

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：17701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12636

研究課題名(和文)イオン移動度測定と誘導体化による未知環境汚染物質の二次元構造推定方法の開発

研究課題名(英文)A method for elucidating unknowns by coupling traveling wave ion mobility spectrometry and the trajectory method

研究代表者

高梨 啓和 (TAKANASHI, Hirokazu)

鹿児島大学・理工学域工学系・准教授

研究者番号：40274740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：進行波型のイオン移動度測定により、微量な未知環境汚染物質の二次元構造を推定する技術を開発した。測定されたイオン移動度から求めた未知物質の衝突断面積(collision cross section, CCS)が、仮定した構造に基づいて推算したCCSと一致した場合に、その仮定が正しいとして構造を推定した。環式有機化合物および殺虫剤ジノテフランをモデル物質として、実測結果と推算結果が一致することを確認した。次に、開発した方法を、ジノテフランの未知環境変化体に適用したが、仮定した複数の異性体の推算CCS値に有意差が認められなかった。そこで、誘導体化したところ、2つの異性体以外の区別に成功した。

研究成果の概要(英文)：A method for structure elucidation of unknowns was developed by coupling traveling wave ion mobility spectrometry (TWIMS) and the trajectory method. If a simulated collision cross section (CCS) value of an assumed structure of an unknown agrees with that observed with the TWIMS, the assumed structure will be correct. (RS)-Dinotefuran and five fused rings were used as model compounds. The CCS values of them were determined with a LC-ESI-TWIMS-TOFMS (Synapt G2 Si HDMS, Waters, USA). The simulated CCS values with the trajectory method were agreed with the determined values. So the developed method was applied for elucidation of an unknown. It was prepared by irradiating (RS)-dinotefuran with UV light. No significant difference of the simulated CCS values was observed among isomers of the unknown. But by derivatizing the unknown, significant differences in the simulated values were observed except for two isomers of the unknown.

研究分野：環境化学

キーワード：高分解能質量分析 イオン移動度 軌道法 構造推定 農薬 変化体

1. 研究開始当初の背景

農薬は、水環境中で光分解などを受け、様々な環境変化体を生成する。実河川水中から、農薬より高濃度な環境変化体が検出される場合があり、例えば、農薬より環境変化体の方が 138 倍高濃度との報告がある。また、環境変化体の中には、農薬より強い毒性を示す物質がある。例えば、マウス脳膜へのニコチン結合阻害試験の結果として、農薬より 53 倍強い毒性の変化体が報告されている。以前、著者らが環境基準点でその環境変化体の河川水中濃度を調査したところ、農薬より 19 倍高濃度であった。

環境変化体の探索は以前より行われているが、未知環境変化体が多く存在すると考えられる。例えば、殺虫剤 dinotefuran の場合、8 物質が報告されているが、著者らが行った水中光分解試験では 48 物質が発見されており、高濃度・強毒性な未知環境変化体(未知汚染物質)が見逃されている可能性がある。このため、探索研究、構造解析が重要と言える。

未知物質の構造解析は、NMR、IR と MS を組み合わせで行われることが多い。しかし、NMR や IR を用いた従来の構造解析では、共存する複雑な環境マトリックス成分を除去して微量な未知物質を単離・精製する必要があるのが一般的と考えられる。一方、単離・精製を伴わない構造解析は、高分解能質量分析計を用いた精密質量分析により行われてきたが、分子式の決定および官能基の種類・個数の推定は可能なものの、多段階質量分析を実施しても官能基の置換位置(二次元構造)を推定することは困難な場合がある。

そこで本研究では、単離・精製を伴わずに未知物質の二次元構造を推定する新たな手法を開発するために、分子の衝突断面積(collision cross section, CCS)が、分子の二次元構造を反映することに着目した。すなわち、仮定した二次元構造の推算 CCS 値と実測 CCS 値が一致した場合、仮定した二次元構造が正しいとして構造推定することを着想した。不活性ガスで満たされた静電場でイオンを加速すると、イオンの移動速度が速くなるに従って、イオンとガス分子との衝突頻度が増して移動抵抗が大きくなり、等速運動するようになる。この移動抵抗は CCS に正比例するため、イオン移動度から逆算するか、または校正曲線を用いて校正することで CCS を実測することができる。本研究では、進行波型(traveling wave ion mobility spectrometry, TWIMS)のイオン移動度測定装置を用いることにより、高感度分析することを目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、進行波型のイオン移動度測定を活用して、微量な未知環境汚染物質の二次元構造を、単離・精製を伴わずに推定する技術を開発することとした。

3. 研究の方法

(1) イオン移動度の測定

イオン移動度は、LC-ESI-TWIMS-TOFMS

(Synapt G2 Si HDMS, Waters, USA)を用いて測定された。すなわち、electrospray ionization (ESI)でイオン化された分析種は、バッファガスに窒素を用いたドリフトセル内に導入され、イオン移動度を測定された。ドリフトセルから排出されたイオンは、飛行時間型質量分析計で測定された。ドリフトセル内のイオンの駆動は、進行波により行われた。

(2) 衝突断面積の推算

衝突断面積は、軌道法(the trajectory method, TM)により推算された。計算は、全方位積分、相対速度無限大までの無限積分を実行可能な MobCal プログラムを用い、バッファガスを窒素として、衝突トライアルを $10^4 \sim 10^6$ 回繰り返して統計平均 CCS 値を求めた。部分電荷の算出方法は、Coulson 電荷を採用した。立体配座は、RDKitを用いて生成させた。

4. 研究成果

(1) モデル物質を用いた比較

イオン移動度の実測値から求めた実測 CCS 値と、TM により推算した推算 CCS 値を比較した。モデル物質として、(RS)-dinotefuran を用いた。イオン移動度から実測 CCS 値を求める際には、TWIMS を用いて測定したポリアラニンのイオン移動度と、静電場型の DTIMS を用いて実測した CCS 値との関係を文献から求め、校正曲線を描いて換算した。TM の計算は、衝突トライアルを 10^4 回、環境温度と有効温度をそれぞれ 300 K として実施した。

その結果、実測 CCS 値は 85.5 \AA^2 であったのに対し、推算 CCS 値は 152.4 \AA^2 となり、大きく異なった。その原因として、ポリアラニンの実測 CCS 値を求めている文献における有効温度および環境温度が本研究と異なること、ポリアラニンが単結合部位を数多く持つために TM で CCS を計算したときの立体配座と IMS のドリフトチューブを飛行している際の立体配座が異なること、衝突トライアル数が少なかったことが考えられた。

(2) 温度影響の検討

TM で求めた推算 CCS 値に対する環境温度と有効温度の影響を検討した。モデル物質として、環式有機化合物を用いた。有効温度の影響を図 1 に、環境温度の影響を図 2 に示す。推算 CCS 値は両方の温度の影響を受けることが確認された。これは、TM の計算原理に一致する結果である。影響の程度を見ると、環境温度よりも有効温度の影響が大きいことが分かる。以上より、CCS 値が温度の関数であることが確認された。

(3) 立体配座の影響

校正に用いたポリアラニンは屈曲性に富んでおり推算 CCS 値を求めにくいので、undecyl (Z)-9-(hydroxyimino)-9H-fluorene-4-carboxylate を用いて立体配座の影響を検討した。その結果、立体配座が異なると推算 CCS 値が大きく異なり、約 $196 \sim 252 \text{ \AA}^2$ の範囲で変化した。このこと

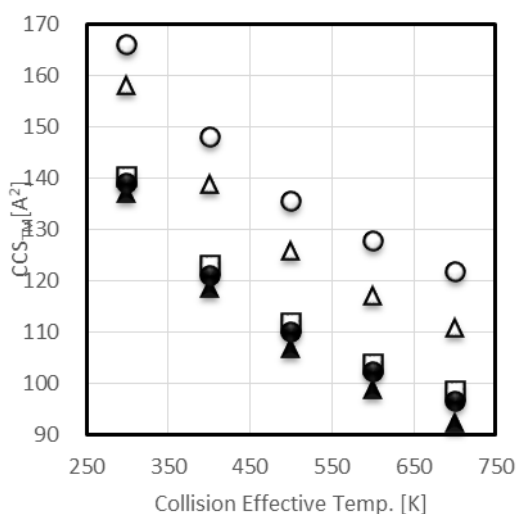


図 1 推算 CCS 値に対する有効温度の影響

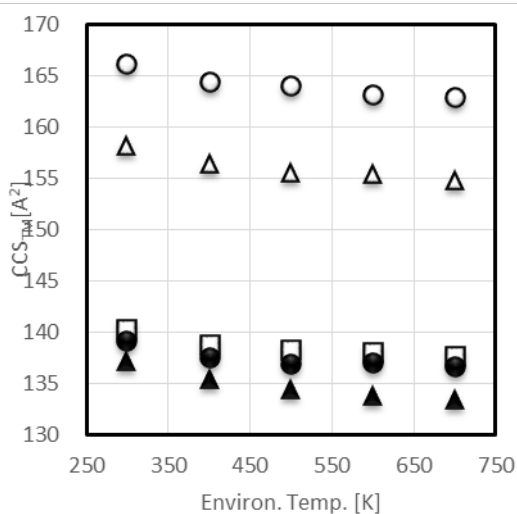


図 2 推算 CCS 値に対する環境温度の影響

より、どのような立体配座を仮定して推算 CCS 値を求めるかが重要であることが確認された。

(4) 環式有機化合物を用いた校正

推算 CCS 値に対する温度影響および立体配座の影響が大きいことが明らかになったので、文献をもとに有効温度を 600 K、環境温度を 298 K、立体配座に対する温度影響が小さく立体配座をほぼ規定可能な環式有機化合物を CCS 校正物質として用いて、実測 CCS 値と推算 CCS 値の比較を行った。比較のためのモデル物質として、(RS)-dinotefuran を用いた。衝突トライアルは 10^6

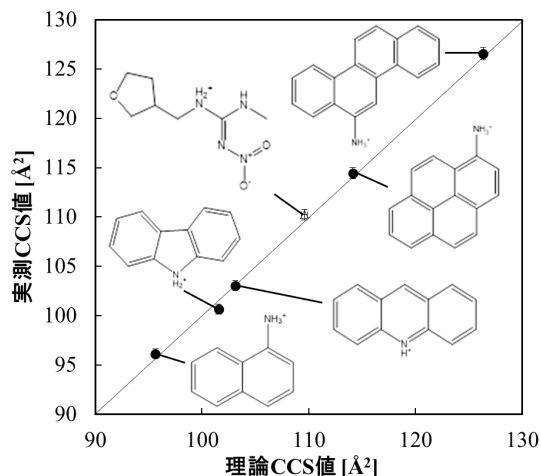


図 3 推算 CCS 値と実測 CCS 値の比較

回とした。その結果、図 3 に示すように、推算 CCS 値と実測 CCS 値がよく一致した。

以上のことから、実測されたイオン移動度から実測 CCS 値を求める際の CCS 校正曲線は、立体配座をほぼ規定可能な物質を選んで求めることが重要であり、さらに、CCS 校正物質の推算 CCS 値を TM で求める際の有効温度と環境温度を分析種の推算 CCS 値を TM で求める際の有効温度と環境温度に一致させることが重要であるといえる。

(5) 未知環境変化体の構造解析への応用

TM により算出した推算 CCS 値と IMS で測定した実測 CCS 値を一致させることに成功したので、未知環境変化体の構造解析に適用した。未知環境変化体として、(RS)-dinotefuran 光照射サンプル中から発見された $C_7H_{14}N_4O_4$ をモデル物質として選んだ。同物質は、未変化体に酸素が 1 個付加した物質であり、フラン環の水素がヒドロキシ基で置換された物質と仮定した。置換位置の異なる異性体およびフラン環が開環して異性化した異性体を合計 13 物質一次推定した。一次推定された異性体の推算 CCS 値を得たところ、 $107.97 \sim 113.66 \text{ \AA}^2$ であった。用いた IMS の CCS 分解能が 40 \AA^2 なので、これらの推算 CCS 値の区別が困難であった。区別が困難なことの確認と、推算 CCS 値と実測 CCS 値が一致することを確認するために実測したところ、実測 CCS 値は $111.02 \sim 113.95 \text{ \AA}^2$ であり、異性体間の区別が困難なこと、推算 CCS 値と実測 CCS 値が一致することが確認された。

(6) 誘導体化の効果の検討

異性体間で CCS 値がほぼ同じ値になった原因として、分子全体の CCS 値に対するヒドロキシ基の影響が小さいことが考えられる。そこで、ヒドロキシ基が反応性を有することに着目して、誘導体化して影響を大きくすることを検討した。誘導体化剤として benzoyl chloride、1-naphthoyl chloride、2-naphthoyl chloride、anthraquinone-2-carbonyl chloride および 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)benzoyl chloride を検討した。各種

誘導体の推算 CCS 値を算出したところ、一部の異性体の推算 CCS 値は他の異性体のそれと有意に異なり、区別可能であったが、どの誘導体化でもすべての異性体間で推算 CCS 値に有意な差を生じさせることはできなかった。このため、誘導体化を組み合わせることによる効果を検討したところ、2 つの異性体以外の区別は可能な推算 CCS 値を得ることができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 1 件)

1. 上田岳彦、高梨啓和、衝突断面積の計算化学-イオンモビリティ推定法の歴史と展望-、質量分析学会誌、査読有、65(6)、288-296、2017.

(学会発表)(計 9 件)

1. 橋本扶美、大土橋真希、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、MSⁿ 分析とイオン移動度分析の組み合わせによる農薬未知環境変化体の構造推定、第 52 回日本水環境学会年会、2018 年.
2. Takehiko UEDA and Hirokazu TAKANASHI, Prediction of Collision Cross Sections of Environmentally Degraded Pesticides for Ion Mobility Spectrometry, 7th Asia-Oceania Mass Spectrometry Conference, 2017.
3. 橋本扶美、大葉佐世子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、石川英律、宮本信一、農薬環境変化体の構造推定のための衝突断面積解析技術の開発、環境科学会 2017 年会、2017 年.
4. 橋本扶美、大葉佐世子、高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、石川英律、宮本信一、未知環境変化体の構造推定のための衝突断面積解析技術の開発、第 26 回環境化学討論会、2017 年.
5. 高梨啓和、上田岳彦、ネオニコチノイド系農薬の環境変化体の探索とその生態影響の調査 イオン移動度質量分析法によるアプローチ、日本質量分析学会第 68 回イオン反応研究会・第 157 回質量分析関西談話会、2017 年.
6. 高梨啓和、大葉佐世子、橋本扶美、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、石川英律、宮本信一、農薬変化体の構造を推定するための衝突断面積測定方法の検討、第 51 回日本水環境学会年会、2017 年.
7. 高梨啓和、橋本扶美、大葉佐世子、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、石川英律、宮本信一、イオン移動度分析と分子動力学計算に基づいた未知変化体の構造推定、日本水環境学会シンポジウム、2016 年.
8. 高梨啓和、橋本扶美、中島常憲、大木 章、上田岳彦、門川淳一、石川英律、宮本信一、衝突断面積に基づいた未知物質の構

- 造推定、環境科学会 2016 年会、2016 年.
9. 高梨啓和、中島常憲、大木 章、上田岳彦、高分解能 LC-MS、LC-IMS-MS および多変量解析を用いた未知環境汚染物質の探索、日本質量分析学会第 64 回質量分析総合討論会、2016 年.

(図書)(計 0 件)

(産業財産権)

○出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

(その他)
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
高梨 啓和(TAKANASHI, Hirokazu)
鹿児島大学・理工学域工学系・准教授
研究者番号:40274740

(2)研究分担者
上田 岳彦(UEDA, Takehiko)
鹿児島大学・理工学域工学系・准教授
研究者番号:80293893

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者 なし