

研 究 報 告 書

「ナノ構造を利用した高感度質量分析総合システムの開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 25 年 3 月

研 究 者: 高見澤 淳

1. 研究のねらい

多種多様な化学物質が製造・利用、そして排出されている今日、化学物質を分析する技術の発展も目覚ましい。現在までに開発された化学物質は 1000 万種以上、使用された化学物質は 10 万種、日常的に使われている化学物質は 1 万種以上にものぼるといわれている。これら进行分析する手法もレーザー分光・核磁気共鳴(NMR)・X 線構造解析・質量分析法等多岐にわたっているが、既存の分析装置では観測できない物質も多い。このような『測定できるものしか測定していない。試料の 90%は不明のまま』という現状を乗り越えるためには、現在の分析手法ではままならないのは確かである。

質量分析法において試料を検出するためには試料をイオン化する必要があり、この部分の開発が感度向上に重要な影響を与える。現在主に利用されている方法では電子衝撃法(EI)(1)、化学イオン化法(CI)、原子衝撃法(FAB)、エレクトロスプレーイオン化法(ESI)、マトリックス支援レーザー/脱離イオン化法(MALDI)など様々なイオン化法がある。その中でも分子をなるべく壊さずにイオンにする方法を「ソフトイオン化法」と呼び、上記に上げた中では ESI や MALDI が該当し、さらに大気圧化学イオン化(APCI)等のイオン化法もある。固体試料をソフトに高感度で測定できる MALDI 法ではタンパク質などの巨大分子の測定も可能である。もう一方の方法である ESI は溶液中で行う最もソフトなイオン化法であり熱不安定化合物などの測定も可能である。これらに述べた方法はいずれも一長一短ある方法であり、測定する試料分子によってイオン化法を使い分けているのが現状である。しかしながら現状のイオン化法で対処できない物質も多々存在するのも確かであり、特に低極性分子をソフトにイオン化できる方法はほとんど存在しない。提案者は新たに図1に示すようなテトラキス[3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ホウ素リチウム(LiTFPB)をカチオン化剤として利用し低極性分子を非極性溶媒中でイオン化することに成功した。本提案ではこの新たに合成したカチオン化剤を用いることで理想的にはすべての低極性・非極性分子を非極性溶媒中でイオン化する可能性を模索して研究を行っている。高感度化にはミセルやバブルなどのナノ構造を利用してイオンー分子反応の効率を高め、現代のライフサイエンスの要求に耐え得る汎用性の高いイオン化法を目指す。

2. 研究成果

(1)概要

(a)測定困難な種々の分子のイオン化

炭化水素類は質量分析において最もイオン化が困難な試料の一つである。本提案で新たに合成したイオン化剤を用いて溶液中での炭化水素類のイオン化にはじめて成功した。また、その他にも液晶分子をはじめとして種々のイオン化が困難な分子のイオン化にも成功してい

る。

(b)非極性溶媒中での解離定数の算出法の開発

非極性溶媒中で解離定数を算出するのは非常に困難である。本研究で非極性溶媒中での解離定数の算出法を開発した

(c)非極性溶媒中での電場の活用法の確立

質量分析分野において困難とされる低極性溶媒中での電場の利用法を確立した。

(d) ナノ構造を利用したイオン化方法の萌芽的成果

(2) 詳細

(a) 測定困難な種々の分子のイオン化

炭化水素類は質量分析において最もイオン化が困難な試料の一つである。本提案で新たに合成した AgTFPB を用いて炭化水素類のイオン化を行った。測定した試料のスペクトルを図 1(エイコセン)、図 2(テトラコサン)に示す。エイコセンは一つ不飽和結合をもつ炭化水素であり、テトラコサンは不飽和結合をもたず極性が全くない分子である。これらの試料のうち LiTFPB では不飽和結合をもつエイコセンのみイオン化が可能であったが、AgTFPB を用いるとテトラコサンにおいても非常にはっきりとカチオン化された測定試料が観測された。Ag カチオンは Li に比べるとアルキル鎖への親和性が高いためだと考えられる。この測定例は溶液中でのアルカンのイオン化例としては世界初である。測定限界はこの条件下だと C16 までである。

分析化学において混合物の分析ほど困難なものではなく特にアルコール系が持つヒドロキシル基などは振動分光においても測定ピークが幅広くなりがちなため分離・同定するのは非常に困難である。本提案では生体分子の酸素吸着機能を利用しようと考えへムと同様の化合物である 8,13-Bis(ethyl)-3,7,12,17-tetramethyl-21H,23H-prphine-2,18-dipropionic acid iron(III) chloride Mesohemin (Fe(III) Mesoporphyrin IX chloride)をカチオン化し、この化合物をTFPBを対アニオンにもつカチオン化剤として用いたところ、メントール(図 3)のような従来非常に検出されにくい物質の検出に成功した。メントールは今まで我々が研究してきたLi⁺でも検出可能ではあるが非常に検出感度が低くまた多量体がメインピークとなる欠点がある。また図 4 に示すように、同じ酸素原子でもカルボキシル基やケトン基にはつかずヒドロキシル基に優先的に結合することが明らかになってきている。

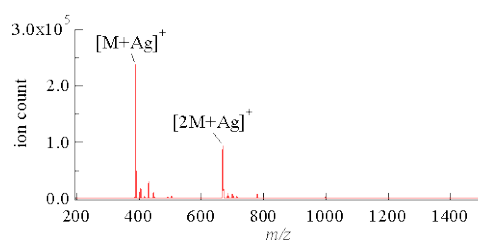


図 1

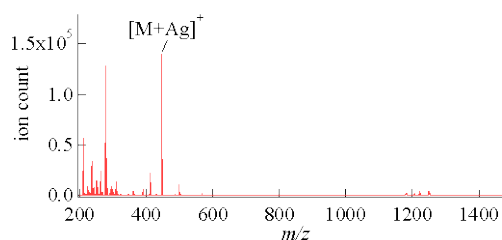


図 2

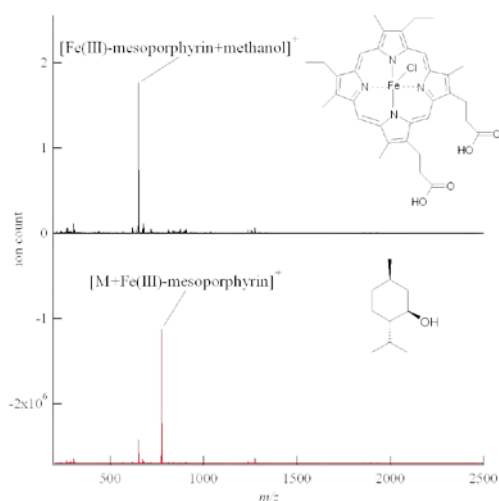


図 4

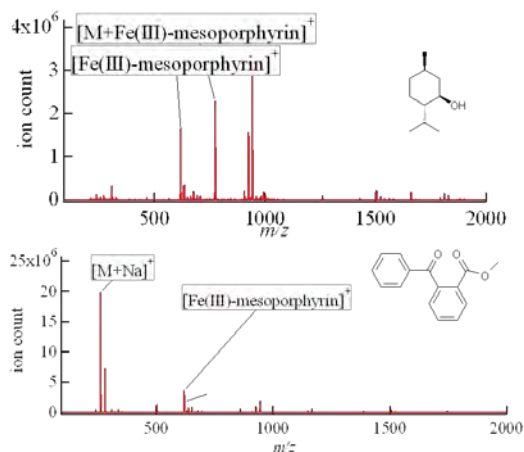


図 5

(b) 非極性溶媒中での解離定数の算出法の開発

我々が開発してきた溶液イオン化においてメカニズムを知っておくことは重要であり今後の開発にもつながる。メカニズム解明のために反応効率を疑似的に 100%にした、すなわち最初からカチオンをかさ高い有機カチオンとした試薬(R-TFPB; R = テトラブチルアンモニウム(TBA)、テトラヘキシルアンモニウム(THA)、テトラオクチルアンモニウム(TOA))を合成し非極性溶媒中に溶解してこれをイオンペアとし濃度依存性を測定する実験を前年度に引き続き行っている。溶液中での解離平衡の理論といくつかの仮定を利用することで

溶液中でのイオンペアの解離の程度を定量的に求めることに成功した。現在論文執筆の準備に取り掛かっているが非極性溶媒中での電解質の一般的な解離度を求める方法にもなりうるので特許を出願した。

(c) 非極性溶媒中での電場の活用法の確立

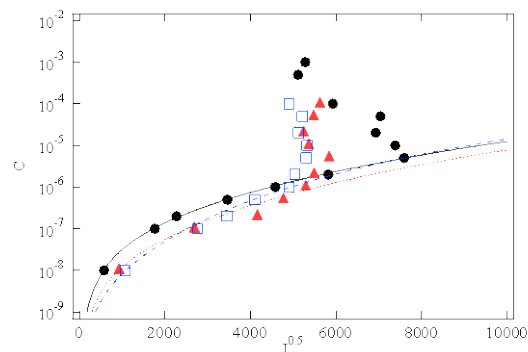


図 6 有機カチオンに変更したイオン化試薬信号強度の濃度依存性とフィッティングカーブ(黒: TBA-TFPB、赤: THA-TFPB、青: TOA-TFPB)

従来のエレクトロスプレー法では試料分子をイオン化するのに電場を利用するため溶媒に

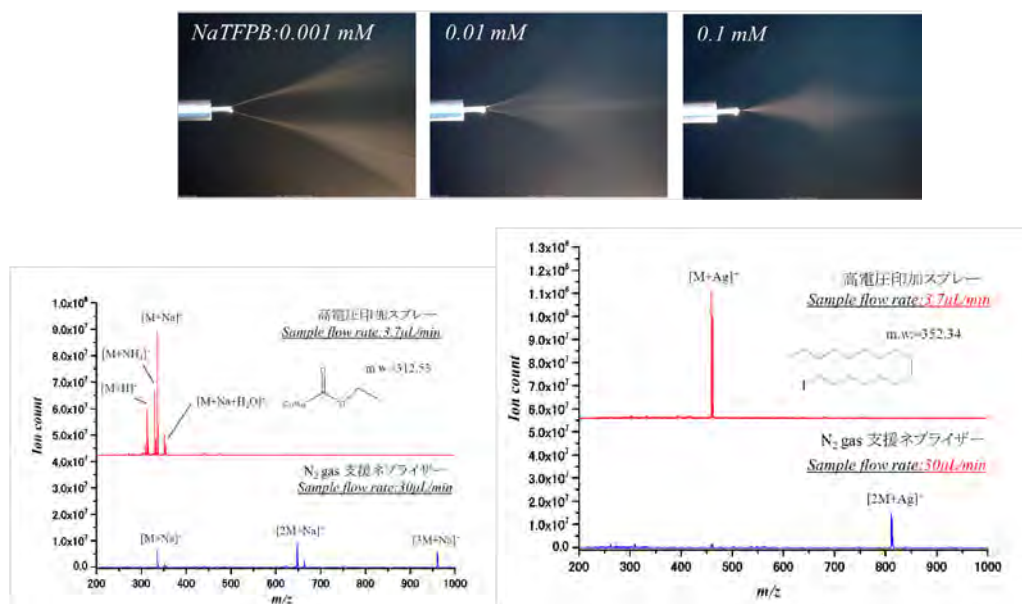


図 6 従来型と電圧印加型の比較

水やアセトニトリル、メタノールなど極性溶媒が利用されている。本提案では非極性溶媒を使用しているが、電離を促す電場の利用は測定感度向上が期待できるだけでなくカチオンの濃縮による反応効率の上昇も期待できる。TFPB 塩の濃度工夫により通常困難である非極性溶媒中における電場の利用が可能となり測定感度の向上が見られた。通常非極性溶媒において電場を利用するのは非常に困難である。本研究において TFPB カチオン化剤は非極性溶媒中においても、ある程度電離することが明らかになりつつある。今回新たにカチオン化剤の濃度制御によりスプレーが可能であることを見出した(図 6)。この現象を利用してコレステロールを測定したところ従来型に比べて 10 倍程度の測定感度向上を達成し、さらに多量体生成を抑制することに成功した。測定試料の流量も従来の 10 分の 1 程度で済むために微小な試料量でも測定は可能であると考えられる。

3. 今後の展開

本提案は基本的に質量分析の測定感度を向上させるための工夫としてナノ構造を利用する研究であるが特に将来的に本提案が役に立つ分野と今後の発展の展望として以下の 2 分野を想定している。

(1)環境分析

環境ホルモンや環境汚染物質(ダイオキシン・多環芳香族等)は質量分析法で測定するには困難な物質も多い。また最近では難燃剤であるポリブロモジフェニルエーテル(PBDE)等の規制も厳しくなっており定量的に測定できる方法が模索され始めている。本研究で得られた成果を生かして環境ホルモン等の非破壊測定を目指す。

(2)原油分析

現在化石燃料の枯渇に関して深刻な議論がなされているが、本研究で得たアルカンの検出能力を生かして原油を分析しわからないまま分解・利用されている重成分の有効利用ができないかと考えている。

上述のように主に分析分野における主力技術としての一般化と実用化を目指して取り組んでいく。この方法は非常にソフトな方法であり、電場を用いない方法ではESIやMALDIよりも非破壊で検出できる。学術的な意義はこの点であり、質量分析分野の歴史を紐解いてみると前述の ESI や MALDI(ソフトなイオン化である)のノーベル賞受賞をはじめ非破壊なイオン化の重要性は強調してもしすぎることはない。また本研究の成果で得られたナノ構造の利用法を深く追求して、非極性溶媒中・ナノ界面におけるイオン-分子反応の研究やイオンの効率輸送、新たな機能の創発などを見出していきたい。

4. 自己評価

全体的に検出に関しては飛躍的に測定可能種が増えたこと、電場の利用法を確立したことで測定感度が10倍程度上昇した、以上の2点を踏まえて研究の狙いに関しては成功したと言える。しかしながら手法に関してナノ構造を利用する研究がまだ萌芽的段階でありナノ構造を利用した新規性・階層性を見いだせてない点に不満が残りこれを今後の研究の課題とした。

5. 研究総括の見解

研究者が開発したテトラキス[3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ホウ素リチウム(LiTFPB)をカチオン化剤として用い、従来困難とされていた低極性・非極性分子を非極性溶媒中でイオン化して質量分析を可能とするための研究を行った。

炭化水素類は質量分析において最もイオン化が困難な試料の一つであるが、上記イオン化剤を用いて炭化水素類のイオン化に成功した。これは溶液中でのアルカンのイオン化例として世界初であり、この条件下でC16まで測定可能であることを明らかにした。その他いくつかのイオン化困難な分子のイオン化にも成功している。さらにイオン化のメカニズムを考察するため、非極性溶媒中での解離定数の算出法を開発した。

本提案は基本的に質量分析の測定感度を向上させるため新規カチオン化剤を利用してその汎用性を調べ新たな質量分析法を開拓しようとする研究であるが、将来、環境分析はじめ、本提案がさらに役に立つよう発展することを期待したい。

6. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Atsushi Takamizawa*, Kayoko Mishina, and Kenzo Hiraoka, *Journal of Mass Spectrom.* **47**, 22 (2012)
2. Atsushi Takamizawa, Takashi Korenaga, *BUNSEKI KAGAKU* **61**, 555 (2012)

(2)特許出願

研究期間累積件数:1 件

1.

発 明 者:高見澤 淳

発明の名称: 電離定数の測定方法

出 願 人: 首都大学東京

出 願 日: 2010/6/14

出 願 番 号: 特願 2010-135190

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等
(出版物)

1. 高見澤 淳 ケミカルエンジニアリング, 57, 77-81(2012)

2. 高見澤 淳 伊永隆史編著(研究代表者は13章担当)

生命科学のための分析化学, 化学同人

(国際学会)

3. Atsushi Takamizawa, Naoto Niizuma, Takashi Korenaga,
ASMS in Vancouver, Canada (2012)