総 説

[Jpn. J. Toxicol. Environ. Health]
[衛 生 化 学]
42 (5) 367-384 (1996)]

—Reviews—

衛生化学領域における分析技術の最近の進歩シリーズ VII
液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) による有機分析の進歩

山口健太郎

千葉大学分析センター

Recent Progress in Organic Analysis Using Liquid Chromatograph
Mass Spectrometer (LC-MS)

KENTARO YAMAGUCHI

Chemical Analysis Center, Chiba University 1-33 Yayoicho, Inage-ku,
Chiba 263, Japan

Combined liquid chromatograph mass spectrometer (LC-MS) for organic micro analysis was described. The review of the historical aspect on the development LC-MS interface is important to understand recent advanced methods for the analysis. Several problems found in the earlier developed interface are stated. The moving belt interface was the first successful desolvation method. The simplified method, such as direct liquid introduction (DLI) as well as thermospray (TSP), are discussed.

Fast atom bombardment (FAB) ionization is available in the frit interface. The compositions of various spray methods are presented for the LC-MS interface including particle beam (PB), electrospray (ES), atmospheric pressure chemical ionization (APCI), sonic spray, droplet electrospray and ionspray. Several applications using these interfaces are shown.

Recent mass spectrometers using Fourier transform (FT) technique which exhibits high mass resolving power and accuracy is one of the best analyzer for LC-MS work. Dual ion source equipped with matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) and external ionization source are commonly available for FTMS. The new topics on the recent developed mass spectrometry are introduced.

Key words — liquid chromatograph; mass spectrometer; LC-MS interface; electrospray ionization; FTMS; micro determination

1. はじめに

近年、液体クロマトグラフ質量分析 (LC-MS) は生体関連物質をはじめとする種々の分野で幅広く用いられるようになった。クロマトグラフィーと質量分析の組み合わせによる分析の発想は、ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS) に端を発していると考えられる。多量のキャリアガスを用いる GC と高真空中で機能する質量分析計の連結は大きな困難を伴うものであった。ジェットセパレータの開発はこれ

を解決し、現在実用性の高い分析装置として定着している。LC-MS の場合においても同様の展開が期待されるが、GC のキャリアガス除去に比べ水等の難揮発性溶液を分離することの困難さはさらに大きく、広範囲に用いられる万能インターフェイスは今のところ存在しない。

ここでは LC-MS の結合に関する諸問題を取り上げ、インターフェイス開発の経緯を振り返り、さらに新世代 LC-MS へと続く技術進歩について考察する。

質量分析装置の技術開発は主にイオン化法の開発とイオン分析系の開発の両面から推進されている。LC-MSに適したイオン化法として最近では各種スプレー法が主流である。はじめにベルト法にも触れ溶媒除去の進歩の軌跡をたどる。また、質量分析装置への溶媒導入を極力抑えた直接導入法(DLI)や、GC-MSのエンリッチャーに類似したインターフェイスを用いる粒子ビーム法(PB)について説明する。さらにFAB, EI, CI等のイオン化法が適用できるフリット法、そして各種スプレー法の順に話を進める。一方、イオン分析系に関しては現在各種イオントラップ法が注目されている。ここではフーリエ変換質量分析計の原理について解説する。

2. LCとMSの非両立性

LCとMSの連結を考えることは、小川のせせらぎに住む魚が水辺を訪れる小鳥に恋をするようなものである。高速液体クロマトグラフ(high performance liquid chromatograph; HPLC: または単に液体クロマトグラフ; liquid chromatograph; LC)^{1,2)}は6000 psi以上の高圧溶媒中で作動するのに対し、質量分析計(Mass Spectrometer; MS)^{3,4)}は 10^{-7} Torr以下の高真空中で分析を行うものである。この2つの装置を連結し、オンラインで分析を行うことの困難さは容易に想像できよう。

HPLCは近年すぐれた分析手段として広く利用されるようになった。しかしながら、HPLCのUVをはじめとする一般的な検出器は感度においては優れているが選択性に欠けるという欠点を持っている。一方、MSはある意味では万能であり、大変高い検出感度、選択性を持っている。そこで必然的にMSを検出器として用いたLC-MSの登場が強く望まれ、これこそが大きな困難に立ち向かうための原動力となったのである。

実際にLCとMSとの非両立性をあげると次のようにまとめられる。まず最大の相違点として①LCが液相を取り扱うのに対してMSは気相である点が重要である。②温度範囲はLCが通常50°C, MSは100–350°C。③LCではほとんどすべての有機化合物を分析することが可能であるが、MSでは気化することが前提条件となる。さらに④LCでは分子量の制限はほぼないと言って良いが、MSでは装置ごとに限界が決められている。⑤LCでは無機塩等のバッファー(緩衝液)を用いるのに対し、MSではこれらを嫌う。このような問題点を克服するためには、第一に大量の溶媒の効率的な除去法を確立しなければならない。また熱的に不安定な物質や不揮発性が

つ分子量の大きな物質を気化する方法、さらにLCに用いたバッファー等を取り除く手だてを検討しなければならない。これらの問題点を考慮してLC-MSのインターフェイスを開発するにあたって、LC側からの要請として次の事項があげられる。⁵⁾すなわち、すべての溶媒系に対応し、各種バッファー、イオン対等を許容し、揮発性を問わないこと。さらに毎分2 ml程度までの流速に対応できるという大変過酷な仕様である。一方、MSをオペレーションする立場からは次のような許容範囲が要求される。⁶⁾すなわち、真空を維持するためにはガス状態で毎分20 ml以下の導入量が望ましく、イオン化方式^{7,8)}はEI,⁹⁾ CI^{10–13)}を主とし、CIガスは種々選択可能であること。フルスキャン、MID(多重イオン検出)に対応し、ノイズを抑えるためイオン源への不純物の混入は極力避ける。さらに、正負両イオン^{14–16)}に対応し、よりシャープなピークを得るよう配慮してあること。検出限界は1 ng以下とし、 10^4 以上のダイナミックレンジを達成していること等である。前述の通り、MSは大変高感度な分析法で、原理的には100個のイオンがあればこれを検出することができるとされている。さらに200 pgの分子があればfull mass spectrumを得ることができる。¹⁷⁾

これらを総合してLC-MSインターフェイスを設計するにあたって次の事項が重要となる。すなわち、高い濃縮率、イオン源への導入効率、そしてインターフェイスに起因するピークのブロードニングを避けることである。さらに、不揮発性成分の気化が可能であり、サンプルを化学的に修飾することなく用いることができ、長期にわたり安定しており、安価であることが要求される。

これらの条件を満たすLC-MSインターフェイスとして1) Moving belt 法式、2) 直接液体導入方式、3) Thermospray 方式等がその開発の初期段階で提案された。

3. Moving Belt 法

LC-MS開発の初期過程においてバッチ処理からオンライン処理への転換点に位置するのがbelt法であるといえよう。当初、長いwireに試料を乗せて質量分析計へ導入することによって液体試料を連続的に質量分析できることが示された。その後wireの両端を結んで周回させることにより効率的に分析することのできるmoving wire法^{18,19)}が確立され、belt法の基礎が固められた(Fig. 1)。Moving belt方式はそれ自体溶媒除去機構を有し、比較的多量の溶媒を導入することができる。また効率の良い差動排

Fig. 1. Moving Wire LC-MS

Fig. 2. Moving Belt LC-MS

気機構を持つため比較的高真空を維持したままで測定を行うことができる。しかし、インターフェイス全体は常に加熱されており、熱に不安定な化合物の分析は一般に困難であり、また大変高価であるという欠点を持っている。Fig. 2 に moving belt 方式の原理図を示す。主に、ステンレスを用いた belt が毎分 2—3 cm の速度でイオン源と試料添加点の間を結んで周回している。Idler wheel を通過した直後、LC から導かれた試料(溶液)は belt に噴霧等により乗せられる。試料は belt に乗ってイオン源に運ばれ

るまでに、徐々に減圧され、溶媒は気化して次第に濃縮される。電子衝撃イオン化法 (EI) の場合、イオン源中心にはフラッシュヒーターが置かれ、これにより急激に加熱されて試料が気化する。Fig. 2 に示す FAB 法の場合、イオン源中心でキセノン等のビーム照射を受け、イオン化する。ただし、この場合はあらかじめ溶媒に適当なマトリクスを添加しておく必要がある。Belt は再び idler wheel に戻るが、試料が噴霧される前に加熱等によりクリーンアップされる。この方式による利点を整理すると次のよう

になる。①非極性溶媒を用いれば毎分 1.5 ml 程度の導入が可能となる。これは通常の LC 分析に対応する。②EI, CI によるイオン化を用いることができる。③CI 反応ガスに制約がない。④FAB²⁰⁾を始めとする各種表面イオン化及び secondary ion mass spectrometry (SIMS)^{21,22)}を用いることができる。⑤比較的シャープなクロマトピークを得ることができる。⑥揮発性バッファを用いることができ、さらに⑦グラジエント分析が可能である。一方、問題点をあげると以下ようになる。①溶媒として水が 50% を越えると分析が困難となる。このため極性溶媒を除くためスプリッターが必要となる。②熱安定性に問題のある化合物に適用できない。③極端な揮発性または不揮発性を有するものは分析できない。④低分子量領域の測定が困難である。⑤揮発性バッファが CI を妨害することがある。⑥試料が分析後除去できずリサイクルする可能性がある。そして⑦装置が高価であること等である。

4. DLI 法と PB 法

これに対して少量の溶媒を直接導入する方式、direct liquid introduction (DLI)²³⁻²⁵⁾は溶媒を 1/100 程度にスプリットして導入することにより逆相系溶媒にも対応し、コストも安価に抑えられる。Fig. 3 に DLI インターフェイスの原理を示す。スプリットされた試料溶液はプローブ先端からジェット流として溶媒除去室に導入される。ジェット流が適正であれば試料は濃縮され、イオン化室へ導かれる。DLI 法の最大の利点は水を 70% 以上含む溶媒系にも対

応できることである。さらに、溶媒を介して気化が起こるため熱に比較的不安定な化合物にも適用できる。また構造が簡単で安価である点が評価できる。欠点としては、CI ガスは LC 溶媒を用いなければならないことや、ジェット流をつくるダイアフラムの小さな穴が詰まり易いこと、さらに不揮発性バッファが使えないことがあげられる。また LC 流速を極端に低く設定しなければならないことや、低質量領域の測定が困難であり、真空度低下により質量分析装置の高電圧が遮断されることがあるなど欠点も多い。

DLI に類似したマイクロ LC を用いる簡素なインターフェイスとして particle beam (PB) 法²⁶⁾が知られている。この方式は最近注目されている spray 法の一つとも考えられるが、spray 法に関しては後にまとめて取り扱うこととし、ここでは PB のみを説明する (Fig. 4)。本法は試料溶液にヘリウムガスを加えて霧を作り、溶媒除去室に導入する。次に、ノズルとスキマーから構成されるモーメントムセパレータ (Fig. 5) を通過し、このとき質量の軽い溶媒分子と重い試料分子とを分離する仕組みである。イオン化法としては DLI 同様 EI 及び CI が適している。噴霧するときにはイオンを生成しない点一般の spray 法と区別される。最近 PB 法の改良型である eluent jet (EJ) インターフェイスについて報告されている。²⁷⁾この方式では従来の拡散噴霧とは異なり、試料溶液を小さくまとまった液滴状のジェットとして指定された部位に正確に導入することができ

Fig. 3. DLI LC-MS

Fig. 4. Particle Beam LC-MS

Fig. 5. Momentum Separator

る。このため拡散噴霧に由来するPB法の欠点である低濃度での安定性, 定量性の低下²⁸⁻³⁰⁾を克服することができる。Fig. 6にインターフェイスの概略を示す。ネブライザーノズル先端に取り付けられた金属リングを溶媒除去管の外側に巻いてある誘導コイルに流れる高周波誘導電流により加熱する。これにより安定した液滴流を得ることができる。このインターフェイスはpgオーダーの検出感度を有し, ngレベルで精密な定量分析を行うことができる。モーメントムセパレータは汎用のGC-MSジェットセパレータを用いており, 本方式の溶媒除去効率の高さを物語っている。

5. Frit 法

マイクロLCの溶出液を直接質量分析計へ導入するfritインターフェイス³¹⁾はDLIの一種として分類することもできる。Fritとは多孔質のステンレス鋼でできたメッシュプレートであり, LC導入管の先端に接着され, イオン源の中央に挿入されている(Fig. 7)。Frit方式は当初FABによるイオン化を主体に考えられた。LC溶媒はfrit先端ターゲットにしみ出し, その表面で濃縮される。この部分は常にキセノンビームにさらされるためにリフレッシュされ, メモリー効果が少なく, 連続的に測定が可能である。ただし, マトリクスはあらかじめLC移動相溶媒に加えておかなければならない。LC分析に悪影

Fig. 6. Eluent Jet Interface

Fig. 7. Frit-FAB LC-MS

響を及ぼす場合は post-column 法により質量分析計へ導入する直前で混合する。この手法を応用し、内部標準物質を導入することによって精密質量数の決定を行うこともできる。このように frit 法は種々の分析法に対応し、また水溶性化合物から脂溶性化合物まで幅広い分析が可能である。さらに frit を加熱し、試料を気化することにより、EI, CI を行うことも可能であり、³²⁾ 実用性の高いインターフェイスとして注目されている。

6. Spray 法

噴霧法は先に述べた直接導入法等各種 LC インターフェイスに見ることができる。これは溶媒除去の定法として定着しているが、近年この噴霧過程に起因してイオン化が進行することが見出され、大いに利用されるようになった。この発見は歴史的に見ても偶然によるものが支配的であると考えられる。当初、溶媒除去の開発段階において温度、真空度等さまざまな条件が検討されていた。また、これ

らの装置では電子衝撃イオン化が主流であった。偶然にも、加熱噴霧の実験中、イオン源フィラメント回路を遮断した後もイオンが観測され続けたことを発見し、これが *thermospray ionization* (TSP) 開発の発端になったと言われている。このように spray イオン化法は濃縮とイオン生成を同時に達成することができる実用性の高い手法であるが、より効率的なイオン生成を目指しさまざまな手法が登場している。基本的には、試料溶液の液滴の気化による急激な濃縮のために電荷のかたよりや濃縮が促進され、試料のイオン化が起こると考えられる。³³⁾ この液滴の濃縮による電荷のかたよりを誘発するためには、溶媒を工夫したり、液滴生成段階で外部より物理的ストレスを加えなければならない。これが本手法が多岐にわたる理由である。

次に spray インターフェイスについて説明する。

サーモスプレー (Thermospray Ionization, TSP)^{34,35)} Fig. 8 に見るとおり構造は比較的シンプルであり、メンテナンスし易い。LC の溶出液は加熱されイオン引き出しコーン近傍に勢い良くスプレーされる。スプレー方向とイオン加速方向は直交し、多量の溶媒が質量分析計に侵入しないよう配慮してある。このインターフェイスでは① 90% 近くの水を含む溶媒を多量に (毎分 2 ml) 導入することができ、各種バッファー存在下で分析が可能である。また、本法は② ソフトなイオン化法であり、比較的不安定な化合物にも適用でき、③ フィラメントを必要とせず、④ 溶出液をスプリットすることなしに導

入することができる等の利点を有する。一方、欠点としては、① 化合物によっては全くイオン化されないものもある。② 0.0001—0.1 M の揮発性共存塩によって試料溶媒の初期電荷を調製する必要がある、したがって順相系の LC 溶媒を用いることができない。③ 少なくとも毎分 0.5 ml の流速がないとイオン化が進行しない。④ 再現性に乏しく、定量分析には不向きである。さらに、⑤ 解裂ピークはあまり観測されず、⑥ グラジエント分析ができない等をあげることができる。サーモスプレー法は前述のとおりエレクトロスプレー法を初めとする一連のスプレーインターフェイスへと発展していくための重要な手法の一つとして評価できる。

エレクトロスプレー (Electrospray Ionization, ESI)³⁶⁻³⁸⁾ TSP と同様にフィラメントのいらないインターフェイスである。Fig. 9 に原理を示す。

LC の溶出液は大気圧中、高電界に噴霧され、電荷を持つ霧状の液滴となる。これに窒素等の対抗ガスをあてて帯電液滴から溶媒を気化させ、急速に電荷を濃縮することによりイオンを生成する。詳しいイオン化機構については諸説があるが、① 多数の同電荷イオンのクーロン反発による *coulombic explosion*、または② *ion evaporation* によると考えられている。この手法はソフトなイオン化法³⁹⁾ であり、極性分子に限られるが低分子有機化合物から生体高分子まで幅広い分析が可能となる。生成したイオンはスキマーやイオン光学系を通過して四重極アナライザー等の分析系へ導かれる。ESI の特徴として、ス

Fig. 8. Thermospray LC-MS

キマーコーンの電圧を変えることにより種々の多価イオンを生成したり,⁴⁰⁾ 衝突活性化に類似したイオン開裂を誘導することができる。これらは高分子量領域の測定や構造解析に有効である。

大気圧イオン化法 (Atmospheric Pressure Ionization, API)⁴¹⁾ これは大気圧でイオン化を行うため真空中に比べ分子衝突回数が増大し、イオン化される試料分子が増えるため高感度が期待される。ESI よりも歴史が古く、コロナ放電による大気圧イオン化装置は 1973 年頃より知られており、早くから製品化されていた。現在では atmospheric pressure chemical ionization (APCI) と呼ばれ、同様に大気圧でイオン化する ESI とともに普及している。イオン化機構は他のスプレー法に類似しているが、コロナ放電によるプラズマ CI を用いる点が異

なる。このため分析対象を必ずしも極性化合物に限定する必要はない。ESI と APCI はいずれも大気圧でイオン化する手法であるため交換が容易で共用イオン源を用いれば極性化合物から無極性化合物まで広い範囲に応用できる。

その他の Spray 法 その他注目される手法はソニックスプレー^{42,43)}をはじめとして数種報告されている。ソニックスプレー法 (Fig. 10) は他のスプレー法類似のネブライザーガスを用いた噴霧機構を有するが、ガス流速を音速程度に調整して大気中にスプレーすることによりイオンを得る。加熱を必要としないため熱に不安定な化合物の分析も可能である。毎分 10—200 μl 程度の流速に適しているためセミマイクロ LC 等との接続に用いられる。

エレクトロスプレー法に類似した新手法である液

Fig. 9. ESI Configuration

Fig. 10. Sonic Spray Interface

滴エレクトロスプレーが報告されている。^{44,45)} 試料溶液をキャピラリーから液柱として流出させるとき、キャピラリーをピエゾ振動子で100 Hzで振動させると半径50 μm 以下の液滴を生じる。この中性液滴をコロナ放電によって帯電させ、多価の正イオンを生成させるものである。この手法は中性の液滴を二次的に帯電させる方式であるため、エレクトロスプレー法が適用しにくい、ごく小さな電気伝導度しか持たない中性アミノ酸やペプチドを分析できる可能性がある点、注目されている。

イオン蒸発⁴⁶⁾に基づくマイルドなイオン化機構を実現したイオンスプレー法が1987年に提案され

ている⁴⁷⁾(Fig. 11)。帯電した液滴からイオンを取り出すこの手法は非極性化合物にも適用でき、また正負イオンを選択できるため実用性の高い手法である。⁴⁸⁾ 3 kVに保たれたステンレスキャピラリーを通して窒素ガスとともに試料溶液を噴霧し、正または負に帯電した液滴を作る。このイオン液滴を対抗ガスで濃縮し、質量分析計へ導入する。イオンの極性はステンレス管に印加された高電圧の極性によって決まる。本法の感度はフルスキャンで10 ng, SIMでは10 pg程度であると報告されている。

7. 分析例

次に、主なインターフェイスによる実際の分析に

Fig. 11. Ion Spray LC-MS

Fig. 12. Mass Spectra of Dimethylfuran Hydroperoxide

ついて触れることにする。Moving belt 法による分析はステロイド,^{49,50)} 環境物質,^{51,52)} 農薬及びその代謝産物⁵³⁻⁵⁷⁾ 等に関し活発に行われてきた。さらに、ペプチド^{58,59)} や糖類、核酸⁶⁰⁾ に至るまで広範囲にわたる分析結果⁶¹⁾ が報告されている。さらにマイクロプローブを用いることにより溶媒導入量を制限し、水系溶媒に対応した分析が活発に行われている。^{62,63)}

DLI 法による分析は開発当時比較的広範囲にわたって行われた。当時平行して開発が進められていた TSP 法との比較を含めて報告されている例が多

い。分析は低分子化合物はもとより、比較的分子量の大きいステロイドやペプチドにも及んでいる。^{64,65)} DLI 法は構造上、脱溶媒の容易な非極性溶媒としてクロロホルム等を用いることが多く、これに由来する塩素を試料分子に付加した負イオン化学イオン化による高感度分析が、良好な結果をもたらしている。この手法は有機リン系農薬の一斉分析に用いられ、また特殊な例としては UV 吸収を持たない不安定化合物の検出に適用されている。⁶⁶⁾ Fig. 12 に furan hydroperoxide の測定例を示す。この分析は superoxide と H_2O_2 が生成する xanthine

Fig. 13. UV Trace, RIC Trace and Mass Spectra of *E,E*- and *Z,Z*-Dienstrol

Fig. 14. Diagram of LC-MS System

oxidase-acetaldehyde の系で不均化反応により発生する singlet oxygen を捕獲する目的で行われた。Singlet oxygen の存在により生成するこの furan 誘導体は不安定で UV 吸収を示さない。DLI により初めて塩素の付加した負イオンを明瞭に検出することに成功した。

TSP 法による分析例は現在でも農薬等を中心として多数報告されている。⁶⁷⁻⁷⁶⁾ 中でも有機リン系農薬の分析が多く、数十 ng の検出限界で良好な結果が報告されている。^{68,72,73)} その他の分析例として Fig. 13 に indenstrol のスペクトルを示す。この化合物のエナンチオマーをキラルカラムで分離し、TSP 法で分析したものである。⁷⁷⁾ TSP に必要なバッファを LC 分離後、加えるミキシング T 及び同時にモニターする UV 検出器の位置等を表すダイアグラムを Fig. 14 に示す。

PB 法による分析も農薬類を中心として報告例が多い。⁷⁸⁻⁸²⁾ 最近普及しはじめたイオントラップ質量分析計（電場型）による分析例も報告されており、これを用いたカルバメート系農薬の分析では検出限界 5 ng 程度までの測定を可能としている。⁸¹⁾ 本法を用いた水試料中の多環芳香族炭化水素の定量分析結果も報告されており、⁸³⁾ 水-アセトニトリルのグラジエントを用いて良好に分析された例も知られている。⁸⁴⁾

近年 FAB によるイオン化を用いてタンパク質やペプチドの一次アミノ酸配列を求める分析が盛んに行われている。^{85,86)} さらに FAB イオン化による frit 法を用いてペプチドの高感度 LC-MS 分析が行われている。⁸⁷⁾ また負イオン FAB イオン化による糖脂質の分析を行い、糖鎖の差を検出してガングリコシドの構造解析を行った例も報告されている。⁸⁸⁾

さらに、水試料中の農薬の定量分析が行われており、カルバメート系農薬において 10 $\mu\text{g/l}$ 程度の検出限界で分析できることが示されている。ESI 法は多価イオンが生成することを利用して分子量数万のタンパク質や核酸の分析に用いられている。^{40,89)} 最近遺伝子組み換えタンパクの精密構造解析に応用されるなど広く利用されるようになった。⁹⁰⁾ また比較的分子量の高い金属錯体⁹¹⁾ や fumonisin,⁹²⁾ さらに、農薬等⁹³⁾ の分析に関する報告がある。

熱分解性農薬及びフェニルウレア、*N*-メチルカルバメート等の難揮発性農薬の APCI 法による分析が検討され、環境試料中のこれら残留農薬分析に用いられている。⁹⁴⁾ また本法による多環芳香族炭化水素の定量分析も行われている。⁹⁵⁾ さらに、牛肉中のタンパク同化ホルモン分析を検討し、10 ng/g 程度の検出限界で定量できることが報告されている。ソニックスプレー法はセミマイクロ LC 及び四重極質量分析計とともに用い、農薬の分析に適用されている。⁹⁶⁾ 例えば、thiopencarb, thiurma 及び simazine の 3 種の農薬の分析において良好な結果を与えている。イオンスプレー法による分析では植物中の tax-sol 誘導体の測定⁹⁷⁾ や麻酔性貝毒の酸化生成物⁹⁸⁾ の分析例が報告されている。さらに工場廃液中の alkyl sulfate の分析⁹⁹⁾ にも応用されている。

8. フーリエ変換質量分析計

今日の質量分析法の進歩は目を見張るものがある。その中でも最近特に注目されているフーリエ変換質量分析装置 (FTMS, Fourier transform mass spectrometer) について述べる。FTMS は分解能、感度共に優れ、タンデム質量分析に適した装置であり、LC に接続する質量分析計としては理想的な性能を有している。この装置は 1974 年に発明され製品

Fig. 15. Sector MS and Cyclotron MS

化されている。¹⁰⁰⁾ この方式はイオントラップ法¹⁰¹⁾に基づいており、従来のセクター型等の装置に比べ原理的にも優れた性能が期待できる。Fig. 15に従来のセクター型（磁場型）質量分析計との比較において FTMS の特徴を示す。磁場型質量分析装置では外部イオン源で生成し、加速されることによって一定の運動エネルギーを与えられたイオンを磁場で偏向する方式がとられている。この加速された被検イオンの質量電荷比に対する磁場中での曲率半径の変化として質量を計測している。FTMS では基本的には磁場中でイオンを生成し、質量電荷比を磁界によるサイクロトロン運動の周波数の関数として求めている。このように FTMS はサイクロトロン運動に基づいているため ion cyclotron resonance (ICR) とも呼ばれている。Fig. 16に原理を示す。イオン生成とサイクロトロン周波数の測定は Fig. 16に示す立方体の電極（セル）の中で行われる。¹⁰²⁾ このセルは超電導磁石による磁場 B の中に置かれ、イオンはこれに垂直な面内でサイクロトロン運動する。本手法では種々のイオン化法が用いられているが、ここでは電子衝撃イオン化を例に説明する。Fig. 16は、試料を加熱し、セル内で気化した分子を電子衝撃によりイオン化することによってこれらのイオンが質量電荷比に応じたサイクロトロン運動を生じる様子を示している。ここで、サイクロトロン運動平面と

平行な2つの電極を生成イオンと同極（正負いずれか）の電位に調整することにより磁場 B に平行な中心軸に沿って自由に移動するサイクロトロンイオンをセル内に閉じ込めることができる（イオントラップ）。このときイオンの回転周波数は Fig. 15 の式で表され、これは質量の関数となる。すなわち、質量が増すと回転は遅くなる。したがって、周波数 f を正確に測定すれば質量 m を求めることができる。しかしこの状態では個々のイオンはランダムな周波数で存在している。そこで磁場に平行な2枚の電極（transmitter plate）に周波数 f' の高周波を加える。するとこの周波数 f' とサイクロトロンの周波数 f が一致したとき共鳴によりエネルギーが吸収され、励起状態となり、回転の位相角を揃えながら回転半径がしだいに増大する。一定範囲の周波数でスキャンすれば混在する個々の f を持ったイオンと順次共鳴させることができる。一方、共鳴によりエネルギー吸収が起こると、この変化はセル上下の電極（receiver plate）に正弦波状の誘導電流を発生させる。¹⁰³⁾ 多種類のイオンからの信号はサイン波を重ねた形で受信されるので、これをフーリエ変換して個々の成分に戻しスペクトルを得る。質量分解能は周波数分解能に帰着するので理論上いくらでも上げられる。また、周波数の精密測定に関してはヘテロダインモード^{104,105)}を用いることにより高精度で測

Fig. 16. FTMS

Fig. 17. FTMS Dual Ion Source and Analyzer

定することができる。一方、イオン源を磁場の中心に配置しなければならないという制限は種々のイオン化方式への幅広い対応を妨げている。そこで、イオン源を磁場の外に置き、生成したイオンを加速してセルへ導入する方式が提案されている。加速されたイオンは磁場を通過して装置の中心部に位置するイオン源に導入される過程で減速される。この外部イオン源を用いればほとんどすべてのイオン化方式

を組み合わせることができる。Fig. 17にESIを含む外部イオン源及びMALDI (matrix assisted laser desorption ionization)¹⁰⁶⁾を装備したFTMSの概念図を示す。これはセルを二分割し、向かって左側にMALDIを装備している。プローブ先端がセルの中へ達し、これに鏡を介してレーザー光を当ててイオン化する。また右半分には、外部イオン源が取付けられ、そこから加速、減速を経てイオンが送り込

まれる。この外部イオン源には各種イオン化法が適用できる。ES, APCI 等の LC-MS インターフェイス (イオン源) はこの部分に取り付けられている。FTMS の最大の特徴として MS-MS (tandem mass spectrometry) をあげることができる。MS-MS は質量分析法による構造解析にとって欠くことのできない手法の 1 つとして定着しつつある。¹⁰⁷⁾ 近年注目されている技術として ESI, APCI 等を 3 連の四重極質量分析計¹⁰⁸⁾ に接続して SRM (selected reaction monitoring) を行う手法が知られている。MS-MS 法の 1 種であるこの SRM 法は、従来の SIM (selected ion monitoring) に比べ選択性、感度とも優れている。SIM 法ではクロマトグラフより導入された試料をイオン化し、特定のイオンのみに着目してこれらを追跡し、クロマトグラムを構築するのに対して SRM では、第一分析管でイオンを選択し、次の分析管、すなわちコリジョンセルでガスと衝突させ、その結果生成した特定のイオンを連続的に検出する。このため選択性が著しく向上する。タンデムマス (MS-MS) は当初セクター型質量分析計に適用されたが、FTMS では理論的には無限回の MS-MS を行うことができる点を特長としている。Fig. 18 に FTMS による MS-MS の概念図を示す。本手法ではコリジョンチャンバー (CD) にイオンを導入するのではなくサイクロトロン運動をしているイオンにコリジョンガスを噴霧する。すなわち、はじめのイオン化で生じた複数のイオンを必要なものを除いて除去するわけである。これは SWIFT (stored wave-

form inverse Fourier transformation) と呼ばれる手法であり、除去したいイオンの共鳴周波数混合成分を逆フーリエ変換によってあらかじめ求めておきこれを引加し、1 つに絞られたイオンに衝突ガスを吹き付け開裂させる。そこで生成するイオンを測定するか、更に同様にサイクルさせる。これにより順次 MS-MS を行い構造に関する重要な知見を得ることができるのである。これは従来のセクター方式では困難であり、FTMS の大きな特長の 1 つとなっている。

9. 期待される新技術

質量分析法の急速な発展は目を見張るものがある。特にイオン化方式の開発は日進月歩で実用性の高い新装置が続々と登場してきている。ここでは紹介しきれなかったが、他にも注目すべき新技術が多数報告されている。例えば、LC-MS の分野では、aerosol MALDI があげられる¹⁰⁹⁾ (Fig. 19)。この手法は試料溶液にマトリクスを加えて噴霧し、これにレーザー光を当ててイオン化し、飛行時間型質量分析計を用いて測定するものである。この装置を LC-MS として用いた例がすでに報告されている。¹¹⁰⁻¹¹²⁾ さらに、直接 LC と連結して用いられた例は未だ見当たらないが、液体のイオン化法として見逃すことのできないのがソフトイオン化法の一つである liquid ionization (LI) 法である。³⁹⁾ この手法は、大気圧でコロナ放電管から流れ出る励起アルゴンでマトリクスを利用して試料をイオン化するもので、スプレーを使用しないので溶媒選択範囲が広く、ま

Fig. 18. Tandem Mass Spectrometry in FTMS

た無極性化合物の測定も可能である。¹¹³⁻¹¹⁵⁾ 一方、新しいイオン化法として massive-cluster impact ionization (MCI) が注目されている。¹¹⁶⁾ Fig. 20 に原理を示す。MCI 法は電気流体噴霧 (electrohydrodynamic atomization) により電解質添加したグリセリン溶液を噴霧してグリセリンクラスタービームを作り、これをマトリクスに溶解した試料を塗布したターゲットに照射して二次イオンを測定するものである。FAB に比べ高感度でバックグラウンドも小さく、さらに多価のイオンを検出できることを特徴としている。

10. おわりに

このように種々の新技術が報告されており、質量

分析法の発展はとどまるところを知らない。ここでは LC-MS を主題として歴史的に重要な手法も含め実用性の高いと思われるインターフェイスを紹介した。これらはいずれも質量分析装置の発達に伴って進歩している。特に高感度でコンパクトな四重極質量分析計の登場は分析の簡易化に大きく貢献している。また磁場・電場を用いる大型高分解能装置による LC-MS も活発に行われるようになった。一方、装置の制御、データ解析に用いるパソコンやワークステーションの高性能化は、装置開発を加速している。LC-MS が微量分析手法としての用途のみにとどまらず、広範囲な物質のダイナミックな構造解析手段として発展して行くことを期待する。

Fig. 19. Aerosol MALDI LC-MS

Fig. 20. Massive-Cluster Impact Source

引用文献

- 1) L.R. Snyder, J.J. Kirkland, "Introduction to Modern Liquid Chromatography," 2nd ed., John Wiley and Sons Inc., New York, 1979.
- 2) J.F. Lawrence, "Organic Trace Analyses by Liquid Chromatography," Academic Press, New York, 1981.
- 3) M.E. Rose, R.A.W. Johnstone, "Mass Spectrometry for Chemists and Biochemists," Cambridge University Press, Cambridge, 1982.
- 4) D.H. Williams, I. Howe, R.D. Bowen, "Mass Spectrometry Principles and Applications," 2nd ed., McGraw-Hill, New York, 1981.
- 5) W.A. McKinley, D.J. Poprich, T. Layne, "A Review of HPLC Detectors," *Am. Lab.* Aug., 1980, p.37.
- 6) B.J. Gudzinowicz, M.J. Gudzinowicz, H.F. Martin, "Fundamentals of Integrated GC-MS," Chromatographic Science Series, 7, Part II, Marcel Dekker Inc., New York, 1976.
- 7) N.M.M. Nibbering, *J. Chromatogr.*, **251**, 93 (1982).
- 8) C. Fenselau, R.J. Cotter, D. Heller, J. Yerger, *J. Chromatogr.* **271**, 3 (1983).
- 9) D.F. Hunt, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **45**, 11 (1982).
- 10) A.G. Harrison, "Chemical Ionization Mass Spectrometry," CRC Press, New Jersey, 1983.
- 11) W.J. Richter, H. Shwarz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **17**, 424 (1978).
- 12) J.M. Wilson, "Mass Spectrometry Specialist Periodical Reports," Vol. 3, ed. by R.A.W. Johnstone, Chemical Society, London, 1975, p.86.
- 13) B. Munson, *Anal. Chem.*, **49**, 772A (1975).
- 14) H. Budzikiewicz, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **20**, 624 (1981).
- 15) K.R. Jennings, "Mass Spectrometry Specialist Periodical Reports," Vol. 4, ed. by R.W.A. Johnstone, Chemical Society, London, 1977, p.204.
- 16) R.C. Dougherty, *Biomed. Mass Spectrum.*, **8**, 283 (1981).
- 17) G. Guiochon, P.J. Arpino, *J. Chromatogr.*, **271**, 13 (1983).
- 18) R.P.W. Scott, C.G. Scott, M. Munroe, J. Hess, Jr., *J. Chromatogr.*, **99**, 395 (1974).
- 19) R.P.W. Scott, "Trace Organic Analysis: A New Frontier in Analytical Chemistry," ed. by H.S. Hertz and S.N. Chester, N.B.S., Washington, 1979, p.637.
- 20) M. Barber, R.S. Bordoli, R.D. Sedwick, "Soft Ionization Biological Mass Spectrometry," ed. by H.R. Morris, Heyden, London, 1981, p.137.
- 21) H. Kambara, S. Hishida, H. Naganawa, *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 67 (1982).
- 22) W. Ens, K.G. Standing, J.B. Westmore, K.K. Ogilvie, M.J. Nemer, *Anal. Chem.*, **54**, 960 (1982).
- 23) P.J. Arpino, P. Krien, S. Vajta, G. Devant, *J. Chromatogr.*, **203**, 117 (1981).
- 24) K.H. Schafer, K. Levsen, *J. Chromatogr.*, **206**, 245 (1981).
- 25) D.E. Games, *Biomed. Mass Spectrom.*, **9**, 215 (1982).
- 26) R.C. Willoughby, R.F. Browner, *Anal. Chem.*, **56**, 2626 (1984).
- 27) C.E. Kients, A.G. Hulst, Ad L. De Jong, E.R.J. Wils, *Anal. Chem.*, **68**, 675 (1996).
- 28) T.A. Bellar, D.T. Behymer, W.L. Buddle, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **1**, 92 (1990).
- 29) I.S. Kim, F.I. Sasinos, R.D. Stephens, M.A. Brown, *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1223 (1990).
- 30) J.S. Ho, T.D. Behymer, W.L. Budde, T.A. Bellar, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **3**, 662 (1990).
- 31) Y. Itoh, T. Takeuchi, D. Ishii, M. Goto, T. Mizuno, *J. Chromatogr.*, **358**, 201 (1986).
- 32) K. Matsuura, K. Otsuka, T. Kobayashi, K. Nojima, E. Kubota, Y. Itagaki, *Advanced Mass Spectrom.*, **11B**, 1232 (1988).
- 33) B.A. Thomson, J.V. Iribarne, P.J. Dziedzic, *Anal. Chem.*, **54**, 2219 (1982).
- 34) J.J. Carmody, C.R. Blakely, M.L. Vestal, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 5931 (1980).
- 35) C.R. Blakely, M.L. Vestal, *Anal. Chem.*, **55**, 750 (1983).
- 36) R.D. Smith, J.A. Loo, R.R. Ogrzalek, M. Busman, H.R. Udseth, *Mass Spectrum. Rev.*, **10**, 359 (1991).
- 37) M. Dole, L.L. Mack, R.C. Mobley, L.D. Fergauson, M.B. Alice, *J. Chem. Phys.*, **49**, 2240 (1968).

- 38) M. Yamashita, J.B. Fenn, *J. Phys. Chem.*, **88**, 4451 (1984).
- 39) M. Tsuchiya, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **43**, 373 (1995).
- 40) J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse, *Science*, **246**, **64** (1989).
- 41) D.I. Carrol, I. Dzidic, R.N. Stillwell, K.D. Haegle, E.D. Horning, *Anal. Chem.*, **47**, 2369 (1975).
- 42) A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi, *Anal. Chem.*, **66**, 4557 (1994).
- 43) A. Hirabayashi, M. Sakairi, H. Koizumi, *Anal. Chem.*, **67**, 2878 (1995).
- 44) D.B. Hager, N.J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **66**, 1593 (1994).
- 45) D.B. Hager, N.J. Dovichi, J. Klassen, P. Kebarle, *Anal. Chem.*, **66**, 3944 (1994).
- 46) M.L. Vestal, *Springer Ser. Chem. Phys.*, **25**, 246 (1983).
- 47) A.P. Bruins, T.R. Covey, J.D. Henion, *Anal. Chem.*, **59**, 2642 (1987).
- 48) B.A. Thomson, J.V. Iribarne, *J. Chem. Phys.*, **71**, 4451 (1979).
- 49) E. Houghton, M.C. Dumasia, J.K. Welby, *Biomed. Mass Spectrom.*, **8**, 558 (1981).
- 50) T. Cairns, E.G. Siegmund, J.J. Stamp, J.P. Skelly, *Biomed. Mass Spectrom.*, **10**, 203 (1983).
- 51) A.D. Thruston, Jr., J.M. McQuire, *Biomed. Mass Spectrom.*, **8**, 47 (1981).
- 52) M.G. Foster, O. Meresz, D.E. Games, M.S. Lant, S.A. Westwood, *Biomed. Mass Spectrom.*, **10**, 338 (1983).
- 53) L.H. Wright, *J. Chromatogr. Sci.*, **20**, 1 (1982).
- 54) T. Cairns, E.G. Siegmund, G.M. Doose, *Biomed. Mass Spectrom.*, **10**, 24 (1983).
- 55) T. Cairns, E.G. Siegmund, G.M. Doose, *Anal. Chem.*, **54**, 953 (1982).
- 56) L.H. Wright, M.D. Jackson, R.G. Lewis, *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **82**, 740 (1982).
- 57) D.E. Game, N.C.A. Weerasinghe, *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 106 (1980).
- 58) T.J. Yu, H. Schwartz, R.W. Giese, B.L. Karger, P. Vouros, *J. Chromatogr.*, **218**, 519 (1981).
- 59) P. Roepstorff, M.A. McDowall, M.P.L. Games, D.E. Games, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **48**, 197 (1983).
- 60) D.E. Games, E. Lewis, *Biomed. Mass Spectrom.*, **7**, 433 (1980).
- 61) K.J. Krost, *Appl. Spectrosc.*, **47**, 821 (1993).
- 66) C.E. Parker, K. Yamaguchi, D.J. Havan, R.W. Smith, J.R. Hass, *J. Chromatogr.*, **319**, 273 (1985).
- 67) D. Volmer, K. Levsen, G. Wunsch, *J. Chromatogr.*, **660**, 231 (1993).
- 68) D. Volmer, K. Levsen, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **5**, 655 (1994).
- 69) U.H.T. Brinkman, J. Slobodnik, J.J. Vreuls, *Anal. Chem.*, **13**, 373 (1994).
- 70) S. Chiron, S. Dupas, P. Scribe, D. Barcelo, *J. Chromatogr.*, **665**, 295 (1994).
- 71) C.H. Liu, G.C. Mattern, X. Yu, R.T. Rosen, J. White, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 718 (1991).
- 72) R.J. Vreeken, W.D. Vandonegen, R.T. Ghijsen, U.A.T. Brinkman, *J. Environ. Anal. Chem.*, **54**, 119 (1994).
- 73) H. Bagheri, E.R. Brouwer, R.T. Ghijsen, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.*, **647**, 121 (1993).
- 74) D. Volmer, A. Preiss, K. Levsen, G. Wunsch, *J. Chromatogr.*, **647**, 235 (1993).
- 75) D. Barcelo, G. Kurand, R.J. Verken, *J. Chromatogr.*, **647**, 271 (1993).
- 76) R.J. Vreeken, R.T. Ghijsen, R.W. Frei, F.J. Jong, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr.*, **654**, 65 (1993).
- 77) C.E. Parker, L.A. Levy, R.W. Smith, K. Yamaguchi, S.J. Gaskell, K.S. Korach, *J. Chromatogr.*, **344**, 378 (1985).
- 78) C.J. Miles, D.R. Goerge, S. Bajic, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **22**, 247 (1992).
- 79) A. Cappello, G. Famiglioni, F. Bruner, *Anal. Chem.*, **66**, 1416 (1994).
- 80) M.R. Clench, S. Scullion, R. Brown, J. White, *Spectrosc. Eur.*, **6**, 16 (1994).
- 81) B.L. Kleintop, D.M. Eades, R.A. Yost, *Chromatographia*, **39**, 279 (1994).
- 82) T.L. Jones, L.D. Etowski, V. Lopez-avila, *Trends Anal. Chem.*, **13**, 333 (1994).
- 83) D.R. Doerge, J. Clayton, P.P. Fu, D.A. Wolfe, *Biol. Mass Spectrom.*, **22**, 654 (1993).
- 84) T.J. Gremm, F.H. Frimmel, *Chromatographia*, **38**, 781 (1994).
- 85) K. Bieman, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **16**, 99 (1988).
- 86) S. Akashi, K. Hirayama, T. Seino, N. Fukuhara, Oouchi, A. Murai, M. Arai, S. Murao, K. Tanaka, I. Nojima, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **15**, 541 (1988).

- 87) T. Mizuno, T. Kobayashi, Y. Ito, D. Ishii, *Mass Spectrosc.*, **35**, 9 (1987).
- 88) M. Suzuki, T. Yamakawa, A. Suzuki, *Proc. Jpn. Soc. Biomed. Mass spectrom.*, **13**, 61 (1988).
- 89) T.R. Covery, R.F. Bonner, B.I. Shushan, J.D. Hemion, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 249 (1988).
- 90) K. Ishikawa, J. Tuominen, M. Muraki, H. Nagahora, Y. Jigami, Y. Koga, Y. Niwa, *J. Mass Spectrometro. Soc. Jpn.*, **43**, 325 (1995).
- 91) M. Fujita, F. Ibukuro, H. Hagihara, K. Ogura, *Nature (London)*, **367**, 720 (1994).
- 92) D.R. Doerge, P.C. Howard, S. Bajic, *Mass Spectrom.*, **8**, 603 (1994).
- 93) J. Abian, G. Durand, D. Barcelo, *J. Agric. Food Chem.*, **94**, 1264 (1993).
- 94) G.S. Rule, A.V. Mordehui, J. Henion, *Anal. Chem.*, **66**, 230 (1994).
- 95) M.A. Quillian, W.R. Hardstaff, J.F. Anacleto, M.D. LeBlanc, V. Stergiopoulos, K.L. Dich, M.T. Bowser, J.M. Curtis, D.J. Embree, P.G. Sim, R.K. Boyd, *J. Anal. Chem.*, **350**, 109 (1994).
- 96) A. Hirabayashi, Y. Takada, A. Hirabayashi, M. Sakairi and H. Koizumi, *Anal. Chem.*, **67**, 2878 (1995).
- 97) P.K.S. Blay, P. Thibault, N. Thiberge, B. Kiecken, A. Lebrun, C. Mercure, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 626 (1993).
- 98) M. Quillian, M. Janecek, J.F. Lawrence, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 482 (1993).
- 99) D.D. Popenoe, S.J. Morris, III, P.S. Horn, K. Norwood, *Anal. Chem.*, **66**, 1620 (1994).
- 100) M.B. Comisarow, A.G. Marshall, *Chem. Phys. Lett.*, **25**, 282 (1974).
- 101) A.G. Graig, A. Engstrom, H. Bennich, I. Kamensky, *Proceeding of the 35th ASMS Conference on Mass spectrometry and Allied Topics, Denver, Colorado, 1987*, p.528.
- 102) M.B. Comisarow, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **37**, 251 (1981).
- 103) M.B. Comisarow, *J. Chem. Phys.*, **69**, 4097 (1978).
- 104) A.G. Marshall, M.B. Comisarow, *Anal. Chem.*, **47**, 491A (1975).
- 105) E.B. Lendford, Jr., S. Ghaderi, R.L. White, R.B. Spencer, P.S. Kulkarni, C.L. Wilkins, M.L. Gross, *Anal. Chem.*, **52**, 463 (1980).
- 106) M. Karas, A. Ingendoh, U. Bahe, F. Hillenkamp, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **18**, 841 (1989).
- 107) K. Sato, T. Asada, M. Ishihara, F. Kunihiro, Y. Kammei, E. Kubota, C.H. Costello, S.A. Martin, H.A. Scoble, K. Biemann, *Anal. Chem.*, **59**, 1652 (1983).
- 108) M. Barber, B.N. Green, *Rapid Comm. Mass Spectrom.*, **1**, 80 (1987).
- 109) X. Fei, G. Wei, K.K. Murray, *Anal. Chem.*, **68**, 1143 (1996).
- 110) K.K. Murray, T.M. Lewis, M.D. Beesona, D.H. Russel, *Anal. Chem.*, **66**, 1601 (1994).
- 111) K.K. Murray, D.H. Russel, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **5**, 1 (1994).
- 112) K.K. Murray, D.H. Russel, "In Laser Ablation: Mechanisms and Applications II," ed. by J.C. Miller and D.B. Geohegan, American Institute of Physics, New York, 1994, p.459.
- 113) M. Tsuchiya, F.H. Field, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2621 (1996).
- 114) M. Tsuchiya, H. Kuwabara, *Anal. Chem.*, **56**, 14 (1984).
- 115) M. Tsuchiya, H. Kuwabara, K. Musha, *Anal. Chem.*, **58**, 695 (1986).
- 116) J.F. Mahoney, J. Perel, S.A. Rutta, P.A. Martino, S. Husain, T.D. Lee, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **5**, 441 (1991).