Encoded Frequent Pushing®

Folded Flight Path[®] 搭載 高分解能飛行時間型質量分析計におけるデューティサイクル向上

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

はじめに



直交加速飛行時間型質量分析計 (OA-TOFMS) において、パルサー(プッシャー)によるイオン加速のデューティサイクルは感度にかかわる重要なパラメータである。OA-TOFのデューティサイクルは、加速領域を、スペクトルを取得したい質量範囲中最も質量電荷比 (*m/z*)の高いイオンで満たす時間と、そのイオンの飛行時間の比として定義される: デューティサイクル = T_{fll}/TOF^[1]

例えば*m/z* 1000のイオンで加速領域を満たす時間 (T_{fil}) は一般的に10 μs、飛行時間 (TOF) は50 μsであるが、その場合のデューティサ イクルは 10/50 = 20 % である。すなわち *m/z* 1000のイオンの20%が質量分析部に導入され、残りの80%は失われることを意味してい る。さらに低質量域のイオンではデューティサイクルは20%以下となる。なぜなら、それらのイオンで加速領域を満たす時間 (T_{fil} ~√*m/z*) は短 く、*m/z* 1000のイオンの飛行時間 (TOF) は同じだからである。低分解能 (R<1,000)および中分解能 (R<15,000)の飛行時間型質量 分析計では、デューティサイクル20 %は高いとみなされている。もちろんデューティサイクル以外に感度に影響する要素 (イオン化効率、インター フェイスや質量分析部のイオン透過率、検出効率など) は種々あるが、デューティサイクルが最も重要なパラメータの1つである。

TOFMSの分解能はよく知られているように次の式で定義される: R = TOF/2・ Δ T) (この式におけるTOFはあるイオンの飛行時間、 Δ Tは そのイオンの半値幅である。)

マルチリフレクトロン (MR) 搭載 TOF 型質量分析計では一般に、Folded Flight Path[®] (FFP[®])を搭載している場合は特に、拡散を抑えたイオン光学系によってイオンのピーク幅を抑えながら飛行時間を長くし、超高分解能を達成している。しかしながら長い飛行時間はデューティサイクルを低減するため、最終的な感度に影響する。LECO 社の Pegasus GC-HRT は FFPを搭載し、25000 (@*m/z* 219, FWHM)以上の分解能で1 pg OFN の検出感度を有している。飛行時間型質量分析計として、質量範囲やスペクトル取込スピードに係わらず高分解能と高感度を達成しているといえよう。これは他の種類の高分解能質量分析計では得られない特長である。

高分解能と高データ取り込みスピードを維持しつつ感度を向上させることは、質量分析にとって非常に価値がある。OA-TOFMSの感度向 上は、パルサーによるイオン加速頻度(パルス周波数)を上げ、複数パルスの信号を積算して記録することによって達成できると考えられてき た。しかしながらパルス周波数を上げると、軽い(すなわち飛行時間が短い)イオンが、前の加速でスタートした重い(すなわち飛行時間が長 い)イオンを追い越してしまい、スペクトルの重なりが生じる。このスペクトルの重なりを復号できなければ、記録したマススペクトルはデータとして 意味をなさない。

従来、重なり合ったスペクトルを記号化・復号する方法はいくつか示唆されてきた。ピーク幅^[2]やパルス周波数のシフト^[3]を基にする方法は強度の高いイオンには有効であるが、強度の弱いイオンは見逃されてしまうため、パルス周波数を増加させて感度を上げるという目的は達成できない。アダマール変換(Hadamard Transformation、HT)はもともと IR 分光分析のために開発^[4]され、質量分析への応用^[5,6]が検討された。この方法は簡便な記号化と迅速な復号を可能とし、一定強度以上のイオンの SN 比をパルス回数 N の√ 向上させる。しかしながらスペクトルの変動によって復号後のスペクトルにアーティファクトが生じるため、実質的には感度向上に効果がない。あるパルスの強度の低いイオンが、他のパルスの非常に強度の高いイオンに妨害されると、体系的なスペクトルの重複が起る。これは等しいパルス間隔(サイクル時間の 50%)を使用する記号化法に起因している。このような重複が起きると、強度の低いイオンの感度を減少させる効果が 2 倍になってしまう。

Encoded Frequent Pushing

LECO 社は Encoded Frequent Pushing[™] (EFP[™])を開発した^[7]。この方法はイオン加速をユニークな間隔で行なってそれらパルス信号 を多重化するものであり、FFP 搭載のマルチリフレクトロン型 TOFMS におけるデューティサイクルを向上するのに非常に適している。この方法は、 高い分解能で分離された強度の低いイオンがマススペクトル中に存在する場合も有効である。複数のパルスを積算したマススペクトル中には当 然イオンの重複があるが、ユニークなパルス間隔を採用しているため、適切な復号が可能である。アマード変換のような'反転法'とは異なり、重 複したスペクトルを論理的かつ統計的に分析することで復号し、アーティファクトは生じない。EFP を用いた場合、積算パルスの増加に比例して デューティサイクルは向上する。すなわち連続したイオンシグナルはより効率的にサンプリングされる。例えば 2 kHz で個々のスペクトルを記録する 場合と比較し、EFP を用いて 20 パルスを積算して 2 KHz で記録すると、パルス周波数は約 20 kHz となり感度も約 10 倍向上する。 図1に、EFPを用いた場合、複数のパルスからなる多重化スペクトルがどのように構成されるかの概念を示す。得られるスペクトルはオーバー ラップしたイオンの信号を含むため、複雑で解読困難である。しかしながら復号アルゴリズムは、ユニークなパルス間隔と Ti=TD*i*(i-1)/2の ようなパルス時間に関する知見を考慮し、多重化スペクトルから同じ飛行時間を持つ信号を集めることができる。これらの信号は数学的に処 理され、復号スペクトルとなって記録される。



図 1. (A) MR-TOFMS におけるデューティサイクルの概算; (B) Encoded Frequent Pulsing (EFP); (C) EFP によるスペクトルの多重化

図 2 に復号のプロセスを示す。復号はデータ取込中に全自動かつリアルタイムで行われる。EFP 復号後のスペクトルの強度は、単一スペクトルの 10 倍となっている。



図 2. EFP のワークフロー: 1回のパルスで生じる単一スペクトル(左上段)が足し合わされて EFP 多重化スペクトル(右)となり、リアルタイムに感度が 向上したスペクトル(左下段)へと復号される。

高分解能 TOFMS における EFP の応用

感度の向上と強度の低い信号の検出 図3にGC-HRTでの分析にEFPを用いた場合の感度向上例を示す。強度の高いマトリクス中に 含まれる微量化合物の検出を、単一パルスでの分析とEFPを用いた分析で比較した。期待したとおり(この例では約20倍)、積算パルス 数の増加に比例してトータルイオンクロマトグラムの絶対強度も増加している。図4、図5ではEFPを使用した場合、強度の低い同位体イオン も正しい強度比で検出されている。そのため分析のダイナミックレンジが広がり、微量成分であっても、信頼性の高い検出および同定が可能と なる。



図3. EFPを用いない分析では(左上段、オレンジ)微量成分を検出できなかったが、EFPを用いた場合は(左下段、グリーン)はっきりと検出されている。



図 4. イオン強度が十分でないため同位体ピークが正しく検出されていない(上段)。しかしながら EFP を用いることですべての同位体ピークが検出 された(下段)。



図 5. C₈H₂₀O₂Si₂⁺のマスクロマトグラムを示す。EFP を使用しないと M+1 および M+2 同位体は検出されていない (a)が、EFP を使用すると C₈H₂₀O₂Si₂⁺に加えて、それら同位体のマスクロマトグラムもはっきりとピークとして検出されている (b)。

リニアダイナミックレンジの向上EFPの使用、未使用にかかわらず質量分析計のイオン光学系には同じ構成部品が使用されている。 唯一の違いはイオンの加速頻度であり、EFPモードでは直交加速パルサーが高いパルス周波数(EFP未使用で2 kHz、EFP使用では20 kHz)で動作していることである。感度の向上はイオン源で生成したイオンの有効利用により達成される。これにより低濃度側の直線性は 拡張するが、イオン源への負荷量は変らないため、高濃度側の直線性は維持される。結果として分析のダイナミックレンジは向上する(図 6)。EFPによりより多くのイオンが質量分析部に導入されるが、異なるパルスとして導入されるため、検出器も高負荷になることはない。検 出器に到達する総イオン数は増加するため、EFPを標準搭載したHRT⁺では電荷容量の高い検出器を採用している。



図6. リニアダイナミックレンジ (OFN, m/z 271.9866) はEFP使用で低濃度域に拡張(ブルー) し、高濃度域ではEFP未使用と同等である。

電気的ノイズおよびランダムな化学的ノイズの低減 EFPの復号化アルゴリズムは、連続したパルス中の一貫するシグナルをピックアップし、 不規則なシグナルは取り除く。そのため、図7に示すように電気的ノイズはもちろんランダムな化学的ノイズも大幅に低減し、データサイズの縮 小と微量成分の検出をより効率的に行なうことが可能となる。



図7. EFPは電気的および化学的に発生する一貫しない信号をデータから取り除くため、SNが向上する。

常に広い質量範囲で測定可能加速頻度(パルス周波数)を増大することでデューティサイクルと感度の向上をはかる。EFPを使用しない場合は、飛行時間を抑えるためにデータを取得する質量範囲を考慮しなければならない。EFPを用いる場合はこの制限はなく、感度向上を享受しつつ、常に最大質量範囲(*m/z* 10 - 1500)でのデータ取得が可能となる。

質量精度の向上 EFPを使用し多くのパルス信号を積算することで、復号されたスペクトル中の各イオン数は増加し、データの信頼性は向上する。

質量精度は質量分解能とイオン統計値により決まり、次の式で定義される:

MA~1/(R·√N) (MAは質量精度、Rは分解能、Nはイオン数)

GC-HRTを2次元GC (GCxGC) と接続する場合、非常にシャープなピーク (ピーク幅約50 ms) に対応するため、最大 200 スペクト ル/秒のデータ取込スピードが必要となる。1 kHzの加速頻度で200 スペクトル/秒のデータ取込を行なうと、各データポイントはわずか5パルス の信号しか積算できず、低濃度成分において高い質量精度を得ることは難しい。しかしながらEFPを使用するとイオン数は約10倍となり、 GCxGCモードにおける低濃度化合物の質量精度は大幅に向上する(図8)。



図8. 200 スペクトル/秒の取込スピード時における m/z 219 (PFTBA) の質量精度: EFP使用(オレンジ)とEFP未使用(グリーン)。

<u>EFP使用上の制限</u>EFPの復号アルゴリズムは連続したパルス中の各イオンが互いに干渉していないこと、すなわち積算したマススペクトル中のイオンが極度に密集していないことを前提としている。GC-HRTの高分解能はイオンピーク間に十分な距離を提供し、GCによる成分の分離がスペクトルの複雑さを低減するため、通常この前提は守られている。しかしながら、非常に高濃度の複雑なサンプルを最低限の分離で導入すると、マススペクトル中のイオンが極度に密集してしまうことは起こりうる。このような場合、EFPの復号アルゴリズムは期待する効果を発揮できない。GCによるより良い分離、更にはGCxGCによる究極の分離を組み合わせることで、非常に高濃度で複雑なサンプルであってもEFPの効果を得ることが可能となる。

結論

Encoded Frequent Pushing (EFP) をFFP搭載のTOFMSであるLECO社のPegasus GC-HRTあるいはPegasus GC-HRT 4D に採用することで、分析機能が拡張して下記のような利点が得られる:

- 感度の大幅な向上
- リニアダイナミックレンジの拡張
- 常に広い質量範囲で分析可能
- 低濃度成分の質量精度向上
- 電気的、化学的ノイズの低減

References

^[1]M. Guilhaus, D. Selby, V. Mlynski. Orthogonal Acceleration Time-of-Flight Mass Spectrometry. Mass

Reviews, 2000, 19, 65-107.

^[2]J. Franzen. High resolution method for using time-of-flight mass spectrometers with orthogonal ion injection. United

States Patent 6,861,645 (2003)

^[3]D. Kenny, J. Wildgoose. An Orthogonal Acceleration Time-of-Flight Mass Spectrometer. Great Britain Patent

2,445,679 (2007).

^[4]F. Knorr. Fourier Transform Time-of-Flight Mass Spectrometer. United States Patent 4,707,602 (1985).
^[5]A. Brock, N. Rodriguez, R. Zare. Time-of-Flight Mass Spectrometer and Ion Analysis. United States Patent 6,300,626 (1999).

^[6]M. Belov, C. Fancher, P. Foley. Multiplexed Orthogonal Time-of-Flight Mass Spectrometer. United States Patent

6,900,431 (2003).

^[7]A. Verenchikov A. Electrostatic Mass Spectrometer with Encoded Frequent Pulses, United States Patent 8,853,623 (2011).

LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | Phone: 269-985-5496 info@leco.com | www.leco.com | ISO-9001:2000 HQ-Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.