

総合論文

超音波分解を利用した合成高分子の質量分析

荒川 隆一^①, 川崎 英也^①

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) や液体クロマトグラフィー大気圧化学イオン化質量分析法 (LC-APCI-MS) を用いて, 水系溶液におけるポリエチレンオキシド (PEO), ポリメタクリル酸メチル (PMMA), 及び PEO とポリプロピレンオキシド (PPO) コポリマーの超音波分解の研究を行った. 28 kHz ホーン型の低周波超音波装置を用いてそれぞれの高分子を超音波分解し, その照射時間による分子量分布の変化及び分解物の末端構造を詳細に解析した. その結果, 平均分子量が異なる 2, 6, 20, 2000 kDa の EO に対して, 最終的には末端基の異なる 5 種類のオリゴマー分解物 (分子量約 1000 Da) が生成し, それらの分解経路を推定した. 単分散 PMMA の超音波分解では, キャビテーションによる OH \cdot や H \cdot の生成によるラジカル (化学) 反応に加えて, キャビテーションバブルの崩壊による力学 (物理) 的な切断が高分子鎖の中央付近で起こることが示唆された. PEO-*block*-PPO の超音波分解では, 分解生成物の詳細な構造解析から結合の最初の切断は, PEO と PPO 鎖の結合部付近の主鎖で起こることが分かった. 更に, 酸素が付加した分解物が検出され, ヘリウム中の熱分解生成物との比較からその酸素源は水又は溶存酸素の可能性が示唆された. PEO-*block*-PPO の超音波分解は, 力学的な切断だけでなくラジカル反応も関与していることが示された.

1 緒 言

近年, 質量分析 (MS) は, マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI), エレクトロスプレーイオン化 (ESI), 及び大気圧化学イオン化 (APCI) のようなソフトイオン化法の発展により, 生体高分子だけでなく合成高分子の分野においても構造解析に用いられるようになった^{1)~4)}. 特に, MALDI-MS は分子量分布だけでなく, NMR や IR 分析では検出が困難な, 多種多様な合成高分子の末端基の情報を与えることができる.

しかし, 分子量が 10000 を超える合成高分子の MALDI-MS 測定は, 最適な溶媒やマトリックスの選択を行っても困難な場合が多い. また, 混合物試料では, イオン化効率の違いによって MALDI マススペクトルのイオン強度と実際の混合物の存在量が大きく異なる場合がある. これはイオンサプレッションと呼ばれている.

ESI や APCI のイオン化法は, MALDI よりも混合物試料のイオンサプレッションが起りやすい. それを解決するために, MS 測定の前に逆相クロマトグラフィー (RPLC), サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) と薄層クロマトグラフィー (TLC) によって分離した試料を準備する必要がある. 加えて, 合成高分子の ESI-MS スペクトルは, 多価

イオンで検出されるためイオンピーク同士の重なりで解析が困難になる場合がある. Aaserud ら⁵⁾ は, SEC を用いてポリメタクリル酸メチル (PMMA) を分離して ESI-MS 測定を行い, イオンピークの重なりもなく容易に解析できることを報告している. ESI に比べて APCI で得られるマススペクトルは 1 価イオンになり, そのスペクトルの解釈が容易になるため, 合成高分子のイオン化によく用いられる. Desmazieres ら⁶⁾ は, RPLC-APCI-MS を用いてアルキル鎖の異なるポリオキシエチレン界面活性剤を分離して構造解析を行った. また, ポリエチレンテレフタレート^{7)~9)} とポリブチレンテレフタレート¹⁰⁾ のそれぞれの環状オリゴマーが RPLC-APCI-MS で分析された. TLC と MALDI-MS を組み合わせた例として, ポリエチレンオキシド (PEO), ポリプロピレンオキシド (PPG) とポリオキシテトラメチレングリコール (PTMG) の混合物を質量分析前に分離することで, 分離前には検出できなかった PTMG を検出した報告がある¹¹⁾. しかし, これらの方法は, 広い分子量分布をもつ高分子の中の一部の低分子量域の成分を分析しているに過ぎない. したがって, 高分子量域の成分の構造情報を知るためには, 分解により高分子量成分を低分子化する必要がある.

合成高分子を低分子化する方法として, 熱¹²⁾¹³⁾, 光¹⁴⁾¹⁵⁾, 化学反応を利用した分解法¹⁶⁾, 及び超音波分解法がある. 熱分解法は分子をモノマーやダイマーレベルまで分解するため, 分子の繰り返し単位の情報は得られるが, 元の末端

^① 関西大学化学生命工学部化学・物質工学科: 564-8680 大阪府吹田市山手町 3-3-35

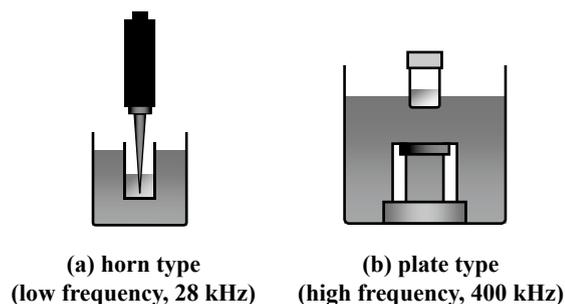


Fig. 1 Ultrasonic degradation system for (a) a horn- and (b) a plate-type transducer.

構造や全体構造を知ることはできない。元の構造からオリゴマーレベルに低分子化するために低温で分解する方法もあるが、分解に数日を要する¹⁷⁾。そのため、短時間で分解する方法が望まれている。

光分解法も熱分解法と同様、モノマーやダイマーレベルまで分解する傾向がある。Siegfried らは、水銀ランプを用いてポリ 2,6-ジメチル-1,4-フェニレンオキシドの光分解生成物の分析からその分解機構を明らかにしている¹⁴⁾。

超音波分解 (ultrasonic degradation ; UD) による合成高分子の低分子化において、これまでにポリスチレン¹⁸⁾、ポリプロピレン¹⁹⁾²⁰⁾、ポリブタジエン²⁰⁾、ポリアルキルメタクリレート²¹⁾、ポリビニルピロリドン²²⁾など数多くの報告がある。溶液に超音波を照射するとキャビテーションが発生し、その崩壊時には短寿命の高温・高圧の局所場 (ホットスポット) が形成する^{23)~25)}。例えば 20 kHz の超音波を水溶液に照射すると気泡の崩壊時に局所的に 4300 K もの温度になる²⁴⁾。このような高温下の気泡の中で水の分解が起きると活性ヒドロキシラジカルが発生する²⁶⁾²⁷⁾。この極限反応場ではユニークな化学反応が引き起こされる。超音波に由来するキャビテーションを利用した化学作用は無機、有機、高分子化学だけでなく環境、医学など多くの分野に応用されている。最近では、超音波は有機・無機物質の合成にも利用されている。この超音波による反応場によって、合成高分子の切断が起こると考えられている。これまでに高分子の分子量の低下は SEC や粘度測定によって評価されており、数時間の超音波照射により、例えば PEO, PMMA, ポリアクリルアミド (PAM), ポリアクリル酸ブチル (PBA) の分子量 $10^5 \sim 10^6$ の高分子が、数万の分子量にまで低分子化されることが報告されている²⁸⁾。しかし、質量分析を用いた末端基の構造及び分解過程の解析はこれまでほとんど報告されていない。

超音波分解は、試料の濃度、超音波装置の出力、試料溶液の温度などのパラメーターに依存すると言われている。Behnajady ら²⁹⁾による染料の超音波分解において、初期濃度が高く、超音波の出力が大きく、pH が 2、添加剤 NaCl

と H_2O_2 を入れたとき分解効率が上昇すると報告されている。また、Sujay ら³⁰⁾はポリ塩化ビニルの超音波分解の温度による影響を調べ、23~82 °C の範囲において、23 °C のとき最も分解すると報告している。Weissler らは、水溶液中で超音波照射により発生したラジカルがアセトニトリルを窒素、メタンと水素に分解すると報告した³¹⁾。そのため超音波照射の効果は、水を溶媒とした研究が系統的になされている。このように、超音波照射は高分子を低分子化できるため、超音波による合成高分子の分解は、合成高分子の低分子化技術として注目されてきた^{32)~38)}。

超音波分解の利点は特別な化学的処理をすることなく簡単な操作で行えることである。更に特定の条件では分子量分布をそろえたり、特徴的な構造をもつ化合物を生成したりできる。超音波分解による分子量の減少は、初めは劇的に起きるが、その後は徐々にある分子量に収束していく²⁸⁾。そのメカニズムは明らかではないが、キャビテーションバブルが関係しているといわれている。また、超音波分解の最近の応用として、ブロック共重合体の合成に利用されている³⁹⁾⁴⁰⁾。合成高分子の超音波分解は、キャビテーションによる 1) $OH\cdot$ 、 $H\cdot$ ラジカルの化学反応、2) 力学的な切断、又は 3) 気泡界面での熱分解が原因であると考えられている。しかし、超音波照射による生成物の構造やその生成過程についての詳細な研究は少ない。

本稿では、PEO⁴¹⁾、PMMA⁴²⁾ のホモポリマーや PEO とポリプロピレンオキシド (PPO) のコポリマー⁴³⁾ の溶液に超音波を照射して、MALDI-TOFMS 又は LC-APCI-MS を用いてその分解生成物の末端基の構造解析を行った研究を中心に解説する。分解生成物の質量分析から推察されるホモ及びコポリマーの超音波切断メカニズムについて述べる。

2 超音波分解装置

超音波照射は、ホーン型の 28 kHz 低周波超音波装置 (UR-20P, Tomy Seiko) と浴槽型の高周波超音波装置 (共振周波数 400 kHz) を用いて行った (Fig. 1)。一般的に、高分子の力学的な切断には低周波の超音波が有効であり、ラジカルの発生には高周波が有効であると知られている。ホーン型装置では、約 1 mg/mL 濃度の試料溶液 (2 mL) の中にホーン型振動子を直接入れて、超音波周波数 28 kHz で出力 20 W で超音波照射を行った。浴槽型装置では、2 mL の溶液が入ったサンプル管を水中で間接的に超音波を照射した。溶液温度は恒温水循環装置で 15 °C と一定にした。

3 質量分析装置

3.1 MALDI-MS

MALDI マススペクトルは、飛行時間型質量分析計 AXIMA-CFR (Shimadzu/Kratos) を用いて、リフレクトロン正イ

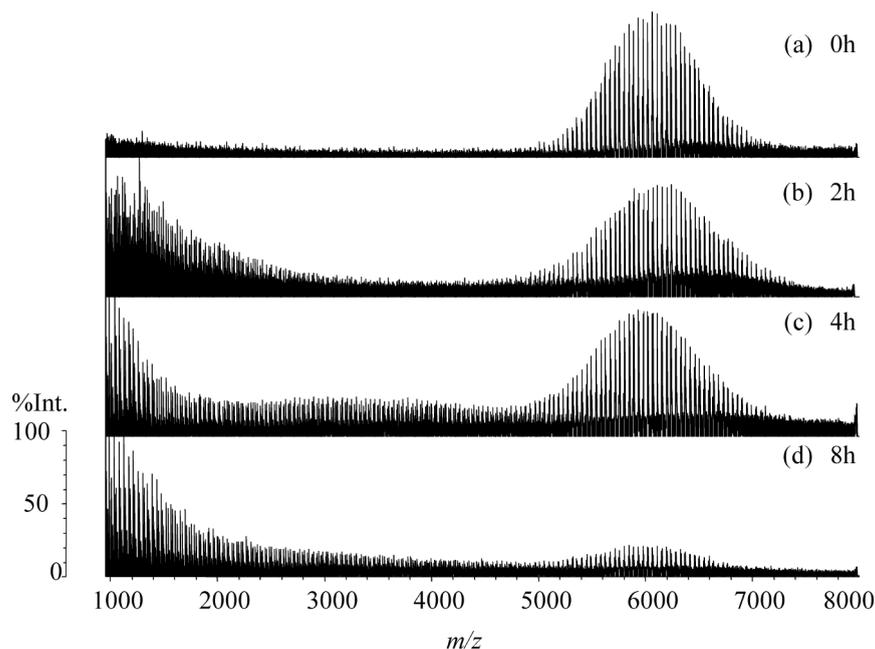


Fig. 2 MALDI-TOF mass spectra of ultrasonic degradation products of PEO6000 with irradiation times of (a) 0 h, (b) 2 h, (c) 4 h, and (d) 8 h.

オンモードで得た。N₂ レーザー (337 nm) で生成したイオンは、遅延引き出し条件下 20 kV で加速される。マトリックスには α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸 (CHCA, 10 mg/mL) 又はジスラノール (10 mg/mL) を、カチオン化剤は NaI (1 mg/mL) を用いた。試料の上にマトリックスを塗布するオンプレート法で MALDI プレート上に試料を調製した。滴下の順番はマトリックス、カチオン化剤、試料の順である。

3・2 LC-APCI-MS

LC-APCI-MS は、LC が HP1100 (Agilent Technologies), MS が LCQ Deca XP Max (ThermoElectron) を用いた。測定は質量範囲が 400-4000, 正イオンモードで行った。カラムは YMC-Pack ODS-A 3.0 × 100 mm 5 μ m (YMC Co., Ltd.) を用いた。

高質量分解能の LC-MS 測定では、LC が Prominence (Shimadzu), MS が LTQ Orbitrap (ThermoElectron) を用いた。測定は質量範囲が 400-4000, 正イオンモードで行った。カラムは上記と同じ ODS カラムと SEC カラム (TSKgel SuperMultipore HZ-N+HZ-M 4.6 × 100 mm ; TOSOH CORPORATION) の 2 種類を用いた。超音波照射した試料の 5 μ L を LC 測定に供した。

4 PEO の超音波分解⁴¹⁾

Fig. 2 は、28 kHz のホーン型超音波装置を用いて照射時間を変化させたときの平均分子量 6000 の PEO (PEO6000 と表す) の MALDI マススペクトル (m/z 950-8000) の変

化を示す⁴¹⁾。照射前の (a) 0 h のスペクトルは、 m/z 6000 付近に繰り返し間隔 44 u の PEO のピーク群が見える。(b) 2 時間照射すると PEO の超音波分解が起こり、 m/z 6000 のピーク群の他に m/z 500-3000 の範囲に超音波分解生成物のピーク群 (44 u 間隔) が見られる。照射時間が (c) 4 時間になると m/z 3000-5000 にも分解生成物が見られ、(d) 8 時間になると更に m/z 6000 のピーク強度は減少する。最終的には分解生成物の分子量は 1000 程度に収束する。平均分子量の異なる 2000, 20000, 200000 の PEO においても、MALDI マススペクトルは PEO6000 の場合と同じように最終的には分解して分子量は 1000 程度に収束する。これらの結果は過去の SEC や粘度測定の結果と一致している。

4・1 末端基の解析

PEO の超音波分解生成物の構造は、MALDI-MS スペクトルを解析することによって決定した。Fig. 3 に超音波照射 8 時間後の PEO6000 のマススペクトルの拡大図 (m/z 1050-1350) を示す。そのスペクトルから 5 種類のピーク (A, A', B, B', C) が確認できる。ピークはすべて Na イオン付加分子である。ピーク A_n (n は PEO の繰り返し単位数) は、両末端ヒドロキシル基の [HO-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)_n-OH + Na]⁺ である。同様に、ピーク A'_n は片末端がビニル基で反対側の末端がヒドロキシル基の [CH₂=CH-(OCH₂CH₂)-OH + Na]⁺ であるか、又は環状構造であると考えられる。ピーク B_n は、末端の一方がエチル基で、もう一方がヒドロキシル基の [H-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-OH + Na]⁺ である。ピーク

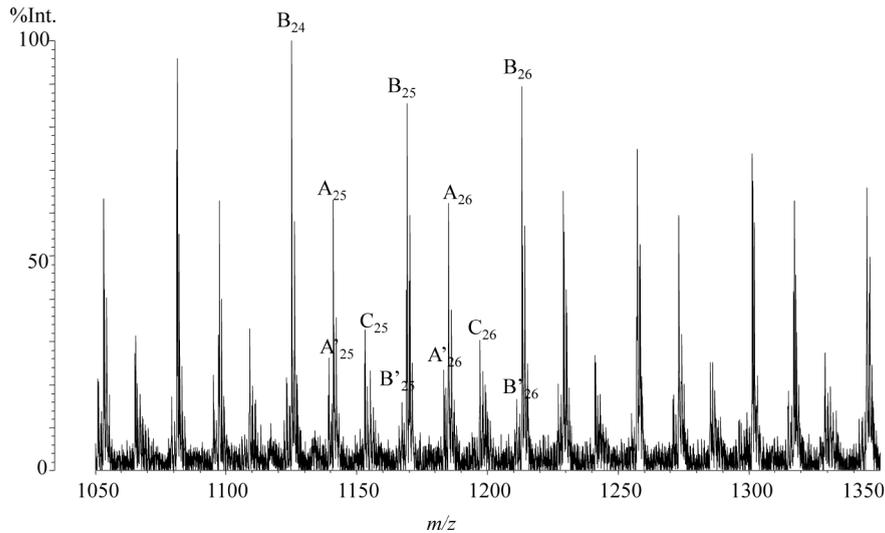
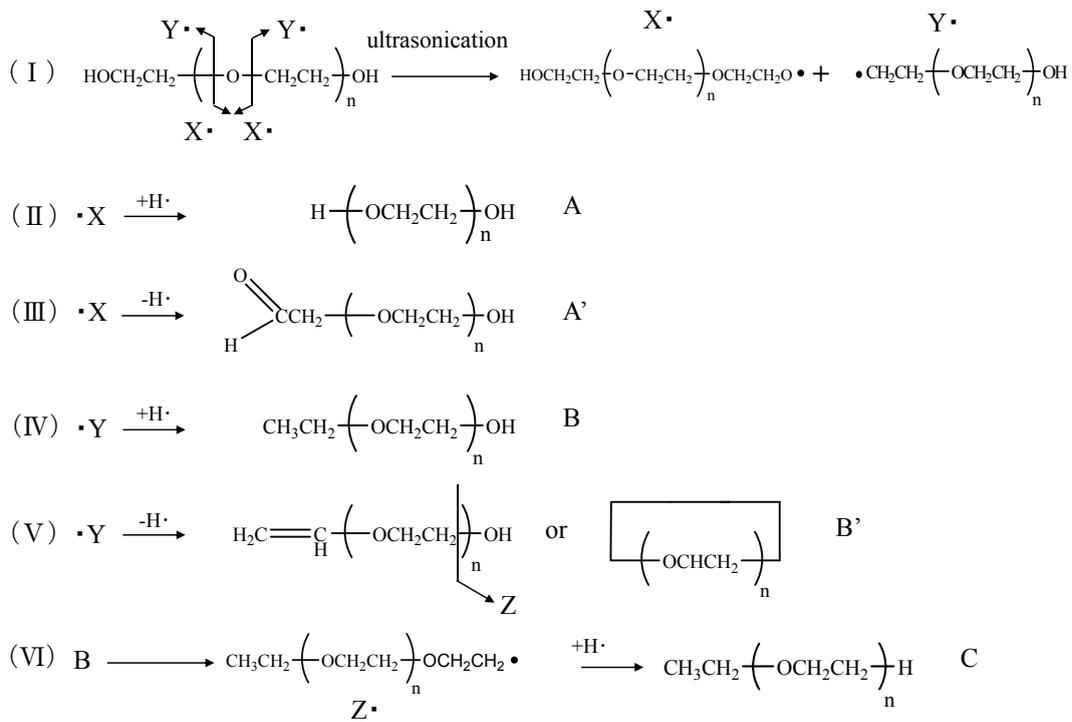


Fig. 3 MALDI-TOF mass spectrum of ultrasonic degradation products of PEO6000 with the irradiation time of 8 h.



Scheme 1 Proposed ultrasonic degradation processes of PEO.

B'_n は [CHOCH₂-(OCH₂CH₂)-OH+Na]⁺であり、末端がアルデヒド基とヒドロキシル基である。ピーク C_n は [H-CH₂CH₂-(OCH₂CH₂)-H+Na]⁺で両末端ともにエチル基である。このように、MALDI マススペクトルより、超音波分解生成物には末端構造の異なる複数の分解生成物が生成していることが明らかになった。

4・2 超音波分解の過程

生成物の末端構造から Scheme 1 に示す超音波分解過程

が提案できる。まず最初に、超音波により炭素-酸素結合で切断が起きて X[•] (ラジカル末端, ~CH₂CH₂•) と Y[•] (~CH₂CH₂O•) が生成する (I)。X[•] が溶媒もしくはポリマーの水素ラジカルを引き抜き A になる (II)。また X ラジカルが溶媒のヒドロキシルラジカルに、もしくは他のポリマーに水素ラジカルを引き抜かれると A' になる (III)。一方、Y の末端ラジカルが溶媒又はポリマーの水素ラジカルを引き抜くと B に (IV)、水素ラジカルを引き抜かれると B' になる (V)。

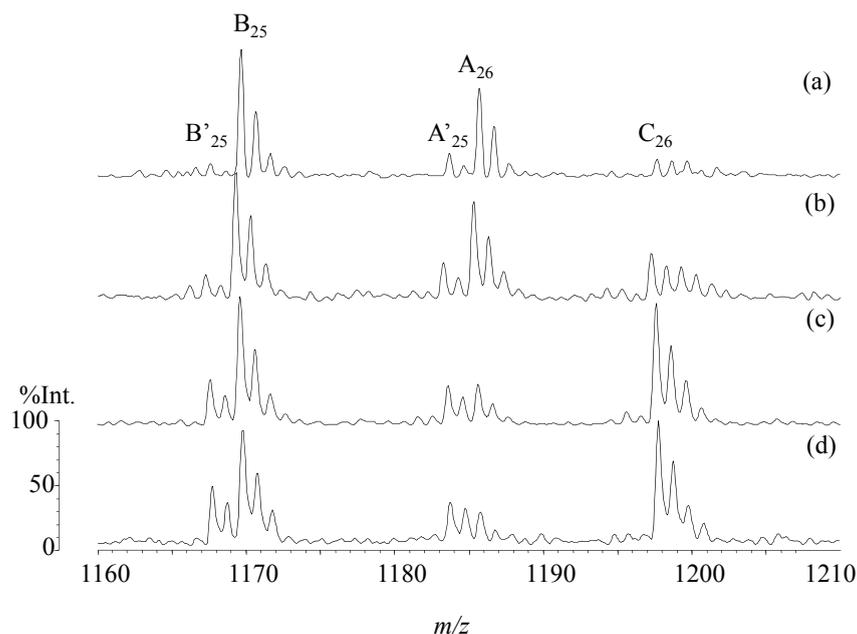


Fig. 4 MALDI mass spectra of different molecular weight PEOs with the irradiation time of 8 h; (a) $M_w = 2 \times 10^3$, (b) 6×10^3 , (c) 2×10^4 , and (d) 2×10^6 .

(IV) のプロセスで生成した B が超音波によって更に炭素-酸素間で切断が起きて Z が生成し, それ水素ラジカルを引き抜くと C が生成する (VI). 生成物 A, A', B, B' は一段階で生成するが, C は二回切断が起きなければ生成しない. 溶媒を水からアセトニトリルに変えると超音波分解は全く起らない. このことから, 超音波分解には水分子のラジカルが関係していると思われる.

超音波分解の分子量依存性も調べた. 分子量の異なる PEO に超音波を 8 時間照射したときの MALDI スペクトルの拡大図 (m/z 1160-1210) を Fig. 4 に示す. 分子量 20000 と 2000000 のスペクトル (c, d) と 2000 のスペクトル (a) と比べると, 分子量の増加に伴って相対的に A のピークが減少し, C のピークが増加していることが分かる. 最終生成物の種類は変わらないが, 相対強度が明らかに変化している. その理由は, C の生成過程では二回切断が必要なので, 高分子量ほどその可能性が大きくなるためと考えられる.

5 PMMA の超音波分解⁴¹⁾⁴²⁾

5.1 多分散 PMMA

28 kHz のホーン型超音波装置を用いて PMMA ($M_n = 1630$, 末端基は H と H) のアセトニトリル/水 (1/1 = v/v) 溶液に超音波照射したときの分解物の MALDI マススペクトルの変化を Fig. 5 に示す⁴¹⁾. Fig. 5a において, 超音波照射前には繰り返し間隔が 100 μ である PMMA の Na^+ 付加分子を検出した. 8 時間照射のスペクトルでは, 超音波照射による PMMA の分解により観測されるイオン群の平均的

な m/z が 700 付近まで減少した (Fig. 5b). 分解生成物の末端基は, 照射前と変わらず両末端とも水素原子であったことから, PEO の超音波分解では起こらなかった C-C 結合の切断が起きていると考えられる. その C-C 結合の切断は Scheme 2 の (I) で示した部位で起き, その結果, 末端 $\text{X}\cdot(\sim\text{CH}_2\cdot)$, もしくは $\text{Y}\cdot(\sim(\text{CH}_3)\text{CCOO}(\text{CH}_3)\text{C}\cdot)$ のラジカルが生成する. これらのラジカルが水素原子を引き抜いて (II と III), 元の構造と同じ PMMA が生成すると考えられる. ここで PMMA の超音波分解において注目すべきことは, Scheme 2 に示す Z \cdot ラジカルに由来する分解生成物が検出されないということであり, α 位の C-C 結合のみで切断が起こっていることが示される. また, 水素原子の供給源が溶媒であるか調べるために, 溶媒を水の代わりに重水又は重アセトニトリルにして超音波分解を行ったが, 重水素を含有する分解物のイオンは観測されなかった. よって水素原子の供給源は溶媒ではなく試料の PMMA であると考えられる.

末端基が異なる PMMA ($M_n = 3300$, 末端基は CH_3 と H) についても同様に超音波照射を行った. その結果, 照射時間が増すにつれて元の PMMA (末端基 CH_3 と H) が減少し, 両末端が共に H の PMMA 分解物が増大した.

5.2 単分散シンジオタクチック PMMA ($n = 29$)

同様に 28 kHz のホーン型超音波装置を用いて, PMMA の超音波分解過程を単分散シンジオタクチック PMMA ($n = 29$, 末端基は *tert*- C_4H_9 と H) を用いて検討した. Fig. 6 に超音波の照射時間による PMMA 分解の様子を示

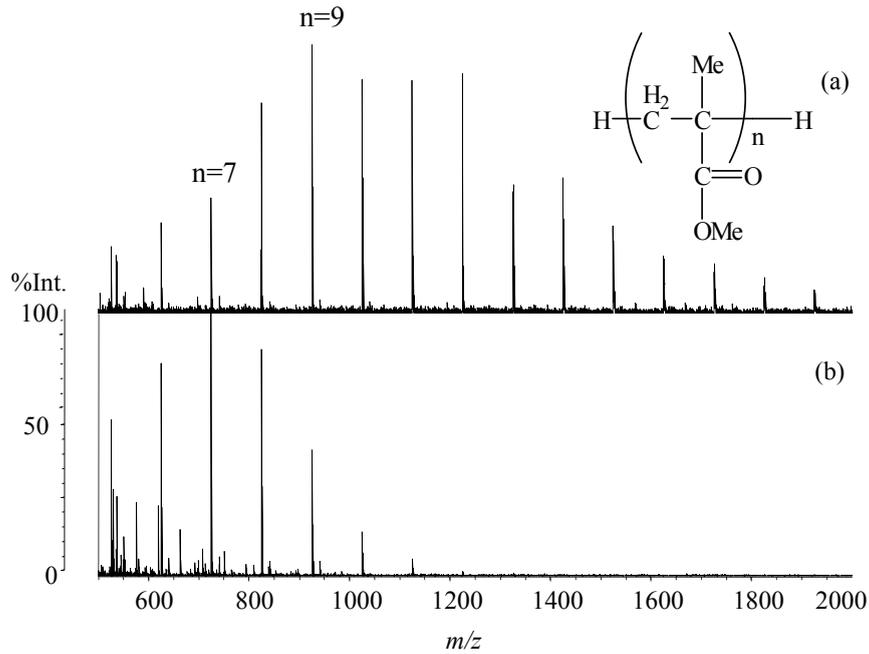
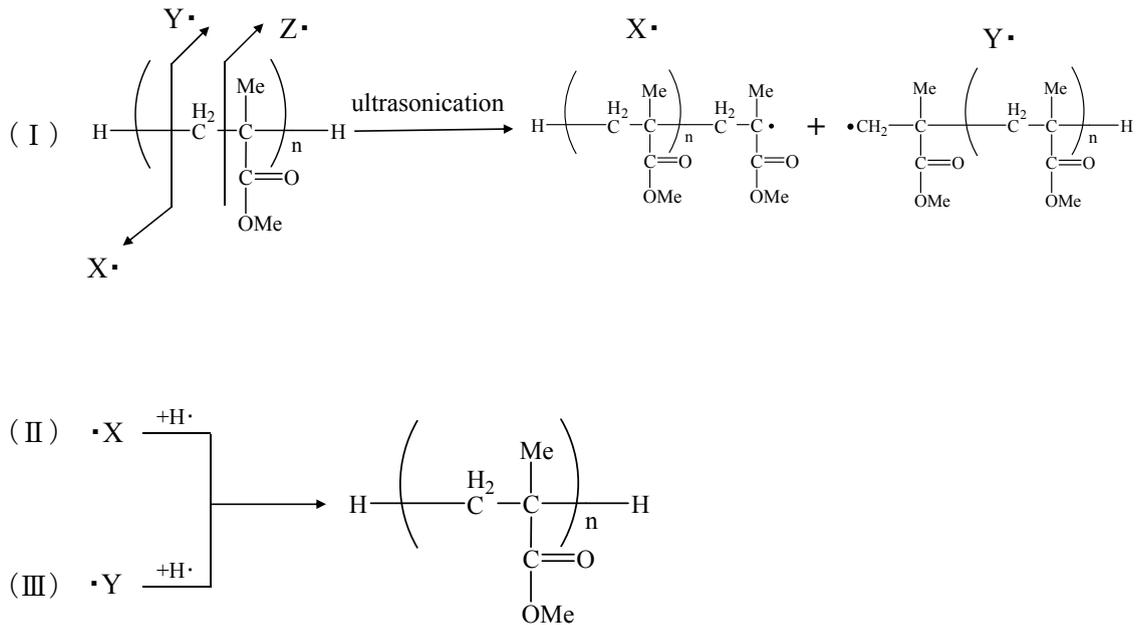


Fig. 5 MALDI-TOF mass spectra of ultrasonic degradation products of PMMA ($M_n = 1630$); the ultrasonication time of (a) 0 h and (b) 8 h.



Scheme 2 Proposed ultrasonic degradation processes of PMMA.

す。照射前には PMMA 単量体のみの Na^+ 付加分子が検出され、20 秒照射したところで繰り返し間隔が 100 u で両末端基が H である PMMA 分解物イオンが m/z 1400 付近に検出された (Fig. 6a-c)。これは元の分子量の約半分であることから、PMMA の超音波分解は高分子鎖の中央付近で起こっていると考えられる。なおアセトニトリルのみの溶液では、PEO の場合と同様に超音波分解はおこらない。30 分までの照射では分子量分布が広がり、その後分布は狭く

なっている。この分子量分布と式(1)で示される正規分布曲線を比較する。

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (1)$$

ここで μ は m/z 値の平均値、 σ^2 は分散を表す。それぞれの照射時間における分子量分布 (点線) と理論正規分布

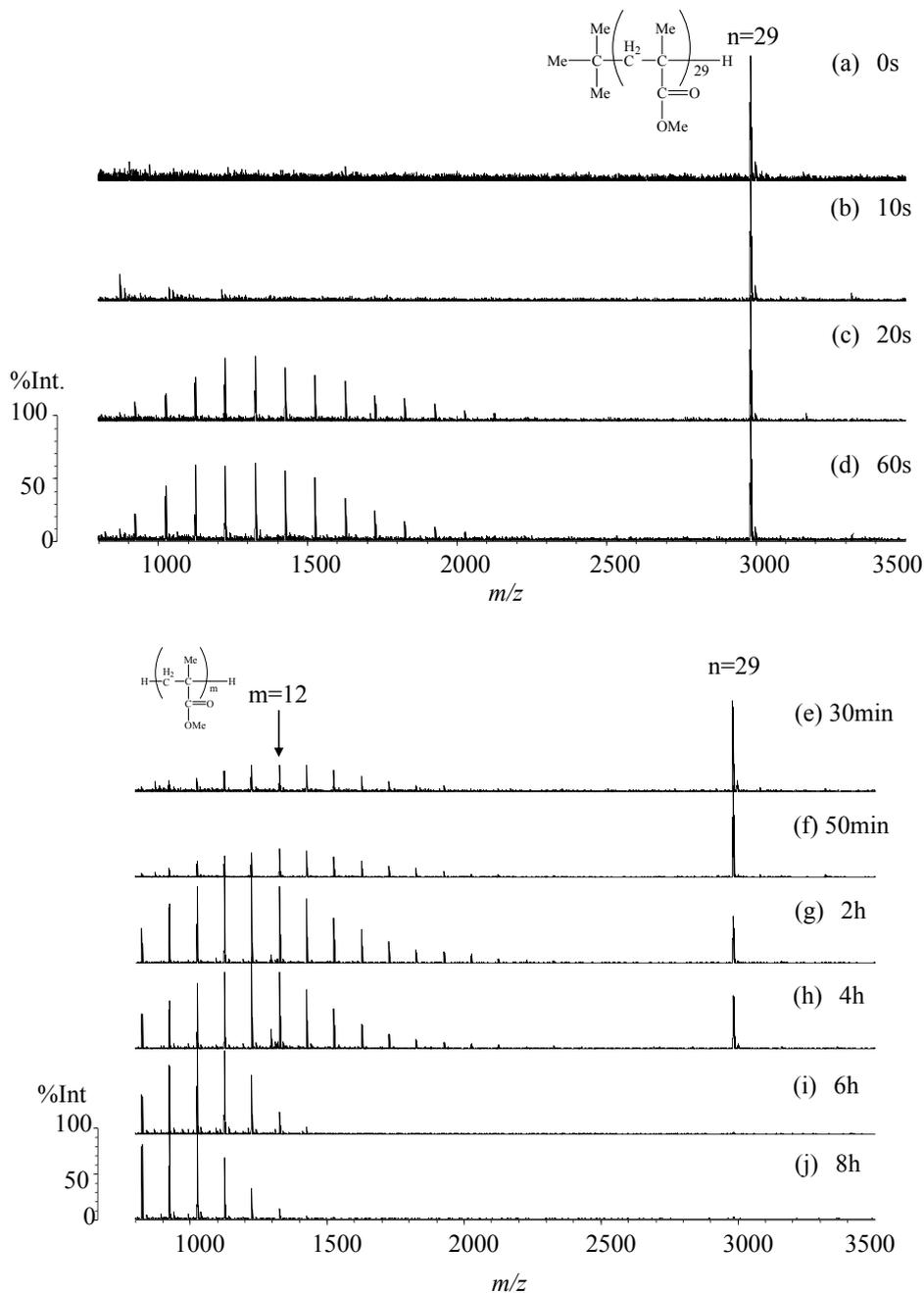


Fig. 6 MALDI mass spectra of monodispers PMMA ($n = 29$); the ultrasonication time of (a) 0 s, (b) 10 s, (c) 20 s, (d) 60 s, (e) 30 min, (f) 50 min, (g) 2 h, (h) 4 h, (i) 6 h, and (j) 8 h.

(実線) を Fig. 7 に示す. PMMA の超音波分解生成物の分子量分布は, 照射時間に依存せず正規分布に従っており, 照射時間が長くなるにつれてより正規分布に従うことが分かる. 照射時間と正規分布における σ^2 値の関係を Fig. 7 の右下に示す. 30 分の照射までは m/z 値の σ^2 値が増大し, 分解物の分子量分布が広がっている. それは重合反応が起こっているためと思われる. その後, 照射を続けると分子量分布は狭くなっている. この PMMA の超音波分解において注目すべきことは, 末端に $tert\text{-C}_4\text{H}_9$ 基を有する PMMA を超音波分解したにもかかわらず, すべての PMMA

分解物の両末端は H であり, $tert\text{-C}_4\text{H}_9$ 末端をもつ PMMA 分解物が全く検出されない点である. また, 超音波分解物のマススペクトルから, 両末端が H の PMMA から CH_3OH が脱離した副反応物が低い強度で検出されていることも分かった.

以上の結果から, 高分子末端から, 逐次的に切断が起こる Unzipping モデルによる PMMA の超音波分解過程の可能性が示唆された. つまり, まず $tert\text{-C}_4\text{H}_9$ 基が超音波により脱離し, ラジカルがポリマー末端に発生する. その後, 高分子末端からモノマー単位で逐次的に切断・分離が起こ

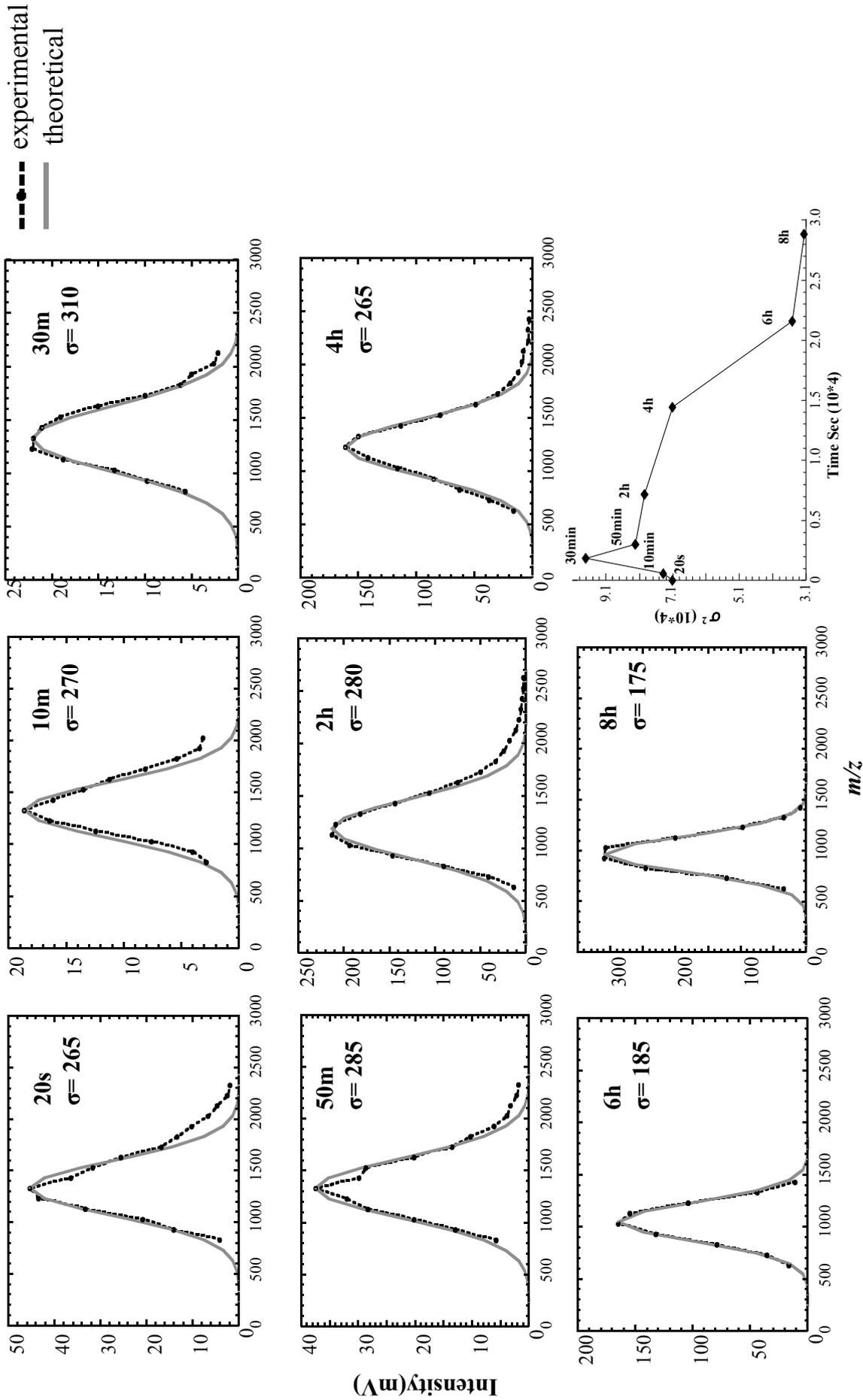


Fig. 7 Molecular weight distribution of PMMA with various durations of sonication, denoted by a dot line. The calculated normal distribution curves are also shown in the figure, as a solid line. The widths of molecular weight distribution of PMMA (i.e. variance, σ^2) are shown as a function of the ultrasonication times.

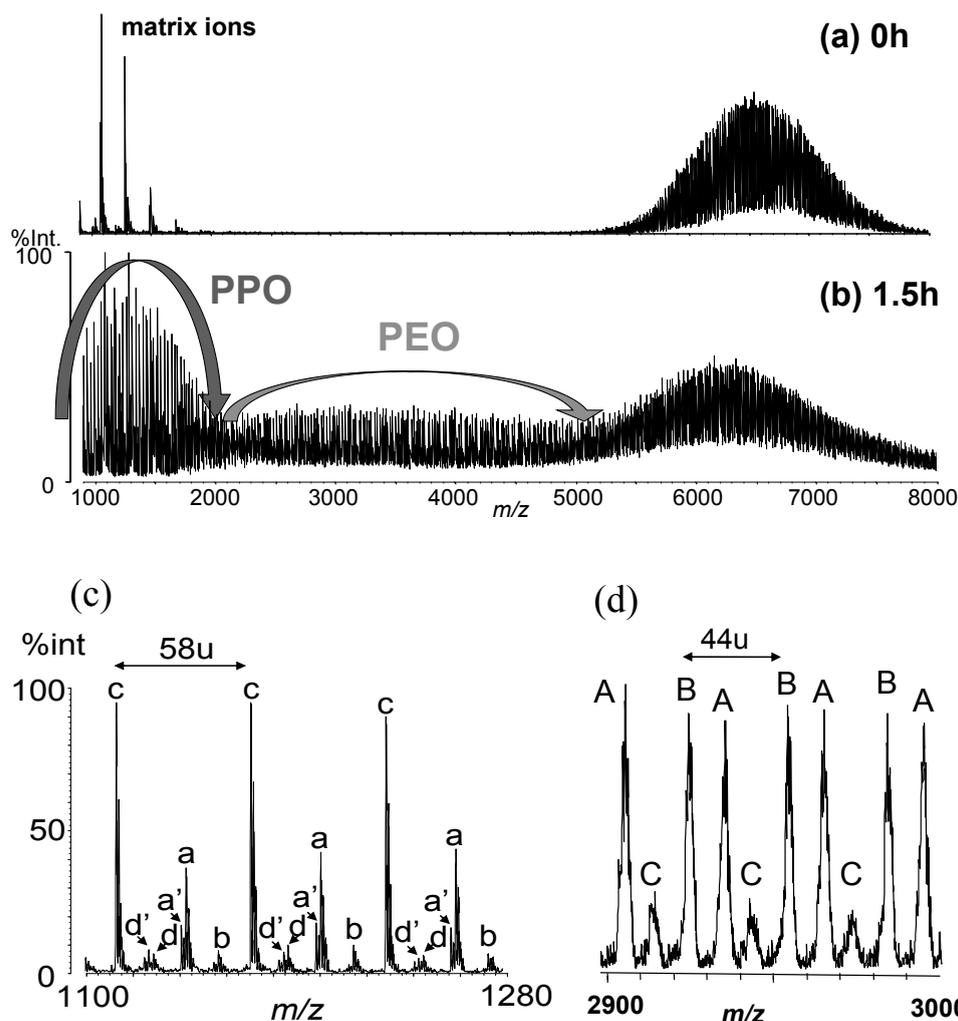


Fig. 8 MALDI mass spectra of PEO(5200)-*block*-PPO(1700) after ultrasonic irradiation of (a) 0, (b) 1.5 h, (c) 1.5 h (m/z 1100-1280) and (d) 1.5 h (m/z 2900-3000). The alphabet letters refer to the estimated structures in Table 1 and 2.

と考えれば、超音波分解生成物のPMMAに末端に *tert*-C₄H₉ 基がないことが説明できる。このような過程でPMMAの超音波分解が起きているとすれば、MMAモノマーが生成しているはずである。そこでGC-MSによる分解物の分析を行ったが、MMAモノマーを明確に検出することができなかった。しかし、末端に *tert*-C₄H₉ 基をもつ分解物は観測されなかったので、高分子鎖の中央付近で起こっている分解に加えて、Unzipping型の開裂も一部競争的に進行していると思われる。

6 EO-PO ブロック共重合体⁴³⁾

2, 3元系の共重合体ポリマーの質量分析は、ホモポリマーに比べてマススペクトルが複雑になり、その解析が困難となる。しかし、超音波分解によりオリゴマーレベルまで低分子化され、かつ特異的な結合位置の切断が可能であれば、質量分析を利用した共重合体ポリマーの構造解析が期待できる。そこで、ブロック共重合体の超音波分解生成

物をMALDI-MSやLC-APCI-MSなどの質量分析法により解析した。

6・1 PEO(5200)-*b*-PPO(1700)

6・1・1 MALDI-MS 28 kHzのホーン型超音波装置を用いて、PEO(5200)-*b*-PPO(1700)ブロック共重合体水溶液に超音波照射したときのMALDI-MSマススペクトルをFig. 8に示す。照射前では、 m/z 5000-8000に共重合体のNa⁺付加分子群が検出されている。超音波照射1.5h後のマススペクトルでは、 m/z 1000-2000と m/z 2000-5000に超音波分解物の二つのイオン群が検出されている。それらイオンの拡大スペクトルの解析から、 m/z 1000-2000 (Fig. 8c)ではプロピレンオキシド(PO)鎖に相当する58 u間隔のイオン群、 m/z 2000-5000 (Fig. 8d)ではエチレンオキシド(EO)鎖に相当する44 u間隔のイオン群が検出されている。したがって、 m/z 1200付近の分解物はPOが主鎖、 m/z 3000付近の分解物はEOが主鎖であることが分かる。

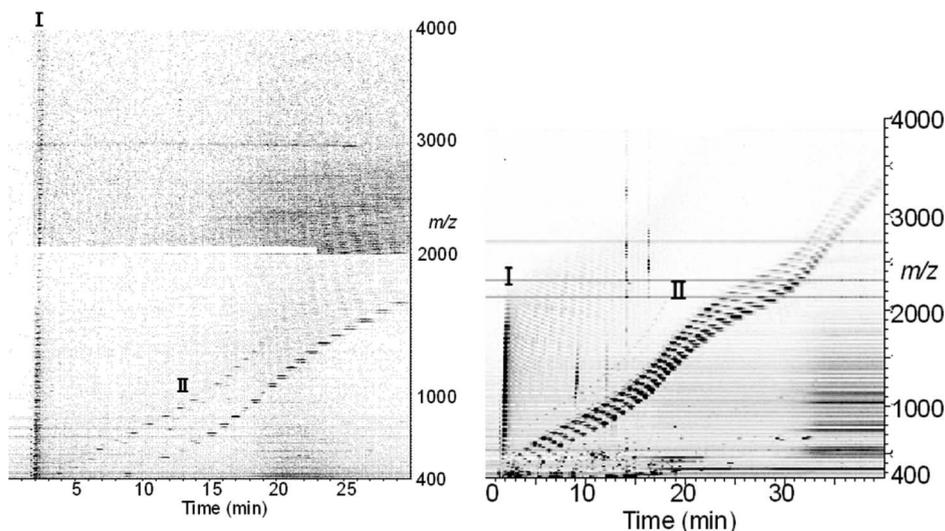


Fig. 9 Two-dimensional plots of LC-APCI-IT-MS for (a) PEO(5200)-*block*-PPO(1700) and (b) PEO(2700)-*block*-PPO(5500) after ultrasonic irradiation of 1.5 h and 8 h, respectively.

これらの分解生成物のマススペクトル解析から、 m/z 1200 付近の PO 主鎖の分解生成物は a, a', b, c, d, d' の 6 種類のイオンであることが分かった。一方、 m/z 3000 付近の EO 鎖の分解生成物については A, B, C の 3 種類のイオンを区別できたものの、分解能が悪く強度も低いために、分解生成物の構造は決定できなかった (Fig. 8d)。これは、MALDI において EO 鎖のイオン化効率が PO 鎖よりも低いために、イオンサプレッションによって EO 鎖の分解物イオンの強度が小さくなっているからである。このような多種類のポリマーの混合物を詳細に質量分析するためには、クロマト分離を行うことが有効である。そこで、LC-APCI-MS によりブロック共重合体の超音波分解生成物の構造解析を行った。

6.1.2 LC-APCI-MS Fig. 9 は、ODS カラムのクロマトグラフィーをつないだイオントラップ型質量分析装置 (LC-APCI-IT-MS) を用いて得られた PEO(5200)-*b*-PPO(1700) 共重合体の超音波分解物の二次元プロットである。縦軸が m/z 、横軸が保持時間 RT (min) を示す。試料イオンピークが観測されたところは、黒帯で表されている。RT(min) = 1.5 - 3.0 に分子量に関係なくカラムに保持されない分解物 I 群と RT = 5.0 - 25.0 に保持される分解物 II 群が見られる。分解物 II 群の 2 種類の分布は、ODS カラムに対し保持力の弱い構造 (末端基に親水基) と保持力の強い構造 (末端基にアルキル基) を持つポリマーであると推測できる。I 群と II 群のマススペクトルを Fig. 10 に示す。I 群の RT = 1.5-3 の LC-APCI-IT-MS スペクトルでは、44 間隔の EO を主鎖にもつ末端基の異なる 4 種類の分解物 A, A', B, C のイオンが検出された (Fig. 10a)。一方、II 群の RT = 12-16 のマススペクトルでは、58 間隔の PO を主鎖にもつ 6 種類の分解物を確認することができた (Fig. 10b)。Table 1

と 2 に、これら EO 鎖と PO 鎖のそれぞれの分解物イオンに相当する構造を示す。興味深いことに、MALDI-MS 及び LC-APCI-IT-MS の結果から、PEO(5200)-*b*-PPO(1700) 共重合体の超音波分解生成物は、PEO 及び PPO のホモポリマーのみで、EO 鎖と PO 鎖の両方を含むコポリマーをほとんど含んでいないことが明らかとなった。これより、PEO-*b*-PPO コポリマーの超音波分解が、EO 鎖と PO 鎖の境界部分で起こっていると考えられる。

Table 1 の A', B, C のオリゴマー構造について、それぞれ 2 種類の末端基の異なる EO 鎖が示唆されたが、その正確な末端構造は決定できなかった。そこで、これら A', B, C のオリゴマーの末端基の構造を決定するために、高分解能オービトラップ型質量分析計 (分解能 10 万) を用いて MS 測定、及び解析を行った (Fig. 11)。その結果、A は 1 種類のイオンのみが検出され、A', B, C のイオンに対して、それぞれ 2 種類の構造をもつイオンの存在が確認された。Scheme 3 には、EO を主鎖にもつ分解物の推定生成経路を示す。高分解能マススペクトルにおける強いイオン強度の A 及び A', C₂ イオンは、超音波分解後に周りから水素原子を引き抜いて生成したイオンである。B₁, C₁ イオンは、OH[•]又は O₂^{•-}ラジカルの酸素原子が付加したイオンであると考えられる。酸素付加イオンが検出されたことから、超音波照射による分解の機構は物理的な切断に加えてラジカルが分解に関与する化学的な切断も起こっていると推察される。同様に PEO(5200)-*b*-PPO(1700) 共重合体からの PO 鎖を主鎖にもつ超音波分解物の構造を Table 2 に示す。

先に述べた超音波分解生成物の酸素付加の影響を調べるために、ヘリウム雰囲気下で 300 °C の熱分解を行ったときの B₁, B₂ イオンの高分解能スペクトルを Fig. 12 に示す。超音波分解の場合とは異なり、水素原子の付加イオン B₂ が

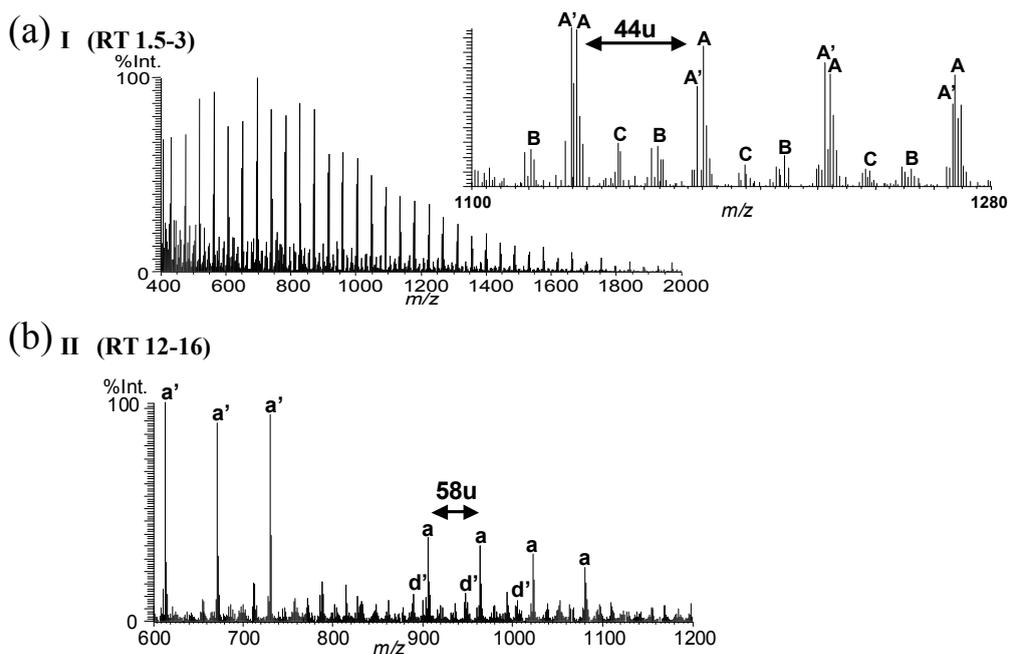


Fig. 10 LC-APCI-MS spectra of (a) RT = 1.5-3 min (m/z 400 – 2000) and (b) RT = 12-16 min (m/z 600 – 1200). The alphabet letters refer to the estimated structures in Table 1 and 2.

Table 1 Structure estimation of the EO chain in the high resolution LC-APCI-MS spectra

	Oligomer structure	$n^a)$	Composition H^+ adduct	theoretical mass	RI ^{b)}
A	<chem>HO(CH2CH2O)nH</chem>	25	C50 H103 O26	1119.67321	100
A' ₁	<chem>O=CHCH2O(CH2CH2O)nH</chem>	24	C50 H101 O26	1117.65756	83
A' ₂	<chem>CH3CH(CH3)O(CH2CH2O)nH</chem>	24	C51 H105 O25	1117.69394	
B ₁	<chem>HO(CH2CH2O)nCHO</chem>	25	C51 H103 O27	1147.66813	19
B ₂	<chem>HO(CH2CH2O)nCH2CH3</chem>	25	C52 H107 O26	1147.70451	
C ₁	<chem>HOOCCH2O(CH2CH2O)nH</chem>	24	C50 H101 O27	1133.65247	18
C ₂	<chem>HOCH2CH(CH3)O(CH2CH2O)nH</chem>	24	C51 H105 O26	1133.68886	

a) n : the degree of polymerization. b) RI : the relative intensity obtained from LC-APCI-MS.

酸素付加イオン B₁ よりも強い強度で観測される。よって超音波分解における酸素付加体の酸素源は、水分子又は溶存酸素であると思われる。

6・2 PEO(2700)-*b*-PPO(5500) と PEO(4000)-PPO(2000)-PEO(4000)

6・2・1 LC-APCI-MS 28 kHz のホーン型超音波装置による PEO(5200)-*b*-PPO(1700) の最初の切断は、EO と PO 鎖の結合部で起こることが示された。同様にこの結合部でのブロック共重合体の超音波分解は、EO と PO 鎖の

Table 2 Structure estimation of the PO chain in the high resolution LC-APCI-MS spectra

	Oligomer structure	n ^{a)}	Composition H ⁺ adduct	theoretical mass	RI ^{b)}
a		19	C57 H117 O20	1121.81327	10
a'		18	C58 H119 O19	1119.83401	100
b		19	C58 H119 O20	1135.82892	1.5
c		18	C56 H115 O19	1091.80271	< 1
d		18	C56 H115 O20	1107.79762	1.6
d'		18	C56 H113 O20	1105.78197	2.9

a) n : the degree of polymerization. b) RI : the relative intensity obtained from LC-APCI-MS.

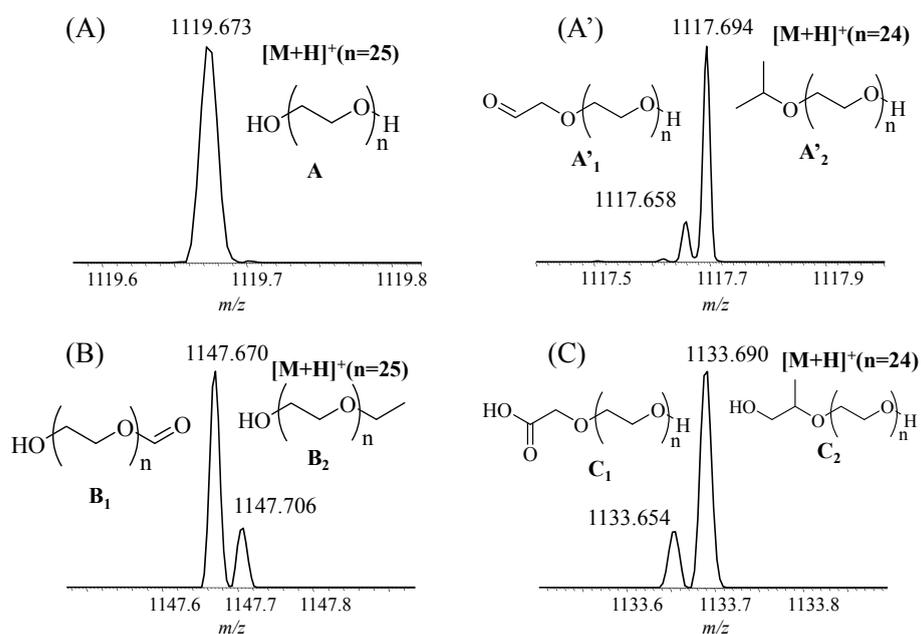
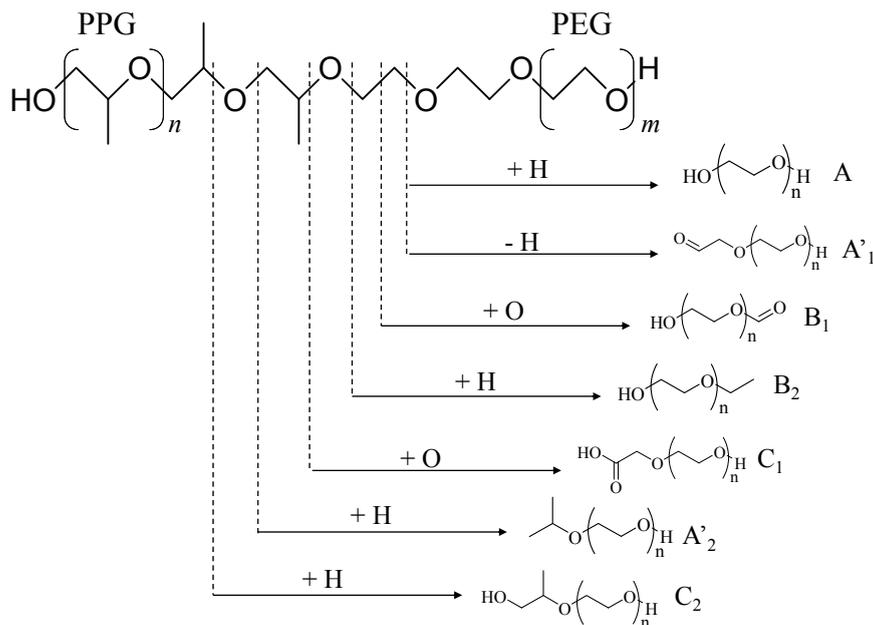


Fig. 11 LC-APCI-orbitrap-MS spectra of PEO(5200)-*block*-PPO(1700) after ultrasonic irradiation of 1.5 h.

組成比の異なる 2 元, 3 元系ブロック共重合体についても起こることが示された. 超音波照射 8 h 後の PEO(2700)-*b*-PPO(5500) の LC-APCI-MS の二次元プロットは, PEO(5200)-*b*-PPO(1700) と同様, 分子量に関係なくカラムに保持されない I 群 (EO 鎖) と保持される II 群 (PO 鎖) のみが観測された. EO 鎖の分解物は分解前の EO 鎖の分子量が 2700 に対して m/z 2400 まで, PO 鎖の分解物は分解前の PO の分子量が 5500 に対して m/z 4000 近くまで分解している.

PEO(4000)-PPO(2000)-PEO(4000) のトリブロック共重合体の場合も, 超音波分解は EO と PO 鎖の結合部付近で起こると同様の結果が得られた. この超音波分解に特徴的な EO と PO 鎖の結合部付近での切断機構は明らかではないが, EO と PO 鎖の水への溶解性が異なるため EO と PO 鎖の結合部にひずみが生じて, 超音波による切断が起こりやすくなっていると推察している.



Scheme 3 Proposed ultrasonic degradation processes of PEO(5200)-*b*-PPO(1700).

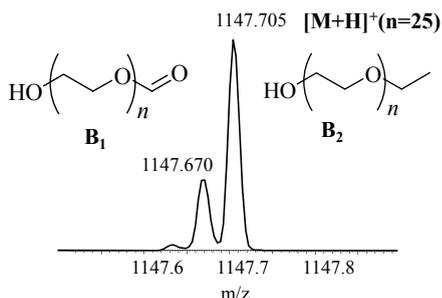


Fig. 12 LC-APCI-orbitrap-MS spectra of thermal degradation products of PEO(5200)-*block*-PPO(1700).

7 タンパク質

1980年代に入るとペプチド、タンパク質の構造解析に質量分析が汎用され始めた。しかし、タンパク質の分子量が大きくなるほど解析は困難となる。タンパク質を低分子化する手法として、エドマン分解、酵素分解や酸による加水分解などがある。ペプチド水溶液に放射線照射すると、ヒドロキシラジカルによってペプチドの分解及びアミノ酸側鎖が酸化されたペプチド酸化体が生成することが知られている⁴⁴⁾。Takayamaらは、ペプチドの超音波分解においてカテコールがヒドロキシラジカルによる酸化副反応を抑制する最も効果的な添加剤と報告している⁴⁵⁾。

Fig. 13は、28 kHzのホーン型超音波装置を用いて、1 mM カテコールを添加したメリチン溶液に1 h 超音波照射した後のMALDI-MSスペクトルを示す。m/z 2846.5は[メリチン+H]⁺である。m/z 500-2500に照射前には検出されな

かった分解物イオンが見られ、その拡大スペクトルはメリチンのアミノ酸配列を反映している。

8 ルミノール発光

ポリエーテルのPEOは、超音波照射によって力学的な切断やラジカル発生による化学的な分解が起こることが知られている。PEOの超音波分解物の質量分析の結果から、分解生成物の中には分子内での開裂や再結合だけでは説明できない末端基構造を持った化合物が見られる。そのため水溶液中での超音波分解機構には、キャビテーションにより生成するOHラジカル、又は他の酸化力を持ったラジカルが関与しているものと思われる。ルミノール発光反応を利用して、PEOの超音波分解におけるOHラジカルなどの影響を調べることができる。ルミノール発光は、超音波照射により生成するラジカルの酸化作用によって促進されることが知られおり、この発光をモニターすることで超音波照射により生成するラジカル量を見積もることができる⁴⁶⁾。

浴槽型 (Fig. 1b) の高周波超音波装置 (400 kHz) を利用したルミノール発光検出装置を製作した。振動子への印加電圧を50, 750, 100 Vと変化させたとき、ルミノール (0.2 mg/mL) と炭酸ナトリウム (5 mg/mL) を含む水溶液の発光分布と30分照射におけるPEO6000の分解物のMALDIマススペクトルをFig. 14に示す。印加電圧の増加に伴って発光量 (ラジカル生成量) 及び分解物イオンの増加が観測されている。分解物の種類は、28 kHzのホーン型装置を使用したときの種類と同じであった。更に、OHラジカルの捕捉剤としてよく知られているt-ブチルアルコー

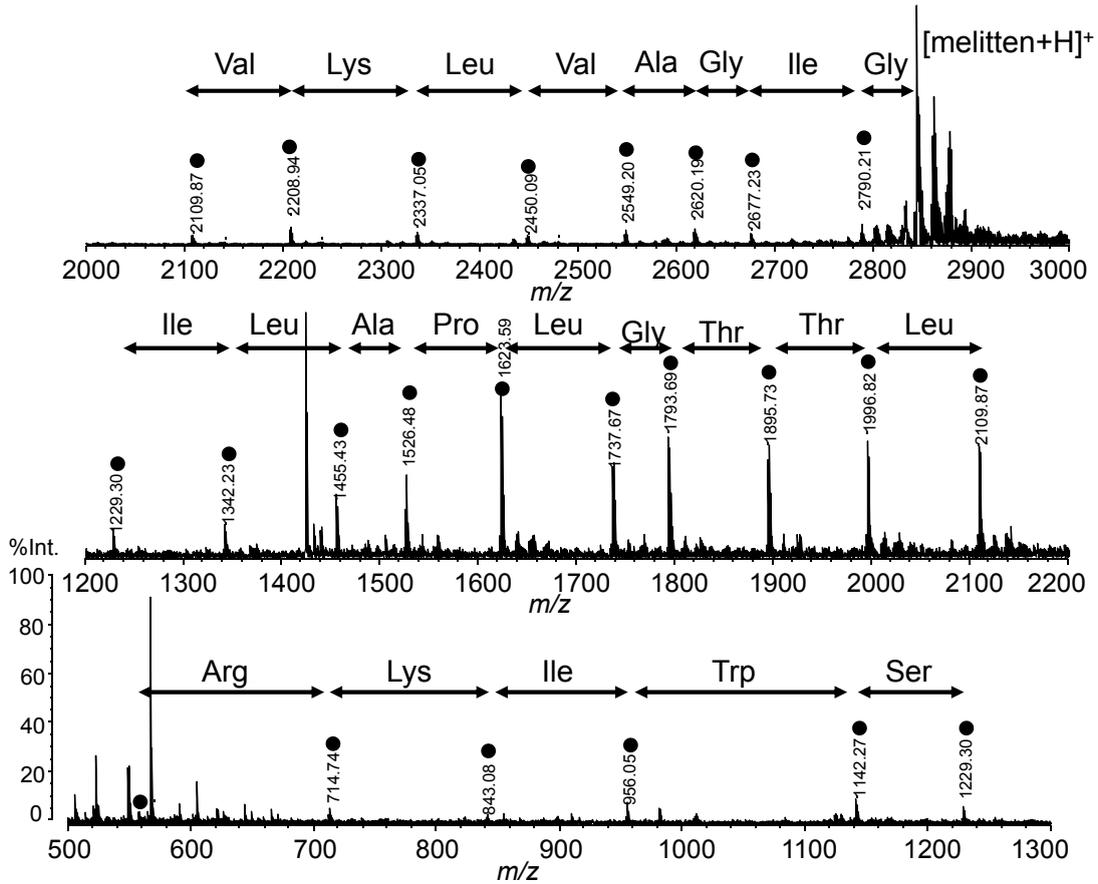


Fig. 13 MALDI mass spectra of melitten peptide after the ultrasonic irradiation of 1 h.

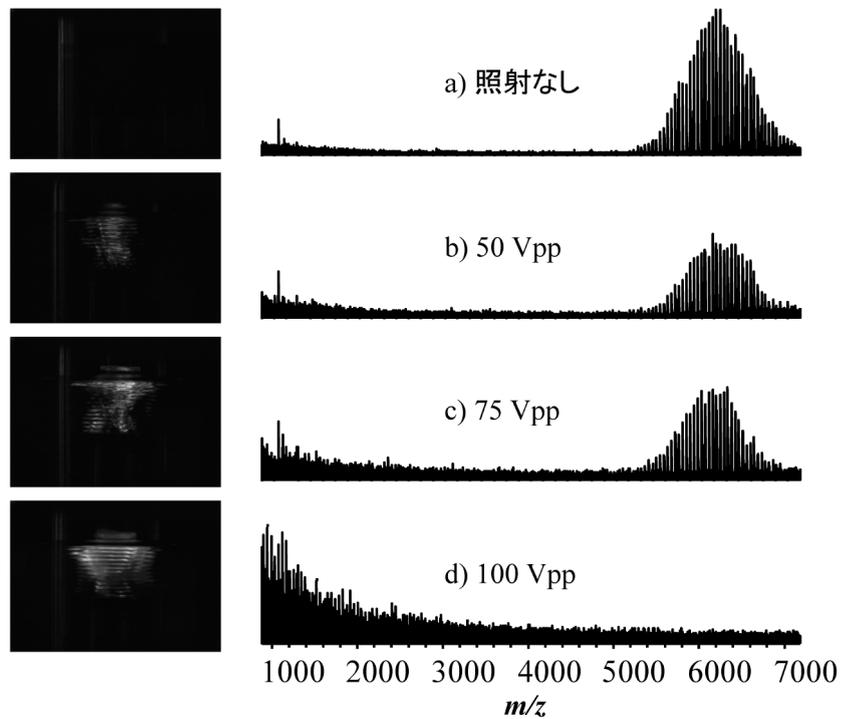


Fig. 14 Sonoluminescence of luminol reactions and ultrasonic degradation of PEO6000 for the transducer voltage of 50, 75 and 100 Vpp after 30 min irradiation.

ルの添加により分解が強く抑制されたことから, 400 kHz の高周波の超音波照射ではラジカル発生による化学的な分解が起こることが明らかである。

9 おわりに

MALDI-MS 及び LC-APCI-MS を用いて, 28 kHz のホーン型超音波装置による PEO, PMMA 及び PEO-*b*-PPO ブロックポリマーの分解挙動について明らかにした。PEO の超音波分解では異なる末端基をもつ 5 種類の分解物を検出し, その末端構造の解析から PEO 鎖の C-O 結合で超音波切断が起きることが示された。一方, PMMA の超音波切断は α 位の C-C 結合で切断が起きることが分かった。また単分散シジオタクチック PMMA の分解物の解析から, 超音波切断は分子の中央付近で起こり, その分子量分布は正規分布に従うことが分かった。高質量分解能 LC-APCI-MS を用いた PEO-*b*-PPO ブロックポリマーの超音波分解物の分析により, ブロックポリマーの分解はまず初めに PEO と PPO の境界部付近で切断が起こることが分かった。また, 分解生成物の高分解能マスペクトルの解析から酸素付加した生成物を検出できた。低周波の超音波照射による分解機構において, 力学的 (物理的) 及び化学的な切断の両方が競争的に進行していると思われる。

現在, 質量分析法による多元系共重合体の分析は困難であるが, ブロックコポリマーの超音波照射による切断が特異な位置で起こることが示されており, 高分子量のポリマーの分析に超音波と質量分析を組み合わせた UD/MALDI-MS や UD/ESI-MS による多元系共重合体の質量分析による新しい分析法が期待される。

文 献

- 1) M. W. F. Nielen : *Mass Spectrom. Rev.*, **18**, 309 (1999).
- 2) P. M. Peacock, C. N. McEwen : *Anal. Chem.*, **76**, 3417 (2004).
- 3) S. M. Weidner, S. Trimpin : *Anal. Chem.*, **82**, 4811 (2010).
- 4) T. Gruending, S. Weidner, J. Falkenhagen, C. Barner-Kowollik : *Polym. Chem.*, **1**, 599 (2010).
- 5) D. J. Aaserud, L. Prokai, W. J. Simonsick : *Anal. Chem.*, **71**, 4793 (1999).
- 6) B. Desmazières, W. Buchmann, P. Terrier, J. Tortajada : *Anal. Chem.*, **80**, 783 (2008).
- 7) K. A. Barnes, A. P. Damant, J. R. Stratin, L. Castle : *J. Chromatogr. A*, **712**, 191 (1995).
- 8) A. G. Harrison, M. J. Taylor, J. H. Scrivens, H. Yates : *Polymer*, **38**, 2549 (1997).
- 9) J. J. L. Bryant, J. A. Semlyen : *Polymer*, **38**, 2475 (1997).
- 10) J. J. L. Bryant, J. A. Semlyen : *Polymer*, **38**, 4531 (1997).
- 11) T. Watanabe, H. Kawasaki, T. Kimoto, R. Arakawa : *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **21**, 787 (2007).
- 12) T. Ranganathan, B. Michael, Z. Joseph, D. S. Kenneth, R. W. Phillip, J. F. Richard, E. B. Coughlin, E. Todd : *Polym. Degrad. Stab.*, **93**, 1059 (2008).
- 13) D. N. Bikiaris, K. Chrissafis, K. M. Paraskevopoulos, K. S. Triantafyllidis, E. V. Antonakou : *Polym. Degrad. Stab.*, **92**, 525 (2007).
- 14) S. Siegfried, H. Josef, R. Frauke, W. Robert, K. Jürgen : *Polym. Degrad. Stab.*, **50**, 211 (1995).
- 15) B. Ranby, J. F. Rabek : "Photooxidation and Photostabilization of polymers, Photodegradation", John Wiley and Sons, London, (1975).
- 16) S. Kagawa, H. Kawasaki, R. Arakawa : *Chem. Lett.*, **36**, 66 (2010).
- 17) G. Guillaume, C. Sabrina, R. Paola, K. Sigbritt : *Polymer*, **43**, 1081 (2002).
- 18) F. Kanwal, J. J. Liggat, R. A. Pethrick : *Polym. Degrad. Stab.*, **68**, 445 (2000).
- 19) V. Desai, M. A. Shenoy, P. R. Gogate : *Chem. Eng. J.*, **140**, 483 (2008).
- 20) J. Chakraborty, J. Sarkar, R. Kumar, G. Madras : *Polym. Degrad. Stab.*, **5**, 555 (2004).
- 21) N. Daraboina, G. Madras : *Ultrasonics Sonochem.*, **16**, 273 (2009).
- 22) M. T. Taghizadeh, A. Bahadori : *J. Polym. Research*, **16**, 545 (2009).
- 23) T. G. Leighton : "The Acoustic Bubble", Academic Press, London, (1994).
- 24) K. S. Suslick : D. A. Hammerton, R. E. Cline : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 5641 (1986).
- 25) K. S. Suslick, Sonochemistry : *Science*, **247**, 1439 (1990).
- 26) A. Tauber, G. Mark, H. P. Schuchman, C. V. J. Sonntag : *Chem. Soc. Perkin Trans.*, **2**, 1129 (1999).
- 27) K. S. Suslick : Ed. Ultrasound : "Its Chemical, Physical, and Biological Effects", VCH, New York (1988).
- 28) S. P. Vijayalakshmi, G. Madras : *Polym. Degrad. Stab.*, **90**, 116 (2005).
- 29) M. A. Behnajady, N. Modirshahla, S. B. Tabrizi, S. Molanee : *J. Hazard. Materials*, **152**, 381 (2008).
- 30) C. Sujay, M. Giridhar : *J. Appl. Poly. Sci.*, **88**, 2818 (2003).
- 31) A. Weissler, I. Pecht, M. Anbar : *Science*, **150**, 1288 (1965).
- 32) H. H. G. Jellinek : "Degradation of vinyl polymers", Academic Press Inc., New York, (1955).
- 33) M. W. A. Kuijpers, M. F. Kemmere, J. T. F. Keurentjes : "Encyclopedia of Polymer Science and Technology", John Wiley and Sons, New York, (2004).
- 34) G. J. Price, P. F. Smith : *Polymer*, **34**, 4111 (1993).
- 35) S. Koda, H. Mori, K. Matsumoto, H. Nomura : *Polymer*, **34**, 30 (1993).
- 36) G. Sivaligan, G. Madras : *Polym. Degrad. Stab.*, **80**, 11 (2003).
- 37) A. Grönroos, P. Pirkonen, O. Ruppert : *Ultrasonics Sonochem.*, **11**, 9 (2004).
- 38) M. W. A. Kuijpers, R. M. H. Prickaerts, M. F. Kemmere, J. T. F. Keurentjes : *Macromolecules*, **38**, 1493 (2005).
- 39) H. Fujiwara : *Polym. Bull.*, **47**, 247 (2001).
- 40) G. Madras, V. Karmore : *Polymer Int.*, **50**, 683 (2001).
- 41) H. Kawasaki, Y. Takeda, R. Arakawa : *Anal. Chem.*, **79**, 4182 (2007).

- 42) Y. Takeda, H. Kawasaki, T. Watanabe, K. Ute, R. Arakawa : *Polymer J.*, **40**, 682 (2008).
43) T. Watanabe, M. Okabayashi, D. Kurokawa, Y. Nishimoto, T. Ozawa, H. Kawasaki, R. Arakawa : *J. Mass. Spectrom.*, **45**, 799 (2010).
44) K. Takamoto, M. R. Chance : *Annu. Rev. Biophys.* *Biomol. Struct.*, **35**, 251 (2006).
45) M. Sakakura, M. Takayama : *Ultrasonics Sonochem.*, **16**, 367 (2009).
46) Y. Doda, K. Yamamoto, H. Kawasaki, R. Arakawa : to be published.

Mass Spectrometric Analysis of Synthetic Polymers Using Ultrasonic Degradation

Ryuichi ARAKAWA¹ and Hideya KAWASAKI¹

¹Department of Chemistry and Materials Engineering, Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University, 3-3-35, Yamate-cho, Suita-shi, Osaka 564-8680

(Received 14 October 2010, Accepted 25 December 2010)

Ultrasonic degradations of polyethylene oxide (PEO), polymethyl methacrylate (PMMA) and polyethylene oxide-*block*-propylene oxide (PPO) copolymers in aqueous media were studied using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) and liquid-chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (LC-APCI-MS). The ultrasonic degradation of the polymers with a horn-type 28 kHz oscillator was monitored as a function of the ultrasonication duration to examine the structural details of ultrasonic degradation polymers. The ultrasonication of a PEO solution produced five types of oligomers ($M_n = \text{ca. } 1000 \text{ Da}$) with different end groups, irrespective of the initial average molecular masses (M_n) 2, 6, 20, and 2000 kDa. Several degradation pathways with free radical reactions were suggested to explain these degradation products. On the other hand, ultrasonication of PMMA (M_n 1630 Da) and uniform PMMA ($n = 29$) generated only one type of degradation oligomer. In addition to chemical reactions with $\text{OH}\cdot$ and $\text{H}\cdot$ radicals, the results indicated that primary degradation takes place near at the center of the polymer chains by mechanical forces generated around collapsing cavitation bubbles. Ultrasonic degradation of PEO-*block*-PPO copolymers consisting of a hydrophilic and a hydrophobic portion was studied to determine the location of bonds involved in the initial scission of the copolymers. A detailed structural analysis of the degradation products indicated that the initial bond scissions occurred principally at the boundary regions between the backbones of PEO and PPO chains. Further structural analysis revealed the presence of oxygen adducts in the degradation products. By a comparison with a thermal degradation carried out in a helium atmosphere, one can conclude that the oxygen adducts are formed by radical reactions with water or dissolving oxygen molecules. The study demonstrated that chemical reactions as well as physical bond stress scissions are involved in the ultrasonic degradation of the copolymers.

Keywords : ultrasonic degradations ; polyethylene oxide (PEO); polymethyl methacrylate (PMMA); block copolymers ; MALDI-MS, LC-MS.