

MALDI-TOF-MS法によるアクリルオリゴマーの構造解析

高分子材料研究所 エマルショングループ 松永守功、新製品開発研究所 分析研究室 松島良明

1 緒言

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法 (MALDI-TOF-MS) は、1980年代後半にTanakaら¹⁾およびKarasら²⁾によってほぼ同時に開発された。この方法では、レーザーエネルギーを効率良く吸収する「マトリックス」と呼ばれる大過剰の化合物やイオン化効率を向上させる「イオン化助剤」の中に、試料分子を均一に分散させて調製した微細結晶に、レーザー光をパルス照射することにより、試料分子をほとんど分解 (フラグメント化) することなくイオン化して得た分子イオンの質量分析を行うことができる。その特長を活かして、特にオリゴマー領域の有機物試料の微細構造 (末端基等) の解析に威力を発揮しており、これまでにタンパク質等の天然高分子³⁾ はもとより種々の合成ポリマーのキャラクタリゼーション⁴⁾⁻⁶⁾ にしばしば活用されてきた。

分析研究室では、1999年にMALDI-TOF-MS装置を導入し、種々の試料への応用を試みてきた。本報では、MALDI-TOF-MSの特徴・測定原理と最近の測定例について紹介する。

2 MALDI-TOF-MS法の特徴およびイオン化試薬

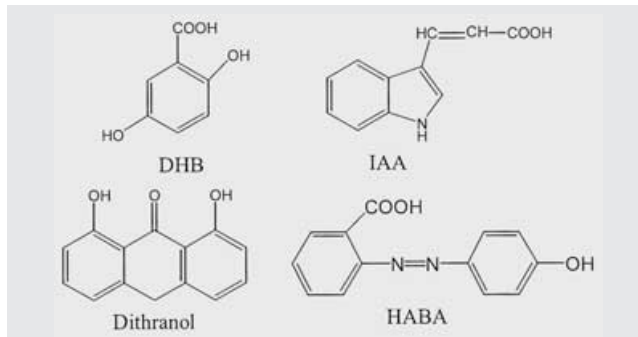
MALDI-TOF-MS法の特徴について表1に、合成高分子のMALDI-TOF-MS測定で使用されている代表的な有機マトリックス試薬、イオン化助剤についてそれぞれ表2、3に示す。

表1 MALDI-TOF-MSの特徴

長所	<ul style="list-style-type: none"> 通常の質量分析よりも高分子量域の測定ができる。 イオン化がマイルドなので、フラグメンテーションが起こりにくい。 高感度なので少量の試料でも測定できる。 分解能が高いため、微細構造 (末端や欠損構造等) を解析できる。
短所	<ul style="list-style-type: none"> 観測成分の化学構造や分子量によりイオン化効率が異なるので、定量に用いるのが困難である。

表2 合成高分子のMALDI-TOF-MS測定で使用されている代表的な有機マトリックス試薬

マトリックス名	対象となるポリマー
2, 5-ジヒドロキシ安息香酸 (DHB)	極性高分子
トランス-3-インドールアクリル酸 (IAA)	極性高分子
ジスラノール	無極性高分子
2-(4-ヒドロキシフェニルアゾ)安息香酸 (HABA)	無極性高分子



MALDI-TOF-MS法では、測定対象試料に対して、通常モル比で100~1,000倍量程度の大過剰のマトリックス試薬が用いられる。

こうしたことから、マトリックス試薬には、イオン化剤としての作用だけではなく、試料分子を分子レベルで分散させる固体溶媒としての役割も要求される。

表3 合成高分子のMALDI-TOF-MS測定で使用されている代表的なイオン化助剤

イオン化助剤	対象となるポリマー
アルカリ金属塩 (NaCl, KCl, NaI 等)	PMMA ⁷⁾ , PEG ⁸⁾ 等
銀塩 (トリフルオロ酢酸銀、硝酸銀等)	PST ⁹⁾ 等の芳香族ポリマー
銅塩 (硝酸銅等)	ポリジエン類
	無極性高分子 ¹⁰⁾

MALDI法による合成高分子のイオン化では、タンパク質などの生体高分子の場合に比較してプロトン付加体イオン[M+H]⁺が生じにくいことが多い。こうした場合に、測定試料にイオン化助剤 (カチオン化剤) として無機塩を添加することによって、イオン化効率の向上を図っている。

【サンプル調製での重要なポイント】

- ・マトリックス試薬の選択：ポリマーの極性に応じてマトリックスの極性も変化させる。
- ・イオン化助剤の選択：イオン半径や対アニオンの種類によってイオン化効率が異なることが知られている。
- ・溶媒の選択：できれば試料、マトリックス、およびイオン化助剤がすべて溶解できる溶媒を使用するのが均一な結晶を作るのに望ましい。
- ・イオン化効率 (シグナル強度) が高くなる様にマトリックス/イオン化助剤/サンプルのモル比を変化させる。

3 装置および測定原理

【装置】

N₂レーザー（λ = 337 nm, パルス幅：3 ns, 周波数：3 Hz）を備えた、Applied Biosystems 社製Voyager-DE-RP型質量分析計を使用した。

MALDI-TOF-MS装置の構成およびイオン化機構を図1に示す。

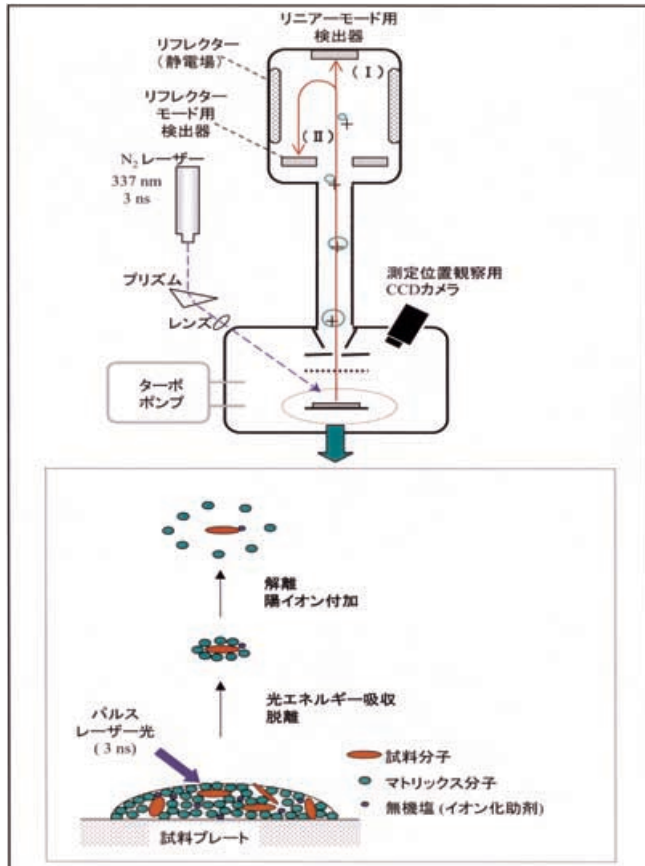


図1 MALDI-TOF-MS装置の構成とイオン化機構

高真空（10⁻⁷ - 10⁻⁸ Torr）の試料室に、マトリックス、イオン化助剤および試料分子を均一に分散させて調製した微細結晶を乗せた試料プレートを導入し、CCDカメラによる映像を見ながらN₂パルスレーザー光を当てる。

マトリックスを通じてレーザー光から光エネルギーを吸収した試料は、試料プレートから脱離した後、マトリックス分子が解離し、イオン化助剤由来の陽イオンが付加した分子イオンとして飛行する。eV = 1/2 mv²の式（ただし、e：イオンの電荷、V：加速電圧、m：イオンの質量、v：飛行速度）が成立することから、飛行時間より分子イオンの質量数を観測できる。

4 MALDI-TOF-MSの測定モードの分類

（分離モードによる分類）

リニアモード：

図1（ ）の様に直線的に飛行した分子イオンを観測する。感度が比較的高い。主に半定量する時に使用する。

リフレクターモード：

図1（ ）の様に直線的に飛行した分子イオンにさらに磁場をかけて行路を曲げ、分解能を上げて観測する。感度はリニアモードよりも低い。高分解能を必要とする場合に使用する。

（検出モードによる分類）

ポジティブイオンモード：

陽イオン（Na⁺, K⁺, Ag⁺付加体等）を選択的に観測する。

ネガティブイオンモード：

陰イオン（COO⁻等）を選択的に観測する。

以上の2種の分離モードの各々に対して2種の検出モードを組み合わせることができるので、合計4つの測定モードが使用できる。

5 実試料の測定例

合成方法の異なる二種類のポリプロピレングリコールアクリレートオリゴマー（PPGA-1およびPPGA-2）中に含まれる成分の推定構造を図2に、PPGA-1ならびにPPGA-2のMALDIマススペクトルをそれぞれ図3(A)、図3(B)に示す。

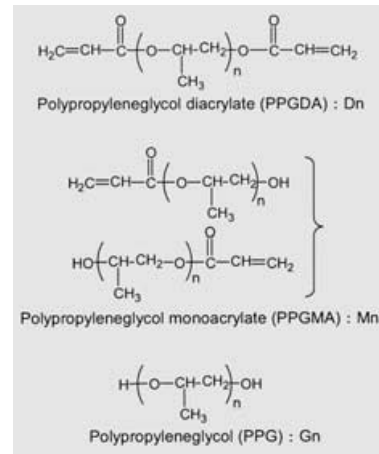


図2 PPGA試料中に含まれる成分の推定構造（n：重合度）

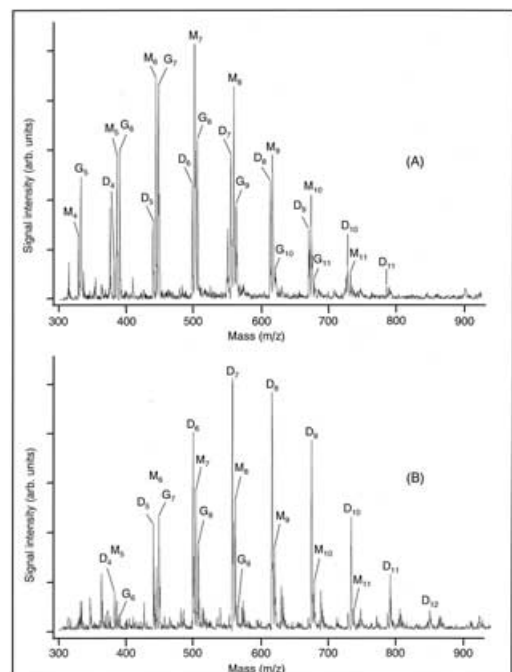


図3 PPGA-1(A)およびPPGA-2(B)のMALDIマススペクトル（マトリックス：DHB；イオン化助剤：NaI；リニアモード、ポジティブイオン検出）

重合度4-11のポリプロピレングリコールジアクリレートのNa付加体 (D_n), ポリプロピレングリコールモノアクリレートのNa付加体 (M_n) および重合度5-11の原料であるポリプロピレングリコールのNa付加体 (G_n) が、明確なシグナルとして観測された。これら三種類の成分の各々について、モノマー単位のプロピレングリコールの分子量58を周期とするシグナル群がみられる。

モル存在比をある程度示唆するシグナル強度を比較すると、PPGA-1はモノアクリレートが主体で未反応のポリプロピレングリコールもかなりの程度含まれているが、PPGA-2はジアクリレートが主体で低重合度の領域を除いてはポリプロピレングリコールはほとんど含まれていないことがわかる。

6 まとめ

高分子化合物の構造解析の一つの分析手法としてMALDI-TOF-MS法を紹介した。本法は、核磁気共鳴分光法 (NMR) や赤外分光法 (IR) 等の分光学的な分析手法、およびSFC (超臨界流体クロマトグラフィー) やSEC (サイズ排除クロマトグラフィー) 等の分離・分析手法等と相補的に組み合わせることによってより厳密な構造解析が可能になるものと思われる。本法には各種の測定モードがあり、それぞれの試料の性質や目的に応じて使い分ければ、混合物試料に対しても迅速に末端基構造等の異なる同属体成分を識別して観測することができる。

最近ますます合成ポリマーへの応用研究が行われており、オリゴマーを中心とした当社の製品開発に必ず役に立つものと思われる。本報告が当該装置のより一層の活用につながれば幸いである。

謝 辞

本研究にあたり御指導賜りました名古屋大学工学研究科柘植新教授ならびに大谷肇助教授に深く感謝致します。

引用文献

- 1) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2, 151 (1988).
- 2) M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.*, 60, 2299 (1988).
- 3) J. Gross, K. Strupat, *Tr. Anal. Chem.*, 17, 470 (1998).
- 4) H. J. Räder, W. Schrepp, *Acta Polym.*, 49, 272 (1998).
- 5) M. W. F. Nielsen, M. Goyal, R. Nagahata, *Mass Spectrom. Rev.*, 18, 309 (1999).
- 6) J. H. Scrivens, A. T. Jackson, *Int. J. Mass Spectrom.*, 200, 261 (2000).
- 7) L. Latourte, J. C. Blais, J. C. Tabet, R. B. Cole, *Anal. Chem.*, 69, 2742 (1997).
- 8) G. Montaudo, *Polym. Prep.*, 37, 290 (1996).
- 9) U. Bahr, A. Deppe, M. Karas, F. Hillenkamp, U. Giessmann, *Anal. Chem.*, 64, 2866 (1992).
- 10) T. Yalcin, D. C. Schriemer, L. Li, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 8, 1220 (1997).