

工業用ポリマーキャラクタリゼーションのための
高分解能質量分析法の高性能化

Improvement of High-Resolution Mass Spectrometry
for Characterizing Industrial Polymers

2021

A Doctoral Thesis

by

Sayaka Nakamura

中村 清香

Improvement of High-Resolution Mass Spectrometry
for Characterizing Industrial Polymers

A Doctoral Thesis

by

Sayaka Nakamura

Submitted to
Department of Life Science and Applied Chemistry
Graduate School of Engineering
Nagoya Institute of Technology

2021

Abstract

Improvement of High-Resolution Mass Spectrometry for Characterizing Industrial Polymers

Matrix assisted laser desorption ionization high-resolution time-of-flight mass spectrometry (MALDI-HRTOFMS) is a useful method for the characterization of polymeric materials. The ability of MALDI to deliver polymer chains into the gas phase without inducing fragmentation coupled to the recent development of mass analyzers with improved resolving powers allows the molecular weight distribution and the nature of end-group to be evaluated from accurately mass-measured intact ions. However, the asset of high-resolution mass spectrometers to record distinct signal from individual components and polymeric chain length becomes a drawback when it comes to extract the essential information since each mass spectrum contains numerous peaks. In addition, industrial polymeric materials are composed of multiple components, therefore, often requiring adequate pre-treatments.

In this thesis, I propose to tackle these issues of a practical characterization of industrial polymers using high-resolution mass spectrometry by combining appropriate pretreatment procedures with innovative data processing methods.

In Chapter 1, the need for a thorough characterization of polymers was commented together with the current trends for their analyses. The issues to be solved were clearly stated with the objectives and the outline of each subsequent chapter.

In Chapter 2, the experimental procedures for the analysis of polymeric materials using high-resolution MALDI-TOFMS used throughout this research work were briefly described. Guidelines for selecting matrix reagents and cationizing agents, calibration methods, and the procedures for the compositional analysis using the recorded accurate mass were proposed for a polymer-oriented MALDI-TOFMS analysis.

Chapter 3 introduced the notion of Kendrick mass defect (KMD) and described the associated methods to efficiently process and visualize high-resolution mass spectra from polymer materials.

In the first section, it was demonstrated that a complex one-dimensional mass spectrum from a polymeric sample could be converted into a visual two-dimensional KMD plot displaying the fractional parts of accurate m/z rescaled with the mass of the repeat unit. The plot revealed the molecular composition of the sample (polymeric signal, background peaks, contaminant) at a glance via point alignments and grouping.

In the second section of Chapter 3, this methodology based on KMDs was applied for the characterization of ethylene vinyl acetate copolymers (EVA), which were notoriously

difficult to mass-analyze as highlighted by a lack of reports in the literature. The nature of the co-monomers, the discrete co-monomeric composition of each polymeric chain and the average co-monomeric composition of different EVA samples were rapidly and accurately evaluated from the KMD plots and their derivatives.

Chapter 4 reported on several improvements of the original KMD analysis and its extension to the fine analysis of components incorporating heteroatoms with complex isotopic distributions (*e.g.* bromine Br).

In the first section, a set of resolution-enhanced KMD (RE-KMD) plots were newly introduced. For the better separation capabilities of different components, the exact mass of the repeating unit divided by integers (so-called “divisors”) was used for rescaling of m/z to Kendrick mass. Furthermore, RE-KMD plots enabled dynamic point alignments by changing divisors. Appropriate tools and guidelines were developed to select the best “divisors” and get the most out of the resolution-enhanced KMD plots. Sequential procedures were also introduced consisting of the selection of a part of a first KMD plot and the computation of other resolution-enhanced plots of the selected points (repeated as many times as needed) to reduce the complexity of the data and facilitate the interpretation of the maps and mass spectra.

In the second section, additional refinements of the KMD analysis were proposed such as the use of the mass of the most abundant isotope of a repeating unit instead of the monoisotopic mass to produce more informative point alignments in the KMD plots of samples with complex isotopic patterns. Additionally, a “rotating KMD plot” was reported for the rapid evaluation of the mass of possible repeating units directly from the KMD plots with no initial knowledge about the nature of the sample in a fully non-targeted analysis.

Chapter 5 dealt with the development and applications of pretreatment methods found to be essential for the MALDI-HRTOFMS analysis of complex industrial materials.

In the first section, an “on-plate” extraction procedure was implemented to remove detergents which induced a signal suppression due to their easier ionization than polymeric analytes. As a first application of this pre-treatment, multiple types of poly(ethylene oxide) (PEO) chains originally blended were fully separated thanks to their different hydrophilicity. The combination of the on-plate pretreatment, the high-resolution mass analysis and a KMD analysis eventually provided a complete description of the molecular content of industrial PEO-based materials.

In the second section, an on-plate degradation procedure was developed to allow the high-resolution MALDI-TOFMS analysis of high molecular polyesters which were initially “MS-silent”. First, this on-plate degradation procedure was applied to

polycaprolactone (PCL) using isotopically labeled degradation reagents to understand the degradation mechanism of ester bonds. High molecular weight (HMW) PCL with long polymeric chains originally not amenable to mass analysis was successfully decomposed into short oligomeric products which were easily desorbed and ionized for high resolution mass measurements. Next, this pretreatment procedure was applied for the characterization of HMW 3-hydroxybutyrate/3-hydroxyvalerate (3HB/3HV) copolyesters produced by microorganisms. The co-monomeric composition and sequential distribution of the short copolymeric chains released by the on-plate degradation were fully analyzed which provided an invaluable insight into the features of the original HMW sample. Finally, this procedure was used for real-life and difficult materials such as poly(ethylene terephthalate) (PET) film and PET bottle, revealing the presence of abnormal structures at low levels.

The last section reported on the extension of the on-plate degradation procedure developed in the former section to polycarbonates (PC) which were also expected to be degraded by alkaline reagents on the model of polyesters. High molecular weight PCs were successfully turned into oligomeric components amenable to MALDI-HRTOF MS measurements highlighting small amounts of degradation products carrying the pristine end-groups, an important piece of molecular information not available from the original sample. Applied to brominated PC, minor tetrabromobisphenol A (TBBPA) were identified as another repeating unit in addition to, bisphenol A in spite of a 1/20 molar ratio.

In Chapter 6, the entire of this study was summarized and the effect of the advanced KMD method on the practical analysis in suppliers was described. The prospects for the remaining problems of this study and for the application to the quality control of industrial materials were further mentioned.

This research work proposed the use of KMD plots as a powerful method to collect the essential information from complex mass spectra, and the use of pretreatment procedures with extraction or degradation to extend the application range of high resolution MALDI-TOFMS to MS-silent polymers of high-molecular weight. These tools are expected to be future cornerstones of a *practical mass spectrometry* to provide molecular and structural insights into industrial polymeric materials which are difficult to be characterized.

【目次】

第 1 章 序論.....	1
1.1 工業用ポリマー材料のキャラクタリゼーションの必要性と現状.....	2
1.2 マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOFMS)法を用いたポリマーの化学構造解析.....	4
1.2.1 マトリックス支援レーザー脱離イオン化法.....	4
1.2.2 高分解能飛行時間型質量分析計.....	5
1.2.3 MALDI-TOFMS によるポリマーのキャラクタリゼーション.....	7
(1) 分子量分布および平均分子量.....	7
(2) 末端構造解析.....	8
(3) 共重合体の構造解析.....	8
(4) 化学構造解析への応用.....	9
1.3 MALDI-TOFMS を工業用ポリマー材料のキャラクタリゼーションに適用する際の課題.....	10
1.3.1 解析可能な質量範囲の限界.....	10
1.3.2 イオン化効率の違いによる制限.....	11
1.3.3 マススペクトル解析の限界.....	11
1.4 本研究の概要と目的.....	12
第 1 章 参考文献.....	14
第 2 章 高分解能 MALDI-TOFMS を用いたポリマー材料の分子構造解析のための測定方法.....	21
2.1 MALDI イオン化の原理.....	22
2.2 MALDI-TOFMS によるポリマー材料の測定・解析方法.....	23
2.2.1 マトリックス剤の選択.....	23
2.2.2 カチオン化剤の選択.....	25
2.2.3 試料調製.....	25
2.2.4 測定装置.....	27
2.2.5 キャリブレーション.....	27
2.2.6 高分解能 MALDI-TOFMS で観測されるマススペクトルの解析.....	28
第 2 章 参考文献.....	31

第 3 章 ケンドリックマスディフェクト (KMD) 解析を用いたポリマー分析法の 開発.....	33
3.1 MALDI spiral-TOFMS と KMD 法を組み合わせたポリマーの構造キャラクタリ ゼーション法の開発.....	34
3.1.1 緒言.....	34
3.1.2 実験.....	35
(1) 試料調製.....	35
(2) MALDI-TOFMS 測定.....	36
3.1.3 結果と考察.....	37
(1) KMD プロットによるブレンド試料を構成する各ポリマー成分の分布の 可視化.....	37
(2) KMD プロットによる共重合体のコモノマー組成分布の可視化.....	39
(3) Remainder of Kendrick mass (RKM)法による残基のプロファイリング.....	42
3.1.4 まとめ.....	47
3.1 節 参考文献.....	48
3.2 KMD プロットを用いたエチレン酢酸ビニル共重合体の組成解析.....	50
3.2.1 序論.....	50
3.2.2 実験.....	51
(1) 試料.....	51
(2) サイズ排除クロマトグラフィー (SEC).....	51
(3) MALDI-TOFMS 測定.....	51
(4) ¹³ C NMR.....	52
(5) KMD 法による解析.....	52
3.2.3 結果と考察.....	52
(1) 質量分析を用いて EVA 共重合体を解析する場合の問題点.....	52
(2) SEC と MALDI-TOFMS を組み合わせた EVA の化学構造解析.....	54
(3) EVA 鎖の化学構造解析.....	57
(4) マススペクトルデータの解析による VA 含量の評価.....	60
(5) KMD 法による EVA の共重合組成解析.....	62
3.2.4 まとめ.....	66
3.2 節 参考文献.....	67
第 4 章 KMD 法の高性能化.....	69
4.1 KMD プロットにおける成分間の分離を向上させる手法の検討.....	70
4.1.1 序論.....	70

4.1.2 共重合ポリマーの KMD 解析に必要な関連技術に関する補足	71
(1) RE-KMD 法.....	71
(2) Referenced KMD (Ref-KMD)法と重合度(degree of polymerization, DP) プロット	74
4.1.3 実験.....	75
(1) 試料調製.....	75
(2) MALDI-TOFMS 測定.....	75
(3) KMD 解析	76
4.1.4 結果と考察.....	76
(1) 共重合ポリマーに最適なデバイザーの選択 (RANK1 関数の利用)	76
(2) R ₁ 、R ₂ 、および ¹³ C のように変数が 3 種類になる場合の RANK1.....	81
(3) R ₂ と ¹³ C のどちらか一方に基づく分離だけを拡大する最適条件を選択する : RANK2.....	83
(4) R ₁ 、R ₂ 、R ₃ がそれぞれ別の繰り返し構造になる場合.....	86
4.1.5 まとめ	91
4.1 節 参考文献.....	92
4.2 同位体分布が広い元素を含むポリマーの化学構造解析への KMD 法の展開....	93
4.2.1 序論.....	93
4.2.2 実験.....	94
(1) 試料調製.....	94
(2) MALDI-TOFMS 測定.....	94
(3) データ解析	94
4.2.3 結果と考察.....	95
(1) 難燃剤のモデル試料を用いた検討.....	95
1) 繰り返し単位の迅速な決定.....	95
2) KMD 法を用いた主要な熱分解経路の評価.....	103
(2) 工業材料に含まれる臭素系難燃剤およびその熱変性物の化学構造解析への 適用	105
4.2.4 まとめ	109
4.2 節 参考文献.....	110
 第 5 章 高分解能質量分析のための前処理法の開発.....	 111
5.1 オンプレート前処理法を用いた有機工業材料に含まれる界面活性剤の除去..	112
5.1.1 緒言	112
5.1.2 実験.....	113

(1) 試薬および試料	113
(2) オンプレート除去操作	113
(3) MALDI-TOFMS 測定.....	114
5.1.3 結果と考察.....	114
(1) “PEO モノステアレート”を用いた予備検討	114
(2) 実際の工業製品の成分分析例	117
1) 市販洗髪剤	117
2) 紫外線硬化塗料.....	120
5.1.4 まとめ	124
5.1 節 参考文献	125
5.2 オンプレート分解法を用いた高分子量ポリエステルのカラクターゼーション	126
5.2.1 緒言.....	126
5.2.2 実験.....	128
(1) 試料および試薬	128
(2) SEC 分取	129
(3) オンプレート分解処理	129
(4) MALDI-TOFMS 測定と KMD 解析.....	130
5.2.3 結果と考察.....	130
(1) 高分子量 PCL を用いたオンプレート分解処理の基礎検討	130
(2) 高分子量共重合ポリエステルの共重合組成解析への応用	135
(3) PET フィルムと PET ボトル試料のカラクターゼーションへの適用....	140
5.2.4 まとめ	144
5.2 節 参考文献	145
5.3 オンプレート分解法の高分子量カーボネートへの適用	148
5.3.1 緒言.....	148
5.3.2 実験.....	149
(1) 試料および試薬	149
(2) SEC 分取	149
(3) オンプレート分解処理および MALDI-TOFMS 測定用スポットの作成....	150
(4) MALDI-TOFMS 測定.....	150
5.3.3 結果と考察.....	151
(1) PC のオンプレート分解法による生成物の検証	151
(2) 末端変性 PC の末端構造解析	152
(3) 臭素化 PC の共重合構造解析	155

5.3.4 まとめ	160
5.3 節 参考文献	161
第 6 章 総括と今後の展望	163
6.1 総括	164
6.2 本研究で高性能化した KMD 法の波及効果	166
6.3 今後の展望	167
6.3.1 本研究で改善されるべき課題	167
6.3.2 品質管理やサプライチェーンの適切な管理を行う技術開発への展望	168
第 6 章 参考文献	170
関連論文	173
学位論文に関わる原著論文	173
その他の関連論文	174
共同研究者一覧	176
謝辞	177

第 1 章

序論

第1章 序論

1.1 工業用ポリマー材料のキャラクタリゼーションの必要性と現状

現代の私たちの生活は、さまざまなポリマー材料からできた製品に囲まれている。ポリマーは紙や漆など自然界に存在する天然ポリマーと、重合反応により化学的に合成された合成ポリマーに大別される。さらに、これらの合成ポリマーは、樹脂、ゴム、繊維などに加工され、広く用いられている。主に工業用材料として用いられる合成樹脂は、加熱により硬化するフェノール樹脂のような熱硬化性樹脂と、加熱により流動性が生まれ、様々な形に加工できる熱可塑性樹脂に分類される。熱可塑性樹脂は、一般的にプラスチックとも呼ばれ、ポリエチレンやポリスチレンといった汎用プラスチック、さらに耐熱性を高めたポリカーボネート、ポリアミドといったエンジニアリングプラスチック（エンブラ）に分類される。近年の樹脂製品の使用用途の広がりにより、さらなる耐熱性・耐薬品性を向上させたポリフェニレンスルファイドのようなスーパーエンジニアリングプラスチック（スーパーエンブラ）も開発されている[1]。また、性能の向上を目指して、数種のモノマー単位が組み合わさったコポリマー、さらに多成分を組み合わせたブレンドやポリマーアロイも開発されてきた[2]。このようにポリマー材料の構成は、非常に多岐にわたる。

ポリマー材料の物性は、それを構成するポリマーの分子量や分子量分布、および分子化学構造を含む一次構造、結合の回転角に起因する分子鎖の形態である二次構造、分子内あるいは分子間の結晶・非晶構造を示す三次構造、さらにポリマー分子が集合体になったときの球晶構造、相分離構造および配向に相当する高次構造のそれぞれと関連する[3]。そのため、ポリマーのキャラクタリゼーションは、主に一次構造を解析対象とする分子構造解析（モレキュラーキャラクタリゼーション）にとどまらず、ポリマー分子の集合体の特性評価である物質特性解析（マテリアルキャラクタリゼーション）の情報と組み合わせ、その関係を知ることも、ポリマー材料の評価・開発を行う上で重要である[4]。

Table 1-1 に、分子構造解析を中心とした分子特性の解析項目とその測定法を示す。分子特性解析に用いられている手法を大別すると、赤外分光分析法(IR)や核磁気共鳴法(NMR)といった分光学的手法、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)や熱分解ガスクロマトグラフィー(Py-GC)などのクロマトグラフィー、マトリックス支援レーザー脱離飛行時間型質量分析法(MALDI-TOFMS)などの質量分析法、示差走査熱量測定(DSC)などの熱分析などがある[3]。

Table 1-1 Analytical items and techniques for molecular characterization of synthetic polymers.

Analytical items	Analytical techniques
<u>1. Determination of chemical structures</u>	
Monomer species	NMR, IR, Chemical analysis, MALDI-TOFMS, (Py-)GC/MS, HPLC
Impurity	GC/MS, HPLC, NMR, IR
Additives	HPLC, (Py-)GC/MS, NMR, Chemical analysis, MALDI-TOFMS
<u>2. Molecular weight</u>	
Average molecular weight	Size exclusion chromatography (SEC), Light scattering
Number average molecular weight (M_n)	method, Osmic pressure method, Viscosity method,
Weight average molecular weight (M_w)	Ultracentrifuge
<u>3. Molecular shape</u>	
Rotation radius	Light scattering (X ray, neutron)
Long chain branching	SEC, Light scattering method, Viscosity method, Ultracentrifuge
<u>4. Microchemical structure</u>	
Bonding form (Regioirregularity, 1,4- or 1,2-bond)	NMR, Py-GC/MS, IR, Chemical degradation-GC/MS, HPLC
Average chemical composition	IR, NMR, Py-GC/MS
Stereoregularity distribution	DSC
Geometrical isomer (<i>cis</i> or <i>trans</i>)	NMR, Py-GC/MS
Short chain branching	NMR, Py-GC/MS, IR
End group structure	NMR, MALDI-TOFMS, IR, Py-GC/MS
<u>5. Copolymer chemical structure</u>	
Average chemical composition	IR, NMR, Py-GC/MS
Chemical composition distribution	Cross fractionation, LC-NMR, MALDI-TOFMS
Average sequential length	NMR, Py-GC/MS
Sequence distribution	
Block/graft copolymer structure	SEC, NMR, MALDI-TOFMS, IR
<u>6. Microgel, three-dimensional cross-linked structure</u>	
Gel weight fraction	Ultracentrifuge
Network structure of insoluble polymer and gel	Py-GC/MS, Chemical analysis, IR

This table was reconstructed from Table 1.2 in [3].

ポリマーは、単一の成分の集合体ではなく、異なった分子量、末端構造、分岐構造、共重合組成、連鎖構造などを持つ成分の混合物であることから、上述した解析方法のどれか1つだけでその特性を正確に表現するのは困難である。また、より簡便で実用的な分析のためには、分析装置や分析手法の絶え間ない進歩が不可欠であり、それぞれの分析手法でより多くの構造情報を得ることが望まれている。

1.2 マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOFMS) 法を用いたポリマーの化学構造解析

1.2.1 マトリックス支援レーザー脱離イオン化法

前節で述べたように、ポリマーキャラクタリゼーションには多くの手法がある。その中で、質量分析法を用いてポリマー材料を構成する各成分を分解することなくイオン化することができれば、得られた質量情報から、分子鎖ごとに詳細な化学構造を解析することができるだろう。そこで、イオン化の過程で分解を起こさないような、様々なソフトイオン化法の開発が試みられ、化学イオン化 (chemical ionization, CI)法、電界イオン化(field ionization, FI)法、電界脱離イオン化(field desorption ionization, FD)法、高速原子衝撃 (fast atom bombardment, FAB) イオン化法、レーザー脱離イオン化(laser desorption ionization, LDI)法、エレクトロスプレーイオン化(electric spray ionization, ESI)法などと共に、本研究で扱うマトリックス支援レーザー脱離イオン化(matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)法が開発されてきた[5]。

ここで、MALDI 法の開発の経緯を振り返ってみる。MALDI の基礎となったのは、固体試料表面にレーザー光を照射してイオン化する LDI である。この方法の測定対象は比較的分子量の試料に限られ、高分子量化合物に対してはフラグメント化が避けられないという問題があった。この LDI に大きな転機が訪れたのは、1980 年代半ばに Hillenkamp らによるマトリックス支援レーザー脱離イオン化(matrix-assisted laser desorption/ionization)の発見である[6]。ここでは、LDI の測定において紫外レーザー光を吸収するトリプトファンなどのアミノ酸が共存すると、紫外線を吸収しないアミノ酸も一緒に脱離してイオン化する現象を発見した。さらに Hillenkamp らの研究グループは、1988 年に紫外線を吸収する低分子量の有機化合物をレーザー光吸収のマトリックスとして用いた LDI 測定によりタンパク質のイオン化にも成功し、MALDI の基礎となる技術を開発した[7]。一方、ほぼ同時期に田中らは、コバルトの微粉末とグリセリンをマトリックスとして試料に添加することにより、タンパク質や合成ポリマーを分解することなく LDI でイオン化することに成功した[8]。田中は、高分子量化合物の質量分析を可能にしたことにより、2002 年のノーベル化学賞を受賞した[9]。今日、田中らの方法は、無機マトリックスを用いた MALDI 法に分類される。

すなわち MALDI は、「マトリックス剤」と総称される低分子量有機化合物によって分散された微細結晶の表面に、レーザー光をパルス照射することにより、熱に不安定な高分子量化合物をほとんど分解することなくソフトにイオン化する方法である[10, 11]。MALDI の登場により、それまで質量分析による解析が極めて困難であると考えられてきたタンパク質などの各種生体高分子や合成ポリマーなどの高分子量化合物を質量分析することが可能になった。現在、MALDI-MS は、ポリマーの分子量分布の解析や末端構造解析などの分子構造解析を行う手法として広く用いられている[12-17]。

1.2.2 高分解能飛行時間型質量分析計

MALDI によってイオン化されたイオンを検出する質量分析計には、飛行時間型質量分析計(time-of-flight mass spectrometry, TOFMS)がよく用いられる。TOFMS は、原理上測定できる m/z に上限がなく、レーザー光のパルス照射により間欠的に生じるイオンの測定に適しているうえ、TOF 分析部は非常に高いイオン透過性を持つため高感度である。

MALDI-TOFMS による質量分離の概念を Fig. 1-1 に示す。MALDI-TOFMS において、質量分離は Fig. 1-1 に示すように行われる。レーザー光のパルス照射により生成したイオンは、試料プレートとグリッド電極の間に生じた電位差により加速され、フライトチューブ内へと引き出される。イオンはフライトチューブ内を等速で飛行した後、検出器に衝突して検出される。イオンが長さ L (m) のフライトチューブ中を v (m/s) の速度で飛行した場合、検出器へ到達するのにかかる時間 t (s) は、式 1-1 で表される。

$$t = L/v \quad (\text{式 1-1})$$

一方で、 z 価のイオンが加速電圧 V_0 (V) により飛行する荷電粒子に対する加速エネルギーと運動エネルギーの間にはエネルギー保存の法則が成り立つため、式 1-2 が成り立つ。

$$ezV_0 = \frac{1}{2}mv^2 \quad (\text{式 1-2})$$

ただし、 m : イオンの質量 (Da)、 e : 電気素量 (1.60×10^{-19})、 u : 原子質量単位 (1.66×10^{-27}) である。

式 1-1 と式 1-2 から、イオンの飛行時間は、質量電荷比(m/z)を用いて式 1-3 として表すことができる。

$$t = L \sqrt{\frac{u}{2eV_0}} \times \sqrt{\frac{m}{z}} \quad (\text{式 1-3})$$

すなわち、イオンの飛行時間は質量電荷比(m/z)の平方根に比例して、軽いイオンから順に検出器に到達する。Fig. 1-1 では、 $m_1 > m_2 > m_3$ であるため、検出器へは赤、緑、青のイオンの順に到達し、到達時間は青、緑、赤のイオンの順に長くなる。イオン検出器への到達時間は、各イオンの質量へと変換できる。

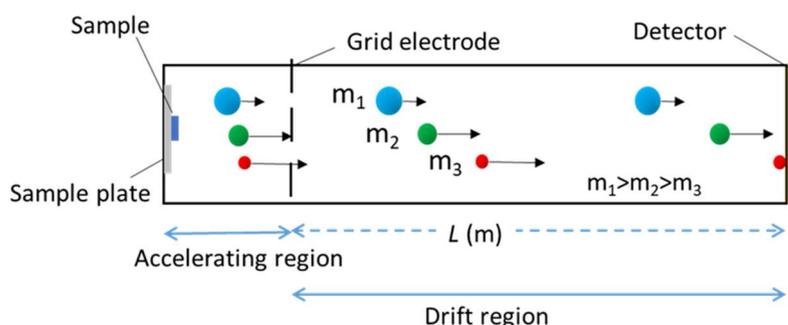


Fig. 1-1 Schematic diagram of a time-of-flight mass spectrometer.

MALDI法が登場した当初に用いられていた TOFMS 装置は、分解能および感度共に満足のいくものではなかったが、その後、レーザー光学系やエレクトロニクス技術などの関連技術の進歩により、分解能および感度共に、装置性能は飛躍的に向上した[18]。分解能の向上には、イオン化が起こる時間および位置のばらつきや、初期運動エネルギーのばらつきを収束する、リフレクトロンの進歩や遅延引き出し法の開発[19-22]が大きく貢献したが、さらに高分解能化を図るにはイオン光学系の抜本的な見直しが必要であった。

すなわち、TOFMS の質量分離の原理より、質量の分解能を向上させるためには、各イオンの飛行時間の差が大きくなる必要がある。しかし、式 1-3 において変えることができるのは、フライトチューブ長(L)と加速電圧(V_0)のみである。加速電圧を低下させると初期速度の違いの影響が大きくなり、イオンの引き出し効率が低くなる。このことから、TOFMS の分解能を上げるためには、フライトチューブ長の延長が必要になるが、フライトチューブ長を単純に延長するのは現実的ではない。そこで、大阪大学のグループにより、8の字型の多重周回・多重通過イオン軌道からなるイオン光学系が開発され、マルチターン飛行時間型質量分析計(MULTUM)と名付けられた[23-25]。このイオン光学系では、イオンが周回を重ねるだけ分解能が向上するが、レーシングサーキットで遅い車が追い越されるのと同様に、軽いイオンが重いイオンを追い越すことによる周回遅れが生じて、イオンの周回数(すなわち飛行距離)がわからなくなるという問題が発生する。そこで、周回ごとにイオンの軌道をずらしていく、「スパイラル TOF 分析部」が開発され、実用化された[26]。その模式図を Fig. 1-2 に示す。この装置では、コンパクトな円筒電場内でイオンが1周 2.1 m の軌道をらせん状に8周回することによって、約 17 m の飛行長が達成されている。しかも、各周回ごとにイオンビームが収束するため、長い飛行距離の際に問題となるイオン軌道の拡散による感度低下が抑制されている。その結果、質量が数千の試料に対して、ピーク半値幅で分解能 7 万以上が得られ、小数点以下 3 桁 (ミリマス) レベルでの精密な質量分析を容易に行うことができるようになった。そして、分子量数千までのオリゴマーであれば、小数点以下 3 桁レベルで精密な質量を決定することができ、元素組成を推測することができるようになった[27, 28]。本研究では、この装置を用いて、高分解能 MALDI-TOFMS 測定を行った。

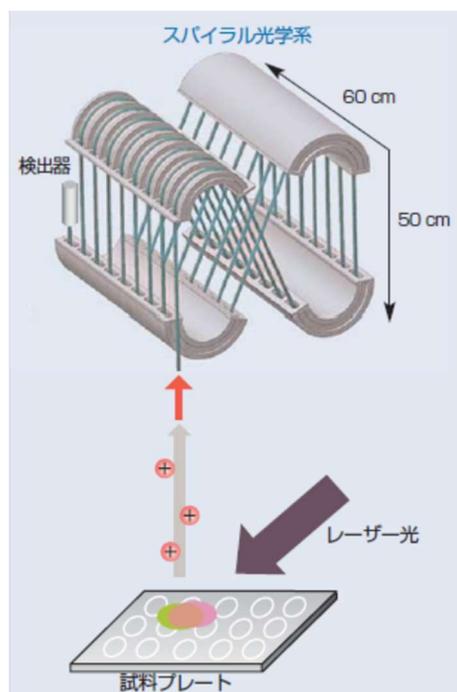


Fig. 1-2 The structural configuration of MALDI spiral-TOFMS. Reprinted Fig. 2 in [29] with permission.

1.2.3 MALDI-TOFMS によるポリマーのキャラクタリゼーション

以上述べてきたように、ポリマー鎖を分解せずにイオン化する MALDI 法と、高性能化した飛行時間型質量分析計を組み合わせた MALDI-TOFMS を用いて、これまで様々な合成ポリマーの構造キャラクタリゼーションが行われてきた。その概要を述べる。

(1) 分子量分布および平均分子量

合成ポリマーは、重合度の異なるポリマー鎖の混合物であることから、分子量も分布を持っている。ポリマーの分子量分布の解析には、サイズ排除クロマトグラフィー(size exclusion chromatography, SEC)が用いられてきた。しかし、SEC で得られる分子量分布は、基準となる分子量が既知である標準物質が必要であり、標準物質に対する相対的な値しか得ることができない。一方、比較的高質量域まで簡便に測定が可能である MALDI-TOFMS では、観測された各イオンの正確な質量が得られる。マススペクトル上で得られる各ピークの質量(M_i)とピーク強度(I_i)から、数平均分子量(M_n)、重量平均分子量(M_w)、および多分散度(PD)はそれぞれ式 1-4 から式 1-6 で求められる。

$$M_n = \frac{\sum M_i I_i}{\sum I_i} \quad (\text{式 1-4})$$

$$M_w = \frac{\sum M_i^2 I_i}{\sum M_i I_i} \quad (\text{式 1-5})$$

$$PD = \frac{M_w}{M_n} \quad (\text{式 1-6})$$

分子量分布の狭い単分散のポリマーに対しては、観測されるマスペクトルからかなり正確な分子量分布が求められる[30-32]。一方で、多分散度が 1.1 を超えるような分子量分布の広いポリマーでは、分子量の違いによりイオン化効率や検出器の感度が大きく異なるため、MALDI-TOFMS を用いて正確な分子量分布を得ることができない[33-35]。この問題を解決する方法として、あらかじめ SEC により分取を行い、各フラクションの分子量分布を小さくしてから、フラクションごとに MALDI-TOFMS 測定を行うという SEC/MALDI-TOFMS 法が開発され、分子量分布の広いポリマーの平均分子量分布を解析することも可能になった[36-38]。さらに MALDI-TOFMS で得られたフラクションごとのピーク強度を対応する SEC クロマトグラム上のピーク面積で補正することにより、重合度が異なる成分ごとの組成も求めることができる[39, 40]。本研究でも、この SEC/MALDI-TOFMS 法を用いて、分子量分布が広いポリマー試料の構造解析を行った(第 3 章)。

(2) 末端構造解析

ポリマーの末端構造には、重合開始剤などの情報が含まれることがあり、ポリマーの特性を知るうえで非常に重要な情報である。NMR や IR といった分光学的手法だけを用いても、ポリマー鎖の中にわずかに含まれる末端構造を決定することは困難である。一方で、MALDI-TOFMS を用いれば、各ポリマー鎖ごとの末端基を決定することができる[41-44]。ホモポリマーを MALDI-TOFMS で測定した場合には、1 種類の繰り返し単位を持ち、金属カチオンが付加された状態で 1 価のイオンとして観測されることから、観測されたイオンの質量(M_{ion})は式 1-7 により求められる。

$$M_{ion} = M_{monomer} \times n + M_{res} + M_{cat} \quad (\text{式 1-7})$$

ただし、 M_{ion} : 観測されたイオンの質量、 $M_{monomer}$: 繰り返し単位 (モノマー単位) の質量、 n : モノマーの重合度、 M_{res} : 末端などの主鎖構造以外の構造 (残基構造) の質量、 M_{cat} : 付加カチオンの質量を示す。マスペクトルのピーク間隔からモノマー単位の質量がわかり、測定条件から付加カチオンの種類が推測できるので、 M_{res} が得られる。さらに 1.2.2 節で述べたような高分解能 TOFMS を用いれば、得られた残基構造の精密質量から、元素組成解析を行い、末端合計の組成式が求められる。最後に分光学的手法の結果や試料の合成条件などを考慮し、末端構造を決定する。この手法を用いれば、他の手法では解析が難しい末端をもたない環状構造も決定することができる。

(3) 共重合体の構造解析

複数のモノマー単位からなる共重合体の場合には、各モノマー単位の組成や連鎖分布がポリマーの特性を知るうえで重要な情報となる。各モノマー単位の組成定量は、NMR や IR などの分光学的手法でも行われてきた。NMR では、各コポリマーに特有なピークの積分比が共重合体の組成比に相当する。IR では、各コモノマーの特性吸収ピーク

の吸光度比を求め、標準品で作成した検量線を用いて共重合体の組成比を求める。しかし、NMR では、長時間の測定が必要となり、IR では共重合比が既知の標準品が必要になる。また、Py-GC/MS を用いれば、共重合体を構成する各モノマー単位の共重合組成を求めることができる[45, 46]が、長い連鎖の解析には限界がある。一方で、MALDI-TOFMS を用いれば、共重合体の構造解析を容易に行うことができる[47-49]。構成成分の種類が多くなる共重合体の解析では、元素組成が異なるが質量数が同じになる同重分子(isobaric molecule)が重複する可能性が極めて高くなるという問題があるが、前述した高分解能 TOFMS を用いれば、これらをミリマスレベルでピーク分離することが可能になる。

共重合体では、式 1-7 は式 1-8 に書き換えられる。

$$M_{ion} = M_{monomerA} \times n + M_{monomerB} \times m + M_{res} + M_{cat} \quad (\text{式 1-8})$$

ただし、 M_{ion} : 観測されたイオンの質量、 $M_{monomerA}$: モノマーAの質量、 n : モノマーAの重合度、 $M_{monomerB}$: モノマーBの質量、 m : モノマーBの重合度、 M_{res} : 末端などの主鎖構造以外の構造(残基構造)の質量、 M_{cat} : 付加カチオンの質量を示す。共重合体の各ピークの帰属は次のようにして行うことができる。まず観測されたピークの精密質量から全体の元素組成を推定する。次に例えばモノマーAに特徴的な元素の数や不飽和度を表す二重結合指数(double bond equivalence, DBE)などを手掛かりにして、 n を決定する。その結果から($M_{monomerB} \times m + M_{res} + M_{cat}$)に相当する組成式をもとめ、DBEなどを手掛かりに m を決定する。付加カチオンは既知であるので($M_{monomerB} \times m + M_{cat}$)に相当する組成式が決まる。最後に全体の元素組成から($M_{monomerB} \times m + M_{cat}$)に対応する元素組成の残りに相当する、末端基を決定することができる。さらに、各ピークの m や n の数、およびピーク強度から、共重合体の平均共重合組成を計算することができる。

(4) 化学構造解析への応用

MALDI-TOFMS を用いたキャラクタリゼーションは、測定対象の試料の化学構造解析を行うだけにはとどまらない。ポリマーは、各種重合反応により合成されるが、重合反応の過程で化学構造解析を行うことにより、重合機構を推定することができる[14, 50, 51]。重合の停止反応で起こる不均化反応と再結合反応の比率や共重合における各モノマーの反応性比、リビング重合での反応末端の寿命評価などにも用いられている。

さらに、MALDI-TOFMS を用いた化学構造解析を化学反応前後でおこない、比較することで、様々な化学反応の評価を行うことができる。熱分解過程での構造変化の追跡や反応中間物の構造変化[52-55]、生分解性ポリマーの生分解機構の解明[56-58]などに利用されてきた。このように MALDI-TOFMS による構造解析を行うことで、静的な評価だけでなく、ポリマー材料のライフサイクルに関する動的な評価も行えるようになった。

1.3 MALDI-TOFMS を工業用ポリマー材料のキャラクタリゼーションに適用する際の課題

以上で概観してきたように、測定技術や装置性能の発展に伴い、MALDI-TOFMS の適用範囲は広がり、より詳細なポリマーの化学構造解析が行えるようになった。その結果、合成プロセスの確認、製品の品質管理、あるいはポリマー材料の劣化機構の解析などに利用されるようになり、いまでは工業ポリマー材料のキャラクタリゼーションの重要な手法の一つになっている[59, 60]。それでもなお、本法は完成されたポリマー分析法には至っておらず、いくつもの解決すべき課題が存在する。以下に、現状での MALDI-TOFMS 測定における主な課題について述べる。

1.3.1 解析可能な質量範囲の限界

MALDI-TOFMS は、理論的には測定できる質量範囲に上限はないとされているが、実際には実用的な解析ができる質量範囲は限られている。Fig. 1-3 に、MALDI-TOFMS を用いた解析項目と、適用可能な質量範囲の関係をまとめた。重量平均分子量(M_w) 917,000 のポリスチレンを 1 価のイオンとして測定した例がある[61]が、高分子量になればなるほど、イオン化効率および検出器の応答感度が著しく低下するため、明確なピークを得ることは難しい。これでは、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)などに対して絶対分子量の測定が可能であるという MALDI-TOFMS の優位性を示すことができないため、光散乱検出を用いる方がよい。また、分子量数万までの範囲では、高感度なリニアモードを用いればイオンを検出することはできるが、質量分析装置の分解能が不足するため、ポリマーの分子量分布全体が大きな 1 つのピークになる。そのため、ポリマーの平均分子量の解析に留まり、ポリマーの化学構造に関する情報を得ることはできない。高分解能のリフレクトロンモードを用いて個々のピークを分離してピーク質量からモノマー単位や末端基などの構造を解析できるのは、概ね分子量 10,000 程度までである。さらに精密な化学構造解析を行うためには、モノアイソトピックピークを分離・検出して精密な質量を決定する必要があり、分子量数千程度までのオリゴマーに限定される。なお、分子量数百以下ではマトリックス剤の妨害により、試料成分のピークの検出が困難になる。また、MALDI-TOFMS は、高真空のイオン源内に試料を設置するため、分子量が数百の揮発性成分の測定は不可能である。したがって、こうした低分子量化合物の分析には、GC/MS が利用される。

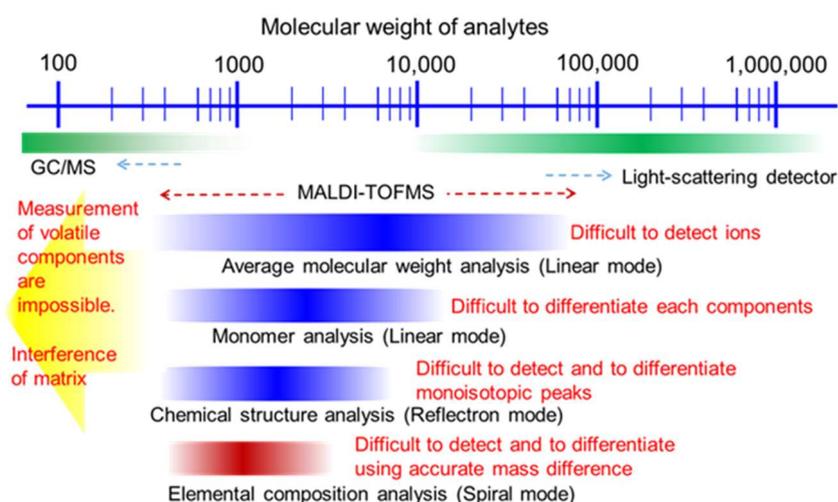


Fig. 1-3 Relationship between analysis items and applicable mass ranges in MALDI-TOFMS.

1.3.2 イオン化効率の違いによる制限

イオン性あるいは高極性化合物が多く含まれている混合物試料を前処理なしに MALDI-TOFMS を用いて測定すると、他の成分に比べイオン化しやすい成分が優勢にイオン化されることにより、その他の成分のイオン化が妨害され、ピーク強度が非常に弱くなる。このような現象は、イオンサプレッションと呼ばれ、プロテオーム分野では、微量のタンパク質試料に混在する高濃度の塩のイオンサプレッションが知られている [62]。ポリマー材料を対象とした測定では、ポリエチレンオキシド (PEO) 系化合物がイオンサプレッションを起こしやすい成分である [63, 64]。このような試料の場合、液体クロマトグラフィーなどによる前処理で妨害成分を除去する必要があり、短時間での測定が可能な MALDI-TOFMS の長所を損なう原因となる。

1.3.3 マススペクトル解析の限界

ポリマー材料は、基材ポリマー以外にも他のポリマーや添加剤などが加えられた混合物であることが多く、さらに共重合体では、モノマーの組成違いの成分が数多く観測される。測定機器の性能が向上したことにより、高分解能のマススペクトルが得られるようになり、各成分の分離が可能になった。一方で、観測されるピークの数が増大し、解析は以前とは比較にならないほど複雑になってきた。このように、高分解能のマススペクトルを解析するには、目的とする成分を適切に抽出できるようなデータ解析法が必要である。

1.4 本研究の概要と目的

これまで述べてきたように、MALDI-TOFMS は、各ポリマー鎖を分解することなく、分子量分布や末端構造の解析が可能であることから、ポリマーの実用的な分子構造解析に適した方法であり、そのための測定装置も飛躍的な進歩を遂げている。一方で実用的なポリマー材料のキャラクタリゼーション法となるためには、解決すべき課題があることは前節で述べたとおりである。特に工業用材料として用いられるポリマー材料は数多くの成分の混合物であるので、適切な前処理を施さずにその測定を行うことは容易ではない。もし高分解能測定を行うことができたとしても、膨大な数のマススペクトルピークから必要な情報を容易に得ることはさらに困難である。すなわち、現状では、高分解能 MALDI-TOFMS の潜在能力を最大限に活用したポリマー材料のキャラクタリゼーション法の開発は、いまだ達成されていないと言わざるを得ない。

そこで本研究は、適切な前処理、高分解能質量測定、および適切なデータ処理法を組み合わせることにより、高分解能 MALDI-TOFMS の性能を最大限に活用した、ポリマー材料の実用的なキャラクタリゼーション法の開発を目的とする。この方法を開発することにより、MALDI-TOFMS のポリマー材料への適用範囲が拡大され、簡便・迅速なポリマー材料のキャラクタリゼーションが可能になる。このポリマー材料のキャラクタリゼーションを通じて、品質管理（製造プロセスの検証、材料の変化、調達先の変更など）やサプライチェーンの適切な管理など、ポリマー材料を取り巻く産業分野へ大きく貢献できることが期待される。以下に各章の概要を述べる。

第1章では、本研究の背景および目的を述べた。

第2章では、各章における MALDI-TOFMS 測定に共通した、ポリマー材料の分子構造解析の測定方法について述べた。また、MALDI-TOFMS の測定に大きな影響を与えるマトリックス剤やカチオン化剤の一般的な選択指針についても述べた。

第3章では、装置の高分解能化により、より複雑になったマススペクトルを直感的に解釈できるようにするために、ケンドリックマスディフェクト(KMD)法のポリマー材料分析への適用を検討した。マススペクトルを2次元プロットに展開することにより、ポリマー材料を構成する各成分を分離し、キャラクタリゼーションを行うことができた。ホモポリマーだけでなく、さらに組成の複雑な共重合体へと適用することもできた。

第4章では、KMD 法における各成分の分離能を拡大する resolution-enhanced KMD (RE-KMD)法を活用するためのパラメータである、ディバイザーの適切な選択を簡便に行う方法を検討し、高性能化を進めた。ディバイザーを変えることによる KMD 値の変化をシミュレーションすることができる関数をグラフ化することで、解析の目的に合った適切なディバイザーを簡便・迅速に決定することができるようになった。

第5章では、高分解能質量分析を行うための前処理法の開発を行った。イオン化を妨

害する成分を測定プレート上で迅速・簡便に除去し、解析対象のマスマスペクトルが得られるようになることで、わずかに含まれる成分のキャラクタリゼーションを行うことができた。さらに、高分子量のポリエステルおよびポリカーボネートに対し、アルカリ試薬を用いて、オリゴマー領域まで低分子量化することにより、各成分のキャラクタリゼーションを行うことができた。

第6章は、本論文の総括であり、MALDI-TOMS と KMD 法を組み合わせたポリマーのキャラクタリゼーションの到達点および今後の展望、さらに KMD 法を用いたデータ解析の他の質量分析法への拡大についての展望を述べた。

第1章 参考文献

- [1] 井上俊英, 川口春馬, 伊藤耕三, 木村良晴, 小山珠美, 関隆広, 畑中研一, 樋口亜紺, 吉田亮, 渡邊正義, 高分子学会編: “エンジニアリングプラスチック”. (2004), (共立出版).
- [2] 秋山三郎, 日本ゴム協会誌, **88** (2015) 151-156, ポリマーブレンド・アロイの歴史の経緯. doi: 10.2324/gomu.88.151
- [3] 大谷肇, 佐藤信之, 高山森, 松田裕生, 後藤幸孝: “高分子分析”, pp. 2-5 (2013), (共立出版).
- [4] 日本分析化学会高分子分析研究懇談会編: “高分子分析ハンドブック”, 第4版, (2008), (朝倉書店).
- [5] 中村健道, 内藤康秀, 平岡賢三, 佐藤浩昭, 日本質量分析学会出版委員会訳: “マスペクトロメトリー”, 原書3版, (2020), (丸善出版); J. H. Gross: “Mass Spectrometry” (2017), (Springer).
- [6] M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, **57** (1985) 2935-2939, Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules. doi: 10.1021/ac00291a042
- [7] M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, **60** (1988) 2299-2301, Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons. doi: 10.1021/ac00171a028
- [8] K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, T. Matsuo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2** (1988) 151-153, Protein and polymer analyses up to m/z 100000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. doi: 10.1002/rcm.1290020802
- [9] K. Tanaka, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42** (2003) 3860-3870, The origin of macromolecule ionization by laser irradiation (Novel lecture). doi: 10.1002/anie.200300585
- [10] R. Zenobi, R. Knochenmuss, *Mass Spectrom. Rev.*, **17** (1998) 337-366, Ion formation in MALDI mass spectrometry. doi: 10.1002/(SICI)1098-2787(1998)17:5<337::AID-MAS2>3.0.CO;2-S
- [11] C. Menzel, K. Dreisewerd, S. Berkenkamp, F. Hillenkamp, *Int. J. Mass Spectrom.*, **207** (2001) 73-96, Mechanisms of energy deposition in infrared matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry. doi: 10.1016/S1387-3806(01)00363-3

- [12] 佐藤浩昭, ぶんせき (*Bunseki*), **2013**, 345-351, マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による合成高分子の測定技術.
- [13] 大谷肇, ネットワークポリマー, **32** (2011) 219-227, 質量分析法によるポリマーキャラクタリゼーション. doi: 10.11364/networkpolymer.32.219
- [14] T. Gruending, S. Weidner, J. Falkenhagen, C. Barner-Kowollik, *Polym. Chem.*, **1** (2010) 599-617, Mass spectrometry in polymer chemistry: a state-of-the-art update. doi: 10.1039/b9py00347a
- [15] J. Drzeżdżon, D. Jacewicz, A. Sielicka, L. Chmurzyński, *Trends Anal. Chem.*, **115** (2019) 121-128, MALDI-MS for polymer characterization – recent developments and future prospects. doi: 10.1016/j.trac.2019.04.004
- [16] L. Charles, *Mass Spectrom. Rev.*, **33** (2014) 523-543, MALDI of synthetic polymers with labile end-groups. doi: 10.1002/mas.21403
- [17] N. Aminlshgari, M. Hakkarainen: “Emerging Mass Spectrometric Tools for Analysis of Polymers and Polymer Additives”. In *Mass Spectrometry of Polymers - New Techniques*, Edited by M. Hakkarainen, Vol. 248, pp. 1-37 (2012), (Springer-Verlag: Berlin).
- [18] 中村健道, 内藤康秀, 平岡賢三, 佐藤浩昭, 日本質量分析学会出版委員会訳: “マスペクトロメトリー”, 原書 3 版, pp. 128-144 (2020), (丸善出版); J. H. Gross: “Mass Spectrometry” (2017), (Springer).
- [19] M. L. Vestal, *J. Mass Spectrom.*, **44** (2009) 303-317, Modern MALDI time-of-flight mass spectrometry. doi: 10.1002/jms.1537
- [20] M. Guilhaesus, *J. Mass. Spectrom.*, **30** (1995) 1519-1532, *Special feature: Tutorial*. Principles and instrumentation in time-of-flight mass spectrometry. Physical and instrumental concepts. doi: 10.1002/jms.1190301102
- [21] D. Ioanoviciu, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9** (1995) 985-997, Ion-optical solutions in time-of-flight mass spectrometry. doi: 10.1002/rcm.1290091104
- [22] M. Vestal, K. Hayden, *Int. J. Mass Spectrom.*, **268** (2007) 83-92, High performance MALDI-TOF mass spectrometry for proteomics. doi: 10.1016/j.ijms.2007.06.021
- [23] M. Toyoda, D. Okumura, M. Ishihara, I. Katakuse, *J. Mass Spectrom.*, **38** (2003) 1125-1142, Multi-turn time-of-flight mass spectrometers with electrostatic sectors. doi: 10.1002/jms.546
- [24] M. Toyoda, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **16** (2010) 397-406, Development of multi-turn time-of-flight mass spectrometers and their applications. doi: 10.1255/ejms.1076.

- [25] 豊田岐聡, 新間秀一, 青木順, 石原盛男, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **60** (2012) 87-102, マルチターン飛行時間型質量分析計. doi: 10.5702/massspec.12-47
- [26] T. Satoh, T. Sato, J. Tamura, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **18** (2007) 1318-1323, Development of a high-performance MALDI-TOF mass spectrometer utilizing a spiral ion trajectory. doi: 10.1016/j.jasms.2007.04.010
- [27] H. Sato, Y. Ishii, H. Momose, T. Sato, K. Teramoto, *Mass Spectrom. (Tokyo)*, **2** (2013) A0014, Application of high-resolution MALDI-TOFMS with a spiral ion trajectory for the structural characterization of free radical polymerized methacrylate ester copolymers. doi: 10.5702/massspectrometry.A0014
- [28] T. Satoh, A. Kubo, H. Hazama, K. Awazu, M. Toyoda, *Mass Spectrom. (Tokyo)*, **3** (2014) S0027, Separation of isobaric compounds using a spiral orbit type time-of-flight mass spectrometer, MALDI-spiralTOF. doi: 10.5702/massspectrometry.S0027
- [29] 大谷肇, 日本電子 News, **43** (2011) 19-24, MALDI-TOF-MS によるポリマーキャラクター化の新展開.
- [30] C. M. Guttman, S. J. Wetzel, W. R. Blair, B. M. Fanconi, J. E. Girard, R. J. Goldschmidt, W. E. Wallace, D. L. VanderHart, *Anal. Chem.*, **73** (2001) 1252-1262, NIST-sponsored interlaboratory comparison of polystyrene molecular mass distribution obtained by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: Statistical analysis. doi: 10.1021/ac001011d
- [31] P. M. Lloyd, K. G. Suddaby, J. E. Varney, E. Scrivener, P. J. Derrick, D. M. Haddleton, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **1** (1995) 293-300, A comparison between matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry and size exclusion chromatography in the mass characterisation of synthetic polymers with narrow molecular-mass distributions: poly(methyl methacrylate) and poly(styrene). doi: 10.1255/ejms.141
- [32] H. Zhu, T. Yalcin, L. Li, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **9** (1998) 275-281, Analysis of the accuracy of determining average molecular weights of narrow polydispersity polymers by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. doi: 10.1016/S1044-0305(97)00292-4
- [33] D. C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.*, **69** (1997) 4169-4175, Mass discrimination in the analysis of polydisperse polymers by MALDI time-of-flight mass spectrometry. 1. Sample preparation and desorption/ionization issues. doi: 10.1021/ac9702610

- [34] D. C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.*, **69** (1997) 4176-4183, Mass discrimination in the analysis of polydisperse polymers by MALDI time-of-flight mass spectrometry. 2. Instrumental issues. doi: 10.1021/ac9707794
- [35] H. C. M. Byrd, C. N. McEwen, *Anal. Chem.*, **72** (2000) 4568-4576, The limitations of MALDI-TOF mass spectrometry in the analysis of wide polydisperse polymers. doi: 10.1021/ac0002745
- [36] G. Montaudo, M. S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **9** (1995) 453-460, Characterization of polymers by matrix - assisted laser desorption/ionization time - of - flight mass spectrometry: Molecular weight estimates in samples of varying polydispersity. doi: 10.1002/rcm.1290090514
- [37] R. Murgasova, D. M. Hercules, *Int. J. Mass Spectrom.*, **226** (2003) 151-162, MALDI of synthetic polymers-an update. doi: 10.1016/S1387-3806(02)00971-5
- [38] G. Montaudo, F. Samperi, M. S. Montaudo, *Prog. Polym. Sci.*, **31** (2006) 277-357, Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS. doi: org/10.1016/j.progpolymsci.2005.12.001
- [39] H. Sato, N. Ichieda, H. Tao, H. Ohtani, *Anal. Sci.*, **20** (2004) 1289-1294, Data processing method for the determination of accurate molecular weight distribution of polymers by SEC/MALDI-MS. doi: 10.2116/analsci.20.1289
- [40] 佐藤浩昭, 田尾博明, 大谷肇, 青井啓悟, 高分子論文集 (*Kobunshi Ronbunshyū*), **60** (2003) 305-311, サイズ排除クロマトグラフィー／マトリックス支援レーザー脱離イオン化－質量分析法によるポリ(ε-カプロラクトン)のキャラクタリゼーション. doi: 10.1295/koron.60.305
- [41] Y. Li, J. N. Hoskins, S. G. Sreerama, M. A. Grayson, S. M. Grayson, *J. Mass Spectrom.*, **45** (2010) 587-611, The identification of synthetic homopolymer end groups and verification of their transformations using MALDI-TOF mass spectrometry. doi: 10.1002/jms.1743
- [42] C. Puglisi, F. Samperi, R. Alicata, G. Montaudo, *Macromolecules*, **35** (2002) 3000-3007, End-groups-dependent MALDI spectra of polymer mixtures. doi: 10.1021/ma011687q
- [43] G. Montaudo, M.S. Montaudo, C. Puglisi, F. Samperi, *Macromolecules*, **28** (1995) 4562-4569, Characterization of polymers by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. End group determination and molecular weight estimates in poly(ethylene glycols). doi: 10.1021/ma00117a028
- [44] S. Huijser, B. B. P. Staal, J. Huang, R. Duchateau, C. E. Koning, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **45** (2006) 4104-4108, Chemical composition and topology of

- poly(lactide-*co*-glycolide) revealed by pushing MALDI-TOF MS to its limit. doi: 10.1002/anie.200600594
- [45] 大谷肇, 寶崎達也共編; “合成高分子クロマトグラフィー“, (2013), (オーム社).
- [46] 大谷肇, 繊維学会誌 (*Sen'i Gakkaishi*), **76** (2020) 380-387, 熱分解分析法による高分子の分析, doi: 10.2115/fiber.76.P-380.
- [47] S. M. Weidner, J. Falkenhagen, R. P. Krueger, U. Just, *Anal. Chem.*, **79** (2007) 4814-4819, Principle of two-dimensional characterization of copolymers. doi: 10.1021/ac062145f
- [48] G. Adamus, P. Rizzarelli, M. S. Montaudo, M. Kowalczyk, G. Montaudo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20** (2006) 804-814, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry with size-exclusion chromatographic fractionation for structural characterization of synthetic aliphatic copolyesters. doi: 10.1002/rcm.2365
- [49] R. Alicata, T. Barbuzzi, M. Giuffrida, A. Ballistreri, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20** (2006) 568-576, Characterization of poly[(*R*)-3-hydroxybutyrate-*co*- ϵ -caprolactone] copolymers by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight and electrospray ionization mass spectrometry. doi: 10.1002/rcm.2342
- [50] Z. Liu, S. Rimmer, *Macromolecules*, **35** (2002) 1200-1207, Studies on the free radical polymerization of *N*-vinylpyrrolidinone in 3-methylbutan-2-one. doi: 10.1021/ma011092v
- [51] H. R. Kricheldorf, G. Schwarz, *Macromol. Rapid Commun.*, **24** (2003) 359-381, Cyclic polymers by kinetically controlled step-growth polymerization. doi: 10.1002/marc.200390063
- [52] S. Carrocio, C. Puglisi, G. Montaudo, *Macromolecules*, **35** (2002) 4297-4305, Mechanisms of thermal oxidation of poly(bisphenol A carbonate). doi: 10.1021/ma012077t
- [53] S. Carrocio, C. Puglisi, G. Scaltro, T. Ferreri, G. Montaudo, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **13** (2007) 397-408, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight investigation of Nylon 6 and Nylon 66 thermo-oxidation products. doi: 10.1255/ejms.899.
- [54] P. Chevallier, J. C. Soutif, J. C. Brosse, J. C. Brunelle, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **16** (2002) 1476-1484, Poly(amide ester)s from 2,6-pyridinedicarboxylic acid and ethanolamine derivatives: identification of macrocycles by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. doi: 10.1002/rcm.742

- [55] C. Barner-Kowollik, P. Vana, T. P. Davis, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **40** (2002) 675-681, Laser-induced decomposition of 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone and benzoin in methyl methacrylate homopolymerization studied via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. doi: 10.1002/pola.10150
- [56] P. Rizzarelli, S. Carroccio, *Anal. Chim. Acta.*, **808** (2014) 18-43, Modern mass spectrometry in the characterization and degradation of biodegradable polymers. doi: 10.1016/j.aca.2013.11.001
- [57] H. Sato, A. Shibata, Y. Wang, H. Yoshikawa, H. Tamura, *Polym. Degrad. Stab.*, **74** (2001) 69-75, Characterization of biodegradation intermediates of non-ionic surfactants by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry 1. Bacterial biodegradation of octylphenol polyethoxylate under aerobic conditions. doi: 10.1016/S0141-3910(01)00102-1
- [58] H. Sato, Y. Kiyono, H. Ohtani, S. Tsuge, H. Aoi, K. Aoi, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **68-69** (2003) 37-49, Evaluation of biodegradation behavior of poly(ϵ -caprolactone) with controlled terminal structure by pyrolysis-gas chromatography and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. doi: 10.1016/S0165-2370(03)00078-0
- [59] 佐藤浩昭, 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **67** (2018) 589-597, 高分解能 MALDI-TOFMS を用いる工業用ポリマー材料の構造解析. doi: 10.2116/bunsekikagaku.67.589
- [60] 佐藤浩昭, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **65** (2017) 60-63, ポリマー材料のサプライチェーンを支える分析技術. doi : 10.5702/massspec.S17-02
- [61] D. C. Schriemer, L. Li, *Anal. Chem.*, **68** (1996) 2721-2725, Detection of high molecular weight narrow polydisperse polymers up to 1.5 million daltons by MALDI mass spectrometry. doi: 10.1021/ac960442m
- [62] T. M. Annesley, *Clin. Chem.*, **49** (2003) 1041-1044, Ion suppression in mass spectrometry. doi: org/10.1373/49.7.1041
- [63] F. Gharahdaghi, M. Kirchner, J. Fernandez, S. M. Mische, *Anal. Biochem.*, **233** (1996) 94-99, Peptide-mass profiles of polyvinylidene difluoride-bound proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in the presence of nonionic detergents. doi: 10.1006/abio.1996.0012
- [64] C. Zhao, P. B. O'Connor, *Anal. Biochem.*, **365** (2007) 283-285, Removal of polyethylene glycols from protein samples using titanium dioxide. doi: 10.1016/j.ab.2007.03.024

第 2 章

高分解能 MALDI-TOFMS を用いた ポリマー材料の分子構造解析のための 測定方法

第2章 高分解能 MALDI-TOFMS を用いたポリマー材料の分子構造解析のための測定方法

2.1 MALDI イオン化の原理

MALDI におけるイオン生成のメカニズムは複雑であり、イオン生成量や観測されるイオンの起源についての研究は現在も進められている [1]。Fig. 2-1 に、広く受け入れられている MALDI のイオン化の大まかなメカニズム [2, 3] を表した模式図を示す。MALDI では、レーザーエネルギーを効率よく吸収する大過剰のマトリックス剤と試料を混合し分散させ、その表面にパルスレーザーを照射する。レーザーを照射することによりマトリックス剤分子は、光エネルギーを吸収し、イオン化すると同時に溶融・蒸発する。このとき試料分子そのものは、直接気化・励起されることはないが、試料分子を取り囲んでいたマトリックス剤が急速に気化することにより同時に試料分子も気相に飛び出す。この際に、イオン化したマトリックス剤分子と試料分子との間でプロトンや電子の授受が行われることによりプロトン化分子 $[M+H]^+$ や脱プロトン化分子 $[M-H]^-$ などのイオンが生じたり、環境中に含まれる Na^+ や K^+ などのアルカリ金属カチオンが付加したイオンなどが生成する。プロトン化分子が生成しにくい合成ポリマーや多糖などに対しては、その試料のイオン化に適したカチオン化剤をあらかじめ試料スポットに加えることで、効率よくイオン化する方法が用いられている。カチオン化剤の選択については、次項で詳述する。

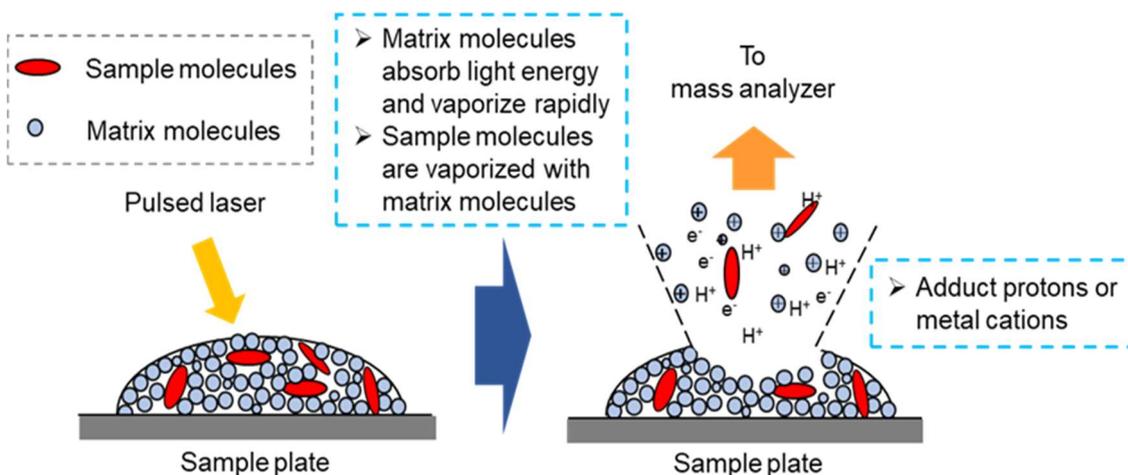


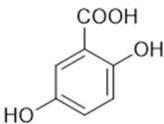
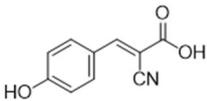
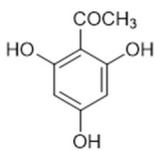
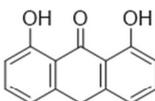
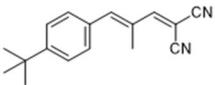
Fig. 2-1 Ionization model of MALDI

2.2 MALDI-TOFMS によるポリマー材料の測定・解析方法

2.2.1 マトリックス剤の選択

MALDI-TOFMS の測定では、一般に試料とマトリックス剤が分子レベルで混和した混合結晶を調製する必要がある。このため、試料とマトリックス剤の相性が重要になる。合成ポリマーは、ポリエチレングリコール(PEG)のような水溶性ポリマーからポリスチレン(PS)のような疎水性ポリマーまで多岐にわたるため、測定対象であるポリマーに適合したマトリックス剤を選択することが必須となる[4,5]。Table 2-1 に、合成ポリマー用の代表的なマトリックス剤の例と、本研究で測定したポリマーとの組み合わせを示す。これまで数多くの合成ポリマー用のマトリックス剤が報告されているが、あらゆる試料の測定に適したマトリックス剤は存在せず、その選択は試行錯誤に依らなければならない。しかし、これまでの数多くの測定事例から、大まかな経験則が知られている。一般的にマトリックス剤の選択において最も考慮すべきことは、試料の極性ととの関係である。ポリエステルやポリエーテルなど試料分子中に酸素を含む試料に対しては、2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (DHB)、2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン (THAP)、 α -シアノ-4-ヒドロキシ桂皮酸 (CHCA) などの極性マトリックスが選択される。極性マトリックスのなかでよく用いられるのは DHB であるが、これは強い酸性を示すため、試料の種類によっては、分解や変性を引き起こすことがあることに気を付ける必要がある[6]。また、DHB と CHCA は水溶性であるため、湿度が高い環境では試料/マトリックス混合溶液の乾燥過程でポリマー成分が先に固化してしまい、均一な混合結晶をうまく調製することが困難になることが多い。そこで本研究では、当初はポリエステルやポリエーテルの測定に DHB を用いたが(3.1 節)、その後、水に不溶であるため吸湿による混合結晶の質の低下が起こりにくい THAP を主に用いた (5.1 節、5.2 節、5.3 節)。ジスラノール (1,8-ジヒドロキシ-9[10H]-アントラセノン) および DCTB と呼ばれる *trans*-2-[3-(4-*tert*-ブチルフェニル)-2-メチル-2-プロペニリデン]マロノニトリルは、芳香族ポリマーなど低極性ポリマーのイオン化に良く用いられる。ただし、ジスラノールは、試薬のグレードによって、ジスラノールの酸化物であるダンスロンやジスラノールの重合体が含まれ、 m/z 1000 を超える質量域でも観測されることがあるので注意を要する[5,7]。DTCB は、低いレーザー強度で比較的幅広い種類のポリマーをイオン化することができる。本研究では、3.2 節において、これまで最適なマトリックス剤が報告されていなかったエチレン-酢酸ビニル共重合体 (EVA) の測定に対して、DCTB を使用し、著者らの知る限り、初めて EVA の MALDI マススペクトルを観測することに成功した。また、4.1 節では、DCTB が溶媒を用いない試料調製法 (ソルベントフリー法、2.2.3 節で後述) に適していることから、極性ポリマーであるポリエーテルの測定にも用いた。また、4.2 節では臭素系難燃剤の測定も行った。

Table 2-1 Matrix reagents used for polymer analysis.

Name (abbreviation) Composition formula (molecular weight)	Chemical structure	Characteristics	Used samples and sections in this study
2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) C ₇ H ₆ O ₄ (MW 154.1)		Suitable for polar polymers Often use for polyesters and polyethers Strong acidity	(a), (b), (c), (d) [Sec. 3.1] (e) [Sec. 5.1]
α -cyano-4- hydroxycinnamic acid (CHCA) C ₁₀ H ₇ NO ₃ (MW 189.2)		Suitable for polar polymers Often use for polyesters and polyethers	Not used in this study
2',4',6'-trihydroxy acetophenone (THAP) C ₈ H ₈ O ₄ (MW 168.1)		Suitable for polar polymers Use to avoid decomposing for the strong acidity of DHB	(e) [Sec. 5.1] (a), (f), (g) [Sec. 5.2] (h) [Sec. 5.3]
1,8-dihydroxy-9[10H]- anthracenone (Dithranol) C ₁₄ H ₁₀ O ₃ , (MW 226.2)		Suitable for non-polar polymers Often use for aromatic hydrocarbons	Not used in this study
<i>trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> - Butylphenyl)-2-methyl- 2-propenylidene] malononitrile (DCTB) C ₁₇ H ₁₈ N ₂ (MW 250.3)		Suitable for non-polar polymers Ionize at lower laser intensity Applicable to unstable samples	(i) [Sec. 3.2] (d), (e) [Sec. 4.1] (j) [Sec. 4.2]

(a) PCL: poly(α -caprolactone), (b) PEO: poly(ethylene oxide), (c) PPO: poly(propylene oxide), (d) P(EO-*b*-PO-*b*-EO): PEO-*block*-PPO-*block*-PEO, (e) PEO monostearate, (f) P3HB: poly(3-hydroxybutyric acid), (g) P(3HB-*co*-3HV): poly(3-hydroxybutyrate-*co*-3-hydroxyvalerate), (h) PC: polycarbonate, (i) EVA: poly(ethylene-*co*-vinyl acetate), (j) FRPC: flame retardant polycarbonate.

2.2.2 カチオン化剤の選択

測定対象が合成ポリマーの場合、中性の試料分子をカチオン付加分子($[M + \text{metal}]^+$)としてイオン化するために、 Na^+ 、 K^+ 、および Ag^+ などの金属イオンの塩を添加することが多い[8]。この際に試料に加える塩をカチオン化剤という。特定のカチオン化剤を加えることにより生成するイオン種を絞り込むことができ、得られるイオンの強度を増大させることができる。カチオン化剤の選択もマトリックス剤の選択と同様に、得られるマススペクトルの質に大きな影響を与える。

化学構造中に酸素を含み、極性が大きい試料のイオン化に対しては、ナトリウム塩が良く用いられる。ポリマー材料の良溶媒に可溶であるトリフルオロ酢酸ナトリウム (NaTFA) やヨウ化ナトリウム(NaI)を用いることが多い。 NaI を用いる場合には、クラスターピークが観測されることが多く、ピークの帰属には注意が必要である。そのため本研究では、 NaTFA を用いた(3.2節、4.1節、4.2節)。なお、ナトリウム塩は環境中に多く含まれるうえ、試料調製で用いるガラスバイアルなどからも溶出するため、あえてカチオン化剤として添加しなくても、 $[M + \text{Na}]^+$ を観測することができることが多い。本研究では、試料調製でガラス容器を積極的に用いたため、カチオン化剤の添加を行わずに測定を行った場合もあった(3.1、5.1節)。また、前処理で Na を添加している場合もカチオン化剤は用いなかった(5.2、5.3節)。

芳香族化合物のイオン化に対しては、芳香環との親和性が高い Ag^+ を付加させて $[M + \text{Ag}]^+$ を観測するために、カチオン化剤としてトリフルオロ酢酸銀 (silver trifluoroacetate, AgTFA) などの銀塩が用いられる。銀は、 ^{107}Ag に対して強度比0.9で ^{109}Ag にも同位体をもつので、 $[M + \text{Ag}]^+$ は、モノアイソトピックピークから+2 Daにほぼ同強度のピークが観測される。さらに、 Ag^+ のクラスターもしばしば観測され、解析対象のピークが妨害されるため、注意が必要である[9]。本研究では、4.2節および5.3節で用いた芳香環を含むポリカーボネート (PC) が銀塩の適用候補であるが、PCはカーボネート結合との親和性が高い Na^+ を付加させてイオン化することもできる。特に、本研究で用いた臭素化ポリカーボネートは、繰り返し構造内に含まれる臭素原子が、銀と同じく、2 Da 違いでほぼ等量の同位体(^{79}Br と ^{81}Br)をもつ。そのため、銀塩を用いると構造決定が難しくなるので、銀塩を加えずに測定を行い、 $[M + \text{Na}]^+$ としてイオンを観測した。

2.2.3 試料調製

MALDI-TOFMSの測定を行うためには、マトリックス剤と試料の混合結晶を作製する必要がある。Table 2-2に本研究で用いた試料調製法を示し、以下、各試料調製法の概略を述べる。

液滴乾燥 (dried droplet) 法は、最も簡単で広く用いられている試料スポットの調製

法である。この方法では、試料、マトリックス剤、およびカチオン化剤はすべて溶媒に溶解して使用する。試料とカチオン化剤は、良溶媒に約 1~2 mg/mL になるように溶解し、マトリックス剤は約 10~20 mg/mL になるように同じく良溶媒に溶解する。次に、測定用プレートにカチオン化剤溶液 1 μ L を滴下・乾燥する。そして、その上から試料とマトリックス剤溶液を約 1/10 (v/v) の割合で混合した混合溶液約 1 μ L を滴下・乾燥し、MALDI-TOFMS 測定用試料スポットとする。この方法では、マトリックス剤溶液と試料溶液をあらかじめ混和することから、両者で用いる溶媒の相溶性を考慮する必要があり、同じ溶媒を用いることが望ましい。本研究では、マトリックス剤と共通の溶媒を使用することができる試料の調製には、液滴乾燥法を適用した。

二層法[10]は、試料とマトリックス剤の各溶液を、それぞれ別に塗布する方法である。これは、試料とマトリックス剤の共通溶媒が存在しない場合に適している。また本研究では、**5.2**節および**5.3**節において、それぞれポリエステル試料およびポリカーボネート試料を MALDI 用ターゲットプレート上でアルカリ分解処理をしてから、その上にマトリックス剤を添加するために、二層法を用いた。

一方、ソルベントフリー (solvent-free) 法[11-13]は、溶媒を用いずに試料とマトリックス剤を混合する方法であり、溶媒に不溶な試料に対しても適用できる画期的な試料調製法である[11]。この方法を用いれば、溶媒と試料、マトリックス剤およびカチオン化剤の相溶性を考慮する必要がなく、幅広いマトリックス剤の選択が可能になる。このため、溶媒に不溶なポリマー以外の試料に対しても幅広く適用されるようになった。ソルベントフリー法では、試料、マトリックス剤、およびカチオン化剤を乳鉢ですり潰しながら混合することで測定用試料を調製する。このように物理的にマトリックス剤と試料を混和するため、通常の溶媒を用いた試料調製法に比べ、より均質にマトリックス剤と試料が混和され、再現性の高い測定が可能になる。小さな鉄球とボルテックスミキサーを用いて数十秒攪拌することにより試料作製を行った例では、粒径数百 μ m のマトリックス剤は、数 μ m にまで細分化されていることが電子顕微鏡観察により確かめられている[14]。また、同時に二次イオン質量分析法 (SIMS) により、得られた試料・マトリックス剤の混合物が均質であることが確かめられている。これらの報告からも、約 20 μ m であるレーザー光の照射半径に対して、十分に均質であるといえる。得られた混合物は、スパチュラなどで測定プレートにこすりつけ、ブロワーなどで密着しなかった試料を吹き飛ばす。測定プレートへの密着が不十分な場合には、レーザー照射時にマトリックス剤が飛び散り、イオン源を汚染することがあるので注意が必要である。本研究では、**4.1**節において化学構造が異なる試料を同一の条件で測定するため、ソルベントフリー法を用いた。

Table 2-2 Sample preparation methods used in this study.

Sample preparation methods	Characteristics	Applied section in this study
Dried droplet	Premixed sample solution and matrix solution before spotting on the plate	Sec. 3.1, 3.2, 4.2, 5.1, 5.3
Two layer	Spotting sample solution and matrix solution separately	Sec. 5.2
Solvent free	Mix matrix reagents and samples without solvents	Sec. 4.1,

2.2.4 測定装置

本研究では、複雑な組成をもつ工業用ポリマー材料のキャラクタリゼーション法の開発を目的として、複雑な組成を持つ試料を解析対象としている。そのためには、高分解能質量分析を行って、元素組成が異なるが質量数が一致する同重分子のイオンを分離し、それぞれを元素組成解析して帰属を行う必要がある。そこで本研究では、**1.2.2**節で述べたように高分解能質量分析が可能な spiral-TOFMS である、JMS-S3000 SpiralTOF（日本電子製）を用いて行った。この装置は、波長 349 nm の Nd: YLF レーザーと、飛行長約 17 m のらせん型イオン軌道を備えている。レーザー光の発振周波数はソルベントフリー法を用いた **4.1** 節で 250 Hz に設定した以外は 20 Hz に設定し、加速電圧は 20 kV とした。**1.2.2** 節で述べた遅延引き出し法を用いるための設定である遅延時間 (delay time) やグリッド電圧の設定は、測定対象のポリマーの分子量により異なるが、 m/z 800 ~ 3000 の質量範囲において、ピークの半値幅 (full width at half maximum, FWHM) がおおむね 0.03 Da 未満になるように最適化した。この設定によって、例えば元素組成で CH₄ と O の違いである 0.036 Da の分離が可能になる。また、特に明記しない限り、得られたマススペクトルの解析には msTornado Analysis（日本電子製）を用い、KMD 法を用いた解析には msRepeatFinder（日本電子製）を用いた。

2.2.5 キャリブレーション

高分解能質量分析計の高分解能を生かしたデータ解析を行うためには、正確なキャリブレーション (質量校正) を行なうことが必須である。キャリブレーションの方法には、外部標準法、内部標準法、および自己キャリブレーション法がある。

外部標準法は、試料スポットと別の場所に質量既知の標準試料 (キャリブラント) を用いたスポットを作成し、キャリブレーションを行う。この場合、キャリブラントのスポットはできるだけ試料スポット近傍に作成する。

より高い精度のキャリブレーションを行なう必要がある場合には、試料にキャリブラントを混合して試料スポットを作成し、その試料スポットを測定して得られたマススペ

クトルに対してキャリブレーションを行う、内部標準法を用いる。この方法では、試料分子とキャリブラントが同一条件で同時にイオン化するため、イオン化の過程でのばらつきが相殺されるので、外部標準法よりも高い質量精度を持つデータが得られる。ただし、一般的に用いられるキャリブラントのイオン化効率には試料よりも大きいことが多いので、同程度のピーク強度になるようにキャリブラントの濃度を調整するには、試行錯誤が必要である。キャリブラントは、測定試料と同じマトリックス剤を使うことができ、測定に必要な質量範囲をカバーする分子量範囲を持ち、測定試料と同じ種類のものであることが望ましい。本研究では、ポリメタクリル酸メチル (PMMA) およびポリエチレングリコール (PEG) のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 用標準試料を用いた。

もし、測定試料のマススペクトル中に構造既知のピーク系列がある場合には、それらの質量を用いてキャリブレーションを行う、自己キャリブレーション法が有効である。この方法は、内部標準法の一つであるが、測定試料の成分をキャリブラントとして用いるため、キャリブレーションのための試料調製や測定が不要である上に、最も高い質量精度を得ることができる非常に便利な方法である。一方、誤った帰属結果を用いてキャリブレーションを行ってしまう危険性を含んでいるため、この方法を適用する場合は測定結果の慎重な検証が求められる。例えば、このキャリブレーションを用いて求められたピーク質量をもとに帰属した構造に合理性があるか、しばしば観測されるフタル酸エステルやポリジメチルシロキサンなどのバックグラウンドピークの質量が合致しているか、などの二重三重のチェックを行う必要がある。本研究では、内部標準法あるいは外部標準法で大まかにキャリブレーションを行った後、自己キャリブレーション法を行って、質量誤差が数 ppm 以内となる精密質量を得た。

2.2.6 高分解能 MALDI-TOFMS で観測されるマススペクトルの解析

正確なキャリブレーションによって精密質量が得られたら、次にポリマーの化学構造を決定するために有用となる元素組成の解析を行う。以下、精密質量を用いて化学構造を決定する過程を説明するために、5.2 節で用いたポリエチレンテレフタレート (PET) の環状 5 量体を帰属した例を述べる。

Fig. 2-2 に PET の m/z 900-2000 のマススペクトル (Fig. 2-2A) および m/z 982-987 のマススペクトル (Fig. 2-2B) を示す。Fig. 4-2A 示したマススペクトルでは、重合度が異なる成分のピークが周期的に観測されている。そのなかで、 m/z 982-987 付近のピークを拡大した Fig. 2-2B を見ると、ほぼ 1 Da 間隔で複数のピークが観測されている。これは、PET を構成する元素である C、H、O の同位体分布を反映しているためである。これらのうち、最も低質量側の m/z 983.2000 で観測されているイオンは、すべての元素で最も軽い同位体 (^{12}C 、 ^1H 、 ^{16}O) から構成されており、その同位体の組み合わせは 1 種類しかない。このように単一の同位体から構成される成分のピークをモノアイソ

トピックピークといい、その質量をモノアイソトピック質量という。一方、他のピークはすべて複数の同位体組成があり、その違いを MALDI-TOFMS では識別することができない。そのため、**1.2.3** 節(2)で述べた化学構造解析は、モノアイソトピックピークの精密質量を用いて行う。

Fig. 2-2A で m/z 983.2000 のピークよりも高質量側で観測されているモノアイソトピックピークである m/z 1175.2419 との質量差は 192.0419 Da であり、これと PET の繰り返し単位($C_{10}H_8O_4$)の計算質量である 192.0423 の誤差は、わずか 0.004 Da であった。

次に m/z 983.2000 のピークの化学構造を推定する過程を示す。前章の式 1-7 で示したように、観測されたイオンの質量はポリマー分子とカチオンの質量の和として観測される。このイオンはナトリウム付加体として観測されているため、まず初めにナトリウムの精密質量である 22.9898 を差し引く。なお、ナトリウムは ^{23}Na しか存在しない単核種元素である。次に、その残りの質量である 960.2102 を繰り返し単位の精密質量である 192.0423 で除すると、その商は 5 であり、余りがないことから、末端構造をもたない環状体の 5 量体であると帰属できる。すなわち、この構造は $[(C_{10}H_8O_4)_5+Na]^+$ で表され、その計算質量は 983.2011 となり、観測された質量との違いはわずか 0.0011 Da (1.1 ppm) である。このように、キャリブレーションを正しく行ったマススペクトルから決定した精密質量を用いれば、正確な化学構造解析が可能である。

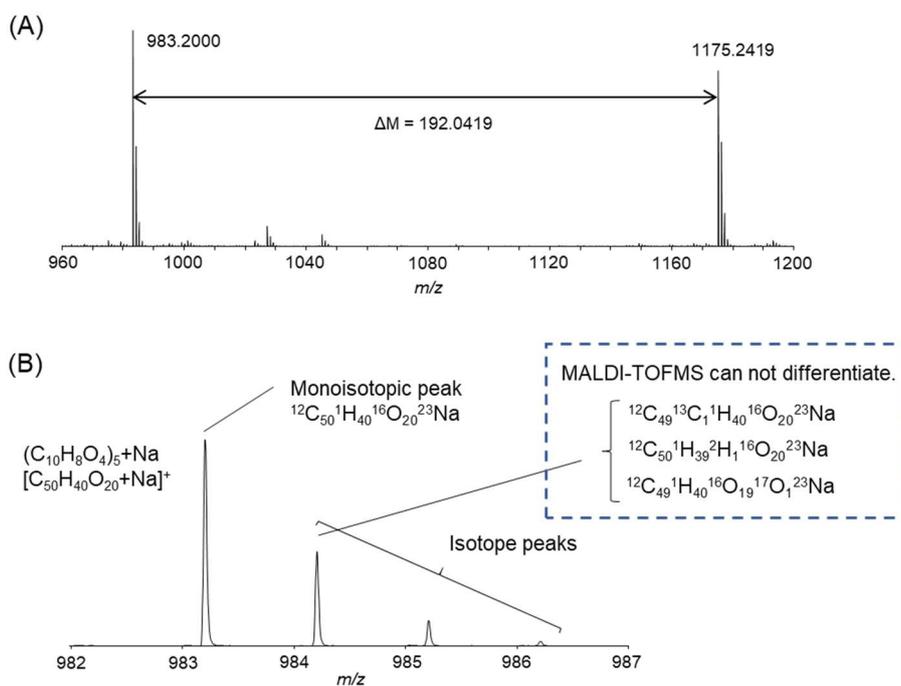


Fig. 2-2 Mass spectra of PET (A) m/z 900-2000, (B) m/z 982-987.

しかし、実材料は多種の成分の混合物になっていることが多く、これらの測定・解析を行う場合、今回示した例のように簡単に繰り返し単位に相当するピークを膨大な数のピークからなるマススペクトル中から探し出すことすら困難になる。もし、マススペクトル中でどのピークが同じポリマー種由来のピークであるかを決定することができれば、マススペクトルの解析は容易になるであろう。そこで本研究では、膨大な数の構成成分のピークを、精密質量から導き出される化学構造の類似性で分類し、二次元マップに展開して可視化する、ケンドリックマスディフェクト (Kendrick mass defect; KMD) 法[15-17]を、初めて高分解能 MALDI-TOFMS で観測されるポリマー材料のマススペクトルの解析に導入した (3.1 節)。さらに、二次元マップ上で表現される各成分の分布をより高分解能化する方法を考案し、複雑な組成を持つ工業用ポリマー材料に対して観測される高分解能マススペクトルの実用的なデータ解析法を開発した (第 4 章)。KMD 法の詳細については、第 3 章及び第 4 章で述べる。

第2章 参考文献

- [1] 中村健道, 内藤康秀, 平岡賢三, 佐藤浩昭, 日本質量分析学会出版委員会訳: “マ
ススペクトロメトリー”, 原書3版, pp.521-528 (2020), (丸善出版); J. H. Gross:
“Mass Spectrometry” (2017), (Springer).
- [2] R. Zenobi, R. Knochenmuss, *Mass Spectrom. Rev.*, **17** (1998) 337-366, Ion
formation in MALDI mass spectrometry. doi: org/10.1002/(SICI)1098-
2787(1998)17:5<337::AID-MAS2>3.0.CO;2-S
- [3] R. Knochenmuss, *Analyst*, **131** (2006) 966-986, Ion formation mechanisms in UV-
MALDI. doi: 10.1039/b605646f
- [4] 大谷肇, ネットワークポリマー, **32** (2011) 219-227, 質量分析法によるポリマーキ
ャラクタリゼーション. doi: 10.11364/networkpolymer.32.219
- [5] 佐藤浩昭, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **64** (2016) 191-195, 合成高分子の測定で用
いられる MALDI マトリックス. doi: 10.5702/massspec.S16-40
- [6] H. Sato, H. Ohtani H, S. Tsuge, N. Hayashi, K. Katoh, E. Masuda, K. Ohnishi, *Rapid
Commun. Mass Spectrom.*, **15** (2001) 82-88, Structural characterization of
polyoxymethylenes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass
spectrometry. doi: 10.1002/1097-0231(20010130)15:2<82::AID-
RCM194>3.0.CO;2-P
- [7] 佐藤浩昭, 中村清香, 第19回高分子分析討論会講演要旨集 (2014) pp. 119-120
- [8] R. Knochenmuss, E. Lehmann, R. Zenobi, *Eur. Mass Spectrom.*, **4** (1998) 421-427,
Polymer cationization in matrix-assisted laser desorption/ionization. doi:
10.1255/ejms.266
- [9] S. F. Macha, P. A. Limbach, S. D. Hanton, K. G. Owens, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*,
12 (2001) 732-743, Silver cluster interferences in matrix-assisted laser
desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry of nonpolar polymers. doi:
10.1021/jasms.8b01637
- [10] Y. Dai, R. M. Whittal, L. Li, *Anal. Chem.*, **71** (1999) 1087-1091, Two-layer sample
preparation: a method for MALDI-MS analysis of complex peptide and protein
mixtures. doi: 10.1021/ac980684h
- [11] R. Skelton, F. Dubois, R. Zenobi, *Anal. Chem.*, **72** (2000) 1707-1710, A MALDI
sample preparation method suitable for insoluble polymers. doi:
10.1021/ac991181u
- [12] S. Trimpin, A. Rouhanipour, R. Az, H. J. Räder, K. Müllen, *Rapid Commun. Mass
Spectrom.*, **15** (2001) 1364-1373, New aspects in matrix-assisted laser

- desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a universal solvent-free sample preparation. doi: 10.1002/rcm.372
- [13] S. Trimpin, S. Keune, H. J. Räder, K. Müllen, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **17** (2006) 661-671, Solvent-free MALDI-MS: Developmental improvements in the reliability and the potential of MALDI in the analysis of synthetic polymers and giant organic molecules. doi: 10.1016/j.jasms.2006.01.007
- [14] S. D. Hanton, T. M. McEvoy, J. R. Stets, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **19** (2008) 874-881, Imaging the morphology of solvent-free prepared MALDI samples. doi: 10.1021/jasms.8b03204
- [15] E. Kendrick, *Anal. Chem.*, **35** (1963) 2146-2154, A mass scale based on $\text{CH}_2 = 14.0000$ for high resolution mass spectrometry of organic compounds. doi: org/10.1021/ac60206a048
- [16] C. A. Hughey, C. L. Hendrickson, R. P. Rodgers, A. G. Marshall, K. N. Qian, *Anal. Chem.*, **73** (2001) 4676-4681, Kendrick mass defect spectrum: A compact visual analysis for ultrahigh-resolution broadband mass spectra. doi: org/10.1021/ac010560w
- [17] L. Sleno, *J. Mass Spectrom.*, **47** (2012) 226-236, The use of mass defect in modern mass spectrometry. doi: org/10.1002/jms.2953

第 3 章

ケンドリックマスディフェクト (KMD)
解析を用いたポリマー分析法の開発

第 3 章 ケンドリックマスディフェクト (KMD) 解析を用いたポリマー分析法の開発

3.1 MALDI spiral-TOFMS と KMD 法を組み合わせたポリマーの構造キャラクタリゼーション法の開発

3.1.1 緒言

1.2 節で述べたように、ポリマーのキャラクタリゼーションにおいて MALDI-TOFMS は、非常に有効な方法であるといえる。また、TOFMS の高性能化により高分解能のマススペクトルが得られるようになり、同重分子の分離や精密質量からの組成解析も可能になった。しかし、組成が複雑な試料の解析を、高分解能質量分析を用いて行おうとした場合、必然的に、非常に多くのピークからなるデータを扱うことになる。そのため、効果的なデータ処理の方法が不可欠であり、その際にピークの帰属を必要としないことが望ましい。そこで本研究では、膨大な数の構成成分のピークを、精密質量から導き出される化学構造の類似性で分類し、二次元マップに展開して可視化する、ケンドリックマスディフェクト (Kendrick mass defect; KMD) 法[1-3]を、MALDI-TOFMS によるポリマーの構造キャラクタリゼーション法に導入することを試みた。

質量分析では、通常は国際純正・応用化学連合(IUPAC)が定義した、統一原子質量単位による質量 (IUPAC 質量) を用いる。この定義によれば、有機化合物を構成する主な元素のモノアイソトープの質量は、 $^{12}\text{C} = 12.0000 \text{ u}$ (正確に)、 $^1\text{H} = 1.0078 \text{ u}$ 、 $^{16}\text{O} = 15.9949 \text{ u}$ である。一方、KMD 解析法では、同族体の精密質量の小数部が同じ値になるように、IUPAC 質量を新しい質量尺度 (ケンドリック質量という) に変換する[1]。すなわち、ケンドリック質量(KM)は、観測されたイオンの質量(M_{ion})に、繰り返し単位の基準とする構造 (ベースユニットという) の精密質量(M_{bu})と、それを四捨五入した整数質量($\text{round}(M_{bu})$)の比を乗じて以下の式 3-1-1 のように計算する。なお、以下単に「質量」という場合には、IUPAC 質量を示す。

$$KM = M_{ion} \times \frac{\text{round}(M_{bu})}{M_{bu}} \quad (\text{式 3-1-1})$$

たとえば、炭化水素の同族体 (ホモログ) を識別するために、ベースユニットを炭化水素鎖の繰り返し単位である CH_2 に設定すると、その IUPAC 質量である 14.01565 は、ケンドリック質量では正確に 14 であると定義された質量スケールに変換され、式 3-1-2 で表される。

$$KM(\text{CH}_2) = M_{ion} \times \frac{14}{14.01565} \quad (\text{式 3-1-2})$$

KMD は、精密なケンドリック質量(KM)と整数ケンドリック質量(NKM)の差と定義される。

$$NKM = \text{round}(KM) \quad (\text{式 3-1-3})$$

$$KMD = NKM - KM \quad (\text{式 3-1-4})$$

x 軸に NKM 値を、y 軸に KMD 値をプロットして二次元のバブルチャート (KMD プロットという) を作成すると、鎖長が異なる飽和炭化水素類は 14 間隔で x 軸方向に水平分布し、不飽和結合や他の官能基を有する成分はその水平プロットから y 軸方向にずれた位置にプロットされるため、構造異性体の存在を容易に識別することができる [2]。

KMD 法は、これまで、超高分解能であるフーリエ変換型質量分析計 (FTMS) を、エレクトロスプレーイオン化法と組み合わせて、主に石油 [2, 4]、天然有機物 [5, 6]、および脂質試料 [7, 8] のキャラクタリゼーションに用いられてきた。FTMS は、100k を超える分解能で同重分子のピークを分離することができ、その卓越した分解能と質量精度から化合物の構造解析に非常に有効な手法ではある。しかし、現時点では、MALDI-FTMS は、ポリマー分析に理想的な方法ではない。それは、生成されたイオンがセルにトラップされる際に起こるマスディスクリミネーションにより精密質量が得られる質量域が限定的であること [9-12] に加え、イオンをトラップしてサイクロン運動させながらイオンを検出するのにミリ秒から数十秒の時間が必要であるのに対し、MALDI により生成するイオンの寿命はそれより短いことが多く、特異的に安定なイオンのみしか検出されないためである。実際に、FTMS を用いたポリマーのキャラクタリゼーションは、あまり報告されておらず [13-16]、著者の知る限りでは KMD 法をポリマーのキャラクタリゼーションに用いた例は、本研究を行った時点 (2014 年) では報告されていなかった。

MALDI spiral-TOFMS は、数 ppm 以内の高い質量精度と、同じ整数質量をもつ同重分子を分離するのに十分な分解能を備えていることから、これまで FTMS の独壇場であった KMD 法を、MALDI spiral-TOFMS を用いたポリマーのキャラクタリゼーションに応用することが可能になると期待される。そこで本研究では、MALDI spiral-TOFMS と KMD 法を組み合わせ、ブレンド試料における各ポリマー成分の分離や共重合ポリマーの共重合組成解析、さらに異なった条件下で合成を行ったポリマーの末端基構造を含む構造分布解析へ応用した。

3.1.2 実験

(1) 試料調製

試料には、ポリエチレンオキシド (PEO)、2 種類のポリプロピレンオキシド (PPO)、PEO と PPO のブロック共重合体 (P(EO-*b*-PO))、および末端構造の異なる 4 種のポリ (ϵ -カプロラクトン) (PCL) を用いた。各試料の構造や供給元情報を Table 3-1-1 に示した。

Table 3-1-1 The polymer samples used in this study.

Sample name	Probable chemical structure ^a	Molecular weight	Supplier and product code
Poly(alkylene oxide) samples			
PEO	HO-(EO) _n -H	$M_n = 2050$	Sigma-Aldrich, 295906-5G
PPO-diol	HO-(PO) _n -H	ca. 2000	Wako, 164-05895
PPO-triol	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{O}-(\text{PO})_a-\text{H} \\ \\ \text{HC}-\text{O}-(\text{PO})_b-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-(\text{PO})_c-\text{H} \end{array}$	ca. 1500	Wako, 164-17625
P(EO- <i>b</i> -PO)	HO-(EO) _a -(PO) _b -(EO) _c -H (a+c)/b = 50/50 (w/w) = 44/56 (mol/mol)	ca. 1900	Sigma-Aldrich, 435414-250ML

Poly(ε-caprolactone) samples			
PCL-1	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-(\text{CL})_a-\text{H} \\ \\ \text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-(\text{CL})_b-\text{H} \end{array}$	ca. 10000	Sigma-Aldrich, 440752-250G
PCL-2	(CH ₂) ₂ CHO-(CL) _n -H	$M_n = 8000$ $M_w = 10000$	Polymer Source, P1302-CL
PCL-3	(CH ₂) ₂ CHO-(CL) _n -H	$M_n = 7700$ $M_w = 8900$	Polymer Source, P1933-CPL
PCL-4	C ₂ H ₅ O-(CL) _n -H	$M_n = 3500$ $M_w = 5200$	Polymer Source, P1934-CPL

^a EO = CH₂CH₂O, PO = CH(CH₂)CH₂O, CL = CO(CH₂)₅O

PEO、PPO、およびその共重合体は、約 1 mg/mL になるようにメタノール（富士フィルム和光純薬製）に溶解した。さらに、PEO、PEO-diol、および PPO-triol を(1/1/1, w/w/w)になるように混合してブレンド試料を調製した。PCL は、約 1 mg/mL になるようにテトラヒドロフラン(THF、富士フィルム和光純薬製)に溶解した。

(2) MALDI-TOFMS 測定

マトリックスには 2,5-ジヒドロキシ安息香酸(DHB、富士フィルム和光純薬製)を用い、約 10 mg/mL になるようにメタノールあるいは THF に溶解した。試料溶液とマトリックス溶液を 1/10 (v/v)になるように混合し、それをターゲットプレートに 1 μL 滴下・乾燥させて試料スポットを調製した。MALDI-MS 測定は JMS-S3000 SpiralTOF (日本電子製) を用いて行った。

3.1.3 結果と考察

(1) KMD プロットによるブレンド試料を構成する各ポリマー成分の分布の可視化

Fig. 3-1-1 に、PEO、PPO-diol、および PPO-triol を混合したブレンド試料のマススペクトルを示す。分布の極大が m/z 1500 付近と m/z 2000 付近の 2 か所にあるマススペクトルが得られた。低質量側の分布は PPO-triol によるものであり、その平均分子量は約 1500 であった。高分子量側の分布では、PPO-diol と PEO 由来のピークの重複が見られた。本検討で得られた分解能は m/z 1450 で 46,100、 m/z 2130 で 71,500 であり、かつ質量確度は 2 ppm 以内であった。この高い分解能及び質量確度は、MALDI spiral-TOFMS で得られるデータを用いても KMD 解析を十分に行い得ることを示している。

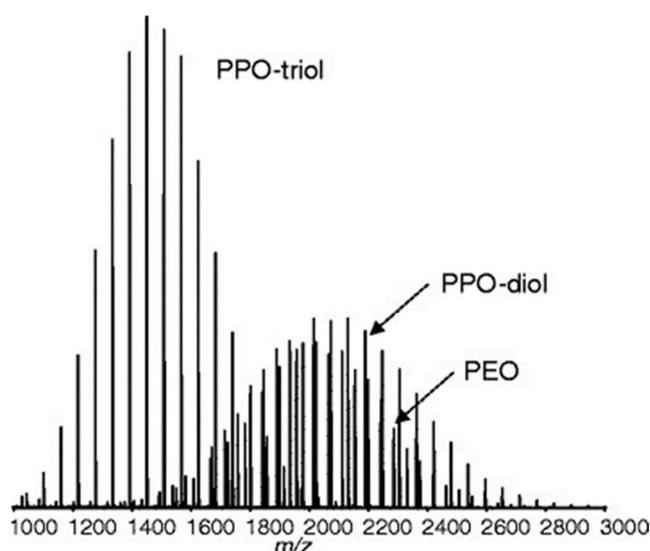


Fig. 3-1-1 MALDI mass spectrum of the blend of PEO, PPO-diol, and PPO-triol samples with a ratio of 1:1:1 (w/w/w)

KMD 法では、まず観測されたイオンの質量(M_{ion})を、式 3-1-1 を用いて KM に変換する。ここでは、PO のモノマー単位(C_3H_6O , 精密質量 58.04187)をベースユニットに設定し、式 3-1-1 に基づいて各イオンの質量の KM を式 3-1-5 のように求めた。

$$KM = M_{ion} \times \frac{58}{58.04187} \quad (\text{式 3-1-5})$$

さらに得られた KM から、式 3-1-3 および式 3-1-4 を用いて NKM および KMD を計算した。このようにして得られた NKM 値を x 軸に、 KMD 値を y 軸にとってプロットしたブレンド試料の KMD プロットを、Fig. 3-1-2 に示す。

このプロット上で、ブレンド試料中に含まれる 3 成分は明確に分離でき、色の違いで表した。また、相対ピーク強度は各ドットの大きさで表した。この KMD プロット上で、

2種類のPPO鎖（Fig. 3-1-2中ではPPO-diolを緑色、PPO-triolを赤色で示した）はどちらも水平方向に並ぶが、KMD値の違いにより両者を上下に分離することができた。一方、PPO鎖と繰り返し単位が異なるPEO鎖は、斜め方向に並び、Fig. 3-1-2中では青色で示した。なお、各ドットの列が上下に膨らんで見えるのは、同位体分布を反映しているためである。最も特筆すべき点として、Fig. 3-1-1で示したマススペクトルでは重複が見られた m/z 1500 から 2500 の間の分布が KMD プロット上では明確に分離できるようになった。

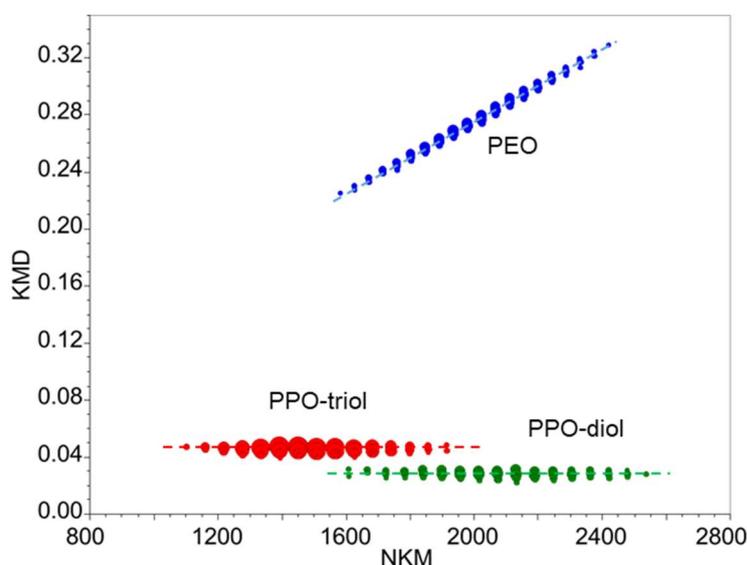


Fig. 3-1-2 Two-dimensional plots of KMD versus NKM of the blend sample using a mass scale based on PO units. The size of each dot indicates peak intensity. The peaks with more than 5% relative intensities were plotted.

次にこの結果を検証するために、**1.2.3**節(2)で示した式 1-7 を用いて M_{ion} を計算し、さらに式 3-1-2～式 3-1-4 を用いて各成分のイオンの KMD 値の理論値を求めた。PPO-diol イオン ($[\text{HO}-(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})_n\text{-H} + \text{Na}]^+$) のモノアイソープの KMD の理論値は、その残基 (H_2O) および Na^+ の質量から 0.029 であり、PPO-triol イオンの KMD の理論値は、その残基 ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) および Na^+ の質量から 0.046 である。つまり、Fig. 3-1-2 で示した 2 本の線の KMD 値は、PPO の 2 種類の同族体イオンの KMD の理論値にほぼ一致しており、その分布を反映している。一方、PEO 鎖に関しては、EO 単位 ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) の IUPAC 質量は 44.026 Da であり、EO 単位が 1 つ増えるごとに、x 軸の NKM 値は 44 ずつ増加し、y 軸の KMD 値は 0.006 ずつ増加するため、右斜め上方向にドットが分布することになる。

このように、ポリマーの同族体の分子量分布を示す系列線は、末端基などの残基組成の違いによらず、KMD プロット上で同じ傾きになることを示している。一方、残基構造の違いは、系列線の y 軸の値に影響する。すなわち、KMD プロット上のポリマーの分布線の傾きと y 切片値は、そのポリマーの元素組成に特有である。以上より、KMD プロットは単に構成成分を分離するのに有用だけでなく、あらかじめ KMD の理論値を計算しておくことにより、各構成成分のタイプを迅速に識別することにも有用であることが示された。

(2) KMD プロットによる共重合体のコモノマー組成分布の可視化

次に本法を共重合体のコモノマー組成分布の解析へと拡張した。Fig. 3-1-3 に、P(EO-*b*-PO)のマススペクトルとその拡大マススペクトルを示す。ピークは m/z 800-3000 の範囲に分布し、分布の最大は m/z 1800 付近に見られた。P(EO-*b*-PO)のマススペクトルは 2 Da 間隔で強く現れるピークからなり、Fig. 3-2-3 の拡大マススペクトルに示すように EO_xPO_y と $\text{EO}_{x+4}\text{PO}_{y-3}$ の質量差に相当する。各ピークはさらに第 2 同位体ピークに重複するが、spiral-TOFMS を用いればこれらを分離することができる。一例をあげると $\text{EO}_9\text{PO}_{15}$ のモノアイソトピックピーク (m/z 1307.8634) の近くにショルダーピークとして $\text{EO}_5\text{PO}_{18}$ の第 2 同位体ピーク (m/z 1307.8898) が観測されており、spiral-TOFMS を用いると、質量分解能 62,700 で、0.026 Da の質量差を分離することが可能であった。

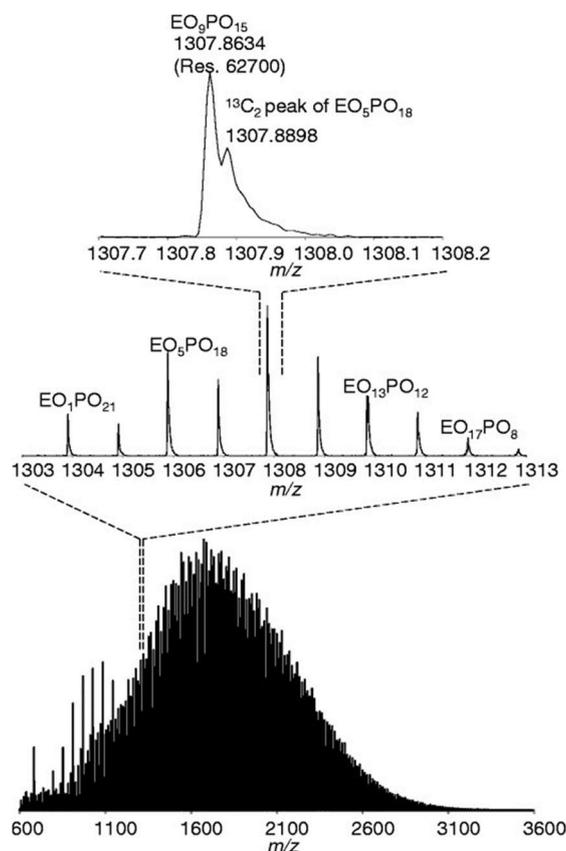


Fig. 3-1-3 Mass spectra of P(EO-*b*-PO). Broad-band mass spectrum (bottom); expanded mass spectrum in the range m/z 1303–1313 (middle); m/z 1307.7–1308.2 (top)

Fig. 3-1-4 に、PO 単位をベースユニットにした P(EO-*b*-PO)_n の KMD プロットを示す。観測されたマススペクトルの中で、相対強度 10%以上のピークを、同位体ピークも含めてすべて NKM 値および KMD 値に変換した。各成分は、プロット上で斜め右上方向にきれいに分布し、EO/PO の共重合組成を反映していた。EO 単位数が同一で PO 単位数の数が異なる共重合体は、58 間隔で水平方向に並んで観測された。同じ数の PO 単位をもつ共重合体は、EO 単位が 1 つ増えるたびに NKM 値が 44、KMD 値が 0.0055 ずつ増加する。各成分は、Fig. 3-1-4 に示されるように、EO 単位数 0~35、PO 単位数 13~23 の範囲に分布している。また、EO = 0 のドットは、PO のホモポリマーの存在を示す。以上のように、得られた KMD プロットから、PEO ブロック部分は重合度が 13~23 であり、PPO ブロックの両端から伸びていることが示唆された。分布の重心の NKM 値は約 1870、KMD 値は約 0.140 であった。さらに P(EO-*b*-PO) の *NKM* および *KMD* は、それぞれのモノマー単位数を n_{EO} および n_{PO} とすると、以下の式で計算する

ことができる。

$$NKM = n_{EO} \times 44 + n_{PO} \times 58 + 18 + 23 \quad (\text{式 3-1-6})$$

$$KMD = 0.0055 \times n_{EO} + 0.0293 \quad (\text{式 3-1-7})$$

ここで、式中に含まれる整数値(44, 58, 18, 23)は、それぞれEO単位、PO単位、末端基、およびナトリウムカチオンの整数質量である。式3-1-7において、0.0055はEO単位のKMD値であり、0.0293は末端基とナトリウムカチオンの合計(H₂ONa)のKMD値である。さらに、式3-1-6および式3-1-7から、 n_{PO} と n_{EO} は以下の式で求められる。

$$n_{EO} = (KMD - 0.0293) / 0.0055 \quad (\text{式 3-1-8})$$

$$n_{PO} = (NKM - n_{EO} \times 44 - 41) / 58 \quad (\text{式 3-1-9})$$

式3-1-8と式3-1-9にそれぞれ $KMD = 0.140$ 、 $NKM = 1870$ を代入することにより、この試料の平均共重合組成は、EO_{15.0}PO_{20.2}であると推定することができた。この値は、EO組成42.6 mol%に相当し、メーカーから提供されていた44 mol%とよく一致していた。以上のように、KMDプロットは共重合体の組成分布を正確に表している。

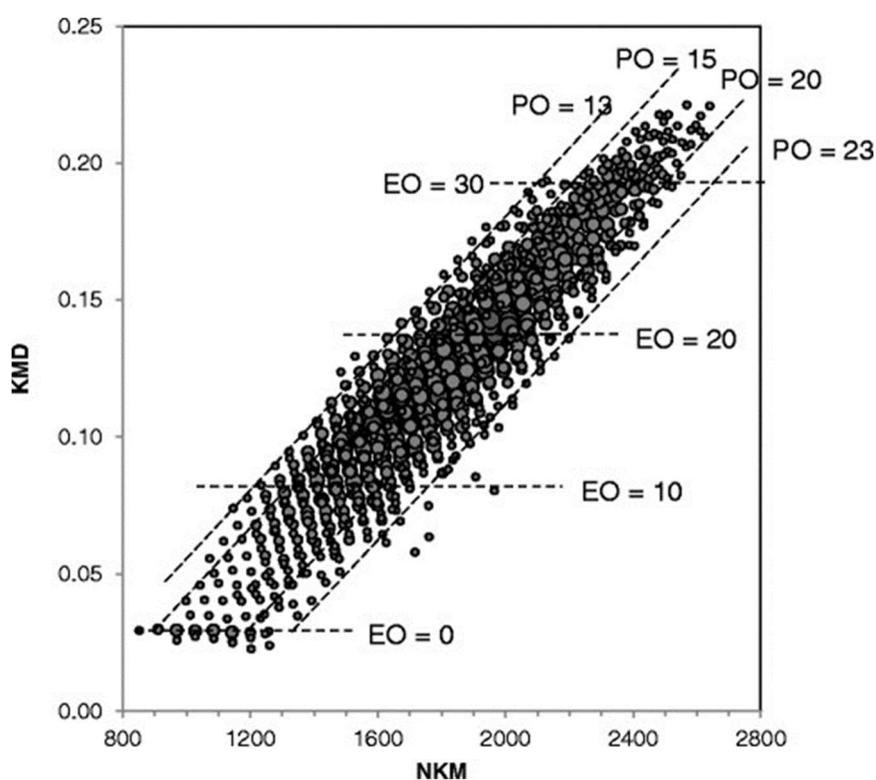


Fig. 3-1-4 KMD plot of P(EO-*b*-PO). The lines indicate the theoretical distribution of homologues with the same numbers of EO or PO compositions. The size of each dot indicates peak intensity. The peaks with more than 10% relative intensities were plotted.

(3) Remainder of Kendrick mass (RKM)法による残基のプロファイリング

末端基、分岐点、および重合開始点などポリマーの主鎖以外の構造（以下、残基という）には、合成過程、劣化指標、あるいはポリマーの機能性を高めるために加えられた修飾といった情報が含まれている。そのため、ポリマーのキャラクタリゼーションにおいて残基構造の解析は重要である。

KMD法を用いて、残基が異なる複数のポリマー鎖が混在している試料を解析すると、Fig. 3-1-2に示したように、それぞれの成分の系列をKMDプロット上で表現することができる。しかし、各成分のKMD値にほとんど差がない場合には、これらを二次元プロット上で明確に分けることができない。そこで本研究では、この問題を解決するために、KMD法に基づく残基構造の組み合わせをプロファイリングする新しいデータ解析法を検討した。

ポリマーのモノマー単位、末端基などの主鎖以外の残基、およびカチオンの整数質量をそれぞれ $N_{monomer}$ (=round($M_{monomer}$))、 N_{res} (=round(M_{res}))、 N_{cat} (=round(M_{cat}))、さらにポリマーの重合度を n と表すと NKM は下式で表される（以降、 N は整数質量を意味する）。

$$NKM = n \times N_{monomer} + N_{res} + N_{cat} \quad (\text{式 3-1-10})$$

NKM をモノマー単位の整数質量 $N_{monomer}$ で割って、余り（remainder of KM, RKM ）を求める。

$$RKM = NKM \bmod N_{monomer} \quad (\text{式 3-1-11})$$

なお、mod は余りを求めるモジュロ演算子である。主鎖の質量 ($n \times N_{monomer}$)は $N_{monomer}$ で割り切れるので、余りには残基とカチオンの質量だけが影響する。したがって、残基が共通で重合度だけが異なる成分のRKM値はすべて同じ値をとる。そこで、RKM値をKMDプロットのx軸に取ると、残基が共通で重合度だけが異なる成分がすべて一点に集約される。

このRKM法を実証するために、末端構造の異なるPCLのキャラクタリゼーションを行った例を述べる。Fig. 3-1-5にPCL-1のマススペクトルを示す。このポリマーは、ジエチレングリコールを開始剤とする ϵ -カプロラクトン(CL)の開環重合により合成されたものである。その結果、PCL-1試料の主成分は、主鎖中のジエチレングリコール単位と2つの水酸基末端を持つ鎖状PCL(PCL-diol, Δ)であり、さらに、環状PCL(cyc-PCL, \square)、水酸基末端とカルボキシル基末端を有する鎖状PCL(carboxyl-PCL, \circ)が副生成物として生成する[17]。なお、carboxyl-PCLのナトリウム塩(Na-PCL, \bullet)は、そのほとんどがMALDI-MS測定過程で生成したものであり、もとの試料中には存在しない。

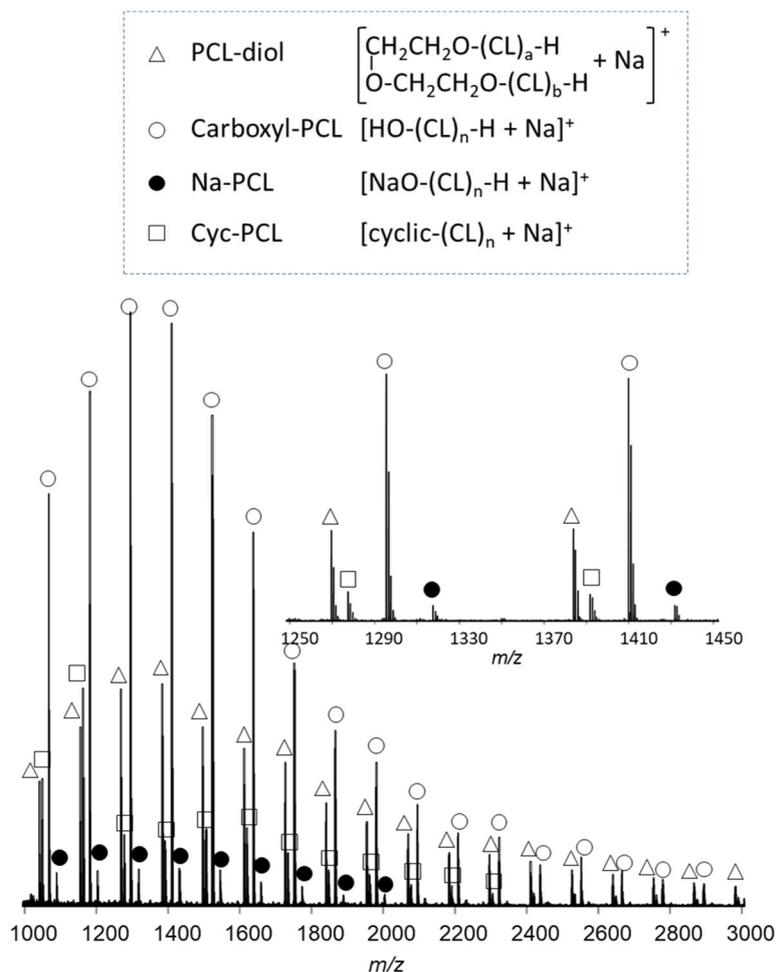


Fig. 3-1-5 Mass spectrum of PCL-1 sample.

Fig. 3-1-6 は、マススペクトル上の相対強度比が 2%以上のピークに着目して得られた 2 種類の KMD プロットである。ここでは、ベースユニットを CL 単位 ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$ 、精密質量 114.06808) に設定した。プロット上のドットは、主に $KMD = 0.024$ および $KMD = 0.06$ 付近に、2つの水平な分布として観測される。これらのうち、 $KMD = 0.06$ 付近の小さなドットの系列 (図中、黒色のドット) は carboxyl-PCL のナトリウム塩 (Na-PCL) に相当する。一方、 $KMD = 0.024$ 付近の系列は、一見すると 1つの系列のように見えるが、実際には PCL-diol、cyc-PCL、および carboxyl-PCL の各データが重複している (図中、それぞれオレンジ色、赤色、青色のドット)。これは、これらの成分の KMD 値の理論値が、いずれも約 0.024 であるためである。このように異なった末端基を持っているポリマー鎖であっても、その KMD 値が近接している場合、KMD プロット上でそれらを識別することは困難である。

ここで、各ピーク質量について、式 3-1-11 で求められる RKM 値を x 軸に、式 3-1-

4で求められる KMD 値を y 軸とした RKM-KMD プロットを作成した。Fig. 3-1-6B は PCL-1 の RKM-KMD プロットを示す。このプロットでは、NKM-KMD プロットにおいて水平に分布する同じ末端基を持つ成分は、 (RKM, KMD) で表されるドットに集約される。具体的には、PCL-diol、cyc-PCL、および carboxyl-PCL は、それぞれ $(RKM, KMD) = (15, 0.024)$ 、 $(23, 0.024)$ 、および $(41, 0.024)$ に集約される。このように RKM-KMD プロットを用いることにより、合成されたポリマーの残基構造（主に末端構造）の分布を視覚的に認識できるようになった。

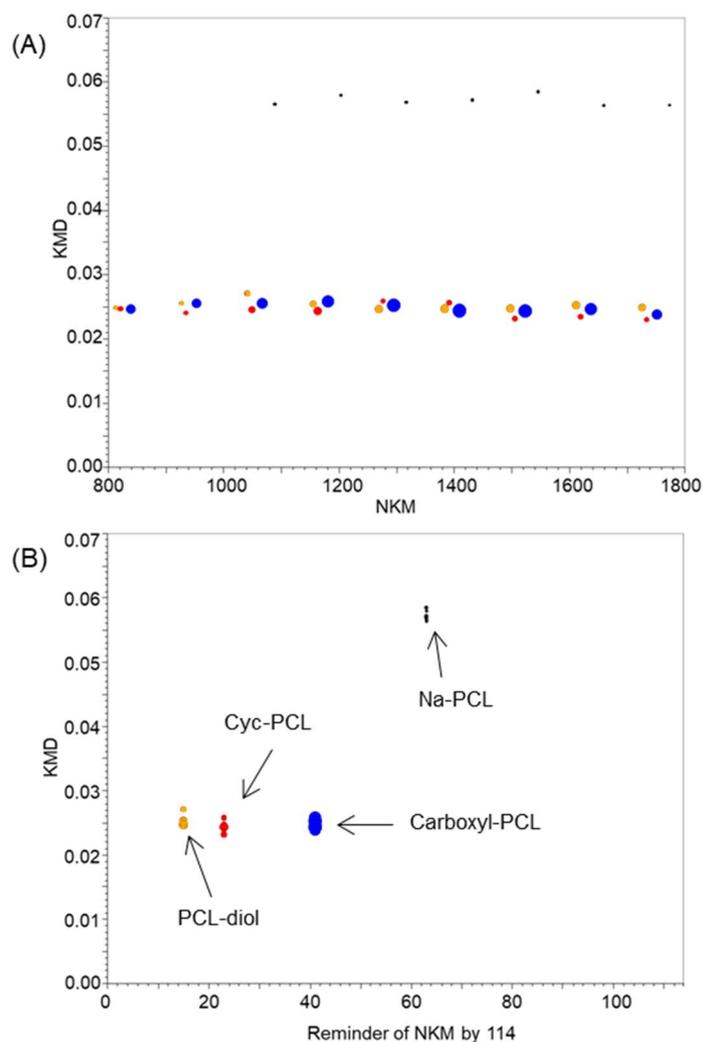
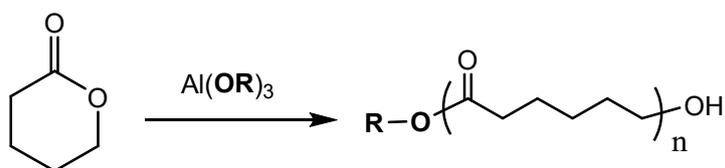


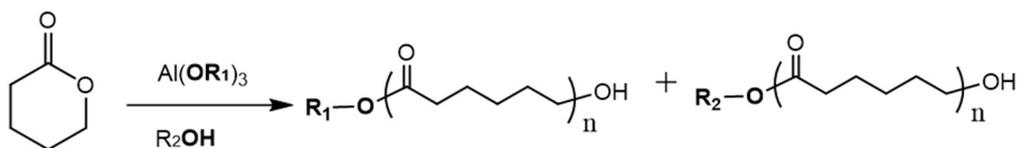
Fig. 3-1-6 KMD plot (A) and RKM-KMD plot (B) of PCL-1 sample. The peaks with more than 2% relative intensities were plotted. Colored dots indicate different PCLs containing in PCL-1 sample; orange dots: PCL-diol, red dots: cyc-PCL, blue dots: carboxyl-PCL, black dots: Na-PCL. The size of each dot indicates peak intensity.

さらに、RKM-KMD プロットを、異なる開始剤の存在下で、 ϵ -カプロラク톤の開環重合により合成された様々な PCL 試料のプロファイリングに適用した。各試料に対して得られた RKM-KMD プロットを Fig. 3-1-7 に示す。なお、図中では、それぞれ PCL のイソプロピルエステル (iPr-PCL) は緑色、メチルエステル (Me-PCL) は紫色、cyc-PCL は赤色、carboxyl-PCL は青色、carboxyl-PCL のナトリウム塩 (Na-PCL) は黒色のドットで示した。また、プロット上で示される赤色の丸印は、carboxyl-PCL、Na-PCL、Me-PCL、PCL のエチルエステル (Et-PCL)、iPr-PCL、さらに cyc-PCL といった生成しうる構造の理論値を示すものである。供給元の情報によると、PCL-2 と PCL-3 は、アンモニウムイソプロポキシドを開始剤として重合され、PCL-4 はトリエチルアンモニウムを開始剤として重合されている。金属アルコキシドを開始剤として開環重合を行った場合、アルコール部分は、PCL 鎖のカルボキシル末端側に導入される (Scheme1)[18]。



Scheme 1 Ring-opening polymerization of PCL using aluminum alkoxide as an initiator.

PCL-2 の KMD プロット (Fig. 3-1-7A) では、iPr-PCL および carboxyl-PCL に相当する予想円内にドットが明確に存在することが確認され、iPr-PCL および carboxyl-PCL が予想通り主成分であることが明らかになった。副生成物として、メチルエステル末端をもつ PCL (Me-PCL) が少量検出されたが、cyc-PCL は観測されなかった。しかしながら、同じ開始剤を用いているにもかかわらず、PCL-3 (Fig. 3-1-7B) は、iPr-PCL よりもむしろ Me-PCL が主成分であった。加えて、cyc-PCL と carboxyl-PCL の生成も確認された。この結果は、PCL-2 と PCL-3 は、異なる重合反応で合成されたことを示唆している。このような違いを生ずる原因としては、アルコールが共開始剤として共存していた可能性が考えられる (Scheme 2)[19]。



Scheme 2 Ring-opening polymerization of PCL in the coexistence of aluminum alkoxide and alcohol.

PCL-4 は開始剤としてトリエチルアルミニウムを用いた開環重合により合成されたため、エチルエステル末端をもつ PCL (Et-PCL)が主成分であると考えられる。しかし、Fig. 3-1-7C に示すように、実際には PCL-4 の主成分は Me-PCL であり、cyc-PCL と carboxyl-PCL が副生成物として含まれ、Et-PCL は予想円内にドットは見られずこの試料中には含まれないことが明らかになった。このことから、PCL-4 の重合を行う際に、共開始剤としてメタノールを用いている可能性が示唆された。このように、RKM-KMD プロットを用いることにより、様々な末端基の存在分布を明らかにすることができた。末端基の分布は、解析対象のポリマーの重合反応を反映することから、ある条件下で合成したときに、生成する可能性のあるポリマー構造の RKM-KMD の理論値をデータベースにすることで、製品の品質管理に活用することができると考えられる。

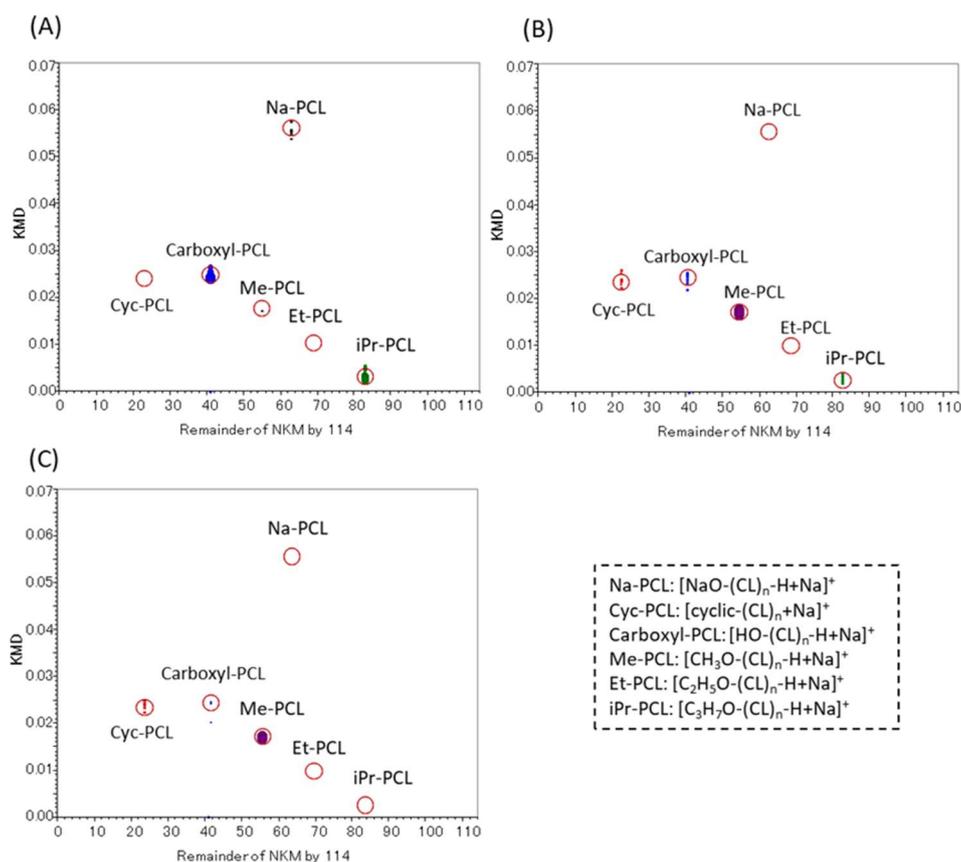


Fig. 3-1-7 RKM-KMD plots of PCL-2 (A), PCL-3 (B), and PCL-4 (C). Red blank circles are theoretical coordinate points of several possible PCL structures as indicated in the figures. The size of each dot indicates peak intensity. Colored dots indicate PCLs with different residues; red dots: cyc-PCL, blue dots: carboxyl-PCL, black dots: Na-PCL, purple dots: Me-PCL, green dots: iPr-PCL. The peaks with more than 2% relative intensities were plotted.

3.1.4 まとめ

MALDI spiral-TOFMS を用いることにより、ポリマー試料の精密質量分析が可能となり、KMD 解析法をポリマーの構造キャラクタリゼーションに導入できるようになった。また、KMD 解析法を用いて、多成分から構成されるポリマーのマススペクトルを二次元プロットに変換して可視化することにより、含まれる成分のモノマー単位や末端構造についての情報を容易に得ることができた。さらに、近接した KMD 値を持つ成分の分離を向上させるため、末端構造の違いがより明確に表現できる RKM-KMD プロットを開発した。このように、マススペクトルを 2 次元プロットして表現することにより、より視覚的に容易に理解できる新しい解析手法へと発展させた。

3.1 節 参考文献

- [1] E. Kendrick, *Anal. Chem.*, **35** (1963) 2146-2154, A mass scale based on $\text{CH}_2 = 14.0000$ for high resolution mass spectrometry of organic compounds. doi: 10.1021/ac60206a048
- [2] C. A. Hughey, C. L. Hendrickson, R. P. Rodgers, A. G. Marshall, K. N. Qian, *Anal. Chem.*, **73** (2001) 4676-4681, Kendrick mass defect spectrum: A compact visual analysis for ultrahigh-resolution broadband mass spectra. doi: 10.1021/ac010560w
- [3] L. Sleno, *J. Mass. Spectrom.*, **47** (2012) 226-236, The use of mass defect in modern mass spectrometry. doi: 10.1002/jms.2978
- [4] A. G. Marshall, R. P. Rodgers, *Acc. Chem. Res.*, **37** (2004) 53-59, Petroleomics: The next grand challenge for chemical analysis. doi: 10.1021/ar020177t
- [5] A. C. Stenson, A. G. Marshall, W. T. Cooper, *Anal. Chem.*, **75** (2003) 1275-1284, Exact masses and chemical formulas of individual Suwannee River fulvic acids from ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectra. doi: 10.1021/ac026106p
- [6] R. L. Sleighter, P. G. Hatcher, *J. Mass Spectrom.*, **42** (2007) 559-574, The application of electrospray ionization coupled to ultrahigh resolution mass spectrometry for the molecular characterization of natural organic matter. doi: 10.1002/jms.1221
- [7] L. A. Lerno, J. B. German, C. B. Lebrilla, *Anal. Chem.*, **82** (2010) 4236-4245, Method for the identification of lipid classes based on referenced Kendrick mass analysis. doi: 10.1021/ac100556g
- [8] H. Lee, H. J. An, L. A. Lerno, J. B. German, C. B. Lebrilla, *Int. J. Mass Spectrom.*, **305** (2011) 138-150, Rapid profiling of bovine and human milk gangliosides by matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. doi: 10.1016/j.ijms.2010.10.020
- [9] D. E. Riegner, S. A. Hofstadler, D. A. Laude, *Anal. Chem.*, **63** (1991) 261-268, Mass discrimination due to z axis ion cloud coherence in the Fourier transform mass spectrometry trapped-ion cell. doi: 10.1021/ac00003a014
- [10] M. Dey, J. A. Castro, C. L. Wilkins, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 1575-1579, Determination of molecular weight distributions of polymers by MALDI-FTMS. doi: 10.1021/ac00105a016
- [11] M. E. Belov, E. N. Nikolaev, R. Harkewicz, C. D. Masselon, K. Alving, R. D. Smith, *Int. J. Mass Spectrom.*, **208** (2001) 205-225, Ion discrimination during ion

- accumulation in a quadrupole interface external to a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer. doi: 10.1016/S1387-3806(01)00434-1
- [12] A. J. Jaber, J. Kaufman, R. Liyanage, E. Akhmetva, S. Marney, C. L. Wilkins, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **16** (2005) 1772-1780, Trapping of wide range mass-to-charge ions and dependence on matrix amount in internal source MALDI-FTMS. doi: 10.1016/j.jasms.2005.06.014
- [13] G. J. van Rooji, M. C. Duursma, C. G. de Koster, R. M. A. Heeren, J. J. Boon, P. J. W. Schuyf, E. R. E. van der Hage, *Anal. Chem.*, **70** (1998) 843-850, Determination of block length distributions of poly(oxypropylene) and poly(oxyethylene) block copolymers by MALDI-FTICR mass spectrometry. doi: 10.1021/ac970609r
- [14] F. J. Cox, K. N. Qian, A. O. Patil, M. V. Johnston, *Macromolecules*, **36** (2003) 8544-8550, Microstructure and composition of ethylene-carbon monoxide copolymers by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. doi: 10.1021/ma0351367
- [15] T. H. Mize, W. J. Simonsick, I. J. Amster, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **9** (2003) 473-486, Characterization of polyesters by matrix-assisted laser desorption/ionization and Fourier transform mass spectrometry. doi: 10.1255/ejms.571
- [16] A. J. Jaber, C. L. Wilkins, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **16** (2005) 2009-2016, Hydrocarbon polymer analysis by external MALDI Fourier transform and reflectron time of flight mass spectrometry. doi: 10.1016/j.jasms.2005.08.006
- [17] 佐藤浩昭, 田尾博明, 大谷肇, 青井啓悟, 高分子論文集(*Kobunshi Ronbunshu*), **60** (2003) 305-311, サイズ排除クロマトグラフィー/マトリックス支援レーザー脱離イオン化-質量分析法によるポリ (ϵ -カプロラクトン) のキャラクタリゼーション. doi: 10.1295/koron.60.305
- [18] P. Dubois, N. Ropson, R. Jérôme, P. Teyssié, *Macromolecules*, **29** (1996) 1965-1975. Macromolecular engineering of polylactones and polylactides. 19. Kinetics of ring-opening polymerization of ϵ -caprolactone initiated with functional aluminum alkoxides. doi: 10.1021/ma951738h
- [19] J. L. Mata-Mata, J. E. Báez, J. A. Gutiérrez, A. Martínez-Richa, *J. Appl. Polym. Sci.*, **99** (2006) 2737-2745, Ring-opening polymerization of lactones using $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ as initiator: Effect of hydroxylic transfer agents. doi: 10.1002/app.22963

3.2 KMD プロットを用いたエチレン酢酸ビニル共重合体の組成解析

3.2.1 序論

エチレン酢酸ビニル共重合体(EVA)は、多くの産業において非常に重要な共重合ポリマー材料の 1 つである。EVA は、通常は高圧エチレン重合と同様のプロセスで、エチレン(E)と酢酸ビニル(VA)モノマーを高圧高温下で共重合させることにより製造される[1]。VA 単位の含有量を変えることにより、異なった特性(弾力性、結晶性、溶融温度、柔軟性など)を付与して、EVA の適用範囲を広げることができる。VA 含量が低い(<10 wt%) EVA は、アスファルトへの添加剤として用いられている[2]。主な EVA の VA 含量は、28~33%であり[3-6]、パッド(EVA フォーム[7])やホットメルト接着剤[8, 9]として用いられている。また、シリコン系太陽電池を湿気や酸素、さらに物理的ストレスから守るための封止剤としても用いられている[3]。このように EVA は、産業界で重要であるため、製造の各段階における EVA の適切なキャラクタリゼーションを行うために最適な分析技術の開発が必要とされている。特に、架橋や他の材料とのブレンドが行われる前の原料段階の EVA 共重合体では、末端基や分岐、さらに VA 含量を完全に明らかにする必要がある。EVA のキャラクタリゼーションには、NMR [10-14]、レオロジー分析[15]、熱分析[16]、フーリエ変換赤外分光分析(FT-IR) [17]、X 線光電子分光分析(XPS) [18]などの方法が利用されている。また、質量分析を用いた方法でも、フィンガープリント法を用いた熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法(Py-GCMS)[19]や飛行時間型二次イオン質量分析法(TOF-SIMS) [20]が報告されているが、いずれもポリマー主鎖の切断を伴う。**1.2.1** 節で述べた通り、ESI-MS や MALDI-MS を用いれば、個々のポリマー鎖を分解することなくそれらの質量を測定できるので、ポリマー鎖の繰り返し単位、重合度、あるいは末端基といった分子構造特性を正確に知ることができる。しかしながら、これらのソフトイオン化 MS 法により、インタクトの EVA 共重合体の解析をおこなった事例は、著者の知る限り報告されていない。これは、従来の質量分析装置では、E 単位と VA 単位の組み合わせによって生じる、整数質量が重複した同重分子の分離を行うことができず、それぞれの情報に基づいて共重合組成を決定することができなかつたためであると考えられる。

そこで本研究では、高分解能 MALDI-TOFMS を用いて、VA 含量が異なる 3 種類の市販 EVA を詳細に解析し、各ポリマー鎖の末端構造の決定や VA 含量の評価を行った。解析に用いた EVA 試料の平均分子量は数万以上であるので、あらかじめサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を用いて試料を分子量分画し、各フラクションを MALDI-MS で分析する SEC/MALDI-MS 法を用いた。この方法は、**1.2.3** 節で述べた通り、MALDI-TOFMS が定量的には単分散に近い試料にのみ適用可能であるという問題を解決し、多分散ポリマーに対する効果的な分析手法として報告されている。しかし、このようにし

て分画した試料でも、共重合体について観測される高分解能マススペクトル上には、膨大な数のピークが現れる。そこで、前節で述べた KMD 法を適用して、共重合組成分布を表現し、プロットの重心から平均共重合組成を推測する方法を提案する。

3.2.2 実験

(1) 試料

試料には、VA 含量の異なる (40 wt.%, 25 wt.%, 18 wt.%) 3 種類の EVA (Sigma-Aldrich 製) を用い、それぞれ EVA40、EVA25、および EVA18 とした。EVA の良溶媒はクロロホルムであるが、VA 含量が低くなると溶解性が著しく低くなる。本研究では、主に太陽光発電モジュールの原料として用いられる EVA (VA 含量 28~33 wt.% [3]) に近い組成をもつ EVA25 のキャラクタリゼーションを主目的とし、クロロホルムに対する溶解性が高くかつイオン化しやすい VA 単位を多く含む EVA40 と、E 単位が多く含まれるために溶媒に難溶な EVA18 を、それぞれ参照試料として用いた。

(2) サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) とフラクションの分取には、示差屈折率 (RI) 検出器を搭載した HLC8220 GPC system (東ソー製) を用いた。分離カラムは、同社製のガードカラム (multipore Hx1) と 2 本の TSKgel multipore H_{XL}-M カラム (7.8 mm × 300 mm) を直列に接続して用いた。移動相としてクロロホルム (高速液体クロマトグラフ用、富士フィルム和光純薬製) を使用し、流速は 1 mL/min とした。EVA 試料は、2 mg/mL になるようにクロロホルムに溶解し、Millex フィルターユニット (Merck Millipore 製) を用いてろ過したのち、200 μL をカラムに導入した。30 秒ごと (0.5 mL) に分取したフラクションからドラフト内でクロロホルムを揮散させ、約 20 μL のクロロホルムで再溶解したものを MALDI-MS 測定用試料とした。この過程で試料が濃縮され、1 フラクションごとの測定が可能になった。本検討では、特に分取開始後 18 分 30 秒~19 分 (フラクション#1)、19 分~19 分 30 秒 (フラクション#2)、そして 19 分 30 秒~20 分 (フラクション#3) の各フラクションを主な解析対象とした。

(3) MALDI-TOFMS 測定

マトリックスには、*trans*-2-[3-(4-*tert*-ブチルフェニル)-2-メチル-2-プロペニリデン] マロノニトリル (DCTB、Sigma-Aldrich 製) を用い、20 mg/mL になるようにテトラヒドロフラン (THF、富士フィルム和光純薬製) に溶解した。また、カチオン化剤として、トリフルオロ酢酸ナトリウム (NaTFA、富士フィルム和光純薬製) を用い、2 mg/mL になるように THF に溶解した。DCTB/NaTFA/試料 = 5/1/1 (v/v/v) になるように、あらかじめ混合した溶液 1 μL を、ターゲットプレートに滴下・乾燥させて試料スポットを調製した。マトリックスの選択に関する予備検討を行った結果、マトリックスに

DCTB を用いることにより、低いレーザー強度でも高いシグナル対ノイズ比 (S/N) が得られ、高い分解能を得ることができた。一方、ジスラノールや DHB といったほかのマトリックスを使用した場合、S/N が劇的に小さくなるだけでなく、VA 単位が多く含まれる成分に偏って感度が高くなるため、VA 含量が過大評価されることも分かった。

MALDI-MS 測定は、JMS-S3000 SpiralTOF (日本電子製) を用いて行った。マススペクトルの分解能に大きく影響する遅延時間は、測定する試料の質量域に合わせて設定した (フラクション#3 に対しては 230 ns、フラクション#2 に対しては 240 ns、そしてフラクション#1 に対しては 350 ns とした)。キャリブレーションは、SEC キャリブレーション用の単分散ポリメタクリル酸メチル標準試料 (PMMA、 $M_p = 1310$ g/mol、Polymer Laboratories 製) を用いておこなった。

(4) ^{13}C NMR

^{13}C および DEPT135 NMR は、JNM-ECX400 (日本電子製) を用いて、 ^{13}C の共振周波数を 100 MHz に設定しておこなった。なお、測定は日本電子に依頼した。試料は、重水素化クロロホルム (CDCl_3) に 50°C で溶解し、 30°C で TH5ATFG25 mm プロブを用いて測定を行った。測定の際の積算スペクトル数は、 ^{13}C NMR で 3000、DEPT135 NMR で 1440 とした。 ^{13}C NMR のシグナルの帰属は、文献[10]を参考に行った。

(5) KMD 法による解析

EVA 共重合体ポリマーの場合には、ケンドリック質量 (KM) に変換する際に、E 単位あるいは VA 単位をどちらもベースユニットとすることができるが、本検討では、E 単位 ($\text{C}_2\text{H}_4 = 28.03130$ Da) を用いた。EVA 試料由来のピークの精密質量 (M_{ion}) は、**3.1** 節で示した式 3-1-1 を基に、以下の式で KM に変換した。

$$KM = M_{ion} \times \frac{28}{28.03130} \quad (\text{式 3-2-1})$$

さらに前節で示した式 3-1-3 および式 3-1-4 を用いて、NKM 値および KMD 値を求めた。このようにして得られた NKM 値を x 軸に、KMD 値を y 軸にし、それぞれのドットの大きさで相対ピーク強度を示す KMD プロットを作成した。

3.2.3 結果と考察

(1) 質量分析を用いて EVA 共重合体を解析する場合の問題点

EVA 共重合ポリマーでは、その構成単位の組み合わせからピークが重複するという問題が起こり、その解析には高い質量分解能が必要である。その理由を、Fig. 3-2-1 に示すピーク重複のシミュレーションを用いて説明する。

EVA 共重合体は、Fig. 3-2-1 左に示すように、様々な数のエチレン単位 (C_2H_4 , 28.0313 Da) と酢酸ビニル単位 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2$, 86.0368 Da) の組み合わせから構成されている。なお、図中の α は開始末端、 ω は停止末端を示している。Fig. 3-2-1 右に、E が m 単位、VA

単位が n 単位からなる共重合体(E_mVA_n)から、E 単位、VA 単位が増加したときのマスペクトルの変化を示す。ここでは、基準とするピークからの質量増加を検証するため、末端基や付加イオンは基準とするピーク(E_mVA_n)と同一であると仮定している。 E_mVA_n に VA 単位が 1 単位増加したとき、+86 Da のピークシフトが起こるのに対し、E 単位が 3 単位増加したときには、+84 Da のピークシフトが起こる。その結果、 $E_{m+3}VA_n$ と E_mA_{n+1} の質量差はわずか 2 Da となる。高質量域では、質量分析装置の分解能が 1 Da を下回ることが多い (例えば TOFMS のリニアモードでは、 m/z 10,000 を超える場合など) ので、長いポリマー鎖を解析する場合には、 $E_{m+3}VA_n$ と E_mA_{n+1} ピークを誤って帰属してしまう可能性がある。さらにオリゴマー領域でも、 $E_{m+3}VA_n$ の $^{13}C_2$ 同位体は、基準としていた E_mVA_n から +86 Da の増加となり、 E_mVA_{n+1} のモノアイソトピックピークと重複する。このとき、 $E_{m+3}VA_n(^{13}C_2)$ と E_mA_{n+1} のコオリゴマーの正確な質量差は、わずか 0.06 Da しかない。しかも一般的には、炭素数が 100 原子を超えるような化合物の場合、 ^{13}C を含む同位体のピークの方がモノアイソトピックピークよりも強くなり、 $^{13}C_2$ 同位体のピーク強度は、モノアイソトピックピークの半分程度に達する。そのため、分子量が 1500 を超えるような EVA のマスペクトルを正確に帰属するには、高分解能質量分析装置を用いて、同位体ピークを正しく分離する必要がある。上述した 0.06 Da 差の同位体ピークの分離を行うには、 m/z 1500 で 25,000 を超える分解能が必要になる。このように質量分析を用いて EVA を詳細に解析するには、(a) 低質量域のオリゴマーを対象とし、かつ (b) 高分解能の質量分析装置を用いなければならないという制限がある。質量分析を行う前に、あらかじめ SEC により分取を行い、短いポリマー鎖を取り出し、分取試料に対して spiral-TOF を用いて質量分析を行う本法は、上に述べた 2 つの問題を同時に解決する手法であるといえる。

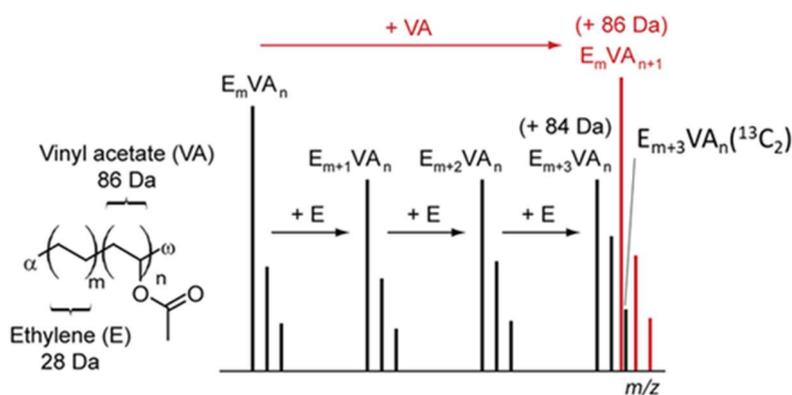


Fig. 3-2-1 Simulation of overlapping peaks in EVA. Left: generic structure of an EVA copolymer with undefined α/ω terminations. Right: Schematic representation of the isobaric issue arising from the masses of the repeating units. Adding one VA unit or three E units to an $E_m VA_n$ oligomer leads to +86 Da shifted $E_m VA_{n+1}$ or +84 Da shifted $E_{m+3} VA_n$, respectively. The $^{13}C_2$ isotope of $E_{m+3} VA_n$ and the monoisotopic peak of $E_m VA_{n+1}$ are isobaric.

(2) SEC と MALDI-TOFMS を組み合わせた EVA の化学構造解析

EVA の室温でのクロロホルムに対する溶解度の違いは、VA 含量に依存する。EVA40 と EVA25 は、クロロホルムに速やかに溶解し SEC への導入濃度である 2 mg/mL で長期に安定な溶液となるが、同濃度の EVA18 溶液は、調製後数日経過すると明らかに一部が不溶化して析出する。これは、強極性の VA 単位数が少なくなるにより、ポリエチレン(PE)の性質が相対的に強く反映されるためである。

Fig. 3-2-2 に、EVA 試料を SEC で分離および分取し、オリゴマー画分を MALDI-TOFMS で測定した結果を示す。Fig. 3-2-2A は、3 種類の EVA 試料の SEC クロマトグラムを重ねて表示したものであり、EVA40 は赤線、EVA25 は緑線、および EVA18 は青線に対応する。同じ濃度の試料を調製したにもかかわらず、RI 検出器で観測されたピーク強度は、EVA40 から EVA18 へと VA 含量が少なくなるにつれて、明らかに減少している。このピーク強度の違いは、クロロホルムに対する EVA の溶解度の違いにより生じたものであり、VA 組成が低い場合には不溶物を生じて、それが注入前にフィルターで除去されるため、実際に注入された EVA の量が低下したためであると考えられる。

EVA40 と EVA25 の SEC クロマトグラムを比べると、溶出曲線のピークトップはほぼ同じ位置であり、これらから計算された EVA40 と EVA25 の数平均分子量(M_n)は、それぞれポリスチレン (PS) 換算で 42,200 g/mol および 43,600 g/mol であった。それに対し、EVA18 の溶出曲線の形状は大きく異なり、ピークトップの保持時間が明らか

に遅れている（つまり低質量側にずれている）。また、数平均分子量は PS 換算で 11,200 g/mol であり、ほかの 2 種に比べかなり小さいことから、短いポリマー鎖だけが可溶化されていることが示唆された。トリクロロベンゼンのように塩素化あるいは芳香環をもつ溶媒を用いるか、高温で SEC を行えば、VA 含量が低い EVA の溶解性を改善できるかもしれないが、かなり特殊な SEC システムやカラムが必要になるうえ、分取試料を MALDI-TOFMS 測定するための試料調製で行う溶媒の除去が極めて困難となり、現実的ではない。しかしながら、緒言で述べた通り、工業製品へと加工される多くの EVA の多くは VA 含量 25 wt% 以上である [3]。また、SEC で分取されたオリゴマー画分を質量分析の対象とするため、クロロホルムを用いることによる溶解性の限界は、MALDI-TOFMS を用いたキャラクタリゼーションにとってはあまり問題にはならないと考えられる（ただし EVA18 は、この手法には明らかな限界があることを示すために用いた）。

EVA 試料は、18 分 30 秒～20 分に溶出するフラクションを 30 秒ごとに RI 検出器の直後で直接回収し、それぞれ #1 から #3 の番号を付けた（対応するフラクションを Fig. 3-2-2A の中に示した）。これ以降は、代表的な例としてフラクション #2 の結果を示す。3 種類の EVA のフラクション #2 を MALDI-TOFMS 測定した結果、得られたマススペクトルを順に、Fig. 3-2-2B (EVA40)、Fig. 3-2-2C (EVA25)、および Fig. 3-2-2D (EVA18) にそれぞれ示す。

SEC/MALDI-TOFMS により得られたマススペクトルは、いずれのフラクションとも、ほぼ同じ質量範囲で m/z 1220 付近に極大を持つ正規分布状のピーク分布が観測された（各試料の M_n はそれぞれ、EVA40 : 1230 g/mol、EVA25 : 1201 g/mol、および EVA18 : 1220 g/mol であった）。しかしながら、EVA40 から EVA18 へと VA 含量が少なくなるにつれて S/N が明らかに低下し、EVA18 では、マトリックス由来のクラスターピークなどのケミカルバックグラウンドピークが強く観測された。VA 含量が低下すると、EVA の性質は非極性の PE に近づくようになり [21]、脱離やイオン化の効率が著しく低下するため、MALDI-TOFMS 測定が難しくなる。この現象は、フラクション #2 だけではなく、フラクション #1 やフラクション #3 の測定結果でも確認された。

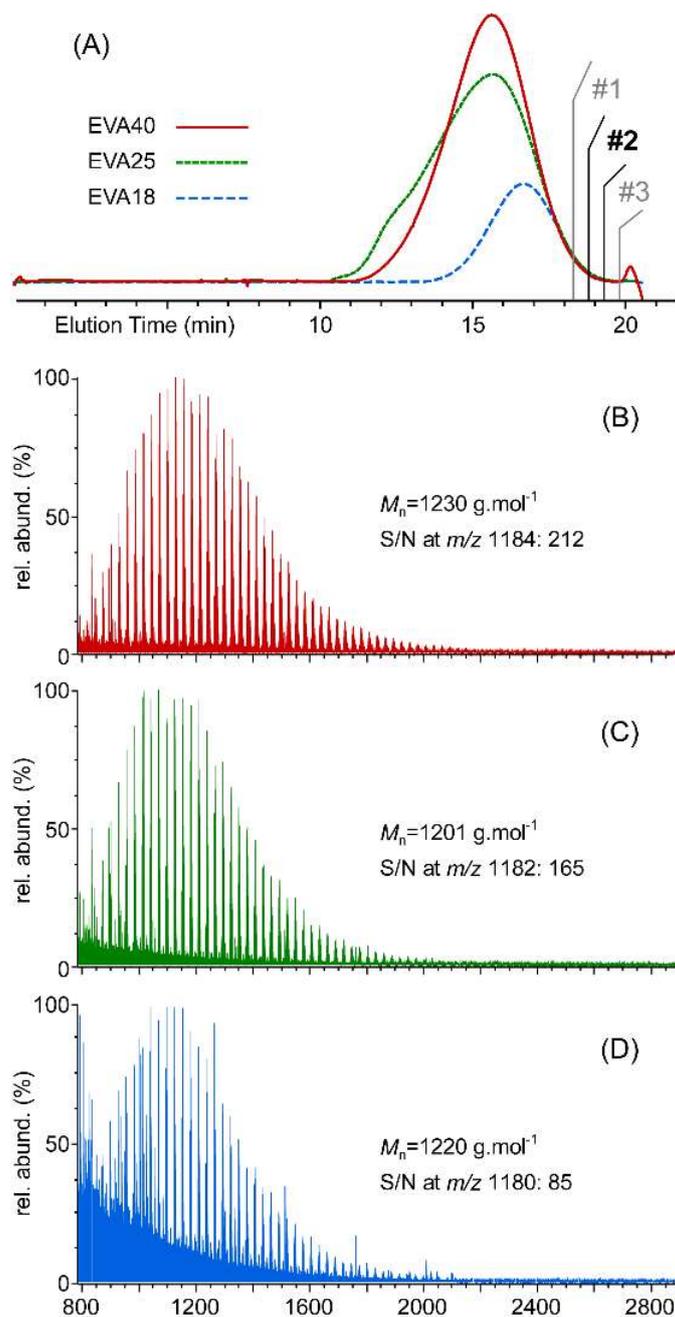


Fig. 3-2-2 Results of SEC/MALDI-TOFMS measurements. (A) SEC chromatograms of the three EVA samples in CHCl_3 at a targeted 2 mg/mL concentration (red line: EVA40; green line: EVA25; blue line: EVA18). The three fractions #1–#3 were collected for further mass-analyzed. (B–D) MALDI mass spectra of fractions #2 collected from the SEC elution of EVA40, EVA25 and EVA18, respectively. The observed number average molecular weights M_n and signal-to-noise (S/N) ratios are listed in insets.

(3) EVA 鎖の化学構造解析

結果をわかりやすく示すため、以降の議論は、EVA 試料の中でもイオン化しやすく、十分なイオン強度でマスペクトルが観測できる、Fig. 3-2-3 に示す分画をした EVA40 (フラクション#2) の結果を用いて行う。Fig. 3-2-2 で示した通り、EVA のマスペクトルは非常に複雑になるため、構造解析のために m/z 1140~1260 の範囲を拡大したマスペクトルを Fig. 3-2-3A に示す。その中には、4 つのピーク群が観測され、エチレン(E)単位に相当する 28 Da の間隔や、酢酸ビニル単位(VA)に相当する 86 Da の間隔で出現していることが容易に確認できる。例えば最初のピーク群の m/z 1156.0 を基準にして、E 単位をそれぞれ 1 単位、2 単位、3 単位加えた場合に相当する m/z 1184.0、1212.0、1240.0 の各ピークが観測された。一方、VA 単位を 1 単位加えた場合に相当する m/z 1242.0 にもピークが観測された。これは、Fig. 3-2-1 においてシミュレーションしたマスペクトルのパターンと一致している。さらにマスペクトルの m/z 1238~1243 の範囲を拡大すると、Fig. 3-2-1 で重複の可能性を示した ^{13}C 同位体を二つ含むピークとモノアイソトピックピークが、spiral-TOFMS を用いることにより別々のピークとしてはっきり分離できていることがわかる。これにより各ピークの正確な判別と帰属ができるようになった。

観測された各ピークの精密質量を用いて、2.2.6 節で述べた方法で化学構造を推測した。その結果、観測された EVA オリゴマーのピークは、Fig. 3-2-3B 内に示すようにすべて、開始末端と停止末端のどちらも H である分子のナトリウムカチオン付加体($[\text{M} + \text{Na}]^+$)であると帰属された。他の末端構造を持つ成分は、マスペクトル上に観測されなかった。Fig. 3-2-3B に観測された各ピークについて、構成する E 単位の数(m)と VA 単位の数(n) (E_mVA_n として図中では示す)や含まれる ^{13}C の数 (^{13}C の数が表記されていないものはモノアイソトピックピークである)を示した。一例をあげると、 m/z 1240.0651 のピークは、 $[(\text{H}-\text{E}_{28}\text{VA}_5-\text{H}) + \text{Na}]^+$ であると帰属され、Fig. 3-3-3B 中では、 E_{28}VA_5 と簡略に表記した。さらに、 ^{13}C を 2 原子含む $[(\text{H}-\text{E}_{31}\text{VA}_4-\text{H}) + \text{Na}]^+$ の同位体ピークは、 m/z 1240.1306 に観測され、明確に分離することができた。EVA25 および EVA18 においても同様に、 $\text{H}-\text{E}_m\text{VA}_n-\text{H}$ のみが $[\text{M} + \text{Na}]^+$ として観測された。

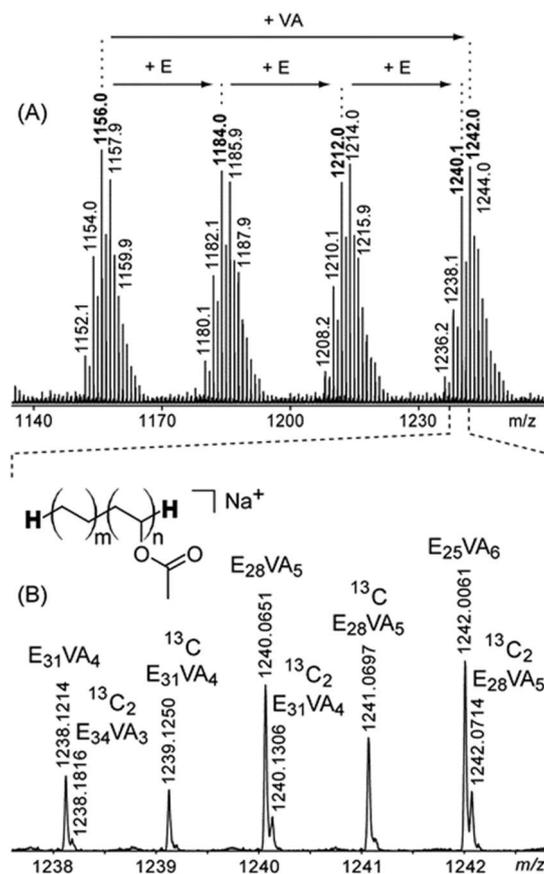


Fig. 3-2-3 Mass spectra of fraction #2 from EVA40. (A) Restricted mass spectrum (m/z range: 1140–1260). (B) Magnification of (A) (m/z range: 1238–1243). Peaks are annotated with their composition in E and VA units (E_mVA_n). The generic structure with H as end groups derived from the accurate mass measurements is depicted in the inset.

質量分析の測定範囲を低質量域に限定することにより、spiral-TOFMS の高い分解能を生かすことができ、(1)で述べたような EVA の構造解析を行う上での問題点も解消することができる。一方で、この構造解析の結果が、高分子領域を含む EVA 試料全体を反映しているとは限らない。そこで、分取前の試料について NMR による化学構造解析を行った。

EVA40 を用いて得られた ^{13}C NMR そして DEPT135 NMR のスペクトルを、Fig. 3-2-4 に示す。観測された NMR スペクトルは、文献[10-14]で報告されている EVA の NMR データと非常によく一致していた。そこで、報告されている方法[10]を参考にして、観測されたピークの帰属を行った。VA 単位の炭素の中で、 ^{13}C NMR で 74.3 ppm に観測されるピーク (DEPT135 では上向きのピークとして観測され、-CH-に相当)を

A1 とし、34.1 ppm に観測されたピーク (DEPT135 では下向きのピークとして観測され、 $-\text{CH}_2-$ に相当) は、A2 とした。第 4 級炭素に相当する B1 と VA 単位のメチル基に相当する B2 は、それぞれ ^{13}C NMR において 170.8 ppm (DEPT135 では観測されない)、21.2 ppm (DEPT135 では上向きのピークになり、 $-\text{CH}_3$ に相当) にそれぞれ観測された。VA 単位の隣接するエチレン単位を構成する 2 種類の炭素は、25.3 ppm (A3 とする) と 29.6 ppm (A4 とする) にそれぞれ観測され、どちらも DEPT135 では下向きのピークとなる $-\text{CH}_2-$ に相当する。VA 単位と接していない E 単位のケミカルシフトは、A4 と同じになると考えられる。14.1 ppm での明確なピークの出現は、異なる環境のメチル基 α (DEPT135 では、上向きのピークで $-\text{CH}_3$ に相当) であり、ポリマー鎖の末端由来であると帰属された。

このようにして NMR の結果から得られた EVA の化学構造を、Fig. 3-2-4B の上部に示す。両末端がメチル基になっている同じ EVA 共重合ポリマーで、VA 単位を E 単位が囲んでいる場合を、別の表記方法で Fig. 3-2-4B の下部に示す。NMR の観点からは、このような EVA の主鎖構造は、 $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-E}_m\text{-VA}_n\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ のように表される。この構造は、質量分析により得られた $\text{H-E}_m\text{VA}_n\text{-H}$ と同一の化学構造とみなすことができる。つまり、NMR の結果から推定される EVA40 の構造は、SEC/MALDI-MS による分析から得られた結果を支持している。すなわち、低分子量の成分を SEC/MALDI-MS による分析結果は、試料全体を代表しており、質量分析の結果により EVA 共重合体の詳細なキャラクタリゼーションを行い得ることを裏付けている。

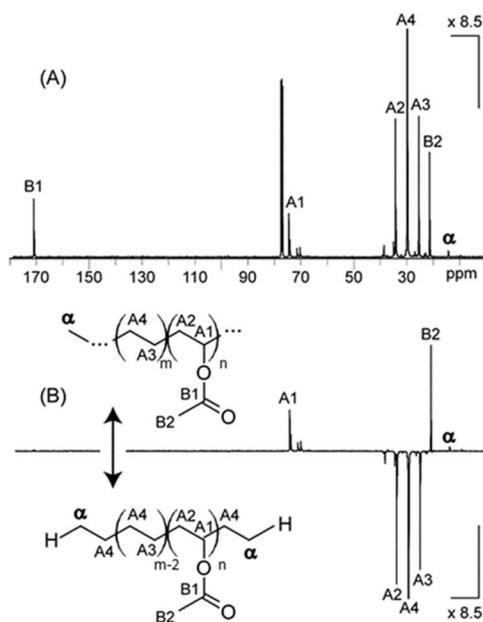


Fig. 3-2-4 ^{13}C NMR spectrum (A) and DEPT135 NMR spectrum (B) of EVA40 solubilized in CDCl_3 . Carbons from the polymeric backbone are designated with the letters A and B while the proposed methyl end group is designated with α .

(4) マススペクトルデータの解析による VA 含量の評価

Fig. 3-2-5 に、SEC で分取した 3 種類の市販 EVA 試料の#2 フラクションに対して観測されたマススペクトルの拡大図(約 m/z 1170~1200)を示す。前節で述べたように、観測されたピークは EVA オリゴマーの $[M + Na]^+$ であり、E 単位と VA 単位の数にそれぞれ分布をもち、さらにその両末端は水素であると帰属した。Fig. 3-2-5 のマススペクトル中に観測されたオリゴマーの元素組成、観測質量、誤差、および E_mVA_n 組成を、Table 3-2-1 に示す。各ピークの計算質量と観測質量の平均誤差は、+0.2 ppm であり、spiral-TOFMS の質量分解能の高さを示している。VA 含量に関わらず、同じ#2 フラクションについて観測されたマススペクトル全体のピーク分布はそれほど変わらない (Fig. 3-2-2) が、Fig. 3-2-5 に示したとおり、それらのマススペクトルを拡大すると、EVA40、EVA25、さらに EVA18 の間の違いが示される。EVA40 から EVA18 へと VA 含量が低下するにつれて、E 単位数は増加 (すなわち VA 単位は減少) し、観測されたオリゴマー成分では、低質量側へと明らかにピークがシフトしている。このように SEC/MALDI-MS 測定を行うことにより、定性的には 3 種類の EVA を識別することができる。より定量的な議論を行うために、Table 3-2-1 に示した各ピークを用いて、各試料の平均組成 ($E_{m_{av}}VA_{n_{av}}$) を暫定的に見積もった。まず、各試料の平均の E 単位数 (m_{av}) および VA 単位数 (n_{av}) を Table 3-2-1 に示した全ピークについて式 3-2-3 および式 3-2-4 を用いて計算した。ここで、 I は Table 3-2-1 に示した各イオンの相対ピーク強度 (%) であり、 m および n はそれぞれ各イオンを構成する E および VA 単位の数である。

$$m_{av} = \frac{\sum(m \times I)}{\sum I} \quad (\text{式 3-2-3})$$

$$n_{av} = \frac{\sum(n \times I)}{\sum I} \quad (\text{式 3-2-4})$$

この計算により得られた E 単位、VA 単位の平均組成は、EVA40 では $E_{23.9}VA_{5.7}$ 、EVA25 では $E_{29.4}VA_{3.9}$ 、および EVA18 では $E_{31.1}VA_{3.3}$ となった (Table 3-2-1)。さらに、得られた m と n の平均値 (m_{av} および n_{av}) から、VA 単位のモル含有率 (VA mol%) は、

$$VA(\text{mol}\%) = n_{av} / (m_{av} + n_{av}) \quad (\text{式 3-2-5})$$

として計算でき、重量含有率 (VA wt%) は、E 単位および VA 単位の整数質量を 28 および 86 とし、

$$VA(\text{wt}\%) = 86 \times n_{av} / (28 \times m_{av} + 86 \times n_{av}) \quad (\text{式 3-2-6})$$

としてそれぞれ概算することができる。その結果、得られた EVA40、EVA25、および EVA18 の VA 含量は、それぞれ 42 wt%、29 wt%、および 25 wt% になった。同様にし、#1~3 の 3 つのフラクションに対して VA 含量を求め、Table 3-2-2 にまとめた。なお、ここで示した値は、Fig. 3-2-5 に示した範囲で観測されたピーク群のみを用いて求められた結果を示しているが、フラクション#2 に対しては、比較のためにマススペクトル全体のピークを用いて得られた結果も示した。

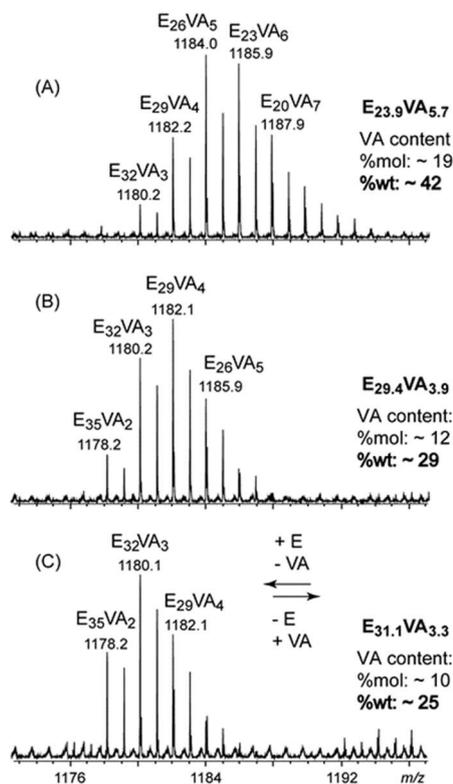


Fig. 3-2-5 Restricted MALDI mass spectra of the fraction #2 collected from the SEC elution of (A) EVA40, (B) EVA25 and (C) EVA18 (mass range: m/z 1173-1197). Composition in terms of ethylene (E) and vinyl acetate (VA) units are mentioned for each major peak as E_mVA_n considering H as end-group. Average compositions and computed VA contents (molar and weight) are mentioned alongside the spectra.

Table 3-2-1 Accurate mass measurements and assignments of peaks detected in the restricted MALDI mass spectra of # 2 fractions for EVA40, EVA25 and EVA18 (Fig. 3-2-5).

	Elemental Comp.	$(m/z)_{exp}$	δ (ppm)	Assignment	Ab. (%)	Average Comp.	VA (%wt)
EVA40	$C_{76}H_{148}NaO_6^+$	1180.1168	+0.0	$[H-(E_{32}VA_3)-H + Na]^+$	18	$E_{23.9}VA_{5.7}$	42+/-1
	$C_{74}H_{142}NaO_8^+$	1182.0589	-0.6	$[H-(E_{29}VA_4)-H + Na]^+$	55		
	$C_{72}H_{136}NaO_{10}^+$	1184.0030	+0.4	$[H-(E_{26}VA_5)-H + Na]^+$	100		
	$C_{70}H_{130}NaO_{12}^+$	1185.9461	+0.5	$[H-(E_{23}VA_6)-H + Na]^+$	96		
	$C_{68}H_{124}NaO_{14}^+$	1187.8886	+0.2	$[H-(E_{20}VA_7)-H + Na]^+$	57		
	$C_{66}H_{118}NaO_{16}^+$	1189.8312	+0.0	$[H-(E_{17}VA_8)-H + Na]^+$	28		
EVA25	$C_{64}H_{112}NaO_{18}^+$	1191.7737	-0.3	$[H-(E_{14}VA_9)-H + Na]^+$	12	$E_{29.4}VA_{3.9}$	29+/-2
	$C_{78}H_{154}NaO_4^+$	1178.1739	+0.0	$[H-(E_{35}VA_2)-H + Na]^+$	26		
	$C_{76}H_{148}NaO_6^+$	1180.1167	-0.1	$[H-(E_{32}VA_3)-H + Na]^+$	77		
	$C_{74}H_{142}NaO_8^+$	1182.0595	-0.2	$[H-(E_{29}VA_4)-H + Na]^+$	100		
	$C_{72}H_{136}NaO_{10}^+$	1184.0023	-0.2	$[H-(E_{26}VA_5)-H + Na]^+$	55		
	$C_{70}H_{130}NaO_{12}^+$	1185.9429	-2.2	$[H-(E_{23}VA_6)-H + Na]^+$	18		
EVA18	$C_{78}H_{154}NaO_4^+$	1178.1744	+0.4	$[H-(E_{35}VA_2)-H + Na]^+$	49	$E_{31.1}VA_{3.3}$	25+/-2
	$C_{76}H_{148}NaO_6^+$	1180.1178	+0.8	$[H-(E_{32}VA_3)-H + Na]^+$	100		
	$C_{74}H_{142}NaO_8^+$	1182.0606	+0.8	$[H-(E_{29}VA_4)-H + Na]^+$	71		
	$C_{72}H_{136}NaO_{10}^+$	1184.0068	+3.6	$[H-(E_{26}VA_5)-H + Na]^+$	28		

VA content is derived from the composition in E and VA units of each peak convoluted by their abundance.

Table 3-2-2 Estimated VA (wt%) for three SEC fractions.

Sample	Fraction #		
	#1	#2 a)	#3
EVA 40	43	42 (43)	41
EVA 25	29	29 (29)	29
EVA 18	24	25 (25)	24

a) The values in parenthesis were calculated using whole mass spectral peaks.

これらの結果は、EVA40 から EVA18 へと VA 含量が低下することを明確に示し、さらに EVA40 と EVA25 については、供給元から提供された VA 含量(40 wt%および 25 wt%)の数値と概ねよく一致していた。一方で、EVA18 に関しては、供給元が提出した値(18 wt%)に対して 24~25 wt %と、約 40%も VA 含量が過大評価された。これは、EVA18 のクロロホルムに対する溶解性が十分でないために、MALDI 測定用の試料溶液を調製する際に VA 含量の低い成分が溶解せず除去され、その結果として VA 含量が高いオリゴマーのみが脱離/イオン化したためであると考えられる。すなわち、SEC/MALDI-MS 法で、EVA18 の VA 含量を正確に評価することには限界がある。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析から、分子量により VA 含量は変わらないことが報告されている[22]。本研究でも、Table 3-2-2 に示したように、分子量範囲の異なるフラクションでも VA 含量はほとんど変化しないという結果が得られた。このように、VA 含量は重合度にほとんど依存しないことから、SEC で分取したオリゴマー画分に対して得られた結果が、EVA ポリマー全体の平均組成を代表していると考えられる。また、マススペクトル全体を用いる場合は、数千ものピークに対して解析を行わなければならないのに対し、一部のピーク群を用いる方法では、4~7 本のピークを用いるだけでよいので、データ解析に要する時間は大きく短縮できる。しかしながら、それでもなおこの方法では、E 単位と VA 単位の組成解析は、それぞれのピークごとに組成を 1 本ずつ解析して行う必要がある。そこで、KMD 法を共重合組成解析に導入し、個々のピークの帰属をせずに、VA 含量をより簡便、迅速に計算する手法の開発を検討した。

(5) KMD 法による EVA の共重合組成解析

3.1.3 節(2)で述べた方法に従って、E 単位(C_2H_4)をベースユニットとして、マススペクトル上に観測された精密質量をケンドリック質量(KM)へと変換し、KMD プロットを作成した。Fig. 3-2-6 に、理論値から作成した PE ホモポリマーと PVA ホモポリマーのプロットから作成した EVA コポリマーの仮想 KMD プロット(Fig. 3-2-6A)、および

本研究で用いた3種のEVA分取試料に対して実際に得られたマススペクトルから作成したKMDプロット (Fig. 3-2-6B~Fig. 3-2-6D) をそれぞれ示す。

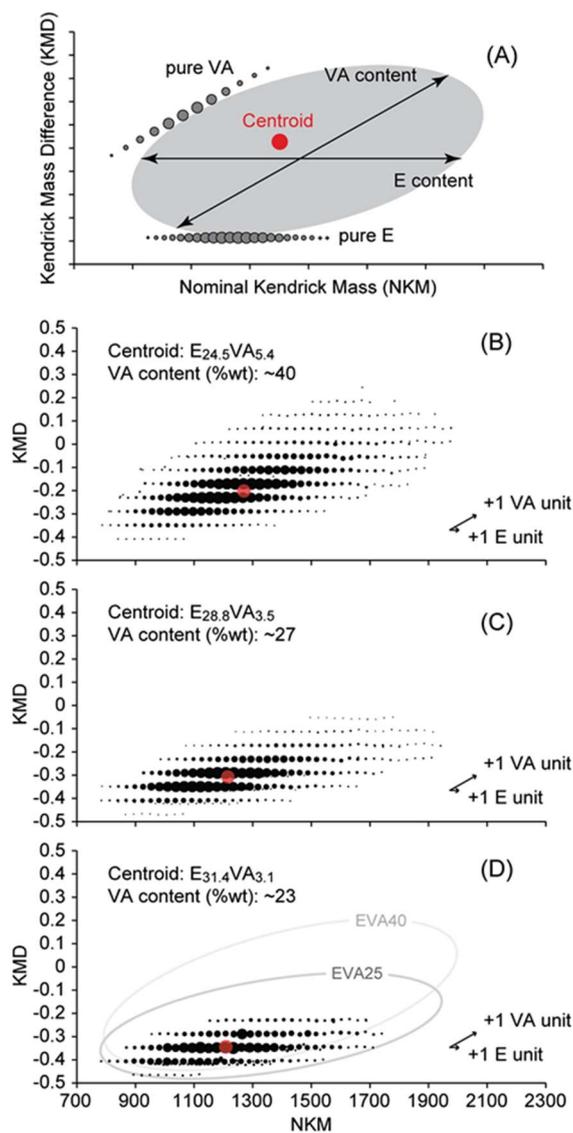


Fig. 3-2-6 KMD plots of EVA samples. (A) Generic representation of KMD plot for hypothetical pure VA and pure E polymers (oblique and horizontal lines, resp.) and EVA copolymer (gray spot). VA content is calculated from the composition in E and VA units at the centroid of the plot. The size of each dots reflects the relative abundance of the associated oligomeric adduct in the mass spectrum. (B)-(D) KMD plots for the fractions #2 collected from the SEC elution of EVA40, EVA25 and EVA18 with the calculated VA content (centroid: red dot). Schematic KMD plots for EVA40 and EVA25 are reproduced in (D) for the sake of comparison (light grey and dark grey ellipses, respectively).

すでに **3.1** 節において、KMD プロット上で共重合組成分布を表現できることを述べたが、改めて、仮想の KMD プロット (Fig. 3-2-6A) を用いて、EVA の共重合組成分布が KMD プロット上でどのように表現できるかを検討する。E 単位をベースユニットに設定すると、E ホモポリマーでは、E 単位が 1 増えるのに対し、KMD は変化せずに NKM のみが 28 Da ずつ増加するため、水平に並ぶ。それに対して VA ホモポリマーは、VA 単位が 1 単位増加するごとに KMD は 0.0593 ずつ増加し、NKM は 58 Da ずつ増加するため、斜め上方向に並ぶ。このことから、E 単位と VA 単位の両方の数が増える EVA 共重合ポリマーの KMD プロットは、楕円状に広がることになる (Fig. 5-2-6A 中では、グレーの楕円で示した)。このようにマススペクトルを KMD プロットに変換することにより、共重合組成分布を直感的に理解することができるようになる。水平方向および斜め方向のドットの並びは、それぞれ E 単位と VA 単位の重合度の情報を表す。楕円形の分布の中で、主な分布が水平方向である場合、E 単位が多く含まれるポリマーであることを示し、主な分布が斜め方向である場合、VA 単位が多く含まれるポリマーであることを示す。

観測された EVA イオンの NKM および KMD は 3.1.3 節(2)でも述べた通り、ベースユニットを E 単位とした場合、以下の式で表される。

$$NKM = NKM_{res+cat} + NKM_{VA} \times n + NKM_E \times m \quad (\text{式 3-2-5})$$

$$KMD = n \times KMD_{VA} + KMD_{res+cat} \quad (\text{式 3-2-6})$$

ここで、 $NKM_{res+cat}$ および $KMD_{res+cat}$ は、残基合計とカチオンの質量の和に対する NKM および KMD の値である。本研究で用いた EVA 試料の両末端は H であり、カチオンは Na^+ であるので、 $NKM_{res+cat} = 25$ および $KMD_{res+cat} = 0.0225$ となる。また、E 単位および VA 単位の NKM 値は、それぞれ $NKM_E = 28$ および $NKM_{VA} = 86$ であり、VA 単位の KMD 値は、 $KMD_{VA} = 0.0593$ となる。

これより、KMD プロットの重心の座標 (x : NKM 値の重量平均、 y : KMD 値の重量平均) は、それぞれ NKM_{cent} および KMD_{cent} と表記し、EVA の重心に相当する E 単位の数 (m_{cent})、VA 単位の数 (n_{cent}) から次のように表すことができる。

$$\begin{aligned} NKM_{cent} &= NKM_{res+cat} + NKM_E \times m_{cent} + NKM_{VA} \times n_{cent} \\ &= 25 + 28 \times m_{cent} + 86 \times n_{cent} \end{aligned} \quad (\text{式 3-2-7})$$

$$\begin{aligned} KMD_{cent} &= KMD_{res+cat} + KMD_{VA} \times n_{cent} \\ &= 0.0225 + 0.0593 \times n_{cent} \end{aligned} \quad (\text{式 3-2-8})$$

KMD プロットの重心に相当する VA 単位の数 (n_{cent}) は、式 3-2-8 を変換して、以下のように求められる。

$$\begin{aligned} n_{cent} &= (KMD_{cent} - KMD_{res+cat}) / KMD_{VA} \\ &= (KMD_{cent} - 0.0225) / 0.0593 \end{aligned} \quad (\text{式 3-2-9})$$

さらに KMD プロットの重心に相当する E 単位の数 (m_{cent}) は、式 3-2-7 から以下のよ

うに求められる。

$$\begin{aligned} m_{cent} &= (NKM_{cent} - NKM_{res+cat} - NKM_{VA} \times n_{cent}) / NKM_E \\ &= (NKM_{cent} - 25 - 86 \times n_{cent}) / 28 \end{aligned} \quad (\text{式 3-2-10})$$

すなわち、個々のピークの帰属や解析をしなくても、KMD プロット上の重心から共重合組成を計算により求めることができる。

実際に 3 種類の EVA 試料のフラクション#2 に対する KMD プロットを、Fig. 3-2-6B ~ Fig. 3-2-6D に順に示す。なお、それぞれの KMD プロットでの重心を赤いドットで強調した。KMD プロット上の各ドットは、それぞれ E_mVA_n で表されるコオリゴマーに対応している。 n が一定の EVA オリゴマーは、VA 含量が変わらないため KMD は変わらないので、同じ水平の直線状に並び、NKM 値は、+28 Da シフトする。それに対し、 m が一定の EVA オリゴマーの場合では、NKM 値が +86 Da、さらに KMD 値が +0.0593 だけシフトし、結果的に斜め上方向に分布する。そして、KMD プロットの形状は、EVA の共重合組成分布の特性を反映したものになる。EVA40 から EVA18 へと変化するにつれ、楕円状の KMD プロットは、y 軸方向の分布が小さくなり、さらに x 軸のほうにどんどん近づいていく。これは、VA 含量が少なくなるにつれて、共重合組成分布が E ホモポリマー（すなわち、仮想的なポリエチレン）の分布に近づいていくことを示している。

各試料の KMD プロットの分布をおおまかに比較するため、Fig. 3-2-6D 上には、EVA18 の KMD プロットの他に、EVA40 と EVA25 のそれぞれの分布の概観をそれぞれ薄い灰色、濃い灰色の楕円で示した。EVA40 から EVA18 に向けて、y 軸方向の分布（VA 単位の分布）は小さくなり、プロットが平たくなっていく。さらに、x 軸方向の分布も同時に小さくなっていることは、E 単位の多いオリゴマー成分が、相対的に MALDI-TOFMS で検出するのが難しいことを強調している。KMD プロットの重心から計算した、EVA40、EVA25、および EVA18 の平均共重合組成は、それぞれ $E_{24.5}VA_{5.4}$ 、 $E_{28.8}VA_{3.5}$ 、そして $E_{31.4}VA_{3.1}$ になり、重量含量に変換すると、それぞれ 40 wt%、27 wt%、そして 23 wt% であった。この結果は、マススペクトル上のピークを解析して求めた共重合組成 (Table 3-2-2) と同様に、KMD プロットから計算した EVA40 と EVA25 の VA 含量は、供給元からの提供値と概ねよく一致し、EVA18 では、VA 単位の値が過大に見積もられることが確かめられた。

マススペクトルを直接解析する方法と KMD プロットを用いて解析する方法のいずれでも、少なくとも VA 含量が EVA40 から EVA25 にかけて低下するという傾向を、定性的に正しく、かつ明確に示すことができた。EVA25 は、多くの工業材料として用いられる共重合組成（典型的な VA 含量は 28~33 wt% になる）に相当する試料となることから、EVA18 の場合に見られた理論値と実測値の不整合は、工業材料の評価を行うという目的においては、大きな問題にならないといえる。ここでは、フラクション#2

以外のフラクション#1 とフラクション#3 を用いた検討に関して詳細は述べなかったが、#2 以外のフラクションから得られた VA 含量(wt%)は、EVA40 では 41 (#1)と 40(#3)、EVA25 では 28 (#1)と 27 (#3)、EVA18 では 21 (#1)と 22 (#3)になり、分取した全質量範囲(m/z 700~3000)で違いは見られなかった。

3.2.4 まとめ

これまでは整数質量レベルでのピーク重複が起こるためにポリマー鎖ごとの共重合組成を決定することができなかった EVA に対し、高分解能質量分析と KMD 法を組み合わせることにより、EVA ポリマーの共重合組成分布の解析を行うことができた。さらに、観測されたマスペクトルから構築した KMD プロットの重心から、EVA の平均共重合組成を求めることができた。このことから、本法は工業製品として用いられる EVA ポリマー鎖の実用的なキャラクタリゼーション法として有用であると考えられる。

3.2 節 参考文献

- [1] I. L. Chien, T. W. Kan, B. S. Chen, *Comput. Chem. Eng.*, **31** (2007) 233-245, Dynamic simulation and operation of a high pressure ethylene-vinyl acetate (EVA) copolymerization autoclave reactor. doi: 10.1016/j.compchemeng.2006.06.007
- [2] D. Doran, B. Cather, “*Construction Materials Reference Book*”, (2013), (Routledge, Taylor and Francis Group, Oxford).
- [3] H. Y. Li, R. Théron, G. Röder, T. Turlings, Y. Luo, R. F. M. Lange, C. Ballif, L. E. Perret-Aebi, *Polym. Polym. Compos.*, **20** (2012) 665-672, Insights into the encapsulation process of photovoltaic modules: GC-MS analysis on the curing step of poly(ethylene-co-vinyl acetate) (EVA) encapsulant. doi: 10.1177/096739111202000801
- [4] A. Arzac, C. Carrot, J. Guillet, *J. Appl. Polym. Sci.*, **74** (1999) 2625-2630, Rheological characterization of ethylene vinyl acetate copolymers. doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(19991209)74:11<2625::AID-APP9>3.0.CO;2-G
- [5] T. Kuila, H. Acharya, S. K. Srivastava, A. K. Bhowmick, *J. Appl. Polym. Sci.*, **104** (2007) 1845-1851, Synthesis and characterization of ethylene vinyl acetate/Mg–Al layered double hydroxide nanocomposites. doi: 10.1002/app.25840
- [6] F. J. Pern, *Polym. Degrad. Stab.*, **41** (1993) 125-139, Luminescence and absorption characterization of ethylene-vinyl acetate encapsulant for PV modules before and after weathering degradation. doi: 10.1016/0141-3910(93)90035-H
- [7] J. K. Fink, “*Handbook of Engineering and Specialty Thermoplastics: Polyolefins and Styrenics*”, (2010), (John Wiley, New York).
- [8] NPCS Board of Consultants and Engineers, “*The Complete Technology Book on Adhesives, Glues and Resins*”, (2007), (Asia Pacific Business Press Inc., New Delhi).
- [9] NPCS Board of Consultants and Engineers, “*The Complete Technology Book on Industrial Polymers, Additives, Colourants and Fillers*”, (2007), (Asia Pacific Business Press Inc., New Delhi).
- [10] Z. Su, Y. Zhao, Y. Xu, X. Zhang, S. Zhu, D. Wang, J. Wu, C. C. Han, D. Xu, *Polymer*, **45** (2004) 3693-3700, Characterization of the sequence distribution and crystalline structure of poly(ethylene-co-vinyl acetate) copolymers with high-resolution NMR spectroscopy. doi: 10.1016/j.polymer.2004.03.065
- [11] T. K. Wu, D. W. Ovenall, G. S. Reddy, *J. Polym. Sci. : Poly. Phys.*, **12** (1974) 901-911, Nuclear magnetic resonance studies on microstructure of ethylene copolymers. VI. Carbon-13 spectra of ethylene-vinyl acetate copolymers. doi:

10.1002/pol.1974.180120505

- [12] K. Beshah, *Macromolecules*, **25** (1992) 5597-5600, Microstructural analysis of ethylene-vinyl acetate copolymer by 2D NMR spectroscopy. doi: 10.1021/ma00047a006
- [13] N. Gospodinova, L. Terlemezyan, M. Mihailov, U. M. Han, K. B. Du, *Eur. Polym. J.*, **28** (1992) 961-967, Microstructure of ethylene-(vinyl acetate) copolymers prepared by emulsion copolymerization. doi: 10.1016/0014-3057(92)90325-V
- [14] L. Wang, P. Fang, C. Ye, J. Feng, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, **44** (2006) 2864-2879, Solid-state NMR characterizations on phase structures and molecular dynamics of poly(ethylene-*co*-vinyl acetate). doi: 10.1002/polb.20917
- [15] W. Stark, M. Jaunich, W. Bohmeyer, K. Lange, *Polym. Test.*, **31** (2012) 904-908, Investigation of the crosslinking behaviour of ethylene vinyl acetate (EVA) for solar cell encapsulation by rheology and ultrasound. doi: 10.1016/j.polymertesting.2012.07.004
- [16] B. Rimez, H. Rahier, G. Van Assche, T. Artoos, M. Biesemans, B. Van Mele, *Polym. Degrad. Stab.*, **93** (2008) 800-810, The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-*co*-vinyl acetate), Part I: Experimental study of the degradation mechanism. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2008.01.010
- [17] S. P. Tambe, S. K. Singh, M. Patri, D. Kumar, *Prog. Org. Coat.*, **62** (2008) 382-386, Ethylene vinyl acetate and ethylene vinyl alcohol copolymer for thermal spray coating application. doi: 10.1016/j.porgcoat.2008.02.006
- [18] R. L. McEvoy, S. Krause, P. Wu, *Polymer*, **39** (1998) 5223-5239, Surface characterization of ethylene-vinyl acetate (EVA) and ethylene-acrylic acid (EAA) co-polymers using XPS and AFM. doi: 10.1016/S0032-3861(97)10177-X
- [19] S. Tsuge, H. Ohtani, C. Watanabe, *"Pyrolysis-GC/MS Data Book of Synthetic Polymers: Pyrograms, Thermograms and MS of Pyrolyzates"*, (2011), (Elsevier, Amsterdam).
- [20] A. A. Galuska, *Surf. Interface Anal.*, **21** (1994) 703-710, Surface characterization of EVA copolymers and blends using XPS and ToF-SIMS. doi: 10.1002/sia.740211005
- [21] O. Y. Alothman, *Adv. Mater. Sci. Eng.*, (2012) article ID: 635693, Processing and characterization of high density polyethylene/ethylene vinyl acetate blends with different VA contents. doi: 10.1155/2012/635693
- [22] 香川信之, 岡崎玲子, 伊藤明, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **59** (2010) 793-799, 溶媒グラジエント高速液体クロマトグラフィーによるエチレン-酢酸ビニル共重合体の解析. doi: 10.2116/bunsekikagaku.59.793

第 4 章

KMD 法の高性能化

第4章 KMD法の高性能化

4.1 KMDプロットにおける成分間の分離を向上させる手法の検討

4.1.1 序論

前章で述べたように、KMD法において、ベースユニットにポリマー鎖の繰り返し単位を設定することにより、ベースユニットと同じ繰り返し単位を持つ成分はKMDプロット上で水平方向に並び、ベースユニットと異なる繰り返し単位を持つ成分は斜め方向に並ぶことで、複雑なマススペクトルを視覚的に理解することができるようになった。

KMDプロットにおいて、残基構造が異なるポリマー成分は、最大±0.5の範囲内でy軸方向に分離する。しかし、実際には±0.5の範囲を最大限に使うとプロットが分散することは少なく、前章**3.1.3(3)**で示したように、KMDプロット上で成分が十分に分離できないことがあった。そこで、前章では remainder of Kendrick mass (RKM)法による残基分布のプロファイリング法を提案した。しかしながら、この方法では繰り返し単位の分布(重合度)に関する情報を失うという問題があった。

この問題を解決するために、著者の共同研究者である Fouquet らは、ベースユニットを分数形式にする概念(fractional base unit)を導入し、KMD法を高分解能化する方法(resolution-enhanced KMD, RE-KMD法)を考案した[1]。この高分解能化された RE-KMD法では、繰り返し単位質量を任意の整数 x (以降、ディバイザー(divisor)という)で割ったものをベースユニットとして定義することにより、**3.1**節の式3-1-1で示したケンドリック質量(KM)を求める式を次のように変形する。なお、 M_{ion} は観測されたイオンの精密質量であり、 R は繰り返し単位(repeat unit)の精密質量を示す。

$$KM = M_{ion} \cdot \frac{\text{round}(R/x)}{R/x} \quad (\text{式 4-1-1})$$

ここで、 $\text{round}(R/x) = 1$ となるように、すなわち $0.5 \leq R/x < 1.5$ となるようにディバイザー x を選択すると、式4-1-1は次式のようになる。

$$KM = M_{ion} \cdot \frac{x}{R} \quad (\text{式 4-1-2})$$

ポリマーイオンの質量(M_{ion})は、主鎖以外の残基の合計質量(M_{res})および付加したカチオンの質量(M_{cat})を用いて、式4-1-3で求められる。

$$M_{ion} = n \cdot R + M_{res} + M_{cat} \quad (\text{式 4-1-3})$$

最終的に求めるKMD値は、重合度によらず一定であることから $n=0$ としてもよいので、式4-1-2および $n=0$ のときの式4-1-3から、

$$KM = \frac{(M_{res} + M_{cat})}{R} \cdot x \quad (\text{式 4-1-4})$$

となる。すなわち、残基とカチオン質量の和をモノマー質量で割った値を x 倍した値の小数部が、KMDプロットのy座標に反映されることになる。残基や付加カチオンの異なる2つの系列のKMDの差も x 倍に拡大されることになるので、プロット上での分離が困難な成分の分解能を向上することができる。なお、この RE-KMD法の詳細は、**4.1.2**

節で具体例を示しながら説明する。

RE-KMD 法では、ディバイザー(x)の取り方により、各成分間の分離の程度は大きく異なる。そのため、適切な x 値を設定することが、RE-KMD 法を最大限に利用するうえで必須である。これまでは試行錯誤的に x 値を順に変化させ、対応する KMD プロットを確認しながら適切な x 値を決定する必要があった。しかしながら、繰り返し単位質量(R)が大きくなるにつれて x 値の候補も多くなるので、試行錯誤的に x 値を決めるのではなく、予測に基づきあらかじめ候補を絞り込んだリストの中から選択できれば、解析時間の短縮にもつながる。ホモポリマーの解析に対して最適な x 値を選択する手法については、すでに共同研究者の Fouquet らが報告している[2]。これは、同位体の分離を最小限に抑えたいうえで、残基が異なる成分の分離を大きくすることができる x 値の初期条件を見出す指針を提案したもので、具体的な方法は 4.1.2 節で説明する。しかしながら、RE-KMD 法で共重合ポリマーの組成分布を表現しようとする、 y 軸方向に分離拡大される要素が、モノマー 1、モノマー 2、および同位体の 3 種類となるので、最適な x 値を決定することは、より困難となる。

そこで、本研究では、RE-KMD 法を用いた共重合ポリマーの組成分布解析をより迅速かつ的確に行う方法を検討した。その結果、RANK 1 および RANK 2 という 2 種の関数を用いて、 x 値を変化させたときの KMD プロット上での各成分の分離の程度を予測し、その結果をグラフ上に可視化することにより、最適な x 値を容易に選択する方法を開発した。さらに、こうして最適化したディバイザー(x)を用いた解析により、共重合ポリマーの各成分をモノマー単位や ^{13}C の含まれる数などにより分離した事例や、非常に複雑な 3 元共重合ポリマーの解析へと展開した事例を示す。

4.1.2 共重合ポリマーの KMD 解析に必要な関連技術に関する補足

(1) RE-KMD 法 [1-3]

前項で概略を述べたように、RE-KMD では、同位体による分離を最小限に抑えたいうえで、残基が異なる成分の分離を大きくすることができる x 値の初期条件を見出すことが重要である。ここでは、3.1 節で用いた PPO-diol と PPO-triol の混合試料の解析に対して RE-KMD 法を適用した例を Fig. 4-1-1 に示しながら、詳しく説明する。

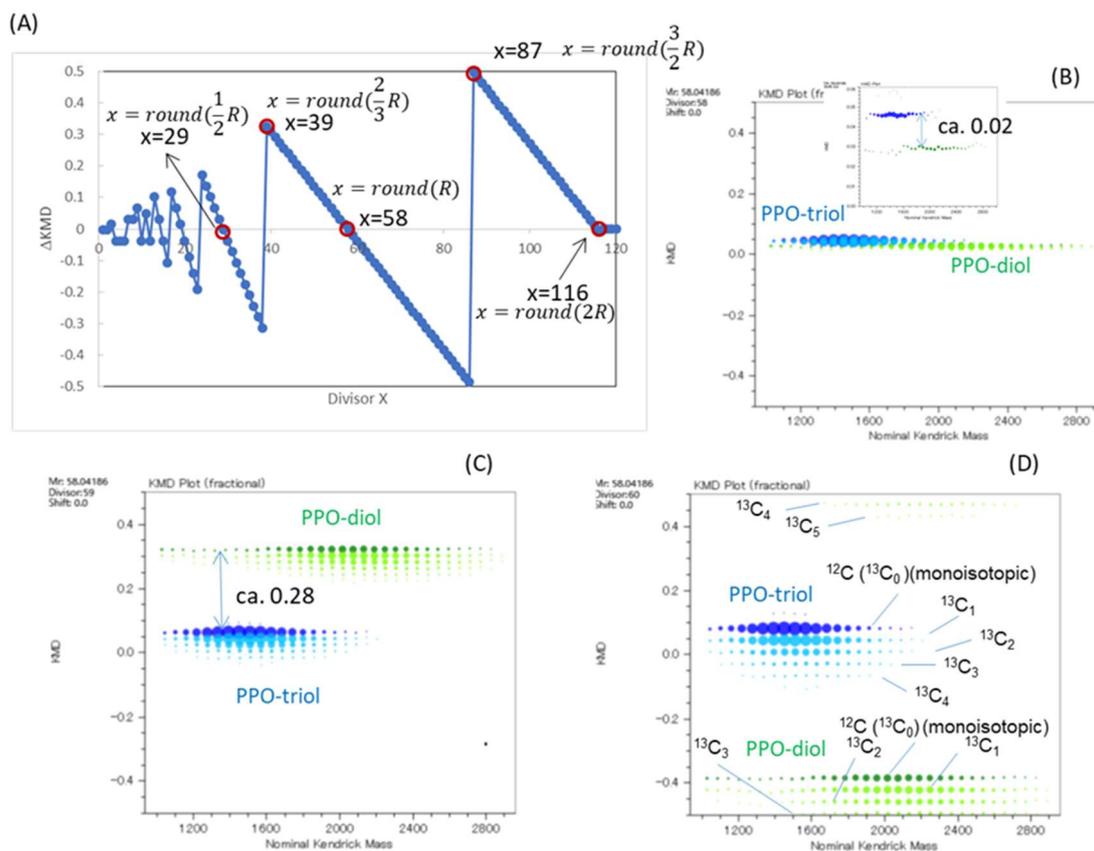


Fig. 4-1-1 Description of RE-KMD using the case of a mixture of PPO-diol and PPO-triol. (A) Variation of $(KMD_{13C} - KMD_{12C})$ according to changing divisor (x); base unit (R): 58.04186, (B)~(D) RE-KMD plots when changing divisors from 58 (default divisor) to 60, (B) $x = 58$, (C) $x = 59$, (D) $x = 60$.

Fig. 4-1-1A は、ディバイザー(x)を変化させたときの、RE-KMD プロットの分解能の違いを示す例として、PO 単位(C_3H_6O)の精密質量(58.04186)をベースユニットにした場合のモノアイソトピック成分 (以後 ^{12}C と表記) と $^{13}C_1$ 同位体成分の KMD 値の違い (ΔKMD)をプロットしたものである。ディバイザー(x)の値が、モノマー単位の精密質量(R)に対し、 $\text{round}(\frac{2}{3}R) < x \leq \text{round}(2R)$ の範囲に入る場合は、 $\text{round}(\frac{R}{x}) = 1$ となり、 ΔKMD は最小のステップで直線的に変化する。 x 値が $\text{round}(\frac{2}{3}R)$ よりも小さいと、 ΔKMD のステップが大きくなる一方で、 y 軸の範囲が小さくなるため不適切である。また、 x 値が $\text{round}(2R)$ を超えると、 $\text{round}(\frac{R}{x}) = 0$ となり、もはや KMD 法を使うことができなくなる。そこで、最適な x 値は $\text{round}(\frac{2}{3}R) < x \leq \text{round}(2R)$ の範囲で探索すればよく、PO モノマーの精密質量をベースユニットとした場合は、 $39 < x \leq 116$ である。この範囲で ^{12}C と $^{13}C_1$ の分離が最も小さくなるのは、 $\Delta KMD = 0$ 付近の $x = 58$ (すなわち、 $x = \text{round}(R)$) の場合であり、58 から離れるにしたがって、分離は徐々に大きく

なっていく、 $x=86$ 及び 87 において $\Delta KMD = \pm 0.5$ 付近と最も大きくなる。そのため、系列間の分離を向上させるためには、 $x = \text{round}(R)$ から徐々に x 値を変化させていくのが良いと考えられる。

そこで、実際に $x = \text{round}(R)$ から徐々に x 値を変化させた場合の、PPO-diol と PPO-triol の混合試料の KMD プロットの変化を比較してみる。Fig. 4-1-1B に示した $x = 58$ の場合には、図中で緑色 (PPO-diol) および青色 (PPO-triol) で示した ^{12}C (モノアイソトピックピーク) とそれぞれの淡色で示した $^{13}\text{C}_n$ はほぼ重なり、分離は最小になった。この条件は通常の KMD プロットと同じであり、PPO-diol と PPO-triol のモノアイソトピックピークの KMD 値の差はおよそ 0.02 になり、プロットを拡大しないと両者を識別することはできない。しかしながら、Fig. 4-1-1B 内に示したように、プロットをそのまま単純に拡大しても、KMD 値の違いのみならず測定誤差も同様に拡大されるので、系列内でのプロットのばらつきが強調される。このとき、プロット上での同じ系列内でのばらつき ($\delta KMD_{diol-triol}$) は、測定誤差を反映して $\delta KMD_{diol-triol} = 0.002$ 程度である。PPO-diol と PPO-triol の系列間の分解能 (resolution) は、両者の KMD 値の違いである $\Delta KMD_{diol-triol}$ とプロット上での測定間のばらつきに相当する $\delta KMD_{diol-triol}$ から $resolution = \frac{\Delta KMD_{diol-triol}}{\delta KMD_{diol-triol}}$ と表すことができ、この場合には約 10 であった。一方で、 $x = 59$ に設定して作成した RE-KMD プロット (Fig. 4-1-1C) では、 $\Delta KMD_{diol-triol}$ は、 0.28 程度にまで拡大された。このとき、後述するように $\delta KMD_{diol-triol}$ はほとんど変化しないので、 $x = 59$ とした RE-KMD 法における系列間の分解能は約 140 となり、約 14 倍も向上したことになる。さらにディバイザーを大きくし、 $x = 60$ に設定した場合の RE-KMD プロット (Fig. 4-1-1D) では、PPO-diol と PPO-triol の $\Delta KMD_{diol-triol}$ はさらに拡大し、 0.4 程度まで広がったが、一方で ^{13}C の含まれる数が異なる PPO-diol の各成分は、図中に示したように ^{13}C の含まれる数の順には並んでいないように見える。これは、定義上、 y 軸の KMD 値が $-0.5 \sim 0.5$ に限定されているため、分離が大きくなった場合に、上限の 0.5 あるいは下限の -0.5 を超えて、系列の折り返し (エイリアシングという) が起こることによるものである。 x 値の設定によっては、エイリアシングが顕著になるため、分離を大きくできる x が、必ずしも視覚的に最適な KMD プロットを与えるわけではないことに注意を要する。

ここで、RE-KMD 法で x を変化させても、 $\delta KMD_{diol-triol}$ があまり変化しない理由を補足する。連続する同系列のオリゴマーの観測質量のばらつきを $\delta M_{diol-triol}$ とすると、このばらつきに伴う KM のばらつき ($\delta KM_{diol-triol}$) は、式 4-1-2 を変形して、

$$\delta KM_{diol-triol} = \frac{\delta M_{diol-triol}}{R} \cdot x \quad (\text{式 4-1-5})$$

となるので、 $\delta KMD_{diol-triol}$ は、

$$\delta KMD_{diol-trio} = \left| \text{round} \left(\frac{\delta M_{diol-triol}}{R} \cdot x \right) - \frac{\delta M_{diol-triol}}{R} \cdot x \right| \quad (\text{式 4-1-6})$$

となる。ここで、 $\delta M_{diol-triol}$ は、 R (58.4186) に比べて十分に小さいため、 $\text{round}\left(\frac{\delta M_{diol-triol}}{R} \cdot x\right) = 0$ となり、 $\delta KMD_{diol-triol}$ は $\delta M_{diol-triol}$ の x/R 倍となる。ここで、 x は必ず $\text{round}(2R)$ よりも小さな値となるため (Fig. 4-1-1A 参照)、 x 値を変えても $\delta KMD_{diol-triol}$ は最大でも 2 倍にしかならない (しかも高分解能質量分析装置を用いた場合は、 δM は 0.01 以下である)。一方で、 ΔKMD は ± 0.5 の範囲内で x 倍されていくので、適切な x 値を設定すれば、RE-KMD 法では系列間の KMD の分解能 $\left(\frac{\Delta KMD_{diol-triol}}{\delta KMD_{diol-triol}}\right)$ が大きく改善されることになる。

(2) Referenced KMD (Ref-KMD) 法と重合度 (degree of polymerization, DP) プロット [4]

共重合ポリマーのコモノマー組成分布の様子は、3.2 節で述べたように KMD プロットで表現することができるが、コモノマーの重合度の分布を直接示したものではない。そこで、Fouquet ら [4] は、Lerno らによって報告された referenced-KMD (Ref-KMD) 法 [5] を応用し、KMD プロットから各コモノマーの重合度の分布を簡便に表す“重合度 (degree of polymerization, DP) プロット”を作成する方法を提案した。ここでは、コモノマー A およびコモノマー B からなる共重合ポリマーをモデルにして、DP プロットの作成方法について、Fig. 4-1-2 を用いて説明する (なお、これらは 5.2 節で用いるデータと同じであり、ここでは DP プロットを作成する手順の例として示す)。

Fig. 4-1-2A は、ベースユニットをコモノマー A に設定した場合の、この共重合ポリマーの KMD プロットである (分解能を向上させるために、RE-KMD 法 ($x=92$) を用いた)。このプロット上で、 x 軸方向には、コモノマー A の重合度の違いが反映されているが、 x 軸の値は NKM であり、重合度そのものを表しているわけではない。一方、 y 軸方向には、コモノマー B の重合度の違いが KMD 値の違いに反映されているが、RE-KMD 法で分離が最適となる x 値を用いた結果、 y 軸方向のコモノマー B の重合度の分布は反転している (y 値が大きくなるほど重合度が小さくなる)。そのため、この KMD プロットから重合度の分布を直感的に理解することはできない。 y 軸のパラメータである、ベースユニットをモノマー A の精密質量に設定した場合に観測されたイオンの KMD 値である $KMD_A(M_{ion})$ は、次式で示すことができる。

$$KMD_A(M_{ion}) = KMD_A(M_{res} + M_{cat}) + DP_B \cdot KMD_A(M_B) \quad (\text{式 4-1-7})$$

ここで、 $KMD_A(M_{res} + M_{cat})$ は残基と付加イオンの合計質量の KMD 値、 DP_B はコモノマー B の重合度、 $KMD_A(M_B)$ はコモノマー A の精密質量をベースユニットとしたときのコモノマー B の質量の KMD 値である。この式から、 y 軸の値である $KMD_A(M_{ion})$ は、コモノマー B の質量の KMD 値に B の重合度を乗じた分だけ増加することがわかる。 DP_B は、式 4-1-7 を変形して、次式で求めることができる。

$$DP_B = \frac{KMD_A(M_{ion}) - KMD_A(M_{res} + M_{cat})}{KMD_A(M_B)} \quad (\text{式 4-1-8})$$

ベースユニットを B に変更して同様の計算を行うと、 DP_A を求めることができる。

$$DP_A = \frac{KMD_B(M_{ion}) - KMD_B(M_{res} + M_{cat})}{KMD_B(M_A)} \quad (\text{式 4-1-9})$$

このように、各モノマーの質量をベースユニットとする KMD 値を比例定数として重合度を求める方法を Ref-KMD 法[4]という。こうして共重合ポリマーのある 1 つのイオンはベースユニットをモノマー A の質量とするかモノマー B の質量とするかにより、 $KMD_A(M_{ion})$ および $KMD_B(M_{ion})$ と表すことができ、それぞれの KMD 値から求められた 2 つのモノマーの重合度 (DP_A および DP_B) をプロットすれば、Fig. 4-1-2B に示すような DP プロットを得ることができる。

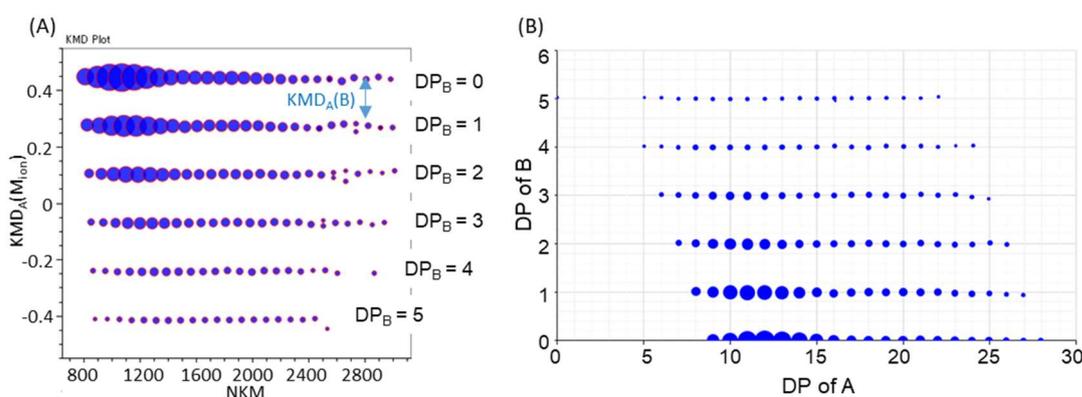


Fig. 4-1-2 KMD plot (A) and DP plot (B) of a copolymer A_mB_n .

4.1.3 実験

(1) 試料調製

試料には、ポリエチレンオキシド-*block*-プロピレンオキシド-*block*-エチレンオキシドからなるトリブロックポリマー(EO/PO 共重合ポリマー) (Sigma-Aldrich 製) を用いた。このトリブロックポリマーは、両末端が水酸基であり、エチレンオキシド(EO)単位の含量は約 10 wt%、また数平均分子量(M_n)は約 1100 g/mol である。PEO モノステアレートは、富士フィルム和光純薬製を用いた。三元共重合ポリエステルは、組成未知のアジピン酸に 1,4-ブタンジオール、2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール、および 3-メチル-1,5-ペンタンジオールを重縮合させたものであり、国内企業から提供された (3 種類の繰り返し単位はそれぞれ $C_{10}H_{16}O_4$ 、 $C_{11}H_{18}O_4$ 、および $C_{12}H_{20}O_4$ に相当する)。

(2) MALDI-TOFMS 測定

マトリックスには、*trans*-2-[3-(4-*tert*-ブチルフェニル)-2-メチル-2-プロペニリデン]マロノニトリル(DCTB、東京化成工業製)を用い、カチオン化剤には、トリフルオロ酢酸ナトリウム(NaTFA、富士フィルム和光純薬製)を用いた。各試料を同一の条件で測定するため、試料の調製には、2.2.3 節で述べた溶剤フリー法[6]を用いた。MALDI-

TOFMS 測定は、JMS-S3000 SpiralTOF（日本電子製）を用いて行った。

(3) KMD 解析

必要に応じてマススペクトル解析用のフリーソフトウェアである mMass 5.5 [7]を用いて、得られたマススペクトルからモノアイソトピックピークを抽出する"デアイソトープ処理"を行った。また、検出する相対ピーク強度のしきい値を 0.5%に設定し、msRepeatFinder（日本電子製）、Mass Mountaineer（RBC software 製）、インハウスソフトウェアである Kendo [8]（産業技術総合研究所製）のいずれかを用いて KMD 解析を行った。DP プロットの作成や最適なディバイザーを選択するためのシミュレーションを行う関数である RANK1 および RANK2 の計算は、Mass Mountaineer あるいは Kendo を用いて行った。DP プロットは、4.1.2 節で説明した方法によって作成した。

4.1.4 結果と考察

(1) 共重合ポリマーに最適なディバイザーの選択（RANK1 関数の利用）

4.1.2 節で説明したように、 ^{12}C と ^{13}C 同位体の分離を最小にするには、ディバイザー (x) を $x = \text{round}(R)$ の周辺の値にするとよい。そこで、ディバイザーを $x = \text{round}(R)$ から増やした場合の共重合ポリマーの KMD プロットに及ぼす変化と、DP プロットを用いてモノマー組成を表す過程を EO/PO 共重合ポリマーを例にして、Fig. 4-1-3 を用いて説明する。

Fig. 4-1-3A は、デアイソトープ処理をあらかじめ行った EO/PO 共重合ポリマーの図中に示すマススペクトルから、EO の繰り返し単位である $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ の精密質量 (44.02621 Da; 以下 EO と表す) をベースユニットに設定して作成した、従来の KMD プロットである（これは、式 4-1-1 で x が 1 あるいは 44 の場合に相当する）。このプロットでは、KMD 値が幅 0.1 程度の狭い範囲に集中し、各成分が十分に分離できずにクラウド状になり、各成分の構造情報をほとんど得ることができない。この場合、PO 単位が 1 増えたときの KMD 値の変化量は、0.0074 である。次に、EO ホモポリマーについてデフォルトのディバイザーである 43 ($x = \text{round}(EO) - 1 = 43$) に変更して作成した KMD プロットを、Fig. 4-1-3B に示す。共重合組成が異なる EO/PO 共重合ポリマーが、含まれる PO 単位の数による違いにより大きく分離できるようになった。この場合、PO 単位が 1 増えたときの KMD 値の変化は、0.3110 となり、 $x = 44$ の場合の 42 倍になっている。プロット上で見られる水平な直線状の分布は、それぞれ特定の数の PO 単位を持ち、EO 単位の数が異なる共重合ポリマーを表す。図中では、例として、 $\text{EO}_x\text{PO}_{14-16}$ の各系列のモノアイソトピックピークに相当する成分を灰色の網掛けで示した。このプロット上では、PO 単位の数の順に並ばず、 $\text{EO}_x\text{PO}_{16}$ の共重合ポリマーに相当する系列は、 $\text{EO}_x\text{PO}_{14}$ と $\text{EO}_x\text{PO}_{15}$ の間に位置する。これは、4.1.2 節でも述べたように、各成分の分離が大きすぎるために、KMD プロットの y 軸の範囲である -0.5 から

+0.5 の範囲を超え、顕著なエイリアシングが起こっているためである。Fig. 4-1-3B に青色、赤色、緑色、黄色で示した各系列は、それぞれ折り返しが1回、2回、3回、4回起こっているものを示している。このようなプロットでは、共重合組成の違いによる分離は向上しても、各成分の構造の違いを視覚的に理解しにくい。

この問題を回避するために、"アンチエイリアシング"を行った (Fig. 4-1-3C)。これは、それぞれ折り返しの起こっている回数に相当する整数($N = \{0, 1, 2, \dots\}$)を KMD 値に加えることにより、KMD プロットの y 軸を 0.5 よりも大きく拡張して折り返しの問題を回避する方法であり、マニュアルで行う必要がある。KMD 値の変動の幅は、1 から 5 へと拡張され、EO/PO 共重合ポリマーのうち、PO 単位の数が異なる各成分の並びも、含まれる PO 単位の数の順に連続的に並ぶようになった。しかし、ここまでの処理をすべて行うには、各成分の帰属が完全に行われていることが前提となるうえ、非常に時間がかかる。これでは、各成分の帰属を行うことなく、成分の構造を迅速・簡便に行えるという KMD 法の利点を失ってしまう。つまり、ベースユニットに用いるモノマー A (この場合には EO) の ^{13}C 同位体の分離を抑制することを前提としたディバイザーの設定指針ではなく、モノマー B (この場合には PO) の分布のエイリアシングを予想できる新しいディバイザーの設定指針が必要になる。

そこで次に、EO/ x をベースユニットに設定して、PO 単位が 1 単位増えたときの KMD 値の変化を調べた。Fig. 4-1-3D は、ディバイザーの変化に対して PO 単位が 1 単位増えたときの KMD 値の変化 [$\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$] をプロットしたものである。 $\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$ は、 ^{12}C と $^{13}\text{C}_1$ の KMD 値の違いの変化 (Fig. 4-1-1) を用いて議論したように、 x を $\text{round}(2/3EO)$ から $\text{round}(2EO)$ の範囲で設定するとよい。このように、ディバイザーが変化した場合に伴い、共重合ポリマーを構成するもう 1 つの繰り返し単位が 1 単位増加した場合の KMD 値の変化量を用いて、KMD プロット上での各モノマーの分離の程度を予測することができる。

共重合ポリマーの KMD 解析では、エイリアシングの回避も重要な課題である。しかしながら、 $\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$ のグラフでは、RE-KMD プロットに起こり得るエイリアシングを回避できるようなディバイザー (x) を明確に見出すことができない。そこで、エイリアシングを回避して分離を最適化できるディバイザー (x) を予測する方法を検討した。

まず、 $\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$ の y 軸方向への広がりを絶対値で表した、式 4-1-10 に示す関数 RANK1 を定義する。

$$\text{RANK1}(R_1, R_2) = |\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| \quad (\text{式 4-1-10})$$

RANK1 は、コポリマーを構成するモノマー 1 の精密質量 (R_1) およびモノマー 2 の精密質量 (R_2) のみを用いており、ディバイザー (x) が $\text{round}(\frac{2}{3}R_1) < x \leq \text{round}(2R_1)$ の範囲で有効な関数である。

Fig. 4-1-3E に、EO/PO 共重合ポリマーにおけるディバイザー(x)の変化に対する RANK1 の変化を示す。ここでは、 y 軸の RANK1 は対数グラフで示している。RANK1 のグラフにおいて、各点の y 座標は分離の程度を反映しており、ディバイザー(x)の値に応じて、KMD プロットがどのように変化するかを推測することができる。EO/ x をベースユニットに設定すると、RANK1 が小さくなるほど PO 単位数が増えたときの KMD 値の違いは小さくなり、PO 単位の分布は KMD 上でより小さく表される。エイリアシングが起こらないようにするためには、 y 軸方向の分布が小さく抑えられる方がよいので、RANK1 がなるべく小さな値となるディバイザー(x)を選択すればよい。 $x=44$ の場合に RANK1 は最小値になり、通常の KMD 解析の条件と同じになる。 $x=44$ の周辺で次に小さな RANK1 を与える x 値を選ぶと、 $x=44$ の条件よりも y 軸方向の分離がやや大きくなる。エイリアシングが起こるまでは、RANK1 のグラフ上の y 値が大きくなるにつれて、成分間の分離も大きくなる。そこで、 $x=44$ の周辺で小さな RANK1 を与える $x=47$ (ベースユニット: EO/47) および $x=50$ (ベースユニット: EO/50) の場合の RE-KMD プロットを、Fig. 4-1-3F および Fig. 4-1-3G に示す。PO 成分に基づく分布の分離が向上し、ドットの分布範囲が、 $x=47$ の場合には 0.5、さらに $x=50$ の場合には、エイリアシングが起こる限界である 1 まで広がり、各成分を最もよく分離した。また、 $x=50$ の場合には、EO/43 に設定し、アンチエイリアシングを行った後のプロット (Fig. 4-1-3C) と視覚的に類似したプロットになり、アンチエイリアシング処理を行わなくても、 $PO_{14} < PO_{15} < PO_{16}$ のように、PO 単位数の順に並んだプロットが得られた。当然、分離が最小になる RANK1 の最小値周辺の y 値をとるディバイザーを選択しても、エイリアシングが起こる可能性はある。しかし、ピーク系列の数 (末端構造の種類など) や系列ごとの同位体系列の数などは、最初は未知であることが多く、どの程度分離を大きくすればエイリアシングが起こるかを、あらかじめ予測することはできない。一方、RANK1 を用いてグラフ化すれば、ディバイザーを変化させたときの各成分の分離の度合いを可視化でき、エイリアシングを回避できる最適なディバイザーの選択を容易に行うことができる。

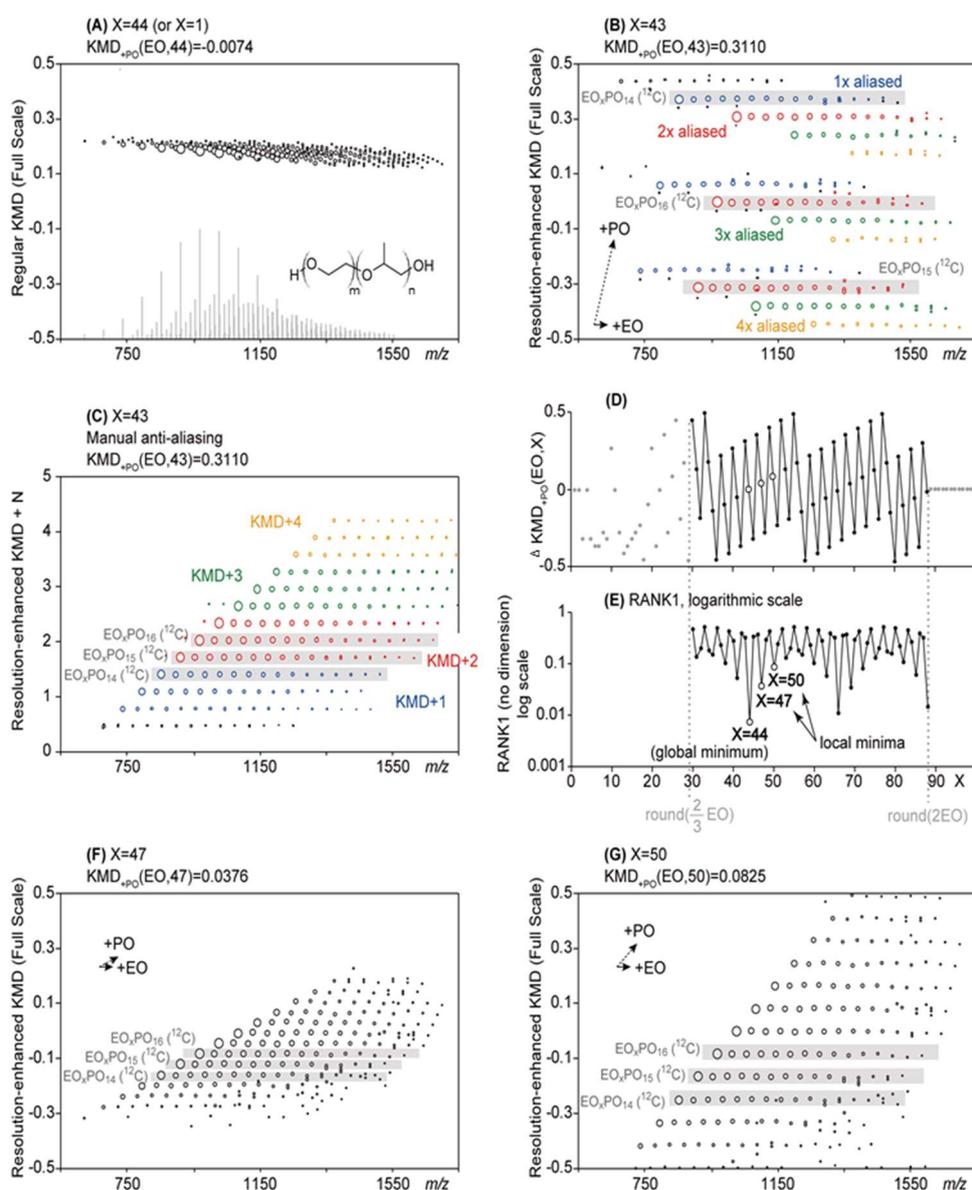


Fig. 4-1-3 An overview of how to select the optimal divisor to produce a KMD plot representing the comonomer distribution of the EO/PO copolymer without aliasing. (A) Regular KMD plot (base unit: EO or $EO/44$). (B) Aliased, RE-KMD plot using $EO/43$ as a base unit. (C) Antialiased plot with y axis width of 5 instead of 1. (D) Variation of KMDs with adding a PO unit using EO/x as the base unit. (E) RANK1 (EO, PO) using EO/x as the base unit. (F, G) RE-KMD plot using (F) $EO/47$ and (G) $EO/50$ as the base units with no aliasing.

応用事例1：RANK1のResolution-enhanced DPプロットへの適用

RANK1を、4.1.2節で述べたreferenced KMD (Ref-KMD)の概念[4]を用いて、各モノマーの組成分布を表すDPプロットの作成へと適用した事例をFig. 4-1-4に示す。Fig. 4-1-4Aは、EO/PO共重合ポリマーのマススペクトルをデアイソトープ処理後、4.1.2(2)で説明した方法で作成したDPプロットである。ここではEO(あるいはEO/44)およびPO(あるいはPO/58)をそれぞれベースユニットに、Ref-KMD解析を行う場合に基準となる(残基、付加イオン)はそれぞれ(H₂O, Na)とした。得られたプロットは、クラスターになり、各ドットが分布するy軸の範囲から、EOの重合度は0~14程度であることがわかる。しかし、DPプロットの各ドットの座標は、各モノマーの重合度を示すため、必ず整数になるはずであるが、このプロットでは、各ドットの座標が整数になってないものがある。これは、エイリアシングが起こっていることによると考えられた。エイリアシングの回数をKMD値に加えるなどしてアンチエイリアシングを行わなくても、ベースユニットをEO (Fig. 4-1-3E)あるいはPO (Fig. 4-1-4B)にしたRANK1を用いて、解析に最適なディバイザーを選択すれば、エイリアシングを回避することができる。RANK1のy値が極小値になるディバイザーの中で、 $x=47$ (ベースユニット:EO)および $x=54$ の場合(ベースユニット:PO)、各成分の分離の拡大は、エイリアシングが起こらない程度に抑えられる。その結果得られたDPプロットでは、EOとPOの含量を示す各ドットのx座標およびy座標は、モノマーの重合度に相当する整数値になった (Fig. 4-1-4C)。

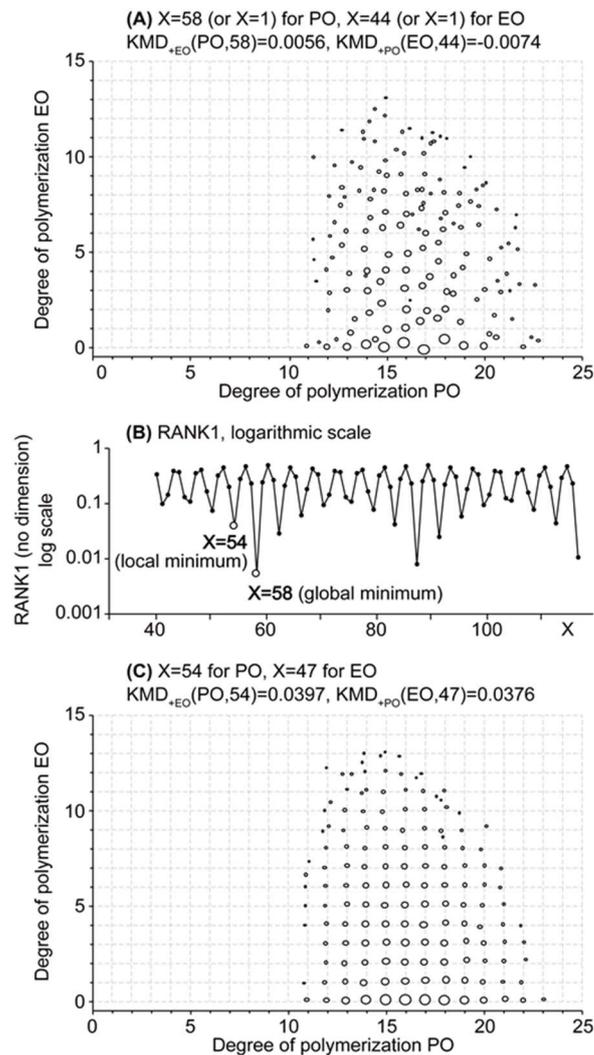


Fig. 4-1-4 Differences in two types of DP plots. (A) Regular DP plot for the EO/PO copolymer (base units: $EO/44$ and $PO/58$). (B) RANK1(PO, EO) using PO/x as the base unit. (C) RE-DP plot using $EO/47$ and $PO/54$ as the base units.

(2) R_1 、 R_2 、および ^{13}C のように変数が 3 種類になる場合の RANK1

(1)では、EO/PO 共重合ポリマーの 3 つの変数 (EO の重合度、PO の重合度、および ^{13}C の分布)のうち、デアイソトープ処理を行って同位体分布のパラメータを除外し、共重合ポリマーのコモノマー2 が 1 単位増えた場合のように、変数のうち 1 つだけを変化させる場合について検討を行った。コモノマー1 をベースユニットとし、ディバイザーを x とした場合に、コモノマー2 が 1 単位増加した場合の KMD 値の変化は、コモノマー1 の質量 (R_1) およびコモノマー2 の質量 (R_2) を用いて、 $\Delta KMD_{+R_2}(R_1, R_2)$ と表す。ここでは、 ^{13}C とコモノマー2 含量のどちらにも依存する KMD プロットの分離を予測

して最適なディバイザーを選択するために、 ^{13}C とモノマー-2 (PO) の含量が同時に変化したときの KMD 値の変化について検討した過程を Fig. 4-1-5 に示す。なお、 EO/x をベースユニットとして、 ^{12}C が 1 つ ^{13}C に置き換わった場合の KMD 値の変化を $\Delta KMD_{-12\text{C}+13\text{C}}(EO, x)$ 、PO 単位が一つ増加した場合の KMD 値の変化を $\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$ とする。

有効なディバイザーが定義される範囲である $\text{round}(2/3 EO) \leq x < \text{round}(2EO)$ の各ディバイザーに対応する $\Delta KMD_{-12\text{C}+13\text{C}}(EO, x)$ (図中の赤いドット) および $\Delta KMD_{+PO}(EO, x)$ (図中の黒いドット) を Fig. 4-1-5A に同時に示す。それぞれが異なる変化をするため、このグラフから RE-KMD 解析を行うのに適切なディバイザーを見つけ出すのは、非常に困難である。

式 4-1-10 から 3 種類の変数を用いた RANK1 を定義すると以下の式ようになる。

$$\text{RANK1}(R_1, R_2, 13\text{C}) = |\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| + |\Delta KMD_{-12\text{C}+13\text{C}}(R_1, x)| \quad (\text{式 4-1-11})$$

この式で、 R_1 はベースユニットとして用いるモノマー-1 の精密質量であり、 R_2 はもう一方のモノマー-2 の精密質量である。この定義から、 $\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)$ および $\Delta KMD_{-12\text{C}+13\text{C}}(R_1, x)$ が小さい場合 (すなわちモノマー-2 や ^{13}C の組成の違いに対する分解能が小さい KMD プロットになる場合)、RANK1 も小さくなることは明らかである。 $\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)$ および $\Delta KMD_{-12\text{C}+13\text{C}}(R_1, x)$ が 0.5 に近づくとつれ、RANK1 は 1 に近づく。このように RANK1($R_1, R_2, 13\text{C}$) を用いれば、モノマー-2 と ^{13}C の両方の組成が変化する場合に、定義されるすべてのディバイザーに対応した KMD の変化の大きさをグラフにし、その変化の大きさの程度を知ることができる。RANK1 が最小値になるディバイザーを用いれば、モノマー-2 と ^{13}C の双方の含量に基づく分離が最小になり、そこから RANK1 が大きくなるのに応じて、エイリアシングが起こるまで、モノマー-2 と ^{13}C の双方の含量に基づく分離が徐々に大きくなっていく。 R_1 を EO の精密質量、 R_2 を PO の精密質量に設定した場合の RANK1 のグラフを Fig. 4-1-5B に示す。ここでの RANK1 の最小値は、 $x=44$ の場合で、これは通常の KMD プロットに相当し、それを除いて RANK1 が小さくなる x として、 $x=41, 47, 88$ などがある。

Fig. 4-1-5B において 3 番目に小さい RANK1 になる $x=41$ を選択し、ベースユニットを $EO/41$ にして作成した RE-KMD プロットを、Fig. 4-1-5C に示す。このプロットでは、ドットの y 軸方向の分布が $-0.5 \sim 0.3$ の範囲にまで広がり成分間の分離が向上した (通常の KMD プロットは、Fig. 4-1-3A に示したように $0.1 \sim 0.3$ の狭い範囲に分布している)。さらにイオン系列は直線状に並び、 $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ 同位体の構成比 (Fig. 4-1-5C に EO_xPO_{16} の $^{13}\text{C}_1$ と $^{13}\text{C}_2$ に相当する列を赤く囲って示した) あるいは、PO 含量 (EO_xPO_{15} と EO_xPO_{16} のモノアイソトピックピークに相当する系列を灰色で囲って示した) をプロットから判別することができた。RANK1 を用いて最適なディバイザーの選択を行うことにより、データがより理解しやすくなり、解析に要する時間を大幅に短縮できた。

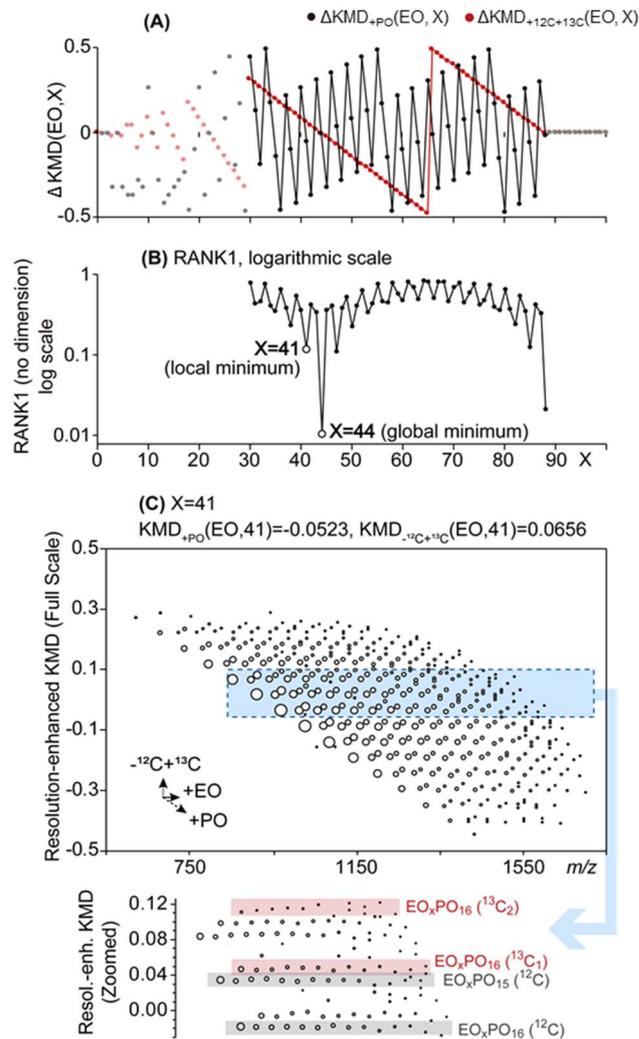


Fig. 4-1-5 An overview of how to find optimal divisor for three variables and produce the RE-KMD plot for the EO/PO copolymer. (A) Variation of KMDs adding a PO repeating unit (black dots) or replacing a ^{12}C with ^{13}C (red dots), with EO/x as the base unit. (B) RANK1(EO, PO, ^{13}C) using EO/x as the base unit. (C) Resolution-enhanced KMD plot, base unit: $EO/41$.

(3) R_2 と ^{13}C のどちらか一方に基づく分離だけを拡大する最適条件を選択する：RANK2

2種のモノマー単位(モノマー1 およびモノマー2)から構成される共重合ポリマーを、デアイソトープ処理なしで解析対象とする場合、モノマー2と ^{13}C の両方の含量に基づく分離が大きくなると、共重合組成の変化に対するKMD値の違いが大きくなりすぎ、エイリアシングが過度に起こり、成分間の分離がかえって悪くなってしまいます。この問題を解決するには、モノマー2と ^{13}C のどちらかの含量に基づく分離だけを拡

大し、もう一方の含量に基づく分離は小さく抑える必要がある。例えば、コモノマー2の含量に基づく分離を大きくし、 ^{13}C の含量に基づく分離を小さくした場合、RE-KMDプロットは、残基構造の違いによりいくつかのクラスターに分かれ、各クラスターはそれぞれ含まれるコモノマー1とコモノマー2の数の違いで良く分離される。一方で ^{13}C の含量に基づく分離は小さく抑えられ、各成分は同位体分布の違いに関わらず帯状に集中して並ぶ。前項でも示した $\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)$ と $\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)$ のどちらか一方が大きくなり、他方は小さくなるようなディバイザー(x)を評価する関数としてまず、 $|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| - |\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|$ が候補に挙げられるが、この式では単純すぎて、コモノマー2に対する ^{13}C 含量あるいは ^{13}C に対するコモノマー2含量による分離への影響が十分に評価できるとはいえない。そこで、両者の比である $\frac{|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)|}{|\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|}$ が、 ^{13}C に基づく分離に対するコモノマー2に基づく分離との違いを最大にするにも最小にするにも適していると考えた。

このようにして、コモノマー2と ^{13}C のいずれか片方の含量に基づく分離だけを拡大するのに最適なディバイザー(x)を選択するためにさらに最適化した関数 RANK2 は、コモノマー1の精密質量(R_1)およびコモノマー2の精密質量(R_2)を用いて以下の式 4-1-12 で定義される。

$$RANK2(R_1, R_2, 13C) = \frac{|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| - |\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|}{|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| + |\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|} \quad (\text{式 4-1-12})$$

この RANK2 関数を用いれば、 $|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)|$ および $|\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|$ の両方が大きいあるいは小さい場合には、RANK2 は 0 に近づく。 $|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)|$ と $|\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|$ のどちらか一方が大きい場合、 $|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| > |\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|$ ならば、RANK2 は +1 へと近づき $|\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x)| < |\Delta KMD_{-12C+13C}(R_1, x)|$ ならば、RANK2 は -1 へと近づく。このようにコモノマー2の含量に基づく分離が大きくなり、 ^{13}C の含量に基づく分離が小さくなるようにするには、RANK2 が極大値になるディバイザー、逆の場合には、RANK2 が極小値になるディバイザーをそれぞれ候補とすればよい。

Fig. 4-1-6A は、コモノマー1を EO およびコモノマー2を PO とした時の RANK2 のグラフである。まず、PO 含量に基づく分離を小さくして ^{13}C 含量に基づく分離が大きくなるような、すなわち ^{13}C の同位体分布を強調する RE-KMD プロットを作成するために、RANK2 が最小値になる $x = 66$ を選択した。Fig. 4-1-6B は、この条件で作成した RE-KMD プロットである。このプロットでは、ドットは2つのクラスターに分かれ、一方は ^{12}C のみ(^{13}C が含まれない)と $^{13}\text{C}_2$ を含む成分のクラスターであり、もう一方は、 $^{13}\text{C}_1$ を含む成分のクラスターであると帰属される。この RE-KMD プロットでは、 ^{13}C の含量の違いによって KMD 値を最大 0.5 くらいまでの範囲で分離することができる。

一方、 ^{13}C の分離をある程度維持したまま、PO の分離を拡大する場合は、RANK2 が最小値の近傍で極小値をとるディバイザー(x)を選択すればよい。このような場合の例として、 $x=69$ を選択し、 $EO/69$ をベースユニットに設定した場合の RE-KMD プロットを Fig. 4-1-6C に示す。このディバイザー(x)を用いた場合、2つのクラスターは $x=66$ の場合よりもそれぞれ広がり、 ^{13}C の含量や PO の含量が異なるイオン系列を分離し、それぞれ識別できるようになった (Fig. 4-1-6C には、例として、 EO_xPO_{15} および EO_xPO_{16} のモノアイソトピックピーク系列(^{12}C)をそれぞれ灰色で囲い、 EO_xPO_{15} の $^{13}\text{C}_1$ および $^{13}\text{C}_2$ をそれぞれ赤色で囲って示した)。

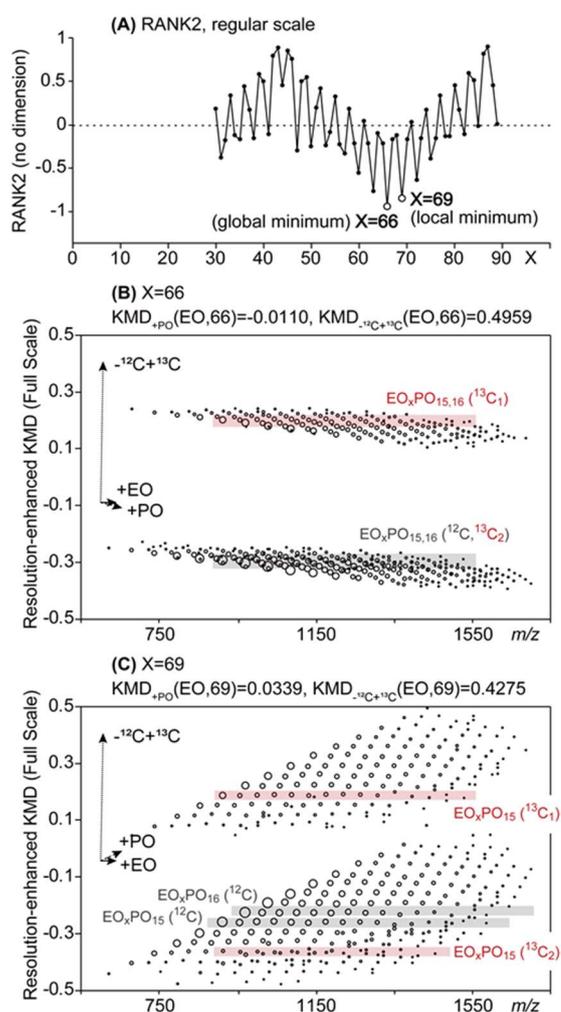


Fig. 4-1-6 Description of RANK2 for selecting divisors that can enhance the distribution of ^{13}C or PO units in RE-KMD plots of the EO/PO copolymer. (A): RANK2 graph (EO, PO, ^{13}C) using EO/x as the base unit. (B), (C): RE-KMD plot using (B) $EO/66$ and (C) $EO/69$ as base units.

(4) R_1 、 R_2 、 R_3 がそれぞれ別の繰り返し構造に対応する場合

3つめの変数(R_3)が ^{12}C と ^{13}C の違いではなく、コモノマー1や2とは異なる繰り返し単位の精密質量である場合、RANK1とRANK2は、次式ようになる。

$$\text{RANK1}(R_1, R_2, R_3) = |\Delta\text{KMD}_{+R_2}(R_1, x)| + |\Delta\text{KMD}_{+R_3}(R_1, x)| \quad (\text{式 4-1-7})$$

$$\text{RANK2}(R_1, R_2, R_3) = \frac{|\Delta\text{KMD}_{+R_2}(R_1, x)| - |\Delta\text{KMD}_{+R_3}(R_1, x)|}{|\Delta\text{KMD}_{+R_2}(R_1, x)| + |\Delta\text{KMD}_{+R_3}(R_1, x)|} \quad (\text{式 4-1-8})$$

コモノマー1、コモノマー2、およびコモノマー3の精密質量である R_1 、 R_2 、および R_3 だけを入力すれば、RANK1およびRANK2を求めることができ、ディバイザー(x)の範囲は、この例ではベースユニットとして用いるコモノマー1の精密質量(R_1)を用いて、 $x \in \left\{ \text{round}\left(\frac{2}{3}R_1\right), \dots, \text{round}(2R_1) \right\}$ となる。このような条件になるのは、繰り返し単位が3種類ある3元共重合ポリマーの場合がまず考えられるが、このような場合に限らず、コモノマー3の代わりに特定の部分構造(劣化により部分的に構造変化した繰り返し単位[9]や末端構造など)、および別の付加イオンなどを割り当てることもできる。

RANK1が最小値あるいはそれに準じた極小値になるディバイザーを選択すれば、コモノマー2やコモノマー3(あるいはそれに代わる部分構造など)が増えることによるKMD値の変化は小さく抑えられ、他の構造(コモノマー1あるいは末端構造や付加イオンなど)の違いが大きく表れるようにすることができる。一方、RANK2が最小値あるいは極小値になるディバイザーを選択すれば、コモノマー3(あるいはそれに代わる部分構造など)に基づく分離が最大になり、コモノマー3(あるいはそれに代わる部分構造など)の数の違いに応じていくつかのクラスターに分離され、それぞれのクラスター内のプロットは、主にコモノマー1とコモノマー2それぞれの含量の違いで分離される。しかし、4つ以上の変数(R_4 や R_5 など)を用いた場合、有効なRANK1およびRANK2は得られず、ベースユニットやディバイザーをどのように設定しても、有用なKMDプロットは作成できない。これは、プロットが2次元であり、プロット上で表すことのできる要素の数が限定されることに起因している。

応用事例2: 末端基が異なるホモポリマーに対するRANK1とRANK2の適用

末端基が異なる成分の混合物をKMDプロットで分離するためにRANK1とRANK2を用いた応用例をFig. 4-1-7に示す。ここで用いた試料は、PEOモノステアレート(PEO鎖にHやステアリン酸エステルを末端として持つ)として市販されているものであるが、Fig. 4-1-7Aに示すように、実際には水酸基末端のポリエチレングリコール(PEG)、片末端がステアリン酸あるいはパルミチン酸で封止された片末端封止成分、さらに両末端がステアリン酸あるいはパルミチン酸で封止された両末端封止成分の混合物となっていることがすでに報告されている[10]。

EO(あるいはEO/44)をベースユニットに設定した通常のKMDプロットをマスペクトルとともにFig. 4-1-7Bに示す。このプロットでは、イオン系列は、脂肪酸エス

テルの数（脂肪酸エステルが 0、1、あるいは 2）に応じて 3 つのクラスターに分かれるが、系列のオーバーラップにより、末端に含まれる脂肪酸がステアリン酸であるかパルミチン酸であるかを識別することはほぼ不可能である。

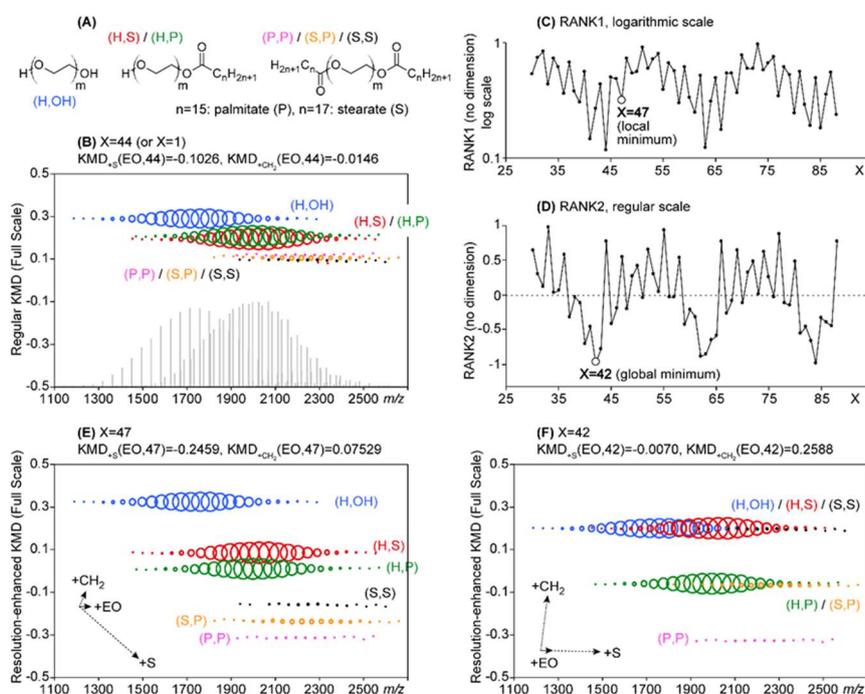


Fig. 4-1-7 An overview of how to use RANK 1 and RANK 2 to select the appropriate divisor and produce a RE-KMD plot that can highlight differences in end group structure of PEO "monostearate" samples. (A) Structures of the PEO "monostearate" sample. (B) Regular KMD plot (deisotoped sodiated PEO monostearate, base unit: $R_1 = EO$). (C) RANK1(R_1, R_2, R_3) using R_1/x as the base unit and (D) RANK2(R_1, R_2, R_3) using R_1/x as the base unit with $R_2 =$ exact mass of $C_{18}H_{34}O$ and $R_3 =$ exact mass of C_2H_4 . (E, F) RE-KMD plots using (E) $R_1/47$ and (F) $R_1/42$ as the base units.

次に、主鎖を構成するモノマー単位である EO の精密質量を R_1, R_2 を末端がステアリン酸エステルになる場合と H/OH 末端になる場合の差分構造に相当する $C_{18}H_{34}O$ の精密質量、さらに R_3 をステアリン酸とパルミチン酸の差分構造に相当する C_2H_4 の精密質量にそれぞれ設定し、作成した RANK1 および RANK2 を Fig. 4-1-7C および Fig. 4-1-7D に示す。系列のオーバーラップを回避するためには、RANK1 が最小値となるデバイザー($x = 44$)に近接した極小値のデバイザーである $x = 47$ を選択する。これは、 R_2 と R_3 の両方に対して、KMD 値が中程度に分離されることを示している。この条件で作成した RE-KMD プロット (Fig. 4-1-7E) では、脂肪酸の種類や数に応じて、す

すべてのイオン系列が明確に分離されている。次に、パルミチン酸が含まれる数により分離するために、 R_3 の分離が最大になるよう、RANK2の最小値に相当する $x=42$ を選択し、 $EO/42$ をベースユニットに設定し、RE-KMDプロットを作成する(Fig. 4-1-7F)。このプロットでは、エチレン部分単位の違いによる分離を大きくし、ステアリン酸の含量に基づく分離を小さくしているため、パルミチン酸が含まれないH/OH(青色)、H/ステアリン酸(赤色)、ステアリン酸/ステアリン酸(黒色)の末端の組み合わせをもつ成分をすべて1つの帯状の系列に集め、パルミチン酸が含まれる系列と分離することができる。このように、RANK1とRANK2の双方を用いることで、特定の部分構造の違いを強調する2種類のプロットを簡便、迅速に作成することができた。

応用事例3：3元共重合ポリエステルに対するRANK1とRANK2の適用

3元共重合ポリマーのKMD解析へRANK1とRANK2を応用した事例をFig. 4-1-8に示す。ここで用いた試料は、アジピン酸に1,4-ブタンジオール、2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール、および3-メチル-1,5-ペンタンジオールを重縮合させた工業用ポリマーである。ジオール部分が1,4-ブタンジオールになっているものをモノマー1($C_{10}H_{16}O_4$)、2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオールになっているものをモノマー2($C_{11}H_{18}O_4$)、および3-メチル-1,5-ペンタンジオールになっているものをモノマー3($C_{12}H_{20}O_4$)とする。さらにそれぞれのモノマーの精密質量を R_1 、 R_2 、 R_3 とした。Fig. 4-1-8Aに、各モノマー単位の構造式を示す。MALDI spiral-TOFMSを用いた精密質量分析により得られた、Fig. 4-1-8内に示したマススペクトルではモノマー1が主系列であったので、この精密質量をベースユニット($R_1 = 200.1049$ とする)に設定し、KMDプロット($x=1$ または $x=200$)を作成した(Fig. 4-1-8B)。ドットが0.2程度のy軸の範囲に集中し、楕円状の単一のクラスターになった。異なる末端基を持つ成分や $^{12}C/^{13}C_n$ の同位体分布のために、イオン系列のオーバーラップが起こるため、このプロットから構造情報を得ることはできない。

また、モノマー1の精密質量 $R_1 (= 200.1049)$ をベースユニットに設定してRE-KMDプロットを作成する場合は、 $\text{round}\left(\frac{2}{3}R_1\right) < x \leq \text{round}(2R_1)$ の範囲で267通りものディバイザー(x)が設定可能である。この中から試行錯誤により最適なKMDプロットを作成することは、非常に困難である。これに対して、Fig. 4-1-8Cに示すRANK1では、RANK1の最小値やそれに準ずる極小値もわかりやすく示されている。特筆すべきことに、RANK1では、最小値を対称軸にしてほぼ線対称のグラフになっていることから、最適のディバイザーの選択では、RANK1が最小値になるディバイザーまでを検討すれば十分である。まずは、RANK1の最小値である $x=257$ を用いて、RE-KMDプロットを作成した(Fig. 4-1-8D)。RANK1で最小値になるディバイザーを選択した場合には、モノマー2やモノマー3が1単位ずつ増加した場合のKMD値の変化は最小

になり $[\Delta KMD_{+R_2}(R_1, x) = -0.0007, \Delta KMD_{+R_3}(R_1, x) = -0.0013]$ 、通常の KMD プロットに比べ、楕円型に分布するクラスターがより圧縮され、直線状の分布へと近づく。一方で、イオン系列の分離は、コモノマー2 およびコモノマー3 以外の要素である末端構造の違いと $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}_z$ 同位体分布の違いの両方によって大きくなる。これにより、Fig. 4-1-8D 中において青色で囲ったモノアイソトピックピーク (^{12}C) の系列だけを分離することができた。これらの精密質量から末端基を合計した組成が推定され、一例としてエチルヘキサノールとエチルヘキサノールアジピン酸エステルを両末端に取り込んだ場合に対応する $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}/\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{O}_3$ 末端の組み合わせが考えられる。

このようにして抽出した成分は、コモノマー組成の違いが最小になっているため、各コモノマー単位数の違いは、KMD プロット上で十分に表現されているとはいえない。そこで、さらに別のディバイザーを用いてさらに解析を進めることにより、3種のコモノマーの組成を十分に表現できる KMD プロットの作成に最適なディバイザーを探索した。この場合には、特定のコモノマーの分離を強調することができる RANK2 を用いるとよい。この試料に対する RANK2 のグラフを Fig. 4-1-8E に示す。この RANK2 では、最小値やその周辺値が明確に示されず、RANK2 が約-0.4 の最小値をとるディバイザー (x) がいくつも存在するというグラフになった。これは、コモノマー1 からコモノマー3 の各構造中に共通する部分構造 CH_2 が含まれることによるものである。コモノマー2 が2単位 ($+2 \times \text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_4$)、あるいはコモノマー1 およびコモノマー3 が1単位ずつ増えた場合 ($+\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4$ および $+\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_4$) は、どちらも組成式で $+\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_8$ に相当し、428.2410 Da 増加する。このように、質量数が全く同じ異性体イオンが生成する場合には、タンデム質量分析やイオンモビリティ質量分析を用いる以外に両者を識別する方法はない。しかしながら、RANK2 が最大値あるいはそれに準ずる極大値になるディバイザーを選択すれば、コモノマー3 の単位数による違いを小さく抑え、コモノマー2 の単位数による違いを強調する RE-KMD プロットを作成することができる。

まず本節の初めに述べたように RANK1 を用いて判別した、 R_2 または R_3 が1単位増加したときの KMD 値の変化が最小になる $x = 257$ に設定し、分離した末端が $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}/\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{O}_3$ になるモノアイソトピックピークの成分を抽出した (Fig. 4-1-8D)。次に抽出した成分に対し、RANK2 が最大値近辺の値になり、 R_2 に基づく分離を強調するディバイザーである、 $x = 221$ に変更して再解析を行った。その結果、y 軸方向の分離がほぼ最大になるまで拡大され、2つのクラスターに分離した (Fig. 4-1-8F)。それぞれのクラスター内で、ある組成のコオリゴマーのドットから R_1 が付加された成分は水平方向にならび、 R_3 が付加された成分は、 $[\Delta KMD_{+R_3}(R_1, 221) = -0.0417]$ の増分に対応して斜め方向に並ぶ。基準となったコオリゴマーのドットから、 R_2 が付加された成分のドットは、KMD の変化量が大きい $[\Delta KMD_{+R_2}(R_1, 221) = -0.4792]$ ため、別のクラスターのドットになる。Fig. 4-1-8 の例では異性体の重なりの問題が起こるため ($2 \times R_2 = R_1$

+ R_3)、これ以上の成分間の分離は難しいと思われる。特定の共重合組成を示すドットに R_2 単位を 2 単位加えると、KMD が大きく変化するため、エイリアシングが起こり、同じクラスターに含まれるドットに移った。最初のドットから $R_1 + R_3$ を増やした場合も、同じドットになった。このようにドットが変化する過程は、Fig. 4-1-8F 上に矢印で示した。他の RANK2 の極大値を用いても、ドットの分布の幅に違いはあるが、2 つのクラスターに分離されるというよく似たパターンを示した。

一般に 3 元共重合体のマススペクトルデータの解析は非常に煩雑であるが、RANK1 および RANK2 を組み合わせて見出した適切なディバイザーを用いて、RE-KMD プロットの作成と注目するクラスターの抽出を段階的に行うことによって、分解能が高いコポリマーの RE-KMD プロットに要素分解することができ、3 元共重合体の化学構造の情報表現することができた。

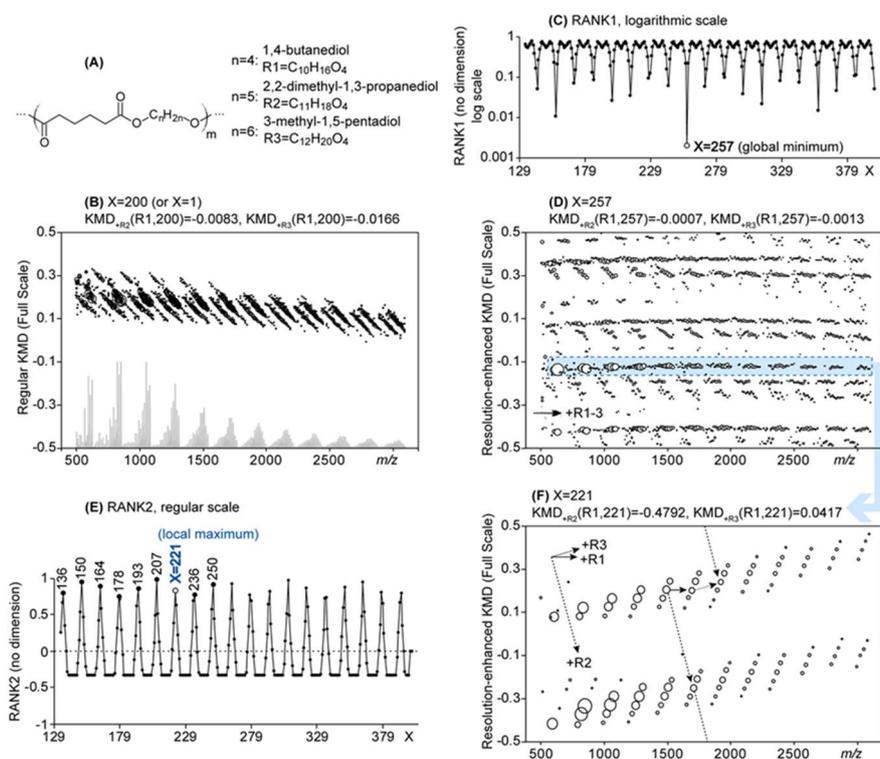


Fig. 4-1-8 An overview of how to use RANK1 and RANK2 to select the appropriate divisor and produce a RE-KMD plot of terpolyester sample. (A) Structure of the monomeric units of the terpolyester sample. (B) Regular KMD plot (sodiated terpolyester, base unit: R_1 = exact mass of $C_{10}H_{16}O_4$). (C) RANK1 (R_1 , R_2 , R_3) using R_1/x as the base unit with R_2 = exact mass of $C_{11}H_{18}O_4$ and R_3 = exact mass of $C_{12}H_{20}O_4$. (D) RE-KMD plot using $R_1/257$ as the base unit. (E) RANK2 (R_1 , R_2 , R_3) using R_1/x as the base unit. (F) RE-KMD plot from the selected ion series only using $R_1/221$ as the base unit.

4.1.5 まとめ

多成分で構成されているポリマーの分離に適している RE-KMD 解析法を最大限に活用するためには、各成分の分離の度合いを変えることができるディバイザーの最適化が必須である。ディバイザーを変化させたときの KMD 値の違いを表す関数である RANK1 および RANK2 を用いることで、適切なディバイザーの候補を試行錯誤することなく迅速・簡便に得られるようになった。また、複数のディバイザーを使いながら成分の選択・抽出を KMD プロット上で行うことで、非常に複雑な多成分系ポリマーのマスペクトルからも解析の目的とする成分を選択的に抽出・解析することができるようになった。

4.1 節 参考文献

- [1] T. Fouquet, H. Sato, *Mass Spectrom. (Tokyo)*, **6** (2017) A0055, Improving the resolution of Kendrick mass defect analysis for polymer ions with fractional base units. doi: 10.5702/massspectrometry.A0055
- [2] T. Fouquet, T. Satoh, H. Sato, *Anal. Chem.*, **90** (2018) 2404-2408, First Gut Instincts Are Always Right: The Resolution Required for a Mass Defect Analysis of Polymer Ions Can Be as Low as Oligomeric. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04518
- [3] T. Fouquet, H. Sato, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **31** (2017) 1067-1072, How to choose the best fractional base unit for a high-resolution Kendrick mass defect analysis of polymer ions. doi: 10.1002/rcm.7868
- [4] T. Fouquet, R. B. Cody, H. Sato, *J. Mass Spectrom.*, **52** (2017) 618-624, Capabilities of the remainders of nominal Kendrick masses and the referenced Kendrick mass defects for copolymer ions. doi: 10.1002/jms.3963
- [5] L. A. Lerno Jr., J. B. German, C. B. Lebrilla, *Anal. Chem.*, **82** (2010) 4236-4245, Method for the identification of lipid classes based on referenced Kendrick mass analysis. doi: 10.1021/ac100556g
- [6] S. Trimpin, S. Keune, H. J. Räder, K. Müllen, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **17** (2006) 661-671, Solvent-Free MALDI-MS: Developmental Improvements in the Reliability and the Potential of MALDI in the Analysis of Synthetic Polymers and Giant Organic Molecules. doi:10.1016/j.jasms.2006.01.007
- [7] M. Strohal, D. Kavan, P. Novák, M. volný, V. Havliček, *Anal. Chem.*, **82** (2010) 4648-4651, *mMass 3*: A Cross-Platform Software Environment for Precise Analysis of Mass Spectrometric Data. doi: 10.1021/ac100818g
- [8] T. Fouquet, 中村清香, R. B. Cody, 佐藤浩昭, 第 24 回高分子分析討論会講演要旨集, (2019) 119-120.
- [9] T. Fouquet, H. Aizawa, H. Sato, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **30** (2016) 1818-1822, Taking MALDI SpiralTOF high-resolution mass spectrometry and mass defect analysis to the next level with ethylene vinyl acetate vinyl alcohol terpolymers. doi: 10.1002/rcm.7653
- [10] T. Fouquet, H. Shimada, K. Maeno, K. Ito, Y. Ozeki, S. Kitagawa, H. Ohtani, H. Sato, *J. Oleo Sci.*, **66** (2017) 1061-1072, High-resolution Kendrick mass defect analysis of poly(ethylene oxide)-based non-ionic surfactants and their degradation products. doi: 10.5650/jos.ess17096

4.2 同位体分布が広い元素を含むポリマーの化学構造解析へのKMD法の展開

4.2.1 序論

KMD法は、複雑なマススペクトルを2次元プロットへと変換することにより、同族体のポリマー成分を直線上に並べる。その傾き、y切片(KMD値)、ドットの分布などから、ポリマー種、末端構造、共重合組成分布など、化学構造に関する情報を可視化することができる。

これまで述べてきたKMD法では、ベースユニットとして、モノマー単位のモノアイソトピック質量を用いてきた。モノアイソトピック質量は、モノマー単位を構成する元素の最大存在比同位体だけからなる質量であり[1]、質量に対する元素組成を一義的に決めることができる。大半のポリマーを構成するC、H、Oでは最も軽い同位体の組み合わせに相当し、かつそれらの同位体存在比が他の同位体に比べて著しく大きいため、重合度がそれほど大きくない場合には、モノアイソトピック質量が最大強度質量に相当する。しかし、繰り返し単位の、存在比が高い同位体を持っている原子($^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ 、 $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ など)が複数含まれると、モノアイソトピック質量が必ずしも最大強度質量にあたらなくなり、重合度が大きくなるとモノアイソトピックピークがほとんど観測できなくなる[2]。また、同位体の組み合わせが増えるために、一つのオリゴマーあたりの同位体ピークの数が増大するうえ、それぞれのピークが ^{13}C をいくつ含むのかを判断するのが難しくなり、隣接するオリゴマー間の質量差に相当する繰り返し単位の正確な質量を知ることが困難になる。そのために、これまで繰り返し単位のClやBrなどのハロゲン原子を含む試料の解析を行う場合には、質量分析により得られた質量を用いた組成解析から一義的に組成を決めるのではなく、予測される組成の同位体分布シミュレーションとの照合を組み合わせることにより組成解析を行っていた。しかしこの方法は、あらかじめ予測される構造の候補がなければ、適用することができない。

そこで本研究では、臭素系難燃剤をモデル試料として用い、複雑な同位体パターンを示すマススペクトルにKMD法を用いた場合に起こりうる問題を検討し、その解決法を開発した。IUPAC質量をケンドリック質量(KM)へと変換するとき、基準となる質量として用いる同位体ピーク(モノアイソトピック質量ピークあるいは最大強度質量ピーク)の選択や、KMDプロット上で観測される各ドットの帰属に与える影響についても議論する。まず、モデル試料として、構造既知のテトラブロモビスフェノールA(TBBA)骨格のポリカーボネート[3]を用いて、マススペクトルの情報のみから繰り返し単位の正確な質量を計算し、組成解析を行うまでの過程を検証して、加熱により熱変性した試料の化学構造解析に適用した。さらに、その結果を基に、ポリブチレンテレフタレート(PBT)に詳細な化学構造が不明の難燃剤が添加された工業材料の加熱前後の化学構造変化の解析を行った。

4.2.2 実験

(1) 試料調製

モデル試料として TBBA 型ポリカーボネート (FRPC) を日本科学情報より購入し、約 1 mg/mL になるようにテトラヒドロフラン (THF) に溶解した。また、国内企業から提供された臭素系難燃剤と酸化アンチモン (Sb_2O_3) を含むポリブチレンテレフタレート樹脂ペレット (PBT/FR2300/ Sb_2O_3) を、約 1 mg/mL になるように 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP) に溶解した。さらに、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 用標準物質であるポリメタクリル酸メチル (PMMA) 1590 および 4000 (Polymer Laboratories 製) を、それぞれ 0.01 mg/mL および 0.1 mg/mL になるように THF に溶解した。マトリックスには、*trans*-2-[3-(4-*tert*-ブチルフェニル)-2-メチル-2-プロペニリデン]マロノニトリル (DCTB、東京化成工業製) を用い、10 mg/mL になるように THF あるいは HFIP に溶解した。カチオン化剤として、トリフルオロ酢酸ナトリウム (NaTFA) を用い、約 1 mg/mL になるように THF に溶解した。

熱処理は、DART (Direct Analysis in Real Time) 質量分析用の昇温加熱デバイス (IonRocket、バイオクロマト製) を用いて行った。このデバイスの銅製試料ポットに、FRPC 溶液を 50 μL 程度滴下し、乾燥させた。PBT 樹脂ペレットは、そのままポットにのせた。このポットを室温から FRPC は 330°C まで、PBT 樹脂ペレットは 280°C まで 100°C/min で昇温を行った。昇温加熱後、室温に戻るまで放冷し、FRPC は THF、PBT ペレットは HFIP を用いてそれぞれ再溶解し、加熱後の試料溶液とした。

(2) MALDI-TOFMS 測定

試料溶液、内部標準として用いる PMMA 溶液、および DCTB 溶液を 1/1/10 (v/v/v) になるように混合した。あらかじめ NaTFA 溶液 1 μL をターゲットプレート上に滴下、乾燥したのち、その上から混合試料溶液を 1 μL 滴下、乾燥させた。高分解能 MALDI-TOFMS 測定は、JMS-S3000 SpiralTOF (日本電子製) を用いて行った。

(3) データ解析

ピークのスムージング、キャリブレーション、およびピークの選択は mMass 5.50 を用いて行った [4, 5]。最大強度質量ピークを用いた組成解析は、Mass Mountaineer (RBC ソフトウェア製) を用いて行った。KMD プロットの作成は、インハウスプログラムである Kendo 1.1 (産業技術総合研究所製) を用いて行った。KM 値および KMD 値は 4.1 節で述べた RE-KMD (resolution-enhanced KMD) 法で求めた。

4.2.3 結果と考察

(1) 難燃剤のモデル試料を用いた検討

1) 繰り返し単位の迅速な決定

FRPC のマススペクトル上に観測される一連の最大強度質量ピークの間隔をベースユニットに設定し、KMD プロットを作成する手順を、Fig. 4-2-1 を用いて説明する。Fig. 4-2-1A 上段は FRPC のマススペクトルであり、大きな繰り返し単位をもつポリマー由来のピーク系列と、その 1/3 程度のピーク強度で内部標準として加えた PMMA オリゴマーのピーク系列が観測されている。ここで、メタクリル酸メチル単位 (MMA, $C_5H_8O_2$) の精密質量 (100.0524) をベースユニットにし、ディバイザーを $x=100$ に設定した KMD プロットを Fig. 4-2-2A 下段に示す。PMMA 由来のイオン系列は、 $y=0$ 近辺に水平に並んでいるが、これは、MMA をケンドリック質量 (KM) に変換した後の小数部が、ほぼ 0 になるからである。一方で、臭素を含む FRPC 由来のイオンは図中青い破線で示したように斜め方向に並んで観測された。なお、このプロット上では FRPC の KMD 値の広がりが大きいためエイリアシング (折り返し) が青色矢印の場所で起こっている。PMMA と FRPC のピークは、マススペクトル上では重複していたが、KMD プロットに変換することにより分離できた (Fig. 4-2-1A では、マススペクトルおよび KMD プロット上で、重複部分を点線で囲って示した)。

KMD プロットは、複雑なマススペクトルから目的とする成分を選択し、不要な成分を除去するための強力なフィルタリングツールとしても使うことができる [6]。PMMA 系列と FRPC 系列のピーク群を分離できるようなディバイザーを設定し、キャリブレーションを行った後は、不要な PMMA 系列のみを選択して KMD プロット上から除去することができる。この操作は、Mass Mountaineer や Kendo のようなスプレッドシートやプログラムを用いて行うことができる。PMMA 成分の除去を行った後では、Fig. 4-2-1B に示すように、KMD プロット上とそれに対応するマススペクトル上の両方で、FRPC の構成成分のみが観測される。但し、プロット上では PMMA は除去されているが、PMMA を内部標準として用いたキャリブレーションの結果は保たれるので、質量精度は高いままで影響を受けない。

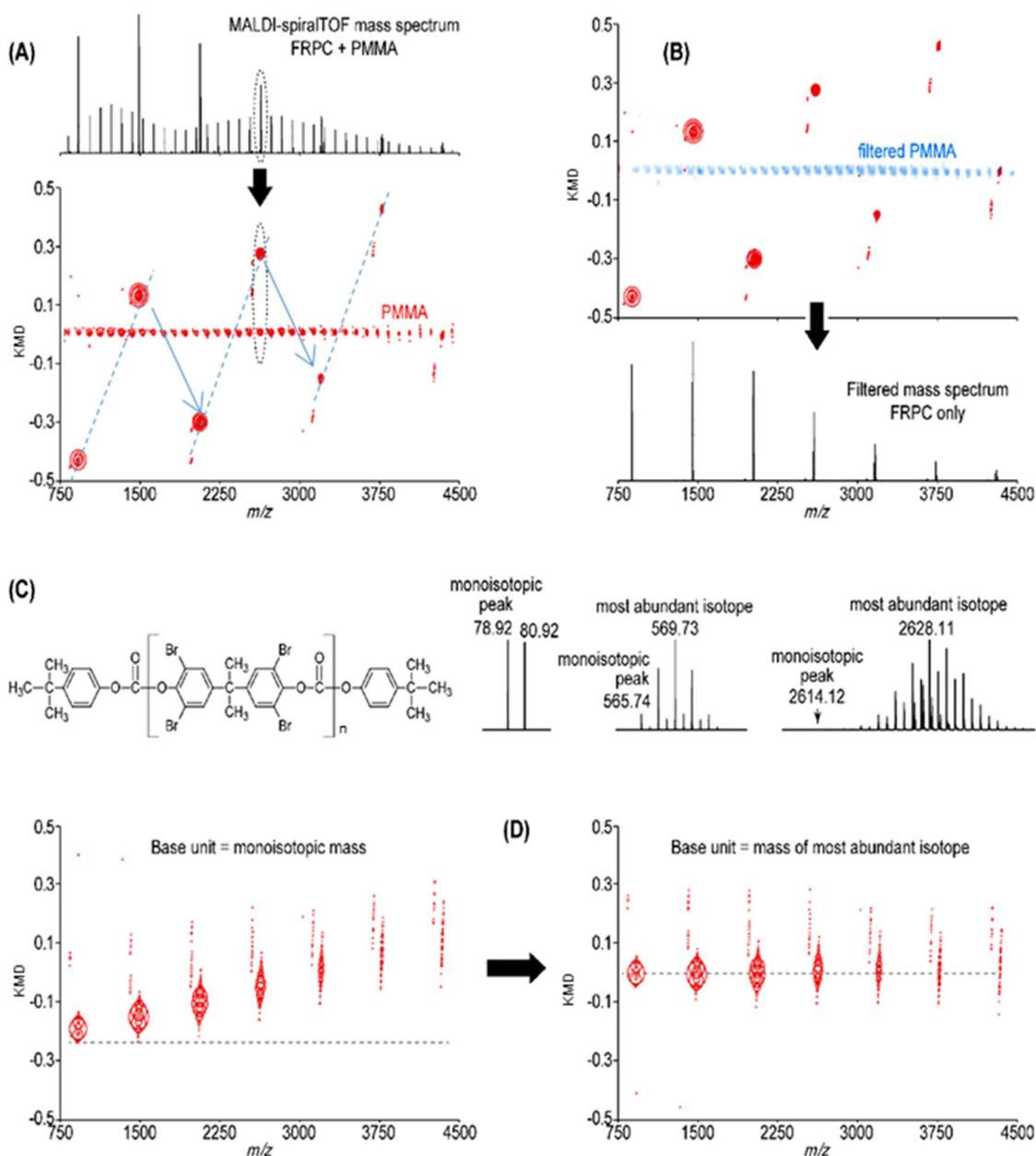


Fig. 4-2-1 The procedure to depict KMD plot from the mass spectrum of FRPC using most abundant peaks. (A) MALDI mass spectrum of FRPC with PMMA as an internal calibrant and KMD plot ($R = 100.0524$, $x = 100$). (B) Filtering of the calibrant using the KMD plot. (C) Structure of FRPC and isotopic patterns of bromine, $C_{16}H_{10}O_3Br_4$, and $C_{85}H_{66}O_{15}Br_{16}Na$. (D) KMD plots using the monoisotopic mass of the repeating unit of FRPC at 565.7363 (left, $x = 560$) and its most abundant isotope at 569.7324 (right, $x = 564$).

FRPC の化学構造 (繰返し単位: $C_{16}H_{10}O_3Br_4$ 、末端構造: $C_{21}H_{26}O_3$)、臭素と FRPC の繰返し単位の同位体パターンのシミュレーション結果、および MALDI-spiral-TOFMS のマススペクトル上で実際に観測された 3 量体の同位体パターンを Fig. 4-2-1C に左から順に示した。臭素は存在比がほぼ同じ 2 種類の安定同位体である ^{79}Br と ^{81}Br から構成され、FRPC の繰返し単位は 4 つの臭素元素を含む。そのため、モノアイソトピックピークの強度は相対的に小さくなり、FRPC の 3 量体の同位体分布では、もはやほとんど観測することができない。その結果、マススペクトルで顕著に観測されるのは、モノアイソトピックピークではなく、最大強度質量ピークである [2]。これまでは、KMD 法で観測質量を KM に変換する場合には、ベースユニットにモノアイソトピック質量を用いてきた (Fig. 4-2-1A では MMA: $C_5H_8O_2$, 100.0524 と設定)。ここで、繰返し単位を FRPC に設定した場合、TBBA ($C_{16}H_{10}O_3Br_4$) のモノアイソトピック質量である 565.7363 をベースユニットにすると、その結果得られた KMD プロットで、FRPC 由来の系列は水平に並ばず、斜め方向に分布する (Fig. 4-2-1D 左)。これは、FRPC は、オリゴマーの同位体分布が複雑でモノアイソトピックピークの寄与が相対的に小さくなるためである。これまで述べてきた主として C, H, O から構成されるオリゴマーの KMD 解析では、モノアイソトピックピークが明確に観測されるため問題にはならなかったが、今回解析対象となるポリマーのように、繰返し単位に塩素や臭素が多く含まれ、同位体分布が複雑でモノアイソトピックピークがほとんど観測されないようなポリマーの解析は、KMD 法を用いるうえでの課題となる。

一方、 $C_{16}H_{10}O_3Br_4$ の最大強度質量ピークの質量をベースユニットに設定した場合には、FRPC の主系列は水平に並ぶようになる (Fig. 4-2-1D 右)。ベースユニットとして用いる質量は、最大強度質量ピーク間の m/z の差を計算することにより求めることができる。隣接するいくつかのオリゴマーで計算を行った結果、Table 4-2-1 に示すように、FRPC の場合の平均値は、569.7340 であった。

しかしながら、最大強度ピーク質量から繰返し単位の組成解析を行うことは容易ではなく、解析ソフトウェアの支援が必要となる。多くの解析ソフトウェアでは、元素組成の推定にはモノアイソトピック質量が用いられるが、最近、Mass Mountaineer ソフトウェアに、最大強度ピーク質量の間隔を用いて候補となる組成式を計算するモジュールが加わった [2]。本研究ではこのソフトウェアを用い、デフォルトのパラメータである、二重結合指数 (DBE) : -1~100、誤差範囲 : 10 mmDa、C : 0~50、H : 0~100、O : 0~10、Br : 0~10 を設定して、FRPC の最大強度ピークの間隔から組成解析を行ったところ、5 つの候補があげられた。それぞれの計算質量、組成式、および DBE は、569.732361 ($C_{16}H_{10}O_3Br_4$, DBE = 10)、569.740927 ($C_{18}H_3O_7Br_3$, DBE = 16)、569.732361 ($C_{20}H_{10}Br_4$, DBE = 14)、569.732361 ($C_9H_{14}O_8Br_4$, DBE = 1)、569.732361 ($C_{10}H_{19}O_2Br_5$, DBE = -1) となった。構造的にあり得るかどうかの妥当性 (例えば

C₁₈H₃O₇Br₃はCの数に対するHの数が少なすぎるためありえそうもない)、観測質量と計算質量との誤差、およびDBEや含まれる酸素や臭素の数などを総合的に考慮すると、最初に挙げたC₁₆H₁₀O₃Br₄が最も妥当であると考えられ、実際にFRPC標準試料の繰り返し単位[3]に一致していた(Fig. 4-2-1C)。

繰り返し単位 R の最大強度質量ピークの質量は、“rotating KMD plot”の手法[7]を用いても決定することができる。rotating KMD plot 法は、ベースユニット (M_{BU}) の小数部分を徐々に変えて、KM への変換比($k = \text{round}(M_{BU})/M_{BU}$)およびドットの並びの傾きを変化させ、ドットの並びが水平になる点を探索することで繰り返し単位を推定する方法である。例えば、任意に決められる始点を ¹²C の IUPAC 質量である 12 とし、ベースユニットを 12 からわずかに増減 (12.xxxx あるいは 11.yyyy とする) していくと、対象とするドットの並びが水平になるベースユニットが、必ず 1 点あるいは数点存在する。KMD プロットの定義から、ドットの並びが最初に水平になるプロットは、ベースユニットが注目する系列の繰り返し単位に相当する場合であり、通常の KMD プロットに相当する。このときのベースユニットである 12.xxxx あるいは 11.yyyy の値は、その整数値との比が KM に変換するときの変換係数 k_0 となり下式が成り立つ。

$$k_0 = 12/12.xxxx = 11/11.yyyy = \text{round}(R)/R \quad (\text{式 4-2-1})$$

ここでは、rotating KMD plot 法を用いて、FRPC の KMD プロットを作成する方法を、Fig. 4-2-2 を用いて説明する。FRPC 由来のピークだけを抽出したピークリストから、¹²C をベースユニットとして作成した KMD プロットを Fig. 4-2-2A に示す。このプロットが、 $k = 12/12 = 1$ の場合に対応する。 k をエクセルのスプレッドシートなどを用いてマニュアルで、あるいは Mass Mountaineer や Kendo などのプログラムを用いて変化させ、注目するドットの並びが明らかに水平に並ぶまで、KMD プロットを回転させる。MS Mountaineer ソフトウェアの“0-sloping 機能”を用いれば、自動でドットの並びの傾きが 0 になるベースユニットあるいは k を求めることができる。実際に、Fig. 4-2-2A の KMD プロットに対して、この機能を用いて傾きが 0 となるベースユニットを求めたところ 11.94327 となり、 $k = 1.00475$ が得られた(Fig. 4-2-2B)。 R の最大強度質量の整数値が既知であれば、 R の精密質量は、 R の整数質量を k で割ることにより容易に計算できる。FRPC では、 R の整数質量が 570 であることが上記の検討で既知であるため、 R の精密質量は、 $570/1.00475$ で求められ、569.7294 となった(Fig. 4-2-2B)。この操作を 3 回行い得られた R の精密質量の平均は 569.7293 となり、C₁₆H₁₀O₃Br₄ の最大強度質量である 569.7324 と概ね良い一致をした(Table 4-2-1)。

さらに RE-KMD の概念をこの rotating KMD plot 法にも導入する。4.1 節でも述べた通り、RE-KMD において、ディバイザー(x)は、KMD 値が直線的に変化する範囲でのみ有効であり、 $\text{round}(R/x) = 1$ が成り立つので式 4-2-1 は式 4-2-2 へと変形される。

$$k = \frac{\text{round}(R/x)}{R/x} = \frac{x}{R} \quad (\text{式 4-2-2})$$

ディバイザーは $x = \text{round}(R) + n$ と表すことができることから式 4-2-3 が成り立つ。この場合、 n は正負を含む整数になる。

$$k_n = \frac{\text{round}(R) + n}{R} \quad (\text{式 4-2-3})$$

n は注目する系列が最初に水平になってから何回目の水平になるかを示し、その正負はプロットを回転させる方向を示している。最初に水平に並ぶ k_0 とその後 n 回目に系列が水平に並ぶ k_n から

$$k_n - k_0 = \frac{\text{round}(R) + n}{R} - \frac{\text{round}(R)}{R} = \frac{n}{R} \quad (\text{式 4-2-4})$$

が成り立つ。このことから、注目するピーク系列が水平になる 2 点 (x, y) では下式が成り立つ。

$$k_y - k_x = \frac{y - x}{R} \quad (\text{式 4-2-5})$$

このように”double rotation”という機能を用いて、注目するピーク系列が水平になる k を 2 点見つけることができれば、 R は式 4-2-6 に示すような簡単な式で表すことができ、演繹的に決定することができる[7]。

$$R = \frac{y - x}{k_y - k_x} \quad (\text{式 4-2-6})$$

その 2 点 x, y が連続している場合 ($y - x = 1$) あるいは連続していない場合 ($y - x > 1$) が考えられる。例として、ベースユニットを 11.94327、すなわち変換比に相当する k_0 が $k_0 = 1.000475$ になるようなピーク系列を考える。最初に水平に並んだ場合 (Fig. 4-2-2B) を起点にして、同じイオン系列が、12 回水平に並ぶまでプロットを回転させた (Fig. 4-2-2C)。このようにイオン系列が何回も水平に並ぶまで回転させると、成分間の分離が大きくなるようなディバイザーを選択しているのと同様であり、KMD プロット上での分離は拡大して同位体の分布が広がり、ドットの並びをより確認しやすくなる [7]。12 回目に水平になった場合 (何回目を選ぶかは任意に選ぶことができる)、ベースユニットは 11.74700 になり、 $k_{12} = 1.021537$ になる。 R の最大強度質量ピークの精密質量は、 $(12 - 0) / (1.021537 - 1.000475) = 569.7465$ になった (Fig. 4-2-2C)。この”double rotation”を 3 回繰り返し、得られた R の精密質量の平均は、569.7414 になった。この値は、FRPC の繰り返し単位である $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_3\text{Br}_4$ の最大強度質量である 569.7324 と概ね良い一致をし、さらに今までに用いた 2 つの手法で得られた結果と良い一致をしていた (Table 4-2-1)。理論値からの誤差は、Table 4-2-1 に示すように 15.8 ppm となり、他の 2 つの手法と比べるとやや大きくなったが、この最後の手法では、単に KMD プロットを回転させるだけで、予備情報がなくても R の精密質量を決定することができるという利点がある。Rotating KMD plot の手法により得た繰り返し単位の最大強度質量を用いて、Mass Mountaineer により組成解析を行った。その結果、single rotation で得られた 569.7293 および double rotation で得られた 569.7414 のどちらでも $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_3\text{Br}_4$ であると決定することができた。

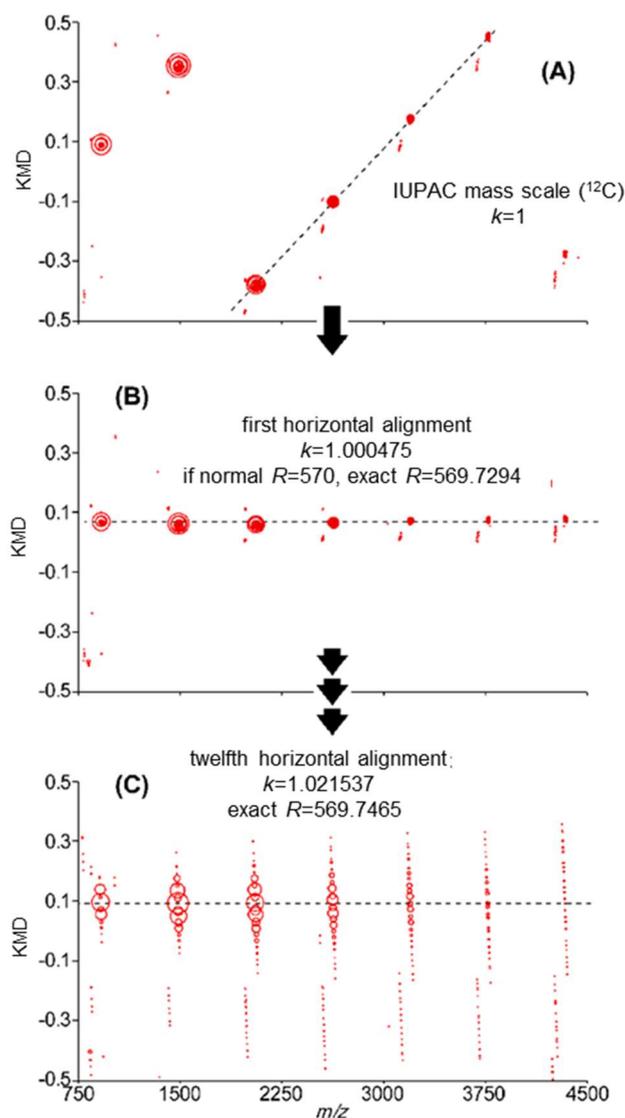


Fig. 4-2-2 An overview of the procedure to determine R using “rotating KMD plot”. (A) KMD plot from the filtered peak list with brominated species only using ^{12}C as the base unit (IUPAC mass scale). (B) First horizontal alignment: the mass of R can be evaluated with a high degree of accuracy provided its nominal mass is known. (C) Twelfth horizontal alignment with considerable expansion of the isotopic pattern: the mass of R is evaluated directly with a lower accuracy.

繰り返し単位の組成が決定できたので、次に末端基の構造決定を行った。鎖長が短いオリゴマーを解析に使うと、可能性のある同位体の組み合わせが少なくなり、元素組成解析が行いやすくなる。そこで、1 量体の最大強度質量ピークの精密質量である m/z 918.9092 に相当する元素組成の候補を求めた。この質量から、繰り返し単位の精密質量を差し引くと、残りは末端基と付加イオンの合計の精密質量に相当する。このようにして得られた精密質量から、組成式の候補は、構造の妥当性、計算質量との誤差の大きさ、DBE、およびシミュレーションした同位体分布との比較により決定することができる (Table 4-2-1)。最も条件に良く合致していたのは、 $C_{21}H_{26}O_3Na$ であり、Fig. 4-2-1C で提案した *tert*-ブチルフェニル末端とナトリウムカチオン付加の合計組成に一致していた。

Table 4-2-1 Most abundant isotopes of the repeating unit for FRPC computed by three methods and examples of accurate mass measurements with assignments of the sum of the masses of the end-groups for the first FRPC congener.

<i>R</i> (most abundant isotope)		Assignment	Error (ppm)
Mass difference between consecutive oligomers (maxima of isotope pattern)	569.7340	569.73236 ↓	+2.8
Single rotation of Kendrick plot	569.7293 ^{*or**}	C ₁₆ H ₁₀ O ₃ Br ₄ [*]	-5.5
Double rotation of Kendrick plot	569.7414 ^{**}		+15.8
Example of accurate measurement, 1-mer		Assignment	Error (ppm)
<i>m/z</i> measured	<i>m/z</i> theoretical [*]		
914.9116	914.9143		-3
915.9117	915.9177		-6.6
916.9088	916.9125		-4
917.9100	917.9157	C ₃₇ H ₃₆ Br ₄ O ₆ Na ⁺	-6.3
918.9104	918.9107	↓	-2.8
919.9104	919.9138	C ₁₆ H ₁₀ O ₃ Br ₄ ⁺	-3.7
920.9062	920.9093	C ₂₁ H ₂₆ O ₃ Na ⁺	-3.3
921.9096	921.9120	(H, O, C and Br isotopes)	-2.6
922.9065	922.9086		-2.3
923.9074	923.9106		-3.5
924.9089	924.9132		-4.7

*using Mass Mountaineer, **using Kendo, first and twelfth horizontal alignments

2) KMD 法を用いた主要な熱分解経路の評価

最大強度質量を用いることにより、KMD 法を広い同位体分布を持つポリマー試料の化学構造解析に対しても適用可能になった。本節では、KMD 法を適用して FRPC の熱酸化劣化物の化学構造解析を行った過程を、Fig. 4-2-3 を用いて述べる。加熱処理を行った FRPC に、PMMA を内部標準として加えて測定したマススペクトルを Fig. 4-2-3A 上段に示す。1) で計算した FRPC の繰り返し単位である TBBA ($C_{16}H_{10}O_3Br_4$) の最大強度質量である 569.7324 をベースユニットにし、デバイザーは $x = 570$ に設定して作成した KMD プロットを Fig. 4-2-3A 中段に示す。このプロット上で解析対象である FRPC は赤色、KMD プロットのフィルタリング機能を用いて解析対象から外した PMMA やバックグラウンド由来のドットは青色で示した。さらにこの処理後得られたマススペクトルは、Fig. 4-2-3A 下段に示すように熱処理後の FRPC 由来のピークのみが観測されていることを確認した。ここで示した KMD プロットには、水平に並ぶ系列 (図中青色点線で示した) と斜め方向に並ぶ系列 (図中黒色点線で囲って示した) が数系列観測された。水平に並ぶ 3 系列の最大強度質量ピークの精密質量から、ピークの帰属を行った結果、主系列は 1) で得られた FRPC の構造に一致した。

Fig. 4-2-3A に示した KMD プロット上で、FRPC の繰り返し単位をもつ 3 系列からそれぞれを起点として、斜めに分布する系列が観測された。これは、加熱により特定の構造 (例えば HBr など) が脱離して生じた、熱変性した FRPC 成分によるものであると考えられる。FRPC を熱した場合に起こり得る熱変性は、臭素ラジカル ($Br\cdot$) あるいは臭化水素 (HBr) の脱離である [8]。熱変性により生じた成分のピークは、分子内で脱離した部分構造の数 (例えば脱 HBr が起こった数) に分布があるため、それが繰り返し単位であるかのような分布を持つ。その脱離した部分構造が全く未知である場合には、上述したように rotating KMD plot 法を用いてドットの並びの傾きが水平になる係数を求めることにより、この脱離した部分構造を推定することができる。臭素ラジカルの脱離反応で起こる変化は $-Br+H$ となり、脱臭化水素反応では $-HBr$ となることから両者の差は $\pm 2H$ に相当する。脱離前と脱離後のピークの一例を Fig. 4-2-3B 上段に示す。FRPC のマススペクトルでは、 $\pm 2Da$ の違い (-79.9 あるいは -77.7) が、臭素を含む同属体の複雑な同位体分布に紛れてしまうため両者をマススペクトル上で識別するのは容易ではない。一方で、脱離した部分構造の推測が正しければ、それをベースユニットに設定すると、Fig. 4-2-3A では斜めに並んでいた系列が水平に並ぶはずである。部分構造の脱離を反映すると思われるピーク系列 (Fig. 4-2-3A において点線で囲った部分) を抽出し、HBr ($R = 79.09262$, $x = 80$) をベースユニットに設定した KMD プロットを作成して、Fig. 4-2-3B 中段に示した。破線で示した部分構造の分布は依然として傾きを持っており、脱離した部分構造は HBr ではないことが示された。次に、 $-Br + H$ ($R = 77.9105$, $x = 78$) をベースユニットに設定し、作成した KMD プロットを Fig. 4-2-3B 下

段に示した。このプロット上では、破線で示した部分構造の系列は水平に並んだ。このことは、脱離した部分構造が臭素ラジカルであることを示し、FRPCの熱処理で起こり得る反応の仮説[8]のうち、脱臭素反応が起こったことを支持している。このようにKMDプロットを用いて、脱離した部分構造の候補を絞り込み、オリゴマー鎖の正確な観測質量をシミュレーションにより得られる計算質量と比較することで、その妥当性を確かめることができる。KMDプロットによる評価を先に行うことで、計算質量との照合にかかる時間を大幅に短縮することができる。また、マススペクトルを用いた解析は、質量が大きくなると観測質量の正確さが低下することにより困難になるが、KMDプロットを用いた解析では、質量の小さい部分構造を解析対象とすることで、その影響が小さくなることも有利な点である。

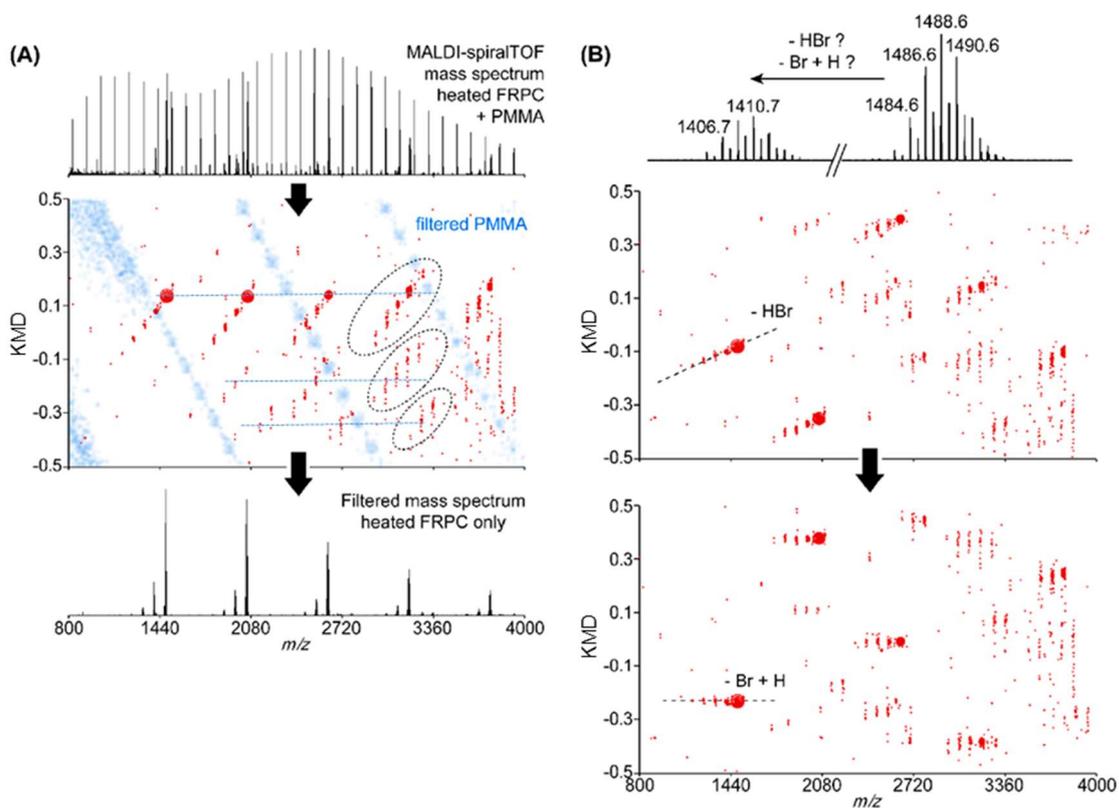


Fig. 4-2-3 Procedure to estimate the release components of heated FRPC using KMD plot. (A) MALDI mass spectrum of a heated aliquot of FRPC with PMMA as an internal calibrant with its KMD plot using the most abundant isotope of $C_{16}H_{10}O_3Br_4$ as the base unit ($R = 569.7324$, $x = 570$), and filtered mass spectrum with brominated peaks only, (B) Filtered KMD plot using HBr as the base unit ($R = 79.9262$, $x = 80$) or $-Br+H$ as the base unit ($R = 77.9105$, $x = 78$).

(2) 工業材料に含まれる臭素系難燃剤およびその熱変性物の化学構造解析への適用

FRPC モデル試料を用いて行った検討を基に、本法を“PBT+FR2300+Sb₂O₂”と表示された、詳細な化学構造情報が不明の臭素系難燃剤が含まれる PBT 樹脂ペレットの分析に適用した例を Fig. 4-2-4 に示す。

この試料について得られたマススペクトルを Fig. 4-2-4 上段に示す。次に、このマススペクトルから、ベースユニットをブチレンテレフタレート (BT, $R=220.0763$) に、デバイザーを $x=219$ に設定して作成した KMD プロットを Fig. 4-2-4A 下段に示す。KMD プロット上で水平に並ぶ PBT の系列が 4 系列観測され、それぞれ環状オリゴマー (PBT 1)、C₁₄H₁₂O₅ 末端成分 (PBT 2)、C₄H₈O 末端成分 (PBT 3)、C₄H₁₀O₂ 末端成分 (PBT 4) であると、精密質量を用いた元素組成解析から帰属できた。環状オリゴマーは、ポリエステル縮重合の副生成物として一般的であり、PMMA の代わりにキャリブントとして用い、自己キャリブレーションを行なうことができる。PBT 1 を用いてキャリブレーションを行った後は、PBT 由来のピークは KMD プロット上で除去し、解析対象とする臭素系難燃剤成分のピークだけを抽出した。

臭素化されたポリマーの繰り返し単位の最大強度質量は、前節で述べたように、a) マススペクトル上で隣接するオリゴマーの最大強度質量ピークの質量差を計算し、得られた繰り返し単位の整数質量を用いて rotating KMD plot 法をドットの分布が水平になるまで b) 1 回行う、つぎに c) 12 回行うという方法で決定し、その結果を Table 4-2-2 に示した。こうして求めた繰り返し単位の最大強度質量の平均値は、599.7793 になり、その組成式は、C₁₈H₁₆O₃Br₄ であると求めることができた。この組成式に相当する構造には、テトラブプロモビスフェノール A ジグリシジルエーテル (開環型エポキシ) が考えられ、その構造式を、得られた繰り返し構造の最大強度質量 (599.7793) をベースユニットに用いて作成した KMD プロットと合わせて、Fig. 4-2-4B 上段に示す。このプロット上では、水平に並ぶ系列が複数観測された。それぞれの系列を 1 つずつ順に分離・抽出を行うことで、マイナー成分のドットもプロット上で明確に観測できるようになり、主系列に加え、マイナーな系列が 3 系列観測されていることが明らかになった。前節と同様の方法で、低質量のオリゴマーの最大強度質量を求めてから末端構造を推測し、得られた組成式から帰属された化学構造を Table 4-2-3 に示す。主系列は、両末端にエポキシ環を持つ構造であり、さらに主系列に水が 1 分子、あるいは 2 分子付加された系列と、主系列から C₃H₄O が不足している構造が観測されていた。水が付加されるのは、エポキシ環が長期保存のために開環したためであると考えられ、C₃H₄O が不足しているのは、末端のグリシジルエーテル部分が欠落しているためであると考えられる。

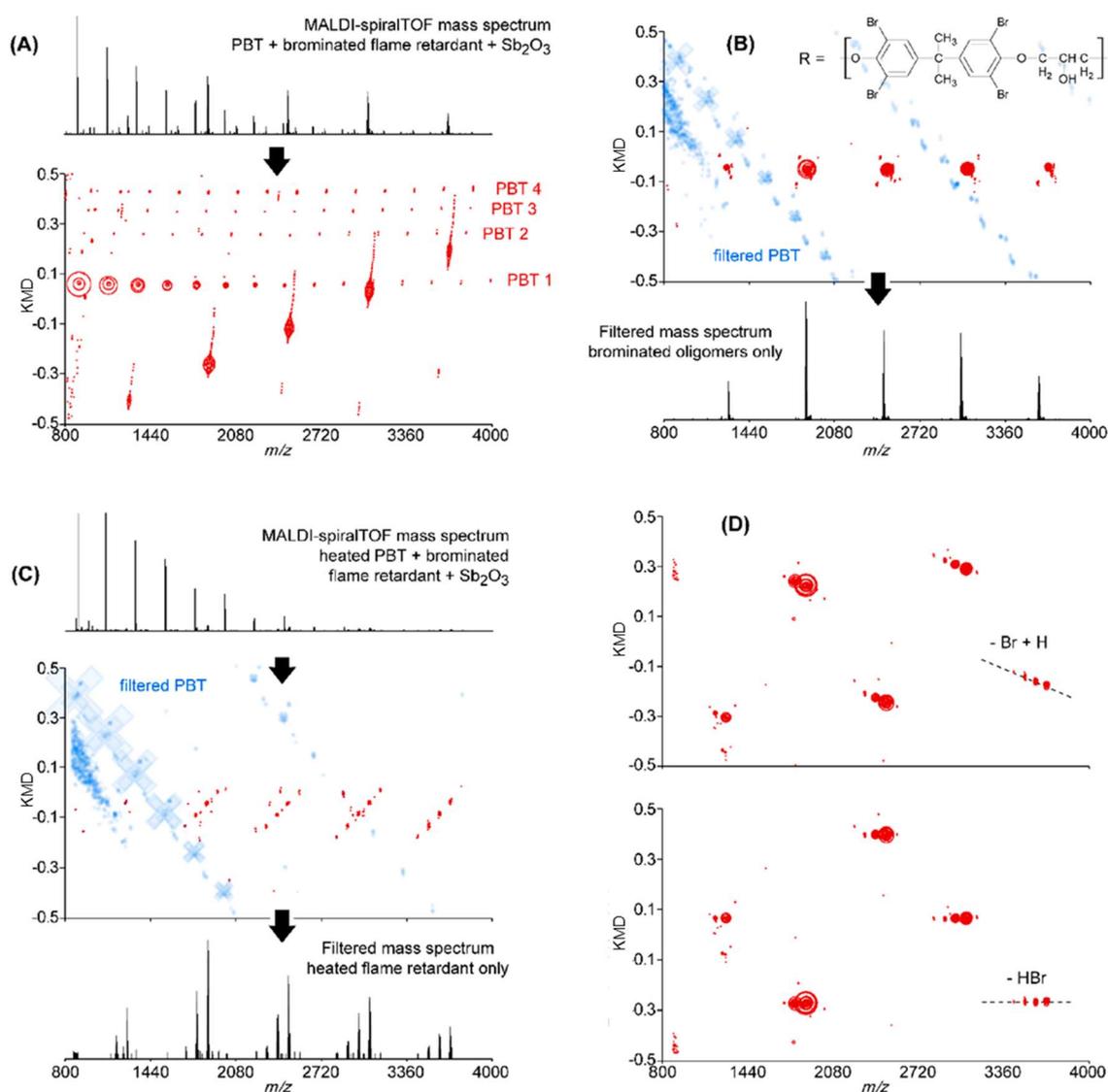


Fig. 4-2-4 An overview of estimating industrial material containing a brominated flame retardant before and after heating using KMD plots. (A) Top: MALDI mass spectrum of a commercially available PBT formulation. Bottom: KMD plot using BT as the base unit ($R = 220.0763$, $x = 219$). (B) Top: Filtered KMD plot using the most abundant isotope of the repeating unit $C_{18}H_{16}O_3Br_4$ evaluated using a rotating KMD plot as the base unit ($R = 599.7793$, $x = 600$). Bottom: Filtered mass spectrum with brominated peaks only. (C) Filtering of PBT peaks from the MALDI mass spectrum of the heated PBT using a KMD plot. (D) Filtered Kendrick plot using $-Br+H$ ($R = 77.9105$, $x = 78$) or $-HBr$ as the base unit ($R = 79.9262$, $x = 80$).

Table 4-2-2 Most abundant isotope of the repeating unit for the brominated flame retardant in PBT computed by three different methods and examples of accurate mass measurements with assignment of the sum of the masses of the end-groups for the first congener.

<i>R</i> (most abundant isotope)		Assignment	Error (ppm)
Mass difference between consecutive oligomers (maxima of isotope pattern)	599.7799	599.77934	+0.9
Single rotation of KMD plot	599.7800 ^{*or**}	C ₁₈ H ₁₆ O ₃ Br ₄ [*]	+1.1
Double rotation of KMD plot	599.8020 ^{**}		+37.8
Example of accurate measurement, 1-mer		Assignment	Error (ppm)
<i>m/z</i> measured	<i>m/z</i> theoretical		
1270.5858	1270.5826		+2.5
N.D.	1271.5860		N.D.
1272.5777	1272.5806		-2.3
1273.5763	1273.5839		-6.0
1274.5753	1274.5787		-2.7
1275.5788	1275.5820	C ₃₉ H ₃₆ Br ₈ O ₇ Na ⁺	-2.5
1276.5744	1276.5769		-1.9
1277.5746	1277.5800	C ₁₈ H ₁₆ O ₃ Br ₄ +	-4.2
1278.5710	1278.5751	C ₂₁ H ₂₀ O ₄ Br ₄ + Na ⁺	-3.2
1279.5762	1279.5780	(H, O, C and Br isotopes)	-1.5
1280.5692	1280.5734		-3.3
1281.5709	1281.5734		-4.1
1282.5690	1282.5719		-2.3
1283.5715	1283.5744		-2.2
1284.5661	1284.5707		-3.6
1285.5694	1285.5728		-2.6
1286.5607	1286.5706		-7.7

* using Mass Mountaineer, ** using Kendo, first and twelfth horizontal alignments

Table 4-2-3 Observed peak series of the brominated flame retardants and their proposed structures.

Main Series	
-C ₃ H ₄ O	
+H ₂ O	
+2H ₂ O	

最後に、PBT 樹脂材料を温和に加熱した場合に起こる臭素系難燃剤の化学構造変化の推定を行った。熱処理した PBT 樹脂材料のマスペクトルを Fig. 4-2-4C 上段に示す。BT の繰り返し単位をベースユニットにした KMD プロットから PBT 成分やバックグラウンドピークを除去した後、繰り返し単位 C₁₈H₁₆O₃Br₄ の最大強度質量にベースユニットを変更し、KMD プロットを作成した (Fig. 4-2-4C 中段)。このプロット上で除去された成分は青色のドット、臭素を含む成分のドットは赤色で示され、Fig. 4-2-4C 下段に示したように、除去後のマスペクトルでは臭素系難燃剤由来のピークのみとなっていることが確認された。さらに、このようにして PBT やバックグラウンドのピークを除去したマスペクトルから、-Br+H ($R = 77.9105$, $x = 78$)あるいは-HBr ($R = 79.9262$, $x = 80$)にベースユニットを変更して、KMD プロットを再作成した (Fig. 4-2-4D)。-Br+H をベースユニットに用いた場合には、図中で破線により結んだ熱分解に伴って脱離した部分構造に相当するプロットが斜めに分布した (Fig. 4-2-4D 上段)。一方で、HBr をベースユニットに用いた場合には、部分構造のプロットは水平に並んだ (Fig. 4-2-4D 下段)。このことから、この工業材料では、FRPC の場合と異なり、脱臭化水素が臭素系難燃剤の熱分解の主要な反応経路であることを推測することができた。これは、分子内のグリシジルエーテル部分の水素と芳香環の臭素が脱離するとともに分子内環化が起こっている可能性を示唆している。

4.2.4 まとめ

ベースユニットに用いる繰り返し単位質量を、モノアイソトピックピーク質量ではなく最大強度質量とすることで、臭素などの同位体分布が広い元素を繰り返し単位に持つ試料の化学構造解析に対しても KMD 法を適用することができるようになった。さらに rotating KMD plot 法と組み合わせることにより、プロットから直接繰り返し単位の精密質量を決定し、元素組成解析を行うことにより繰り返し単位および末端構造を推定することができた。さらに、熱処理に伴い脱離する部分構造を解析することができ、本法は臭素系難燃剤の熱分解反応経路の推測にも有用であった。

4.2 節 参考文献

- [1] IUPAC. Compendium of chemical terminology, 2nd ed. (the Gold Book) Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8.
- [2] R. B. Cody, T. Fouquet, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **30** (2019) 1321-1324, Elemental composition determinations using the abundant isotope. doi: 10.1007/s13361-019-02203-9
- [3] 中村清香, Thierry Fouquet, 佐藤浩昭, *分析化学(Bunseki Kagaku)*, **68** (2019) 615-622, オンプレート分解前処理と高分解能 MALDI-TOF-MS 測定を組み合わせた高分子量ポリカーボネートの分子構造解析. doi: 10.2116/bunsekikagaku.68.615
- [4] M. Strohalm, D. Kavan, P. Novák, M. Volný, V. Havlíček., *Anal. Chem.*, **82** (2010) 4648-4651, mMass3: A cross-platform software environment for precise analysis of mass spectrometric data. doi: 10.1021/ac100818g
- [5] M. Strohalm, M. Hassman, B. Košata, M. Kodíček., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22** (2008) 905-908, mMass Data miner: An open source alternative for mass spectrometric data analysis. doi: 10.1002/rcm.3444
- [6] S. Nakamura, T. Fouquet, H. Sato, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **30** (2019) 355-367, Molecular characterization of high molecular weight polyesters by matrix-assisted laser desorption/ionization high-resolution time-of-flight mass spectrometry combined with on-plate alkaline degradation and mass defect analysis.
- [7] R. B. Cody, T. Fouquet, *Anal. Chem.*, **90** (2018) 12854-12860, “Reverse Kendrick mass defect analysis”: Rotating mass defect graphs to determine oligomer compositions for homopolymers. doi: 10.1021/acs.analchem.8b03413
- [8] M. Altarawneh, A. Saeed, M. Al-Harashseh, B. Z. Dlugogorski. *Prog. Energy Combust. Sci.*, **70** (2019) 212-259, Thermal decomposition of brominated Flame retardants (BFRs): Products and mechanisms. doi: 10.1016/j.pecs.2018.10.004

第 5 章

高分解能質量分析のための 前処理法の開発

第5章 高分解能質量分析のための前処理法の開発

5.1 オンプレート前処理法を用いた有機工業材料に含まれる界面活性剤の除去

5.1.1 緒言

各種ポリマー工業材料や製品を扱う化学産業界では、配合成分の組成解析、自社製品の品質管理、あるいは他社品の調査などを目的にした分析が行われている。ここで解析対象となる試料の多くは複雑な組成からなる複合材料であるため、まずは試料の構成成分の概要を迅速かつ簡便な方法で把握し、その中から注目すべき成分に対して詳細な分析手段を選択して分析評価を進めるためのスクリーニング測定が望まれている。この目的に対して、MALDI-TOFMS は有力な解決方法の一つであり、特に高分解能 MALDI-TOFMS と KMD 法の組み合わせは、ポリマー材料を構成する成分の化学構造及び組成分布を可視化できる画期的な手法であることは、これまでの章で述べてきた。

質量分析法を用いたキャラクタリゼーションでは、解析したい成分がマススペクトル上で観測されていることが必要条件である。しかしながら、イオン性あるいは高極性化合物が多く含まれている混合物試料をそのまま MALDI-TOFMS で測定すると、特定の成分が優勢にイオン化されてその他の成分のピーク強度が非常に弱くなる“イオンサプレッション”という課題がある。特にポリエチレンオキシド (PEO) 系化合物は、無機塩と並んでイオンサプレッションを起こしやすい[1, 2]。しかも、PEO 系化合物は界面活性剤、消泡剤、分散剤などとして様々な有機工業材料に数%以上添加されていることが多い。そこで有機工業製品に含まれる成分分析を行うためには、PEO 系化合物を除去してから、MALDI-TOFMS 測定を行うことが望ましいが、溶媒抽出や液体クロマトグラフィーなどによる分離除去には、分離条件の最適化と操作に多くの手間と時間を要する。

一方、プロテオーム解析の分野では、微量のペプチド試料に混在する高濃度の塩によるイオンサプレッションを抑制するために、MALDI-TOFMS 測定用試料スポットに対するオンプレート脱塩[3]が用いられている。これは塩がマトリックス剤や試料成分よりも水に対する溶解性が高いことを利用したもので、試料/マトリックス混合結晶に 0.1 ~ 1 %程度のトリフルオロ酢酸を含む水を 5~10 μL 滴下し、速やかに水滴を除去するだけで混合結晶表面の塩を効率よく除去することができる。

本研究では、このオンプレート脱塩を応用して PEO 系化合物をオンプレートで簡便に除去する前処理法の開発を試みた。ここでは、異なる化学構造の疎水基をもつ PEO 系化合物が混在した非イオン性界面活性剤を用いて、除去液のメタノール濃度を変えることにより、除去される PEO 系化合物の種類を制御するための条件検討を行った。オンプレート除去処理により複雑な組成を持つポリマー材料のマススペクトルが観測さ

れるようになれば、その解析にはこれまで述べてきた KMD 法を適用することが可能になる。そこで、オンプレート除去による前処理、高分解能 MALDI-TOFMS による測定、および KMD 法によるデータ解析を組み合わせた実際の有機工業製品の分析例として、市販の洗髪剤および紫外線硬化塗料を構成する成分のキャラクタリゼーションを行った。

5.1.2 実験

(1) 試料および試薬

モデル試料には、PEO 系非イオン性界面活性剤（商品名：ポリエチレングリコールモノステアレート、平均重合度約 40、富士フィルム和光純薬製）を用いた。なお、これはすでに 4.1 節で用いた試料と同じであり、この試料には、疎水性部分がステアリン酸で親水性部分が PEO 鎖である標記の成分以外にも様々な成分を含む混合物であることがわかっている [4]。そのため、ここではこれ以降“PEO モノステアレート”と引用符を付けて試料名を表すことにする。実際の有機工業製品の例として、市販品で入手可能な洗髪剤およびウレタンアクリレート系紫外線硬化塗料を試料に用いた。

MALDI-TOFMS 測定で用いるマトリックス剤には、2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン (THAP、ultrapure grade、Protea Biosciences 製) および 2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (DHB、プロテオーム研究用、富士フィルム和光純薬製) を用いた。マトリックス剤や試料を溶解する溶媒には、テトラヒドロフラン (THF、特級、富士フィルム和光純薬製) を用いた。また、オンプレート前処理では、蒸留水およびメタノール (特級、富士フィルム和光純薬製) を用いた。

試料はそれぞれ 1 mg/mL になるように THF に溶解した。また、マトリックス剤は 20 mg/mL になるように THF に溶解した。試料溶液とマトリックス溶液を 1/10 (v/v) になるように混合し、その 1 μ L を試料プレートに滴下・乾燥して試料スポットを調製した。試料プレートは、ディスポーザブル MALDI ターゲット (non-focus、non-hydrophobic グレード、Hudson Surface Technology 社製) を用いた。

(2) オンプレート除去操作

オンプレート除去操作は以下の要領でおこなった。マイクロピペットを用いて除去液 (蒸留水あるいは 50%までのメタノール水溶液) 5 μ L を試料スポット上に滴下し、10 秒ほど待機してからチップの先端を動かさずに除去液を吸引して回収した。除去液が試料スポット上に残った場合には、ラボ用ワイパーをこよりにして、試料スポットの端に接触させることにより、回収した。除去液を回収後、試料スポットを十分に乾燥させた。実際に行ったオンプレート除去操作の条件は、結果および考察の各節で述べる。

(3) MALDI-TOFMS 測定

MALDI-TOFMS 測定には、JMS-S3000 SpiralTOF (日本電子製) を用いた。キャリブレーション用試薬として、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 用分子量標準用ポリメタクリル酸メチル (ピークトップ分子量 1310、PMMA1310) を用いた。

熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析 (Py-GC/MS) 測定は、熱分解装置 (PY2020D、フロンティアラボ製) を取り付けたガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC 6890N+MS5973、アジレントテクノロジー製) を用いた。Py-GC/MS 測定はダブルショット法で行った。すなわち、約 0.1 mg の試料を 50°C から 250°C まで 10°C/min で昇温加熱して 1 段階目の熱分解 (熱抽出) を行い、フロンティアラボ製 MJT-1030 を用いて液体窒素温度で冷却捕集してから GC/MS 測定を行った。また、2 段階目の樹脂成分の熱分解は、600°C で行った。測定条件は以下のとおりである。

カラム：フロンティアラボ製 UA-5 (MS/HT) (長さ 30 m、内径 0.25 mm、固定相 5% diphenyl 95% dimethylpolysiloxane、膜厚 0.25 μm)、カラム温度：40°C – (1 min) – 10°C /min – 280°C (20 min)、カラム流量：1.0 mL/min (He)、スプリット比 1 : 50、インターフェース温度：280°C (パイロライザー/GC 間および GC/MS 間)、イオン源温度：200°C。

5.1.3 結果と考察

(1) “PEO モノステアレート” を用いた予備検討

Fig. 5-1-1 に“PEO モノステアレート”試料の MALDI マススペクトルを示す。この試料は、PEO 鎖の片側に疎水性部分としてステアリン酸がエステル結合した構造だけではなく、パルミチン酸が結合した成分、両末端とも疎水性部分が導入されていない水酸基である PEO、および両末端に疎水性部分 (ステアリン酸ないしパルミチン酸) が導入されている成分もかなり混在していることがわかっている [4]。Fig. 5-1-1 には、それぞれの成分の分布を示すマススペクトルおよび化学構造を示した。なお、観測されたピークは、ほぼ $[M+Na]^+$ イオンであった。マススペクトル上では、疎水性部分を持たない PEO (EO_n と表記) が、ステアリン酸あるいはパルミチン酸を疎水性部分に持つ界面活性成分 ($C_{16/18}\text{-}EO_n$ と表記) とほぼ同程度に観測されている。 EO_n 、 $C_{16}\text{-}EO_n$ 、および $C_{18}\text{-}EO_n$ の各成分の組成がおおむね同じであることを、臨界吸着点クロマトグラフィー (LCCC) 測定で確認している [4]。ここで、PEO の両末端に疎水性部分をもつ成分 ($C_{16/18}\text{-}EO_n\text{-}C_{16/18}$ と表記) は、 $C_{16}\text{-}EO_n$ あるいは $C_{18}\text{-}EO_n$ の同位体ピーク ($^{13}\text{C}_2$) と重複するが、本研究で用いた spiral-TOFMS では、60000 以上の分解能でこれらのピークを分離することができた。

択的な除去が困難であることから、オンプレート除去操作では試料/THAP 混合結晶の表面から水溶性の EO_n成分が選択的に溶出したと考えられる。

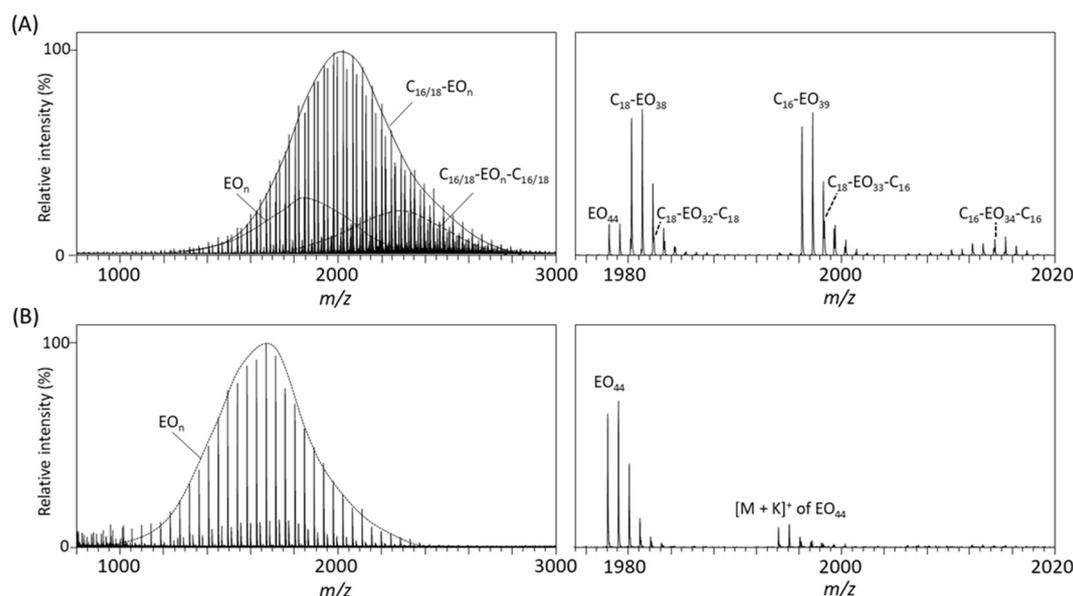


Fig. 5-1-2 Effect of the removal procedures. (A) MALDI mass spectrum of the remaining sample spot after removal procedures using distilled water. (B) MALDI mass spectrum observed for the removal solution. Left side: whole mass spectra, right side: expanded mass spectra. All peaks were observed as $[M+Na]^+$ ions, except for the peak with $[M+K]^+$.

さらにメタノールを異なる濃度で除去液に加え、除去液に溶解させる成分を変化させることを試みた。Fig. 5-1-3 に、異なる濃度のメタノール水溶液を用いて除去をおこなったときの残存試料スポットのマススペクトルを比較して示す。メタノール濃度が 30% までの場合 (Fig. 5-1-3A) は、蒸留水を用いて除去した場合と同様に選択的に除去されるのは EO_n 成分であり、除去液のマススペクトルではほぼ EO_n 成分のみが観測された。さらにメタノール濃度を 40% にすると、EO_n 成分の除去だけではなく、C₁₆-EO_n と C₁₈-EO_n のピーク強度比に違いが現れた (Fig. 5-1-3B)。これは疎水性部分のアルキル鎖が短い方が可溶化・除去されやすいことを反映している。さらに、メタノール濃度を 50% にしたときは、片末端疎水性成分がさらに選択的に除去され、除去前にはマイナー成分であった両末端疎水性成分 (C_{16/18}-EO_n-C_{16/18}) がマススペクトル上で最も強く観測されるようになった (Fig. 5-1-3C)。なおこれ以上のメタノール濃度にした場合には、試料/マトリックス混合結晶が溶解し、除去は不可能であった。以上のように、除去に用いる溶媒の組成を変えることによって、試料に含まれる成分を親水性の違いにより識別することが可能であった。

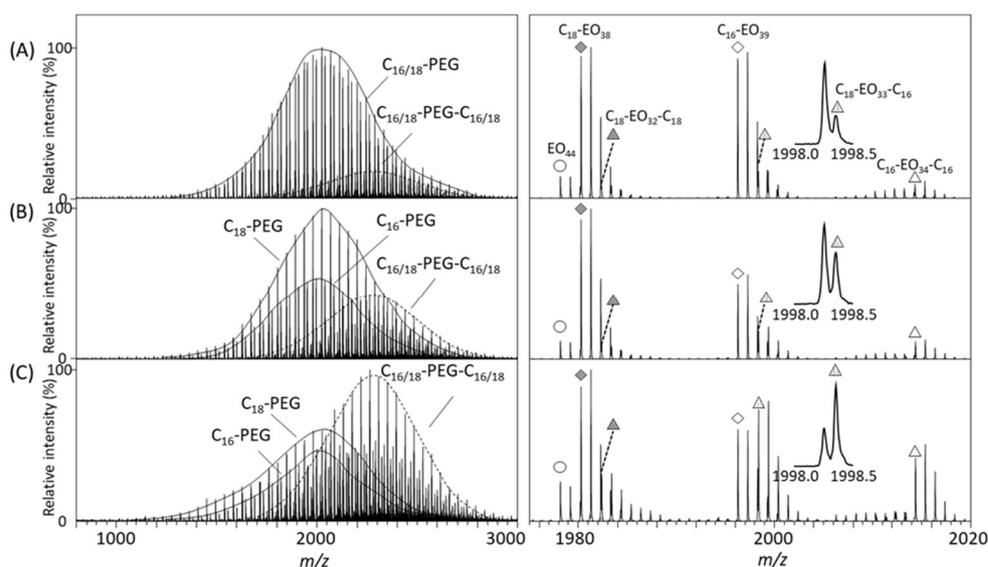


Fig. 5-1-3 Comparison of the MALDI mass spectra of the remaining sample spot after removal procedures using aqueous methanol at different concentrations. (A) 30 vol. % aqueous methanol, (B) 40 vol. % aqueous methanol, (C) 50 vol. % aqueous methanol.

(2) 実際の工業製品の成分分析例

1) 市販洗髪剤

工業製品分析の実施例として市販洗髪剤の成分分析を試みた。この洗髪剤は、成分表から主剤がラウレス硫酸ナトリウム (SLS) であることが分かっている。SLS は、疎水性部分としてアルキルエーテルが、親水性部分として末端にスルホン酸ナトリウムが結合した PEO からなる化学構造を有している。

オンプレート除去処理前後の試料スポットのマスマスペクトルを Fig. 5-1-4 に示す。処理前の試料スポットでは、Fig. 5-1-4A に示すように m/z 500~1000 付近に EO 単位の質量に相当する 44 Da 間隔で SLS 由来のピーク系列 (マスマスペクトル中では*でマークした) が強く観測され、他の配合成分由来のピークは微弱であった。そこで、オンプレート除去を適用して SLS の除去を試みた。除去液のメタノール濃度を変えて測定を行ったところ、メタノール濃度が高いほど主剤の SLS が除去され、他成分のピーク強度が相対的に増加した。最も適した条件であると思われる 50%メタノール水溶液を除去液として用いた結果を Fig. 5-1-4B に示す。一例として、 m/z 830~880 を拡大したマスマスペクトルを比較すると、オンプレート除去により、SLS 由来のピークの間には多くのピークが観測されるようになったことが分かる。また、 m/z 1100~2000 を拡大したマスマスペクトルに示すように、高分子量側の成分のピークがはっきりと観測されるようになった。このように、オンプレート除去法を洗髪剤の分析に適用することにより、簡単なピペット操作だけで多量に存在する SLS による妨害を低減し、他の配合成分由来のピークを観測することが可能になった。

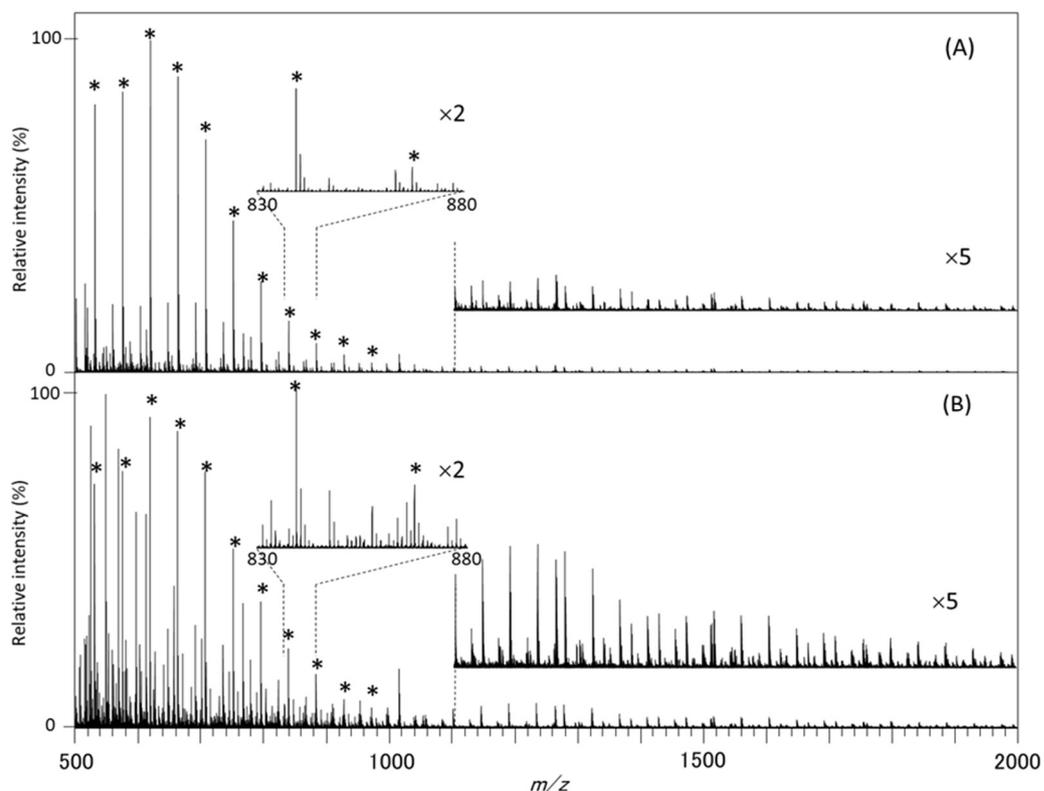


Fig. 5-1-4 MALDI mass spectra of a commercial shampoo before (A) and after (B) removal procedures using 50 vol. % aqueous methanol. Peaks with an asterisk correspond to sodium laureth sulfate (SLS).

しかし、その結果としてマススペクトルは非常に複雑化し、各ピークを帰属してこの洗髪剤に含まれる成分の配合情報を得ることは困難であった。そこでこれまでに述べてきたように、多成分が混合したポリマー試料の解析に適した KMD 法を適用した。なお、この解析では通常の KMD 法を適用した。

Fig. 5-1-5 は、Fig. 5-1-4 で示したマススペクトルから、EO 単位 (C_2H_4O , 44.0262) をベースユニットに設定して作成した KMD プロットである。各 KMD プロット上で水平方向に並んでいるドット系列は、EO の重合度だけが異なる成分であり、EO 鎖以外の化学構造も異なる成分は、それぞれ別の系列として観測される。また、ドットの大きさはピーク強度の違いを反映し、このプロット上では相対強度 0.5%以上の成分のみをプロットした。オンプレート除去を行っていないスポットの KMD プロット (Fig. 5-1-5A) では、主成分である SLS の大きな青色のドット系列が強調され、他の成分はあまり認められない。一方、オンプレート除去処理を行ったスポットに対して作成した KMD プロット (Fig. 5-1-5B) では、数多くの系列が観測された。Fig. 5-1-5C には、NKM 値 500~1000、KMD 値-0.2~0.3 の範囲を拡大した KMD プロットを示す。この範囲では、

アルキルエーテル鎖の炭素数が 12 と 14 の SLS (青色ドットで示した) に加え、KMD 値-0.1~0 の範囲に、炭素数が 12~18 のアルキルエーテルポリエトキシレート類 (緑色ドットで示した) をはじめとして、EO 鎖をもつと思われるいくつかの成分が観測された。また、低分子量側にアルキルアミン系の成分 (紫色ドットで示した) も観測された。これらは EO 単位をもたないので、水平方向のドット系列を示さないことから、PEO 系界面活性剤と容易に識別することができる。なお、各系列の帰属は、対応するピークの精密質量から元素組成を推測することによって行い、化学構造は Fig. 5-1-5D に示した。

一方、Fig. 5-1-5B に戻って NKM 値 1000 以上 (分子量 1000 以上に相当) を見ると、プロット上赤色ドットで示した少なくとも 3 系列の PEO 系成分が現れた。この系列を与えたピークの精密質量から元素組成を推測した結果、これら赤色ドットの系列は PEO-水添ヒマシ油であると考えられた。PEO-水添ヒマシ油とは、グリセロール、PEO、および 12-ヒドロキシステアリン酸からなる非イオン性界面活性剤で、洗髪剤でもよく用いられている (化学構造は Fig. 5-1-5D に示した)。洗髪剤をはじめとする化粧品類は全成分を記載することが義務付けられているが、分子量分布や EO 鎖の炭素数など詳細な化学構造情報までは不明であることが多い。例えば、この洗髪剤の容器には、“PEO-水添ヒマシ油”が成分として記載されていたが、平均 EO 単位の数などに関する情報は記載されていなかった。PEO-水添ヒマシ油は、12-ヒドロキシステアリン酸単位および EO 単位の数に分布があるので、これらの分布を明らかにすれば製品の配合に関する情報を得ることができると考えられる。しかし、PEO-水添ヒマシ油の化学構造解析は容易ではなく、例えば液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) を用いた報告[5]があるが、これは純品の試料を用いたものである。しかも、EO 単位と 12-ヒドロキシステアリン酸の数および結合位置によって膨大な数のピークが観測されるため、LC-MS による測定では極めて煩雑なデータ解析が必要になる。そこで以前に Fouquet らが報告した PEO-水添ヒマシ油の詳細な構造解析の結果[4]を参考にして構造解析を進め、Fig. 5-1-5B 中で $n = 1 \sim 3$ と記した各成分は 12-ヒドロキシステアリン酸単位の数が 1~3 個である成分であり、平均 EO 単位の数は約 20 個であると同定することができた。

一般に、洗髪剤などの化粧品類に含まれる界面活性剤の化学構造特性を明らかにする場合には、あらかじめ様々な界面活性剤や配合成分を何らかの方法で分離・除去する必要があり、煩雑かつ時間を要する前処理が必要となる[6]。一方、著者らが提案するオンプレート除去処理、高分解能 MALDI-TOFMS 測定、および KMD 法を組み合わせた方法は、極めて簡単な操作で洗髪剤に含まれる PEO-水添ヒマシ油をはじめとする様々な界面活性剤成分の化学構造情報を得ることができた。

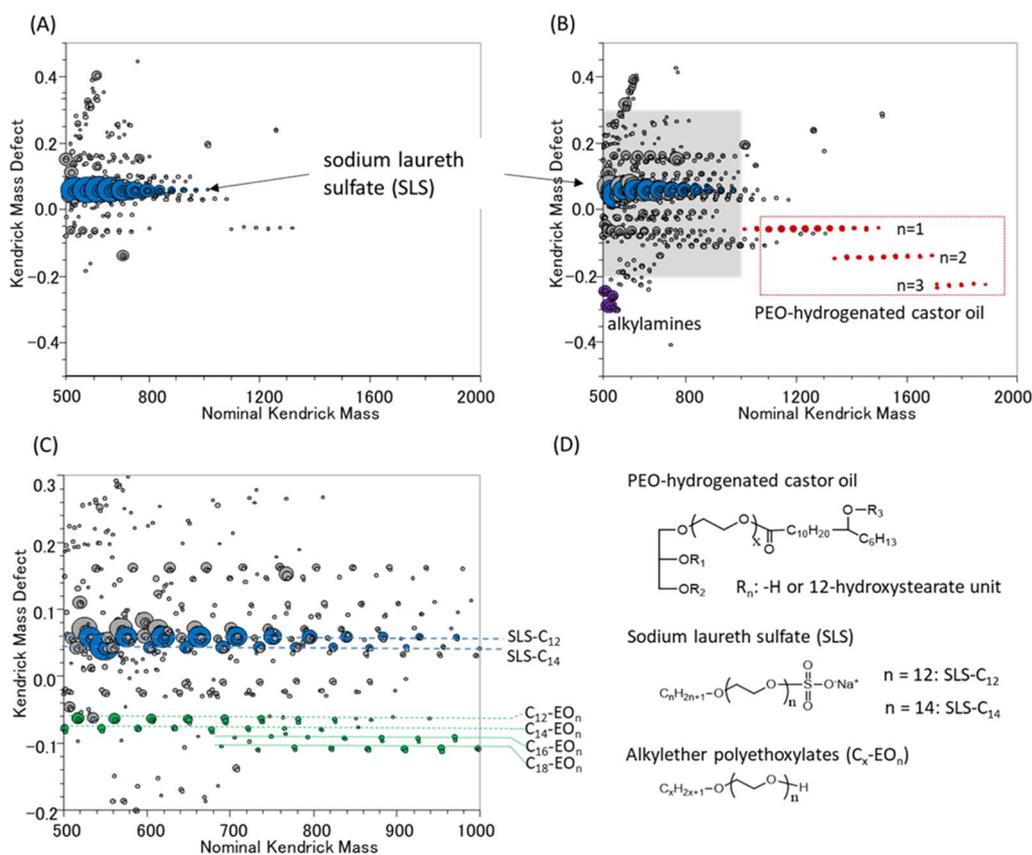


Fig. 5-1-5 KMD plots converted from MALDI mass spectra of a commercial shampoo. (A) Before and (B) after the removal procedures, (C) Expanded KMD plot of (B), (D) Chemical structure of the assigned components.

2) 紫外線硬化塗料

次に紫外線硬化塗料の成分分析を行った例を示す。この試料には、“アクリルウレタン系”との記載があったが、それ以上の化学構造情報は不明である。Fig. 5-1-6 にオンプレート除去処理前後の試料スポットのマススペクトルを示す。未処理の試料のマススペクトル (Fig. 5-1-6A) には、約 44 Da 間隔でいくつかのピーク系列が観測され、その質量から炭素数が 5~8 の PEO-飽和アルキルエーテルであると帰属された。これらは、塗料の分散剤として使用されている非イオン系界面活性剤であると思われる。一方で、塗料の原料成分由来のピークはほとんど観測できなかった。そこで、オンプレート除去を行ったところ、40%メタノール水溶液を用いた場合に、観測されるマススペクトルのピークの数大幅に増加し、塗料の原料成分が観測されているものと考えられた (Fig. 5-1-6B)。なお、これよりも薄いメタノール濃度では界面活性剤の除去は不十分であり、50%メタノールを用いた場合は試料スポットの結晶が一部溶解した。そのため界面活性剤を効率よく除去するために、ここでは 40%メタノール水溶液を用いた除去を 2 回繰り返した。

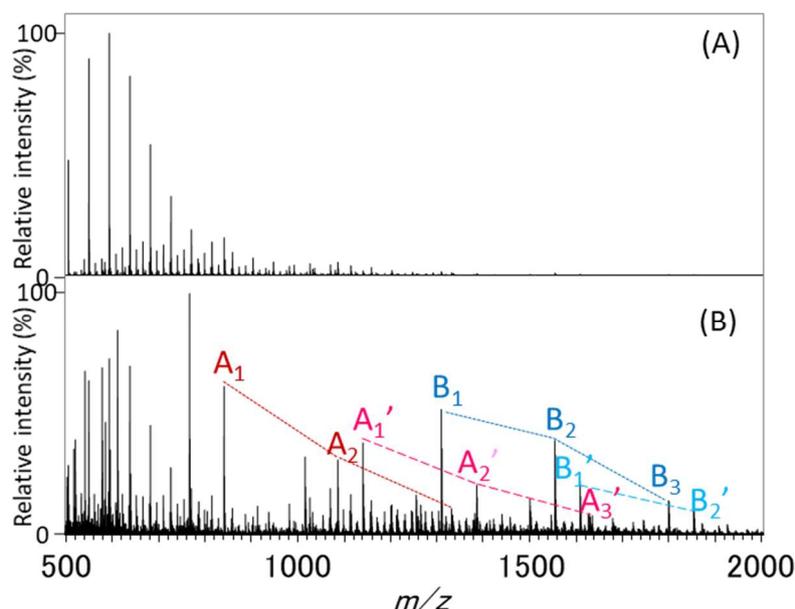


Fig. 5-1-6 MALDI mass spectra of a commercial UV-curable coating material before (A) and after (B) removal procedures using a 40 vol.% aqueous methanol.

このように界面活性剤の除去により塗料原料成分由来のピークが観測されるようになったが、マススペクトルのパターンは複雑であり、観測質量のみを手掛かりにして各ピークの帰属を行うことは困難であった。そこで、マススペクトルを KMD プロットに変換して、ドットの配列から同族体の系列を推測した。

Fig. 5-1-7 に、オンプレート除去処理前後の各試料スポットの KMD プロットを示す。未処理の試料スポット (Fig. 5-1-7A) では、PEO-飽和アルキルエーテルに加え、NKM 値 900~1300 付近にかけて別の PEO 系成分が存在していることが分かった。そこで、マススペクトルから対応するピークを見だし、その精密質量から PEO-モノベンゾエートであると推測し、構造式を Fig. 5-1-7A 中に示した (工業的には両末端がベンゾエート基である PEO-ジベンゾエートがよく用いられるが、ここではそのピークは認められなかった)。一方、オンプレート除去処理を行った試料 (Fig. 5-1-7B) では、右斜め上方向に連なるいくつかのピーク系列を見出した。まず、図中赤色で示した A_1 から始まる A 系列があり、それよりも高分子量側に大きく離れた位置に青色で示した B 系列が見いだされた。さらに、A および B の各系列の線とわずかに離れて、 A' (桃色) および B' (水色) の系列も見いだされた。そこで各ドットに対応するマススペクトルのピーク質量から、それぞれの化学構造を推測した。

まず、各系列内におけるピーク間隔を求めたところ、 244.0915 ± 0.0032 Da であった。この質量に相当する元素組成は、構成元素を CHNO、各元素の最大数を 20、許容誤差

を 0.0032 Da とした場合、 $C_{11}H_{16}O_6$ 、 $C_8H_8N_{10}$ 、 $C_{12}H_{12}N_4O_2$ 、および $C_7H_{12}N_6O_4$ がヒットした。これらの組成式をもつ塗料原料を調べたところ、 $C_{11}H_{16}O_6$ は代表的なアクリル系紫外線硬化樹脂の原料であるペンタエリスリトールジアクリレートの組成式と一致した。その他の候補は、紫外線硬化樹脂の原料として用いられるものとは合致しなかった。次に、A と A' のピーク間隔は 298.1077 ± 0.0048 Da であり、 $C_{14}H_{18}O_7$ の組成式をもつペンタエリスリトールトリアクリレートが合致した。すなわち、この塗料のアクリル成分は、ペンタエリスリトールジアクリレートおよびペンタエリスリトールトリアクリレートの混合物であると推測された。

次に B および B' 系列について検討した。これらは、KMD プロット上で A および A' のドット分布が平行移動した位置に分布している。すなわち、B 系列内の構造の違いは、ペンタエリスリトールジアクリレート単位の数の違いによるもので、B 系列と B' 系列の違いはペンタエリスリトールトリアクリレート単位の数の違いによるものであった。しかし、A 系列と B 系列の質量差は 466.2253 ± 0.0056 Da であったが、この質量を満足する組成式の候補は多すぎて絞り込むことができなかった。そこで、A 系列および B 系列の違いは、ウレタンの原料となるイソシアネート単位の有無に起因しており、すなわち B 系列はペンタエリスリトールジアクリレートあるいはペンタエリスリトールトリアクリレートの水酸基にイソシアネートが結合したものではないかと考えた。実際に、このような構造をもつウレタンアクリレートプレポリマーは工業的に製造されている。そこで、A 系列と B 系列の平均質量差 466.2253 Da からペンタエリスリトールジアクリレートの計算質量 (244.0947 Da) を差し引いた 222.1306 Da について、構成元素を CHNO とし、許容誤差を 0.0056 Da と仮定して組成式を求めたところ、 $C_{17}H_{18}N_2O_2$ がヒットした。これはウレタン原料として代表的なイソシアネートの一種であり、アクリルウレタン系塗料の原料としてもよく利用されているイソホロンジイソシアネート (IPDI) の組成式と同じであった。以上の結果から、この塗料のウレタンプレポリマー成分は、ペンタエリスリトール (トリ/ジ) アクリレートと IPDI からなる構造を有していると推測した。

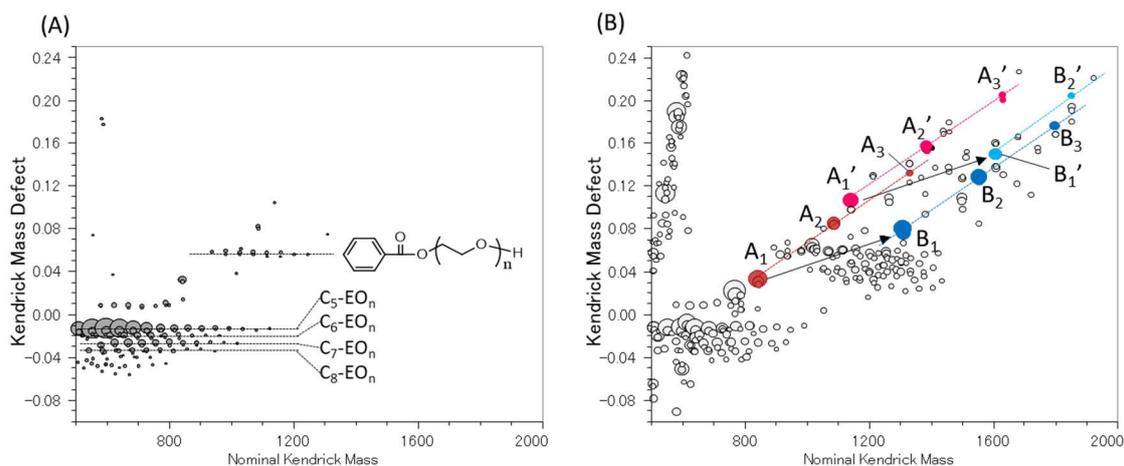


Fig. 5-1-7 KMD plots converted from the MALDI mass spectra of a commercial UV-curable coating material. (A) Before and (B) after removal procedures. Colored circles in (B) correspond to the peaks in Fig. 5-1-6B.

この推測を検証するために、この試料の二段階 Py-GC/MS 測定を行った。Fig. 5-1-8 にクロマトグラムを示す。250°Cまでに揮発した成分を対象とした熱脱着では、1,6-ヘキサジオールジアクリレートや(1,1-ビスクロヘキシル)-4,4-ジオールなどとともに、ペンタエリスリトールジアクリレートおよびペンタエリスリトールトリアクリレートが検出された。また、600°Cで樹脂の熱分解を行った場合には、IPDIが検出された。この結果は、MALDI-TOFMS 測定と KMD 法を組み合わせ推測されたウレタンアクリレートの化学構造を支持している。

塗料には様々な成分が配合されているため、一般には溶媒を用いた抽出や分離などの前処理が必要である[7]。さらに分離された各層ごとに、赤外分光法 (IR)、核磁気共鳴分光法 (NMR) など各種分光分析法、熱分解ガスクロマトグラフィー (Py-GC)、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) などの各種クロマトグラフィーなどを適用して構造解析を進めていく[8]。しかし、迅速簡便なおおまかな配合情報を得たい場合には、できるだけ簡単な前処理で迅速に化学構造情報を得る手法が望まれる。オンプレート除去処理を用いた MALDI-TOFMS 測定と KMD 法による解析を組み合わせた方法を用いることにより、極めて簡単な操作で紫外線硬化塗料に含まれる界面活性剤、アクリレート成分、およびイソシアネートの各成分に関する化学構造情報を得ることができた。

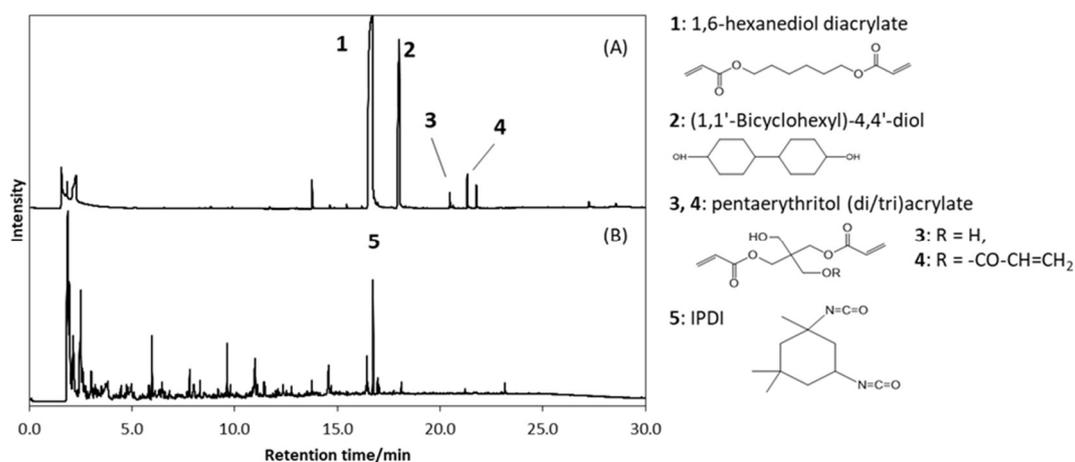


Fig. 5-1-8 Gas chromatograms of a commercial UV-curable coating material. (A) Thermal desorption from 50°C to 250°C and (B) pyrolysis at 600°C.

5.1.4 まとめ

複雑な組成をもつ有機工業製品に含まれる高分子成分を MALDI-TOFMS で迅速かつ簡便に分析する技術の開発を目的として、イオンサプレッションの原因となる PEO 系成分を試料ターゲット上で簡便に除去する前処理法を開発した。除去液の組成を変化させることで、PEO 系成分を疎水性の違いで選択的に除去できるようになった。この前処理法の開発により、イオン化を妨害する PEO 系成分を測定プレート上で迅速・簡便に除去し、解析対象のマスマスペクトルが得られるようになり、高分解能 MALDI-TOFMS 測定と KMD 法によるデータ解析を組み合わせた、実用的なポリマー材料のキャラクタリゼーション法の適用範囲を拡張することができた。

5.1 節 参考文献

- [1] F. Gharahdaghi, M. Kirchner, J. Fernandez, S. M. Mische, *Anal. Biochem.*, **233** (1996) 94-99, Peptide-mass profiles of polyvinylidene difluoride-bound proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in the presence of nonionic detergents. doi: 10.1006/abio.1996.0012
- [2] C. Zhao, P. B. O'Connor, *Anal. Biochem.*, **365** (2007) 283-285, Removal of polyethylene glycols from protein samples using titanium dioxide. doi: 10.1016/j.ab.2007.03.024
- [3] O. Vorm, M. Mann, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **5** (1994) 955-958, Improved mass accuracy in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides. doi: 10.1021/jasms.8b00499
- [4] T. Fouquet, H. Shimada, K. Maeno, K. Ito, Y. Ozeki, S. Kitagawa, H. Ohtani, H. Sato, *J. Oleo. Sci.*, **66** (2017) 1061-1072, High-resolution Kendrick mass defect analysis of poly(ethylene oxide)-based non-ionic surfactants and their degradation products. doi: 10.5650/jos.ess17096
- [5] A. Nasioudis, J. W. van Veldc, R. M. A. Heeren, O. F. van den Brink, *J. Chromatogr. A*, **1218** (2011) 7166-7172, Detailed molecular characterization of castor oil ethoxylates by liquid chromatography multistage mass spectrometry. doi: 10.1016/j.chroma.2011.08.032
- [6] 溝口恭伸, 田中孝祐, 日本油化学会誌, **47** (1998) 1123-1132, 界面活性剤分析技術の進歩. doi: 10.5650/jos1996.47.1123
- [7] 加川邦博, “高分子分析ハンドブック”, 日本分析化学会高分子分析研究懇談会編, (2000) p. 700, (朝倉書店).
- [8] 河島順子, 塗料の研究, **154** (2012) 20-29, 塗料・塗膜の分析技術 (1) ~塗料の分析概論~.

5.2 オンプレート分解法を用いた高分子量ポリエステルの特徴化

5.2.1 緒言

高分解能 MALDI-TOFMS による測定と KMD 法によるデータ解析を組み合わせた方法が、ポリマーの特徴化に有効な手法であることはこれまで述べてきた通りである。しかし、モノアイソトピックピークを検出し、高分解能測定によって正確に精密質量を決定できるのは、おおむね m/z 3000 以下のオリゴマー領域に限られることが課題であることは、すでに第 1 章で指摘した。たとえオリゴマー領域の成分がポリマー試料中に存在していたとしても、オリゴマーの末端基や共重合組成などの情報が、高分子量のポリマー全体の化学構造を代表しているのかという疑問を晴らすことは困難であるため、高分子量成分の特徴化は必要である。

ポリマーを何らかの方法でオリゴマー化して質量分析するために、荒川らは、MALDI-TOFMS 測定の前に、超音波によりポリマー鎖を分解する手法を提案した[1-3]。しかし、超音波分解の効率が低いことから、十分ポリマー鎖をオリゴマー化するためには、数時間も長い処理時間が必要であるうえ、超音波分解により様々な末端基が生成することが報告されている。このような制限のために、これまでのところ、超音波分解は、質量分析のための試料の前処理法として実用化に至っていない。

熱分解は、合成ポリマーや天然物を低分子量化する手法として、より一般的に用いられてきた。熱分解分析法と総称される熱分解質量分析法(Py-MS)や熱分解ガスクロマトグラフィー(Py-GC)はその代表例であり、架橋ポリマーなどの高分子量ポリマーの化学構造解析に活用されている [4]。しかし、400°Cを超える高温での瞬間的な熱分解は、構成モノマーなどの成分組成情報を得るのに適した方法であるが、もとのポリマー鎖の連鎖情報はかなり失われる。そのため、より低い温度での部分熱分解(partial pyrolysis)が、連鎖構造情報などを保持したオリゴマー生成物を得るのに効果的な方法である可能性がある。ポリエステルの場合には、熱分解により β 水素脱離が起こり、カルボキシル基とオレフィン構造を末端にもつオリゴマーが生成することがよく知られている。この反応に基づいた部分熱分解と高速原子衝撃質量分析(FAB-MS)[5]、エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)[6]、あるいは MALDI-TOFMS[7]といった質量分析とを組み合わせることにより行われた、微生物産生共重合ポリエステルの特徴化が報告されている。これらの報告では、試料の部分熱分解は熱天秤を用いて行われ、数 mg の試料に対して 20 wt%の重量減少が起こるまで加熱を行ったことが述べられている。しかし、我々が再現実験を行ったところ、温度の制御が難しく、20%の重量減少で速やかに分解反応を停止させるためには、何らかの急冷装置が必要であり、実用的ではないことが分かった。

酸あるいはアルカリを触媒とするエステル交換反応が、高分子量ポリエステルのオリ

ゴマーへと温和に分解する、効果的な方法になる可能性がある。MALDI-TOFMS 測定を行う前に、塩酸あるいはナトリウムメトキシドのメタノール溶液を部分的にエステル交換反応させる反応試薬として用いて、ポリ(3-ヒドロキシブチレート-co-3-ヒドロキシバレレート) [P(3HB-co-3HV)][8]およびポリ(β -ヒドロキシアルカノエート) (PHAs)[9]の構造解析を行った例が報告されている。しかし、これらの反応はフラスコ内で行われており、高分解能質量分析に適した分子量になる分解生成物を得るためには、試行錯誤による反応条件の最適化が必要となると考えられる。

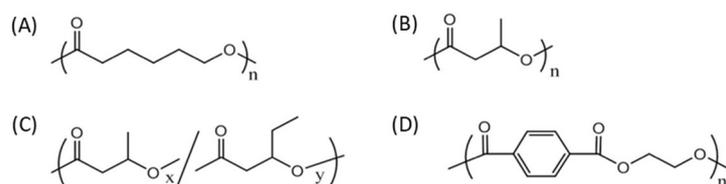
そこで本研究では、高分子量ポリエステルを MALDI-TOFMS で測定するために、すでに報告されている部分エステル交換反応[8, 9]を応用した前処理法の開発を試みた。本法の特徴は、溶液試料をキャストした薄膜試料あるいはフィルム試料といったポリマー試料に対し、MALDI 測定用プレート上でアルカリ試薬による処理をピペット操作で数分以内に行えることである。本法は、ポリエステル繊維の仕上げの工程として行われる、アルカリ処理による表面特性の改質工程[10, 11]にヒントを得たものである。また、生体組織工学でも、アルカリ加水分解処理を用いて表面特性改変を行い、ポリエステルベースの材料の細胞親和性を向上させるということが行われてきた[12-14]。どの場合においても、ポリエステルの分子量低下が表面層だけで起こることから、この現象は、MALDI-TOFMS による高分子量ポリエステルのキャラクタリゼーションにおける前処理工程として適用可能であると考えた。すなわち、オリゴマーの分解産物からインタクトのポリマー鎖まで分子量分布が広範囲に広がるにもかかわらず、部分的に分解された試料の表層では、反応条件の最適化を行わなくても、結果的にオリゴマー成分が表面に濃縮されることが期待される。

しかし、エステル結合がエステル交換反応により切断されることで、様々な末端基を持つオリゴマー成分が生成するという問題が残る。これまでに、このような複雑な混合物のキャラクタリゼーションに、高分解能 MALDI-TOFMS 測定と KMD 法を組み合わせることが有効であることを示してきた。本節では、MALDI 測定プレート上で、ポリエステル材料に対して簡単なアルカリ分解処理（以降“オンプレート分解”と呼ぶ）を行う前処理の開発および最適化を検討した。さらに、同位体ラベルした分解試薬や溶媒を用いて反応生成物を帰属し、詳細な分解機構を検証した。そして、本法を微生物が産生する高分子量の共重合ポリエステルや工業材料として製造されたポリエステル製品の分析に適用し、オンプレート分解前処理と第4章で述べた高性能化された KMD 法を組み合わせることで、MALDI-TOFMS の高分子量ポリマーに対する適用範囲を拡張することを試みた。

5.2.2 実験

(1) 試料および試薬

ポリ (ϵ -カプロラクトン) (PCL、平均分子量：約 10000 g/mol)、ポリ (3-ヒドロキシブチレート) (P3HB、 $M_n = 2.6 \times 10^5$ g/mol、 $M_w = 7.1 \times 10^5$ g/mol)、およびポリ (3-ヒドロキシブチレート-*co*-3-ヒドロキシバレレート) [P(3HB-*co*-3HV)、3HV 含量：12 %mol、 $M_n = 1.4 \times 10^5$ g/mol、 $M_w = 3.5 \times 10^5$ g/mol] はすべて Sigma-Aldrich 製のものを用いた。PCL 試料は、ジエチレングリコールを開始剤としてその両端から水酸基末端をもつ PCL 鎖が両側に伸びた構造であることがすでに明らかになっている [15]。加えて、市販ポリエチレンテレフタレート (PET) フィルム (ルミラーS10、膜厚：23 μ m、東レ製) と市販飲料の PET ボトルを高分子量ポリエステルの実試料として用いた。使用したポリマーの構造式は Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Structures of the four high molecular weight polyesters, (A) PCL, (B) P3HB, (C) P(3HB-*co*-3HV), and (D) PET.

オンプレート分解用の試薬として、水酸化ナトリウム (NaOH、富士フィルム和光純薬製) をメタノール (CH_3OH 、インフィニティピュアグレード、富士フィルム和光純薬製) あるいはメタノール- d_4 (CD_3OD 、99.8 atom%) に約 10 mg/mL になるように溶解した。28%ナトリウムメトキシド (CH_3ONa) メタノール溶液 (富士フィルム和光純薬製) は、約 10 mg/mL になるようにメタノールで希釈した。すべて重水素置換されたアルカリ試薬として、重水酸化ナトリウム (NaOD) のメタノール- d_4 溶液を以下の通りに調製した。40%NaOD の重水 (D_2O 、99.5 atom%) 溶液 (Alfa Aesar 製) 10 μ L を 1.1 mL ガラスバイアルにとり、真空乾燥させて重水を取り除いた後、40 μ L のメタノール- d_4 を加え再溶解し、約 10 mg/mL に調製した。蒸留水あるいは重水 (D_2O 、100 atom%、富士フィルム和光純薬製) を MALDI 測定用プレート上に過剰に存在するアルカリ試薬を洗浄するために用いた。

テトラヒドロフラン (THF)、1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP)、およびクロロホルム (HPLC グレード) は富士フィルム和光純薬製であり、ポリマー試料の溶媒やサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) の移動相として用いた。マトリックス剤として 2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン (THAP、ウルトラピュアグレード、Protea Biosciences 製) を約 20 mg/mL になるように THF に溶解したのものを用いた。

(2) SEC 分取

基礎的な検討として、SEC 分取を行った試料を用いて、高分子量ポリエステルの分解生成物を確認した。P3HB および P(3HB-*co*-3HV)の平均分子量は、AS-8020 オートサンプラー、CCPS ポンプ、SD-8022 デガッサー、CO8020 カラムオープン、RI-8020 示差屈折率(RI) 検出器から構成されるビルトアップ HPLC システムを用いて決定した。2 mg/mL になるように HFIP に溶解した溶液試料 10 μ L を導入し、HM-H ガードカラムに続き、2 本の TSKgel super HM-H カラム (6.0 mm \times 150 mm) を直列に接続し、移動相として 0.5 mM のトリフルオロ酢酸ナトリウムを含む HFIP 溶液を用い、流速を 0.3 mL/min に設定して分析を行った。校正曲線は、ポリメタクリル酸メチルスタンダードキット (PMMA M-75 キット、Shodex 製) を用いて作成した。

PCL 試料の高分子量フラクションは、RI 検出器を搭載した東ソー製の HLC8220 システムを用いて分取した。約 2 mg/mL になるようにクロロホルムに溶解した試料溶液 200 μ L を導入し、HXL ガードカラムの後に直列に接続した 2 本の TSKgel multipore HXL-M カラム (6.0 mm \times 150 mm) を用い、クロロホルムを移動相として流速 1 mL/min で分離を行った。フラクションは、30 秒間の溶出液に相当する 0.5 mL 毎に RI 検出器の直後で分取した。各フラクションを MALDI-TOFMS 測定して、オンプレート分解用の測定試料には数平均分子量 (M_n) が約 13,800 g/mol のフラクションを用いた。その高分子量フラクションの濃度は、RI 検出器の信号強度からおおよそ 0.08 mg/mL であると求められた。このフラクションは、 m/z 10,000 以下の質量域でピークが観測されないことを確認した。

(3) オンプレート分解処理

PET 以外のすべての試料は、THF に約 1 mg/mL になるように溶解した。それぞれ試料溶液 1 μ L をディスポーザブル MALDI 試料プレート (non-focus、non-hydrophobic、Hudson Surface Technology 製) に滴下・乾燥し、プレート上にポリマー薄膜を形成させた。PET フィルムは、内径 0.75 mm のマイクロパンチャー (フロンティア・ラボ製) を用いてくりぬき、MALDI 試料プレートに直接のせ、約 1 μ L の HFIP をフィルム断片の上に滴下し、そのまわりに PET の薄膜を形成させた。次にこのようにして調製した試料薄膜の上に約 1 μ L のアルカリ試薬を滴下し、メタノールが十分に揮発するまで (約 5 分間) 風乾した。過剰なアルカリ試薬の除去は、約 5 μ L の蒸留水あるいは重水を試料スポット上に滴下した後、直ちにピペットで洗浄液を回収することを 3 回繰り返すことにより行った。なお、この操作は MALDI-TOMS の試料スポット調製における脱塩操作[16]と同様である。試料スポットを乾燥させた後、約 1 μ L のマトリックス溶液を試料スポット上に滴下・乾燥させた。

(4) MALDI-TOFMS 測定と KMD 解析

MALDI-TOFMS 測定は、JMS-S3000 SpiralTOF (日本電子製) を用いて行った。装置の設定は、 m/z 800~3000 の質量域で、半値幅での ΔM がおよそ 0.03 Da 未満になるように調整した。

マススペクトルの解析は、msTornado Analysis (日本電子製) を用いて行った。KMD 解析は、msRepeatFinder (日本電子製) およびインハウスプログラムである Kendo を用いて行った。P(3HB-co-3HV) の共重合組成解析は、共同研究者が作成したエクセル VBA を用いて行った。

5.2.3 結果と考察

(1) 高分子量 PCL を用いたオンプレート分解処理の基礎検討

実験の項で述べたように、SEC 分取により調製した、オリゴマー成分を含まない高分子量 PCL フラクシオン ($M_n = 13,800$) を用いて、オンプレート分解の実験条件の最適化を行った。最初の検討として、この PCL フラクシオン試料を MALDI 測定用プレートにのせ (スポット当たりの PCL 量は約 80 ng に相当)、アルカリ試薬として CH_3ONa メタノール溶液を使用して、オンプレート分解処理を行った。オンプレート分解後、洗浄操作を行わずに測定したマススペクトルおよび洗浄操作を行った後のマススペクトルと分解物の化学構造を Fig. 5-2-1 に示す。Fig. 5-2-1A は、オンプレート分解後、洗浄操作を行わずそのまま MALDI-TOFMS 測定を行って得られたマススペクトルであり、オリゴマーの分解生成物は、バックグラウンドにわずかに観測されるだけであった。これは、過剰量のアルカリ分解試薬が残存していることにより引き起こされる、強いイオンサプレッション効果のためと考えられた。アルカリ分解試薬の残存は、分解試薬のメタノールを揮発させた後、試料スポット上に白色の結晶が確認されることから裏付けられる。そこで、過剰なアルカリ試薬を除去するために、マトリックス/試料の混合結晶に蒸留水をピペットで滴下し、さらに回収するという簡単な操作によりオンプレートで洗浄を行った後に観測されたマススペクトルを Fig. 5-2-1B に示す。洗浄後は、分解により生成したオリゴマー成分由来のピーク系列が高強度で観測された。なお、洗浄前後での絶対ピーク強度を比較するため、Fig. 5-2-1 に示した 2 つのマススペクトルの y 軸のスケールを合わせている。マススペクトル上で、分解生成物が明確に 4 系列観測された。図中に CL_n として示したピーク系列は、末端にカルボキシル基と水酸基を持つ成分である。 $\text{CL}_n\text{-OCH}_3$ および $\text{CL}_n\text{-ONa}$ で表される系列は、 CL_n のカルボン酸末端がそれぞれメチルエステルおよびナトリウム塩になったものである。 $\text{CL}_n\text{-diol}$ で示す系列は、主鎖中にジエチレンオキシド単位を持ち、両末端が水酸基になっている成分であり、高分子量 PCL 鎖中にもジエチレンオキシド単位が含まれていることを示す重要な成分である [15]。マススペクトル上で観測されたこれら 4 系列の構造式は、Fig. 5-2-1 下部に示した。

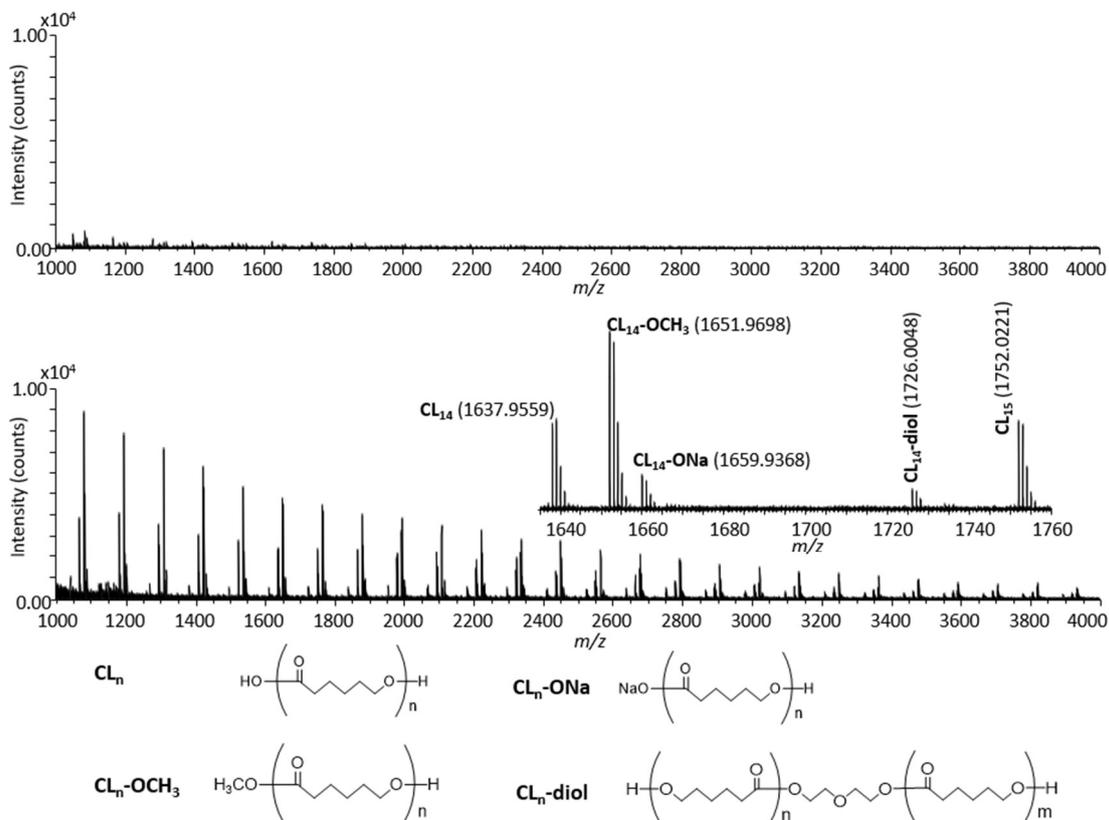


Fig. 5-2-1 Mass spectra of the fractionated PCL following the on-plate degradation procedure using CH_3ONa in methanol (A) before and (B) after washing with distilled water.

以上のように、オンプレート分解処理には、蒸留水を用いた過剰なアルカリ試薬の除去が必須となる。そのため、洗浄工程の間に加水分解が起こっている可能性を否定することができない。そこで、蒸留水の代わりに重水を用いて洗浄操作を行い、蒸留水を用いた洗浄操作を行った場合とマススペクトルを比較し、同位体ラベルによる質量変化に基づくピークシフトの有無を確認して、加水分解生成物が副生されているかどうかを確認した。Fig. 5-2-2 は、 CH_3ONa メタノール溶液を用いてオンプレート分解を行い、蒸留水を用いて洗浄を行った場合 (Fig. 5-2-2A、Fig. 5-2-1B に示したマススペクトルと同じである)、重水を用いて洗浄を行った場合のマススペクトル (Fig. 5-2-2B) をそれぞれ示す。OH 基が OD 基に入れ替わった場合に相当する +1 Da のピークシフトは確認されず、洗浄操作中に望ましくない加水分解が副反応として起こっていない (Fig. 5-2-2B) ことが確かめられた。

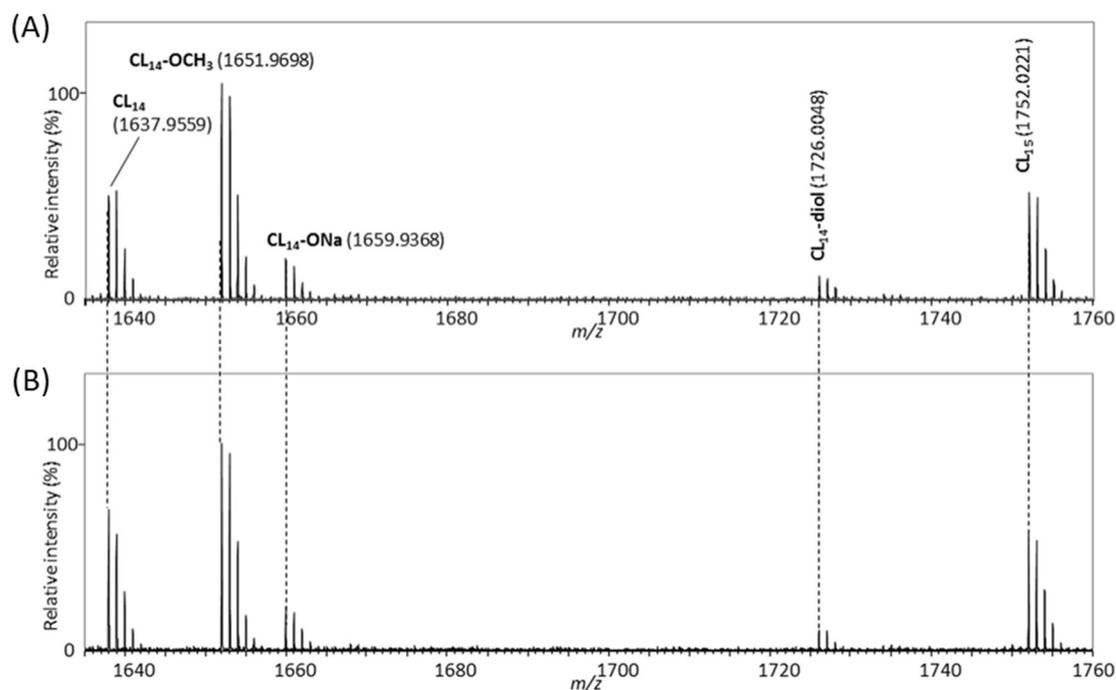


Fig. 5-2-2 Comparison of mass spectra of the fractionated PCL processed by the on-plate degradation using CH_3ONa in methanol followed by washing with (A) H_2O and (B) D_2O .

分取 PCL 試料をオンプレート分解した場合に生成する主要な分解生成物は、片末端に水酸基を持ち、もう一方の末端が遊離のカルボキシル基とそのメチルエステルのいずれかの 2 種類のオリゴマーであった。これらの分解物が生成する機構を議論するために、メタノール- d_4 や重水といった重水素化された溶媒や分解試薬を別々にあるいは合わせて用いてオンプレート分解処理を用いた。分解試薬からの PCL 鎖へのメチルエステル基の導入を制限するため、分解試薬として CH_3ONa の代わりに NaOH およびその重水素化試薬である NaOD を用いた。Fig. 5-2-3 において、分取 PCL に対し、オンプレート分解やそのあとの洗浄操作を、通常の試薬と同位体ラベルされた試薬を用いて行った場合に得られたマススペクトルを比較した。Fig. 5-2-3A と Fig. 5-2-3B は、 NaOH メタノール溶液を用いてオンプレート分解を行い、蒸留水を用いて洗浄操作を行った場合で、同位体ラベルを行わなかったことになる。Fig. 5-2-3C は、 NaOH メタノール- d_4 溶液で分解し、蒸留水で洗浄した場合で、分解試薬の溶媒を同位体ラベルしたことになる。最後に Fig. 5-2-3D は、 NaOD メタノール- d_4 溶液で分解し、重水で洗浄を行った場合であり、オンプレート分解処理に用いた試薬すべてを同位体ラベルしたことになる。 NaOH メタノール溶液を用いた場合にもマススペクトルの全質量域で分解生成物であるオリゴマーが観測され (Fig. 5-2-3A)、さらに観測されたそれぞれのオリゴマー成分も CH_3ONa メタノール溶液を用いた場合と同じであった (Fig. 5-2-3B)。メタノール- d_4 を NaOH の溶媒に用い蒸留水で洗浄した場合、 $\text{CL}_n\text{-OCH}_3$ で表されるメチルエステル

末端をもつ成分はほぼ消失し、代わりに CL_n-OCD_3 で表されるピーク系列が現れた (Fig. 5-2-3C)。同位体ラベルを行わない元の末端は H_3CO/H であり、同位体ラベルを行った後の末端基は D_3CO/D となると考えられることから、同位体ラベルを行ったことにより起こるピークシフトは +4 Da であると予想された。しかし、+3 Da のピークシフトが観測されたことから、重水素置換はメチルエステル基のみで起こり、水酸基は変化しないままであることが示唆された。他の CL_n 、 CL_n-ONa 、および CL_n -diol の 3 系列では、ピークシフトは認められず、重水素が水酸基やカルボキシル基にはほとんど導入されないことが改めて示唆された。最後に、すべての試薬 (アルカリ試薬および溶媒) が重水素置換された NaOD メタノール- d_4 溶液で分解を行い、洗浄操作には重水を用いてオンプレート分解操作を行った。この場合でも、カルボキシル基末端および水酸基末端では、重水素置換は起こらなかった (Fig. 5-2-3D)。

これらの結果から、カルボキシル基末端および水酸基末端の水素元素の起源は、PCL 分子そのものであると推測することができる。これまでの多くの研究により、ポリエステルアルカリ分解は、反応溶液中のメトキシドアニオンが求核的にエステル結合のカルボニルを攻撃し、メチルエステルを生成することが明らかにされている。もし、重水素ラベルした試薬でアルカリ分解が完全に進行し、モノマー分解物が生成すれば、それらの水酸基末端の水素原子は重水素に置換されるはずである。しかし、オンプレート分解処理によるアルカリ分解反応はポリマー薄膜の表層のみで起こり、完全に進行しないと考えられ、分解されていないもとの高分子量 PCL のカルボキシル基が反応部位の近くに相当量残されていることが予想される。そのため、これらのカルボン酸末端から放出されたプロトンは、アルコキシドアニオンと結合し、重水素ラベルされた試薬を用いても、重水素を含まない水酸基末端を形成すると考えられた。

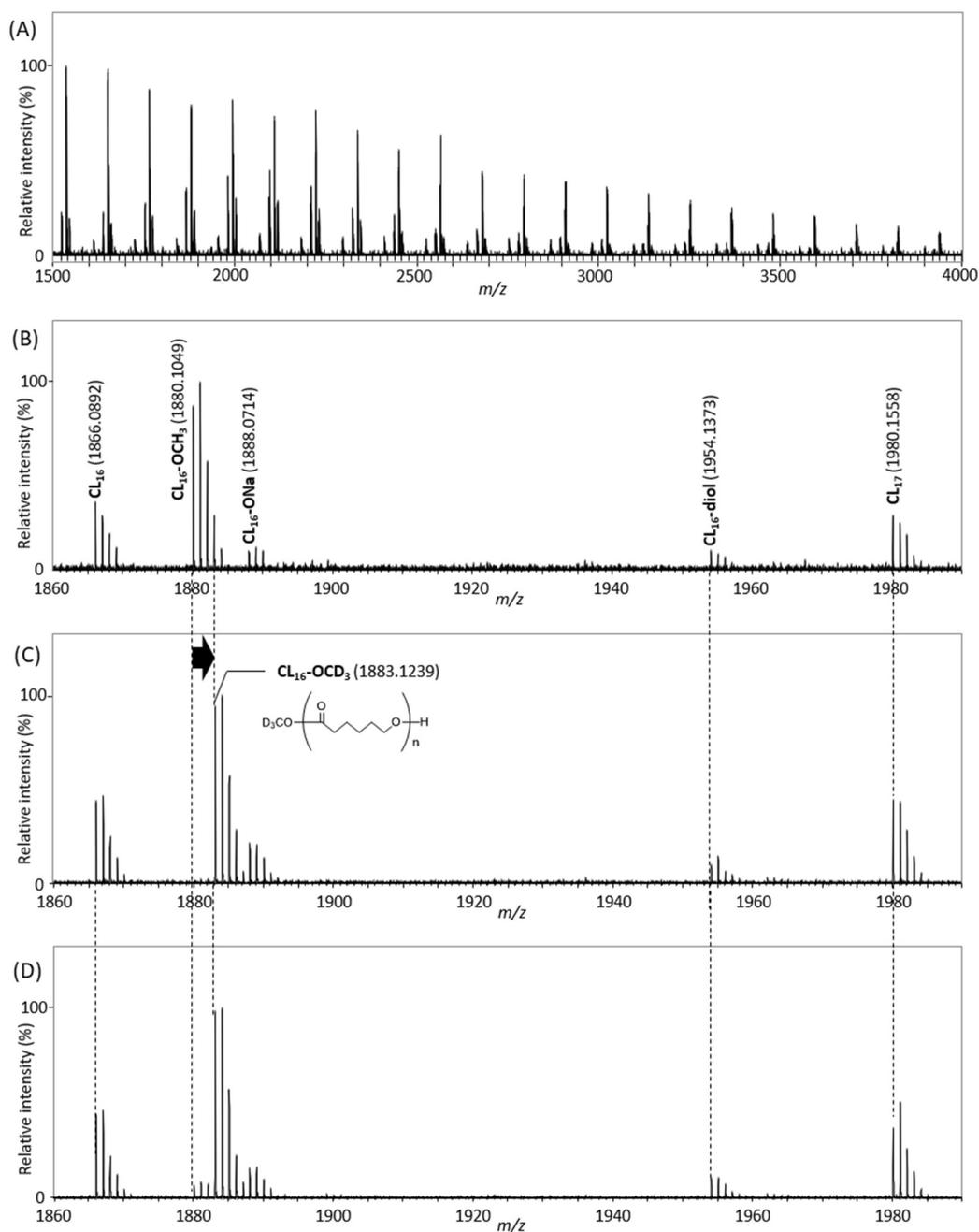


Fig. 5-2-3 Comparison of the mass spectra of the fractionated PCL after the on-plate degradation using isotope-labeled reagents. (A) Wide band mass spectrum of the fractionated PCL processed by NaOH in methanol followed by washing with water. (B)-(D) are the expanded mass spectra. The combinations of degradation reagent and washing solvent are (A) and (B) NaOH in methanol and distilled water, (C) NaOH in methanol- d_4 and distilled water, and (D) NaOD in methanol- d_4 and D_2O .

(2) 高分子量共重合ポリエステルの共重合組成解析への応用

開発したオンプレート分解法を、ポリエステル試料のキャラクタリゼーションに応用することを試み、まず初めに微生物が産生する高分子量ポリエステルの共重合組成解析を試みた。環境問題への関心が高まる中、バクテリアにより産生されるポリヒドロキシアルカン酸類 (PHAs) は再生可能な材料の有力な候補の一つである。PHAs のモノマーのタイプや共重合組成といった化学構造情報は、一般的にバイオリアクターに供給される炭素源の影響を受ける [17] ことから、PHAs の解析は、品質管理の点からも非常に重要である。しかしながら、バクテリア産生 PHAs は、分子量が 10 万 Da を超えることもある高分子量化合物であり、そのままのポリマー鎖を直接質量分析して、共重合組成を解析することが非常に困難である [8]。本節では、オンプレート分解法と MALDI-TOFMS 測定を組み合わせることで、高分子量 PHAs のキャラクタリゼーションを行った。

P(3HB-*co*-3HV)共重合ポリマーの解析を行う前に、まず P3HB ホモポリマーの解析を行い、オンプレート分解によりどのような末端基が形成されるかを確認した。NaOH メタノール溶液を用い、P3HB のオンプレート分解を行って得られたマススペクトルを Fig. 5-2-4 に示す。Scheme 1 に示した P3HB の繰り返し単位 ($C_4H_6O_2$) に相当する 86 Da 間隔のピーク系列が少なくとも 6 系列観測された。各ピークの帰属は、精密質量測定を基に、文献[9]を参照して行い、各成分の帰属結果を Fig. 5-2-4 に示した。主要な分解生成物は、 $CH_3CH=CHCO-/-OH$ をそれぞれ末端に持つ成分と推定され、両末端の合計が不飽和カルボン酸であるクロトン酸 ($CH_3CH=CHCO_2H$) に相当する。PCL のオンプレート分解では、クロトン酸のような不飽和末端構造は生成しなかったが、P3HB のアルカリ加水分解により不飽和末端成分が特異的に生成するという報告 [18] があることから、この帰属は正しいと思われる。

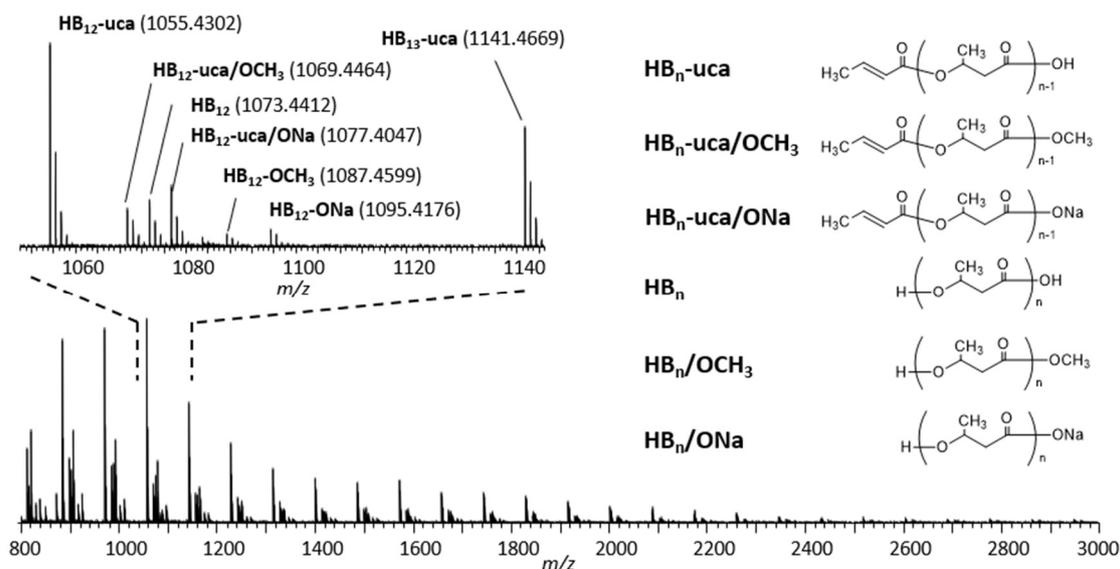


Fig. 5-2-4 Mass spectrum of a high molecular weight P3HB following its on-plate degradation using NaOH in methanol.

高分解能 MALDI-TOFMS 測定の前処理としてのオンプレート分解をさらに P(3HB-co-3HV) 共重合ポリマーの共重合組成解析へと適用した。この場合には、モノマー単位である 3HB と 3HV の質量差とカルボキシル基のメチルエステル化の有無により生じる質量差がともに CH_2 に相当し、14Da の質量差になるため同重体分子の問題が発生する。この問題を解決するため、重水素ラベルしたメタノール- d_4 を分解試薬の溶媒として用いることにより、前述したとおりメチルエステル化した場合には、+14 Da ではなく +17 Da (H 末端から CD_3 末端に変化するため +3 Da のピークシフトが起こる) の質量変化になるようにした。

P(3HB-co-3HV) に対し、NaOH メタノール- d_4 溶液を用いてオンプレート分解処理を行った後のマススペクトルおよび帰属結果を Fig. 5-2-5 に示す。Fig. 5-2-4 に示した P3HB の分解生成物から予測される 6 タイプの末端基の組み合わせを持つピーク系列が、P(3HB-co-3HV) についても Fig. 5-2-5 中央に示すマススペクトル上に観測された。しかしながら、モノマー組成の分布 (主鎖中の 3HB 単位と 3HV 単位数の違い) と前述した末端構造の違いの両方に起因する非常に多くのピークが観測されるようになった。Fig. 5-2-5 上部に拡大マススペクトルを示し、末端基の組み合わせのタイプと共重合組成といった帰属結果の一例を示した。注目すべきことに、メチルエステル末端をもつ成分 (type II) は、メタノール- d_4 を用いてオンプレート分解処理を行うことにより、type I から明確に分離することができた。

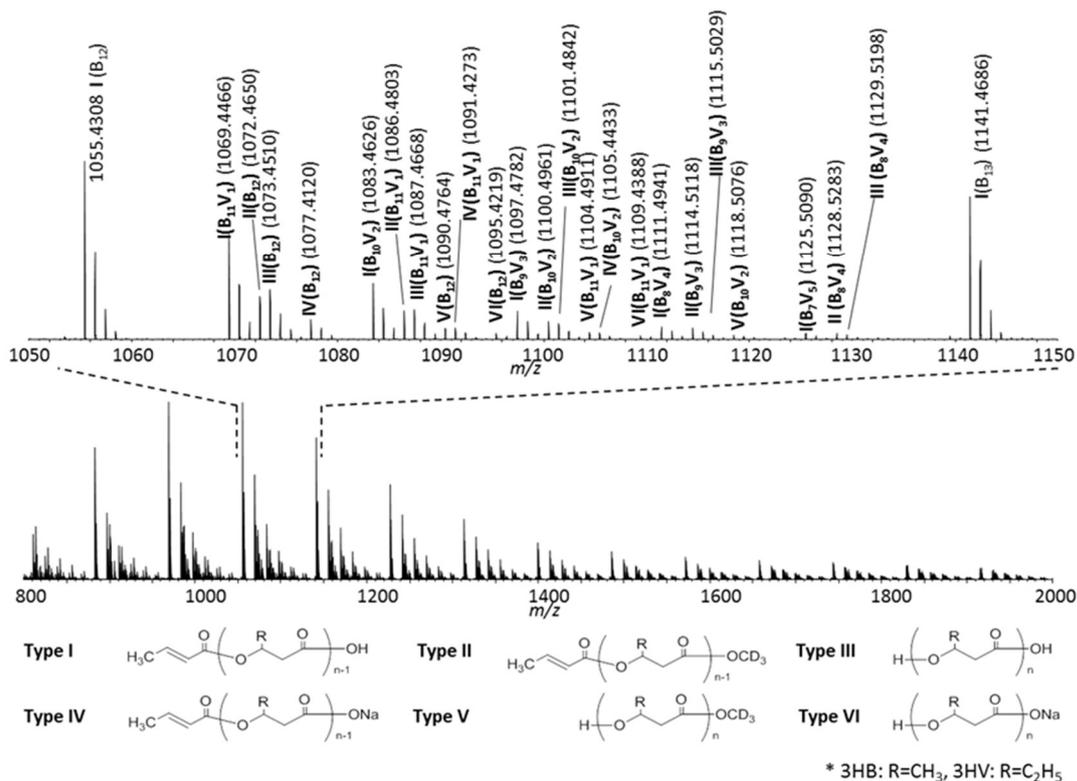


Fig. 5-2-5 Mass spectrum of P(3HB-*co*-3HV) processed by the on-plate degradation using NaOH in methanol-*d*₄. Peak assignments are indicated in the expanded mass spectrum, where the roman figure indicates the type of end-group combination shown below the spectrum and (B_{*n*}V_{*m*}) corresponds to the comonomer composition of *n* units of 3HB and *m* units of 3HV.

共重合ポリマーの共重合組成解析を行うためには、観測された非常に多くのピークのすべてを完全に帰属する必要があり、著しく長い時間を必要とする。適切なプログラムを用いて、自動でピークピックすることにより帰属にかかる労力は軽減されるが、観測されるマススペクトルの全質量範囲において完全な質量校正をおこなうことが必要となる。さらに、特に複雑なマススペクトルにおいては、ピークピックを行う際の質量の許容誤差が不適切であると、ピークピックを間違えることにつながる。そこで、誤ったピークピックを行うことなく、データ解析を迅速に行うために KMD 法を適用した。本節では、最終的に P(3HB-*co*-3HV)の重合度 (DP) プロットを作成し、その共重合組成分布を視覚化する。以下、得られたマススペクトルから DP プロットを作成するまでの過程を Fig. 5-2-6 を例示しながら順に説明する。

まず始めに、高性能化した KMD 法の一つである RE-KMD プロット (4.1 節参照) を用いて、同じ末端基を持つ共重合ポリマーのグループ (3HB 単位と 3HV 単位の数が異なる) を全体のマススペクトルから抽出した。ここでは、KMD プロットに変換する

際に基準となるベースユニット (R) を、HB 単位 ($C_4H_6O_2$, 86.0623) とした。また、通常の KMD プロットでは x 軸を NKM 値、 y 軸を KMD 値とするが、本節では、ディバイザー x の値によっては、NKM 値がイオンの観測質量の整数値と大きく異なることがあるため、 x 軸には観測されたイオンの質量(m/z)を用いてプロットを作成した。

P(3HB-co-3HV)に、オンプレート分解を行った後、得られた分解生成物のマススペクトルをデアイソトープ処理した。デアイソトープしたマススペクトルを用いて、3 HB をベースユニットに設定し、ディバイザー x を変化させながら作成した RE-KMD プロットを Fig. 5-2-6 に示す。まず、式 5-2-1 において、 $R = 86.0368$ および $x = 1$ として作成した通常の KMD プロットを Fig. 5-2-6A に示す。このプロットでは、3 HB 単位の組成は x 軸方向に分布している。一方で、 y 軸方向の広がり、3HV 単位の組成分布および異なる末端基の組み合わせの違いを分離するには十分とはいえない。4.1 節で述べたとおり、推奨される x の範囲は 57 (round($2R/3$))から 143 (round($5R/3$))の間にあり、その中で末端基の違いを強調する設定を探したところ、 $x = 96$ が最適であった。この時の RE-KMD プロットを Fig. 5-2-6B に示す。この場合には、共重合ポリマーは主に末端基の違い (type I~type VI) より分離される。全体のマススペクトルから、青色で示した主成分である type I のクラスターを、msRepeatFinder などの“グルーピング機能”を用いて選択・抽出した。

次に抽出したピークリストを異なるディバイザーで再解析することにより、共重合組成の違いによる分離を向上させた。type I の成分についてこの条件で最適なディバイザーは $x = 62$ となり、抽出された type I 成分について得られた RE-KMD プロットを Fig. 5-2-6C に示す。このプロットでは、同じ末端基を持つ type I の成分は、 y 軸方向に HV 単位の数により明確に分離され、水平に並ぶ各系列が HV 単位 1 単位分の違いに相当し、各系列のプロットは x 軸方向に HB 単位の違いにより分布している。

最後に、 x 軸および y 軸がそれぞれ観測イオンの質量数と KMD 値からなる RE-KMD プロットから、各モノマー単位である 3HB と 3HV の重合度になる DP プロットへと変換した。すでに 4.1 節で述べたように、DP プロットへの変換は、referenced-KMD[19]の概念をアレンジして行った。A 単位および B 単位からなる共重合ポリマーの B 単位の重合度 ($DP(B)$)は、A 単位をベースユニットに設定した場合、式 5-2-1 で計算される。

$$DP(B) = \frac{KMD_{A/x}(M_{ion}) - referenceKMD_{A/x}(M_{res} + M_{cat})}{KMD_{A/x}(M_B)} \quad (式 5-2-1)$$

ここで、 $KMD_{A/x}$ は、 $R = A$ 、ディバイザーを x に設定したときの観測イオンの KMD 値、 M_B は、繰り返し単位 B の質量である。さらに、reference KMD は観測イオン全体から繰り返し単位部分を除外した部分になり、残基構造の質量(M_{res})と付加カチオンの質量(M_{cat})の合計に相当する。この検討で用いた type I の残基質量の合計は 3HB の繰り返

し単位と同じとなり、形式的に残基質量が 0 になるため、付加カチオンである Na の質量 (22.989 Da) だけが含まれる。このため、A を 3HB、B を 3HV とし、ディバイザーを $x=62$ とした場合、式 5-2-1 は以下の式に変換できる (これは、Fig. 5-2-6C の RE-KMD プロットの条件と同じである)。

$$\begin{aligned} DP(3HV) &= \frac{KMD_{3HB/62}(M_{ion}) - referenceKMD_{3HB/62}(22.9897)}{KMD_{3HB/62}(3HV)} \\ &= \frac{KMD_{3HB/62} - 0.4333}{-0.0999} \end{aligned} \quad (\text{式 5-2-2})$$

次にベースユニット (R) を 3HV (100.0524) に変更し、同様に $DP(3HB)$ を求める。3HV では適切なディバイザーの範囲は、67 から 200 の間になり、その中で 3HB 単位数の違いをよく分離するディバイザーは $x=114$ であった。type I に含まれる各イオンは、式 5-2-3 に従い、3HB の重合度 $DP(3HB)$ へと変換される。

$$\begin{aligned} DP(3HB) &= \frac{KMD_{3HV/114}(M_{ion}) - referenceKMD_{3H/114}(22.9897)}{KMD_{3HV/114}(3HB)} \\ &= \frac{KMD_{3HV/114} - 0.1947}{0.0304} \end{aligned} \quad (\text{式 5-2-3})$$

type I について このようにして得られた $DP(3HB)$ および $DP(3HV)$ をそれぞれ x 軸および y 軸の値とし、さらにそれぞれ各イオンのピーク強度をドットの大ききで表現した DP プロットを作成した (Fig. 5-2-6D)。このプロットは、P(3HB-co-3HV) の分解生成物の共重合組成分布を図示している。このプロットから、 $DP(3HV) = 0$ に相当する P(3HB) のホモポリマーが、最も強く観測される分解生成物であることがわかる。一方、P(3HV) のホモオリゴマーは観測されず、もっとも小さな 3HV 単位数の数は 5 であった。このことから、分解前の高分子量共重合ポリマーは、3HB 組成が大きいランダム共重合ポリマーであると推定された。このためにオンプレート分解処理により、P(3HB) のホモポリマーとなるブロック構造部分が切り出されると考えられる。DP プロットに基づいて、3 つの試料スポットにおける測定の結果から、3HV の平均組成を計算すると $8.9 \pm 0.2 \text{ mol\%}$ となり、供給元から提供されている値である 12 mol% とまずまずの一致をした。このように、高分子量の共重合ポリエステルの共重合組成解析では、オンプレート分解処理を前処理で行った後に高分解 MALDI-TOFMS 測定を行い、続けて高性能化した KMD 法を適切に組み合わせることが有効である。

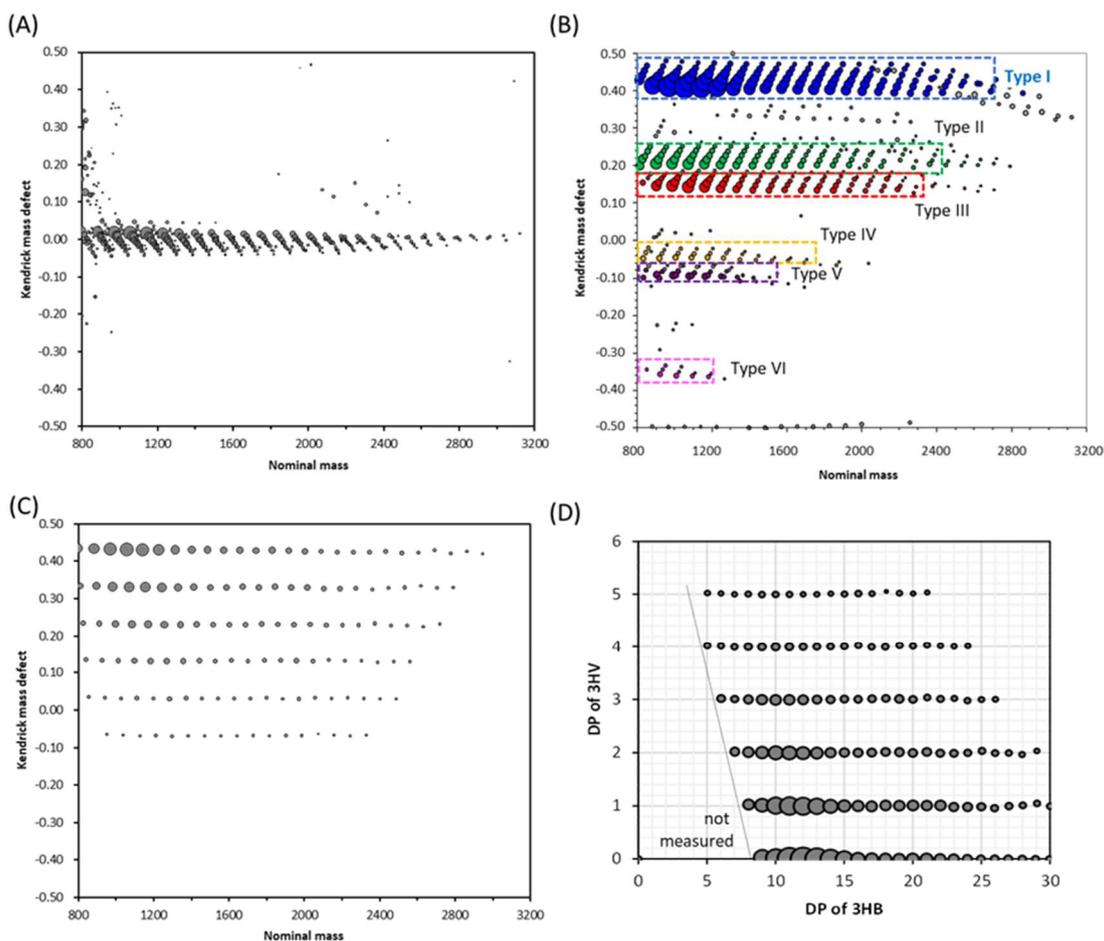


Fig. 5-2-6 KMD plots and DP plot of P(3HB-*co*-3HV) processed by the on-plate degradation using NaOH in methanol-*d*₄. (A) Regular KMD plot (repeat unit: C₄H₆O₂, 86.03623), (B) resolution-enhanced KMD plot (repeat unit: C₄H₆O₂, 86.03623, $x = 92$), (C) resolution-enhanced KMD plot for the type I cloud extracted from (B) ($x = 62$), and (D) DP plot for the type I ($x = 62$ for 3HB, $x = 114$ for 3HV).

(3) PET フィルムと PET ボトル試料のキャラクタリゼーションへの適用

前処理として、熱天秤を用いた部分熱分解では数 mg の試料が必要となる[5-7]のに対して、本法は μg オーダーの試料量でオンプレート分解が可能であるため工業用材料の局所分析の前処理として有利である。次の応用事例として、PET フィルムや PET ボトルをモデル試料として使い、試料スポット上のおよそ $1\ \mu\text{g}$ の PET に対し、NaOH メタノール溶液 $1\ \mu\text{L}$ を分解用試薬として用いた。

PET 試料のオンプレート分解前後の拡大マススペクトルを Fig. 5-2-7 に示し、観測された各系列の帰属結果および構造式を Table 5-2-1 にまとめた。Fig. 5-2-7A に示すオンプレート分解前の PET フィルムのマススペクトルでは、 m/z 1175.2431 には 6 量体、

m/z 1367.2841 には 7 量体の環状オリゴマー (cyc と表記する) が主に観測され、同時に末端基の組み合わせがカルボン酸/水酸基 (T/E)、そのナトリウム塩 (TNa/E) あるいは両末端ナトリウム塩 (TNa/TNa) および両末端水酸基(E/E)のオリゴマー成分が低強度ながら観測された。PET フィルムおよび PET ボトル試料のオンプレート分解後のマススペクトルは、それぞれ Fig. 5-2-7B および Fig. 5-2-7C に示したが、2つのマススペクトルはかなり類似したパターンを示した。両方のマススペクトルで多くのピークが観測されたことから、アルカリ分解が効率よく起こっていると考えられる。観測されたピーク系列が、カルボン酸末端 T、カルボン酸末端のナトリウム塩 TNa (カルボン酸末端から+22 Da のピークシフトに相当する)、水酸基末端 E およびメチルエステル末端 TMe をもつ成分になることは、もともとの PET の化学構造やよく知られている分解機構から容易に類推できた。しかし、 m/z 1251.29、1259.26、1281.30 に観測されたような予測できないピークも同時にいくつか観測された。これらのピークの帰属を RKM プロットを用いて行った。

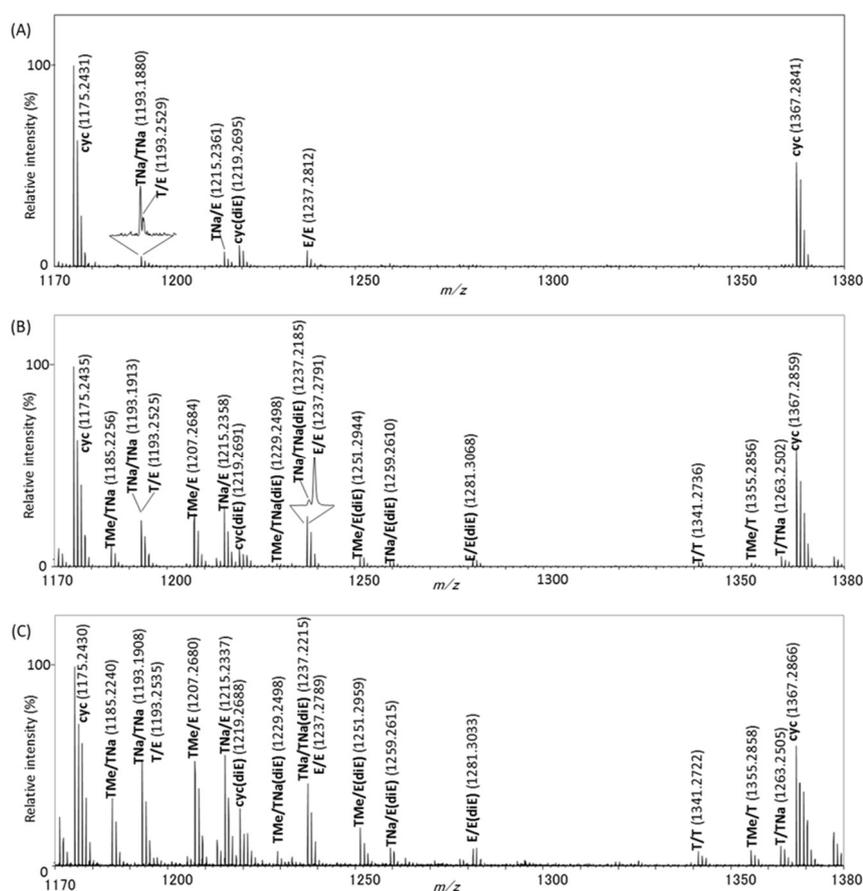


Fig. 5-2-7 Comparison of expanded mass spectra for (A) pristine PET film, (B) PET film and (C) PET bottle samples processed by the on-plate degradation. The peak labels and their structures are listed in Table 5-2-1.

Table 5-2-1 Chemical structures of the degradation products of the PET samples observed in Fig. 5-2-7 and their parameters relating to the RKM analysis.

symbol	Structure	Composition of residue + Na ⁺	accurate mass	RKM	KMD
cyc		Na	22.9898	23	0.015
cyc(diE)	cyc + C ₂ H ₄ O	C ₂ H ₄ ONa	67.0159	67	-0.001
T/E		H ₂ ONa	41.0003	41	0.009
T/E(diE)	= E/E				
TNa/E		HONa ₂	62.9823	63	0.031
TNa/E(diE)	TNa/E + C ₂ H ₄ O	C ₂ H ₅ O ₂ Na ₂	107.0084	107	0.015
E/E		C ₂ H ₆ O ₂ Na	85.0264	85	-0.008
E/E(diE)	E/E + C ₂ H ₄ O	C ₄ H ₁₀ O ₃ Na	129.0525	129	-0.024
TMe/E		CH ₄ ONa	55.0159	55	-0.004
TMe/E(diE)	TMe/E + C ₂ H ₄ O	C ₃ H ₈ O ₂ Na	99.042	99	-0.020
T/T		C ₈ H ₆ O ₄ Na	189.0162	189	0.025
T/T(diE)	= T/E				
T/TNa		C ₈ H ₅ O ₄ Na ₂	210.9982	19	0.048
T/TNa(diE)	= TNa/E				
TMe/T		C ₉ H ₈ O ₄ Na	203.0318	11	0.013
TMe/T(diE)	= TMe/E				
TMe/TNa		C ₉ H ₇ O ₄ Na ₂	225.0138	33	0.035
TMe/TNa(diE)	TMe/TNa + C ₂ H ₄ O	C ₁₁ H ₁₁ O ₅ Na ₂	269.0399	77	0.019
TNa/TNa		C ₈ H ₄ O ₄ Na ₃	232.9802	41	0.071
TNa/TNa(diE)	TNa/TNa + C ₂ H ₄ O	C ₁₀ H ₈ O ₅ Na ₃	277.0063	85	0.054

オンプレート分解後の PET フィルムのデアイソトープしたマススペクトルから KMD プロットと RKM プロットを作成し、Fig. 5-2-8 に示した。ベースユニットをエチレンテレフタレート ($C_{10}H_8O_4$, $R = 192.0423$) に設定して作成した通常の KMD プロットを Fig. 5-2-8A に、3.1 節で述べた RKM プロットを Fig. 5-2-8B に示す。各成分は異なる色のドットで表した。RKM プロットでは、x 軸を NKM から remainder of KM (RKM) へと変換した (3.1.3(3) 節参照)。残基構造と付加カチオンが同じで重合度だけが異なる場合、Fig. 5-2-8A に示した KMD プロットでは水平に並ぶが、Fig. 5-2-8B に示した RKM プロットでは、同じ値になるため 1 点に集まり、x 軸方向に残基構造および付加カチオンの違いによって分離される。例えば、T/E (カルボン酸末端/水酸基末端、茶色ドット) の系列では、KMD 値が 0.009 の位置に x 軸に平行に並ぶのに対し、RKM プロット上では、 $(RKM, KMD) = (41, 0.009)$ の座標で表される 1 点で表される。同様にして、 $(85, -0.008)$ は E/E (両末端水酸基、黄土色) 系列に相当し、T/E の系列からエチレンオキシド単位 (C_2H_4O , 44 Da) 1 単位が残基構造に加わった場合に相当する。Fig. 5-2-8B に示した RKM プロット上で、T/E から E/E のドットを結んだ直線をさらに伸ばすと、まだ帰属されていない $(129, -0.024)$ で表される薄桃色のドットにつながる。T/E と E/E の違いが E/E と帰属されていないドットの違いに相当することから、未帰属の系列では、E/E の主鎖構造中にさらにもう 1 単位のエチレンオキシド単位が含まれることが予測される。このように、RKM プロット上での各ドットの分布から各系列間の残基構造の違いを推測することができ、構造決定の手掛かりになる。この手法を用いることにより、TMe/TNa(diE) (薄水色)、TMe/E(diE) (レモン色)、および TNa/E(diE) (クリーム色) といったジエチレンオキシド単位を含む系列を帰属することができた。工業用 PET において、合成時の副生成物として、主鎖中にジエチレンオキシド単位をもつ成分が含まれることはよく知られており [20]、この帰属結果は合理的である。興味深いことに、TNa/TNa (緑色) からエチレンオキシド単位が 1 単位加わった TNa/TNa(diE) に相当するドット (黄緑色) も RKM プロット上で検出され、マススペクトル上では m/z 1237.2185 にピークが観測されていた。両末端がカルボンナトリウム末端になっている成分に対してもさらにジエチレンオキシド単位を含む成分が検出されていることから、この加わったエチレンオキシド単位は、ポリマー鎖の末端部分に含まれるのではなく、主鎖構造中に含まれることが推測される。この帰属結果から、RKM プロット上で $(67, -0.001)$ のドット (水色) に相当し、Fig. 5-2-7 に示した 3 つのマススペクトルに共通して観測された m/z 1219.27 のピークは、ジエチレンオキシド単位を 1 単位含む環状体であり、その異性体で β 脱離により生成するカルボキシル基とオレフィンをもつ成分ではないことが支持される。この帰属結果は、 β 脱離が起こっていると仮定すると生成することが予想されるナトリウム塩とメチルエステルが両末端になる成分が検出されていないことから支持される。

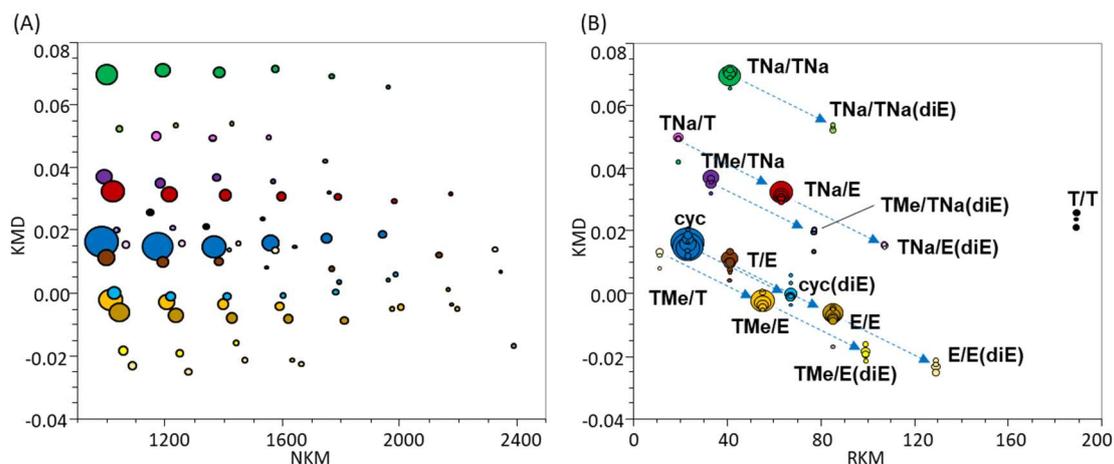


Fig. 5-2-8 KMD plot (A) and RKM plot (B) of the degraded PET film sample. Colored dots represent observed components.

5.2.4 まとめ

MALDI-TOFMS を用いた高分解能質量分析が可能であるのは、分析対象がおおむね m/z 3000 以下の場合であり、高分子量ポリマーは適用範囲外であった。しかし、MALDI 測定用プレート上で簡便に行えるオンプレート分解処理を前処理として適用することにより、高分子量ポリマーを精密質量解析が可能なオリゴマー領域にまで低分子量化することができ、高分子量ポリエステルの特徴が可能な領域にまで低分子量化することができ、高分子量ポリエステルのキャラクター化が可能になった。さらに、オンプレート分解前処理法、高分解 MALDI-TOFMS 測定、さらに KMD 法によるデータ解析を組み合わせ、高分子量共重合ポリマーへと適用することにより、共重合組成解析が簡便に行えるようになった。また、本法は工業用ポリマー材料へも適用が可能であり、RKM 法を用いて系列間の関係を知ることで、未知成分の推定・帰属が可能になり、実用的な分析手法としても有効であると考えられる。

5.2 節 参考文献

- [1] H. Kawasaki, Y. Takeda, R. Arakawa, *Anal. Chem.*, **79** (2007) 4182–4187, Mass spectrometric analysis for high molecular weight synthetic polymers using ultrasonic degradation and the mechanism of degradation. doi: 10.1021/ac062304v
- [2] T. Watanabe, M. Okabayashi, D. Kurokawa, Y. Nishimoto, T. Ozawa, H. Kawasaki, R. Arakawa, *J. Mass Spectrom.*, **45** (2010) 799–805, Determination of primary bond scissions by mass spectrometric analysis of ultrasonic degradation products of poly(ethylene oxide-*block*-propylene oxide) copolymers. doi: 10.1002/jms.1771
- [3] 荒川隆一, 川崎英也, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **60** (2011) 199–214, 超音波分解を利用した合成高分子の質量分析. doi: 10.2116/bunsekikagaku.60.199
- [4] R. Rial-Otero, M. Galesio, J. L. Capelo, J. Simal-Gandara, *Chromatographia*, **70** (2009) 339–348, A review of synthetic polymer characterization by pyrolysis-GC-MS. doi: 10.1365/s10337-009-1254-1
- [5] A. Ballistreri, G. Montaudo, D. Garozzo, M. Giuffrida, M. S. Montaudo, *Macromolecules*, **24** (1991) 1231–1236, Microstructure of bacterial poly(β -hydroxybutyrate-*co*- β -hydroxyvalerate) by fast atom bombardment mass spectrometry analysis of the partial pyrolysis products. doi: 10.1021/ma00006a002
- [6] T. Barbuzzi, M. Giuffrida, G. Impallomeni, S. Carnazza, A. Ferreri, S. P. P. Guglielmino, A. Ballistreri, *Biomacromolecules*, **5** (2004) 2469–2478, Microbial synthesis of poly(3-hydroxyalkanoates) by *Pseudomonas aeruginosa* from fatty acids: Identification of higher monomer units and structural characterization. doi: 10.1021/bm049583l
- [7] G. Impallomeni, A. Ballistreri, G. M. Carnemolla, D. Franco, S. P. P. Guglielmino, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **29** (2015) 811–820, Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight vs. fast-atom bombardment and electrospray ionization mass spectrometry in the structural characterization of bacterial poly(3-hydroxyalkanoates). doi: 10.1002/rcm.7168
- [8] R. Abate, A. Ballistreri, G. Montaudo, D. Garozzo, G. Impallomeni, G. Critchley, K. Tanaka, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7** (1993) 1033–1036, Quantitative applications of matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry: Determination of copolymer composition in bacterial copolyesters. doi: 10.1002/rcm.1290071113
- [9] K. A. Saeed, F. O. Ayorinde, B. E. Eribo, M. Gordon, L. Collier, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13** (1999) 1951–1957, Characterization of partially transesterified

- poly(β -hydroxyalkanoate)s using matrix - assisted laser desorption/ionization time - of - flight mass spectrometry. doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(19991015)13:19<1951::AID-RCM737>3.0.CO;2-R
- [10] S. H. Zeronian, M. J. Collins, *Textile Prog.*, **20** (1989) 1-39, Surface modification of polyester by alkaline treatment. doi: 10.1080/00405168908688948
- [11] S. P. Sun, M. Wei, J. R. Olson, M. T. Shaw, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **1** (2009)1572–1578, Alkali etching of a poly(lactide) fiber. doi: 10.1021/am900227f
- [12] J. M. Gao, L. Niklason, R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42** (1998) 417–424, Surface hydrolysis of poly(glycolic acid) meshes increases the seeding density of vascular smooth muscle cells. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(19981205)42:3<417::aid-jbm11>3.0.co;2-d.
- [13] Y. S. Nam, J. J. Yoon, J. G. Lee, T. G. Park, *J. Biomater. Sci.-Polym. Ed.*, **10** (1999) 1145–1158, Adhesion behaviors of hepatocytes cultured onto biodegradable polymer surface modified by alkali hydrolysis process. doi: 10.1163/156856299X00801
- [14] J. Yang, Y. Q. Wan, C. F. Tu, Q. Cai, J. Z. Bei, S. G. Wang, *Polym. Int.*, **52** (2003) 1892–1899, Enhancing the cell affinity of macroporous poly(*L*-lactide) cell scaffold by a convenient surface modification method. doi: 10.1002/pi.1272
- [15] 佐藤浩昭, 田尾博明, 大谷肇, 青井啓悟, 高分子論文集 (*Kobunshi Ronbunshu*), **60** (2003) 305-311, サイズ排除クロマトグラフィー/マトリックス支援レーザー脱離イオン化-質量分析法によるポリ (ϵ -カプロラクトン) のキャラクタリゼーション. doi: 10.1295/koron.60.305
- [16] O. Vorm, M. Mann, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **5** (1994) 955–958, Improved mass accuracy in matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides. doi: 10.1021/jasms.8b00499
- [17] Y. Doi, M. Kunioka, A. Tamaki, Y. Nakamura, K. Soga, *Macromol. Chem. Phys.*, **189** (1988) 1077–1086, Nuclear magnetic resonance studies on bacterial copolyesters of 3-hydroxybutyric acid and 3-hydroxyvaleric acid. doi: 10.1002/macp.1988.021890512
- [18] J. Yu, D. Plackett, L. X. L. Chen, *Polym. Degrad. Stab.*, **89** (2005) 289–299, Kinetics and mechanism of the monomeric products from abiotic hydrolysis of poly [(*R*)-3-hydroxybutyrate] under acidic and alkaline conditions. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.026
- [19] L. A. Lerno, J. B. German, C. B. Lebrilla, *Anal. Chem.*, **82** (2010) 4236–4245, Method for the identification of lipid classes based on referenced Kendrick mass

analysis. doi: 10.1021/ac100556g

- [20] J. R. Kirby, A. J. Baldwin, R. H. Heidner, *Anal. Chem.*, **37** (1965) 1306–1309, Determination of diethylene glycol in polyethylene terephthalate. doi: 10.1021/ac60230a005

5.3 オンプレート分解法の高分子量ポリカーボネートへの適用

5.3.1 緒言

ポリカーボネート (PC) は、透明性や耐衝撃性などに優れ、様々な工業製品に利用されているエンジニアリングプラスチックである。多くの PC は、ビスフェノール A (BPA) 型であり、その末端構造の制御や他の繰り返し単位との共重合化などにより諸物性の向上が図られている。しかも、このような性能向上は、異なる末端基の導入や共重合組成の変化などにより成し遂げられていることがあり、PC の化学構造解析は品質管理の観点からも非常に重要である。PC の化学構造解析には、熱分解ガスクロマトグラフィー (Py-GC) が有効な方法として用いられてきた[1]。特に有機アルカリ試薬を共存させて熱分解を行うことにより、カーボネート結合の選択的な切断と誘導體化を行う反応 Py-GC[2,3]は、PC の末端基の定量[4,5]、共重合型 PC の末端基および共重合組成の同時定量[6]、分岐 PC の分岐単位の定量[5]、熱劣化により生じた分岐あるいは架橋構造の解析[7]などに応用されている。しかし、Py-GC は、ポリマー試料の平均的な組成情報しか得ることができず、ブレンドと共重合体の識別や共重合体のタイプ (ランダム/ブロック) を識別することは容易ではない。

MALDI-TOFMS を用いた PC の分子量分布や化学構造解析はこれまでも行われてきた[8]。さらに、PC を熱酸化劣化させて生じる異常化学構造の解析にも応用されている[9,10]。しかしながら、MALDI-TOFMS を用いて、精密質量解析が行えるのはおよそ m/z 3000 以下の場合に限られる。そのためこれまでに行われてきた研究の多くが、試料に含まれるオリゴマー成分の解析にとどまっており、そこで得られた構造情報が高分子量ポリマーの分子構造を反映しているとは限らない。この問題を解決するために 5.2 節において、高分子量ポリエステルを MALDI 測定用プレート上でアルカリ試薬と反応させ、構造情報が得られるオリゴマー成分へと低分子量化する「オンプレート分解法」を提案した。カーボネート結合も、エステル結合と同様にアルカリ試薬により切断が起りやすいことから、高分子量 PC に対してもオンプレート分解法が適用できると期待でき、オンプレート分解法を前処理として用いれば、高分子量 PC の構造解析が可能になる。

そこで、本研究では、はじめに化学構造が単純な BPA 型 PC の高分子量フラクションを用いてオンプレート分解を行った後、高分解能 MALDI-TOFMS を用いてオリゴマー生成物の末端基を解析し、分解生成物の化学構造を検証した。次に、本法を用いて、末端基の一部を変性させた PC の末端基および臭素化 PC 共重合体の化学構造解析を試みた。

5.3.2 実験

(1) 試料および試薬

Table 5-3-1 に、本研究で用いた 3 種類の PC 試料のモデル化学構造ならびに分子量情報を示す。研究用グレートの BPA 型 PC 試料は、Scientific Polymer Products (カタログ No. 035) から購入した。この試料の末端基が 4-クミルフェニル基であることは、名古屋工業大学の 大谷教授のご協力により、反応 Py-GC/MS 測定により確認した。末端変性 PC および臭素化 PC の各試料は、工業用に製造されたものであり、大谷教授より提供されたものを用いた。末端変性 PC は、BPA を繰り返し単位とし、末端基は *t*-ブチルフェニル基が主成分であるが、一部を 4-クミルフェニル基に (CP) に変性させることにより耐衝撃性を向上させたものである。この試料は、大谷らの報告[5]の A-1 試料と同じものであり、¹³C-NMR 測定により TBP : CP = 96.2 : 3.8 (mol%) であることが確かめられている。臭素化 PC は、BPA とテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) を共重合化することにより難燃性を付与したものである。この臭素化 PC の末端は、トリブロモフェニル基であり、BPA と TBBPA の構成比が、およそ 99 : 5 であることが ¹H-NMR により確かめられている。

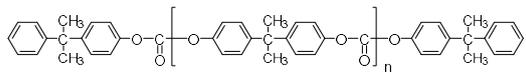
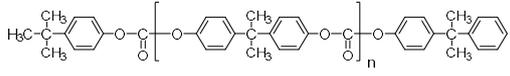
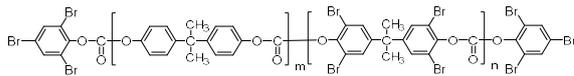
試料やマトリックス剤を溶解する溶媒としてテトラヒドロフラン (THF) とクロロホルムを用いた。サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) の移動相としてクロロホルムを用いた。オンプレート分解操作では、分解用試薬として水酸化ナトリウム (NaOH) を使用し、約 10 mg/mL になるようにメタノールに溶解した。使用した試薬はいずれも特級以上のグレードであり、富士フィルム和光純薬より購入した。MALDI-TOFMS 測定に用いるマトリックス剤には 2',4',6'-トリヒドロキシアセトフェノン (THAP、ウルトラピュアグレード、Protea Biosciences 製) を用いた。アルカリ試薬を用いたオンプレート分解処理を行うため、MALDI-TOFMS 測定用プレートには、ディスポーザブル MALDI ターゲット (non-focus、non-hydrophobic grade、Hadson Surface Technology 製) を用いた。

(2) SEC 分取

もともとオリゴマー成分として試料に含まれている成分と、アルカリ試薬を用いたオンプレート分解により生じる分解生成物を識別するために、あらかじめ SEC によりオリゴマー成分を除去した高分子量試料を用いた。SEC 分取は、示差屈折率 (RI) 検出器を搭載した HLC8220 system を用い、分離用カラムとしてガードカラム (multipore Hx1) と 2 本の TSKgel multipore HXL-M カラム (7.8 mm × 300 mm) を直列につないだものを用いた (いずれも東ソー製)。試料は約 2 mg/mL になるようにクロロホルムに溶解し、200 μL をカラムに導入した。移動相はクロロホルムを用い、流速は 1 mL/min とし、30 秒ごとに溶出液 (0.5 mL) を RI 検出器の直後で収集した。3 種の PC 試料から、いずれも溶出時間 16 分 30 秒から 17 分のフラクションを分取し、本研究で使用した。

分取後の試料を MALDI-TOFMS のリニアモードで測定して求めた平均分子量ならびに多分散度を Table 5-3-1 に示した。そしてクロロホルムを揮散させた後、20 μL の THF で再溶解したものをオンプレート分解用試料とした。

Table 5-3-1 Structures and molecular weights of the PC samples.

Model structure	Molecular weight	
	Pristine ^{a)}	Fractionated ^{b)}
BPA-PC	M_n : 19100	M_n : 16100
	M_w : 48000	M_w : 16400
	M_w/M_n : 2.51	M_w/M_n : 1.01
Terminal-modified PC	M_n : 14300	M_n : 15900
	M_w : 30300	M_w : 16300
	M_w/M_n : 2.12	M_w/M_n : 1.03
Brominated PC	M_n : 17300	M_n : 17200
	M_w : 41400	M_w : 17400
	M_w/M_n : 2.40	M_w/M_n : 1.01

a) Determined by SEC using polystyrene standards. b) Determined by MALDI-TOF-MS in linear mode.

(3) オンプレート分解処理および MALDI-TOFMS 測定用スポットの作成

オンプレート分解の基本的な操作は、5.2 節で述べた通りである。試料溶液 1 μL を測定用プレートに滴下・乾燥し試料薄膜を形成した。試料薄膜の上から NaOH メタノール溶液を 1 μL 滴下し、溶媒が揮発するまでの数分間で分解を行った。蒸留水 5 μL を滴下した後、ピペットですぐに回収する操作を 3 回繰り返すことで過剰なナトリウム試薬を除去した。試料スポットを乾燥させたのち、さらにマトリックス剤である THAP の THF 溶液 (約 20 mg/mL) を 1 μL 滴下・乾燥させ、MALDI-TOFMS 測定用の試料スポットを作成した。

なお、試料のオンプレート分解を行わない場合は、PC 試料を約 1 mg/mL になるようにクロロホルムに溶解し、その約 1 μL を測定用プレートに滴下・乾燥してから上記と同様の操作で THAP との混合結晶を作成した。

(4) MALDI-TOFMS 測定

MALDI-TOFMS 測定は、JMS-S3000 (日本電子製) を用いて、リニアモードおよび高分解能のスパイラルモードで行った。ポリマー試料の測定は、臭素系難燃剤を対象とした 4.2.2 節で述べた条件に従って行った。マススペクトルの解析および KMD 解析も 4.2.2 節で述べた方法で行った。

5.3.3 結果と考察

(1) PC のオンプレート分解による生成物の検証

はじめに化学構造および分子量分布が明らかな BPA 型 PC の SEC 分取フラクションを用いて、アルカリ試薬を用いたオンプレート分解により生成する分解生成物の化学構造を検証した。この分取フラクションを、NaOH メタノール溶液を用いてオンプレート分解を行って得られたマススペクトルならびにピークの帰属結果を Fig. 5-3-1 に示す。BPA 型 PC の繰り返し単位 (BPA カーボネート) に相当する 254 Da 間隔の 5 系列のピーク系列が観測された。あらかじめ SEC 分取によりオリゴマー成分を除去した試料を用いたため、ここで観測された 5 系列はすべてオンプレート分解による生成物である。

各系列のピークの質量をもとに帰属を検討したところ、PC のオンプレート分解において主鎖の切断により生成したのは、水酸基 (OH) とメチルカーボネート基 (Me) を両端に持つ成分 (OH- A_n -Me、 A_n は BPA カーボネート単位の n 量体を示す)、両末端にメチルカーボネート基を持つ成分 (Me- A_n -Me)、ならびに両末端に水酸基を持つ成分 (OH- A_n -OH) の 3 通りであった。すなわち、主鎖の切断により生成する末端は、BPA 単位の水酸基 (OH) とメチルカーボネート基 (Me) の 2 種類のみであることが確認された。**5.2** 節で述べたポリエステル系のオンプレート分解では、水酸基末端、カルボキシル基末端、メチルエステル末端、ならびにナトリウム塩末端の 4 種類の末端が生成し、その結果として 10 種類の両末端の組み合わせが生じうるためマススペクトルが複雑になるが、PC の場合はそれよりはかなり単純である。

この試料は、末端基が 4-クミルフェニル基 (CP) であることが分かっている。そのため、元の CP 末端が残り、もう一方の末端がカーボネート結合の切断により生成する末端をもつ分解物が生成することが予想される。実際に、両末端が OH/CP の組み合わせである OH- A_n -CP および CP/Me の組み合わせをもつ CP- A_n -Me が観測された。なお、ここで観測される化合物は必ず主鎖の切断を受けているため、両末端に CP をもつ CP- A_n -CP は観測されない。このようにオンプレート分解法により、高分子量 PC を低分子量化し、元の PC 鎖の末端基の構造解析が可能であることが示された。

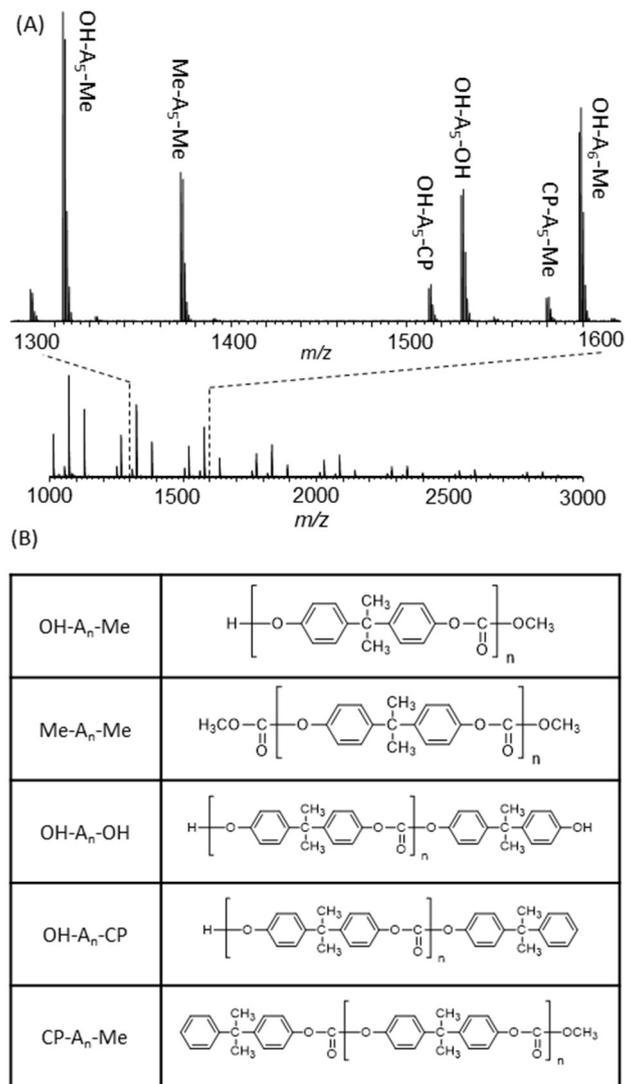


Fig. 5-3-1 Mass spectra of the fractionated PC after the on-plate degradation (A) and molecular structures of the assigned peaks (B).

(2) 末端変性 PC の末端構造解析

一般的な PC には、分子量調整のために末端を *t*-ブチルフェニル基 (TBP) で停止したものが用いられている。この PC の耐衝撃性を高めるために末端基の一部を 4-クミルフェニル基 (CP) に置き換えられた末端変性 PC が開発されており、大谷ら[5]は反応 Py-GC を用いてこの試料に含まれるクミルフェニル基を定量する方法を報告した。しかし、この手法ではカーボネート結合が完全に分解されるため、検出されたクミルフェニルアニソールが PC の末端基由来であることを実証できず、*t*-ブチルフェニル基で停止された PC と 4-クミルフェニル基をもつ何らかの化合物がブレンドされた混合物

である可能性を否定できない。そこで、オンプレート分解法と MALDI-TOFMS 測定を組み合わせることにより、末端変性 PC に 4-クミルフェニル末端が結合していることを実証することを試みた。

Fig. 5-3-2 にオンプレート分解前後の末端変性 PC のマススペクトルとピークの帰属結果を示す。はじめに SEC 分取により得られた高分子量フラクションを、高分子量成分の測定に適したリニアモードで測定した。その結果得られたマススペクトル (Fig. 5-3-2A) では、両末端が TBP である TBP-A_n-TBP が主成分として観測され、片末端が封止された OH-A_n-TBP と環状ポリマー (cyc-A_n) も微小ピークとして認められた。一方で、元の末端構造から存在すると考えられる 4-クミルフェニル基を末端に含む成分は、主にマトリックス剤に由来するケミカルバックグラウンドの影響を受けたベースラインの中から検出することはできなかった。そこで、高分解能測定を行うスパイラルモードに切り替えて、SEC 分取していない末端変性 PC を測定し、この試料に含まれるオリゴマー成分のピークを調べた。得られたマススペクトル (Fig. 5-3-2B) では、リニアモードでの測定の場合と同様に TBP-A_n-TBP、OH-A_n-TBP、cyc-A_n の 3 つのピーク系列に加え、微小なピークが多く観測された。しかし、4-クミルフェニル基を末端に含む成分の計算質量をもとに調べても、計算質量に相当する位置に痕跡程度のピークが観測されただけで、PC 試料の末端に 4-クミルフェニル基が結合していることを明確に証明する結果は得られなかった。一例として Fig. 5-3-2B に OH-A₅-CP の計算質量に相当する m/z 1505.5808 付近を約 10 倍に拡大したマススペクトルを合わせて示した。

そこで、高分子量フラクションをオンプレート分解し、オリゴマー生成物を高分解能 MALDI-TOFMS 測定を行って得られたマススペクトルを Fig. 5-3-2C に示す。主鎖の切断により生成した 3 通りの分解生成物 (OH-A_n-Me、Me-A_n-Me、および OH-A_n-OH) に加えて、元の TBP 末端を含む OH-A_n-TBP や TBP-A_n-Me が観測された。さらに、これまでの検討では観測できなかったもう一つの末端である 4-クミルフェニル基を含む OH-A_n-CP も観測することができた。

以上のように、末端変性 PC の高分子量フラクションをオンプレート分解で低分子量化することにより、4%程度しか含まれない 4-クミルフェニル末端が末端変性 PC に含まれることを実証することができた。

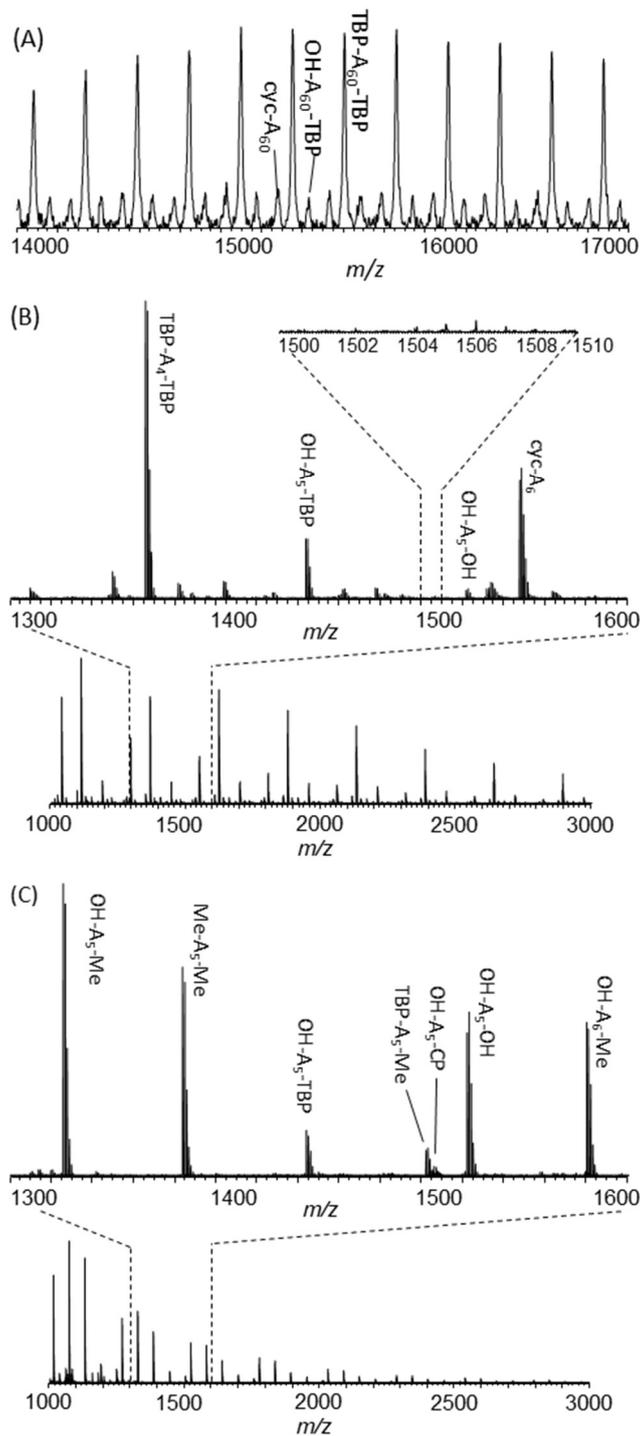


Fig. 5-3-2 Mass spectra of terminal-modified PC. (A) High-molecular weight range of the fractionated sample observed by the linear mode, (B) oligomer range of a pristine sample observed by the spiral mode, and (C) on-plate degradation products of a fractionated sample by the spiral mode.

(3) 臭素化 PC の共重合構造解析

PC に難燃性を付与するために、BPA を臭素化したテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) との共重合 PC が開発されている。臭素系難燃剤に対する国際的な規制が強まりつつあり、TBBPA がどのような状態でポリマー材料中に存在しているのかを把握することは重要である。PC の構造キャラクタリゼーションに反応 Py-GC が有効であることは緒言で述べた通りであるが、臭素化 PC を反応 Py-GC で分析すると、TBBPA 単位から臭素が脱離してしまうために得られるパイログラムが複雑になるうえ、BPA 型 PC と TBBPA 型 PC のブレンドであるのか共重合体であるのかを識別することができない。そこでオンプレート分解法と MALDI-TOFMS 測定を組み合わせることで、臭素化 PC が共重合体であることの実証を試みた。

Fig. 5-3-3 に臭素化 PC をそのまま分析した場合と、高分子量フラクションをオンプレート分解した場合のマススペクトルを示す。臭素化 PC をそのまま MALDI-TOFMS 測定して得られたマススペクトル (Fig. 5-3-3A) では、BPA の繰り返し単位を持つ成分が 5 系列観測された。最も強く観測されたのは BPA カーボネートの環状オリゴマー (cyc-A_n) であり、さらに BPA 型 PC オリゴマーの末端がトリブロモフェノキシ基 (TBrP) と水酸基 (OH) の組み合わせからなる 3 通りの PC オリゴマー (TBrP-A_n-TBrP、OH-A_n-TBrP、OH-A_n-OH) のピーク系列が観測された。一方、共重合オリゴマーは、わずかに TBBPA (B と表記) を一つ含む環状オリゴマー (cyc-A_n/B₁) が観測されただけであった。

一方、オンプレート分解を行ったところ、より多くの BPA カーボネートの繰り返し単位を持つピーク系列が観測されるようになった。ここまでの検討から、オンプレート分解により生成する分解生成物の末端の組み合わせは主鎖の切断により生成する 3 通りの組み合わせ (OH/Me、Me/Me、OH/OH) に、元の末端を含む 2 通り (OH/TBrP、TBrP/Me) を加えた 5 通りが考えられる。これらの末端の組み合わせを持つ BPA 型 PC ホモポリマーの計算質量からピークの帰属を行い、そのすべてのピーク系列がマススペクトル上で確認された。さらに TBBPA カーボネートを 1 単位含む成分についても各末端の組み合わせでマススペクトル上に確認され、TBBPA が PC 主鎖に存在し、共重合体を形成していることを実証することができた。

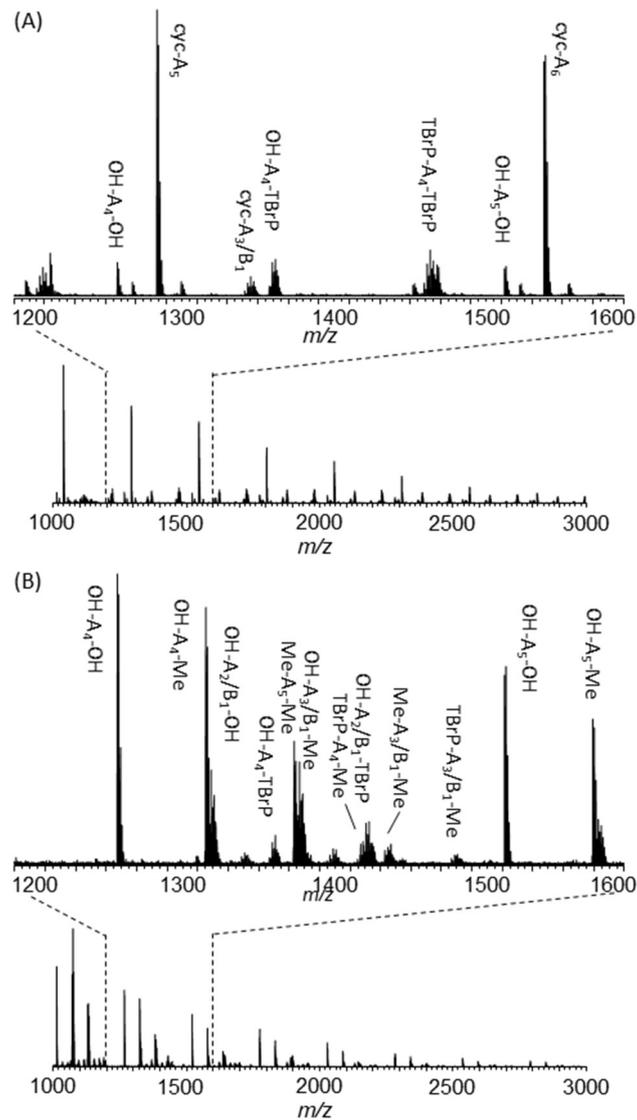


Fig. 5-3-3 Mass spectra of the brominated PC without (A) and with (B) the on-plate degradation procedure.

MALDI マススペクトルで観測されるピークの帰属は、一般にはモノアイソトピック質量を用いて行われる。しかし、トリブロモフェノキシ (TBrP) 末端や TBBPA カーボネート単位を含む化合物は、 ^{79}Br と ^{81}Br の組み合わせからなる広い同位体分布のために、相対的にモノアイソトピックピークが観測されにくくなり、ピークの帰属が困難である。ここでは、化学構造が同定された分解生成物について計算される同位体分布のシミュレーションを作成し、実際のマススペクトルと照合することによりピークの帰属

を行った。一例として Fig. 5-3-4 に TBrP-A₄-Me および OH-A₂/B₁-TBrP の同位体分布がオーバーラップして観測された m/z 1424-1412 の拡大マススペクトルと、それらの同位体分布のシミュレーション結果を示す。実測マススペクトル (Fig. 5-3-4A) では、オーバーラップしている 2 成分 (TBrP-A₄-Me、OH-A₂/B₁-TBrP) のモノアイソトピックピークの強度は小さく、それだけでピークの帰属や 2 成分の識別を行うのは困難であった。そこで TBrP-A₄-Me と OH-A₂/B₁-TBrP の組成式から予想される同位体分布をシミュレーションし (Fig. 5-3-4B および Fig. 5-3-4C)、実測マススペクトルと照合した。その結果、シミュレーションによる TBrP-A₄-Me 由来のピーク (●) と OH-A₂/B₁-TBrP 由来のピーク (▲) に実測結果がほぼ一致した。しかし、このような帰属方法では、ピーク群ごとに検証を行う必要があり、非常に手間がかかる。そこで、より簡便に共重合組成分布を解析するために、これまで用いてきた KMD 法を適用した。

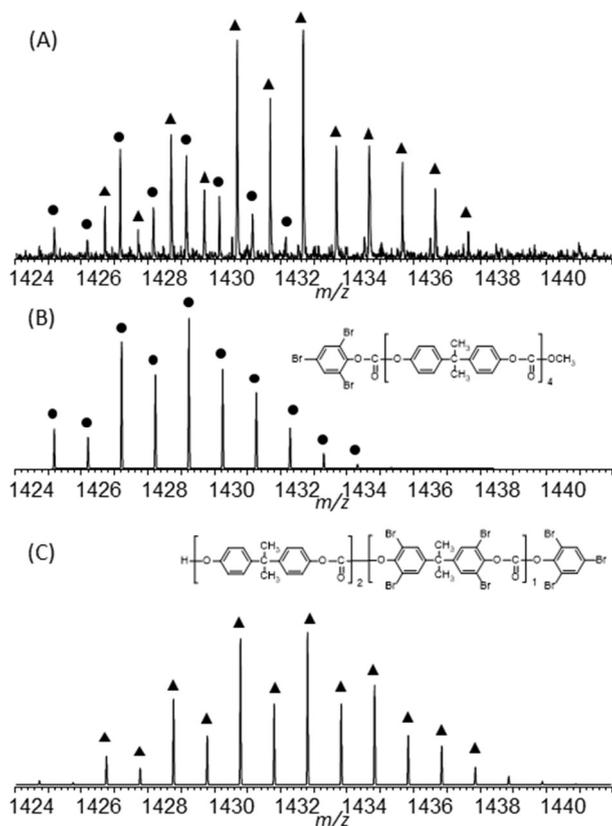


Fig. 5-3-4 Mass spectra of brominated PC (A) and simulation of the isotope distribution of TBr-A₄-Me (B) and OH-A₂/B₁-TBrP (C).

ここでは、繰り返し単位である BPA カーボネート ($C_{16}H_{14}O_3$) をベースユニットに設定した。また、多成分から成る分解生成物を末端基の違いにより分離するのに適したディバイザーを $x = 252$ に設定して、Fig. 5-3-3B のマススペクトルから得られた RE-KMD プロットを Fig. 5-3-5 に示す。Fig. 5-3-3B のマススペクトル上で主系列として観測されていた OH- A_n -Me は KMD 値が 0.45 (赤色のドット)、OH- A_n -OH は KMD 値が -0.02 (青色のドット)、そして Me- A_n -Me は KMD 値が -0.08 付近に水平方向に並ぶ系列 (緑色のドット) として観測された。Fig. 5-3-4 に示したマススペクトル上では、ピークがオーバーラップしていた TBrP- A_n -Me と OH- A_n /B₁-TBrP は、KMD プロット上で、TBrP- A_n -Me は KMD 値が -0.40~-0.28 (紫色のドット)、OH- A_n /B₁-TBrP は KMD 値が 0.05~0.20 の範囲に分布し (茶色のドット)、両者を容易に識別することができるようになった。これらの成分に対するドット分布から明らかのように、臭素を含む成分の分布は臭素の同位体分布の広さを反映して y 軸方向に広がっており、プロットの形状を見ただけで臭素を含む成分を容易に判別することができた。さらに KMD プロットは、マススペクトル上では判別が容易ではない微量の成分の検出に有利である。例えば、Fig. 5-3-5 の拡大図に示した m/z 1500~2500 および KMD 値 0.3~0.5 の範囲では、OH- A_n -Me の系列の $n = 6\sim 9$ を反映したドット群が x 軸方向に周期的に現れており、その右隣に TBBPA 単位を 1 つ含む OH- A_n /B₁-Me のドット群 ($n = 4\sim 7$) が周期的にプロットされている。OH- A_n /B₁-Me は臭素を 4 つ含むため、同位体分布が y 軸方向に幅広く分布している。さらに右隣に微小ながら含臭素化合物であることを示すドットが観測されており、これは OH- A_n /B₂-Me の系列 ($n = 2\sim 5$) に対応する。このように、KMD プロットでは規則的なドットの分布から共重合体の成分組成を推測することができる。ここで、TBBPA 単位を 3 単位以上含む生成物や TBBPA 型 PC オリゴマーの存在を示すドット群は認められなかった。もしブロック共重合体であれば TBBPA 単位のみからなるホモオリゴマーが主に観測されるはずであるが、ランダム共重合体では TBBPA 単位は BPA 単位に対して約 1/20 しか含まれていないため確率的に痕跡程度しか生成しない。すなわち、KMD プロットのパターンは、この臭素化 PC がランダム共重合体であることを示唆している。

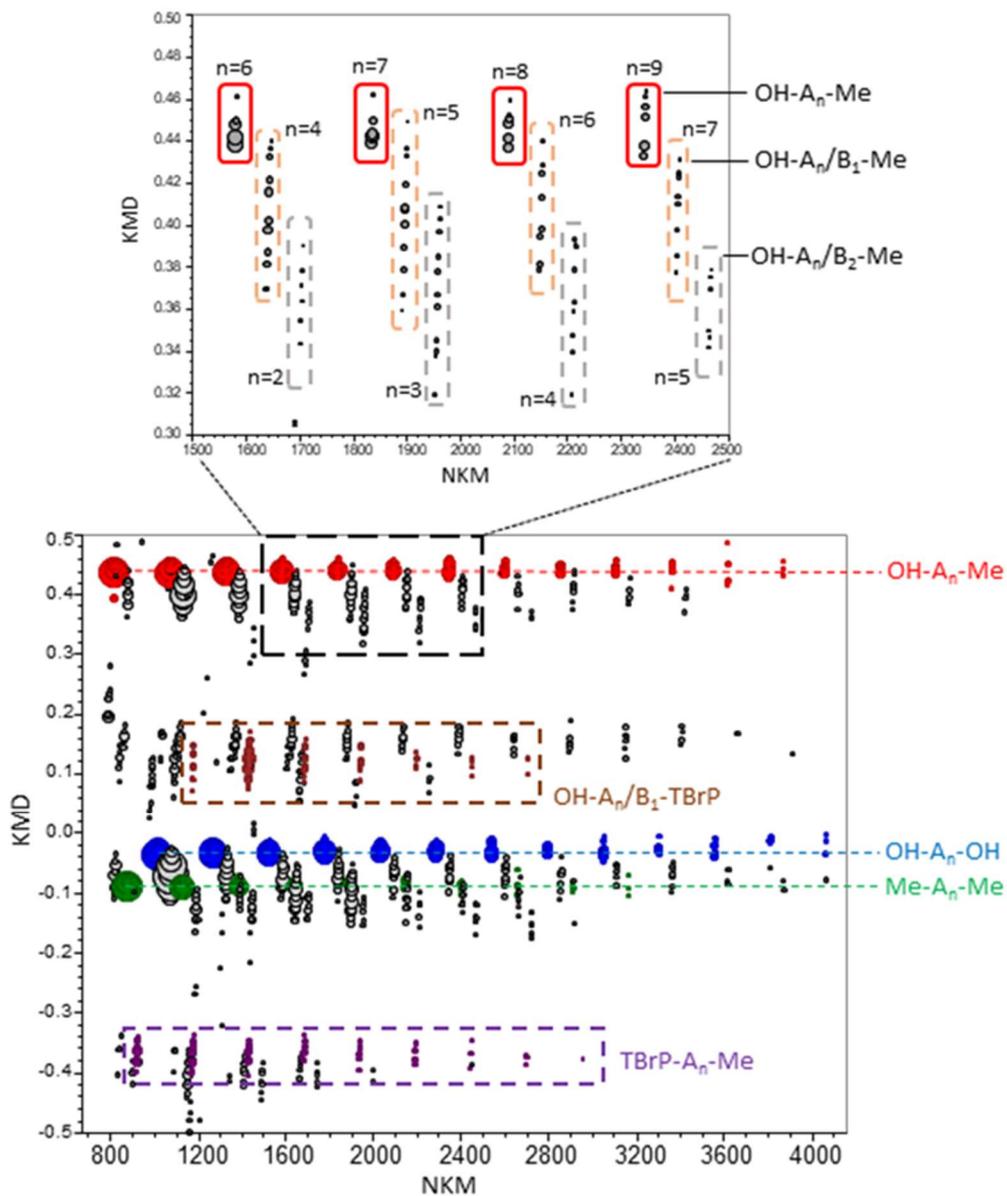


Fig. 5-3-5 KMD plot from the mass spectrum of the brominated PC after the on-plate degradation procedure.

以上のように、臭素化 PC の高分子量フラクションをオンプレート分解で低分子量化することにより、BPA 単位に対して 5%程度しか含まれない TBBPA 単位が、臭素化 PC に共重合体として含まれていることを実証することができ、さらに KMD 法と組み合わせることにより、それがランダム共重合である可能性を示すことができた。

5.3.4 まとめ

5.2節で開発したオンプレート分解法を、同じようにアルカリ分解により切断が起こると予想されるカーボネート結合をもつPCへと適用を拡大した。オンプレート前処理法を行うことにより、高分子量PCはオリゴマー化され、高分解能MALDI-TOFMS測定が可能になった。これにより、ごくわずかしかな含まれない末端基を含む分解生成物を検出することができ、末端基情報を得ることができた。さらに臭素化PCに対して本法を適用することにより、BPA単位に対して約1/20しか含まれないTBBA単位が共重合体になっていることが示された。さらにKMD法を適用することにより、ランダム共重合体である可能性も示すことができた。

このように、オンプレート分解法、高分解能MALDI-TOFMS測定、およびKMD法を組み合わせることにより、添加剤や別のオリゴマー成分が含まれることが予想されるポリエステルのみならずポリカーボネートの実材料分析に適した方法になり得るものと期待される。

5.3 節 参考文献

- [1] S. Tsuge, T. Okumoto, Y. Sugimura, T. Takeuchi, *J. Chromatogr. Sci.*, **7** (1969) 253-256, Pyrolysis-gas chromatographic investigation of fractionated polycarbonates. doi: 10.1093/chromsci/7.4.253
- [2] J. M. Challinor, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **61** (2001) 3-34, Review: the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions. doi: 10.1016/S0165-2370(01)00146-2
- [3] 石田康行, 大谷肇, 柘植新, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47** (1998) 673-688, 反応熱分解ガスクロマトグラフィーによる合成高分子及び天然有機物のキャラクタリゼーション. doi: 10.2116/bunsekikagaku.47.673
- [4] Y. Ito, H. Ogasawara, Y. Ishida, H. Ohtani, S. Tsuge, *Polym. J.*, **28** (1996) 1090-1095, Characterization of end groups in polycarbonates by reactive pyrolysis-gas chromatography. doi:10.1295/polymj.28.1090
- [5] 大谷肇, 渡辺忠一, 増田隆之, 柘植新, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **60** (2011) 239-244, 反応熱分解ガスクロマトグラフィーによる末端変性および分岐化ポリカーボネートのキャラクタリゼーション. doi: 10.2116/bunsekikagaku.60.239
- [6] Y. Ishida, S. Kawaguchi, Y. Ito, S. Tsuge, H. Ohtani, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **40-41** (1997) 321-329, Characterization of copolymer type polycarbonates by reactive pyrolysis-gas chromatography in the presence of organic alkali. doi: 10.1016/S0165-2370(97)00005-3
- [7] K. Oba, Y. Ishida, Y. Ito, S. Tsuge, *Macromolecules*, **33** (2000) 8173-8183, Characterization of branching and/or cross-linking structures in polycarbonate by reactive pyrolysis-gas chromatography in the presence of organic alkali. doi: 10.1021/ma000596a
- [8] C. Puglisi, F. Samperi, S. Carroccio, G. Montaudo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13** (1999) 2260-2267, Analysis of poly(bisphenol A carbonate) by size exclusion chromatography/matrix - assisted laser desorption/ionization. 1. End group and molar mass determination. doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(19991130)13:22<2260::AID-RCM784>3.0.CO;2-I
- [9] C. Puglisi, F. Samperi, S. Carroccio, G. Montaudo, *Macromolecules*, **32** (1999) 8821-8828, MALDI-TOF investigation of polymer degradation. Pyrolysis of poly(bisphenol A carbonate). doi: 10.1021/ma9912148
- [10] G. Montaudo, S. Carroccio, C. Puglisi, *Polym. Degrad. Stab.*, **77** (2002) 137-146, Thermal oxidation of poly(bisphenol A carbonate) investigated by SEC/MALDI.

doi: 10.1016/S0141-3910(02)00092-7

第6章

総括と今後の展望

第6章 総括と今後の展望

6.1 総括

本論文は、高分解能マススペクトルのデータ処理法および測定試料の前処理法を開発することにより、高分解能 MALDI-TOFMS の性能を最大限に活用したポリマー材料の実用的なキャラクタリゼーション法へと発展させるために行った研究内容をまとめたものである。

第1章では、工業用ポリマーのキャラクタリゼーションの必要性と現状について述べた後、MALDI-TOFMS を用いたポリマーのキャラクタリゼーションの現状および解決すべき課題について述べた。さらに本研究の目的、各章の概要を述べた。

第2章では、本研究を通して用いた高分解能 MALDI-TOFMS によるポリマー材料の測定方法についてその概略を述べた。ポリマー材料の高分解能 MALDI-TOFMS 測定に求められるマトリックス剤およびカチオン化剤の選択指針、キャリブレーションの方法、さらに得られた精密質量から組成解析を行う過程について解説した。

第3章では、高分解能 MALDI-TOFMS により得られるポリマー材料のマススペクトルを効率的に解析する手法として、ケンドリックマスディフェクト (KMD) 法を導入し、ポリマー材料のキャラクタリゼーション法へと発展させた。

3.1 節では、ベースユニットをポリマーの繰り返し単位に設定することにより、複雑なマススペクトルを二次元プロットに変換して可視化することができた。二次元プロットから、モノマー単位および末端構造の違いを容易に理解することができるようになった。さらに末端基の違いを反映する remainder of KM (RKM) プロットを用いることにより、KMD 値が近接する成分も十分に分離することができるようになった。

3.2 節では、KMD 法を共重合ポリマーの解析に適用し、従来では解析することが困難であり過去に解析事例がなかったエチレン酢酸ビニル共重合体 (EVA) の共重合組成分布解析を行うことができた。また、得られた KMD プロットの重心から EVA の平均モノマー組成を求めることができた。

第4章では、KMD 法の高分解能化および同位体分布が広い化合物への適用拡大を行った。

4.1 節では、ケンドリック質量 (KM) に変換する際に基準となるベースユニットを整数値(ディバイザー)で除したフラクショナルベースユニットにすることにより KMD プロットを高分解能化できる、resolution-enhanced KMD (RE-KMD) 法を導入した。ここでは、ディバイザーを変化させたときの KMD 値の変化を示す関数である RANK1 および RANK2 という概念を考案して、適切なディバイザーを迅速に選択する指針を提案した。また、複数のディバイザーを用いて段階的に各成分の分離・解析を行うことで、非常に複雑なマススペクトルの解析も可能になった。

4.2 節では、ベースユニットに用いる繰り返し単位質量を、従来から用いていたモノアイソトピック質量だけではなく、最大強度質量へと拡大することにより、同位体分布が広い元素を含む化合物のキャラクタリゼーションへと適用範囲を拡大することができた。また、繰り返し単位質量が未知である場合でも、rotating KMD plot 法を適用することにより、KMD プロットから直接繰り返し単位質量を決定することができるようになった。さらに得られた質量を用いて組成解析を行うことにより、繰り返し単位および末端構造を推定することが可能になった。

第 5 章では、MALDI-TOFMS を用いて、高分解能質量分析を行うために必要な前処理法の開発を行った。

5.1 節では、解析対象とする成分よりもイオン化しやすいためイオンサプレッションを引き起こす原因となる界面活性剤の除去を、測定プレート上で簡便に行うことができるオンプレート前処理法の開発を行った。オンプレート前処理法を用いることで、試料中に含まれる複数のポリエチレンオキシド (PEO) 系成分を、その親水性の違いにより分離することができるようになった。さらに、適切なオンプレート前処理法、高分解能 MALDI-TOFMS 測定、および KMD 法を組み合わせることにより、PEO 系成分が含まれるために主材の解析ができなかった実際の工業製品の成分分析を可能にした。

5.2 節では、高分子量であるため高分解能 MALDI-TOFMS 測定の適用外であった高分子量ポリエステルを、測定プレート上でアルカリ試薬を用いて低分子量化するオンプレート分解法を開発した。まず、詳細な化学構造が明らかなポリカプロラクトン (PCL) を試料に用い、さらに同位体ラベル化試薬を反応に用いることにより、エステル結合の分解機構を検証して、高分子量ポリエステルを高分解能質量測定が可能なオリゴマー領域にまで低分子量化することができることを確認した。そして本法を、微生物が産生する高分子量共重合ポリエステルのキャラクタリゼーションに適用することにより、その共重合組成および連鎖分布の解析を行うことができた。さらに、ポリエチレンテレフタレート (PET) フィルムや PET ボトル試料などの実試料のキャラクタリゼーションにも適用して、材料中に少量含まれる異常構造を検出することができた。

5.3 節では、**5.2** 節で開発したオンプレート分解法が適用できるポリマーの範囲を、エステル結合と同様にアルカリ試薬による切断が起こりやすいと考えられるカーボネート結合をもつポリカーボネート (PC) へと拡大した。オンプレート分解法を前処理法として用いることにより、高分子量 PC もオリゴマー化することができ、高分解能 MALDI-TOFMS 測定を可能にした。オンプレート分解法と高分解能 MALDI-TOFMS 測定を組み合わせることにより、わずかしかなかった末端構造を持つ分解生成物の検出ができた。また、臭素化 PC の解析に適用することにより、基本構成単位であるビスフェノール A (BPA) 単位に対し 1/20 程度しか含まれないテトラブロモビスフェノール A (TBBPA) 単位が共重合していることを示すことができた。

以上のように、本研究では、得られる複雑なマススペクトルから必要な情報を適切に抽出するための KMD 法の開発および高分解能 MALDI-TOFMS 測定の適用範囲を拡大するための適切な前処理法の開発を行うことにより、高分解能 MALDI-TOFMS 測定を用いた高分子ポリマー材料のキャラクタリゼーションの適用範囲を大きく拡大することができ、実用的な解析手法へと発展させることができた。

6.2 本研究で高性能化した KMD 法の波及効果

KMD 法は、これまで主に石油化学や地球科学分野において主に炭化水素化合物のキャラクタリゼーションに用いられてきたが、本研究の遂行により、KMD 法が複雑なポリマー材料のマススペクトルのデータ解析に有用であることを実証するとともに、その解析法を高性能化することに成功した。本研究で高性能化した KMD 法は、実用的な高分子材料のキャラクタリゼーション法として高分子分析の分野にインパクトを与え、2020 年 10 月現在で本論文を構成する発表論文は、Web of Science 上で調査したところ、のべ 96 報の論文で引用されている。また、著者および共同研究者らによって、本法のさらなる高性能化および他の質量分析法への拡大が進められている。

本研究で高性能化した KMD 法は、現在、大きく分けて 2 つの方向に展開している。1 つ目は、本法の適用範囲が、高分解能 MALDI-TOFMS 以外の質量分析法を用いたポリマーのキャラクタリゼーションにまで拡大されていることである。RE-KMD 法および RKM 法よる高分解能化により、KMD 法は、必ずしも高分解能マススペクトルでなくても適用できるようになり、分解能が低いリニアモードのマススペクトルや MS/MS スペクトルデータに対しても、ピーク分離がなされていれば大まかな解析が可能になった[1]。特に MS/MS データの解析が可能になったことにより、これまではマススペクトルの解析が容易ではなかった、ポリマーの連鎖解析[2]やポリマーの側鎖構造の決定[3]に応用されている。また、価数が異なるイオンが同時に生成しても 1 つの成分情報に集約することができる Charge-dependent KMD 法[4]が開発され、多価イオンが混在するエレクトロスプレーイオン化 (ESI) マススペクトルの解析が可能になった。その他にも、ガスクロマトグラフィー飛行時間型質量分析法(GC-TOFMS)[5]、ペーパースプレーイオン化質量分析法[6]、リアルタイム直接質量分析法 (DART-MS)[7-9]、飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) [10]、大気圧光イオン化質量分析法 (APPI-MS) [11]、貫通孔ポーラスアルミナ薄膜を用いた表面支援脱離イオン化法 (DIUTHAME)[12]など、高分解能 MALDI-TOFMS 以外の質量分析法を用いたポリマーのキャラクタリゼーションにも適用範囲が拡大している。

2 つ目の展開は、KMD 法が産業界において実用的な工業用ポリマーの解析手段として普及し始めていることである[13]。著者らは企業から数多くの問合せや共同研究など

をうけてその関心が大きいことを実感しているが、公開されている情報を見ても高分子分析に携わる企業の研究者も多く集まる「高分子分析討論会」(日本分析化学会高分子分析研究懇談会主催)やポリマー分析及びキャラクタリゼーションの国際学会である International Symposium on Polymer Analysis and Characterization (ISPAC)において、これまでに企業研究者からも多くの発表が行われている。その例として、化学品を製造する企業では、自社が製造する製品の品質管理[14, 15]や、市場品の調査[16, 17]などの手法としての応用が報告されている。また、中間部材メーカーでは、調達する素材の品質を管理するために、セラミックスを製造する原料の品質管理[18]、化粧品等で用いられる界面活性剤の安定化学構造の安定性評価[19-21]、自動車用部品で用いられるエンジニアリングプラスチックの劣化過程における化学構造変化の解析[22]などに関する報告がなされている。

このように、本研究で高性能化した KMD 法は、高分子分析に関する研究分野での質量分析法の発展に大きな影響を与えているうえ、工業用ポリマー材料の実用的なデータ解析法として産業界でも注目され始めている。

6.3 今後の展望

6.3.1 本研究で改善されるべき課題

高分解能 MALDI-TOFMS の能力を引き出すためのデータ解析と前処理法の重要性は第 1 章で述べた。データ解析に関しては、6.2 節でも述べたように、本研究で開発した KMD 法とその派生技術により、高分解能 MALDI-TOFMS に限らず、様々なタイプの質量分析法で観測されるマススペクトルの解析技術が大幅に進歩した。しかし、前処理法については、いまだ解決されるべき多くの改題が残されている。まず、過剰に存在する界面活性剤によるイオンサプレッションを改善するための前処理法として、オンプレート前処理法を提案した (5.1 節)。しかし、この前処理法だけですべてのイオンサプレッションに対応できるわけではない。現在、MALDI-TOFMS によるペプチド分析の前処理用に、ピペットチップの先端に吸着剤を充てんした簡便な脱塩チップが市販されているが、今後はこうした吸着材を用いたポリマー分析用の簡便なキットの開発などを検討する必要があるだろう。また、アルカリ試薬を用いたオンプレート分解法の開発により、高分子量ポリエステル (5.2 節) および高分子量ポリカーボネート (5.3 節) をオリゴマー化して、精密質量分析による詳細な化学構造解析が可能になった。しかし、適用できるポリマー種は限定的であるため、アルカリ分解以外の分解法の検討が必要である。特に、熱分解はポリマー鎖の切断に有用であるため、著者らはオリゴマー成分の熱脱着および主鎖の部分的な熱分解を組み合わせた前処理法について検討を始めている [9]。このように、第 1 章で提起した問題の解決に向けて引き続き研究を進めることにより、高分解能質量分析法のポリマーキャラクタリゼーションの適用範囲はさらに拡大

されるものと期待される。

6.3.2 品質管理やサプライチェーンの適切な管理を行う技術開発への展望

ポリマー材料の消費者に至るまでのサプライチェーンは、上流側から素材メーカー、中間加工メーカー、および最終セットメーカーにより構成されている。佐藤[23]は、化学産業界の関係者との意見交換に基づき、「各段階で行われている評価項目が大きく異なることから、下流側に行くにつれてポリマー材料の化学的な情報は徐々に失われ、物質名と物性に関する大まかな情報しか川下側や市場消費者には届かない」と指摘している。この問題は、サプライチェーン間で化学構造情報が共有されないことによるものであり、品質管理やサプライチェーン管理が行き届かない原因となりうる。サプライチェーン間での化学構造情報を共有するためには、質量分析を専門としない人でも直感的に理解できる表現方法の開発が必要であり、本研究で開発した KMD プロットはこのような表現方法の一つであるといえる。KMD プロットを用いれば、素材開発の段階で目的としている化合物が正確に合成されているかを KMD プロットのパターンから簡単に確認することができ、そのパターンを中間部材メーカーおよび最終セットメーカーでも共有することにより、製品加工の過程でポリマー材料に変化が起こっていないことを確認することができるようになるだろう。ここでは、KMD プロットのパターンが構成成分の化学構造や組成分布を反映しているため、必ずしも化学式などを用いなくても、結果として化学構造情報をサプライチェーン間で共有することが可能になる。また KMD プロットの評価に人工知能 (AI)を用いたパターン認識を導入すれば、自社あるいは他社製品の配合情報等の解析や異常品の検出、さらにはサプライチェーンの川下側に知らされないまま原料が変更される「サイレントチェンジ」に対しても、迅速に対応もできるようになると思われる。

このように、KMD 法と組み合わせた高分解能質量分析法は、化学工業分野での品質管理などへの応用が期待される。しかし、ポリマーの特性を表現するためには 1 つの手法だけではなく、様々な手法で多くの構造情報を得ることが必要であることは第 1 章で述べたとおりである。こうした様々な分析データや物性データなどを表す指標を総合的に取り扱うためには、インフォマティクスの利用が不可欠となるだろう。近年ライフサイエンスで広く用いられているバイオインフォマティクスの概念を高分子材料へと拡張した“polymeromics”の概念が提案されている[24]。質量分析のデータは、インフォマティクスと親和性が高く、ポリマー材料の複雑なマススペクトルおよび MS/MS のデータを統合し、その繰り返し単位や末端構造を推定するソフトがすでに利用されている。著者は以前行った質量分析法を用いたカビの系統分類に関する研究[25, 26]で、遺伝子情報から予測されるタンパク質を解析するバイオインフォマティクスを用いていた。バイオインフォマティクスでは、遺伝子、生合成されるポリペプチド鎖の配列、翻訳後

修飾、成熟したタンパク質の三次元構造、発現する機能などがデータベース化されている。著者は、これをポリマーに当てはめて考えると、合成法、ポリマーの配列、末端基等の微細化学構造、結晶構造やラメラ構造などの高次構造、様々な物性などに対応しており、ポリマーの評価にもインフォマティクスを積極的に導入すべきではないかと感じている。そして、インフォマティクスを利用して分子特性解析と物質特性解析を組み合わせた解析を行うことにより、品質管理（製造プロセスの検証、材料の変化、調達先の変更など）、およびサプライチェーンの適切な管理などでポリマー材料を取り巻く産業分野へ大きな貢献が期待される。その中心的な役割を果たす分析技術の一つとして、著者は高分解能質量分析法をさらに発展させていきたいと考えている。

第6章 参考文献

- [1] T. Fouquet, T. Satoh, H. Sato, *Anal. Chem.*, **90** (2018) 2404-2408, First gut instincts are always right: The resolution required for a mass defect analysis of polymer ions can be as low as oligomeric. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04518
- [2] J. L. Mao, W. Zhang, S. Z. D. Cheng, C. Wesdemiotis, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **25** (2019) 164-174, Analysis of monodisperse, sequence-defined, and POSS-functionalized polyester copolymers by MALDI tandem mass spectrometry. doi: 10.1177/1469066719828875
- [3] S. Poyer, T. Fouquet, H. Sato, J. F. Lutz, L. Charles, *Macromol. Chem. Phys.*, **219** (2018) 1800173, Convenient graphical visualization of messages encoded in sequence-defined synthetic polymers using Kendrick mass defect analysis of their MS/MS data. doi: 10.1002/macp.201800173
- [4] T. N. J. Fouquet, R. B. Cody, Y. Ozeki, S. Kitagawa, H. Ohtani, H. Sato, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **29** (2018) 1611-1626, On the Kendrick mass defect plots of multiply charged polymer ions: Splits, misalignments, and how to correct them. doi: 10.1007/s13361-018-1972-4
- [5] 樺島文恵, 本多貴之, 松神麻美, 金井みち子, 岡本駿, 第24回高分子分析討論会講演要旨集 (2019) pp. 177-178.
- [6] R. B. Cody, T. Fouquet, *Anal. Chim. Acta*, **989** (2017) 38-44, Paper spray and Kendrick mass defect analysis of block and random ethylene oxide/propylene oxide copolymers. doi: 10.1016/j.aca.2017.08.005
- [7] R. B. Cody, T. Fouquet, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **29** (2018) 2110-2113, Resolution-enhanced Kendrick mass defect analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes in the diffusion flame from a butane torch. doi: 10.1007/s13361-018-2040-9
- [8] R. B. Cody, T. Fouquet, *Anal. Chem.*, **90** (2018) 12854-12860, "Reverse Kendrick mass defect analysis": Rotating mass defect graphs to determine oligomer compositions for homopolymers. doi: 10.1021/acs.analchem.8b03413
- [9] 竹井千香子, 吉沢賢一, 中村清香, Thierry Fouquet, 佐藤浩昭, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*) **68** (2019) 483-490, 昇温加熱デバイスを備えた Direct Analysis in Real Time (DART)-MS を用いた潤滑油の迅速劣化評価. doi: 10.2116/bunsekikagaku.68.483
- [10] C. Irimiea, A. Faccinetto, Y. Carpentier, I. K. Ortega, N. Nuns, E. Therssen, P. Desgroux, C. Focsa, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **32** (2018) 1015-1025, A

- comprehensive protocol for chemical analysis of flame combustion emissions by secondary ion mass spectrometry. doi: 10.1002/rcm.8133
- [11] G. F. Schirinzi, M. Llorca, R. Seró E. Moyano, D. Barceló, E. Abad, M. Farré, *Chemosphere*, **236** (2019) 124321, Trace analysis of polystyrene microplastics in natural waters. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.07.052
- [12] H. Sato, S. Nakamura, T. Fouquet, T. Ohmura, M. Kotani, Y. Naito, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **34** (2020) e8597, Molecular characterization of polyethylene oxide based oligomers by surface - assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using a through - hole alumina membrane as active substrate. doi: 10.1002/rcm.8597
- [13] 佐藤浩昭, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*) **67** (2018) 589-597, 高分解能 MALDI-TOFMS を用いる工業用ポリマー材料の構造解析. doi: 10.2116/bunsekikagaku.67.589
- [14] 石塚圭, Thierry N. J. Fouquet, 佐藤浩昭, 柿内俊文, 第 23 高分子分析討論会講演要旨集 (2018) pp. 63-64.
- [15] 井上泰平, 坂部輝御, 第 24 回高分子分析討論会講演要旨集 (2019) pp. 161-162.
- [16] 長町俊希, 南裕, 金丸正実, 杉内拓実, 佐藤浩昭, 第 23 回高分子分析討論会講演要旨集 (2018) pp. 137-138.
- [17] T. Nagamachi, M. Kanamaru, T. Sugiuchi, H. Sato, ISPAC 2019 Book of Abstracts, p. 110, Analysis of co-monomer of tackifire by MALDI TOF MS and application to hot melt adhesive analysis of diapers.
- [18] K. Kaneda, M. Sato, S. Nakanishi, H. Seki, ISPAC 2019 Book of Abstracts, p. 61, Chemical Structure Analysis of Organic Materials for Ceramics Using Mass Spectrometry.
- [19] T. Fouquet, H. Shimada, K. Maeno, K. Ito, Y. Ozeki, S. Kitagawa, H. Ohtani, H. Sato, *J. Oleo Sci.*, **66** (2017) 1061-1072. High-resolution Kendrick mass defect analysis of poly(ethylene oxide)-based non-ionic surfactants and their degradation products. doi: 10.5650/jos.ess17096
- [20] 島田治男, 前野克行, Thierry Fouquet, 佐藤浩昭, 第 21 回高分子分析討論会講演要旨集 (2018) pp. 59-60.
- [21] H. Shimada, H. Sato, ISPAC 2019 Book of Abstracts, p. 57, Stability of non-ionic surfactants in cream products.
- [22] 北田幸男, 岡本真実, 中込政樹, 鈴木康弘, 三浦真紀子, 梶野京子, 佐藤浩昭, 第 19 回高分子分析討論会講演要旨集 (2014) pp. 123-124.
- [23] 佐藤浩昭, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **65** (2017) 60-63, ポリマー材料のサブライ

チェーンを支える分析技術. doi: 10.5702/massspec.S17-02

- [24] E. Altuntaş, U. S. Schubert, *Anal. Chim. Acta*, **808** (2014) 56-69, “Polymeromics”: Mass spectrometry based strategies in polymer science toward complete sequencing approaches: A review. doi: 10.1016/j.aca.2013.10.027
- [25] S. Nakamura, H. Sato, R. Tanaka, T. Yaguchi, *Mass Spectrom. (Tokyo)*, **5** (2016) A0046, Verification of ribosomal proteins of *Aspergillus fumigatus* for use as biomarkers in MALDI-TOF MS Identification. doi: 10.5702/massspectrometry.A0049
- [26] S. Nakamura, H. Sato, R. Tanaka, Y. Kusuya, H. Takahashi, T. Yaguchi, *BMC Microbiology*, **17** (2017) 100, Ribosomal subunit protein typing using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification and discrimination of *Aspergillus* species. doi: 10.1186/s12866-017-1009-3

関連論文

学位論文に関わる原著論文

第 3 章

3.1 節

Hiroaki Sato, Sayaka Nakamura, Kanae Teramoto, Takafumi Sato
J. Am. Soc. Mass Spectrom., **25** (2014) 1346-1355.

“Structural Characterization of Polymers by MALDI Spiral-TOF Mass Spectrometry Combined with Kendrick Mass Defect Analysis”.

3.2 節

Thierry Fouquet, Sayaka Nakamura, Hiroaki Sato
Rapid Commun. Mass Spectrom., **30** (2016) 973-981.

“MALDI SpiralTOF high-resolution mass spectrometry and Kendrick mass defect analysis applied to the characterization of poly(ethylene-*co*-vinyl acetate) copolymers”.

第 4 章

4.1 節

Sayaka Nakamura, Robert B. Cody, Hiroaki Sato, Thierry Fouquet
Anal. Chem., **91** (2019) 2004-2012.

“Graphical Ranking of Divisors to Get the Most out of a Resolution-Enhanced Kendrick Mass Defect Plot”.

4.2 節

Sayaka Nakamura, Hiroaki Sato, Thierry N. J. Fouquet
Mass Spectrom. (Tokyo), **9** (2020) A0079.

“Kendrick Analysis and Complex Isotopic Patterns: A Case Study of the Compositional Analysis of Pristine and Heated Polybrominated Flame Retardants by High-Resolution MALDI Mass Spectrometry”.

第 5 章

5.1 節

佐藤浩昭, 中村清香

分析化学(*Bunseki Kagaku*), **67** (2018) 281-291.

“MALDI-TOFMS 測定のオンプレート前処理法の開発と有機工業製品分析への応用”.

5.2 節

Sayaka Nakamura, Thierry Fouquet, Hiroaki Sato

J. Am. Soc. Mass Spectrom., **30** (2019) 355-367.

“Molecular Characterization of High Molecular Weight Polyesters by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization High-Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometry Combined with On-plate Alkaline Degradation and Mass Defect Analysis”.

5.3 節

中村清香, Thierry Fouquet, 佐藤浩昭

分析化学(*Bunseki Kagaku*), **68** (2019) 615-622.

“オンプレート分解前処理と高分解能 MALDI-TOF-MS 測定を組み合わせた高分子量ポリカーボネートの分子構造解析”.

その他の関連論文

- [1] 竹井千香子, 吉沢賢一, 中村清香, Thierry Fouquet, 佐藤浩昭, 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **68** (2019) 483-490, 昇温加熱デバイスを備えた Direct Analysis in Real Time (DART)-MS を用いた潤滑油の迅速劣化評価.
- [2] 佐藤浩昭, 中村清香, Thierry Fouquet, ぶんせき, **2019**, 11-18, 精密質量分析法によるポリマーの成分マッピング技術.
- [3] Thierry N. J. Fouquet, Sayaka Nakamura, Hiroaki Sato, Robert B. Cody, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **33** (2019) 1547-1551, Real divisors and pseudo-continuous enhancement of resolution for a Kendrick mass defect analysis.
- [4] Hiroaki Sato, Sayaka Nakamura, Thierry N. J. Fouquet, Takayuki Ohmura, Masahiro Kotani, Yasuhide Naito, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **31** (2020) 298-307, Simple Pretreatment for the Analysis of Additives and Polymers by Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Using a Through-Hole Alumina Membrane as a Functional Substrate.
- [5] Hiroaki Sato, Sayaka Nakamura, Thierry Fouquet, Takayuki Ohmura, Masahiro Kotani, Yasuhide Naito, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **34** (2020) e8597, Molecular characterization of polyethylene oxide based oligomers by surface - assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using a through hole alumina membrane as active substrate.
- [6] Takaya Satoh, Sayaka Nakamura, Thierry Fouquet, Hiroaki Sato, Yoshihisa Ueda,

Rapid Commun. Mass Spectrom., **34** (2020) e8653, A mass spectrometry imaging method for visualizing synthetic polymers by using average molecular weight and dispersity as indices.

- [7] 佐藤浩昭, 中村清香, 竹井千香子, 吉沢賢一, 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **69** (2020) 77-83, 熱脱着・熱分解-Direct Analysis in Real Time-MS (DART-MS) による熱分解過程でのスチレンオリゴマーの生成挙動.
- [8] Thierry N. J. Fouquet, Robert B. Cody, Sayaka Nakamura, Hiroaki Sato, Takayuki Ohmura, Masahiro Kotani, Yasuhide Naito, *Anal. Chem.*, **92** (2020) 7399-7403, Rapid Fingerprinting of High-Molecular-Weight Polymers by Laser Desorption-Ionization Using Through-Hole Alumina Membrane High-Resolution Mass Spectrometry.
- [9] Shogo Yamane, Thierry N. J. Fouquet, Sayaka Nakamura, Hiroaki Sato, Junji Mizukado, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **151** (2020) 104923, A data mining method from pyrolyzed products: Pyrolysis-gas chromatography-photoionization-high resolution time-of-flight mass spectrometry and kendrick mass defect analysis for polymer semiconductor poly(3-hexylthiophene).

共同研究者一覧（五十音順）

佐藤 浩昭

国立研究開発法人産業技術総合研究所

佐藤 崇文

日本電子株式会社

Thierry Fouquet

国立研究開発法人産業技術総合研究所

寺本 華奈江

日本電子株式会社

（現 株式会社島津製作所）

Robert Cody

JEOL USA Inc.

謝辞

本論文をまとめるにあたり、終始懇切なご指導とご鞭撻を賜りました名古屋工業大学大学院工学研究科 大谷肇教授に心より感謝いたします。

また、名古屋工業大学大学院工学研究科 北川慎也教授、高須昭則教授、ならびに中部大学応用生物学部 石田康行教授には、ご多忙の中論文審査をお引き受けいただき、本論文の作成にあたり、有益なご助言とご指導をいただきました。深く感謝いたします。

本論文は、国立研究開発法人産業技術総合研究所において行われた一連の研究成果に基づくものです。産業技術総合研究所企画本部 佐藤浩昭企画室長には、本研究に携わる機会をいただき、研究の遂行にあたり、終始懇切なご指導ならびにご鞭撻をいただきました。心より感謝いたします。産業技術総合研究所機能化学研究部門高分子化学グループ Thierry Fouquet 研究員には、本研究を遂行するにあたり多くの貴重なご助言ならびにご指導をいただきました。心からの感謝を捧げます。また、共同研究者の方々には多くのご助言をいただきました。深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、産業技術総合研究所機能化学研究部門の萩原英昭グループ長、水門潤治グループ長、大石晃広主任研究員、山根祥吾主任研究員、渡邊亮太主任研究員には多くのご助言ならびにご支援をいただきました。また、本研究を行う際に、高分子化学グループおよび化学材料評価グループの皆様には多くのご支援をいただきました。共同研究や学会などで、多くの方々に貴重なご助言をいただき、励ましていただきました。ここに深く感謝申し上げます。

最後になりますが、本研究の遂行並びに本論文の作成を応援してくれた家族、友人の皆様のご存在なしには本論文をまとめることはできませんでした。心より感謝の意を表します。

2021年1月