

報 文

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法における ポストソース分解法によるノニルフェノールポリエトキシ レートの構造解析

大本 将義¹, 奥野 昌二², 荒川 隆一^{®1}

Characterization of nonylphenolpolyethoxylates by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry and post-source decay

Masayoshi OHMOTO¹, Shoji OKUNO² and Ryuichi ARAKAWA^{1,2}

¹ Department of Applied Chemistry, Kansai University, 3-3-35, Yamatecho, Suita-shi, Osaka 564-8680

² Japan Science and Technology Agency, Innovation Plaza Osaka, Wada Project Laboratory, 3-1-10, Technostage, Izumi-shi, Osaka, 594-1144

(Received 13 January 2004, Accepted 14 April 2004)

Nonylphenolpolyethoxylate polymers with different molecular weights were characterized by matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) and post source decay (PSD) experiments. The MALDI mass spectra indicated that the polymers have a repeated unit of (CH₂CH₂O) in the structure and contain small amounts of octyl- and decyl-phenolpolyethoxylate contaminants. The average molecular weights of the polymers obtained from the mass spectra were consistent with those of GPC measurements. Li⁺ among alkali metal ions was found to be the best cationizing agent in PSD experiments. The PSD spectra suggested that the alkylphenol moiety in the end group of nonylphenolpolyethoxylate polymers contains alkyl structure of C₆H₁₃- group.

Keywords : matrix assisted laser desorption/ionization; post source decay; surfactant; alkylphenolpolyethoxylate; cationizing agents.

1 緒 言

界面活性剤は、洗剤、石けん、化粧品、エマルジョンの安定剤など様々な用途で用いられている。これらの製品の性能を向上するためには、界面活性剤の親水性と疎水性のバランスをより高度に制御することが重要である。そのため、界面活性剤に複雑に存在する個々の成分の詳細な構造情報が必要になる。

核磁気共鳴法や赤外分光法では、界面活性剤の平均的な構造情報を得やすいが、界面活性剤に含まれる個々の成分

を詳細に解析することは困難である。質量分析 (MS) では、界面活性剤分子をイオン化し、質量/電荷比 (m/z) を測定することにより、個々の成分の構造情報を得ることが可能となる。

最近、エレクトロスプレーイオン化 (electrospray ionization, ESI) 法^{1)~3)}や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^{4)~7)}が開発され、従来のイオン化法では測定できなかった不安定な物質や高分子量の物質の MS 測定が可能となった^{8)~14)}。界面活性剤についても、これらのイオン化法を用いた多くの報告がある^{15)~26)}。Prokai らは、オクチルフェノールポリエトキシレートをゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) で分離しながらオンラインで ESI-MS 測定し、得られた平均分子量とポリスチレ

¹ 関西大学工学部応用化学科: 564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35

² 科学技術振興機構和田プロテオミクスプロジェクト: 594-1144 大阪府和泉市テクノステージ 3-1-10

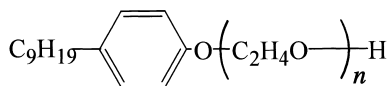


Fig. 1 Structure of nonylphenolpolyethoxylate surfactants

ン換算で求めた平均分子量を比較した¹⁵⁾. 森脇らは、ESI-MSによりノニルフェノールポリエトキシレート ($n = 1 \sim 4$) とカチオン化剤との錯形成能を調べた¹⁶⁾. Pareesらは、高速原子衝撃法 (fast atom bombardment, FAB), 2次イオン質量分析法 (secondary ion mass spectrometry, SIMS), フィールドデソープション法 (field desorption, FD), ESI, MALDIのイオン化法を用いて、低分子量の界面活性剤の質量分析を行い、マススペクトルから求めた平均分子量を比較した¹⁹⁾. Ayorindeらは、650~1450 Daの低分子量のノニルフェノールポリエトキシレートをMALDI-MS測定し平均分子量を求めた²³⁾.

MALDI法は、ESI法と比べて測定可能な m/z の範囲が広く、きょう雑物の影響が少なく、ハイスループット分析に適しているという特長がある. 更にMALDI-MSでは主として1価イオンとして検出されるのに対して、ESI-MSでは多価イオンとして検出されやすくスペクトルが複雑になる. したがって、分子量分布が広い合成高分子の場合、MALDI-MS測定のほうが有利である.

MALDI法では試料調製のマススペクトルへの影響が大きい. 溶媒の選択, マトリックスの選択, マトリックスと試料の混合比は特に重要である^{27)~31)}. また、カチオン化剤の影響も大きく、ポリメチルメタクリレート (polymethyl methacrylate, PMMA) やポリスチレンの測定におけるカチオン化剤の影響が報告されている³²⁾³³⁾.

分子イオンの構造情報は、MS/MS測定によるフラグメントイオンを解析することで得られる. MALDI法は、フラグメントイオンを得るために一般にポストソース分解 (post source decay, PSD) 法が用いられる. 山垣らは、糖鎖の構造解析においてPSD法が有効であることを報告している³⁴⁾³⁵⁾.

本研究では、分子量分布の異なるノニルフェノールポリエトキシレート (Fig. 1) のMALDI-MS及びPSD測定を行い、構造解析におけるこれらの分析法の有効性を調べた. 更にMALDI-MS及びPSD測定におけるカチオン化剤の影響を調べた.

2 実験

2.1 試料

界面活性剤は、市販されているノニルフェノールポリエトキシレートを用いた. GPCで得られたノニルフェノールポリエトキシレート (NP) の数平均分子量 (M_n) は、

660, 2420, 4620であり、それぞれNP₆₀₀, NP₂₄₀₀, NP₄₀₀₀と略す. α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸 (CHCA) はAldrichから、2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (DHB) 及びカチオン化剤 (LiCl, NaI, KCl, RbCl, CsCl, 酢酸, 酢酸アンモニウム), 溶媒 (アセトニトリル, 水), 質量校正用のアンギオテンシンI及びインシュリン (牛) は、和光純薬から購入した.

2.2 MALDI-MS

溶媒にアセトニトリル/水 (1/1 = v/v) を用いて、5 mg/mlの試料溶液, 2 mg/mlのカチオン化剤溶液及びマトリックスCHCAの飽和溶液を調製した. それぞれの溶液を体積比で試料:カチオン化剤:マトリックス = 1:1:1の割合にして試料板上で混合し、室温で風乾させた.

MALDI-MS測定は、島津製の飛行時間型質量分析計AXIMA-CFRを用いて、N₂レーザー (250 μ J, 波長337 nm, パルス幅3 ns) によるリフレクトロン正イオンモードで行った. 質量校正は、CHCA, アンギオテンシンI及びインシュリン (牛) のプロトン付加イオン m/z 190.05, 1296.69, 5730.61を用いて行った.

3 結果と考察

アルキルフェノールポリエトキシレートは、Fig. 1に示したように疎水性のアルキルフェノール部分と親水性のポリエトキシレート部分から成り、親水性・疎水性のバランスを制御しやすいために、工業的に最もよく用いられる非イオン型界面活性剤の1つである. 更に高度に物性を理解するために、質量分析によりアルキルフェノールポリエトキシレートに複雑に存在する1つ1つの成分を調べることに興味もたれる.

分子量が異なるノニルフェノールポリエトキシレート (NP₆₀₀, NP₂₄₀₀, NP₄₀₀₀) のMALDI-MS測定を行った. カチオン化剤を加えなくても、主としてNa⁺付加イオンとして検出され、K⁺付加イオンも小さいイオン強度で検出された. これらは環境中のNa⁺及びK⁺イオンが原因と考えられる. カチオン化剤のNa⁺を加えることにより、K⁺付加イオンが消失してNa⁺付加イオンだけが検出できた. Fig. 2は、カチオン化剤としてNaIを添加した場合のNP₆₀₀, NP₂₄₀₀, NP₄₀₀₀のマススペクトルである. ノニルフェノールポリエトキシレートは、44 Daの繰り返し単位を持つイオン群として検出され、これは分子内ポリエトキシレート部分 (-CH₂CH₂O-) に相当する. NP₆₀₀ではノニルフェノールポリエトキシレートの主ピーク群以外に、イオン強度が弱い14 Da大きいピーク群と小さいピーク群が検出された. 不純物として少量存在するオクチルフェノールポリエトキシレートとデシルフェノールポリエトキシレ

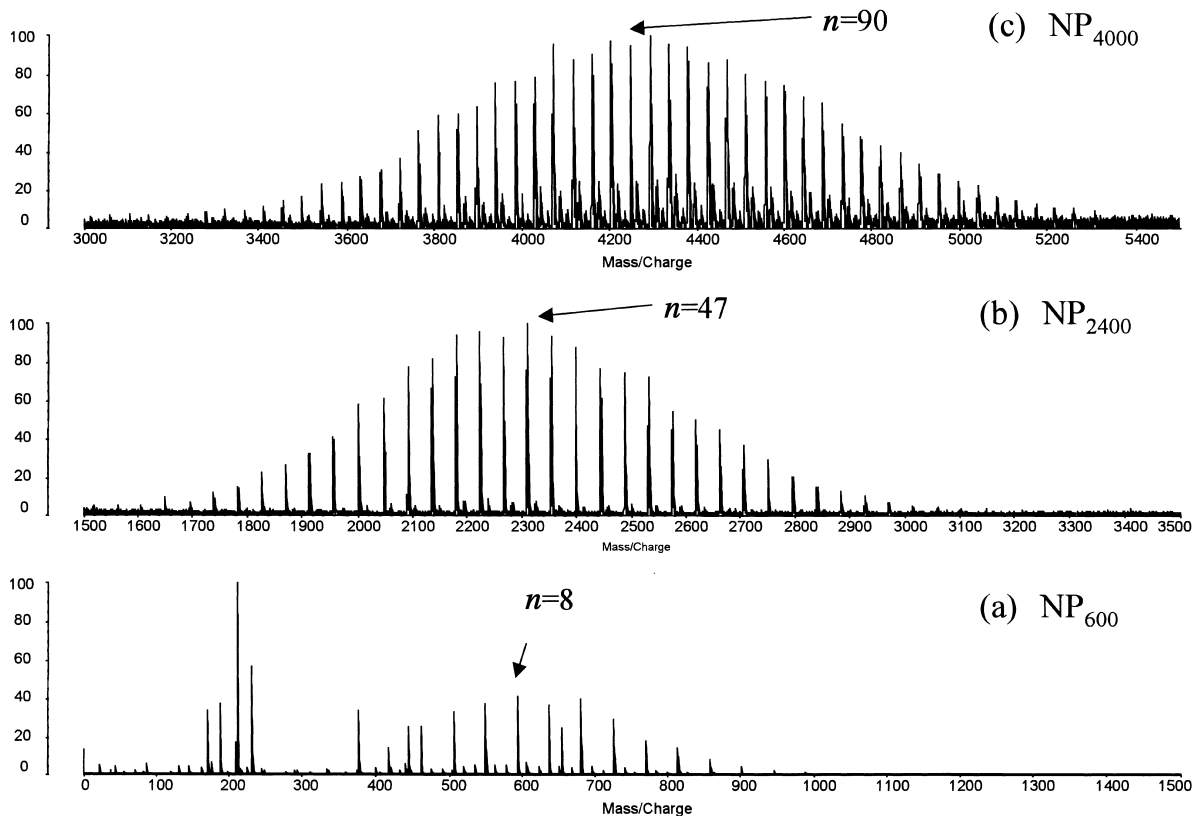


Fig. 2 MALDI mass spectra of nonylphenolpolyethoxylates, (a) NP₆₀₀, (b) NP₂₄₀₀, and (c) NP₄₀₀₀ with NaI as a cationizing agent

ートのイオンである。合成原料であるアルキルフェノールには、主成分とアルキル鎖の長さが異なる成分が存在する。アルキルフェノールの分析はガスクロマトグラフィー (GC)/MS 測定で可能であるが、分子量が大きいアルキルフェノールポリエトキシレートの分析では、MALDI-MS が有効であることが分かった。

NP₆₀₀ では m/z 595 ($n=8$) が、NP₂₄₀₀ では m/z 2311 ($n=47$)、NP₄₀₀₀ では m/z 4203 ($n=90$) が最もイオン強度が強かった。マススペクトルから得られた数平均分子量はそれぞれ、NP₆₀₀ が 595、NP₂₄₀₀ が 2369、NP₄₀₀₀ が 4364 であり、GPC の値 (NP₆₀₀, 660; NP₂₄₀₀, 2420; NP₄₀₀₀, 4620) とほぼ一致した。Ayorinde らは、数平均分子量が低い 650~1450 のノニルフェノールポリエトキシレートを MALDI-MS により測定し、平均分子量を算出している²³⁾。今回著者らは更に高分子量の 4000 程度のもでも数平均分子量を求めることが可能であることを明らかにした。MALDI-MS で得られる平均分子量は、分子量分布が広いポリマーでは、マスディスクリミネーションによる影響のために、正確な平均分子量を得ることが困難であるが²¹⁾²⁸⁾³⁶⁾、概略的な平均分子量の情報を得ることが可能であることが分かった。DHB を用いてマトリックスの MALDI 及び PSD スペクトルへの影響を調べたが、変化は

見られなかった。

NP₆₀₀ を用いてカチオン化剤の影響を調べた (Fig. 3)。酢酸、酢酸アンモニウムを加えても、 H^+ 、 NH_4^+ 付加イオンは検出されず、 Na^+ 付加イオンが検出された。これは、ノニルフェノールポリエトキシレートが系中に不純物として存在する Na^+ イオンと強く結合するためであると考えられる。アルカリ金属イオンを添加した場合、いずれの場合も添加した金属イオンだけが付加したイオンとして検出された。 Na^+ イオンを添加した場合、最もイオン強度が大きいスペクトルが得られた。マススペクトルから求めた数平均分子量は、 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ を用いた場合、それぞれ NP₆₀₀ で 611, 580, 642, 613, 631 の値が得られ、NP₂₄₀₀ では 2428, 2448, 2402, 2394, 2378 の値が得られ、NP₄₀₀₀ では 4357, 4402, 4429, 4390, 4415 の値が得られた。カチオン化剤の種類によって数平均分子量の値にほとんど差がなく、MALDI-MS 測定では Na^+ イオンをカチオン化剤に用いることが最適であることが分かった。

ノニルフェノールポリエトキシレートの繰り返し単位の数 (n) が異なる成分の PSD 測定を行った。 Li^+ 付加分子イオンをプリカーサーとしたときの PSD スペクトルを Fig. 4 に示す。ノニルフェノール部分から C_6H_{14} 、 C_9H_{18} が脱離し、ポリエトキシレート部分から C_2H_4O が脱離し

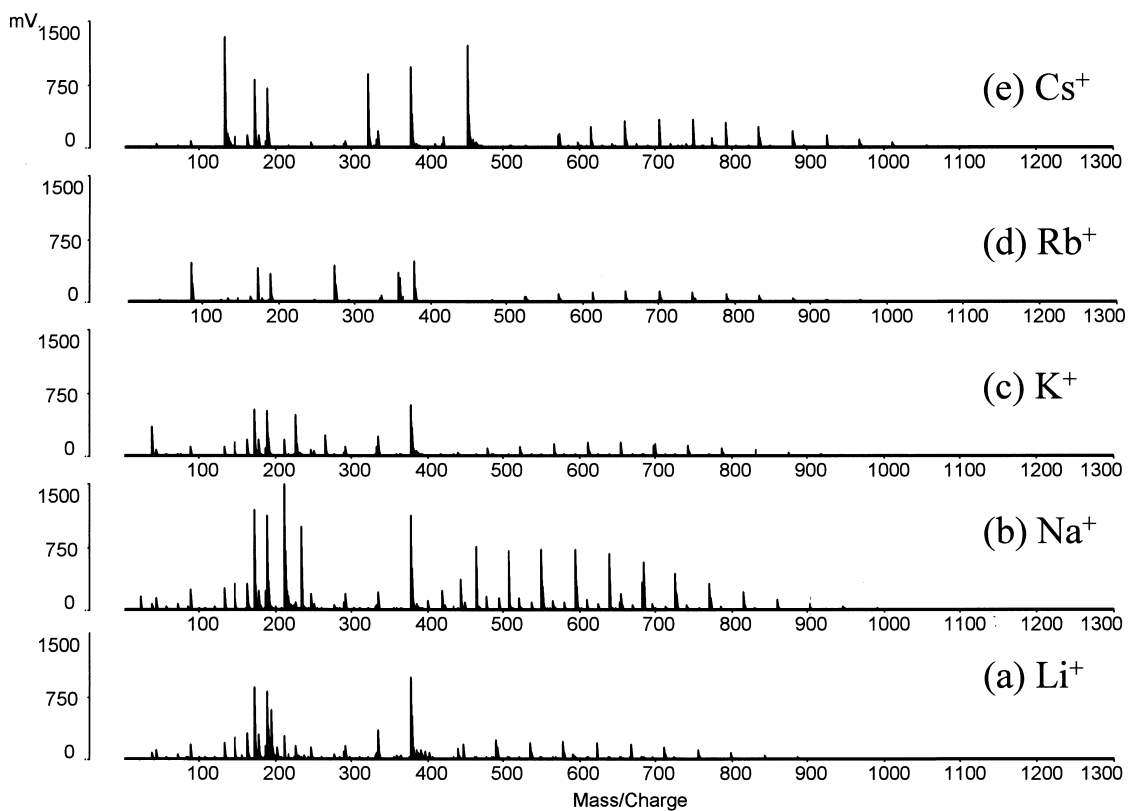


Fig. 3 MALDI mass spectra of NP₆₀₀ using various kinds of cationizing agents, (a) LiCl, (b) NaI, (c) KCl, (d) RbCl, and (e) CsCl

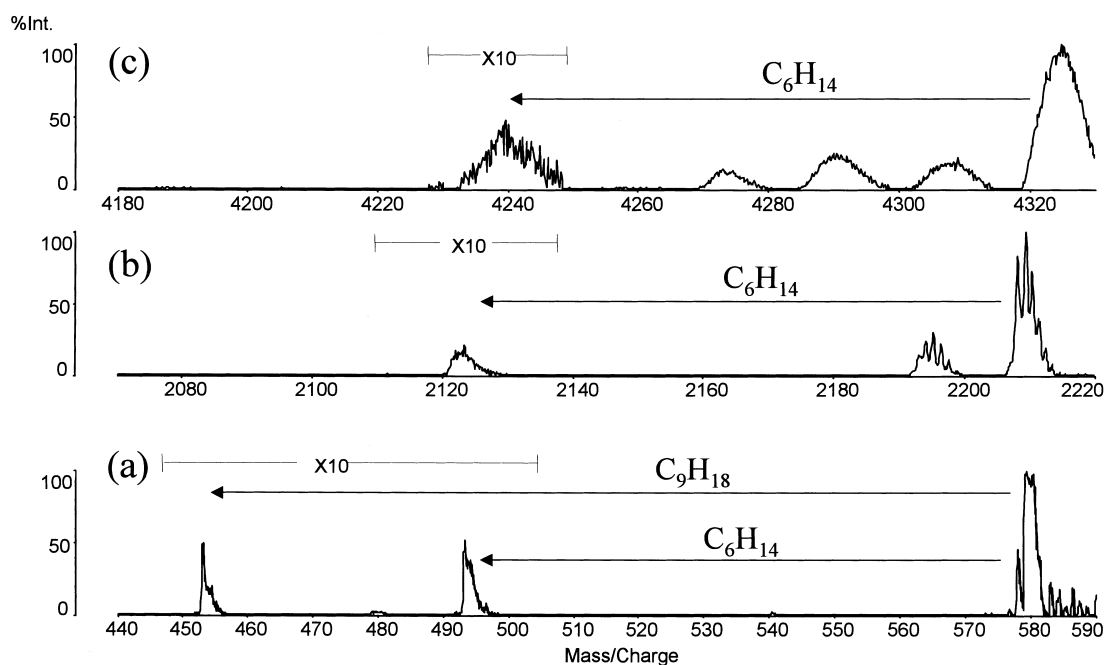


Fig. 4 PSD spectra of the Li⁺ adducted ion of nonylphenolpolyethoxylate, (a) $n = 8$, (b) $n = 45$ and (c) $n = 93$

Table 1 The lowest laser power for detection of C₆H₁₄ loss from alkali metal adduct ions of nonylphenolpolyethoxylates in PSD analysis

Adduct ion	Nonylphenolpolyethoxylates		
	<i>n</i> = 8	<i>n</i> = 45	<i>n</i> = 93
Li ⁺	70 ^{a)}	90	90
Na ⁺	90	90	100
K ⁺	ND ^{b)}	90	ND
Rb ⁺	ND	ND	ND
Cs ⁺	ND	ND	ND

a) The values indicate the laser power shown in the mass spectrometer. The maximum laser power (250 μJ) is 180.

b) No fragment ion was detected at the maximum laser power.

たイオンを検出した。次に、各金属付加イオンをプリカーサーイオンとして用いたときに得られる PSD スペクトルで、C₆H₁₄ 脱離フラグメントイオンが得られる最低のレーザー強度を Table 1 に示した。K⁺, Rb⁺, Cs⁺ 付加イオンでは、フラグメントイオンは生成しなかった。Na⁺ 付加イオンではレーザー強度を大きくすることで、フラグメントイオンが得られた。Li⁺ 付加イオンではフラグメントイオンが生じるレーザー強度が小さいにもかかわらず、強度の大きいフラグメントイオンが検出された。これらの結果から PSD によるフラグメント解析には、Li⁺ が最適なカチオン化剤であることが分かった。Scrivens らは、PMMA の MALDI-CID (collision induced dissociation) 測定によるフラグメントイオンの生成におけるカチオン化剤の影響を調べており、カチオンのイオン半径が大きくなるにつれて、フラグメントイオンの分布が *m/z* 値が大きいほうにシフトすると報告している³⁷⁾。これは、イオン半径が大きくなるにつれて、分子量が小さいフラグメントとの結合が弱くなるので、フラグメントイオンとして検出できないためと考えられている。今回のノニルフェノールポリエトキシレートの PSD 測定において、イオン半径が大きくなるとフラグメントイオンが得られなかったのは、分解したフラグメント分子とカチオンの相互作用が弱いために、フラグメントイオンとして検出できなかつたと考えられる。

ノニルフェノールポリエトキシレートの Li⁺ 付加イオン (*n* = 8) の PSD スペクトルを Fig. 4a に示した。プリカーサーイオンから 86 Da 小さい C₆H₁₄ が脱離したイオンが検出された。オクチルフェノールポリエトキシレートとドデシルフェノールポリエトキシレートの標準品の PSD 測定を行った。その結果、それぞれ 72 Da (C₅H₁₂), 128 Da (C₉H₂₀) の脱離が得られ、アルキル鎖の変化に対応することが分かった。このことより、ノニルフェノールポリエトキシレートの構造を C₆H₁₃-C(CH₃)H-CH₂-C₆H₄-O-(C₂H₄O)_{*n*}-H と推定した。オクチル-, ノニル- 及びドデシルフェノールポリエトキシレートでそれぞれ C₅H₁₂, C₆H₁₄, C₉H₂₀ が

脱離したイオンの構造は C(CH₃)H = CH-C₆H₄-O-(C₂H₄O)_{*n*}-H となつて、C₃H₅ 基の二重結合はベンゼン環部分と共役構造をとるために安定な構造となり、フラグメントイオンとして生成されやすいものと考えられる。この C₆H₁₄ の脱離はノニルフェノールポリエトキシレートの *n* = 8, 45, 93 の成分で検出された。プリカーサーイオンとこのフラグメントイオンの差でアルキル鎖部分の鎖長を同定できるものと考えられる。

n = 8 では、更にプリカーサーイオンから C₉H₁₈ が脱離したイオンが検出された。PSD 測定で得られたフラグメントイオンからアルキルフェノールポリエトキシレート分子の末端基であるアルキルフェノール部分の構造情報が得られることが分かった。

4 結 論

MALDI-MS 及び PSD 法により分子量が異なるアルキルフェノールポリエトキシレートの構造解析を行った。MALDI-MS 測定には最もイオン強度が強いスペクトルが得られる Na⁺ イオンが適しており、PSD 測定では Li⁺ 付加イオンが適していることが分かった。MALDI 及び PSD 測定により、ノニルフェノールポリエトキシレートの分子量分布や末端基の構造決定に有効であることが分かった。

文 献

- 1) C. M. Whitehouse, R. N. Dreyer, M. Yamashita, J. B. Fenn: *Anal. Chem.*, **57**, 675 (1985).
- 2) J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong, C. M. Whitehouse: *Science*, **246**, 64 (1989).
- 3) R. B. Cole: "Electrospray Ionization Mass Spectrometry", (1997), (J. Wiley & Sons, Inc., New York).
- 4) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
- 5) M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **57**, 2935 (1985).
- 6) M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp: *Int. J. Mass Spectrom.*, **78**, 53 (1987).
- 7) M. Karas, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **60**, 2299 (1988).
- 8) 佐藤浩昭, 大谷 肇: *ぶんせき (Bunseki)*, **2001**, 467.
- 9) S. D. Hanton: *Chem. Rev.*, **101**, 527 (2001).
- 10) G. Montaudo, R. P. Lattimer (eds.): "Mass Spectrometry of Polymers", (2001), (CRC Press, Boca Raton).
- 11) 荒川隆一, 奥野昌二: *ぶんせき (Bunseki)*, **2002**, 502.
- 12) M. Fujita: *Acc. Chem. Res.*, **32**, 53 (1999).
- 13) G. F. Swiegers, T. T. Malefetse: *Chem. Rev.*, **100**, 3483 (2000).
- 14) 荒川隆一: "大学院錯体化学", p. 184 (2000), (講談社サイエンティフィック).
- 15) L. Prokai, W. J. Simmsick, Jr.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 853, (1993).
- 16) H. Moriwaki, T. Nakano, S. Tsunoi, M. Tanaka: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**, 2208 (2001).
- 17) L. H. Levine, J. L. Garland, J. V. Johnson: *Anal. Chem.*, **74**, 2064 (2002).

- 18) J. K. Zhu, Z. Y. Shi: *Int. J. Mass Spectrom.*, **226**, 369 (2003).
- 19) D. M. Parees, S. D. Hanton, P. A. C. Clark: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, **9**, 282 (1998).
- 20) G. A. Cumme, E. Blume, R. Bublitz, H. Hoppe, A. Horn: *J. Chromatogr. A*, **791**, 245 (1997).
- 21) J. P. Barry, W. J. Carton, K. M. Pesci, K. M. Persci, R. T. Anselmo, D. R. Radtke, J. V. Evans: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 437 (1997).
- 22) M. Willets, M. R. Clench, R. Greenwood, G. Mills, V. Carolan: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 251 (1999).
- 23) F. O. Ayorinde, B. E. Eribo, J. H. Johnson, Jr., E. Elhilo: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 1124 (1999).
- 24) H. Sato, A. Shibata, Y. Wang, H. Yoshikawa, H. Tamura: *Polymer Degradation Stability*, **74**, 69, (2001).
- 25) S. H. Benomar, M. R. Clench, D. W. Allen: *Anal. Chim. Acta*, **445**, 255 (2001).
- 26) A. P. Morrow, O. O. Kassim, F. O. Ayorinde: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**, 767, (2001).
- 27) S. L. Cohen, B. T. Chait: *Anal. Chem.*, **68**, 31 (1996).
- 28) R. M. Whittal, D. C. Schriemer, L. Li: *Anal. Chem.*, **69**, 2734 (1997).
- 29) D. C. Schriemer, L. Li: *Anal. Chem.*, **69**, 4169 (1997).
- 30) H. Chen, B. Guo: *Anal. Chem.*, **69**, 4399. (1997).
- 31) A. T. Jackson, H. T. Yates, W. A. MacDonald, J. H. Scrivens, G. Critchley, J. Brown, M. J. Deery, K. R. Jennings, C. Brookes: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, **8**, 132 (1997).
- 32) H. Rashidzadeh, B. Guo: *Anal. Chem.*, **70**, 131 (1998).
- 33) D. Dogruel, R. W. Nelson, P. Williams: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**, 801 (1996).
- 34) R. Yamagaki: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **51**, 398 (2003).
- 35) T. Yamagaki, H. Nakanishi: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **12**, 1069 (1998).
- 36) B. C. Guo, H. Chen, H. Rashidzadeh, X. Liu: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 781 (1997).
- 37) J. H. Scrivens, A. T. Jackson, H. T. Yates, M. R. Green, G. Critchley, J. Brown, R. H. Bateman, M. T. Bowers, J. Gidden: *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Processes*, **166**, 365 (1997).

要 旨

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析 (MALDI-MS) 法とポストソース分解 (PSD) 法により, 600 から 4000 の異なる分子量分布の界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレートの構造解析を行った. MALDI スペクトルからノニルフェノールポリエトキシレートは, $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)$ の繰り返し単位を持つイオン群として検出された. また, 不純物として少量存在するオクチルとデシルフェノールポリエトキシレートを検出した. MALDI から得られた数平均分子量はゲルパーミエーションクロマトグラフィーの値とほぼ同じであった. アルカリ金属イオンのカチオン化剤の影響を調べた結果, MALDI 測定には Na^+ 付加がよく, PSD 測定では Li^+ 付加イオンが最も感度よくフラグメントイオンを生成することが分かった. PSD の測定結果は, ノニルフェノール末端部位に C_6H_{13} のアルキル鎖を有することを支持している.