのゲインに比例してスケールし、アンプリファイアゲインの比率をもとに、1イオンから最大値までのイオン検出器シグナルに対応するデータファイルを生成します。したがって、ダイナミックレンジは、アンプリファイアゲインの相対比の大きさまで拡張されます。

しかし、デュアルゲインアプローチを用いてダイナミックレンジを拡張する場合には、若干の犠牲を払わなければなりません。2つのアンプリファイアを同じゲインで用いて、それぞれのADCをインターリーブし、アウトプットを統合した場合に得られる、4GHzというADCの実効サンプリングレートを得ることはできなくなります。デュアルゲインモードのサンプリングレートは、インターリーブモードの半分になります。これは、各ADCが同じシグナルをサンプリングするのではなく、2つのアンプリファイアにより増幅されたイオン検出器シグナルを、それぞれ異なるゲインでサンプリングするためです。したがって、2つの増幅されたシグナルが同じシグナルを表すものではなく、それらを直接統合して、より高い実効サンプリングレートを得ることはできなくなります。デジタル化された増幅シグナルは、片方は低強度のアウトプット、他方は高強度のアウトプットというように、イオン検出器シグナルの異なる部分を表すものになります。

サンプリングレートが半分に低下する結果、分解能と質量精度が若干失われる可能性があります。質量が大きければ、影響は小さくなります。これは、一般に質量が大きいと質量ピークの幅が広くなり、ピーク内のサンプリングポイントが多くなるためです。質量が小さいと、ピーク幅が狭くなり、ピーク内のサンプリングポイントが少なくなるため、影響は大きくなります。一般に、 $m/z = 100$ を上回る質量では、この影響は無視することができます。

結論

ここ数年にわたる技術の大幅な進歩により、oa-TOFは新たな性能水準へと進化しました。高効率のイオンオプティクスと真空システムのデザインにより、感度が大きく向上しています。ADCベースの高速採取システムにより、質量精度が向上し、ダイナミックレンジが広がりました。洗練されたデータシステムやデータ処理アルゴリズムが加わったことで、ルーチン分析条件下で優れた質量精度を得られるようになっていきます。oa-TOF質量分析の概念を理解すれば、Agilent GC Q-TOFシステムで究極の性能を実現することが可能になります。

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2011
Printed in Japan
October 13, 2011
5990-9207JAJP



Agilent Technologies