

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2018年5月24日(24.05.2018)



(10) 国際公開番号
WO 2018/092284 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 27/62 (2006.01) H01J 49/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/084353
- (22) 国際出願日: 2016年11月18日(18.11.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社島津製作所 (SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 谷口 謙一 (TANIGUCHI, Kenichi); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 内田

剛史(UCHIDA, Takeshi); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 糸井 弘人(ITOI, Hiroto); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).

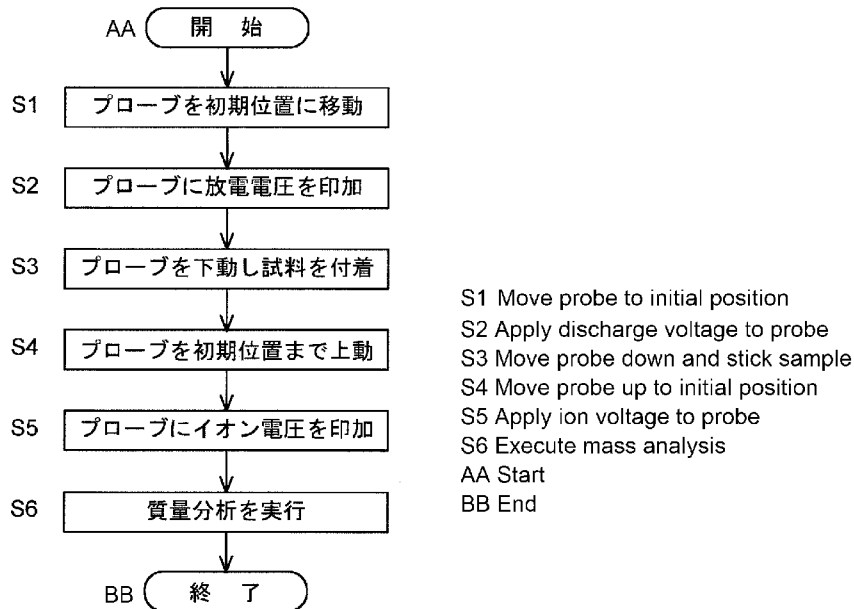
(74) 代理人: 特許業務法人京都国際特許事務所 (KYOTO INTERNATIONAL PATENT LAW OFFICE); 〒6008091 京都府京都市下京区東洞院通四条下ル元悪王子町37番地 豊元四条烏丸ビル Kyoto (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,

(54) Title: IONIZATION METHOD, IONIZATION APPARATUS, IMAGING ANALYSIS METHOD, AND IMAGING ANALYSIS APPARATUS

(54) 発明の名称: イオン化方法及びイオン化装置、並びにイメージング分析方法及びイメージング分析装置

[図2]



(57) Abstract: Provided is an ionization method for sticking a sample 21 to the tip of a conductive probe 11, and ionizing the sample by applying an ionized voltage to the probe 11 and then providing charges to the sample. In the ionization method, a chemical process for homogenizing the surface of the probe 11 is executed, the sample 21 is stuck to the tip of the probe 11, and the sample 21 is ionized by applying the ionized voltage to the probe 11 and then providing charges to the sample. The chemical process for homogenizing the surface of the probe 11 can be carried out by, for example,



WO 2018/092284 A1

EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

causing the probe 11 to generate a corona discharge.

(57) 要約: 導電性を有するプローブ11の先端に試料を付着させ、前記プローブ11にイオン化電圧を印加して試料21に電荷を付与してイオン化するイオン化方法を提供する。イオン化方法においては、プローブ11の表面を均質化する化学的処理を施し、プローブ11の先端に試料21を付着させ、プローブ11にイオン化電圧を印加して試料21に電荷を付与してイオン化する。プローブ11の表面を均質化する化学的処理は、プローブ11にコロナ放電を生じさせること等により行うことができる。

明 細 書

発明の名称：

イオン化方法及びイオン化装置、並びにイメージング分析及びイメージング分析装置

技術分野

[0001] 本発明は、質量分析装置やイオン移動度分析装置等のイオン分析装置において用いられる試料のイオン化方法及びイオン化装置、並びにこれらを用いたイメージング分析及びイメージング分析装置に関する。特に、大気圧雰囲気中で試料をイオン化するイオン化装置に関する。

背景技術

[0002] 生体組織の分析では、表面の複数の測定点（測定対象領域）において質量分析を行うことにより、特定の質量を有する物質の分布を調べることがある。こうした手法はイメージング質量分析と呼ばれる。特許文献1には、イメージング質量分析においてnmレベルの空間分解能を得ることができる、探針エレクトロスプレーイオン化（PESI: Probe Electrospray Ionization）法と呼ばれるイオン化法が提案されている。

[0003] PESI法では、まず、試料表面の測定対象領域の上方に導電性のプローブを配置する。そして、プローブを下動してその先端を試料表面に接触させ試料を付着させる。続いて、プローブを元の位置まで上動し、プローブに数十V乃至数千Vの電圧（以下、これを「イオン化電圧」とも呼ぶ。）を印加する。これにより、プローブ先端に付着した試料に電荷が付与され、クーロン反発によってイオン化する。また、前記物質が固体である場合やイオン化しにくい物質である場合には、電圧印加時にプローブの先端にレーザ光を照射して試料にエネルギーを付与し、イオン化を促進する。生成されたイオンは、イオン化部と、真空中に維持される質量分析装置の後段部の間の隔壁に形成された開口を通じて該後段部に輸送され、質量分析に供される。これを試料表面の複数の測定点で行うことにより、イメージング質量分析を行うことができる。

。PESI法では、先端がnmサイズに加工されたプローブを用いることにより、nmレベルの空間分解能でイメージング質量分析を行うことができる。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開2007/126141号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明者が一定の濃度で標準物質を含有する標準試料を繰り返しPESI法でイオン化して測定したところ、測定回ごとにマススペクトルのピーク強度にばらつきが生じ、マススペクトルの再現性が悪いことが分かった。ピーク強度が小さくなり過ぎると、ノイズに埋もれてしまい、本来得られるべきマススペクトルのピークパターンが得られなくなってしまう。質量分析では、測定により取得したマススペクトルのピークパターンを、予めデータベース化された複数の既知物質のマススペクトルのピークパターンと照合し、その一致度に基づいて物質を同定したり、また、所定のマスピークが現れていることを基準としてマススペクトルをフィルタリングしたりするが、上記のように本来のピークパターンが得られないと正しい分析結果を得ることができない。

[0006] 上記のように測定回ごとにマススペクトルのピーク強度にばらつきが生じるのは、生成されるイオン量にばらつきがあることを意味している。つまり、従来のPESI法では試料のイオン化効率が不安定であるという問題があった。

[0007] ここでは、質量分析装置を例に挙げて説明したが、イオン移動度分析計等、他のイオン分析装置においても上記同様の問題があった。

[0008] 本発明が解決しようとする課題は、導電性を有するプローブの先端に付着させた試料を該プローブへの電圧印加によってイオン化するイオン化方法やイオン化装置において試料のイオン化効率を安定化することである。

課題を解決するための手段

[0009] 上記課題を解決するために成された本発明は、導電性を有するプローブの先端に付着させた試料を、該プローブへのイオン化電圧の印加によってイオン化するイオン化方法であって、

前記プローブの表面を均質化する化学的処理を施し、

前記プローブの先端に前記試料を付着させ、

前記プローブに前記イオン化電圧を印加して前記試料に電荷を付与してイオン化する

ことを特徴とする。

[0010] 本発明者は、従来のPESI法においてイオン化効率が不安定になるのは、先端に試料を付着させる前のプローブの表面の状態が均質でなく、プローブに付着する試料の量にばらつきが生じたり、試料への電圧の印加が阻害されたりするためであると考えた。そこで、本発明では、プローブの先端に試料を付着させる前に、該プローブの表面を均質化する化学的な処理を施す。ここでいう「均質」とは、電氣的に均質であることや、物理的に均質であることを意味する。プローブの表面が電氣的に均質であれば該表面に付着させた試料をイオン化する電場が均質になる。また、プローブの表面が物理的に均質であれば該表面への試料の付着量が一定になる。従って、従来の方法に比べて試料のイオン化効率が安定化する。そして、後述の実施例において説明するように、本発明に係るイオン化方法を用いることで、再現性の高い測定データを得ることができる。

[0011] 前記プローブの表面を均質化する化学的処理は、様々な方法により行うことができる。例えば、コロナ放電やグロー放電等の放電により前記化学的処理を行うと、放電時に生成されるプラズマや活性酸素によりプローブの表面を洗浄あるいは改質して均質にすることができる。放電により前記化学的処理を行うと、プローブの表面に形成された絶縁膜を破壊し除去することもできる。

[0012] 前記化学的処理は紫外線照射により行うこともできる。この場合には、紫

外線照射によって生成される活性酸素によりプローブの表面を洗浄・改質して均質にすることができる。また、高周波電圧の印加やマイクロ波の照射によりプラズマを生成することによっても、プローブの表面を洗浄・改質して均質にすることができる。

[0013] 本発明に係るイオン化方法は、PESI法だけでなくESI法でも用いることができる。また、本発明に係るイオン化方法は、質量分析装置やイオン移動度分析装置等のイオン分析装置における大気圧イオン化法として用いることができる。質量分析装置やイオン移動度分析装置では、大気圧雰囲気中のイオン化室と、その後段に位置し真空中に維持される分析部の間に隔壁が設けられており、該隔壁に設けられたイオン導入管やスキマーを通じてイオンが分析部に輸送される。イオン導入管やスキマーには、通常、ステンレス鋼（SUS）等の金属製のものが用いられるため、例えば、このイオン導入管あるいはスキマーと前記プローブの間でコロナ放電やグロー放電を生じさせることができる。

[0014] 前記プローブに電圧を印加し前記試料に電荷を付与する際に、前記試料にレーザー光を照射するようにしてもよい。これにより、イオン化しにくい試料にエネルギーを付与してイオン化を促進することができる。紫外線照射により前記化学的処理を行う場合には、前記処理とイオン化の促進に共通の光源を用いることができる。

[0015] 前記イオン化方法を実施するために用いられる、本発明に係るイオン化装置の第1の態様は、

導電性を有するプローブと、

前記プローブに放電を生じさせるための放電電圧と、前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、

前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、

前記電圧印加部及び前記試料導入部を制御して、前記プローブに前記放電電圧を印加したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プ

プローブにイオン化電圧を印加する制御部と
を備えることを特徴とする。

[0016] 前記イオン化方法を実施するために用いられる、本発明に係るイオン化装置の第2の態様は、

導電性を有するプローブと、
前記プローブに紫外光を照射する光源部と、
前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、
前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、
前記光源部、前記電圧印加部、及び前記試料導入部を制御して、前記プローブに前記紫外光を照射したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プローブにイオン化電圧を印加する制御部と
を備えることを特徴とする。

[0017] 前記イオン化方法を実施するために用いられる、本発明に係るイオン化装置の第3の態様は、

導電性を有するプローブと、
前記プローブが位置する空間にプラズマを生成させるプラズマ生成部と、
前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、
前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、
前記プラズマ生成部、前記電圧印加部、及び前記試料導入部を制御して、前記空間に前記プラズマを生成したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プローブにイオン化電圧を印加する制御部と
を備えることを特徴とする。

[0018] 前記プラズマ生成部には、例えば高周波電圧を印加することによりプラズマを生成するものや、マイクロ波の照射によりプラズマを生成するものを用いることができる。

[0019] また、前記各態様のイオン化装置において、

前記試料導入部が、前記プローブの先端が試料から離間した第1位置と、該先端が試料に付着する第2位置に、前記プローブと前記試料の相対位置を移動させる移動機構を備え、

前記制御部が、前記第1位置において前記プローブに前記放電電圧を印加したあと、前記第2位置に移動させて前記プローブに前記イオン化電圧を印加する

ように構成してもよい。

発明の効果

[0020] 本発明に係るイオン化方法やイオン化装置を用いることにより、試料のイオン化効率を安定させ再現性の高い測定データを取得することができる。

図面の簡単な説明

[0021] [図1]本発明に係るイオン化装置の一実施例の要部構成図。

[図2]本発明に係るイオン化方法の一実施例のフローチャート。

[図3]実施例1（コロナ放電あり）と比較例1（コロナ放電なし）における全イオンの測定強度の時間変化を示す図。

[図4]実施例1（コロナ放電あり）と比較例1（コロナ放電なし）において連続的に取得した複数のマススペクトルを比較した図。

[図5]実施例1（コロナ放電あり）と比較例1（コロナ放電なし）について、各測定回の $m/z=695$ のイオンの測定強度を基準にしたときの他のイオンの相対強度を示す図。

[図6]実施例1（コロナ放電あり）と比較例1（コロナ放電なし）について、各測定回における各イオンの測定強度と各イオンの測定強度の平均値のずれを示す図。

[図7]コロナ放電電圧の大きさやイオン化効率の関係を全イオンの測定強度の時間変化により説明する図。

[図8]コロナ放電電圧の大きさやイオン化効率の関係を説明する別の図。

[図9]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を全イオンの測定強度の時間変化により説明する図。

[図10]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を、各測定回の $m/z=695$ のイオンの測定強度を基準にしたときの他のイオンの相対強度により説明する図。

[図11]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を、各測定回における各イオンの測定強度と各イオンの測定強度の平均値のずれにより説明する図。

[図12]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を全イオンの測定強度の時間変化により説明する別の図。

[図13]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を、各測定回の $m/z=695$ のイオンの測定強度を基準にしたときの他のイオンの相対強度により説明する別の図。

[図14]コロナ放電電圧の印加時間とイオン化効率の関係を、各測定回における各イオンの測定強度と各イオンの測定強度の平均値のずれにより説明する別の図。

[図15]コロナ放電電圧の極性とイオン化効率の関係を全イオンの測定強度の時間変化により説明する図。

[図16]コロナ放電電圧の極性とイオン化効率の関係を、各測定回の $m/z=695$ のイオンの測定強度を基準にしたときの他のイオンの相対強度により説明する図。

[図17]コロナ放電電圧の極性とイオン化効率の関係を、各測定回における各イオンの測定強度と各イオンの測定強度の平均値のずれにより説明する図。

[図18]本発明に係るイオン化装置の変形例を説明する図。

[図19]本発明に係るイオン化装置の別の変形例を説明する図。

[図20]本発明に係るイオン化装置のさらに別の変形例を説明する図。

発明を実施するための形態

[0022] 本発明に係るイオン化方法及びイオン化装置の一実施例について、以下、図面を参照して説明する。本実施例のイオン化方法はPESI法であり、本実施例のイオン化装置は質量分析装置のイオン源として用いられる。本実施例の

イオン化装置が配置されるイオン化室は略大気圧であり、大気圧雰囲気下で試料をイオン化する。

[0023] 図1に本実施例のイオン化装置の概略構成を示す。本実施例のイオン化装置は、先端径が数百nmに成形された導電性のプローブ11、プローブ11を鉛直方向に移動させるプローブ移動機構12、及びプローブ11に電圧を印加する電源（電圧印加部）13を備えている。また、試料21が載置される試料台22を備えている。さらに、これら各部の動作を制御する制御部30を備えている。

[0024] 次に、図2のフローチャートを参照して本発明に係るイオン化方法の手順を説明する。

使用者が、試料台22に試料21をセットし、分析開始を指示すると、制御部30は、プローブ移動機構12を動作させ、プローブ11を所定の高さに移動する（ステップS1）。このときのプローブ11の位置（試料21に対する相対位置）が初期位置となる。

[0025] プローブ11を初期位置に移動させると、制御部30は、続いて、電源13からプローブ11に所定の大きさの電圧（本実施例では2.59keV）を印加してコロナ放電を生じさせる（ステップS2）。このとき印加する電圧を「放電電圧」と呼ぶ。放電電圧の大きさは、プローブ11の材質等によって異なるが、その値は予備実験等により予め求められ制御部30に記憶されている。こうしてプローブ11に生じさせたコロナ放電により、プローブ11の表面を均質化する。ここでいう「均質」は、電氣的に均質であることや、物理的に均質であることを意味する。

[0026] 後述するとおり、本実施例のようにプローブ11にコロナ放電を生じさせると、従来に比べて試料のイオン化効率が安定化することが分かった。これは、コロナ放電によってプローブ11の表面に形成された絶縁膜が除去され、また、コロナ放電によって生成される活性酸素によってプローブ11の表面が洗浄・改質されたり、コロナ放電によって生成されるプラズマによって洗浄されたプローブ11の表面に均一な薄膜が形成されたりし、これらによ

リプローブ11の表面が均質化されたためであると考えられる。このようにプローブ11の表面が均質化されると、該プローブに付着する試料の量が一定になり、またイオン化電圧の印加時に形成される電場が均質になる。なお、本実施例のコロナ放電によって生成される活性酸素としては、例えば、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロペルオキシラジカル、過酸化水素、一重項酸素、一酸化窒素、二酸化窒素、及びオゾンを挙げることができ、これらのうちの少なくとも1つを生成することにより上記効果を得ることができる。

[0027] プローブ11にコロナ放電を生じさせると、制御部30は、プローブ移動機構12を再び動作させてプローブ11を下動し、その先端を試料21の表面に接触させる。これによりプローブ11の先端に試料21が付着する（ステップS3）。

[0028] プローブ11の先端に試料21を付着させると、制御部30は、プローブ移動機構12を動作させてプローブ11を元の高さまで上動する（ステップS4）。プローブ11の下動（ステップS3）及び上動（ステップS4）は1回だけ行ってもよく、あるいは複数回上下動を繰り返したり、プローブ11を上下に振動させたりしてもよい。移動や振動の回数は、試料21のプローブ11への付着しやすさを考慮して適宜に設定される。

[0029] 続いて、制御部30は、電源13からプローブ11に、放電電圧とは別の所定の大きさの電圧（本実施例では1.72keV）を印加する（ステップS5）。このとき印加する電圧を「イオン化電圧」と呼ぶ。イオン化電圧の大きさは、試料のイオン化しやすさ等の特性に応じて予め決められ制御部30に記憶されている。

[0030] ステップS5で印加されたイオン化電圧により試料21に電荷が付与されるとクーロン反発によってイオン化する。生成されたイオンは、イオン化室と真空に維持される後段の質量分離部の隔壁に形成されたイオン導入管31を通して分析に供される（ステップS6）。

[0031] 本実施例のイオン化方法及び装置では、上述のとおり、プローブ11に試

料 2 1 を付着させる前に放電電圧を印加しコロナ放電させる。これにより、プローブ 1 1 の表面に形成された絶縁被膜が除去され、またコロナ放電によって生成される活性酸素やプラズマによってプローブ 1 1 の表面が均質化されると考えられる。その結果、プローブ 1 1 の先端に付着させた試料 2 1 への電圧印加の効率が高まり、また、安定的にイオンを生成することができる。

[0032] 上記実施例のように、プローブ 1 1 に試料 2 1 を付着させる前にコロナ放電を生じさせることによる効果、及びコロナ放電の条件を探索すべく本発明者が行った測定の結果を説明する。以下の各測定ではステンレス製のプローブを使用し、また、標準試料としてポリプロピレングリコール（トリオール型、PPGT）を用いた。PPGTはサンプルプレート上に載せ、そこにプローブ 1 1 の先端を接触させ付着させた。

実施例 1

[0033] 実施例 1 では、プローブに+2.59keVの電圧（放電電圧）を300msec印加してコロナ放電を生じさせたあと、プローブを下動してその先端に一定濃度のPPGTを付着させ、プローブを上動して+1.72keVの電圧（イオン化電圧）を印加した。こうして生成したイオンについて、質量電荷比（m/z）が10~2000である質量範囲を走査するscan測定を10秒周期で繰り返し行った。また、比較例 1 として、コロナ放電なしで上記同様の測定を行った。

[0034] 図 3 は、全イオンの測定強度の積算値の時間変化を示すグラフ（10秒周期で実行される質量分析における全イオンの測定強度を順次表示したもの）であり、図 3 左（コロナ放電なし）は比較例 1、図 3 右（コロナ放電あり）は実施例 1 の結果である。また、図 4 は10秒周期で行った各回の質量分析で得たマススペクトルであり、図 4 上（コロナ放電なし）は比較例 1、図 4 下（コロナ放電あり）は実施例 1 である。比較例 1 では、図 3 左に示すように各測定回で測定強度が大きく変動しており、図 4 上に示すようにマススペクトルのピークパターンも各測定回で異なっている。これに対し、実施例 1 では、図 3 右に示すように各測定回の測定強度が安定しており、図 4 下に示すよ

うにマスペクトルのピークパターンが一定であり、再現性の良いマスペクトルが得られている。

[0035] 質量分析では、取得したマスペクトルのピークパターンを予めデータベース化された既知の化合物のマスペクトルのピークパターンと比較することにより同定したり、また、取得したマスペクトルのピークパターンと予め用意されたピークパターンの一致度に基づいてマスペクトルをフィルタリングしたりすることがある。従来は、各測定回でマスペクトルのピークパターンにばらつきがあり、上記のような分析において同定やフィルタリングを誤る可能性があったが、本実施例の方法及び装置を用いることにより、正確な同定やフィルタリングを行うことができる。

実施例 2

[0036] 実施例 2 では、コロナ放電後にプローブに試料を付着して生成したイオンについて、質量電荷比 (m/z) が10~2000である質量範囲を2分間繰り返し走査して積算マスペクトルを取得するscan測定を4回実施した。そして、各積算マスペクトルから、複数の異なる質量電荷比のイオン ($m/z=347, 463, 637, 695, 753, 927, 1101, 1333, 1566, 1798$) の測定強度を抽出した。同様の測定をコロナ放電なしでも行い（比較例 2）、実施例 2 の結果と比較した。

[0037] 図 5 は、各scan測定における質量電荷比が695であるイオンの強度を基準（100）として、各回の各質量電荷比のイオンの相対強度をプロットしたものである。図 5 左（コロナ放電なし）の比較例 2 では、4 回の測定で同じ質量電荷比のイオンが異なる相対強度になっているのに対し、図 5 右（コロナ放電あり）の実施例 2 では、4 回の測定において質量電荷比のイオンがほぼ同じ相対強度になっている（従って、各質量電荷比でプロットした4点が重なっている）。図 6 は、複数の質量電荷比のイオンのそれぞれについて、4 回の測定強度の平均値と各回の測定強度の差をプロットしたものである。図 6 左（コロナ放電なし）の比較例 2 では、各質量電荷比のイオンの測定強度にばらつきが見られるのに対し、図 6 右（コロナ放電あり）の実施例 2 ではいずれ

の質量電荷比のイオンについても測定強度がほぼ同じであることが分かる。

実施例 3

[0038] 実施例 3 では、上記実施例における放電電圧の大きさを1.72keVから1.89keVまでの範囲で0.03keVあるいは0.04keVずつ変化させて実施例 1 と同様の測定を行い、コロナ放電を生じさせるために必要な放電電圧の大きさを確認した。放電電圧の印加時間はいずれも3secである。

[0039] 図 7 に、放電電圧の大きさ、全イオンの測定強度の積算値の時間変化、質量電荷比が121.19であるイオンの測定強度、及びコロナ放電の有無の判定結果を並べて示す。コロナ放電の有無は、質量電荷比が121.19であるイオンが100,000カウントを超えたか否かに基づき判定した。図 7 に示す結果から、1.75keVではコロナ放電が生じておらず、1.79keVではコロナ放電が生じていることが分かる。

[0040] 図 8 に、図 7 においてコロナ放電の有無の境界電圧となった1.79keV近傍の電圧 (1.75keV, 1.79keV, 1.82keV) を印加する測定を5回ずつ行った結果を示す。図 8 に示すとおり、1.75keVでは5回中2回、1.79keVでは5回中1回、1.82keVでも5回中1回、コロナ放電が生じることが分かった。図 7 及び図 8 に示す結果から、1.75keV~1.82keVがコロナ放電を生じさせることが可能な放電電圧の境界であると考えられるが、プローブの個体差等によってコロナ放電が影響されることを考慮すると、安定的にコロナ放電を生じさせるにはこの境界電圧より大きな電圧を印加することが好ましいといえる。この点を踏まえ、上記実施例では、放電電圧を2.59keVとした。

実施例 4

[0041] 実施例 4 では、上記実施例における放電電圧をどの程度の時間印加すると試料のイオン化効率を向上及び安定化することができるか、を検証した。図 9 に、プローブへの放電電圧の印加時間を0msec (放電電圧印加なし)、30msec、及び3000msecとして実施例 1 と同様の測定を5回ずつ行った結果を示す。

[0042] 放電電圧の印加時間が0msec (比較例 1 に相当) では、比較例 1 で説明した

とおり、イオンの測定強度のばらつきが大きい。印加時間を30msecにすると、イオンの測定強度がやや安定化している。印加時間を3000msecにすると、イオンの測定強度はほぼ一定になっている。

[0043] 図10に、図5と同様に、質量電荷比が695であるイオンの強度を基準(100)として、各回の各質量電荷比のイオンの相対強度をプロットしたものを示す。印加時間0msecでは、5回の測定で同じ質量電荷比のイオンが異なる相対強度になっているのに対し、印加時間30msec及び3000msecでは、5回の測定における各イオンの相対強度がほぼ同じになっている。

[0044] 図11は、図6と同様に、複数の質量電荷比のイオンのそれぞれについて、5回の測定強度の平均値と各回の測定強度の差をプロットしたものである。印加時間0msecでは、各質量電荷比のイオンの測定強度にばらつきが見られるのに対し、印加時間30msec及び3000msecではいずれの質量電荷比のイオンについても測定強度がほぼ同じであることが分かる。図9～図11を併せて考慮すると、印加時間30msecでは各測定回で強度に多少の変動はあるがマススペクトルのピークパターンは同じであり、印加時間を3000msecにするとマススペクトルのピークパターンだけでなくピーク強度もほぼ一定になることが分かる。

[0045] 印加時間30msecと3000msecの間の時間とした場合にどのような結果が得られるかを確認すべく、上記同様の測定を放電電圧の印加時間100msec及び300msecでも行った。その結果を図12～図14に示す。これらは上述の図9～図11に対応するものであるため、図の詳細な説明を省略する。これらの結果から、印加時間を30msec以上にすることでコロナ放電によるイオン化効率の安定化の効果が現れ、印加時間を長くするほどより安定化することが見て取れる。

実施例 5

[0046] 実施例5では、-2.59keV, 0keV, +2.59keVの3種類の値の放電電圧により実施例1(及び比較例1)と同様の測定を各5回行い、放電電圧の極性によってコロナ放電の効果に違いがあるかを確認する測定を行った。図15～図1

7に示す結果から分かるように、放電電圧の極性に関係なく、コロナ放電によってイオン化効率が向上及び安定化することが分かる。

[0047] 上記実施例は一例であって、本発明の趣旨に沿って適宜に変更することができる。

本発明者が上記実施例のようにプローブ11にコロナ放電を生じさせた際、青く光るプラズマが同時に生成されていることを確認した。これはコロナ放電と同時にグロー放電が生じていることを示すものである。実施例で確認されたのはコロナ放電と同時に発生したグロー放電であるが、グロー放電のみによっても上記同様の効果が得られると考えられる。

[0048] また、本発明は「プローブの表面を均質化する化学的処理を施す」という技術的思想に基づくものであり、こうした処理はコロナ放電やグロー放電以外の方法でも行うことができる。例えば、図18に示すように、光源114を備え、プローブ11に試料を付着させる前に該プローブ11に紫外光を照射して活性酸素を生じさせることによりプローブ11の表面を均質化する化学的処理を施す構成を採ることができる。あるいは、図19に示すように、プラズマ生成部140を備え、プローブ11の近傍にプラズマ150を生成させることによりプローブ11の表面を均質化する化学的処理を施す構成を採ることもできる。プラズマ生成部140としては、高周波電圧によりプラズマを生成するもの、マイクロ波の照射によりプラズマを生成するものなど、従来知られている種々の構成を用いることができる。

[0049] 上記実施例1～5では、ポリマー溶液を質量分析したが、その他、例えば図20に示すように、液体クロマトグラフ40のカラムで分離されたあとの溶出液41等の液体試料をプローブ先端に付着させてイオン化し、後段の質量分離部との間に設けられた隔壁42に形成されたイオン導入開口43を通じてイオンを輸送するように構成することもできる。

[0050] また、固体試料を測定する場合やイオン化しにくい試料を測定する場合には、イオン化電圧印加時にプローブの先端にレーザ光を照射して試料にエネルギーを付与し、イオン化を促進してもよい。この構成に本発明のコロナ放

電を適用することで、固体試料やイオン化しにくい試料の分析においても優れた再現性を得ることができる。例えば、図18に示す構成では、プローブ11の表面を均質化する化学的処理を施すために用いた光源114を試料21のイオン化の促進にも用いることができる。もちろん、それぞれに独立の光源を備えてもよい。

[0051] さらに、図18及び19では、光源114あるいはプラズマ生成部140に加え、試料台122を水平方向に移動する試料台移動機構123、及びプローブ111の先端に付着させた試料にレーザ光を照射する光源114をさらに追加している。また、制御部130には、上記実施例の制御部30に、試料121表面の複数の測定点においてイオン化及び質量分析を実行する機能を追加する。これらのイオン化装置を用い、試料121表面の複数の測定点においてそれぞれ上述のステップS1～S6（及び必要に応じてレーザ光の照射）を実行することにより、生体組織の切片等のイメージング質量分析を行うことができる。PESI法では、先端がnmサイズに加工されたプローブを用いることによりnmレベルの空間分解能でイメージング質量分析を行うことができ、この構成において本発明の特徴であるコロナ放電を実行することにより、従来よりも高精度なイメージング質量分析を実現することができる。

[0052] さらに、上記の各例では生成したイオンを質量分析する場合を例に説明したが、イオン移動度分析等、他の分析を行うように構成することもできる。

符号の説明

[0053] 11、111…プローブ
12、112…プローブ移動機構
13、113…電圧印加部
21…試料
22…試料台
30、130…制御部
31、131…イオン導入管
40…液体クロマトグラフ

4 1 …溶出液

4 2 …隔壁

4 3 …イオン導入開口

1 1 4 …光源

1 2 3 …試料台移動機構

1 4 0 …プラズマ生成部

1 5 0 …プラズマ

請求の範囲

- [請求項1] 導電性を有するプローブの先端に付着させた試料を、該プローブへのイオン化電圧の印加によってイオン化するイオン化方法であって、前記プローブの表面を均質化する化学的処理を施し、前記プローブの先端に前記試料を付着させ、前記プローブに前記イオン化電圧を印加して前記試料に電荷を付与してイオン化することを特徴とするイオン化方法。
- [請求項2] 前記プローブに放電電圧を印加して生じる電圧により前記化学的処理を施すことを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。
- [請求項3] 前記放電電圧印加時に前記プローブの先端に印加される電圧の大きさの絶対値が1.8keV以上であることを特徴とする請求項2に記載のイオン化方法。
- [請求項4] 前記放電電圧の印加時間が30msec以上であることを特徴とする請求項2に記載のイオン化方法。
- [請求項5] 前記プローブに紫外光を照射することにより前記化学的処理を施すことを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。
- [請求項6] 前記プローブにマイクロ波を照射することにより前記化学的処理を施すことを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。
- [請求項7] 高周波電圧の印加により、前記プローブが位置する空間にプラズマを生成させることにより前記化学的処理を施すことを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。
- [請求項8] 前記プローブと前記試料の相対位置を移動することにより該プローブの先端に該試料を付着させることを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。
- [請求項9] 前記化学的処理が、活性酸素を生成することにより前記プローブの表面を均質化するものであり、該活性酸素がヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロペルオキシラジカル、

過酸化水素、一重項酸素、一酸化窒素、二酸化窒素、及びオゾンのうちの少なくとも1つを含むものであることを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。

[請求項10] 前記プローブに電圧を印加し前記試料に電荷を付与する際に、前記試料にレーザ光を照射することを特徴とする請求項1に記載のイオン化方法。

[請求項11] 前記試料の表面の複数の点のそれぞれにおいて、請求項1に記載のイオン化方法によりイオンを生成して分析することを特徴とするイメージング分析方法。

[請求項12] 前記分析が質量分析であることを特徴とする請求項11に記載のイメージング分析方法。

[請求項13] 導電性を有するプローブと、
前記プローブに放電を生じさせるための放電電圧と、前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、
前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、
前記電圧印加部及び前記試料導入部を制御して、前記プローブに前記放電電圧を印加したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プローブにイオン化電圧を印加する制御部と
を備えることを特徴とするイオン化装置。

[請求項14] 導電性を有するプローブと、
前記プローブに紫外光を照射する光源部と、
前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、
前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、
前記光源部、前記電圧印加部、及び前記試料導入部を制御して、前記プローブに前記紫外光を照射したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プローブにイオン化電圧を印加する制御部と

を備えることを特徴とするイオン化装置。

[請求項15]

導電性を有するプローブと、

前記プローブが位置する空間にプラズマを生成させるプラズマ生成部と、

前記プローブに付着させた試料に電荷を付与してイオン化するためのイオン化電圧を印加する電圧印加部と、

前記プローブの先端に試料を付着させる試料導入部と、

前記プラズマ生成部、前記電圧印加部、及び前記試料導入部を制御して、前記空間に前記プラズマを生成したあと、前記プローブの先端に試料を付着させ、さらに前記プローブにイオン化電圧を印加する制御部と

を備えることを特徴とするイオン化装置。

[請求項16]

前記試料導入部が、前記プローブの先端が試料から離間した第1位置と、該先端が試料に付着する第2位置に、前記プローブと前記試料の相対位置を移動させる移動機構を備え、

前記制御部が、前記第1位置において前記プローブに前記放電電圧を印加しコロナ放電を生じさせたあと、前記第2位置に移動させて前記プローブに前記イオン化電圧を印加することを特徴とする請求項13から15のいずれかに記載のイオン化装置。

[請求項17]

更に、

前記第1位置にある前記プローブの先端にレーザ光を照射するレーザ光源を備え、

前記制御部が、先端に試料が付着したプローブにレーザ光を照射するように前記レーザ光源を制御することを特徴とする請求項16のいずれかに記載のイオン化装置。

[請求項18]

更に、

試料台、及び該試料台に載置された試料と前記プローブの相対位置を移動する移動機構を備えた請求項13から15のいずれかに記載の

イオン化装置と、

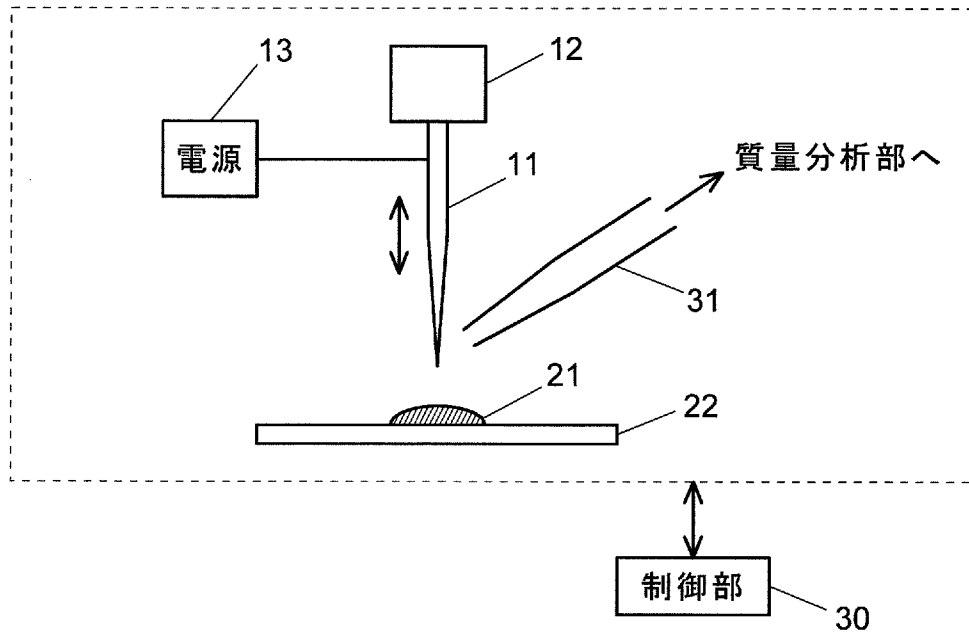
前記試料上の複数の位置において、それぞれ該試料からイオンを生成し分析する分析実行部と

を備えることを特徴とするイメージング分析装置。

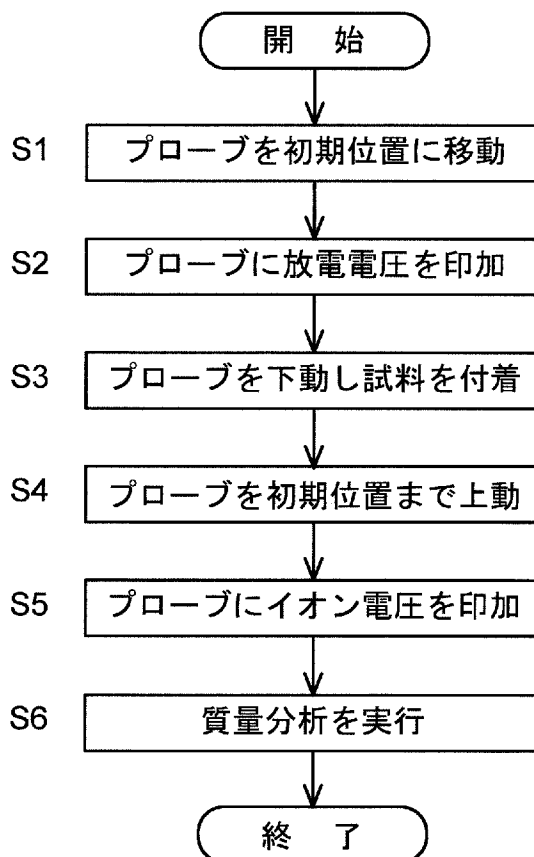
[請求項19]

前記分析が質量分析であることを特徴とする請求項18に記載のイメージング分析装置。

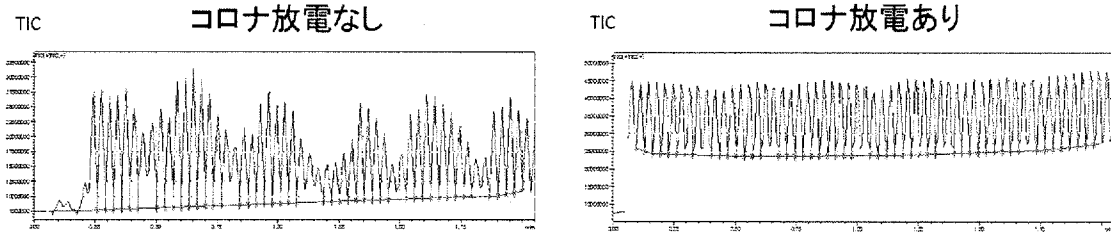
[図1]



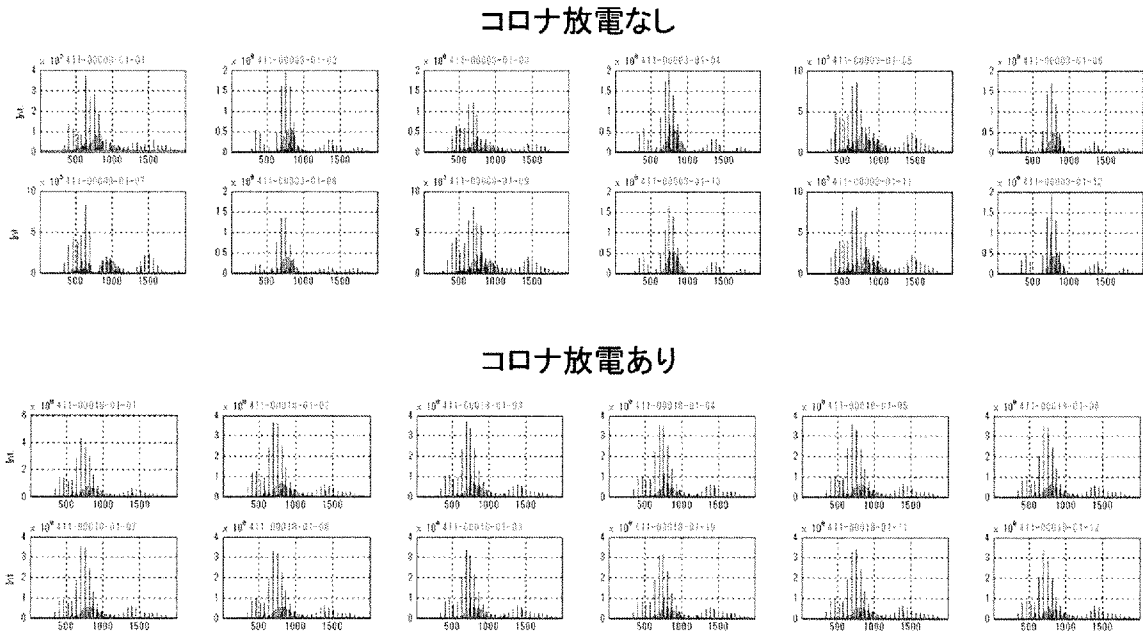
[図2]



[図3]

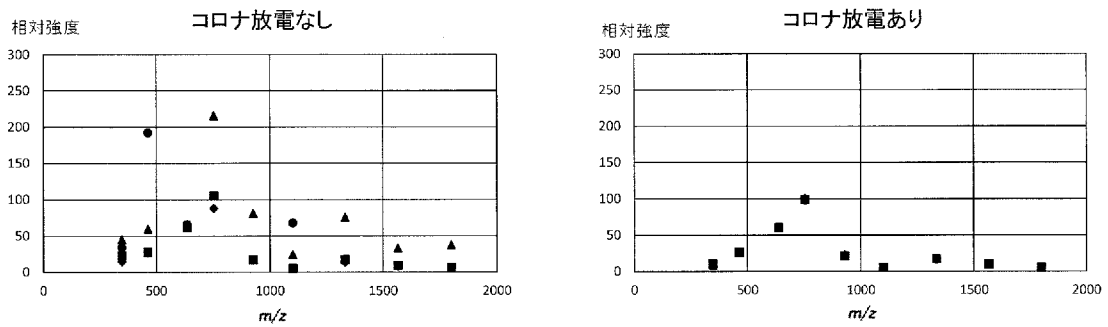


[図4]



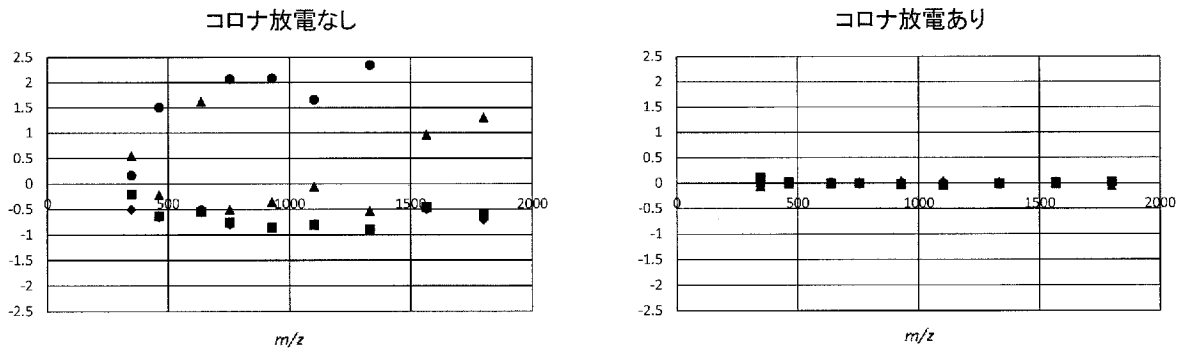
[図5]

m/z 695を100とした時の相対強度



[図6]

相対強度の平均値(4回測定)からのずれ(平均値を1として表示)

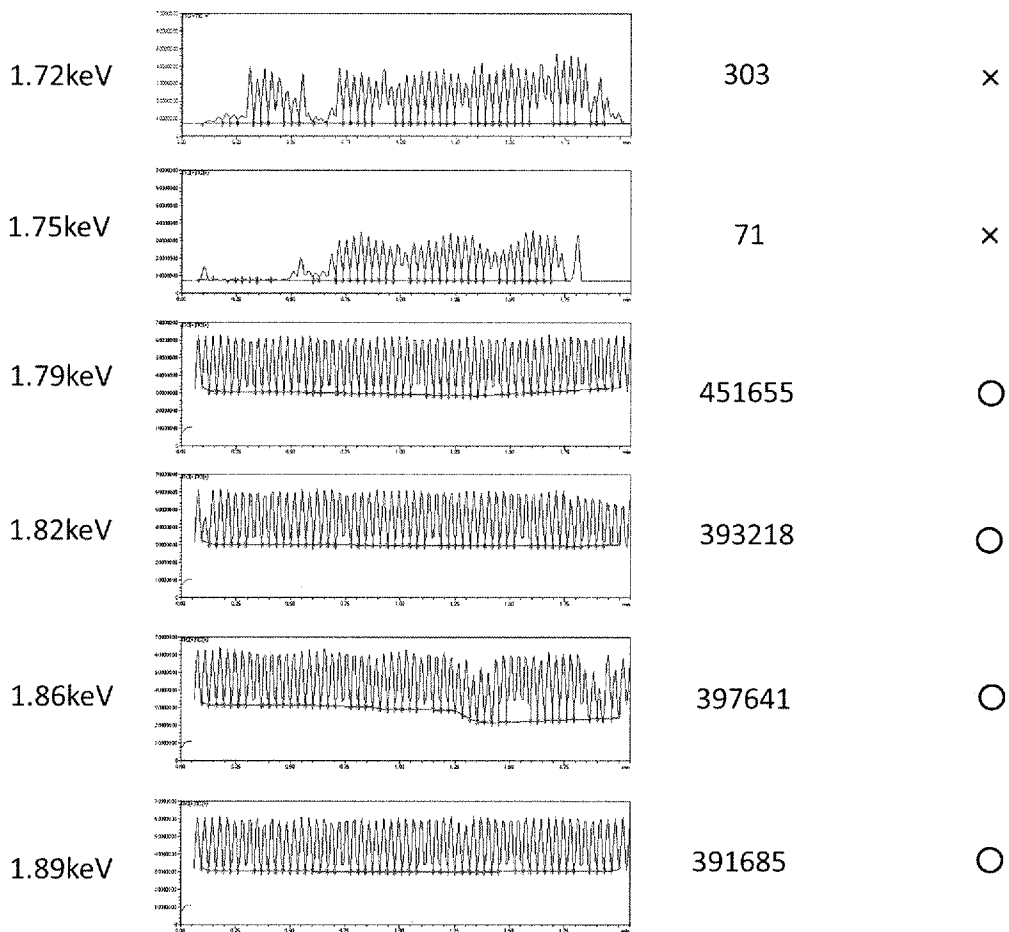


[図7]

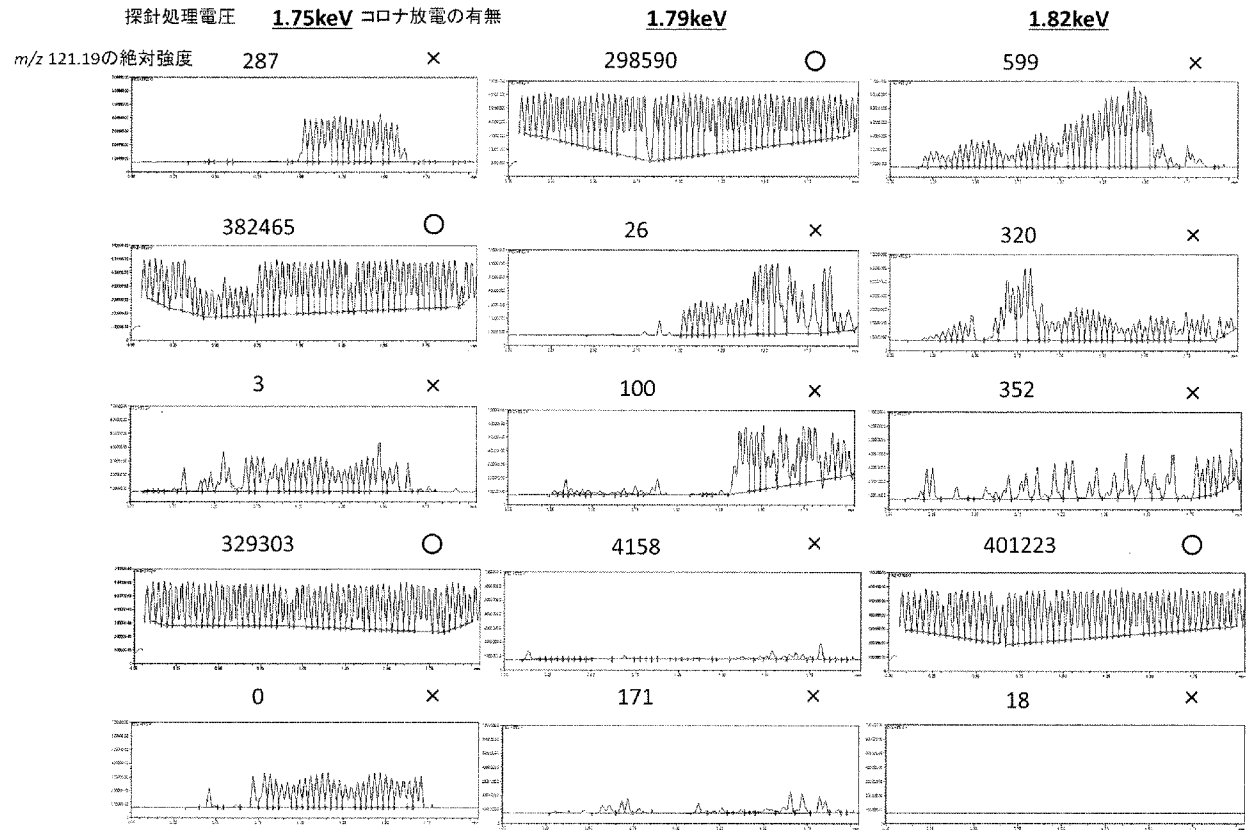
探針処理電圧

0-0.05min積算の
m/z 121.19の絶対強度

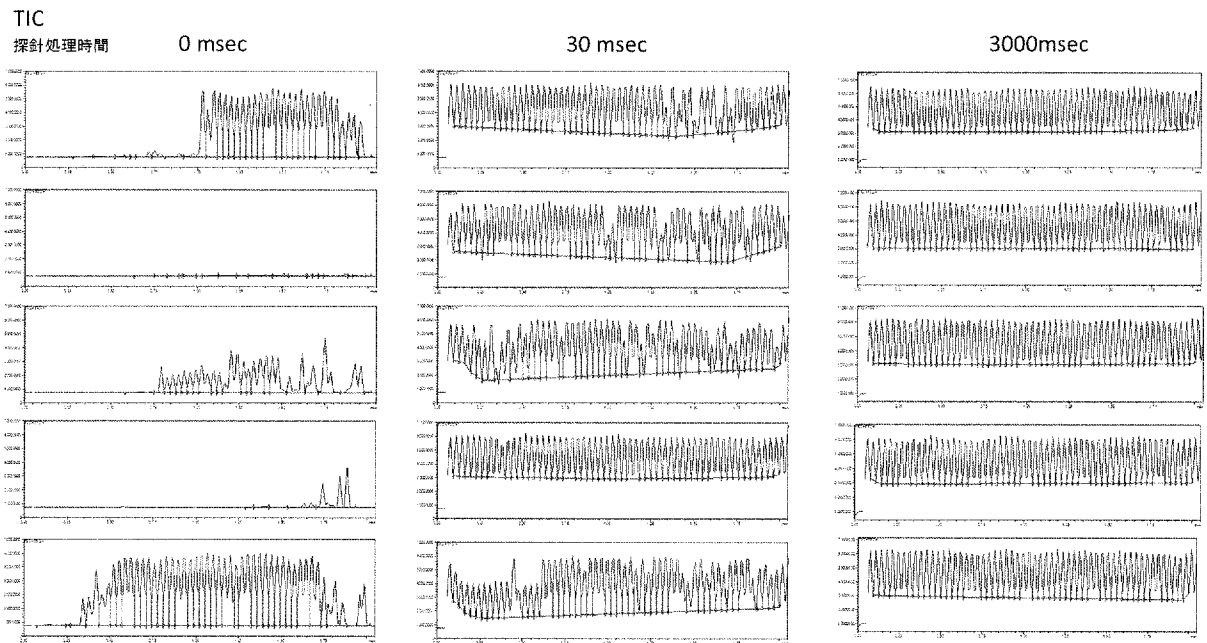
コロナ放電の有無



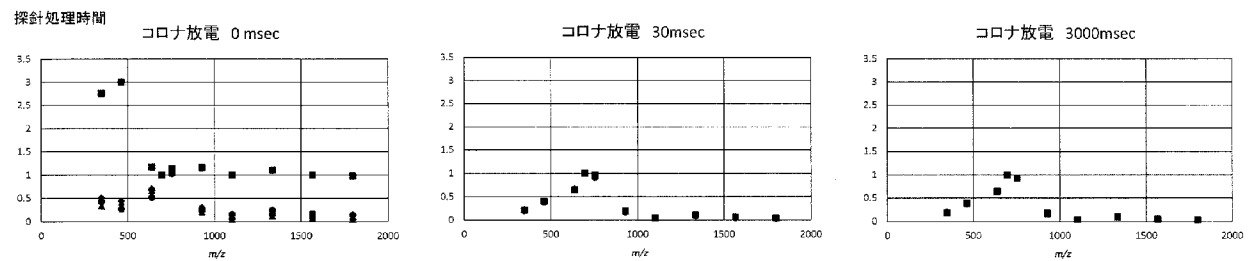
[図8]



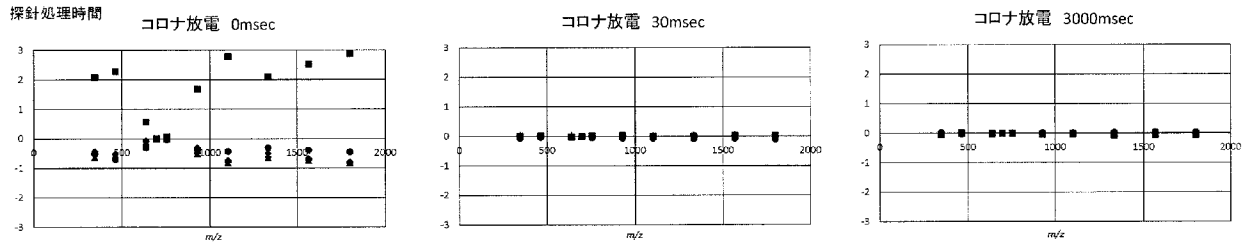
[図9]



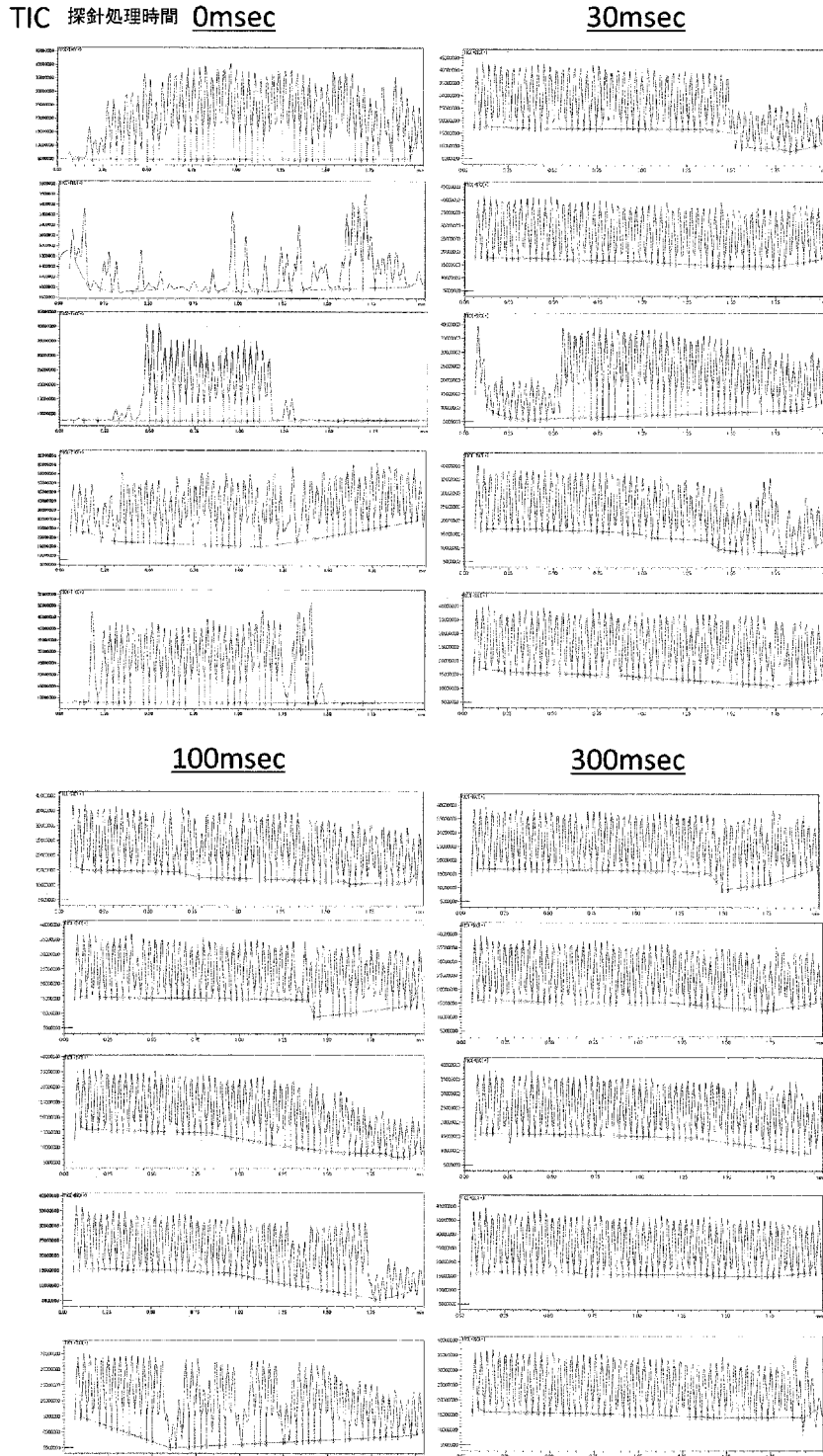
[図10]



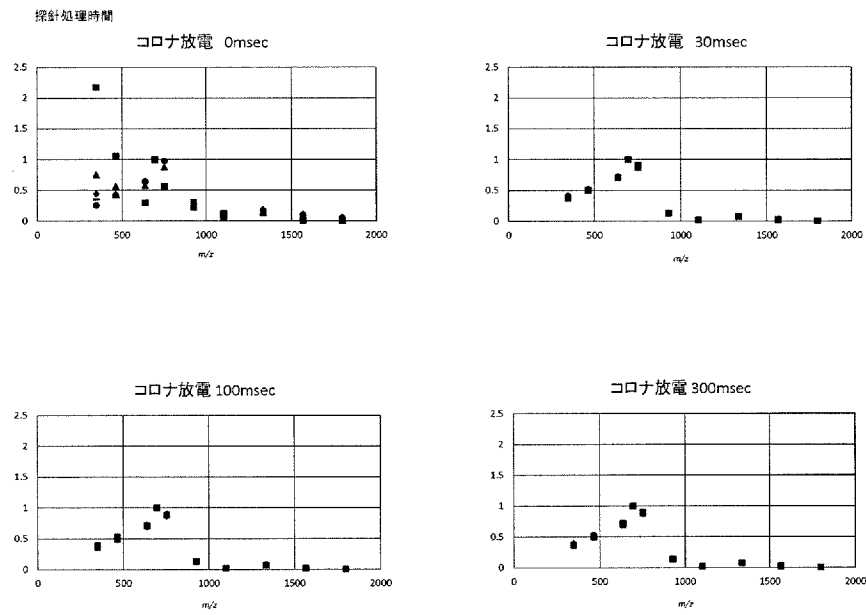
[図11]



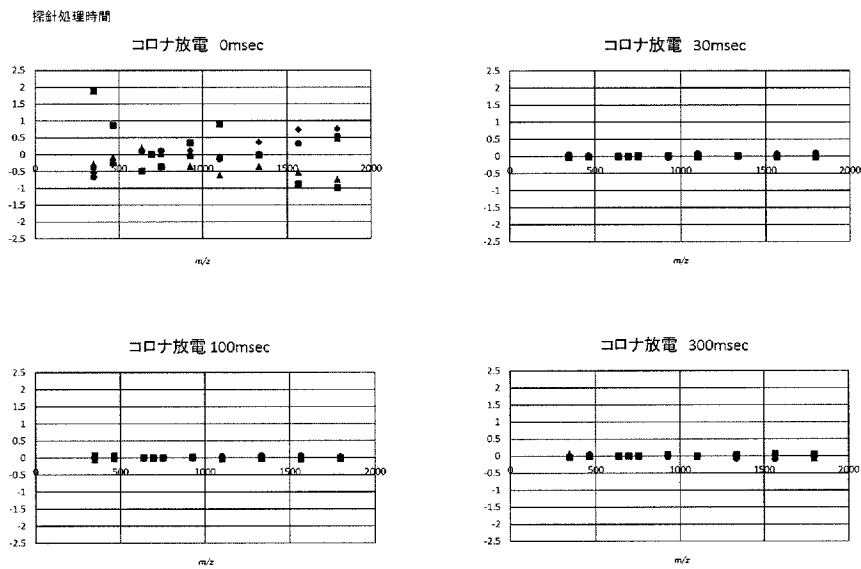
[図12]



[図13]



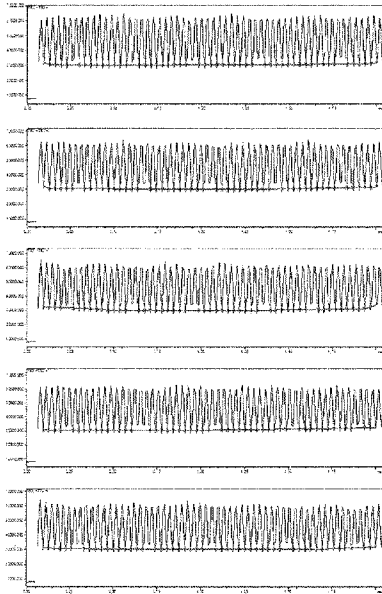
[図14]



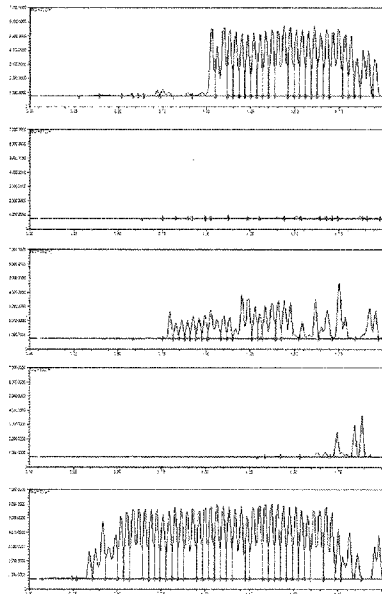
[図15]

TIC

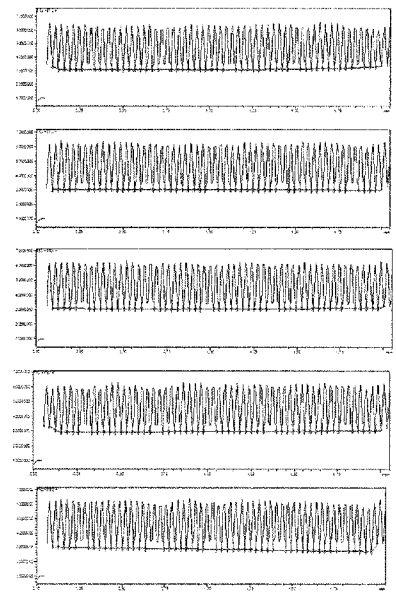
探針処理電圧 -2.59keV



0keV



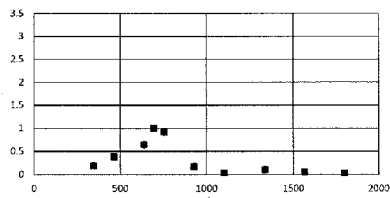
2.59keV



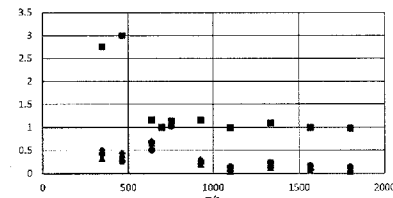
[図16]

探針処理電圧

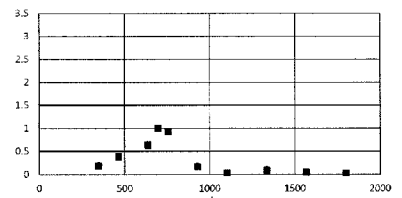
-2.59keV



0keV



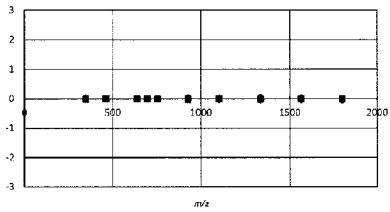
2.59keV



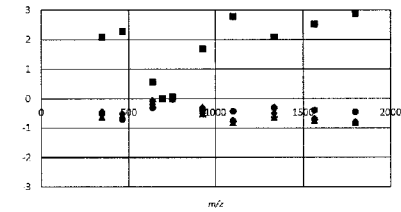
[図17]

探針処理電圧

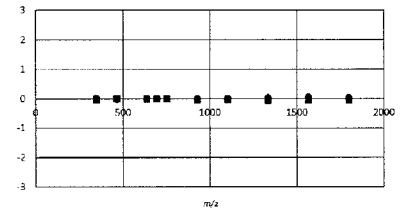
-2.59keV



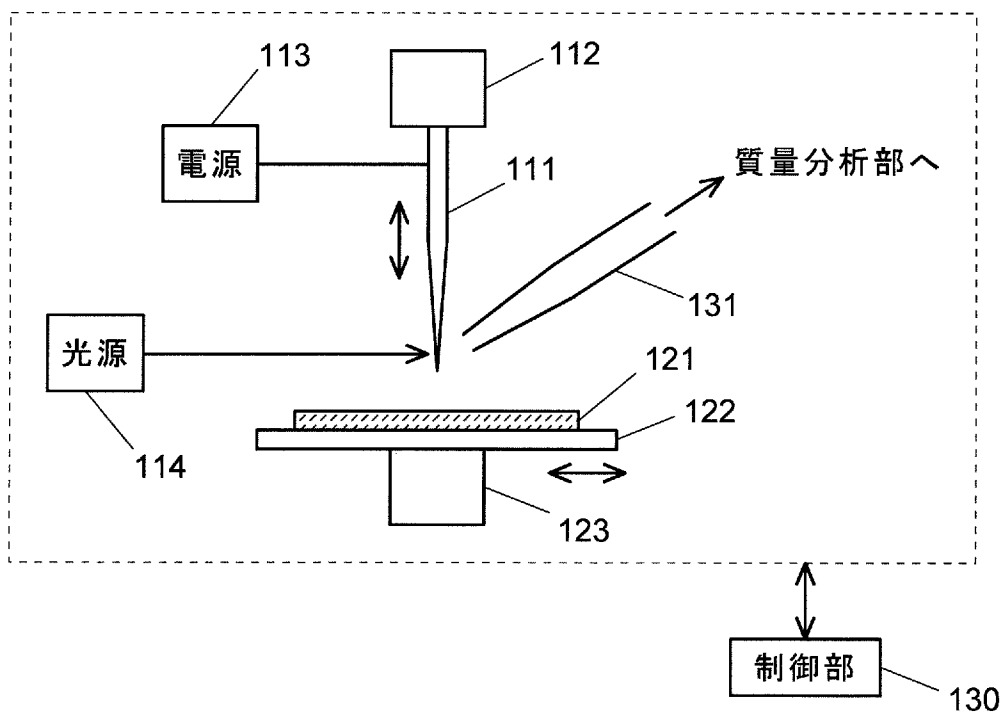
0keV



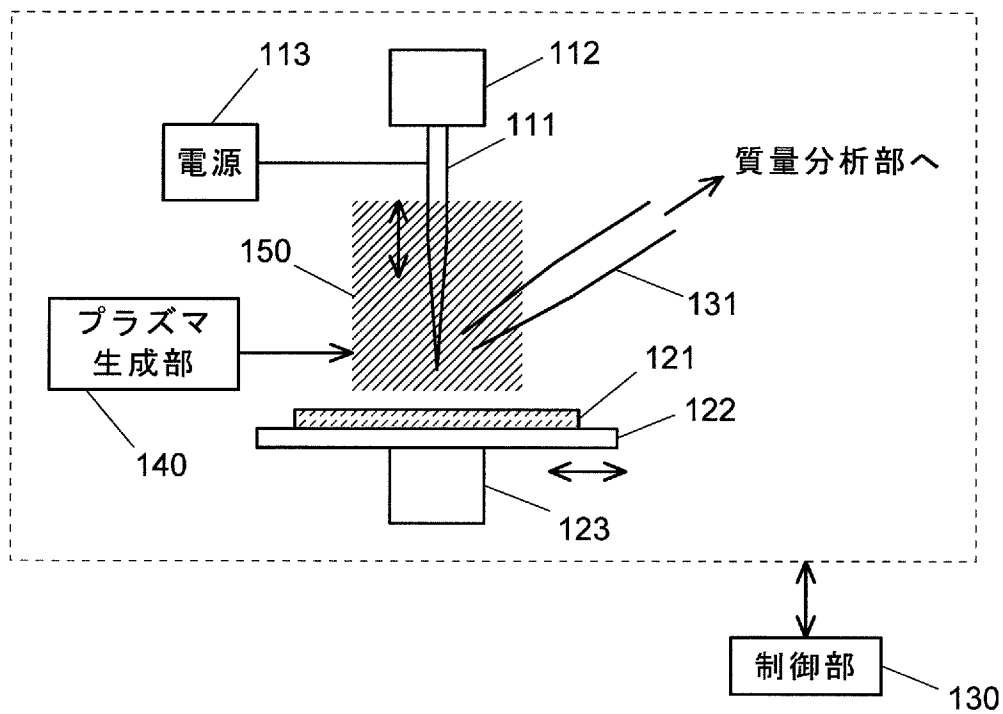
2.59keV



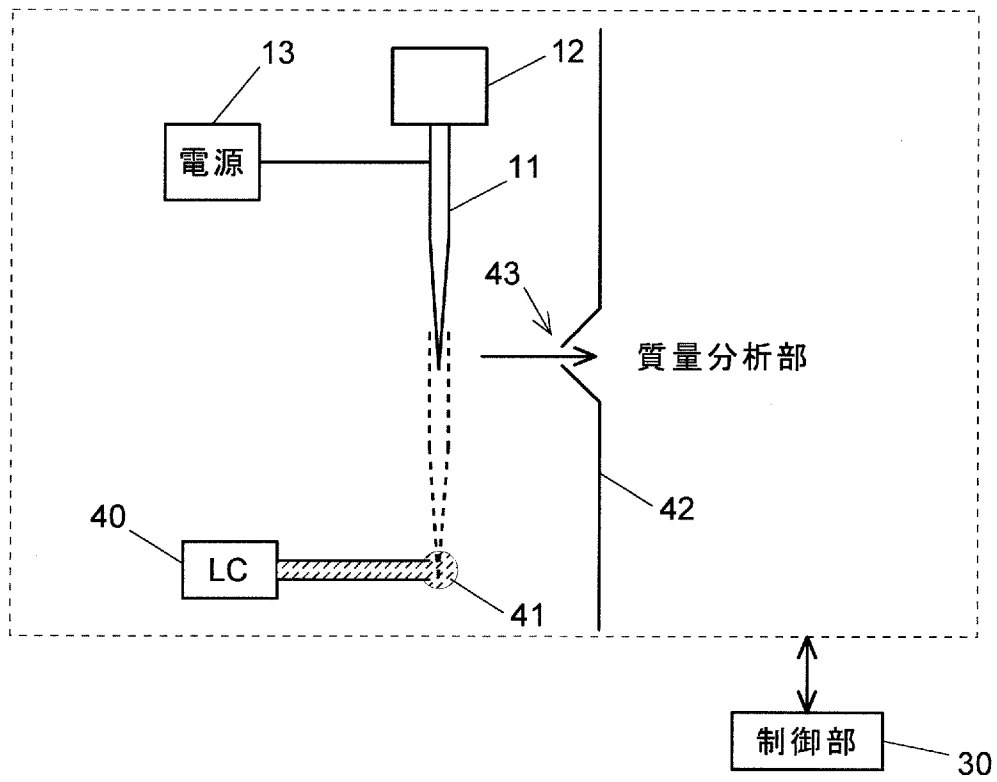
[図18]



[図19]



[図20]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/084353

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N27/62(2006.01)i, H01J49/10(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N27/62, H01J49/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CiNii

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO 2007/126141 A1 (University of Yamanashi), 08 November 2007 (08.11.2007), column 10, line 23 to column 14, line 15; fig. 1 to 2 & US 2009/0140137 A1 paragraphs [0064] to [0076]; fig. 1 to 2 & EP 2017610 A1	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14
Y A	JP 2002-298776 A (Anelva Corp.), 11 October 2002 (11.10.2002), paragraphs [0036] to [0049]; fig. 1 & US 2002/0139930 A1 paragraphs [0051] to [0064]; fig. 1	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 12 January 2017 (12.01.17)	Date of mailing of the international search report 24 January 2017 (24.01.17)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/084353

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2008-209312 A (Fujitsu Ltd.), 11 September 2008 (11.09.2008), paragraphs [0021] to [0027]; fig. 1 to 2 (Family: none)	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14
A	WO 2011/071182 A1 (University of Yamanashi), 16 June 2011 (16.06.2011), entire text; all drawings & JP 5277509 B2 & US 2012/0248303 A1 full text; all figures & EP 2511941 A1	1-19
A	JP 2012-199027 A (Hitachi High-Technologies Corp.), 18 October 2012 (18.10.2012), entire text; all drawings & US 8941060 B2 full text; all figures & WO 2012/127902 A1 & EP 2688086 A1 & CN 103339708 A	1-19
A	WO 2009/157312 A1 (University of Yamanashi), 30 December 2009 (30.12.2009), entire text; all drawings & US 2011/0108726 A1 full text; all figures & EP 2295959 A1	1-19

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/62(2006.01)i, H01J49/10(2006.01)i										
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N27/62, H01J49/10										
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table style="width:100%; border:none;"> <tr> <td style="width:30%;">日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2017年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2017年	日本国実用新案登録公報	1996-2017年	日本国登録実用新案公報	1994-2017年
日本国実用新案公報	1922-1996年									
日本国公開実用新案公報	1971-2017年									
日本国実用新案登録公報	1996-2017年									
日本国登録実用新案公報	1994-2017年									
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CiNii										
C. 関連すると認められる文献										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号								
Y A	WO 2007/126141 A1 (国立大学法人山梨大学) 2007.11.08, 第10欄 第23行-第14欄第15行, 第1-2図 & US 2009/0140137 A1, [0064] - [0076], Fig.1-2 & EP 2017610 A1	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14								
Y A	JP 2002-298776 A (アネルバ株式会社) 2002.10.11, [0036]-[0049], 図1 & US 2002/0139930 A1, [0051] - [0064], FIG. 1	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14								
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。										
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献										
国際調査を完了した日 12.01.2017	国際調査報告の発送日 24.01.2017									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 立澤 正樹 電話番号 03-3581-1101 内線 3258	2W 9809								

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	JP 2008-209312 A (富士通株式会社) 2008.09.11, [0021] - [0027], 図 1-2 (ファミリーなし)	1-4, 7, 8, 10-13, 15-19 5, 6, 9, 14
A	WO 2011/071182 A1 (国立大学法人山梨大学) 2011.06.16, 全文, 全 図 & JP 5277509 B2 & US 2012/0248303 A1, full text, all figure & EP 2511941 A1	1-19
A	JP 2012-199027 A (株式会社日立ハイテクノロジーズ) 2012.10.18, 全文, 全図 & US 8941060 B2, full text, all figure & WO 2012/127902 A1 & EP 2688086 A1 & CN 103339708 A	1-19
A	WO 2009/157312 A1 (国立大学法人山梨大学) 2009.12.30, 全文, 全 図 & US 2011/0108726 A1, full text, all figure & EP 2295959 A1	1-19