

## REVIEW

基礎から学ぶマススペクトロメトリー／質量分析の源流  
第8回 エレクトロスプレーの基礎Fundamentals of Mass Spectrometry  
—Fundamentals of Electrospray—

平岡賢三

Kenzo HIRAOKA

山梨大学クリーンエネルギー研究センター Clean Energy Research Center, University of Yamanashi,  
Kofu, YAMANASHI, JAPAN

Electrospray is an ultimate phenomenon that occurs when the liquid is exposed to the high electric field. In order to fully exploit electrospray for the analytical science and technology, it is mandatory to understand the mechanisms for the formation of charged droplets and the following formation of gas phase ions. This article will explain the basic aspects of electrospray from various points of view. The contents are as follows: (i) electrospray ionization (ESI) is based on electrochemical reactions, (ii) what is the Taylor cone? (iii) disintegration of charged liquid droplets, (iv) mechanism for the formation of gas-phase ions from the charged liquid droplets, (v) effect of surface tension of liquid on electrospray, (vi) positive- and negative-mode of ESI, (vii) suppression effect by the presence of salts, (viii) down-sizing of electrospray, ESI→nanoESI→Probe ESI, (ix) field desorption, (x) field ionization, (xi) formation of multiple-charge ions, (xii) application of electrospray.

(Received February 3, 2010; Accepted February 3, 2010)

## 1. エレクトロスプレー序説

エレクトロスプレーの略語として ES (electrospray), あるいは ESI (electrospray ionization) がよく使われる。筆者は ESI を用いることにしている。それは、エレクトロスプレーという現象が、過剰電荷を液体に供給（注入）する電気化学反応（正イオンモードでは酸化反応，負イオンモードでは還元反応）に基づくからである。エレクトロスプレーを電池に見立てると，大気を介して，数 kV の電位差が与えられた二つの電極，つまり金属キャピラリーと対向電極が相対しており，キャピラリーから流出した液体が酸化あるいは還元されて液体が同符号の過剰イオンで帯電し，これが対極に向かって飛んで電流が流れる，というイメージである (Fig. 1)。キャピラリーはいわば“半電池”として働く。電気化学反応によって液体へ過剰イオンが供給されて，これがペプチドやタンパク質などの多価イオンの生成につながる。

エレクトロスプレーという現象は 1700 年初頭から知ら

れていた。それから約 300 年経った 2002 年に，Fenn がエレクトロスプレーに関する研究でノーベル化学賞を受賞した。この数百年の間にエレクトロスプレーという現象が原理的にすべて明らかにされたかといえば，実はそうではなく，未解明の現象が多く残されている。この点で，ESI は大きな可能性を秘めたたいへん魅力的な現象なのである。この章では，エレクトロスプレーという現象がいかに興味深いものであるかを解説する。

## 2. エレクトロスプレーは電気化学反応に基づく

エレクトロスプレーという言葉が定着しているが，この現象をより厳密に表現するのが“electrohydrodynamic atomization”あるいは“electrohydrodynamic emission”という言葉である。この英語の直訳は“電気流体噴霧”となろうか。

まず電場  $E$  について考える。電場  $E$  は，電位差  $V$  が印加されている空間に生じる。たとえば，エレクトロスプレーに使う金属キャピラリーに，その対極（たとえば質量分析計のイオンサンプリングオリフィス）に対して +3 kV の電位差を与えた場合，キャピラリーと対極間に電場が生じる。金属キャピラリーは電気伝導体なので，金属キャピラリーの電位（ポテンシャル）はどこも同じ +3 kV である。しかし，キャピラリーの電場は場所によって異なり，大きな曲率をもつ尖った部分ほど，大きな電場が

Correspondence to: Kenzo HIRAOKA, Clean Energy Research Center, University of Yamanashi, 4-3-11 Takeda, Kofu, Yamanashi 400-8511, JAPAN, e-mail: hiraoka@yamanashi.ac.jp

平岡賢三，山梨大学クリーンエネルギー研究センター，〒400-8511 山梨県甲府市武田 4-3-11

生じる。電位  $V$  にある種々の形状をもつ導体表面の電場  $E$  は、球体、針、刃、ワイヤーなどの曲率半径を  $r$  で表すと、以下の式で与えられる ( $d$ : 対極までの距離)。

$$E = K \times (V/r) \quad (1)$$

ここで

球体:  $K=1$

針電極:  $K=2/\ln(2d/r)$  ( $r$ : 針の先端部の曲率半径)

鋭利な刃:  $K=1/(2d/r)^{1/2}$  ( $r$ : 刃のエッジの曲率半径)

ワイヤー:  $K=1/\ln(d/r)$  ( $r$ : ワイヤーの半径)

エレクトロスプレーではキャピラリーが用いられるので、この場合には、

$$E = 2V/[r \ln(2d/r)] \quad (2)$$

となる。この式から、キャピラリーの先端が鋭い ( $r$  が小さい) ほど、また対極との距離  $d$  が近いほど、キャピラリー先端の電場  $E$  が強くなるのがわかる。

ここで、大学の初等電磁気学で学んだ Gauss の法則を思い出そう<sup>1)</sup>。

$$\Phi = \int E \cdot dA = q_{in}/\epsilon_0 \quad (3)$$

ここで、 $\Phi$  は任意の閉曲面を通過する正味の電束、 $E$  は閉曲面の任意の点における電場、 $q_{in}$  は閉曲面内部の正味の電荷、 $\epsilon_0$  は真空の誘電率、を表す。式 (3) をわかりやすく表現すれば、正味の過剰電荷  $q_{in}$  が存在する場合にのみ電場が生じるということである。ここで、金属導体表面に存在する過剰電荷の表面電荷密度を  $\sigma$  (C/m<sup>2</sup>) とすると、その面上の電場強度  $E$  が以下の式で与えられることが式 (3) から容易に導かれる。

$$E = \sigma/\epsilon_0 \quad (4)$$

式 (4) から、表面電荷密度  $\sigma$  と電場  $E$  は比例関係にあること、つまり、電場  $E$  が生じている金属表面には必ず過剰電荷 (表面電荷密度  $\sigma$ ) が存在する、という相関関係があることがわかる。キャピラリーでは先端部が最も鋭利なので、最強の電場  $E$  が先端に生じる。このキャピラリー先端から電解質溶液が流出すると、液体は先端部において高電場にさらされる (金属キャピラリー内部は導体に囲まれた

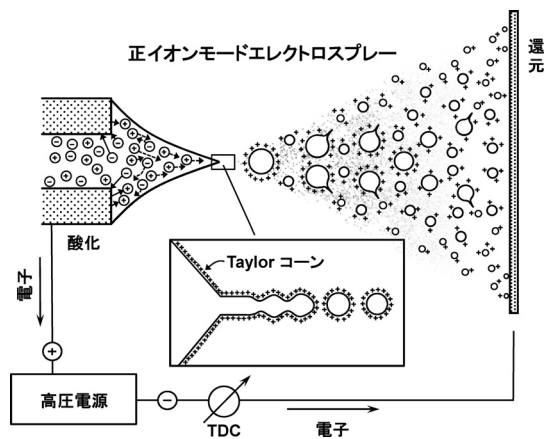


Fig. 1. エレクトロスプレーでの電気回路 (文献 2 より許可を得て改変。©1993, American Chemical Society).

Table 1. 電気化学反応と標準電位  $E^0$

反 応	$E^0$ (V vs. 2H <sup>+</sup> /H <sub>2</sub> )
酸化反応 (正イオンモード)	
溶媒系反応	
4OH <sup>-</sup> = 2H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub> + 4e <sup>-</sup>	0.42
2OH <sup>-</sup> = H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup>	0.29
2H <sub>2</sub> O = O <sub>2</sub> + 4H <sup>+</sup> + 4e <sup>-</sup>	1.25
2NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> = N <sub>2</sub> H <sub>5</sub> <sup>+</sup> + 3H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	1.30
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O = NH <sub>3</sub> OH <sup>+</sup> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	1.37
2H <sub>2</sub> O = H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	1.79
OH <sup>-</sup> = OH + e <sup>-</sup>	2.02
2Cl <sup>-</sup> = Cl <sub>2</sub> (g) + 2e <sup>-</sup>	1.36
電極反応	
Fe + 2OH <sup>-</sup> = Fe(OH) <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup>	-0.85
Fe = Fe <sup>2+</sup> + 2e <sup>-</sup>	-0.42
Fe = Fe <sup>3+</sup> + 3e <sup>-</sup>	-0.01
Pt + 2OH <sup>-</sup> = Pt(OH) <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup>	0.18
Pt + 2H <sub>2</sub> O = Pt(OH) <sub>2</sub> + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup>	1.00
還元反応 (負イオンモード)	
溶媒反応	
CH <sub>3</sub> OH + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> = CH <sub>4</sub> + H <sub>2</sub> O	0.60
2H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub> + 4e <sup>-</sup> = 4OH <sup>-</sup>	0.42
2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> = H <sub>2</sub>	0.02
CH <sub>3</sub> COOH + 2H <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> = CH <sub>3</sub> CHO + H <sub>2</sub> O	0.11
CH <sub>3</sub> OH + H <sub>2</sub> O + 2e <sup>-</sup> = CH <sub>4</sub> + 2OH <sup>-</sup>	-0.23
2NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 2e <sup>-</sup> = 2NH <sub>3</sub> + H <sub>2</sub>	-0.53
2H <sub>2</sub> O + 2e <sup>-</sup> = H <sub>2</sub> + 2OH <sup>-</sup>	-0.80
Na <sup>+</sup> + e <sup>-</sup> = Na	-2.71
電極反応	
Pt(OH) <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup> = Pt + 2OH <sup>-</sup>	0.18
Fe(OH) <sub>3</sub> + e <sup>-</sup> = Fe(OH) <sub>2</sub> + OH <sup>-</sup>	-0.54
Fe(OH) <sub>2</sub> + 2e <sup>-</sup> = Fe + 2OH <sup>-</sup>	-0.85

空間なので、電場は存在しないとみなせる)。対極に対してキャピラリーに正の高電圧を印加した場合、流出した液体中の正イオンは外側へ、負イオンは内側へと電気泳動し、液体中での正イオンと負イオンの分離が起こる。しかし、この電荷分離だけでは、エレクトロスプレーは発生しない。帯電した液滴が対極にスプレーされるという現象は、過剰電荷が液体に供給されることによって初めて起こり得る現象である。この過剰電荷を与えるのが、キャピラリー先端部で起こる電気化学反応である (Fig. 1)。この反応で液体が過剰電荷で充電される。正イオンモードでは、酸化反応、負イオンモードでは還元反応が起こって、液体が正、あるいは負に帯電し、ついには帯電液滴として対極に向かって噴霧される。エレクトロスプレーで発生する全電流量 (エレクトロスプレー電流) は、電気化学反応によって起こる酸化 (正イオンモード)、あるいは還元反応 (負イオンモード) によって単位時間当たり発生する電流量に等しい (Fig. 1 の TDC: total direct current)<sup>2)</sup>。

キャピラリー先端で起こる可能性のある電気化学反応の例を標準電位  $E^0$  とともに Table 1 に示す。この表から、正イオンモードでは、水酸化物イオンが酸化されやすいこと (4OH<sup>-</sup> = 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> + 4e<sup>-</sup>)、また水溶媒が酸化されてプロトンが供給されること (2H<sub>2</sub>O = 4H<sup>+</sup> + O<sub>2</sub> + 4e<sup>-</sup>)、また、負イオンモードでは酸性条件下でメタノールが還元されやすいこと (CH<sub>3</sub>OH + 2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup> = CH<sub>4</sub> + H<sub>2</sub>O)、また、酸素

ガス溶存水系で水酸化物イオン  $\text{OH}^-$  が生成しやすいこと ( $2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 + 4e^- = 4\text{OH}^-$ ), などが読み取れる. ここで,  $e^-$  とは, キャピラリー先端の金属表面でやり取りされる電子を表す. 正イオンモードでステンレス鋼キャピラリーを用いると, 成分の鉄が酸化されて鉄イオンとして溶け出しやすい. 耐蝕性の強い金, 白金, チタンなどの材質を使用すれば金属イオンなどによるコンタミを防ぐことができるので, 試料に由来するイオンが観測されやすい. つまり, 使用するキャピラリーの材質によってエレクトロスプレーのマススペクトルの質が左右されるので, 条件の厳しい実験では操作上での工夫が必要となる場合がある. キャピラリー先端でどのような電気化学反応が進行するかは, 実験系によって異なるので予測が難しいが, 起こりやすい反応 (Table 1) が優先的に起こって, それらに由来する過剰イオンが生成することはいうまでもない. また, 起こりやすい反応から始まって起こりにくい反応へ移っていくような経時変化も考えられる.

### 3. Taylor コーンとは何か

Fig. 1 に示すように, エレクトロスプレーではキャピラリー先端に円錐形の液体が形成され, その先端から帯電液滴が噴霧される. この円錐形を形成した液体を Taylor コーンと呼ぶ.

エレクトロスプレーと似たイオン源として, 高真空中において高電圧が印加された鋭利な金属電極先端から金属イオンが発生する**液体金属イオン源**がある. イオンは鋭い電極の先端部から発生するので, 点光源としてのイオン銃として有用で, 二次イオン質量分析 (SIMS) 装置のイオン源などとして使われている. たとえば, Ga, Bi など融点の低い金属を融解させ, これらの液体金属で鋭い先端をもつ高融点の金属電極をぬらすと, その先端から  $\text{Ga}^+$ ,  $\text{Bi}^+$  イオンなどが脱離する (電界脱離現象: 後述). 二次イオン質量分析法 (SIMS) では, この金属イオンをビームとして取り出し, 数十 nm 以下の空間分解能で試料のイメージング像を得ている. この金属イオン源の先端部の撮像を行ったところ, ある臨界電圧において先端部に  $99^\circ$  の頭頂角をもった円錐形のコーン (Taylor コーン) が形成されることがわかった. この臨界電圧を超えると, 円錐形の先端が伸びて金属イオンの発生が始まる. 液体金属イオン源では, 数 nm の先端部から金属イオンが真空中へ脱離する.

電気伝導体 (金属など) に電位を与えると, 導体表面に過剰電荷が誘起される (式 (4)). この過剰電荷は表面にのみ存在し, 導体内部は電氣的に中性が保たれる. これは, 導体内に電位差が生じると直ちに電流が流れて, 電位差が解消されて電氣的に中性に戻るからである (静電平衡: 式 (3) 参照). このため導体の内部と表面はすべて**同電位**となる. しかし, 導体の表面が凸凹していると, 出っ張った部分の**電場**が凹んだ部分よりも大きくなる. 金属導体表面の電場  $E$  は表面の曲率半径  $r$  にほぼ**反比例**する (式 (1) 参照. 球体では厳密に  $r$  に反比例する: 式 (1) で  $K=1$ )<sup>1)</sup>.

金属キャピラリーを用いるエレクトロスプレーにおい

て, 最も強い電場がかかっているキャピラリー先端部から液体試料が流出してくると, この電場の影響で金属と液体の界面 (接触面) で電気化学反応が起こり, キャピラリー先端部の液体に過剰電荷が蓄積されていく. 液体が存在しなかったときに金属キャピラリー先端表面に集まっていた過剰電荷が電気化学反応の進行とともに液体に乗り移っていくと考えてよい. 液体中の過剰電荷がしだいに増えていくと, 電荷同士のクーロン反発により, 外側に向かう**静電力**が生じて, 流動性の液体が変形して, キャピラリー先端に円錐形の液体が形成されてくる. これが, 電荷を外側に逃がそうとする外向きの**“静電圧”** (electrostatic pressure) である. 電場はキャピラリーと対極の間に印加されているので, 帯電した液体は対極に向かって引かれて伸びようとする. 一方, 流体は表面張力をもち, これが液体の表面積をなるべく小さくしようとする内側に向かう力として働く. **Rayleigh 極限**と呼ばれる臨界状態でこの二つの力が円錐形のすべての点でちょうど釣り合うと, 頭頂角  $99^\circ$  の Taylor コーンが形成される (Fig. 1). 過剰電荷量が Rayleigh 極限の臨界値を超えると (これはキャピラリーに印加する電圧をエレクトロスプレー発生まで高めることに相当する), Taylor コーンの先端が伸びて, その液柱の先端部から帯電液滴が気相に噴霧されて, 対向電極に向かって飛ぶ (Fig. 1). これは, 溜まりすぎた過剰電荷を外に吐き出して捨てる自然のメカニズムである. 過剰電荷の排出や放電現象は, 必ず**尖った部分**から始まるという現象は普遍的である. 大気圧化学イオン化法において使われる直流コロナ放電電極は尖った針電極を使用するし, 雷は避雷針めがけて落ち, 冬の乾燥時に衣服を脱ぐときには, 細い繊維の先端から放電が発生する. 電界イオン顕微鏡は, 鋭利な針先端に生じる高電場によりヘリウム原子などを**“トンネルイオン化”** (電界イオン化現象: 後述) して, 先端部の原子配列を観測する技術であり, また走査型トンネル顕微鏡は原子レベルで尖らせた金属プローブ先端と観測対象物を接近させ, プローブ先端に生じている電場によって導電性試料との間に発生するトンネル電流を測定し, 表面の原子配列を観測する方法である. このように, 尖らせた金属先端部において極限的な現象を起こさせることができる.

エレクトロスプレーという現象を理論的に考察すると以下のようなになる. 液体の表面張力に起因する**圧力**  $P_r$  (表面に対して垂直な内側に向かう) は液体の表面張力  $\gamma$  と曲率  $\kappa$  の積に比例する.

$$P_r = \gamma \kappa \quad (5)$$

また, 電場  $E$  をもつ導体表面には, 同符号の電荷同士によるクーロン斥力に基づく**静電圧**  $P_E$  (表面に対して垂直な外側に向かう) が作用する. この外側に向かう静電圧は  $E^2$  に比例する<sup>3)</sup>.

$$P_E = 0.5 \epsilon_0 E^2 \quad (6)$$

静電圧  $P_E$  は, Poisson の方程式から導出できる<sup>3)</sup>. 帯電液体中の過剰電荷は静電圧  $P_E$  によって外に逃げようとして, 液体の形状を円錐形に変化させる. 尖った先端部に溜



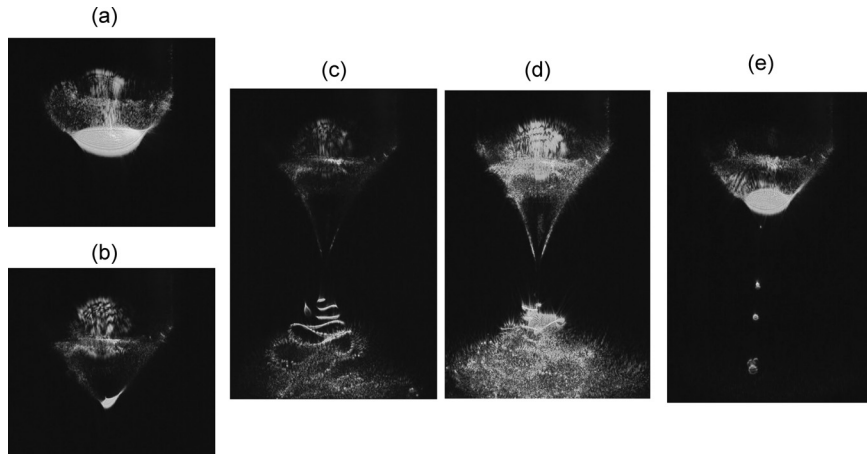


Fig. 2. エレクトロスプレーのパルスの発生. 試料: 0.1% 酢酸の水-メタノール (1:1) 溶液. 試料流量:  $1 \mu\text{L}/\text{min}$ , キャピラリー内径:  $100 \mu\text{m}$ , キャピラリーへの印加電圧:  $3.7 \text{ kV}$ , 対向電極までの距離:  $10 \text{ mm}$ .

まる過剰電荷で生じる静電圧  $P_E$  が液体の表面張力に基づく  $P_\gamma$  と円錐形のすべての点で釣り合った状態,  $P_\gamma = P_E$ , で円錐形の Taylor コーン形成に至る (頭頂角  $99^\circ$ ). ここで, Taylor コーンの先端に近づくほど,  $P_\gamma$  と  $P_E$  の値が大きくなることを指摘しておく. つまり, 先端部が最も大きな過剰電荷密度をもつ<sup>3)</sup>. この理由で, Taylor コーン先端から帯電液滴が発生するのである.  $P_\gamma = P_E$  が成り立つ敷居値のポテンシャル  $V_c$  は以下の式で与えられる.

$$V_c = 0.863(\gamma d / \epsilon_0)^{0.5} \quad (7)$$

すなわち, エレクトロスプレーが発生する敷居電位は, 対極への距離  $d$  と表面張力  $\gamma$  の平方根に比例する. キャピラリーに印加する電位を上げて  $P_E > P_\gamma$  の条件にすると円錐形液体の頭頂角が  $99^\circ$  よりも小さくなり, 液体が対極に伸びて, エレクトロスプレーが発生する. 帯電液滴が Taylor コーンから離れて対極に飛び去ると, これにより溜まった過剰電荷が排出されて静電圧が一挙に弱まる. この結果, エレクトロスプレー現象がいったん停止する. しばらくすると再び金属界面での電気化学反応によって液体へ過剰電荷が供給されて, 再びエレクトロスプレーが発生する. エレクトロスプレーはこのような過渡現象の繰り返しで起こる. Fig. 2 に筆者らが観測したエレクトロスプレーの時間変化を示す. (a) から (e) が 1 周期である. このように断続的にスプレーが発生するため, エレクトロスプレーは電気的くしゃみ (electric sneeze) と表現される. この現象の周期は数百 ms であった (振動数: 数 kHz). Vertes らも, 水・メタノールのエレクトロスプレーにおいて, 同様の現象を観測している<sup>4)</sup>. この事実は, Fig. 2 における 1 サイクルの噴霧現象には, 約数百  $\mu\text{s}$  程度の充電時間が必要であることを示す.

#### 4. 帯電液滴の分裂

エレクトロスプレーで発生した帯電液滴は, Rayleigh 極限を超えて Taylor コーン先端から飛び出した帯電液滴なので, それ自身が Rayleigh 極限に近い帯電状態にある. 実際には流体には不安定な揺らぎがあるので, 帯電液

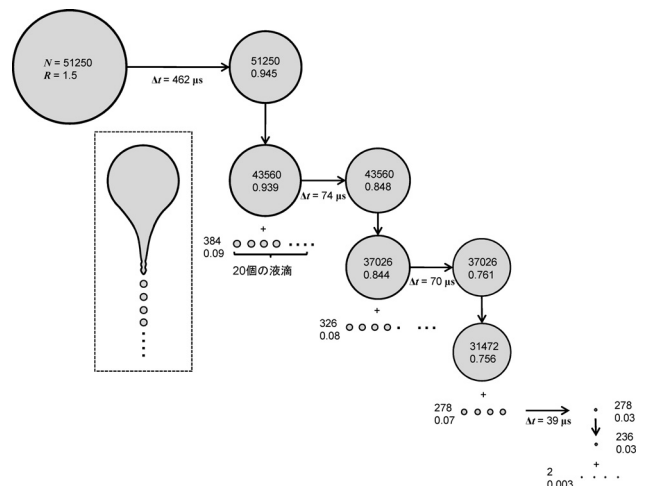


Fig. 3. 帯電液滴の分裂.  $N$ : 帯電液滴中の過剰電荷数,  $R$ : 液滴の半径 ( $\mu\text{m}$ ),  $\Delta t$ : 生成した帯電液滴が分裂に要する時間.

(文献 2 より許可を得て改変. ©1993, American Chemical Society).

滴は Rayleigh 極限値に相当する過剰電荷数  $N$  の 70~80% の過剰電荷をもって Taylor コーンから飛び出す. エレクトロスプレーで発生した帯電液滴から溶媒が気化すると, 過剰電荷密度がしだいに増加し, ついに Rayleigh 極限に達して分裂する. Fig. 3 に帯電液滴が分裂の様子を示す<sup>2)</sup>.  $N$  は過剰電荷数,  $R$  は液滴の半径 ( $\mu\text{m}$ ) を表す. 帯電した流体が Rayleigh 極限に達すると, 流体は 2 等分割されるのではなく, ラッキョウのように非対称的に変形して鋭い突起部が形成され, ここから過剰電荷が微細な二次帯電液滴としてスプレーされる (Fig. 3 左下挿絵). この現象は, Fig. 1 の Taylor コーンからの帯電液滴発生現象と本質的に同じである.

帯電液滴が分裂する場合, 一次液滴の約 10 分の 1 の半径をもつ二次液滴 (体積換算すると約 1,000 分の 1) が 20 個程度連続的に一次液滴から出射される. この際, 一次液滴から約 15% の電荷が運び去られるが, 質量減少は 2%

程度である<sup>5)</sup>。このように、帯電液滴の分裂によって、一次液滴の過剰電荷がサイズの小さな二次液滴に濃縮されることになる。帯電液滴が分裂した後の一次液滴と二次液滴は、両者ともに Rayleigh 極限に近い電荷を保っている。帯電液滴の分裂で、サイズの小さな液滴に電荷が濃縮されるのは、いびつな形をもつ導体において曲率半径が小さい部分ほど、より高い表面過剰電荷密度  $\sigma$  (C/m<sup>2</sup>) をもつという物理現象に関連する(式(4)参照)<sup>1)</sup>。たとえば、細い導線でつながれた同電位にある二つの球体の半径を、おのおの  $r_1, r_2$ 、過剰電荷密度を  $\sigma_1, \sigma_2$ 、表面の電場を  $E_1, E_2$  とすると、式(4)より、

$$r_1/r_2 = \sigma_2/\sigma_1 = E_2/E_1 \quad (8)$$

となる。このように、帯電液滴の分裂によって生成したより小さな液滴に、一次液滴に比べてより大きな表面電荷密度  $\sigma$  が与えられるのは、物理法則の必然性にに基づく<sup>1)</sup>。

ここで、Rayleigh 極限にある半径  $R$  の液滴とそれに含まれる過剰電荷数  $N$  の関係を以下に示す。

$$N = (\gamma\epsilon_0 R^3)^{0.5} \times 8\pi \quad (9)$$

式(9)中の  $R^3$  は液滴の体積、すなわち質量に比例する。この式から、過剰電荷数  $N$  は、帯電液滴の質量の平方根に比例して増加することがわかる。言い換えれば、 $N$  が増加すると、それを保持するためには液滴の質量を  $N$  の2乗に比例して増加させる必要があるということである。これは、帯電液滴中の過剰電荷の大部分が液滴表面近傍に存在し、液滴内部はほぼ中性に保たれるという事実と関連する。電気伝導性物体の帯電には必ずこのような現象が伴う(絶縁体の場合であれば、過剰電荷は内部に分布可能である)。

過剰電荷  $N$  は、帯電液滴の表面に局在するので、Rayleigh 極限にある帯電液滴の表面電荷密度  $N_s$  は式(10)で与えられる。

$$N_s = N/4\pi R^2 = 2(\epsilon_0\gamma)^{1/2}/R^{1/2} \quad (10)$$

この式から、Rayleigh 極限にある帯電液滴形成に際して、半径の小さな液滴ほど大きな表面電荷密度  $N_s$  をもつことがわかる。エレクトロスプレーでは、キャピラリーの径  $R$  を小さくすることで、帯電液滴サイズを小さくできるので、 $N_s$  を増強できることになる。これは、キャピラリー径を小さくすることで、キャピラリー先端の電場が増強されることと同義である(式(1)および式(6)参照)。

### 5. 帯電液滴からどのようにして気相イオンが発生するか

エレクトロスプレーで発生する帯電液滴は、二次液滴も、またそれを発生させた元の一次液滴も、ともに Rayleigh 極限に近い帯電状態にある。これら液滴から溶媒が気化すると、両者が再び分裂を起こす(Fig. 3)。クーロン斥力による分裂なのでクーロン爆発と表現される場合もある。帯電液滴から最終的に気相イオンが生成する機構には、①帯電残滓機構(charged residue 機構: CRM)、および、②イオン蒸発機構(ion evaporation 機構: IEM)、の二つが提案されている。帯電残滓機構では、Fig. 3 に示すような帯電液滴の複数回の分裂によって、最終的に試料イ

オンが1個含まれる微小液滴が生成し、これが乾燥して最終的に気相イオンを生成するというものである。一方、イオン蒸発機構は、帯電液滴の分裂と乾燥で液滴の直径が数十 nm になったところで、過剰電荷同士のクーロン反発のためにイオンが液滴から脱離するという機構である。種々の実験で、この二つの機構がともに気相イオン生成に関与していることが明らかとなっている。たとえば、界面活性なイオンは、親水性のイオンに比べて帯電液滴の表面に選択的に凝集しやすく、イオン蒸発機構で生成しやすい。イオン蒸発機構によって帯電液滴からイオンが蒸発し始める際の、液滴表面の電場は  $10^8$  V/m 程度と見積もられている。一方、親水性のイオンは液滴表面には存在しにくく、液面下の液体内部に存在する。したがって、液滴の分裂過程において、まず疎水性のイオンが二次液滴に選択的に取り込まれ、残された一次液滴内にはより親水性の高いイオンが取り残される。また分子量が大きいイオンの場合(ペプチドやタンパク質分子など)、複数回の液滴分裂過程を経て生成した残滓液滴に1個のイオンが取り残されて、これが最終的に気相イオンとして検出されると考えられる。これが帯電残滓機構である。このような場合では、液滴中に過剰電荷(界面活性をもたないプロトンやアルカリイオンなど)が多く残存しているので、ペプチドやタンパク質分子など気化しにくい大きな分子は多価イオンとして観測されやすい。

以上を概略すれば、帯電液滴の分裂に際して、帯電した一次液滴からまず優先的に疎水性でサイズの小さなイオンが選択的に二次液滴に乗り移り、これらがイオン蒸発機構で気相イオンを生成する。より親水性が大きな、またサイズが大きなイオンは一次液滴に残りやすく(Fig. 3)、これが帯電残滓機構で最終的に気相イオンを生成する。

Fig. 1 に示したように、従来のエレクトロスプレー(キャピラリー内径:  $\sim 100 \mu\text{m}$ )で発生する初期の帯電液滴サイズは半径が約数  $\mu\text{m}$  である。この液滴に存在できる過剰電荷は、Rayleigh 極限から、最高で  $5 \times 10^4$  個程度となる。もし、エレクトロスプレーで検出しようとしている試料の濃度が  $10^{-5}$  M とすると、半径  $1.5 \mu\text{m}$  の液滴内に存在する試料分子数は約  $10^5$  個である。この個数は過剰電荷数にほぼ近いので、効率よく過剰電荷によって試料がイオン化されやすい。したがって、エレクトロスプレーで  $10^{-5}$  M 程度の濃度の試料を検出するのは難しくない。しかし、たとえば生理食塩水濃度をもつ生体の体液などでは NaCl が 150 mM (0.9%) 程度含まれる。この場合、半径  $1.5 \mu\text{m}$  の液滴には約  $10^9$  個の  $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  イオンが含まれる。この食塩水中に  $10^{-5}$  M の分析目的試料が含まれている場合、この試料分子の数は  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  の約一万分の一となる。一万倍も多く含まれる  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  イオンの中から分析目的イオンを選択的に気相に取り出すことはそれほど容易なことではなく、分析イオン種の表面活性が高くない限り気相イオンとして観測することは難しい。これが、共存する塩によるサプレッション効果である。また、塩濃度が高くなるにつれて、エレクトロスプレーが発生しにく

くなるので、さらに分析目的成分の検出が困難となる（8節参照）。このような塩によるサプレッション効果は、エレクトロスプレーのダウンサイジング（ナノ化）で大幅に緩和される（9節参照）。

## 6. エレクトロスプレーしやすさは液体試料の表面張力に依存する

液体は表面張力をもつので、その表面積をなるべく小さくしようとする。ところが、エレクトロスプレーは液体を細かな液滴として噴霧させる現象なので、液体の表面積は大きく増大する。つまりエレクトロスプレーは液体の表面張力に逆らう現象である。したがって、液体の表面張力を小さくしてやれば、エレクトロスプレーは発生しやすくなる。水の表面張力 $\gamma$ は大きいので（常温で $\gamma=72\times 10^{-3}$  N/m）、水溶液試料をエレクトロスプレーすることが難しいことは、エレクトロスプレー実験に携わる人がよく経験するところである。ところが、この試料にメタノール（ $\gamma=22\times 10^{-3}$  N/m）やアセトニトリル（ $\gamma=28\times 10^{-3}$  N/m）を加えると、エレクトロスプレーが発生しやすくなる。これは、有機溶媒の添加で混合液体の表面張力が小さくなるからである。これは、メタノールやアセトニトリルが水に比べてより疎水性なため、水溶液の表面に凝集しやすく、水の場合に比べて表面張力が減少するからである。[有機溶媒/水]混合溶媒の水に対する有機溶媒の表面組成は、バルク組成よりも必ず大きくなる。お酒を楽しむとき、グラスの中のお酒の表面をすすりながら飲むと酔いが早くなるかもしれない。

式(5)から、表面張力( $\gamma$ )による圧力 $P_\gamma$ は、 $\gamma$ に比例するので、 $\gamma$ が小さいほど低い電圧でエレクトロスプレーを発生させることができる。ある溶媒に溶質を溶かした場合、液体表面の溶質濃度が液体内部の溶質濃度よりも高くなる場合と低くなる場合がある。前者を正吸着、後者を負吸着という。界面活性なイオンがあると、これらが液体表面に吸着して表面張力を下げるので、エレクトロスプレーが発生しやすくなる。逆に、塩のような界面活性をもたない溶質をエレクトロスプレーで検出することは比較的難しい。これは、負吸着、すなわち溶質が液体内部に存在しやすいことから、一次液滴から生成する二次帯電液滴内に取り込まれにくくなるからである。正吸着しやすい試料はイオン蒸発機構で、また負吸着しやすいイオンは帯電残滓機構で検出されやすい。

## 7. 負イオンモードは正イオンモードに比べてエレクトロスプレーしにくいのはなぜ？

エレクトロスプレーの論文を検索すると、正イオンに比べて、負イオン関連の論文が比較的少ない。この理由の一つは、正イオンモードに比べて負イオンモードでのエレクトロスプレーが安定に発生させにくいからである。エレクトロスプレーを安定に持続させるうえでの大敵は、キャピラリー先端に発生するコロナ放電プラズマである。高電場が印加されている気体に宇宙線など何らかの作用で電子が

## 電子の電界放射

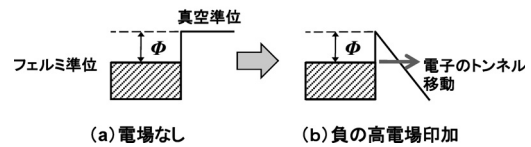


Fig. 4. トンネル効果による電子の電界放射. (a) 電場がない場合の電子のポテンシャル. (b) 金属に負の高電位を与えた場合の電子のポテンシャル.  $\phi$ : 仕事関数.

供給されると、電子が電場によって加速されて、気体をイオン化する。この気体のイオン化で、さらに電子が生成し、この電子が気体をイオン化する、という現象が次々と雪崩のように増幅されて、プラズマ発生に至る。このように、プラズマの発生は電子がきっかけとなる。正イオンモードのエレクトロスプレーでは、金属キャピラリーが正の高電位にあるので、プラズマ発生の種になる電子が発生したとしても、この電子は金属キャピラリーに吸い取られ、プラズマ発生がある程度抑制される。ところが、負イオンモードでは、キャピラリーが負の高電位にあり、電子はキャピラリー先端から外側に向かって放射状に加速され、周辺の気体分子をイオン化して、プラズマを発生させやすい。また、鋭利な金属キャピラリー先端部で起こるトンネル効果で電子が発生しやすくなり、この電子がプラズマ発生の誘因となる。

Fig. 4 に、鋭利な金属先端に印加された負の高電場によって、金属内の電子がトンネル効果によって外に飛び出す概念図を示す。金属内の電子は図に示すように、Fermi 準位まで占有されている。電子を気相に飛び出させるためには、最低でも仕事関数( $\phi$ )に相当するエネルギーを電子に与えなければならない。ここで、金属に高い負の電位(ポテンシャル)を印加すると、金属面外側の電位が対極に向かって下がる。電子は、質量が小さいので、大きなド・ブロイ波長 $\lambda$ をもつ。

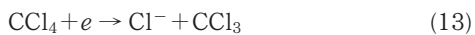
$$\lambda = h/mv = h/p \quad (11)$$

( $h$ : Planck 定数,  $m$ : 電子の質量,  $v$ : 電子の速度,  $p$ : 電子の運動量). ド・ブロイ波長 $\lambda$ が障壁の厚さ,  $\Delta x$ , に近くなると、電子は仕事関数の障壁 $\phi$ を超えずに、トンネル効果で外側にしみ出すことができる。これが電子の電界放射現象である。負イオンモードでのエレクトロスプレーでは、キャピラリー先端からこのようなトンネル効果による電子の供給が行われやすいので放電が発生しやすくなる。用いるキャピラリー先端にギザギザな尖った部分(バリ)があると、そこから放電しやすくなるので注意が必要である。ちなみに、鋭利な金属針電極先端からの電子のトンネル放出は、点光源に近い電子発生源として、電子顕微鏡の電子銃に応用されている(電界放射型冷陰極)。

プラズマとは、ほぼ同密度の正イオンと電子(あるいは負イオン)とからなる空間と定義され、電気伝導性を示すので、キャピラリー先端にプラズマが発生するとキャピラ



リー先端に印加されていた局所高電場が一挙に弱められる。このため、キャピラリーから流出する液体は金属界面での電気化学反応を起こさなくなり、観測されるイオンは気体放電で生成したイオン種が主となる。放電発生は、キャピラリー付近に SF<sub>6</sub> ガスを供給したり、試料溶液中に CCl<sub>4</sub> などを添加することである程度抑制することができる。これは、これらの化合物が正の電子親和力を持ち、放電発生の種になる電子を捕捉するからである（気相における電子捕獲反応）。



### 8. 塩を含む溶液がエレクトロスプレーされにくいのはなぜか

エレクトロスプレーで起こる電気化学反応による全イオン電流 *TDC* (Fig. 1) は、溶液の電気伝導度 *K* に依存し、*K* の増加に伴って電流が増加することが知られている。

$$TDC \propto K^n \quad (14)$$

*n* の値は、実験条件によって異なり、0.2 から 0.4 の値をとることが多い。*K* の増加でエレクトロスプレー電流が増加するのは、キャピラリー先端で起こる電気化学反応が促進されるからである。この現象は化学電池における電気化学反応でよく知られた現象である。電池などの電気化学反応においては、なるべく大きな電流を取り出すために、電気化学反応には直接関与しない**支持電解質**（塩素酸カリウムなど）が加えられる。支持電解質は、電極表面で起こる酸化・還元反応には関与しないにもかかわらず、その添加で反応が促進される点に興味深い。エレクトロスプレー現象にも深く関係するので、なぜこのような現象が起こるのかを考えておく。電解質溶液中の陽極と陰極の間に電位差を与えた場合、陽極と陰極の近傍で大きな電位差が生じ（陽極と陰極近傍において陰イオンと陽イオンの濃度に相違が生じてこれが電位差を生む：Poisson の方程式から理解される）、中間領域では電位の変化はなだらかとなる。この傾向は、溶液の電気伝導度 *K*（すなわち電解質濃度 *C*<sub>0</sub>）の増加で顕著になる。電極表面近傍に生じる大きな電位差のかかった領域の厚さは、電解質溶液中のイオンの **Debye 遮蔽長** λ<sub>D</sub> の数倍程度とみなせる。

$$\lambda_D(\text{nm}) = 0.305/C_0^{1/2} \quad (15)$$

*C*<sub>0</sub> は溶液中のイオンのモル濃度である。電解質溶液中の陽イオンと陰イオン（気相イオンは、正・負イオンといわれる）はお互いにクーロン引力で相互作用する。すなわち、陽イオンの近傍には陰イオンが集まり、陰イオンの周りには陽イオンが集まって、お互いの電荷を中和している。これによって、イオンの生じる電場（クーロン場）が反対電荷イオンで遮蔽される。実質的に λ<sub>D</sub> 以上の領域は電氣的に中性とみなすことができる。電解質濃度 (*C*<sub>0</sub>) が高くなると λ<sub>D</sub> が小さくなる（式 (15)）。すなわち、陽極と陰極の表面近傍に生じる大きな電位差がかかる領域が薄くなっていく。つまり、この領域の電場が大きくなる。このため、

この領域に存在する反応に関与するイオンの電場中の移動速度が大きくなって、電気化学反応の速度が増す結果につながる。

これと同様に、エレクトロスプレーでのキャピラリー先端で起こる電気化学反応も、電気伝導度 *K*、すなわち電解質濃度 *C*<sub>0</sub> の増加で促進される（式 (15)）。つまり、過剰電荷の生成速度が速まり、より短い時間内に Taylor コーン形成の条件が整い、エレクトロスプレー電流量も増大する。ところが、電解質濃度が 10<sup>-2</sup> M を超える辺りから、エレクトロスプレーが不安定になってくる。キャピラリー先端に印加されている電場で十分な過剰電荷がキャピラリー先端の液体に供給されるにもかかわらず、エレクトロスプレーが発生しにくくなるのである。この現象はどう解釈すればよいのだろうか。キャピラリー先端の液体に付与された過剰電荷は、液体表面近傍に集まる。ここで電解質濃度が高まると、この過剰電荷は溶液中に共存する高濃度の反対符号電荷によって遮蔽されて実質的な電場が減殺される。このため、過剰電荷同士のクーロン反発力（外に向かう静電圧）が弱まり、エレクトロスプレーが発生しにくくなると考えられる。ちなみに、150 mM の生理食塩水濃度における Debye 遮蔽長 λ<sub>D</sub> は、式 (15) からわずかに 1 nm 程度と計算される。この濃度の電解質溶液になると、イオン同士の相互作用が分子の大きさの数倍程度の近距離相互作用になることがわかる。生体内では、このような密にイオンが存在する環境の中で営みが行われている。

高塩濃度の溶液をエレクトロスプレーさせようとして強引にキャピラリーの電圧を上げると、エレクトロスプレーが発生する代わりにキャピラリー先端で気体の放電破壊が起こる。150 mM 程度の塩濃度をもつ生体の体液などを直接エレクトロスプレーするのが難しいのはこのような理由による。しかし、後述するように、**探針エレクトロスプレー**では、体液など生理食塩濃度の水溶液が容易にエレクトロスプレーされる（9 節）。

Fig. 1 に示すように、エレクトロスプレーでは、キャピラリーが大気を介して対向電極と向き合っている。これは、一種のコンデンサーとみなせる。両者に電位差が与えられると、キャピラリーと対極の金属表面に過剰電荷 ±*Q* が誘起される（コンデンサーの充電）。

$$Q = C \times V \quad (16)$$

*Q* はコンデンサーにたまる電荷量、*C* はコンデンサーの容量、*V* はコンデンサーに加えられた電圧である。キャピラリー先端に電解質溶液が流出するとキャピラリー先端で電気化学反応が起こり、金属キャピラリー電極表面に溜まっていた電荷が液体に乗り移っていく。帯電した液体がついには Rayleigh 極限に達して、帯電液滴として対極に向かって飛ぶ。これは、大気という誘電体を介したコンデンサーから電気がリーク（漏電）しているようなものである（過剰電荷の排出現象）。

### 9. エレクトロスプレーのナノ化で検出効率が上がるのはなぜか: ESI, nanoESI, および探針エレクトロスプレー

エレクトロスプレーのイオンシグナル強度は、液体試料の流量にはあまり依存せず、主に濃度に依存するという傾向がある<sup>5)</sup>。たとえば、送液量を増やしても、シグナル強度は期待したほどは増加せず、逆に流量を下げるとシグナル強度が増えることさえある。この現象は、エレクトロスプレーの本質に深くかかわっている。エレクトロスプレーという現象の本質は、キャピラリー先端で起こる電気化学反応に起因することを繰り返し述べた。電気化学反応は金属表面で起こる界面反応で、溶液中のイオンの拡散移動が関連する比較的ゆっくりした反応である。この点については、van Berkel らの論文が参照に値する<sup>6)</sup>。

エレクトロスプレーでは、液体試料が連続的にキャピラリー先端に供給されるので、単位時間当たりの送液量が大きくなるほど単位体積当たりの液体に与えられる過剰電荷の割合が減少する。Fig. 5 に、従来のエレクトロスプレー（キャピラリー内径:  $\sim 100 \mu\text{m}$ ）、ナノエレクトロスプレー（内径数  $\mu\text{m}$ ）、および探針（先端直径 $\sim 700 \text{nm}$ ）を用いた場合において、液体試料と金属先端部における濡れの相違の概念図を示す。探針を用いるものは、筆者らが開発した探針エレクトロスプレー (probe electrospray: PESI) である<sup>7)~9)</sup>。

電気化学反応は、高電場が発生しているキャピラリーの出口付近でのみ起こるため、従来エレクトロスプレー（キャピラリー内径:  $\sim 100 \mu\text{m}$ ）のように数  $\mu\text{L}/\text{min}$  の流量を取り扱う操作では、液体への過剰電荷供給の効率は低くならざるをえない。このため、エレクトロスプレーが安定に持続しにくく、一般的に気送ネブライザーなどの支援で液体をスプレーする方式が採用されている。液体試料をエレクトロスプレーするためのキャピラリーと同軸の外筒キャピラリーを用いて、エレクトロスプレー用キャピラリー先端部に高圧ガスを流すと、内筒のキャピラリー先端での放電破壊が起こりにくくなる（Paschen の法則）。このため、ネブライザーガスを使用することで、より高い電圧をキャピラリーに印加することができる。この結果、キャピラリー先端部での電気化学反応がより促進されて、

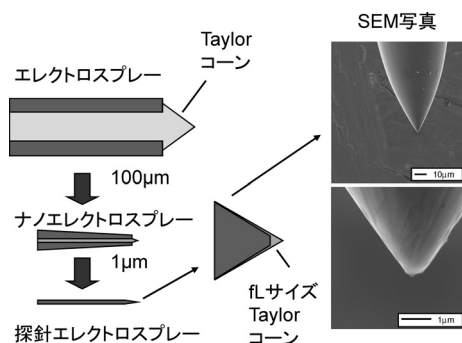


Fig. 5. エレクトロスプレーのダウンサイジング。

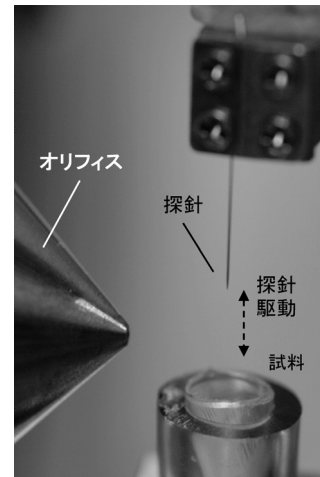


Fig. 6. 探針エレクトロスプレーの駆動部。

エレクトロスプレー電流が増加する。これは、より大きな過剰電荷をもつ帯電液滴形成につながる。また、ネブライザーガスの使用で、スプレーされる液滴サイズが微細化されるので、帯電液滴の乾燥が容易となり、帯電液滴中のイオンの気相への脱離効率も高まる。これらの効果によって試料の検出感度が向上する。

キャピラリーから流出する液体試料の流量を減らしていくと、単位体積当たりの液体試料への過剰電荷供給量が増す。これが、従来エレクトロスプレーに比べてナノエレクトロスプレーによる試料検出効率が桁違いに高くなることを説明する。さらに、探針を用いた場合には、液体試料は探針表面を薄くぬらすだけなので、[金属界面と接触する液体]/[液体の体積]の比が最も大きくなり、極めて効率のよいエレクトロスプレー発生条件が整う。

Fig. 6 に、探針エレクトロスプレーの駆動部の写真を示す。この方法では、キャピラリーの代わりに探針を用いる。探針を直動式モーターで上下運動させて、下至点において探針先端部と試料を接触させることで試料を捕捉し、上至点において直流の高電圧を印加して、先端に捕捉した試料をエレクトロスプレーさせる。

Fig. 7 に、探針先端に捕捉された数 pL の試料 ( $10^{-5} \text{M}$  グラミシジン S および  $10^{-2} \text{M}$  酢酸アンモニウムの水溶液) がエレクトロスプレーされる様子 (スナップ写真) を示す<sup>9)</sup>。探針への印加電圧は  $+2.5 \text{kV}$  である。電圧印加後約  $1 \text{ms}$  経過した時点ですでに、探針先端に fL 程度の小さな液粒 (Taylor コーン) が現れ、その先端からスプレーの発生が始まる。10 ms から 15 ms でスプレーの電流値が最大になる。スプレー発生までに  $1 \text{ms}$  程度 (以内) の誘導期があるのは、探針先端部での電気化学反応で Rayleigh 極限に近い過剰電荷が供給されるのに ms 程度 (以下) の時間がかかることを意味する。つまり、エレクトロスプレー現象は電気化学反応律速となる。

探針エレクトロスプレーでは、金属探針の先端表面を薄くぬらした液体試料に効率よく過剰電荷が供給されるので、従来エレクトロスプレーやナノエレクトロスプレーで



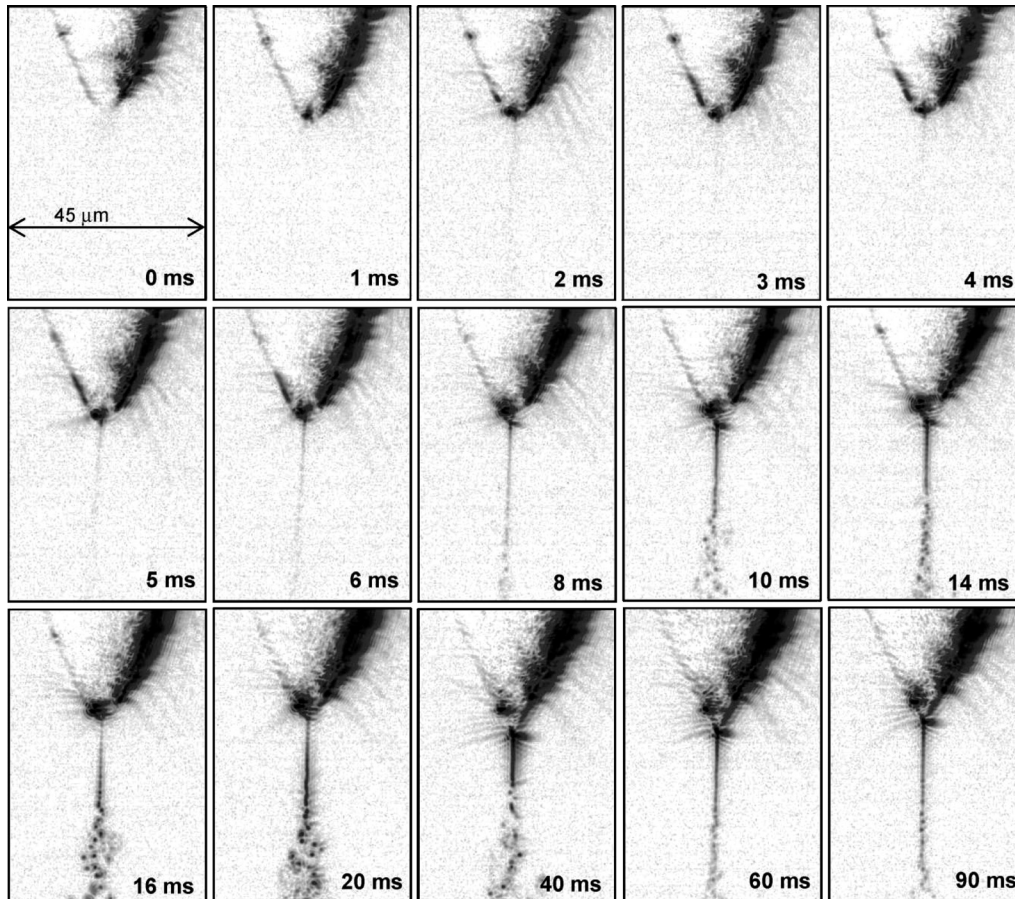


Fig. 7. 2.5 kV の電圧が印加された後の探針先端からのエレクトロスプレー発生. 探針先端直径: 700 nm, 探針先端に捕捉された試料量: 数 pL, 試料:  $10^{-5}$  M グラミジジン S および  $10^{-2}$  M 酢酸アンモニウムの水溶液. (文献 9 より許可を得て転載. ©2008, American Chemical Society).

は起こりにくい現象が観察される. たとえば, ほぼあらゆる水分を含む試料に対して, 試料無調製でマススペクトルが得られる (果物, 動物の体液, 生体組織, 清涼飲料水, 酒類, など液状試料全般)<sup>7), 8)</sup>. たとえば, バナナの身や皮を直接探針でつつくだけで, 糖の  $K^+$  付加体などが観測される. また, 尿や脳脊髄液のような高塩濃度の生体試料の直接測定で, 試料特有のマススペクトルが得られる. 粘り気のあるイクラでもマススペクトルを得ることができる. 得られるマススペクトルには, 塩のクラスターイオン,  $Na^+(NaCl)_n$  がほとんど現れないという点が特異的である. これは, 生体試料中の塩の組成である塩化物イオンの酸化,  $2Cl^- \rightarrow Cl_2$ , が起こり, 試料中の負イオン濃度が減少すること, また生成する液滴サイズがイオン対を含まない程度にまで微細化されていること, などに起因する可能性があるが, はっきりしたことはわからない. 先端に捕捉される試料採取量は, 探針の先端形状によるが, Fig. 6 の探針 (先端直径  $\sim 700$  nm, 探針直径  $100 \mu m$  の鍼灸針 (セイリン)) を用いた場合では, pL 以下である. 一例として Fig. 8 に, ヒトの母乳と乳児用に調製されたミルクを直接測定したマススペクトルを示す<sup>8)</sup>. 脂質成分の構成にははっきりした相違がみられる.

探針先端径は  $\mu m$  以下なので, 生体試料のナノイメージ

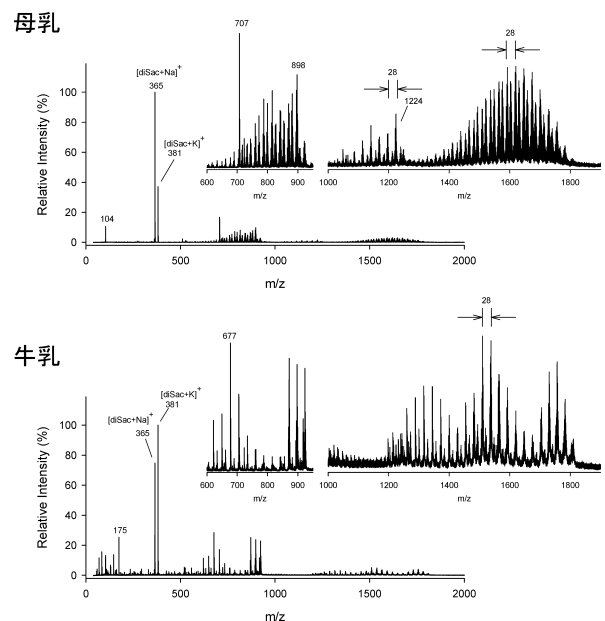


Fig. 8. ヒトの母乳と乳児用に調製されたミルクを直接測定した探針エレクトロスプレーマススペクトル. (文献 8 より許可を得て改変. ©2008, Wiley Inter Science).

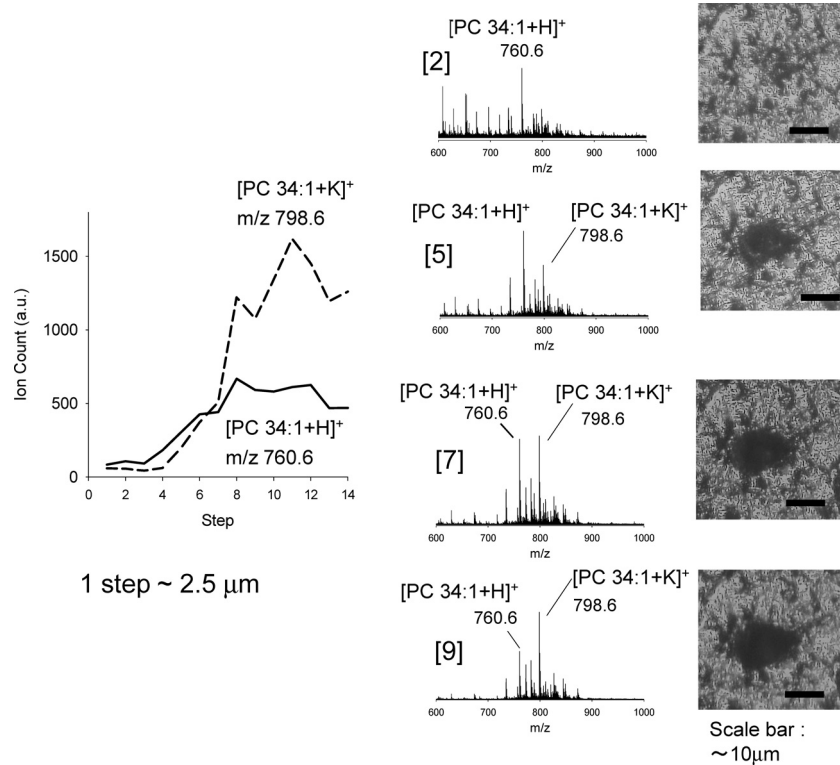


Fig. 9. マウス脳の深さ方向マススペクトル.

ング像の測定も可能となった. Fig. 9 に探針エレクトロスプレーによって, マウス脳の特定部位の深さ方向イメージングを測定した例を示す<sup>10)</sup> (最大侵入深さ:  $30\ \mu\text{m}$ , 試料に開けられる穴の直径: 約  $20\ \mu\text{m}$ ). 試料は無調製でそのまま試料台に載せて測定された.

左図に示すように, 表皮細胞からはプロトン化されたリン脂質が検出されるが, 侵入深さが増すにつれて,  $\text{K}^+$  付加体のイオン強度が強くなる.

Fig. 10 に, 試料台にマウス脳の切片を載せて, 内部への侵入深さを  $100\ \mu\text{m}$  一定として, 探針を  $1,500 \times 1,800\ \mu\text{m}$  の範囲内において  $60\ \mu\text{m}$  間隔で移動・操作し, イメージング測定を行った結果を示す<sup>11)</sup>. 1ピクセルサイズは  $60\ \mu\text{m}$  で, 測定点は  $25 \times 30 = 750$  箇所である.

$m/z\ 782.6$  と  $m/z\ 756.6$  は, おおの  $[\text{PC}\ 34:1+\text{Na}]^+$  と  $[\text{PC}\ 32:0+\text{Na}]^+$  であり, 測定した領域にはほぼ普遍的に存在している (PC: phosphatidylcholine).  $m/z\ 810.6$   $[\text{PC}\ 36:1+\text{Na}]^+$  と  $m/z\ 826.6$   $[\text{PC}\ 36:1+\text{K}]^+$  は主に白質に分布している. 一方,  $m/z\ 828.6$   $[\text{PC}\ 38:6+\text{Na}]^+$  は, 白質よりも灰白質に多く分布している. これらの結果は, DHBをマトリックスとして用いた MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization) の結果とよく一致する<sup>12)</sup>.

分布のコントラストが最もはっきりしているのが, 白質に集中している  $m/z\ 822.7$ ,  $850.7$ , および  $934.7$  のピークである.  $m/z\ 850.7$  のピークはナノ粒子を用いた MALDI によって, galactosylceramide の  $\text{Na}^+$  付加体,  $[\text{GalCer}\ 24\text{h}:0+\text{Na}]^+$ , と同定されている<sup>13)</sup>.  $m/z\ 822.7$  および  $934.7$  のピークは,  $[\text{GalCer}\ 422\text{h}:0+\text{Na}]^+$  および

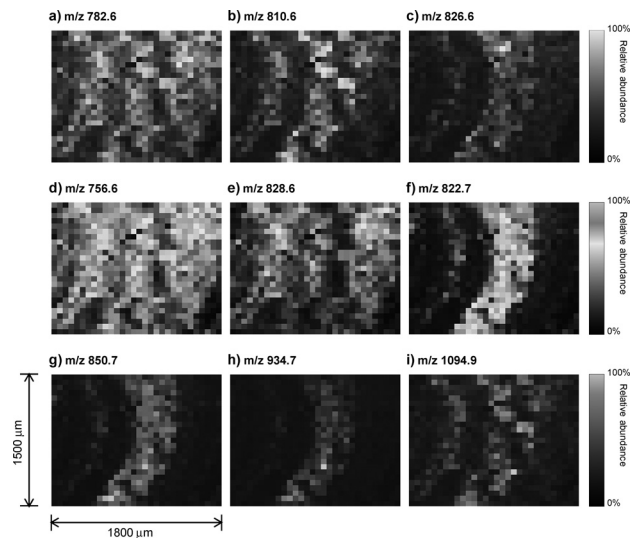


Fig. 10. 探針エレクトロスプレーによるマウス脳のイメージング測定. (a)  $m/z\ 782.6$  ( $[\text{PC}\ 34:1+\text{Na}]^+$ ), (b)  $m/z\ 810.6$  ( $[\text{PC}\ 36:1+\text{Na}]^+$ ), (c)  $m/z\ 826.6$  ( $[\text{PC}\ 36:1+\text{K}]^+$ ), (d)  $m/z\ 756.6$  ( $[\text{PC}\ 32:0+\text{Na}]^+$ ), (e)  $m/z\ 828.6$  ( $[\text{PC}\ 38:6+\text{Na}]^+$ ), (f)  $m/z\ 822.7$  ( $[\text{GalCer}\ 22\text{h}:0+\text{Na}]^+$ ), (g)  $m/z\ 850.7$  ( $[\text{GalCer}\ 24\text{h}:0+\text{Na}]^+$ ), (h)  $m/z\ 934.7$  ( $[\text{GalCer}\ 30\text{h}:0+\text{Na}]^+$ ), (i)  $m/z\ 1094.9$ . ピクセルサイズは  $60\ \mu\text{m}$ . 測定範囲:  $1,500 \times 1,800\ \mu\text{m}^2$ . (文献 11 より許可を得て転載. ©2009, Wiley InterScience).

$[\text{GalCer}\ 30\text{h}:0+\text{Na}]^+$  と考えられる.

MALDIによるマウス脳のイメージング測定では, PC と galactosylceramides の検出に際してはおおの異なるマトリックスを用いる必要がある<sup>12), 13)</sup>. これに対して探

針を用いるイメージング測定では、試料無調製でこれらの脂質を同時に観測することができる。

探針エレクトロスプレーは、断続的な繰り返し操作で試料採取する方法なので、生体反応などの経時変化も追跡できるので、応用範囲が広い。

式(2)から、先端径 700 nm の探針先端の電場強度を計算すると、 $10^8$  V/m 程度となる。従来エレクトロスプレー（キャピラリー外径： $\sim 200 \mu\text{m}$ ）におけるキャピラリー先端の電場  $10^6$  V/m に比べて 2 桁程度高いという計算になる。このような高電場では、通常気体の放電破壊が起こるが、探針エレクトロスプレーでは、放電は発生しにくくエレクトロスプレーが安定に持続しやすい。これは、電場が最も強くなる探針先端が液体によってぬれるからである。気体に比べて液体は非常に放電しにくいので、ぬれた探針先端から放電が発生することなく液体試料がエレクトロスプレーされることになる。

エレクトロスプレーで発生する帯電液滴のサイズを極限的に小さくすることができれば、試料イオンを 1 個だけ含む帯電液滴を形成できるので、究極の検出感度が得られるであろう。Wilm と Mann は、Taylor コーン表面が等電位にあるという仮定をもとに（電解質溶液に対してよい近似）、Poisson 方程式を解いて、エレクトロスプレーで発生する液滴サイズを与える式(17)を導いた<sup>3)</sup>。

$$r_e = (dV/dt)^{2/3} \times \rho^{1/3} / [4\pi^2 \gamma \tan(\pi/2 - \theta) \{ (U_a/U_i)^2 - 1 \}]^{1/3} \quad (17)$$

ここで、 $(dV/dt)$ : 液体の流量、 $r_e$ : 液滴の半径、 $\rho$ : 液体の密度、 $\gamma$ : 表面張力、 $\theta$ : Taylor コーン角度の  $1/2$ 、 $U_a$ : 印加電位、 $U_i$ : エレクトロスプレーが発生する電位の敷居値である。この式から、液体試料の流量  $(dV/dt)$  を小さくすることで、より微細な帯電液滴が形成されることがわかる。これは、エレクトロスプレーのナノ化で試料検出効率が高まることに関連する（式(9)参照）。

探針エレクトロスプレーは、従来エレクトロスプレーを大幅にダウンサイジングしたことになる。しかし、エレクトロスプレーを究極的にダウンサイジングした現象が古くから知られている。それは、電界脱離 (FD) による気相イオンの生成である。

### 10. 電界脱離 (FD) はエレクトロスプレー現象である

高真空中におかれた鋭利な金属針先端に  $10^9$  V/m から  $10^{10}$  V/m の電場を印加すると、外部から表面に接近する原子や分子が気相でイオン化されるという現象が発見された<sup>14)</sup>。これが、電界イオン化 (field ionization: FI) であり、電界イオン顕微鏡の原理である。その後、鋭利な針電極 (エミッター) に直接試料を塗布・乾燥し、これを電場でイオン化し脱離させる方法が開発された。これが電界脱離 (field desorption: FD) と呼ばれるイオン化法である。これらのイオン化法は、鋭利なエミッターを利用する点や、真空中での操作が共通しているため、まとめて議論されることが多い。しかし、イオン化のメカニズムが基本的に異なる、という点に関して指摘されることはまれである。この

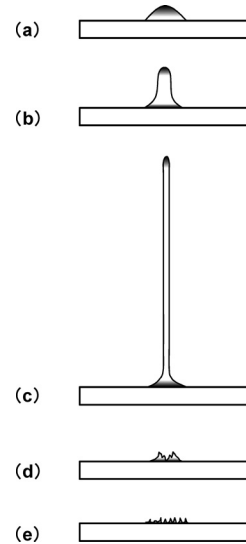


Fig. 11. ショ糖と NaCl を 2 : 1 に混ぜた水溶液を  $10 \mu\text{m}$  のタングステン線に塗布・乾燥し、真空中でタングステン線を加熱して、試料を脱離させたときの様子。試料が塗布されたタングステン線の直径は  $10 \mu\text{m}$ 。タングステン線への印加電場:  $10^8$  V/m。

区別をすることがエレクトロスプレーの理解を深めるので、まず FD について述べる。

Fig. 11 は、ショ糖と NaCl を 2 : 1 に混ぜた水溶液を直径  $10 \mu\text{m}$  のタングステン線に塗布・乾燥後、真空中で試料が脱離する様子を撮影したものの模式図である<sup>15)</sup>。  $10^8$  V/m の電場が印加されたタングステン線に電流を流して加熱し試料に流動性を帯びさせると、図のように試料が隆起して液柱となり、これが対極に向かって千切れて飛ぶ。この現象は、大気圧下でのエレクトロスプレーにおいて、キャピラリーに印加する電圧が低いときに、対極に向かって大きな液滴が不連続的に出射される現象と似ている。大部分の試料が失われた後、電極表面に数多くのマイクロなジェットが観測されるようになる (Fig. 11(e))。この段階で、ショ糖分子 M の  $\text{Na}^+$  付加体、 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  がマススペクトル上に観測され始める。この現象は以下のように理解される。タングステン線の加熱によって試料が流動性を帯びるにつれて、試料中のイオン ( $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$ ) が試料中を電気泳動するようになる。電場の影響による電気泳動でタングステン電極表面に到達した  $\text{Cl}^-$  が電極界面で酸化されて  $\text{Cl}_2$  を生成し ( $2\text{Cl}^- \rightarrow \text{Cl}_2$ )、その結果試料が過剰の  $\text{Na}^+$  で帯電し、この過剰電荷が表面に蓄積することで流体が Taylor コーンを形成して、その先端から静電力で  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  が脱離する。これは、まさしく、電気流体噴霧、すなわち、エレクトロスプレー現象である。ここで注目すべきは、Taylor コーン先端から、 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  が脱離するという実験事実である。これは、 $10^8 \sim 10^9$  V/m の高電場で、Taylor コーン先端から  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  イオンが直接気相に脱離したことを示す。5 節において、帯電液滴に  $10^8$  V/m の電場が発生した段階で、イオン蒸発機構で気相イオンが生成すると述べたが、このとおりの現象が起こっている。このような高電場におけるイオンの直接蒸発は、金属イ



オン源からの原子イオン脱離（この場合の電場は $\sim 10^{10}$  V/m）に類似した極限的イオンの発生現象である。電界脱離とは、高電場による Taylor コーン先端からのイオンの脱離現象である。ここで指摘しておかなければならないのは、電界脱離現象は、エミッターからまず中性分子が脱離（気化）してこれが気相でイオン化されるという2過程の機構ではないということである。高電場が印加されている鋭い金属針電極近傍に中性分子があると、この電場にさらされた分子は分極されて（誘起双極子）、針に向かって引きつけられる。引きつけられて接近する過程で、金属に接触する前にトンネル過程で金属に向かって電子移動が起こって分子がイオン化されるのが以下に述べる電界イオン化である。

### 11. 電界イオン化 (FI) と電界脱離 (FD) のメカニズムは異なる

上に述べたように、電界脱離は、静電圧によって凝集相にあるイオンが気相に脱離する現象である。したがって、正確には、**電界イオン脱離**、と呼ぶべきものである。これに対して、電界イオン化は、鋭利な針電極近傍に近づいた気体分子が電極に接触することなく、気相においてトンネル効果（電子トンネル移動）でイオン化する現象である。Fig. 12(a) は電場が印加されていないときに、分子が金属表面に**接近**（吸着ではない）したときの電子のポテンシャルエネルギーを表している。 $IE$ （イオン化エネルギー）は分子の最高被占軌道と真空準位とのポテンシャルエネルギーの差に相当する。分子の最高被占軌道は金属のフェルミ準位よりも低いので（より安定）、分子と金属間での電子のやり取りは起こらない。なぜなら、金属の価電子帯の電子準位は電子対で充たされているからである。

ここで、金属に正の高電圧を印加すると、金属表面近傍のポテンシャルが Fig. 12(b) のように右上がりとなり、分子の最高被占軌道のエネルギー準位が引き上げられる。電場を  $E$ 、金属表面から分子までの距離を  $x$  とすると、 $x$  と  $E$  の積、 $[x \times E]$  の値がちょうど  $[IE - \Phi]/e$  になった距離で、金属のフェルミレベルと分子の最高被占軌道が一致する。このときの臨界接近距離を  $x_c$  とすると、

$$e[x_c \times E] = IE - \Phi \quad (18)$$

となる。式 (18) のエネルギーの単位は eV である。ある一定の電場  $E$  が印加された状態で、 $e[x_c \times E] \geq IE - \Phi$  が成り立つ条件、すなわち、分子が金属表面より  $x_c$  以上離れていれば、分子の最高被占軌道の準位がフェルミ準位よりも高くなるので、分子の最高被占軌道の電子が金属の伝導帯（電子が占有されていない空準位帯）にトンネル移動（図の障壁を透過）してイオン化される（電界イオン化）過程が起こりうる。生成した正イオンは、電極近傍の正電場のためにクーロン反発力によって対極に向かって飛び去る。ここで注意しなければならないのは、接近距離が  $x_c$  よりも小さいと、 $e[x_c \times E] < IE - \Phi$  となるので、トンネル電子移動は起こらないという点である。また、遠すぎるとエネルギー障壁が高くなって、トンネルイオン化確率が下がる。

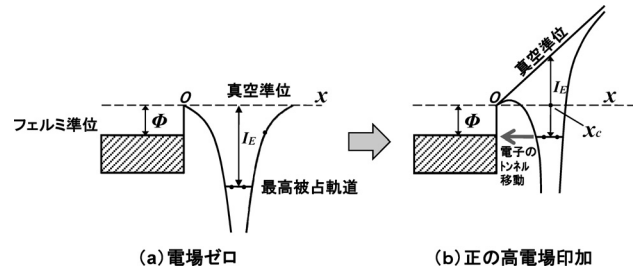


Fig. 12. 電界イオン化のメカニズム。(a) 電場なし、(b) 高電場印加。 $IE$ : 分子のイオン化エネルギー、 $\Phi$ : 金属の仕事関数、 $x$ : 金属表面からの距離。 $x_c$ :  $e[x_c \times E] = IE - \Phi$  となる臨界距離。

$x_c$  の値は、 $E$ 、 $IE$  および  $\Phi$  の値に依存する。 $E = 10^{10}$  V/m では、数ないし十数 Å ( $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$ ) と見積もられる。電界イオン化で生成するイオンは、電子を失ったラジカルイオンとなる。トンネル電子移動による電界イオン化の過程では、イオンの内部エネルギー励起が起こりにくいため、極めてソフトなイオン化が起こる。フラグメントイオンはほとんど生成しない。

“中性”分子が正電位の金属電極に接近して高電場にさらされると、強い電場の作用によって分子が金属に向かう静電作用力を受ける。これは、分子の永久双極子モーメント、あるいは電場によって誘起される誘起双極子モーメントに起因する。このため、中性分子は、表面に引きつけられて吸着する（電界吸着）。このような現象で、電極表面が汚染されやすい。また、気相での電界イオン化が起こると、イオン化で生じた電子が金属表面を衝撃して、表面に吸着した分子を解離させたりイオン化したりするなど、複雑な現象が起こる。また、金属電極上に吸着した絶縁物の厚さが  $x_c$  以上になると、絶縁物表面の分子がトンネルイオン化されて脱離するという現象も起こりうる。このため、ラジカルイオンのほかに、プロトン化された分子の生成も起こりうる（固体表面におけるイオン分子反応）。有機化合物などの電界イオン化では、このような複雑な現象が絡み合って進行するので、電極の汚れをできるだけ防ぐ必要がある。

### 12. MALDI では一価イオンしか観測されないのに、ESI で多価イオンが観測されるのはなぜか？

MALDI では、マトリックスが大きな吸収をもつ紫外レーザー光（窒素レーザー：337 nm, YAG レーザー 2 倍波：355 nm など）、あるいは赤外レーザー光をマトリックスに照射し、分析種をイオン化・脱離させる。マトリックス分子が多光子吸収などによって電子・振動励起され、マトリックス由来の励起種や反応イオンが生成する。マトリックス分子のイオン化では、正イオンと電子あるいは負イオンが対で生成する。生成した反応イオンが分析目的成分と反応してこれをイオン化する。反応イオンはもともと 1 価イオンなので、分析種の多価イオンは生成しにくい。マトリックスがレーザー光を吸収してから数十 ns 経過してようやくマトリックスのアブレーションが始まる。発生

するブルームは高密度のプラズマ状態になっており、正イオンと電子あるいは負イオンとの再結合が起こりやすく、またアブレーションに伴って生成する微粒子に分析目的成分が取り込まれるなどの理由で、分析対象分子のイオン化率は低くなる。これより、MALDI で検出される試料イオンは、千載一遇のチャンスで生き残った“lucky survivor”とたとえられる<sup>16)</sup>。それにもかかわらず、マトリックスが、①分析種をイオン化し、さらに②アブレーションを起こして生成したイオンを気相に脱離させる、という巧妙なメカニズムが働くので(マトリックスの一人二役)、条件を適切に設定することで、ピコモルは元よりフェムトモルオーダーの試料検出も難しくない。マトリックス中に試料分子が多価イオンとして存在している場合 (preformed ion)、これがマトリックスのアブレーションで気相に脱離して、多価イオンが観測されることもある。

エレクトロスプレーでは、キャピラリー先端で起こる電気化学反応によって、先端部の液体に過剰電荷が供給・蓄積される。たとえば、水溶液試料における正イオンモードでは、金属界面で起こる水の酸化反応、 $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}^+ + \text{O}_2 + 4\text{e}^-$  (Table 1) などで、先端液体に過剰のプロトンが付与される。過剰電荷で帯電した液滴の噴霧は、Rayleigh “極限” 現象である。帯電液滴に付与された過剰電荷は、ペプチドやタンパク質分子に付加して、多価イオンとして観測される。過剰イオンが電気化学 “反応” によって能動的に Rayleigh 極限に至るまで液滴に供給される、というメカニズムがエレクトロスプレーの特徴である。この特徴をいかに有効に活かすか、がエレクトロスプレーを応用するうえで重要となる。

ここで、エレクトロスプレーで発生する帯電液滴中の過剰電荷の濃度を見積もってみる。従来エレクトロスプレー、ナノエレクトロスプレーでは、ともに数十 nA から数百 nA 程度の電流が流れる。探針エレクトロスプレーにおいても、スプレー開始後、数十 nA の電流が観測される<sup>9)</sup>。エレクトロスプレー電流値が  $i$  (Fig. 1 における TDC) の場合に、帯電液体中の過剰電荷のモル濃度  $[Q]$  は以下の式で与えられる<sup>17)</sup>。

$$[Q] = i / F\Gamma \quad (19)$$

ここで、 $[Q]$  の単位は mol/L、 $i$  はエレクトロスプレー電流 (A: C/s)、 $F$  は Faraday 定数 (96,500 C/mol)、 $\Gamma$  は液体試料の流量 (L/s) である。エレクトロスプレーにおける電流量  $i$  (C/s) は、ESI, nanoESI, 探針エレクトロスプレーでそれほどの大差はない。したがって、式 (19) から、過剰電荷の濃度  $[Q]$  は、粗い近似で液流量  $\Gamma$  に反比例することがわかる。エレクトロスプレーのナノ化で、試料の検出効率が上がる理由がここにある (式 (17) 参照)。通常のエレクトロスプレーでは  $[Q]$  の値は  $\sim 10^{-5}$  M 程度となる<sup>17)</sup>。ナノエレクトロスプレーや探針エレクトロスプレーの場合における  $[Q]$  を大雑把に計算すると、 $10^{-3}$  M から  $10^{-2}$  mol/L 程度にもなる。この高い過剰電荷濃度がナノエレクトロスプレーや探針エレクトロスプレーの高感度能を説明する (分析目的成分が過剰電荷でイオン化されやす

い)。エレクトロスプレーで多価イオンが生成しやすいことがうなずける。

### 13. エレクトロスプレーの応用例

市販の質量分析装置のエレクトロスプレーの多くは直交エレクトロスプレー型、すなわち、イオンサンプリングオリフィスの軸に対して直角に気送支援エレクトロスプレーを吹き付ける方式を採用している。筆者はこの配置が最も強いイオンシグナルを与えることを偶然見だし、1995年に公表した<sup>18), 19)</sup>。その1年後、この論文が *Anal. Chem.* 誌の News & Features 欄に取り上げられ<sup>20)</sup>、その後、直交エレクトロスプレー方式を基本とするエレクトロスプレーインターフェイスが多くの装置メーカーによって市販されるようになった。

既述したように、従来エレクトロスプレーではナノエレクトロスプレーに比べて過剰電荷の供給効率が低く、気相イオンの生成に寄与しにくい大粒の帯電液滴が多く発生し、イオン源電極を激しく汚染する。大粒の液滴はエレクトロスプレーブルームの中心部に分布しやすいので、エレクトロスプレーを直交型にすることで、これらをサンプリングオリフィスの上方を素通りさせて真空装置への流入を抑えることができる<sup>21)</sup>。帯電液滴の分裂で生成した微細な二次液滴や気相イオンは、主にエレクトロスプレーブルームの外側に分布しやすい。これは、同一符号電荷をもつ帯電液滴の集合体であるエレクトロスプレーブルーム中に発生する空間電荷電場 (space charge field) により、質量のより小さい液滴や気相イオンがブルームの外側に向かってより早く拡散移動しやすく、逆に大きな液滴は中心部に残るからである<sup>18)</sup>。したがって、直交型エレクトロスプレー方式で、大粒の液滴を排除し、ブルーム周辺に多く分布する気相イオンを選択的に真空中にサンプリングすることができる。直交エレクトロスプレーは、数  $\mu\text{L}/\text{min}$  程度の流量を取り扱う場合の対処法であるが、エレクトロスプレーをナノ化すれば、電極の汚染は大幅に軽減され、また試料のイオン化効率も上がる。したがってナノエレクトロスプレーでは、直交型サンプリングの必要性は低くなり、ネブライザーなしでの平行スプレーでなるべく多くのスプレーブルームを質量分析装置の真空側にサンプリングすることで、イオン強度の増大を図ることができる。

レーザー光は、焦点を絞ることで高密度の光子を微小領域に照射できるので、物質に瞬時に高エネルギーを与えて非線形的な現象を引き起こすことが可能となる。MALDI がその典型である。筆者らは、レーザーの集光性を活かしつつ、しかし弱いパワーを用いてアブレーションを起こさせずに穏やかに Taylor コーンを加熱する “赤外レーザー支援” エレクトロスプレー法、略して、レーザー支援イオン化法、を開発した<sup>22)</sup>。

Fig. 13 に、ミオグロビンの水溶液試料が流出するステンレス鋼キャピラリー先端に 0.3 mm 程度に絞った 10.5  $\mu\text{m}$  の赤外レーザー光を照射したときの Taylor コーンの変化を示す。

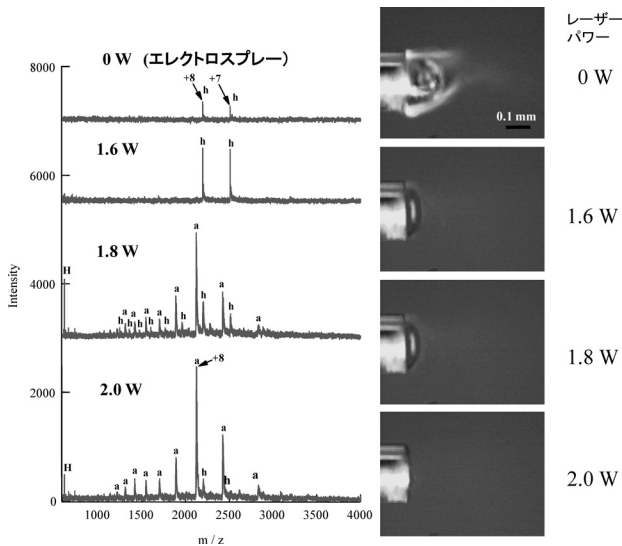


Fig. 13. 赤外レーザー光を照射したときのマスペクトルと Taylor コーンの変化. 試料:  $10^{-5}$  M のミオグロビン水溶液.  
(文献 22 より許可を得て改変. ©2005, Elsevier Science Limited).

レーザーパワーの増加で水溶媒の気化が促進され、Taylor コーンのサイズが急速に小さくなり、2 W でキャピラリー先端すれすれまで縮小する。このときのレーザーパワー密度は、数  $10^4$  W/cm<sup>2</sup> である。赤外レーザー照射で水溶媒が効率よく気化するの、水が波長 10.6  $\mu$ m 領域に大きな吸収をもつからである。この波長における吸収係数は  $1,000$  cm<sup>-1</sup> なので、赤外光の浸入深さは、 $10^{-3}$  cm、約 10  $\mu$ m 程度となる。つまり、10.6  $\mu$ m の赤外光は、波長オーダーの薄い表面層に吸収されて、効率よく水溶液表面近傍のみを局部的に加熱・気化させる。Fig. 13 において、レーザーパワーの増加に伴って、シグナル強度も増加していくことがわかる。この実験では赤外光を吸収しやすいステンレス鋼キャピラリーを使用しているので、2 W を超えると、キャピラリー先端が加熱のために劣化しやすくなり、加熱されたキャピラリー先端部で水溶液試料が突沸し始めて試料が液滴として飛散し、シグナル強度が下がる。このような突沸現象は金キャピラリーを用いることで大幅に抑制できる。これは、金が赤外光を反射しやすいので金キャピラリー自身が加熱されにくく、流出する水溶液に集中的に光エネルギーを投入することができるからである。金キャピラリーを用いると、水溶液試料のシグナル強度がレーザー照射前のエレクトロスプレーに比べて 1 桁以上増大することさえある<sup>23)</sup>。

エレクトロスプレーは、一般に水溶液を苦手とするが、レーザースプレーイオン化法は、とくに水溶液試料に向いている。Fig. 13 に示すように、赤外レーザー照射で、エレクトロスプレー発生が容易になり、生成する液滴のサイズも明らかに微細化する。なぜこのような現象が起こるのであろうか。これを明らかにするために、筆者らは、レーザー照射の有無におけるエレクトロスプレー電流 (Fig. 1 の TDC) を測定した。その結果、レーザー照射で若干電流

量が増加したものの、大差は認められなかった。赤外レーザー照射で水溶媒の多くが気化する (Fig. 13 の写真)。これによって実質的な試料の流量が大幅に減少する。エレクトロスプレー電流がほとんど変化しない、ということは、電気化学反応によって供給される過剰電荷が水溶媒が気化した分だけ帯電液滴中に濃縮されることを意味する。それと同時に、試料も濃縮される。この相乗効果で、イオンシグナル強度が増大する結果となる。レーザースプレーイオン化法は、エレクトロスプレーに赤外レーザー光を照射して実質的に流量を減らす、つまりエレクトロスプレーのナノ化を行っているようなものである (9 節参照)。

Fig. 13 のマスペクトルから、レーザーパワーが 1.6 W から 1.8 W になると、突然ミオグロビンが変性を起こして、ヘムを放出したアポミオグロビンが生成することがわかる。これは、レーザー照射されて加熱された液相中でミオグロビンが熱変性を起こしたことを示す。このように、レーザースプレーでは、液相中でのタンパク質の熱変性過程を容易に追跡できる。

また、レーザースプレーは、とくに非共有性複合体の解離過程の観測に適していることがわかった<sup>24)~27)</sup>。一例として、Fig. 14 に二重鎖 DNA と薬物複合体の分析例を示す<sup>27)</sup>。

レーザーパワーの増加で、複合体が解離して一重鎖 DNA とその薬物複合体への解離が観測されている。このマスペクトル変化は、レーザーパワーを on-off 調節するだけで観測できるので、測定時間は 1 分もあれば十分で、迅速性が特徴である<sup>25)~27)</sup>。

非共有性結合体は生命活動において極めて重要な役割を

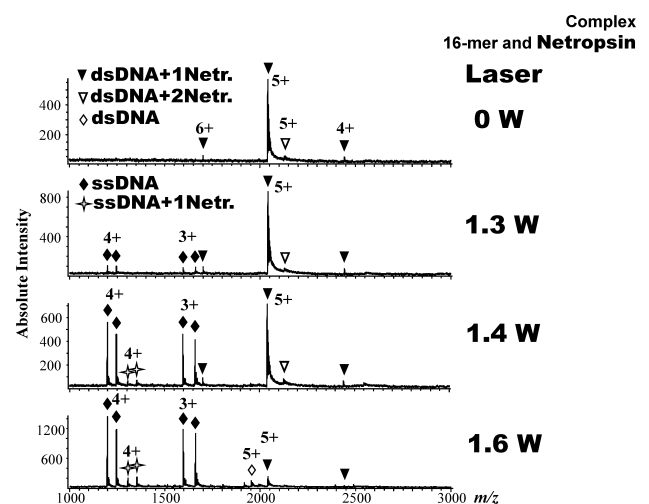


Fig. 14. 16 塩基対の二重鎖 DNA ((+) 5'-GCT GCC AAA TAC CTC C-3') と薬物 Netropsin との複合体のレーザースプレーマスペクトル。二重鎖 DNA に Netropsin 1 分子付加したもの ( $\nabla$ )、二重鎖 DNA に Netropsin 2 分子付加したもの ( $\nabla$ )、二重鎖 DNA ( $\diamond$ )、一本鎖 DNA ( $\blacklozenge$ )、一本鎖 DNA に Netropsin 1 分子付加したもの ( $\star$ ) が観測される。  
(文献 27 より許可を得て転載. ©2008, the Mass Spectrometry Society of Japan).



果たしている。たとえば、DNA と染色体においては、二重鎖 DNA、DNA とヒストン、ヒストン（複数タンパク質分子の複合体）、クロマチンの折りたたみ構造体、これらすべての構造が非共有性結合によって保たれている。生命現象は、このような非共有性複合体をほどこいたり、再構成したり、構造をフレキシブルに変化させたりして、巧妙に生命活動を維持している。このように、非共有性複合体の反応や安定性を知ることは生命現象を解明することにつながる。生命体においては、細胞内でのタンパク質合成などの反応が非共有性複合体などの働きで極めて速い速度で起こっている。非共有性複合体は、たとえば二重鎖 DNA の塩基対のように、局所の結合は、水素結合エネルギー程度ではあるが、この弱い結合が分子全体として作用しているので、総和として複合体全体では非常に強い結合が形成されていることになる。それにもかかわらず、生体中での非共有性複合体はわれわれの想像を超える速度で反応し、生命活動を維持している。たとえば、細胞 1 個で、1 秒間に数万個ものタンパク質が合成されている。このような速い反応が可能なのは、非共有性複合体がほどこれたり、また元に戻る反応が迅速に起こることを示す。このような早業が可能なのは、水溶媒のおかげである。非共有性複合体が解離する際、サブユニットが直ちに水和されて安定化されるので、解離反応の前後でのエネルギー差が小さくて済む。水がなければ高等な生命活動は維持できない。質量分析において、非共有性複合体を真空中で衝突誘起解離させて、解離過程を観測することが行われている。このような真空中における解離では、水溶媒が存在しないので、複合体に大きな運動エネルギーを与えないと解離しない。ややもすると、サブユニットの共有結合の切断さえ起こる。また、真空中での非共有性複合体の解離のメカニズムは、水溶液中とは異なるという指摘もある<sup>28)</sup>。これは、真空中での解離にはサブユニットの水和が伴わないので十分予想される場所である。この点からも、液相中での非共有性複合体の解離が観測できるレーザーイオン化法はユニークである。

エレクトロスプレーは、数十ないし数百 nA のイオン発生銃のようなものである。発生させたイオンを反応イオンとして利用する種々の応用例が開発されている。エレクトロスプレーを open-air で発生させると、大気中の微量成分、とくにプロトン親和力の大きな気体成分が検出されることがままある。これは、エレクトロスプレーで生成したイオンによって、大気中の不純物分子がイオン分子反応によってイオン化されるからである。不純物によるマススペクトルの汚染を防ぐためには、エレクトロスプレーイオン源を清浄な窒素ガスで充たすなどの工夫が必要である。一方、エレクトロスプレーで発生させたイオンを反応イオンとして積極的に利用する試みが多数登場してきた。たとえば、エレクトロスプレーを呼吸や、検体からの発生蒸気に吹き付けることで、気体成分が分析できる<sup>29)</sup>。

Shiea らは、生体組織などにレーザー光を照射して、これによって発生する蒸気成分をエレクトロスプレー雰囲気

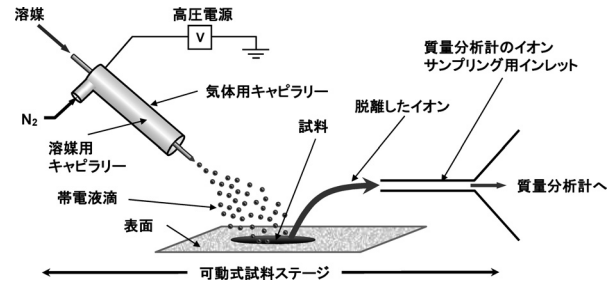


Fig. 15. DESI の概念図。  
(文献 31 より許可を得て改変。©2004, the American Association for the Advancement of Science).

に導入して、イオン化する方法を開発した<sup>30)</sup>。また、Cooks らは、メタノール溶媒を用いたナノエレクトロスプレーを直接固体試料に吹き付けて、固体試料に含まれる成分をメタノールで部分的に溶解し、さらにエレクトロスプレー気流で脱離・イオン化させる方法、DESI (desorption ESI), を開発した<sup>31)</sup> (Fig. 15)。

この方法は、生体試料、植物、薬剤、爆発物、などの固体試料に普遍的に適用可能な方法である。エレクトロスプレーをナノ化しブルームサイズを 150 μm 程度まで絞り込むことで、指紋を直接イメージング像として観測することにも成功している<sup>32)</sup>。

これらのエレクトロスプレー応用技術において、エレクトロスプレーに供給すべき分析対象試料の量は、電流換算で、エレクトロスプレー電流以下で十分である。これ以上の量の試料をエレクトロスプレー内に供給しても、エレクトロスプレー内のイオン量が相対的に少ないので、導入された余分な試料分子はイオン化されず無駄になる。したがって、エレクトロスプレーを反応イオン源として利用するうえでのコツは、エレクトロスプレー電流に見あった微量試料をブルーム内になるべく効率よく導入することである。たとえば、DESI では、スプレーされる固体試料が吹き付けられる液体でわずかに湿る程度、という微妙な調整がなされている。最近開発された大気圧下での表面質量分析に関しては、van Berkel らの文献が詳しい<sup>33)</sup>。

エレクトロスプレーは古くから、静電塗装や薬剤噴霧などに使われてきた。塗布される対象物が絶縁性の場合、表面がしだいに帯電してエレクトロスプレーが不安定になる。このような問題点を防ぐためには、キャピラリーへ交流電圧を印加することで、正および負イオンモードのエレクトロスプレーを交互に発生させて対象物に吹き付けるといった方法が考えられる。エレクトロスプレー発生には、電気化学反応によって、液体を十分な過剰電荷で帯電させるだけの“誘導時間”が必要である。このため、正イオンモードと負イオンモードを交互に発生させるためには、交流の正～負の電圧極性変換サイクルの間に、Rayleigh 極限に至るまで正・負の過剰電荷量を液滴に溜めこむ必要がある。エレクトロスプレー発生のための誘導時間は条件によってさまざまであるが、60 Hz の高電圧印加で正・負エレクトロスプレーを交互に発生させた研究例が報告されて

いる<sup>34)</sup>.

#### 14. 結 語

エレクトロスプレーという現象は、キャピラリー先端あるいは探針の表面（金属と液体の界面）で起こる電気化学反応に起因することを述べた。電気化学反応によって、過剰電荷がキャピラリー（あるいは探針）をぬらしている液体の表面に供給される。すなわち、エレクトロスプレーでは、キャピラリーあるいは探針が半電池として働く。エレクトロスプレーを発生させるには、キャピラリー（あるいは探針）と対極の間に通常数 kV を印加する必要がある。これに対して、水の電気分解では、陽極と陰極の間に 10 V 以下の電圧をかけるだけで電気化学反応が起こる（両金属電極の表面からの気体の発生）。なぜ、エレクトロスプレーでは、キャピラリーと対極の間に kV オーダーの高電圧を印加する必要があるのか？ それは、数 kV の電位を印加しないと、キャピラリーあるいは探針表面での電気化学反応が進行しないからである。電気化学反応が起こる前の状態では、金属表面に接する液体に強い電場がかかる。そして、これが電気化学反応を誘起する。電気化学反応の進行とともに過剰電荷が液体に供給されて、これらの過剰電荷が液体表面に凝集し始めると、金属表面近傍の液体にかかっている電場強度がしだいに弱まり、電気化学反応の速度が小さくなっていく。電気化学反応によって液体表面に供給される過剰電荷の表面密度が Rayleigh 極限を超えると、エレクトロスプレーが発生する。

10 V 程度以下の電位差で起こる電気分解反応においても、エレクトロスプレーと同様に電極表面近傍で、10 の何乗 V/m という電場がかかる。これは、電気化学反応に関与する液層の厚さ（電気二重層）が、極めて薄いからである（Debye 遮蔽長オーダー、数十 nm 以下）。これより、エレクトロスプレーを利用して試料の検出感度を向上させるには、金属電極上の液体試料の厚さをできるだけ薄くして、さらに、この薄い領域にできるだけ大きな電場を印加させることが望ましいことがわかる。こうすることで、より微細な、すなわちより高電荷密度の帯電液滴が生成できる。探針エレクトロスプレーは、この考え方の大気圧下実験での一つのソリューションである。また、電界脱離現象は、エレクトロスプレーの究極を実現している。これは、電界脱離現象が放電の心配がない高真空下で行えるので、 $10^8$  V/m 以上の高電場を印加できるからである。このため、電界脱離ではシングルイオンさえ固相から気相に脱離させることが可能となる。

#### 文 献

- 1) R. A. Serway, “科学者と技術者のための物理学”, 松村博之訳, 学術図書出版社, 東京.
- 2) P. Kebarle and L. Tang, *Anal. Chem.*, **65**, 972A (1993).
- 3) M. S. Wilm and M. Mann, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, **136**, 167 (1994).
- 4) I. Marginean, L. Parvin, L. Hefferman, and A. Vertes, *Anal. Chem.*, **76**, 4202 (2004).
- 5) “Electrospray Ionization Mass Spectrometry,” ed. by

- R. B. Cole, John Wiley & Sons, Inc., New York (1997).
- 6) G. J. van Berkel, K. G. Asano, and P. D. Schnier, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 853 (2001).
- 7) K. Hiraoka, K. Nishidate, K. Mori, D. Asakawa, and S. Suzuki, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **21**, 3139 (2007).
- 8) L. C. Chen, K. Nishidate, Y. Saito, K. Mori, D. Asakawa, S. Takeda, T. Kubota, N. Terada, Y. Hashimoto, H. Hori, and K. Hiraoka, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 2366 (2008).
- 9) L. C. Chen, K. Nishidate, Y. Saito, K. Mori, D. Asakawa, S. Takeda, T. Kubota, H. Hori, and K. Hiraoka, *J. Phys. Chem. B*, **112**, 11164 (2008).
- 10) K. Hiraoka, L. C. Chen, D. Asakawa, S. Takeda, and T. Kubota, *J. Surf. Anal.*, **15**, 279 (2009).
- 11) L. C. Chen, K. Yoshimura, Z. Yu, R. Iwata, H. Itoh, H. Suzuki, K. Mori, O. Ariyada, S. Takeda, T. Kubota, and K. Hiraoka, *J. Mass Spectrom.*, **44**, 1469 (2009).
- 12) S. N. Jackson, M. Ugarov, T. Egan, J. D. Post, D. Langlais, J. A. Schultz, and A. S. Woods, *J. Mass Spectrom.*, **42**, 1093 (2007).
- 13) S. Taira, Y. Sugiura, S. Moritake, S. Shimma, Y. Ichinyanagi, and M. Setou, *Anal. Chem.*, **80**, 4761 (2008).
- 14) E. W. Müller, *Ergebnisse der exakten Naturwissenschaften*, **27**, 290 (1953).
- 15) S. S. Wong, U. Giessmann, M. Karas, and F. W. Röllgen, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, **56**, 139 (1984).
- 16) M. Karas, M. Glückmann, and J. Schäfer, *J. Mass Spectrom.*, **35**, 1 (2000).
- 17) T. L. Constantopoulos, G. S. Jackson, and C. G. Enke, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **10**, 625 (1999).
- 18) K. Hiraoka, H. Fukasawa, and K. Aizawa, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9**, 1349 (1995).
- 19) M. A. Niessen, *J. Chromatogr. A*, **794**, 407 (1998).
- 20) K. Hiraoka, *Anal. Chem.*, **68**, 81A (1996).
- 21) J. H. グロス, “マススペクトロメトリー”, 日本質量分析学会出版委員会訳, シュプリンガー・ジャパン, 東京 (2009).
- 22) A. Takamizawa, S. Fujimaki, J. Sunner, and K. Hiraoka, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **16**, 860 (2005).
- 23) A. Takamizawa, H. Maeda, S. Kambara, H. Furuya, and K. Hiraoka, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 2453 (2008).
- 24) X. Shi, A. Takamizawa, Y. Nishimura, K. Hiraoka, and S. Akashi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 1430 (2008).
- 25) X. Shi, Y. Nishimura, S. Akashi, A. Takamizawa, and K. Hiraoka, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **17**, 611 (2006).
- 26) X. Shi, A. Takamizawa, Y. Nishimura, K. Hiraoka, and S. Akashi, *J. Mass Spectrom.*, **41**, 1086 (2006).
- 27) 明石知子, 史 向国, 高見沢 淳, 西村善文, 平岡賢三, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **56**, 155 (2008).
- 28) L. P. Benesch, F. Sobott, and C. V. Robinson, *Anal. Chem.*, **75**, 2208 (2003).
- 29) H. Chen, A. Wortman, and R. Zenobi, *J. Mass Spectrom.*, **42**, 1123 (2007).
- 30) J. Shiea, M. Z. Huang, H. J. Hsu, C. Y. Lee, C. H. Yuan, I. Beech, and J. Sunner, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**, 3701 (2005).
- 31) Z. Takáts, J. M. Wiseman, B. Gologan, and R. G. Cooks, *Science*, **306**, 471 (2004).
- 32) D. R. Ifa, N. E. Manicke, A. L. Dill, and R. G. Cooks, *Science*, **321**, 805 (2008).
- 33) G. J. Van Berkel, S. P. Pasilis, and O. Ovchinnikova, *J. Mass Spectrom.*, **43**, 1161 (2008).
- 34) 金丸真広, 横山奈津子, 足立元明, *J. Aerosol Res.*, **21**, 233 (2006).

**Keywords:** Electrospray, Probe electrospray, Laser spray, Field desorption, Field ionization