

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23550102

研究課題名(和文) 高速液体クロマトグラフ質量分析計用大気圧多光子イオン化法の開発と環境汚染物質計測

研究課題名(英文) Development of Atmospheric Pressure Multiphoton Ionization Method for Liquid Chromatography and Mass Spectrometry Systems

研究代表者

八ツ橋 知幸 (Yatsunami, Tomoyuki)

大阪市立大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70305613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：超小型ピコ秒レーザー(532 nm, 50 microJ, 500 ps, 1 kHz)を用い、非共鳴多光子過程により分子をイオン化する大気圧多光子イオン化(APMPI)法を高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)用の新たな検出法として開発した。LC-MSで低極性化合物を検出するには真空紫外光を用いた大気圧光イオン化法やコロナ放電を用いた大気圧化学イオン化法があるが、微量分析を行う際には、溶媒や不純物のイオン化による背景イオンが問題であった。環境汚染物質である多環芳香族化合物に対してAPMPI法を用いたところ、試料のみがイオン化されるため背景イオンは現れず、良好な信号/ノイズ比が得られた。

研究成果の概要(英文)：Atmospheric pressure multiphoton ionization (APMPI) method using a tiny picosecond laser (532 nm, 50 microJ, 500 ps, 1 kHz) was applied for the liquid chromatography and mass spectrometry systems. In contrast to ordinal atmospheric pressure photoionization using VUV lamp and atmospheric pressure chemical ionization methods using Corona discharges, APMPI did not show any background signals originated in eluent and contaminants. A good S/N values were obtained when polycyclic hydrocarbons, one of the atmospheric pollutants, was analyzed by using APMPI.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：高速液体クロマトグラフ 多光子イオン化 低極性分子 環境汚染物質 バックグラウンドフリー 多環芳香族化合物 溶媒効果 ドーパント効果

1. 研究開始当初の背景

(1) 大気圧光イオン化法の現状

近年、高速液体クロマトグラフ質量分析 (HPLC-MS) の汎用化が著しく進んでいる。これは主にエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法、そしてコロナ放電を用いる大気圧化学イオン化 (APCI) 法の発展によるところが大きい。しかしながら、これら2つの大気圧イオン化法では分析が困難な低極性化合物も多い。中でも縮合多環芳香族化合物は、環境汚染などの原因となるため微量・迅速分析が求められている。これらの物質に対しては、真空紫外光ランプを用いて光イオン化する大気圧光イオン化 (APPI) 法が用いられる。しかし、この方法では光子エネルギーが大きいため、微量分析においては溶媒や不純物のイオン化による背景イオンが問題となる。さらに、質量分析の最も古典的なイオン化手法の一つであるにもかかわらず、市販の装置の光源は一社からの特許と供給に頼っており、研究・開発が滞っているのが現状である。

(2) 小型ピコ秒レーザーの登場

多光子イオン化に最適なフェムト秒レーザーは依然高額であり、最小のものでも卓上型である。一方、装置組み込みが可能なほど小型化された高繰り返しピコ秒レーザーが近年登場した。しかし、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法で用いられる窒素レーザーと同価格帯であるにも関わらず、その活躍の場は加工など限られた分野である。

本研究では HPLC-MS における光イオン化の現状、これまでの非共鳴多光子イオン化研究での経験、そして小型ピコ秒レーザーの登場を踏まえ、大気圧非共鳴多光子イオン化 (APMPI) 法を新たに開発して HPLC-MS に用いることを着想した。

2. 研究の目的

HPLC-MS で低極性化合物を検出するには APPI 法や APCI 法がある。しかし、これらの手法で微量分析を行う際には、溶媒や不純物のイオン化による背景イオンが問題となる。そこで、ピコ秒レーザーにより対象分子 (環境汚染物質である多環芳香族炭化水素、PAHs) のみを多光子イオン化することで妨害・背景イオンのない分析が可能であることを実証する。

3. 研究の方法

(1) 大気圧非共鳴多光子イオン化源の構築

超小型 (22 cc) の高繰り返しピコ秒レーザー (532 nm, 50 microJ, 500 ps, 1 kHz) を用いて、非共鳴多光子過程により分子をイオン化・検出する APMPI 源を構築した。

(2) 大気圧非共鳴多光子イオン化法の実証

光学系および質量分析計の測定条件の最

適化を行い、APMPI 法により低極性分子の検出が可能であることを示した。

(3) APCI 法との比較

既存の APCI 法と APMPI 法の結果を比較してイオン化機構および後続反応を明らかにした。

4. 研究成果

(1) HPLC 分離条件の確立

H22 年度に導入した HPLC-MS を用いて、標的とする PAHs の分離条件の探索を行って最適な分析条件を確立した。また、APMPI 法実施に先立ち、APCI による定量測定法のプロトコルを作成して定性・定量分析手法を確立した。またコロナ放電の電流値を 0 にすれば APCI のイオン源ユニットがそのまま使用出来ることを確認した。

(2) 大気圧非共鳴多光子イオン化源の構築

現有の四重極質量分析計はイオン化室上部より HPLC からの試料が加熱噴霧され、APCI あるいは ESI により試料がイオン化される。生成したイオンは装置奥行き方向に導入され分析される。イオン化室には上部斜め 45 度方向に観測用ポートが設けられている。そのため大幅な改造を施すことなくイオン化室にレーザーを入射することが可能であった (Fig.1)。

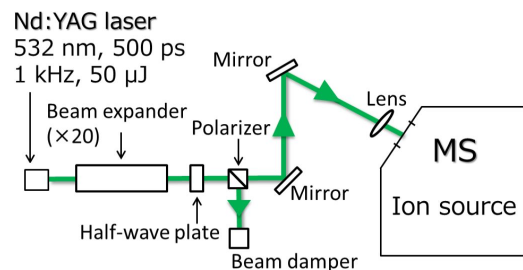


Fig.1 Experimental setup of APMPI.

ピコ秒レーザーの光束径は 0.14 mm と小さいため、集光強度を高めるためには光束径を拡大する必要があった。光束エクスパンダーを用いて 20 倍に拡大した後、半波長板と偏光子を用いてレーザー強度を調節できるようにした。偏光子からの反射光はビームダンパーに導入した。透過光は誘電反射ミラー2枚を用いたペリスコープによりイオン化室上部へと導き、無反射コートをした平凸レンズによりイオン化室に集光した。イオン化室の観測用ポートのガラス窓は無反射コートをした合成石英製の平行平面基板に置き換えた。

当初は光ファイバーを用いた光学系を予定していたが、レンズで直接集光する光学系に変更しても自由度はそれほど変わらないこと、ファイバーを介することでエネルギーが損失すること、ファイバーの劣化が懸念されたことから単レンズを使用した。また、レーザーの集光強度は大きくなるが、焦点深度

(イオン化が起こる範囲)が小さいため、対物レンズの使用は避けた。第一の目的である「非共鳴多光子イオン化部の製作が既存の装置の最小限の改造で出来ることを示す」ことを達成した。

### (3) 大気圧非共鳴多光子イオン化の検証

シリジポンプと質量分析計を直結して単一試料の連続供給を行い、イオン源の最適化(レーザー位置、質量分析計の条件)を行った。集光位置の最適化には時間を要した。原因は最適なレーザー集光位置が当初の予想とは異なり、試料吹き出し口の直下ではなく、質量分析計のイオン室入口寄りでもなく、APCI でコロナ放電に使用する放電ピン側であったことにある。最適化後はレーザーのオンによりイオン信号が明瞭に出現し、オフによってイオン信号が完全に出なくなることを確認できた (Fig.2)。

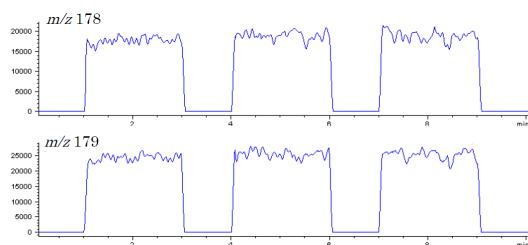


Fig.2 APMPI mass chromatogram of anthracene dissolved in MeOH.

PAHs の代表的な試料としてアントラセンを用い、1 ppm までの定量性の検討を行った。質量分析計側のパラメータに関しては、APCI 法と比べて乾燥ガス流量、乾燥ガス温度の最適値が大きく異なることが分かった。APCI とは異なり、溶質を直接イオン化することが原因であると結論した。また、溶離液としてはアセトニトリル/水系よりもメタノール/水系の方が信号強度が大きかった。第二の目的である「イオン化最適条件の探索と感度測定」を達成した

### (4) APCI 法との比較

HPLC と質量分析計を連結して最適化を行った。PAHs 13 種類混合試料のイオン化を行い、スキャン測定では APCI 法とほぼ遜色のない結果を得た (Fig.3)。また、APMPI によりイオン化した際には、APCI とは異なり PAH のみをイオン化・検出できるため背景信号がない結果を得ることが出来た (Fig.4)。

さらに移動相やドーパントの影響を調べた。APCI では MeCN, MeOH どちらを移動相として用いてもプロトン化アントラセンが多く生成する。一方、APMPI では MeCN を用いると、プロトン化アントラセンよりもカチオンラジカルの生成比率が大きくなった。このことは APMPI では光電効果様のイオン化が起こっていることを示している。一方、MeOH を用いると APCI と同様にカチオ

ンラジカルよりもプロトン化アントラセンの生成比率が大きくなった。さらにプロトン化アントラセンのイオン収量は MeCN の場合と比較して約 13 倍大きくなった。MeOH がプロトンドナーとなり、プロトン化アントラセンが多く生成したためと考えられる。また、アントラセン試料にトルエンを 2%(v/v) 添加すると、ドーパントを加えない場合と比較してプロトン化アントラセンの信号強度が約 1.4 倍大きくなった。レーザーによる非共鳴多光子過程により、アントラセン(分析種)とトルエン(ドーパント)がイオン化されるが、プロトン親和力およびイオン化エネルギーから考えて、トルエンの分子イオン及びプロトン化分子が反応イオンとなり、イオン-分子反応によりアントラセンをイオン化したためと考えられた。

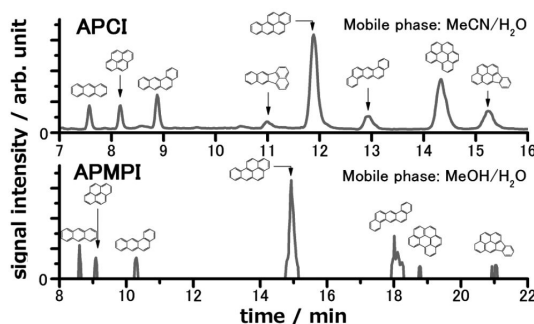


Fig.3 HPLC chromatogram of PAHs measured with APCI and APMPI methods.

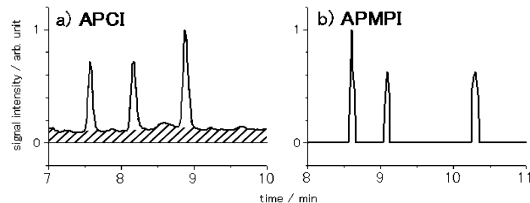


Fig.4 HPLC chromatogram of PAHs obtained by a) APCI and b) APMPI methods.

本研究により APMPI 法の原理検証実験に成功した。本手法の利点としては背景信号がなく、良好な信号/ノイズ比を得られることが挙げられる。しかしながら、汎用のイオン化法として用いるには、定量のダイナミックレンジを増大すること、様々な分子に適用できることを示すこと、そして装置を容易に追加できることが挙げられる。そのためにはレーザー集光体積およびパルスあたりのエネルギーの増大、PAHs に限らず様々な分子に対する測定を行うこと、そしてレーザー集光位置最適化を容易にすることなどを達成する必要がある。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

Nakashima, N.; Yamanaka, K.; Itoh, A.;

Yatsuhashi T., Ionic Valence Change of Metal Ions in Solution by Femtosecond Laser Excitation Accompanied by White-Light Laser, *Chin. J. Phys.* 査読有, 52, 504-518 (2014).

DOI:なし

Yatsuhashi T.; Nakashima, N.; Azuma, J., Coulomb Explosion of Dichloroethene Geometric Isomers at 1 PWcm<sup>-2</sup>, *J. Phys. Chem. A*, 査読有, 117, 8352-8359 (2013). DOI:10.1021/jp310361x

Nakashima, N.; Yamanaka, K.; Yatsuhashi T., Reduction of Yb(III) to Yb(II) by Two-Color Two-Photon Excitation, *J. Phys. Chem. A*, 査読有, 117, 1393-1399 (2013). DOI: 10.1021/jp402194x

ハッ橋知幸, レーザーイオン化の基礎と応用, *光学*, 42, 530-538 (2013).

DOI:なし

Yatsuhashi T.; Uchida, N.; Nishikawa, K., Novel Method of Producing Carbon Nanoparticles on Benzene/Water Interface with Femtosecond Laser Plasma Filament, *Chem. Lett.* 査読有, 41, 722-724 (2012). DOI: 10.1246/cl.2012.722

T. Yatsuhashi, E. Murakami, N. Nakashima, Fe<sup>z+</sup> (z = 1 - 6) Generation from Ferrocene, *Phys.Chem.Chem.Phys.* 査読有, 13, 4234-4238 (2011).

DOI: 10.1039/C0CP02122A

N. Mitsubayashi, T. Yatsuhashi, N. Nakashima, Formation of Xylylene from p-Xylene by a Two-photon Process and Hexamethyl Dewar Benzene from Hexamethylbenzene by a One-photon Process at 193 nm, *J. Photochem. Photobiol. A*, 査読有, 219, 273-277 (2011).

DOI: 10.1016/j.jphotochem.2011.02.031

〔学会発表〕(計12件)

大矢直樹, ハッ橋知幸, 多環芳香族化合物の大気圧多光子イオン化, 日本化学会第94春季年会, 名古屋大学, 名古屋 (2014.03.27-2014.03.30)

大矢直樹, ハッ橋知幸, 大気圧多光子イオン化 —高速液体クロマトグラフィ—質量分析のための新規イオン化法の開発—, 光化学討論会, 愛媛大学, 愛媛 (2013.09.11-2013.09.13)

Tomoyuki Hamaguchi, Tomoyuki Yatsuhashi, Chemical Reactions on Liquid/liquid Interface Induced by Laser Plasma Filament, The 17th Osaka City University International Symposium, Osaka City University, Osaka, Japan (2013.02.04)

Tomoyuki Yatsuhashi, Naoko Uchida, Kayo Nishikawa, Novel Method of Producing Carbon Nanoparticles on Benzene/Water Interface with Femtosecond Laser Plasma Filament, International Union of Materials

Research Societies- International Conference on Electronic Materials 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan (2012.09.23-2012.09.28)

ハッ橋知幸, 内田直子, 西川華世, ベンゼン/水界面を介した炭素ナノ粒子の新規生成法, 光化学討論会, 東京工業大学, 東京 (2012.09.12-2012.09.14)

ハッ橋知幸, 高強度レーザーによる超多価イオン生成と新規化学反応の開拓, 日本光学会年次学術講演会 2011 (招待講演), 大阪大学, 大阪 (2011.11.28-2011.11.30)

ハッ橋知幸, 高強度レーザー化学, KPSI セミナー (招待講演), 日本原子力研究開発機構 関西光科学研究所, 京都 (2011.11.17)

ハッ橋知幸, 高強度レーザーによる超多価イオン生成と新規化学反応の開拓, 光拠点第4回合同シンポジウム, キャッスルプラザ, 名古屋 (2011.11.14)

ハッ橋知幸, 三ツ林尚哉, 豊田和男, 小崎正敏, 岡田恵次, 中島信昭, フェムト秒レーザーパルスによるアセチレン誘導体の4価分子イオン生成, 光化学討論会, 宮崎市河畔コンベンションエリア, 宮崎 (2011.09.06 -2011.09.08)

Tomoyuki Yatsuhashi, Generation and Fragmentation of Multiply Charged Molecular Ion Investigated by Nonresonant Intense Femtosecond Laser Pulses, The 2nd Asian & Oceanic Mass Spectrometry Conference (招待講演), Busan, Korea (2011.08.17-2011.08.19)

Tomoyuki Yatsuhashi, Novel Chemical Reactions Based on Highly Charged Ions Production by Intense Laser Fields, Innovative Use of Light and Nano/Bio Materials, Taipei, Taiwan (2011.05.26-2011.05.27)

ハッ橋知幸, 高強度レーザーによる分子のイオン化, 電気学会 極限レーザーマテリアル科学の応用調査専門委員会 (招待講演), 大阪大学中之島センター, 大阪 (2011.05.23)

〔図書〕(計1件)

中島信昭, ハッ橋知幸, 共立出版, レーザーと化学, 2012, 113 ページ.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.laserchem.jp>

<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/chem/physchem/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

ハッ橋 知幸 (YATSUHASHI, Tomoyuki)  
大阪市立大学・大学院理学研究科・教授  
研究者番号: 70305613

(2) 研究協力者

大矢 直樹 (OYA, Naoki)

大阪市立大学・大学院理学研究科・大学院  
学生