

が低いので、そのまま通り過ぎて排除される。

## 11.2.5 スキマー CID

エレクトロスプレーインターフェイスのノズルスキマー間の中間圧力領域は、脱溶媒用の空間として有効に機能するだけでなく [68,69], CID (2章 12) によるイオンのフラグメンテーションを起こさせる空間としても利用することができる。この領域の圧力は比較的高いので、解離性衝突ではなくむしろ衝突による冷却効果をもたらすが [70], ノズルスキマー間に比較的高い電位差を与えると、電場でイオンが加速されて CID によるイオンのフラグメンテーションが起こるようになる [68,70,71]。

スキマー CID あるいはノズル/スキマー CID によって, i) イオンに付加している溶媒分子を剥ぎ取ることができ, ii) エレクトロスプレーで生じたイオンのフラグメンテーションにより, CI モードと類似したスペクトルが得られ [72], iii) タンデム MS 操作に先立ち, 第一世代のフラグメントイオンを生成できる. iii) の手法を利用して, 三連四重極質量分析計を用いて擬 MS<sup>3</sup> 操作を行うことが可能である [73,74] (真の MS<sup>3</sup> では最初の CID の前に最初の質量分離が行われるが, 擬 MS<sup>3</sup> 操作では最初の質量分離は行われぬ)。スキマー CID 操作をプログラム化することで, 一連の測定の中で種々の度合いのフラグメンテーションを観測できる [71,73-75]。

**例** ノズルスキマー間にそれほど大きな電位差を印加しなくても, 弱い結合の置換基, たとえば, CO<sub>2</sub> によって保護された脱プロトン化した N-ヘテロ環からの CO<sub>2</sub> の脱離が観測される場合がある。とくに, SnMe<sub>3</sub> 置換ピロール誘導体のアニオン, 2-(トリメチルスタニル)ピロール-N-カルバメート (A<sup>-</sup>) では, [A-CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>/A<sup>-</sup> 比が, CID 条件によって 30 倍にわたって変化する (図 11.10) [76]。

## 11.3 イオンの生成

### 11.3.1 エレクトロスプレーの発生

ESI におけるイオンの生成過程は 3 段階に大別できる。i) 帯電したスプレーの発生, ii) 帯電液滴サイズの劇的な減少, 最後に, iii) 完全に脱溶媒されたイオンの発生となる。連続的に発生するスプレーのメカニズムを理解するために, 1~2 cm の間隔を置いて対向電極に対して 3~4 kV の電位にある 75 μm 内径の電気伝導性キャピラリー先端のイオンを含む液面を考える。キャピラリーの開口部先端の液体は, 約 10<sup>6</sup> Vm<sup>-1</sup> の電場にさらされる。電場の作用により, 液体中で正/負電荷の分離が起こり, 過剰電荷で帯電したキャピラリー先端のメニスカスが変形して円錐状となる。円錐の形成は, Zeleny[36] によって発見され, Taylor によって初めて理論的に解析された [37]。

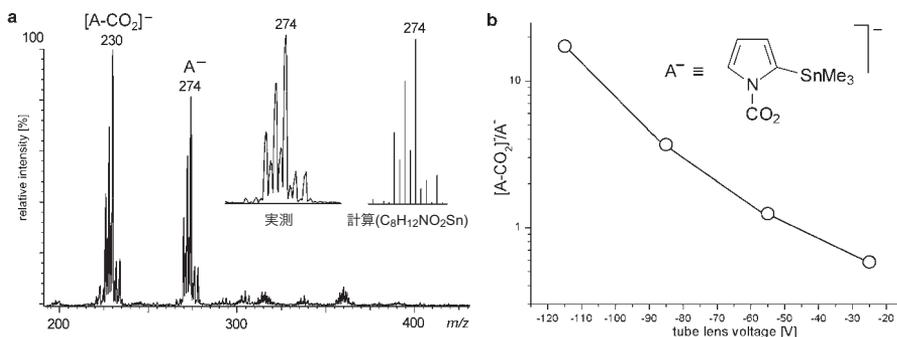


図 11.10: (a) ノズルスキャーマ間に小さな電位差を与えた場合の 2-(トリメチルスタニル)ピロール-*N*-カルバメート ( $A^-$ ) の負イオン ESI スペクトル (溶媒: テトラヒドロフラン). (b)  $[A-CO_2]^-/A^-$  比の電圧依存性.

詳述すれば、電場強度の増加で平坦な表面形状が長円形に変化する。電場強度の増加で長円形の曲率が大きくなっていく。電場強度がさらに増加して、ある限界値に達すると、液体の表面張力（液体の表面積を小さくしようとする力）と、液体の表面に凝集した同一電荷同士のクーロン反発による表面張力に逆らう力がつりあい、ここで液体が円錐形の形状をとる。これが **Taylor** コーンである。電場強度がこの限界値を超えてさらに大きくなると、直ちに **Taylor** コーンの先端から対極に向かって細かな液滴ジェットの放出が始まる [64]。この操作モードはコーン-ジェットモードと呼ばれる [5]。ジェット流は、最も大きな電荷密度を持つコーン先端から発生するので、ジェットは、正または負の電荷符号を持つ大過剰のイオンからなる。しかし、この帯電液滴ジェットは不安定で、短時間内に微細な液滴に分裂する。これらの微細液滴は、電荷を帯びているので、お互いにクーロン反発し合って、空間的に広がる。この過程で微細な帯電粒子からなるスプレーが発生するので、エレクトロスプレーという用語が与えられた (図 11.11 および 11.12)。

### 11.3.2 帯電液滴の分裂

正負いずれかの符号のイオンを過剰に含む (現実的には  $10^4$  個程度)、 $\mu\text{m}$  サイズの液滴から溶媒が気化すると、液滴表面の電荷密度 (過剰電荷は主に液滴表面に存在する) が次第に増加していく。ついに静電反発力が表面張力よりも大きくなると、帯電液滴がより小さなサイズの液滴に分裂する。この現象が起こる点を、**Rayleigh** 極限という [38]。これに引き続いて、液滴がクーロン分裂 (あるいはクーロン爆発) すると考えられている。このような分裂過程が繰り返されることで、さらに小さな液滴が生成する。このような段階的な分裂で液滴サイズが微細化するというモデルは妥当ではあ

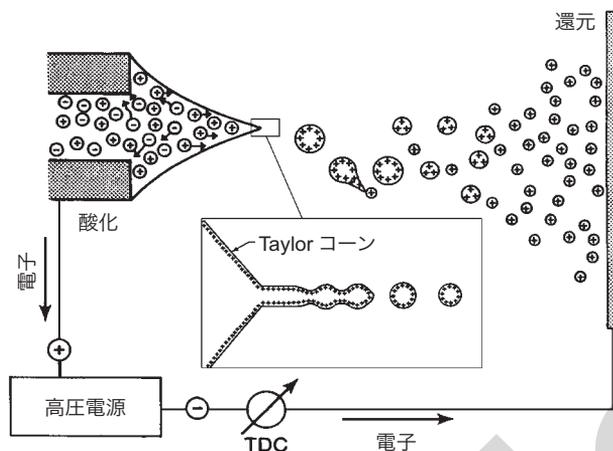


図 11.11 : Taylor コーンの形成, ジェットの射出, 帯電液滴の分裂による微細スプレー発生. ESI で起こる電気化学過程 [77,78]. 文献 [49] の著者らより許可転載.

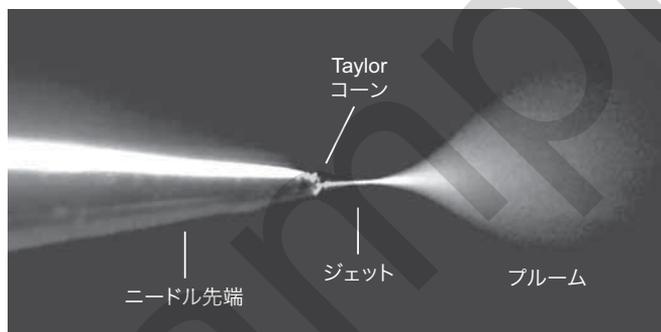


図 11.12 : ナノ ESI キャピラリーからのエレクトロスプレー. Taylor コーンから射出されるジェットが明瞭に観察される. ジェットは微細な帯電液滴からなるブルームとなって広がる. New Objectives, Woburn, MA の厚意による.

るが, 最近の研究により, 実際には微細液滴は爆発するのではなく, 細長く伸びた末端からはるかに小さな液滴が連続的に射出されることが分かった (図 11.13) [49,79,80]. 長く伸びた末端からの射出は, 飛行する微細液滴の形状変化でもたらされる. すなわち, 液滴は完全な球体形状をもたない. 異なる曲率を持つ液滴形成により, 表面電荷密度は均一とはならず, 最も鋭い曲率を持つ領域で表面電荷密度が最大となり, そこから微細液滴が射出される. 分裂で生じる小さな二次液滴は, わずか 1~2% の質量と, 10~18% もの電荷を親の液滴から持ち去る. この現象は, Taylor コーン先端からジェットが発生する初期過程に似ている. 通称液滴ジェット分裂 (droplet jet fission) と呼ばれるこの現象は, 理論的考察に立脚しているだけでなく, フラッシュ顕微写真撮影でも確認された [80,81].

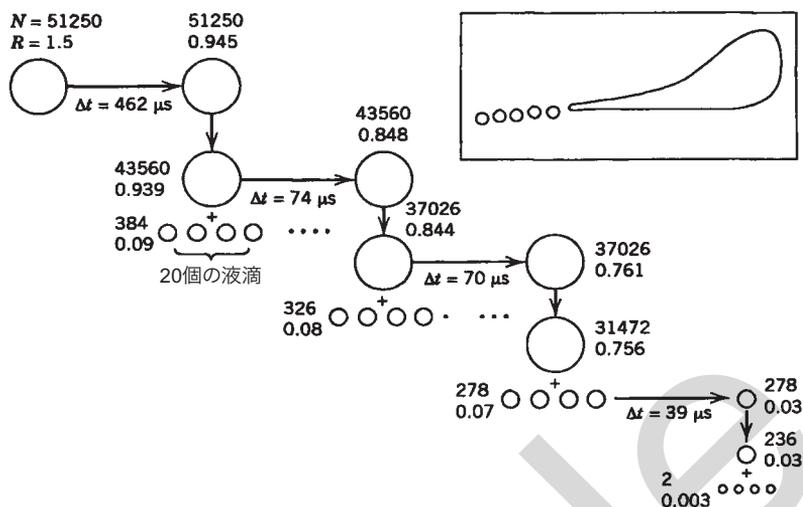


図 11.13: 液滴ジェット分裂の模式図。液滴の平均電荷数, 液滴の半径 ( $\mu\text{m}$ ), および分裂過程の時間スケールが示されている。挿入図は, 液滴が分裂する様子を実際にフラッシュ顕微写真撮影で測定したものに基づく。文献 [49] の著者らより許可複製。

### 11.3.3 帯電液滴からのイオンの生成

はじめに提案されたイオン生成モデルは, 帯電残滓モデル(charged-residue model: CRM)である。これは, 連続的なクーロン分裂が起こって, 最終的に 1 個の試料分子のみが含まれる十分小さな液滴が生成し, これから脱溶媒が起こって気相イオンが生成する, というものである [9,42,84]。この最終的な液滴中の電荷 (たとえばプロトン) が, 試料分子に移行する。このモデルは大きなタンパク質分子の 1 価イオンが生成し得ることを示唆するが, 実際にこのような実験事実が得られているので, これより CRM が支持されることになる [23]。

CRM に続いて提案されたのが, イオン蒸発モデル(ion evaporation model: IEM)である [82,83]。このモデルは, 高度に帯電した微細液滴表面からイオンが直接気化するというものである [85]。(イオン蒸発は 8 章 5.1 の FD-MS でも取り扱われている)。イオンの溶媒和エネルギーは 3~6 eV であるのに対して, 熱エネルギーはイオン蒸発に際して, わずか 0.03eV (300K の場合) しか寄与できない。したがって, 必然的に静電力が気化に必要なエネルギーを与えていることになる。最終的に液滴のサイズが 10nm になったときに, イオンが気化するために必要な電場強度は  $10^9 \text{ Vm}^{-1}$  と計算されている [83]。IEM は, 分子が占有できる微細液滴の表面積と分子が獲得する電荷数が相関する, という実験結果をよく説明する。液滴が収縮しても, 試料分子のサイズと液滴中の電荷数は一定のままである。しかし, 表面電荷間の距離が縮まり, 電荷密度が増加することで, 試料分子近傍の電荷が増えていく [86,87]。それゆえ, 平らな分

子は、球状の分子に比べてより多くの価数を持つことになる。つまり、同一の ESI 条件下においては、変性してほどけたタンパク質分子は、未変性の球状分子に比べてより多くの電荷を抱えることができることになる [88,89]。

**例** 1,4-ジチオトレイトールでタンパク質分子のジスルフィド結合を還元することにより切断すると、分子のアンフォールディングが起こる。この過程で、残余する塩基性サイトが露出されてプロトン化され、より高い電荷数を持つイオンが ESI スペクトルに現れる (図 11.14) [88]。

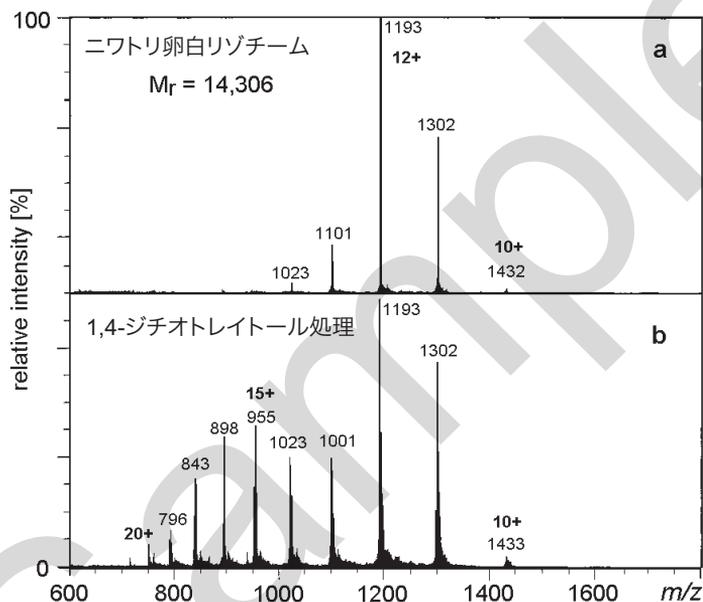


図 11.14: 正イオン ESI スペクトル. (a) ニワトリ卵白リゾチーム, (b) 1,4-ジチオトレイトールを加えて還元した後のスペクトル. 文献 [88] より許可複製. ©American Chemical Society, 1990.

液滴の蒸発 (乾燥) 速度がタンパク質分子の電荷分布に影響を与えることから、IEM が支持される。高速 (より大きい乾燥ガス流量, より高温) で液滴を気化させると、より大きな電荷数を持つ多価イオンが観測されるが、ゆっくり気化させると価数が少なくなる。これは、高速乾燥では液滴が速やかに収縮するのでイオンの気化に遅れが生じて、その結果液滴における電荷の濃縮が起こるためと解釈できる [86]。

一方、Rayleigh 極限を超えると液滴の分裂が起こる、という理由から、液滴からイオンが蒸発するような強い局所電場は発生し得ない、という反論もある [23,90]。

さらに、ごく最近の研究で、多価イオン生成において、気相でのプロトン移動反応