

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3618262号

(P3618262)

(45) 発行日 平成17年2月9日(2005.2.9)

(24) 登録日 平成16年11月19日(2004.11.19)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>

F I

GO 1 N 27/62

GO 1 N 27/62

X

GO 1 N 30/72

GO 1 N 30/72

G

HO 1 J 49/04

HO 1 J 49/04

HO 1 J 49/10

HO 1 J 49/10

請求項の数 12 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願平11-290465	(73) 特許権者	000005108
(22) 出願日	平成11年10月13日(1999.10.13)		株式会社日立製作所
(62) 分割の表示	特願平6-292589の分割		東京都千代田区丸の内一丁目6番6号
原出願日	平成6年11月28日(1994.11.28)	(74) 代理人	100068504
(65) 公開番号	特開2000-88808(P2000-88808A)		弁理士 小川 勝男
(43) 公開日	平成12年3月31日(2000.3.31)	(74) 代理人	100086656
審査請求日	平成13年10月26日(2001.10.26)		弁理士 田中 恭助
		(72) 発明者	高田 安章
			東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地
			株式会社 日立製作所 中央
			研究所内
		(72) 発明者	坂入 実
			東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地
			株式会社 日立製作所 中央
			研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 質量分析計及びそのイオン源

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

溶液中の混合試料を分離するための液体クロマトグラフと、該液体クロマトグラフから溶出した試料溶液を供給するための試料溶液供給手段と、該試料溶液を霧化し噴霧せしめる霧化手段と、該霧化手段により得られた液滴を気化して得られるガス状の試料をイオン化せしめるイオン化手段と、該試料に関するイオンをイオン導入細孔を介して取り込み質量分析をする質量分析手段とを有し、かつ、前記試料溶液の噴霧の方向と前記イオン導入細孔の中心軸とが垂直の方向になるように前記霧化手段と前記質量分析手段とを配設してなることを特徴とする質量分析計。

【請求項2】

溶液中の混合試料を分離するための液体クロマトグラフと、該液体クロマトグラフによる分離により得られる試料を含む試料溶液を静電噴霧により霧化せしめる霧化手段と、該霧化手段により得られた液滴を気化して得られるガス状の該試料をイオン化せしめるイオン化手段と、該試料に関するイオンをイオン導入細孔を介して取り込み質量分析する質量分析手段とを具備し、かつ、前記試料溶液の噴霧の方向と前記導入細孔の中心軸とが垂直の方向になるように前記霧化手段と前記質量分析手段とを配設してなることを特徴とする質量分析計。

【請求項3】

前記イオン化手段は、化学反応により前記イオン化せしめてなることを特徴とする請求項1又は2記載の質量分析計。

10

20

## 【請求項 4】

前記霧化手段で生成される液滴を加熱により気化せしめる気化手段を配設してなることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の質量分析計。

## 【請求項 5】

前記イオン化手段の前段にあって、前記霧化手段で生成される液滴の一部を遮蔽する遮蔽手段を具備してなることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の質量分析計。

## 【請求項 6】

前記イオン化手段は、放電を発生せしめる針状電極を具備してなることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の質量分析計。

## 【請求項 7】

前記霧化手段は、静電噴霧法、加熱噴霧法又は超音波噴霧法の内いずれか一噴霧法を用いて構成したことを特徴とする請求項 1 記載の質量分析計。

## 【請求項 8】

前記遮断手段は、電界を印加することにより前記遮蔽を行う手段を具備することを特徴とする請求項 5 記載の質量分析計。

## 【請求項 9】

溶液中の混合試料を分離するための液体クロマトグラフと、該液体クロマトグラフから溶出した試料溶液を霧化し噴霧せしめる霧化手段と、該霧化手段により得られた液滴を気化して得られるガス状の試料をイオン化し噴出せしめるイオン化手段とを具備し、かつ、前記試料溶液の噴霧の方向と該試料に関するイオンの噴出の方向とが垂直の方向になるよう

## 【請求項 10】

溶液中の混合試料を分離するための液体クロマトグラフと、該液体クロマトグラフから溶出した試料溶液を静電噴霧により霧化し噴霧せしめる霧化手段と、該霧化手段により得られた液滴を気化して得られるガス状の試料をイオン化し噴出せしめるイオン化手段とを具備し、かつ、前記試料溶液の噴霧の方向と該試料に関するイオンの噴出の方向とが垂直の方向になるように前記霧化手段と前記イオン化手段とを配設してなることを特徴とするイオン源。

## 【請求項 11】

前記イオン化手段は、放電を発生させる針状電極を具備することを特徴とする請求項 9 又は 10 記載のイオン源。

## 【請求項 12】

前記霧化手段は、静電噴霧法、加熱噴霧法又は超音波噴霧法の内いずれか一噴霧法を用いて構成したことを特徴とする請求項 9 記載のイオン源。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、例えば糖やペプチド、蛋白質等の生体関連の混合試料の分離分析に用いられる、液体クロマトグラフと質量分析計とを結合した装置、すなわち液体クロマトグラフ・質量分析計に関する。

## 【0002】

## 【従来の技術】

現在、分析の分野では、生体関連物質の質量分析法の開発が重要視されている。生体関連物質は通常混合物として溶液中に溶け込んでいるため、混合物を分離する手段と質量分析計とを結合する装置の開発が進められている。この方法の代表的な装置として、液体クロマトグラフ・質量分析計（以下、LC/MSと略する）がある。液体クロマトグラフ（以下、LCと略する）は混合物の分離に優れるが物質の同定ができず、一方質量分析計（以下、MSと略する）は感度も高く物質の同定能力に優れるが混合物の分析は困難である。そこで、LCの検出器としてMSを用いるLC/MSは、混合物の分析に対して大変有効である。

10

20

30

40

50

## 【0003】

図8により、アナリティカル・ケミストリー、1988年、第60巻、774頁〔Analytical Chemistry, 60, 774 (1988)〕に記載されている従来の大気圧化学イオン化法を用いたLC/MSについて説明する。

## 【0004】

LCから溶出してくる試料溶液は配管1, コネクタ2を介して金属管3に導入される。金属管3は金属ブロック4aに埋め込まれている。金属ブロック4aをヒーターなどの加熱手段により加熱することにより、金属管3に導入された試料溶液を噴霧する。噴霧により生成された微小な液滴は加熱された金属ブロック4bにより構成される気化部5へと導入される。気化部5において気化された試料分子はイオン化部6へと導入される。イオン化部6には針状電極7が設けられている。この針状電極7に高圧電源8aにより数kVの高電圧を印加することにより、イオン化部6にコロナ放電を発生させる。

10

## 【0005】

大気圧化学イオン化法は、Aを分析対象とする試料分子とし、Bを反応ガスの分子とすると主に以下のプロトン付加反応又はプロトン脱離反応によって試料分子Aに関するイオンを生成する。

## 【0006】

$A + BH^+ \rightarrow AH^+ + B$  (プロトン付加反応)

$A + B^- \rightarrow (A - H)^- + BH$  (プロトン脱離反応)

従って、図8に示した従来技術では、大気中でコロナ放電を起こすことによってヒドロニウムイオン( $H_3O^+$ )を生成し、それと試料分子Aとの以下の反応を利用して試料Aに関するイオン $AH^+$ を生成する。

20

## 【0007】

$A + H_3O^+ \rightarrow AH^+ + H_2O$

イオン化部6において、以上に示した反応に代表される化学反応により生成された試料に関するイオンは、イオン導入細孔9a, 排気系10aにより排気された差動排気部11, イオン導入細孔9bを通して、排気系10bにより高真空に排気された高真空部12に導入される。真空中に導入されたイオンは質量分析部13で質量分析される。

## 【0008】

## 【発明が解決しようとする課題】

MS以外の検出器、例えば紫外線の吸光度の変化により試料を検出する紫外吸光検出器を有するLCでは、分離能力や試料の溶出時間の再現性を向上させるために、難揮発性塩を含む移動相溶媒を用いる場合がある。しかしながら、LC/MSに難揮発性塩を含む移動相溶媒を用いると、この塩がイオンを大気中から真空中へと導入するためのイオン導入細孔の周辺に析出し、イオン導入細孔を閉塞させてしまう。このため、LC/MSにおいて、難揮発性塩を含む移動相溶媒は使用が困難であり、LCの高い分離能力を十分に活かした分析ができなかった。

30

## 【0009】

このような理由により、移動相溶媒中の不揮発性塩の影響を受けにくく、LCの高い分離能力を十分に活用できるLC/MSが求められている。

40

## 【0010】

本発明の目的は、従来のLC/MSでは使用が困難であった難揮発性塩を含む移動相溶媒を使用可能とすることにある。

## 【0011】

## 【課題を解決するための手段】

本発明においては、LCから送られて来る試料溶液を静電噴霧法により霧化し、得られた液滴を気化して得られるガス状の試料分子を化学反応によりイオン化し、この試料分子に関するイオンをMSで分析することにより前記目的を達成する。

## 【0012】

図1は、本発明のLC/MSの構成を示す概略図である。LC14で分離された試料は移

50

動相溶媒とともに静電噴霧部 15 にて噴霧される。噴霧により得られた液滴は気化部 5 において気化が促進される。気化部 5 で生成されたガス状の試料分子はイオン化部 6 において化学反応によりイオン化される。イオン化部 6 で生成された試料に関するイオンは、イオン導入細孔 9 a , 排気系により排気された差動排気部 11 , イオン導入細孔を通して 9 b , 排気系により排気された高真空部 12 に導入される。真空中に導入されたイオンは質量分析部 13 で質量分析される。

**【0013】**

イオン化部 6 は差動排気部 11 に設けてもよい。差動排気部 11 は数パスカルから数百パスカルの圧力を有しており、試料分子と反応ガスとの衝突が生じるため化学反応によってイオンを生成することができる。また、気化部 5 において、加熱した金属ブロックや赤外線照射等の気化手段を用いることができる。

10

**【0014】**

LC から送られて来る移動相溶媒を静電噴霧するので、溶媒中で解離しイオンとなっている塩は噴霧するだけでガス状のイオンに変換されてしまう。このため、塩に由来するイオンは気化部を構成する金属ブロックに捕獲されるか、あるいはイオン化部に設けられた針状電極に印加される電位により軌道を曲げられるため、イオン導入細孔まで到達できない。従って、難揮発性塩を含む移動相溶媒を用いても、塩がイオン導入細孔の周辺に析出することはなく、イオン導入細孔を閉塞させる恐れもない。以上の理由により、本発明の LC / MS は従来では使用が困難であった難揮発性塩を含む移動相溶媒を使用することができる。

20

**【0015】****【発明の実施の形態】**

図 2 は、図 1 に示した構成のより詳細な構造を示す図である。LC から溶出してくる試料溶液は配管 1 , コネクタ 2 を介して金属管 3 に導入される。金属管 3 と金属ブロック 4 b との間に高圧電源 8 b により数 kV の電圧を印加することにより、試料溶液を静電噴霧させる。噴霧により生成された微小な液滴は加熱された金属ブロック 4 b により構成される気化部 5 へと導入される。金属ブロック 4 b はヒーター ( 図示略 ) により約 300 程度に加熱されている。噴霧により生成された液滴は、金属ブロック 4 b の開口部を通過する間に、熱により気化される。

**【0016】**

気化部 5 において気化された試料分子はイオン化部 6 へと導入される。イオン化部 6 には針状電極 7 が設けられている。この針状電極 7 に高圧電源 8 a により数 kV の高電圧を印加することにより、イオン化部 6 にコロナ放電を発生させる。

30

**【0017】**

液滴の気化により得られたガス状の試料分子がコロナ放電部分に到達すると、コロナ放電により生成されたヒドロニウムイオンなどの一次イオンと化学反応を起こし、試料分子のイオン化が達成される。この時、溶媒中の難揮発性塩は解離しイオンとなっているため、静電噴霧するだけでガス状のイオンに変換されてしまう。

**【0018】**

塩に由来するイオンは気化部 5 を構成する金属ブロック 4 b に捕獲されるか、あるいはイオン化部 6 に設けられた針状電極 7 に印加される電位により軌道を曲げられるため、イオン導入細孔 9 a まで到達できない。従って、難揮発性塩を含む移動相溶媒を用いても、塩がイオン導入細孔 9 a の周辺に析出することはなく、イオン導入細孔 9 a を閉塞させる恐れもない。従って、本発明の LC / MS は従来では使用が困難であった難揮発性塩を含む移動相溶媒を使用することができ、LC の分離能力を十分に活かした LC / MS 分析が可能となる。

40

**【0019】**

LC から送られてくる溶液の流量が大きく、安定に静電噴霧を持続することが困難である場合には、図 2 に示したように、スプリッタ 16 を設け、溶液の一部だけを金属管 3 に導入しても良い。また、同じく図 2 に示したように、金属管 3 の外部から噴霧用ガス 17 を

50

流し、静電噴霧を補助しても良い。

【0020】

LCから送られてくる溶液の流量が少なく安定に静電噴霧を持続することが困難である場合、あるいは溶液の粘性や電気伝導率が高過ぎて安定に静電噴霧を持続することが困難である場合には、やはり図2に示したように、金属管3の外部から噴霧補助溶液18を流してLCから送られてくる溶液と混合することにより、流量、粘性、電気伝導度などの条件を安定に静電噴霧を持続できる条件に合わせてもよい。

【0021】

金属管3の先端は、図3に示すように、気化部6の中に設けても良い。また、同じく図3に示すように、溶液を金属ブロック4bに向けて直接噴霧してもよい。試料溶液は金属管3と金属ブロック4bとの間に高圧電源8bから印加される高電圧によって静電噴霧される。金属管3と金属ブロック4bとの間の絶縁は絶縁管19により行う。溶液の沸点より高い温度に加熱された金属ブロック4bに吹き付けられた液滴は瞬時に気化し、ガス状の試料分子が得られる。試料分子がコロナ放電部分に到達すると、コロナ放電により生成されたヒドロニウムイオンなどの一次イオンと化学反応を起こし、試料分子のイオン化が達成される。試料分子に関するイオンはイオン導入細孔9a、排気系10aによって数十Paから数百Pa程度に排気された差動排気部11を介して排気系10bによって $10^{-3}$  Pa程度に排気された高真空部12に取り込まれ、質量分析部13によって質量分析される。

10

【0022】

試料分子のイオン化部への到達効率を高めるため、図3に示したように、金属ブロック4b内部に傾斜壁を設けてその傾斜壁に向けて斜め方向から静電噴霧し、かつイオン化部に向けて窒素などのガス20を流しても良い。このガス20は予め室温以上に加熱されていることが望ましい。

20

【0023】

また、図2に示した構成において、静電噴霧で大きな液滴が生成されてしまうと、加熱金属ブロック4bによる気化部5では完全に気化できず、針状電極7によってコロナ放電が発生しているイオン化部6に液滴のまま到達する場合がある。液滴がコロナの生じている部分に到達すると、針状電極7とイオン導入細孔9aとを短絡させ、高圧電源8a等を故障させる可能性がある。

30

【0024】

これを防ぐためには、図4に示すように、金属管3の末端と針状電極7によりコロナ放電が発生しているイオン化部6とを遮蔽するように電極21aを配置し、その電極21aに向けて静電噴霧させても良い。この場合、液滴の気化効率を上げるため、電極21aはヒーター22aにより加熱されていることが望ましい。図4に示した構成により、ガス状の分子だけがイオン化部6に運ばれイオン化されるため、液滴が針状電極7に付着することによる短絡が回避される。図4において、電極21aの形状は板状のものだけでなく、メッシュであっても良い。試料分子のイオン化部6への到達効率を上げるため、図3と同様に、イオン化部6に向けてガス20を流しても良い。

【0025】

図2から図4に示した実施例では、液滴の気化の手段に加熱した金属ブロックを用いる構成を示したが、液滴の気化には赤外線を照射する方法などを用いてもよい。

40

【0026】

図5に、気化手段に赤外線の照射を用いる実施例を示す。試料溶液は金属管3とメッシュ23aとの間に印加される電圧により静電噴霧される。このメッシュ23aは加熱されていることが望ましい。噴霧により得られた液滴は、気化部5へと送られる。気化部5では、電源24に接続されたヒーター22bから放射される赤外線を液滴に照射し、液滴を気化させる。液滴がヒーター22bに直接当たることによりヒーター22bの劣化が起こる場合には、ヒーター22bを保護するためのガラス管25をヒーター22bの内側に設けてもよい。液滴の気化の効率を向上させるため、噴霧用ガス17中の水蒸気は除去されて

50

いることが望ましい。また、噴霧用ガス 17 は室温以上に加熱されていることが望ましい。気化部 5 において得られたガス状の試料分子は、針状電極 7 によるコロナ放電でヒドロニウムイオン等が生成されているイオン化部 6 においてイオン化される。

【0027】

図 2 から図 5 に示した構造により、LC/MS において難揮発性の塩を含む移動相溶媒を使用することが可能であるが、極めて高濃度の塩を使用する場合や分析に長時間を要する場合には、図 6 に示すように、イオン導入細孔 9a の中心軸と垂直の方向に噴霧させても良い。金属管 3 に導入された試料溶液は、対向する電極 21b に向けて噴霧される。この電極 21b は溶液の沸点以上に加熱されていることが望ましい。

【0028】

難揮発性塩はこの電極 21b 上に析出する。揮発性のある試料分子は気化し、加熱された金属ブロック 4b を介してイオン化部 6 へと導入される。試料分子のイオン化部 6 への到達効率を向上させるため、送気口 26 を設け乾燥窒素などのガス 20 をイオン化部 6 の方向へ流しても良い。このガス 20 は加熱されていることが望ましい。また、排気口 27 を設け、排気口から気体を外部に排気することにより、溶液の噴霧される部分からイオン化部 6 の方向の気流を発生させ、試料分子を効率良くイオン化部 6 まで導入しても良い。

【0029】

図 6 では溶液を噴霧する方法として静電噴霧法を記載したが、イオン導入細孔 9a の中心軸と垂直の方向に噴霧させる場合には、静電噴霧以外の噴霧方法、例えば加熱噴霧や超音波噴霧などを用いても良い。

【0030】

また、図 6 に示した構造では、難揮発性塩は電極 21b 上に析出するため、この電極 21b だけを取り外しクリーニングすることにより、容易にメンテナンスを行うことができる。

【0031】

図 7 は、図 6 に示した対向電極 21b の代わりにメッシュ 23b に向けて噴霧する構成を示す図である。このメッシュ 23b は加熱されていることが望ましい。メッシュ 23b の背部に受け皿 28 を設けておくことができ、受け皿 28 を交換することにより簡便にメンテナンスが行えるほか、受け皿 28 に溜った溶液を分取し、質量分析法以外の分析手法、例えば蛍光や発光による分析法や免疫学的分析法などを行うことができる。

【0032】

【発明の効果】

本発明によれば、従来の LC/MS において使用が困難であった難揮発性塩を含む移動相溶媒を使用することが可能となる。このため、LC の高い分離能力を十分に活用でき、LC/MS の適応範囲が拡がり、より多くの物質の分析が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明による質量分析計の構成を示す概略図。

【図 2】本発明の一実施例の説明図。

【図 3】金属管の先端を気化部の中に設け、かつ金属ブロックに向けて試料溶液を直接吹き付ける実施例を示す図。

【図 4】大きな液滴が飛翔しイオン化部に到達することを妨げるための遮蔽板を設けた実施例を示す図。

【図 5】気化部の気化方法に赤外線の照射を用いる実施例を示す図。

【図 6】イオン導入細孔の中心軸と垂直の方向に噴霧する実施例を示す図。

【図 7】液滴を溜める受け皿を用いる実施例を示す図。

【図 8】従来の大気圧化学イオン化法を用いる液体クロマトグラフ・質量分析計の構成を示す図。

【符号の説明】

1 ... 配管、2 ... コネクタ、3 ... 金属管、4a, 4b ... 金属ブロック、5 ... 気化部、6 ... イオン化部、7 ... 針状電極、8a, 8b ... 高圧電源、9a, 9b ... イオン導入細孔、10a

10

20

30

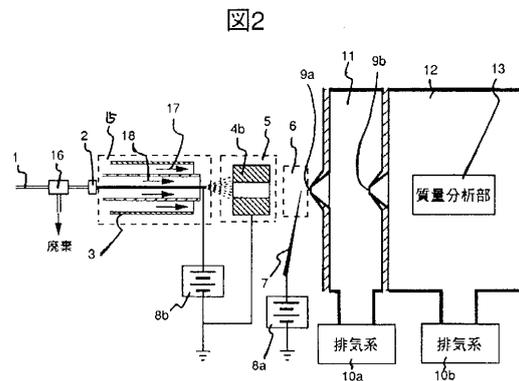
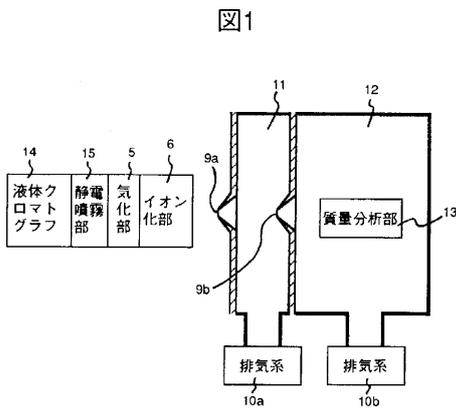
40

50

, 10b ... 排気系、11 ... 差動排気部、12 ... 高真空部、13 ... 質量分析部、14 ... 液体クロマトグラフ、15 ... 静電噴霧部、16 ... スプリッタ、17 ... 噴霧用ガス、18 ... 噴霧補助溶液、19 ... 絶縁管、20 ... ガス、21a, 21b ... 電極、22a, 22b ... ヒーター、23a, 23b ... メッシュ、24 ... 電源、25 ... ガラス管、26 ... 送気口、27 ... 排気口、28 ... 受け皿。

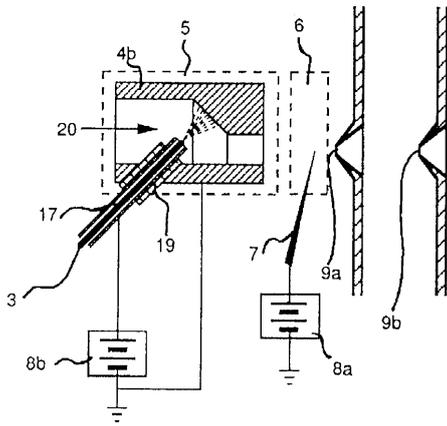
【 図 1 】

【 図 2 】



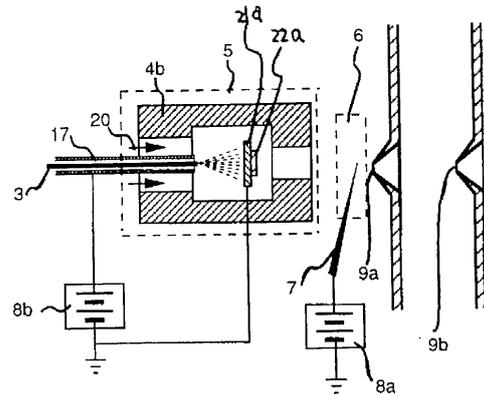
【 図 3 】

図3



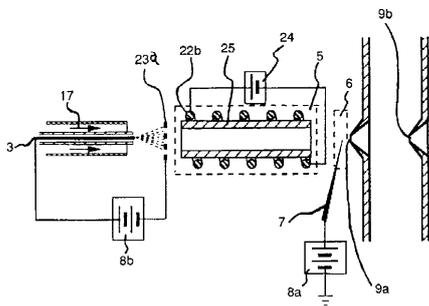
【 図 4 】

図4



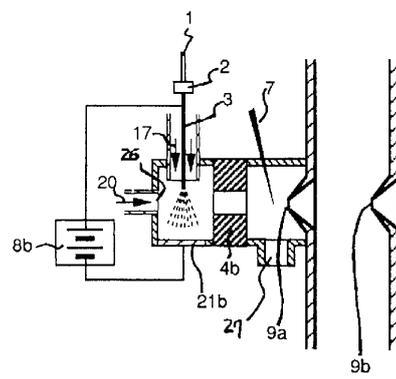
【 図 5 】

図5

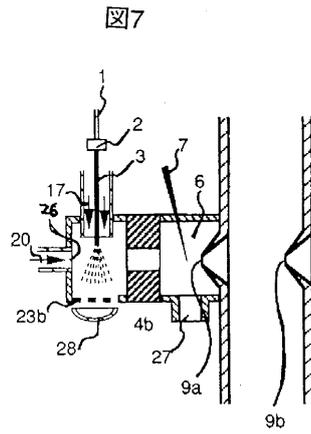


【 図 6 】

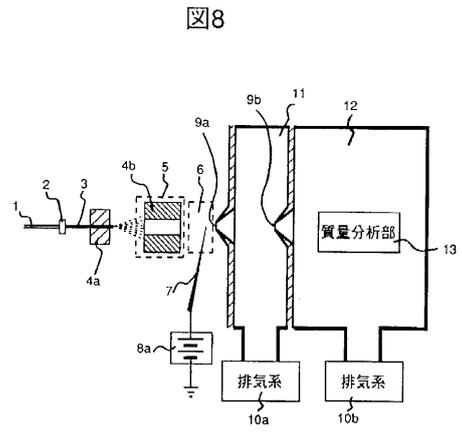
図6



【 図 7 】



【 図 8 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 平林 集  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社 日立製作所 中央研究所内
- (72)発明者 鍋島 貴之  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社 日立製作所 中央研究所内
- (72)発明者 小泉 英明  
東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地 株式会社 日立製作所 中央研究所内

審査官 高 場 正光

(56)参考文献 特開平08-145950(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)

G01N27/62-27/70