

質量分析と 40 年歩んで

With the mass spectrometry for 40 years

志田保夫

Yasuo SHIDA

山梨大学クリーンエネルギー研究センター

〒400-8511 甲府市武田 4-3-11

Tel. 055-220-8709

E-mail: yshida@yamanashi.ac.jp

はじめに

質量分析を仕事として 40 年歩み、そこに終止符を打つことになり一抹の寂しさを覚えていました。このような企画を立てて頂いた神奈川大学持田由幸先生に感謝致します。また、お忙しいところ遠方よりご講演のため来て頂いた上野先生をはじめお忙しいところご講演をしていただく各先生に心より御礼申し上げます。

ありがとうございます。

私の質量分析のスタートは東京大学応用微生物研究所からですが、当時は日本にも数台という時代で、馬齢を重ねるだけの 40 年だったように思います。研究らしい事はやってきませんでしたので、40 年の中で記憶にある事をいくつか例に挙げて思い出話に致します。

0-0 マイナス 3 年

これは本格的に質量分析に入る前の仕事、つまり東大時代のこと。

今から 1967 年の質量分析装置は単収束の磁場型、つまりイオン源からでたイオンはいきなり磁場で分離されて検出器に到達するだけの装置であった。加速電圧は 750V で検出器に 10 段の 2 次電子増倍管を取り付けたもの。十分な感度は得られず、記録紙のペンレコーダーを動かすにはもう少し感度を上げなければならなかった。電氣的に感度は上げられても応答速度が遅く 1 回のスキャンに 2 分ほどかかり、逆に

オン量が多すぎてベースピークが振り切れ、再測定する間に試料がなくなってしまう不幸を何回も経験した。測定が終わるとピークにナンバーリングし、最後のピーク、つまり分子イオンに数字を書き込んで測定が終る。単なるピークだけなのでバックグラウンドとして出る 18, 28, 32 のピークは非常に重要な基準となり、当時何もわからなかった分子構造と分子量の関係やフラグメントとの関係を知らない間に勉強していたこととなった。繰り返すうちに単純な分子構造物質は見ただけで分子量がわかるようになり、また、装置に関しては解体修理をすることも多く、装置全体を勉強することができた。後の仕事につくきっかけとなり、また入門書を書くことになったときこの経験が非常に役になっている。

0-1 メタステーブルイオンのこと

単収束装置で最初に学んだカタカナ言葉がメタステーブルイオン、イオン源からでたイオンが磁場の前で開裂するとそのイオンは検出されず、山の形になって思わぬところに出てきて、初心者時代悩まされたのがこのイオンであった。後に学んだ式が下記である。

R が開裂した場合 $M \cdot R = M_1$ とすると出現するイオン M_2 は

$M_2 = M_1^2 / M$ として計算される。

脱水($\cdot H_2O$)、脱水素($\cdot H_2$)などが起こるとまさに計算どおりのところに小さな山が現れ、当初故障と思ったピークがメタステーブルイオンであった。あまり聞かれなくなった言葉ですが、解析には便利なイオンである。

0-2 最初の GC-MS

最初の装置には改造した GC からリボンヒータを巻いたステンレスチューブを MS に接続した GC-MS があった。GC と MS の間の横棒はチューブだといわれていた。

まだ油拡散ポンプ(DP)の上に取り付けたトラップにドライアイスを入れて冷やさないと真空度が上がらない時代にヘリウムとはいえ真空中に気体を送り込んでどうするとの疑問があったが、それでも培養したある種の菌や植物などの抽出物が試料として測定されていた。そんな時代であったが、既に国外では LC/MS の研究も進められていたようである。

このような経験を経て本格的な仕事につくことになった。

記憶の中の試料

最近コエンザイム Q10 (下記構造 $n=10$) が売られているが、この時代に $n=6\sim 9$ をユビキノン n という名前で測定したことがある。分解能が低い時代で分子イオンは LC のピークのようにであった。40 年以上前の話である。

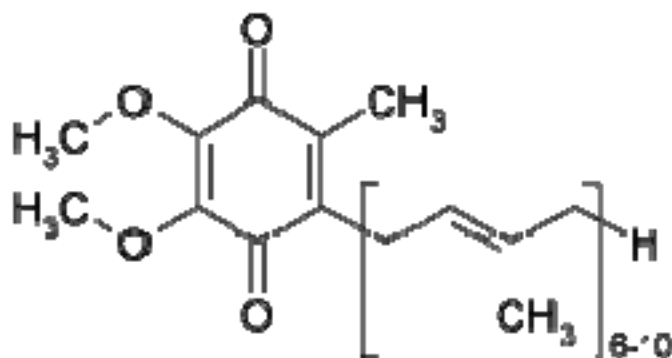


図1. ユビキノン

1-1 2重収束質量分析装置 (RMU-7L 1970 年代)

職場が変わって本格スタートしたのはこの2重収束装置が入ったからである。分解能も飛躍的によりスリットを絞れば数千になり、ミリマス測定という言葉が飛び交うように

なった。測定方法はピークマッチング法といって標準試料であった PFK を流しながら 2 本のピークを合わせそこからどれだけ離れているか、比例配分のような計算式で手計算して結果を出すものであったが、各原子量の数字は頻繁に入力するため自然と覚え、40 年経っても重要な原子の数字は出てくる。

C=12.00000, H=1.007825, O=15.994914, N=14.003074, F=18.998402 は記憶の中から出した物であるが、最近使っていないので間違っているかも。

スペクトルはビジグラフでスキャン速度も速くなり、感度もよくなり国内外からの試料も依頼された。

マスマーカーは磁場を感知しながらマークするものであったが、正確ではなくおおよその数がわかるもので、まだ本格的なマーカーは出て来ていなかった。また、2 重収束の初段は電場の正配置と呼ばれるものであったが、静電場を得る技術がまだなかったのだろうか、水銀電池を直列に並べて数百ボルトの電場を作り出していた。

2-1 EB 型質量分析計 (GC/MS 1980 年代))

次に使った装置も日立の M-80 という磁場型の装置であったが、この装置になると電場は直流の高電場で精度のいいものであったような記憶がある。技術の進歩を見た物であった。加速電圧は 3 kV、感度、分解能がよくなり究極の装置到来と喜んだ物で、高分解能測定（ミリマス）のとき予想される元素の数を入れるとただちに計算結果が得られ、この装置との出会いも私の人生を大きく変えてくれた。

ビジグラフに記録していたスペクトルも直径 30cm ほどのディスクに記憶され後からスペクトルが書き出されるようになった。ある意味でコンピュータ登場の瞬間であったが、今やパソコンでコントロールできる時代になるとはこれも夢のような話である。

この時代になると GC/MS の技術も確立され、安心して使えるようになりデータはいつでもディスクから呼び出しデータ整理が可能となった。しかし、後年使うことになった GC は非常に性能が良く、カラム恒温層の安定性など飛躍的な技術差を感じ、このとき使っていた装置の技術の未熟さを感じたような気がする。このときのカラムの長さは 1.5m のガラス管で内径は 4mm、パックドカラムと呼ばれ、カラムの充填剤の充填は分析者任せであったので分析機関によって質の差があったと思う。MS/MS ができる前夜の雰囲気もあったが、それでも GC/MS では多種多様な試料を測定し、測定技術はこの時代に練習できた。

2-2 フグ毒誘導体の GC/MS

装置に慣れマス屋になれたと自覚できる頃、フグ毒の分析を依頼された。

GC/MS の設定を行い、文献通りの条件で測定しても何の結果も得られなかった。テトロドトキシン (TTX) そのものは簡単にはイオン化はできないので C9-塩基と呼んでいる化合

物に誘導し、さらに2つのOHとNH₂基をTMS化して試料とすると、M⁺にm/z 407(40%), m/z 392(100%), m/z 376(10%)のスペクトルが得られる。このときは調整した試料が長時間経っていたため変化してしまったようであった。その後、測定した新しい試料ではGCのクロマトグラフはピークが多数出て来て、逆にそのピーク群からC9-塩基のTMS体のスペクトルを探し出すのが困難であった。早くなつたとはいえピーク毎にスペクトルを書き出すのは長時間を要した。このときTICのクロマトグラフから先の3つの数字を入れたところみごとに一致したピークを見つけることができた。私がはじめてマスクロマトグラフで結果を出したときであった。依頼主は水産学科の先生であったが、以来共同研究チームの1員となってやった最初の仕事でもあった。この試料はボウシュウボラの中腸腺であったが、これを食べた人がフグ中毒になった事件が発端であった。この先はフグの部位の測定からフグの餌となる魚介類、その付近に生息する魚介類、タイで食されているカブトガニなどにまで検査の範囲は広がった。

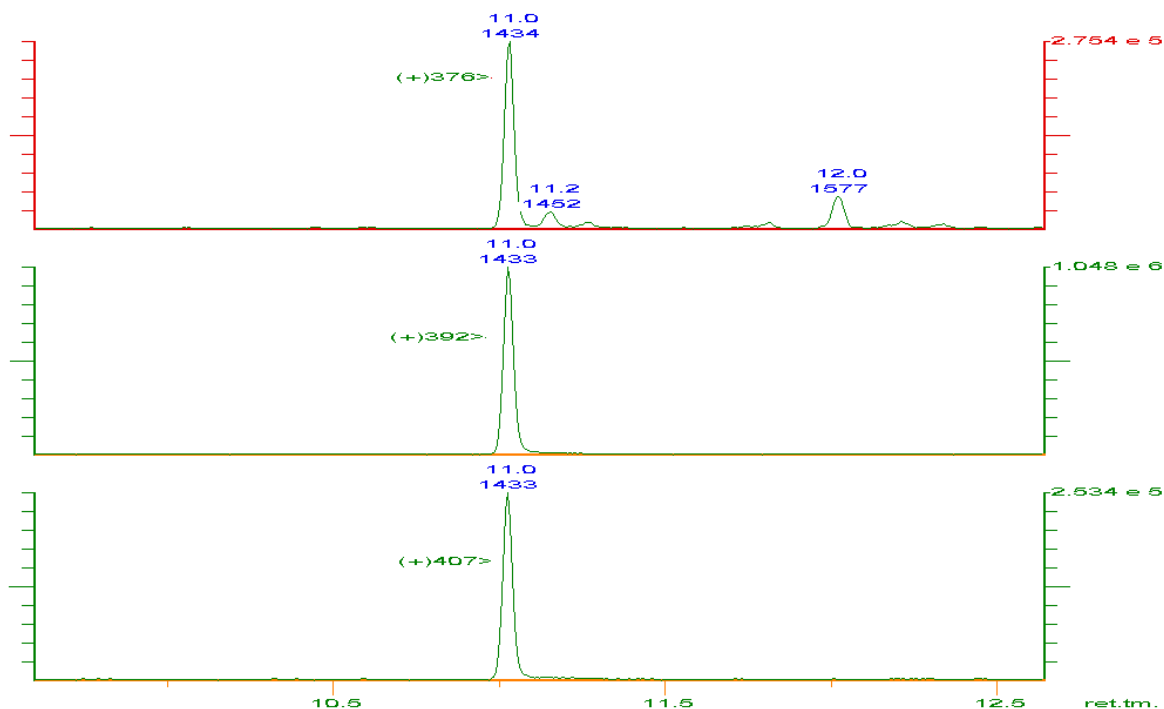


図2. C9 塩基-TMS の SIM

この測定で成功したことが私とフグ毒の関係を30年以上経った今でも結びつけている。以後の測定でバックドカラムでも1 MU（マウスユニット）以下でも測定可能である事がわかってきた。ちなみに1 MUは20gのマウスの致死量で1mgの1/10,000である。人の致死量は1~2mgといわれているから、マウスの毒量10,000倍にあたる。フグ以外から見つかった大きな発見でもあったが、これは明らかに食物連鎖によるものであった。環境中のフグ毒探査がはじまり、ヒトデ、ヒラムシ、ヒモムシ、ヒョウモンダコ、オウギガニ科のウモレオウギガニ、スベスベマンジュウガニなどの魚介類から次々見つかり、最後には私

が知る限りビブリオアルギノリティカスという細菌が作り出すことが判明した。食物連鎖を断つことによって無毒のフグになる養殖フグの技術が開発され幼魚を水槽で飼い無毒の餌を与える事で無毒フグが作れるようになった。まだ販売は解禁されていないが特に肝は美味しい。



図3.フグの肝臓の刺身

トリカブト事件とフグ毒

フグ毒の測定が軌道に乗り十分に測定できる頃、トリカブト事件が起こった。これは石垣島で東京の主婦が病死し、調べたら死因はトリカブトの毒による物であると判明したからである。これが有名なトリカブト事件の発端であった。

事件から5年後に保存血液からフグ毒が検出され、トリカブトとフグ毒による中毒しという結論で事件は終結したが、いずれの毒も GC/MS の分析により発見されたものである。今の装置の感度はマウス1匹以下の極微量の毒量でも検出可能である。大きな事件が大学の分析機関によって解決されたことは事実であるが、続いて起きた地下鉄サリン事件や和歌山毒カレー事件以来、全国の科捜研に LC/MS が配備された事は周知の通りである。

GC/MS,

LC/MS が犯罪の早期解決の手段として用いられることはよいことであるが、抑止力となって犯罪が起こらない社会になってほしいものである。

2-3 短期留学の思い出

平成元年フグ毒で学位を取得して翌年アメリカに短期留学する機会をもらった。

ノースカロライナ州(NC)トライアングルリサーチパーク(TRP)にある NIEHS の Ken Tomer 先生のところである。日本では質量分析の話が出来る人が周りにいなくて独学しか勉強する方法はなかったが、ここには大勢の研究者がいて非常に活気があり、研究の方法を学んだ。英語も話せるようにならないうちに帰国したが、それ以降、アメリカ質量分析

学会 (ASMS) にも参加し、行くたびに親交を深めるようになった。先の地震の翌朝心配したメールが **Tomer** 先生から届いた。**TRP** は研究都市で、周辺の研究所や大学から研究者が集まり月に一度 **MS** の勉強会があるということで連れて行ってもらったことがあった。この勉強会をまねて帰国したとき仲間に呼びかけて勉強会をする事となったが、手紙のやり取りで年に2回が限度、数年続いて発展的に解散した。

このアメリカ旅行は国外のメーカー見学も兼ねていてアンカレッジ経由、オランダで乗り換えて、スイス (見学) - イギリス (見学) - 再度オランダ - ニューヨーク - ワシントンから30人乗りの国内線に乗り換えて **NC** までの心細い一人旅であった。

1週間ほどは先に来ていた同じ大学のご夫妻のアパートに居候させてもらい、研究所の近くのアパートに転居した。数年前、この体験を授業で話したところ、ある学生が5歳の頃父親が **NIEHS** の隣の研究室に留学していた事が判明し、世間の狭さを実感した事もある。私がいた時代とほぼ同じころであった。

3-1 EBE 型質量分析計と **QqQ MS**

帰国後買った3代目の装置は **EBE** 型で **FAB** ガンを備えていた。イオン加速電圧が **7kV** と大型の要素を備えて、圧倒的な迫力で構えていたのを思い出す。

もう一台は **QMS** でスキンスピードの早さに圧倒された。**FAB** ガンを備えていて、小型でも非常に高性能であることを思わせる物であった。アメリカでキャピラリー電気泳動を目の当たりにしてまねすべく高圧電源を買って試したところ、1回だけ成功して、こんなに簡単にできるのかとびっくりしたが、成功したのはその1回だけで、あと何回試してもだめであった。

GC のカラムはキャピラリーになり、**GC** 本体も高性能で測定は非常にしやすくなって来た事を思い出す。ビブリオからの **TTX** 検出はこの装置になってからであった。

4-1 初めての **ESI ToF**

最後の質量分析計は **LC-ESI ToF** であった。年間2,000本ほどある試料の大半が合成中間体で保護基だらけの化合物である。そのためイオン化は **EI** と **FAB** を備えた装置でなければならないと思い込んでいたのであるが、数社の装置を見学したとき、試しに測定した試料がことごとく **ESI** で測定できる事がわかった。

TTX はそのまま測定しても **MH 320** が容易に得られ研究も大幅に進むようになった。極微量で検出可能のため植物園などから生薬として使われている植物の葉などを採取して、メタノールで抽出、そのまま **ESI** で測定し主成分を容易に分析する事ができるようになった。マオウからはエフェドリン、オウレンからはベルベリン、その他、トリカブトからはアコニチンなど有毒植物に含まれるある種の強心配糖体などは非常に感度よく検出する事ができた。

見学者にデモ測定していた延長で TV 局の持参試料を測定して何回か TV 出演となりお茶の間をびっくりさせたこともあった。

TTX のスペクトルを下に示す。

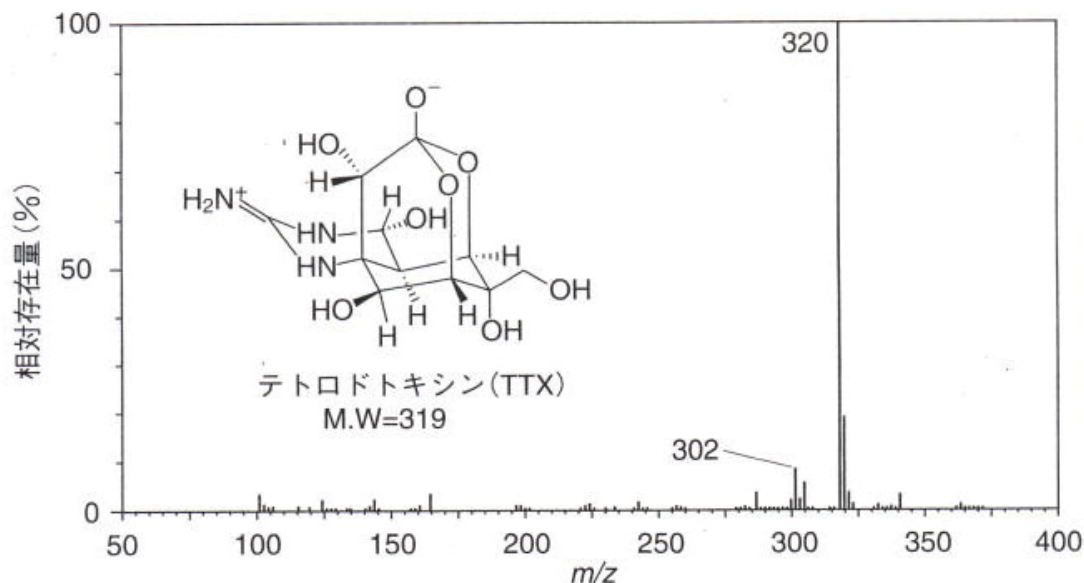


図5. TTX の ESI スペクトル

近年、装置も小型廉価になり、地方の大学でも積極的に購入して研究に役立てている。いままで、測定依頼で送られて来た試料も自前で測定できるとのことであった。

市販の装置にはないイオン化の開発はまだ大きな宿題になっている。これらを解決するためにはまだまだたくさんの試行錯誤が必要であろう。

旧日本軍の産物

今から8年ほど前に報道された事件であるが、茨城のある町の住人が運動障害を起こしたりして数人が入退院をくりかえした。病人を診た医師が共通の原因を探し当てたのが砒素中毒であった。さらに驚いた事に美味しいとわざわざ井戸水で生活していた、その井戸水に原因物質が混入していたのである。その井戸水が持ち込まれて分析したのが次のスペクトルである。構造を調べたらジフェニルアルシン酸であることがわかった（下記構造）
本来なら濃縮して測定するべきところ、井戸水にメタノールを加えただけの試料を作り測定した物であった。

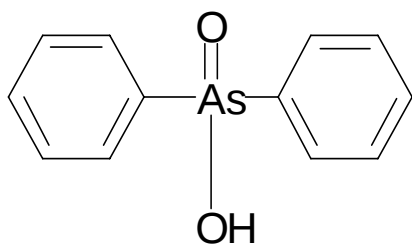


図6. ジフェニルアルシン酸の構造式

兵器として使われる化学品は安く多量に作らなければならないため、殺鼠剤とか除草剤な

どの農薬を化学的に短い合成過程で作っているようであるが、この構造もそれほど複雑ではない。終戦で工場が閉鎖されてこれらの薬品が民間に流れ、やがてじゃまになり古い池の埋め立ての時一緒に埋めたいとのことであつた。戦後60年近くたってこのような被害が出た事は残念な事である。

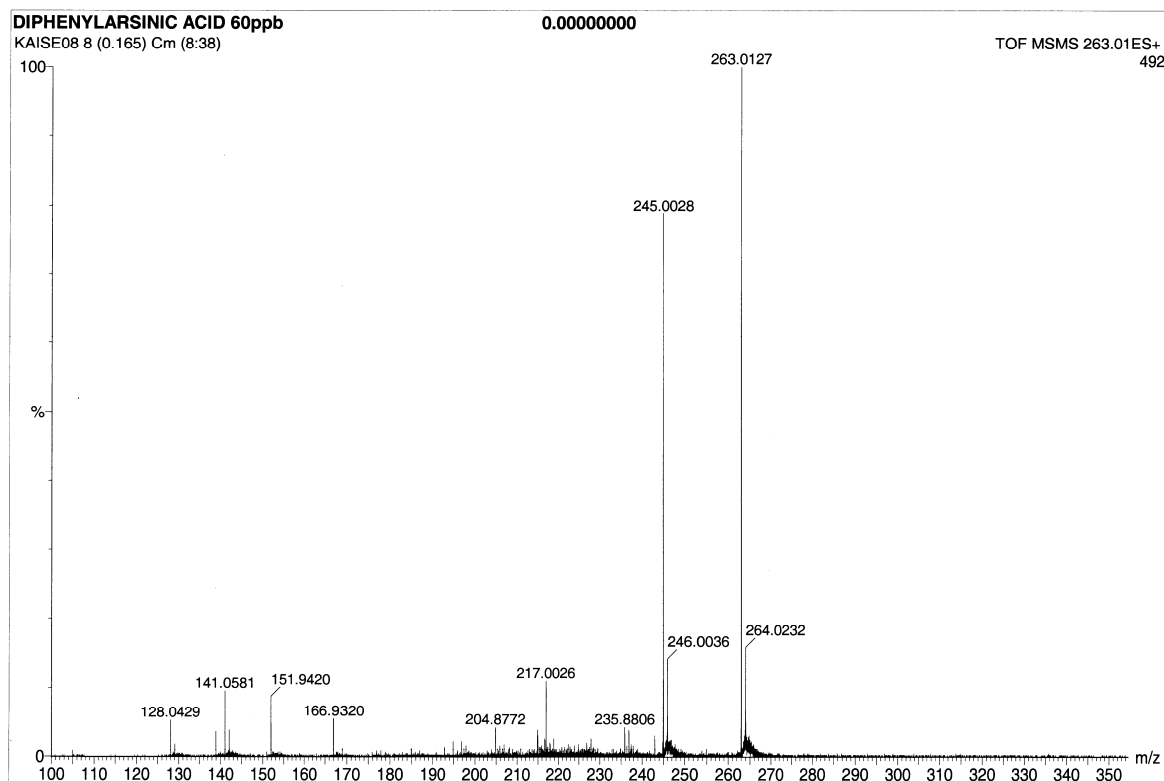


図7. ジフェニルアルシン酸の ESI スペクトル

終わりに

質量分析を生涯の仕事と決めて出発して、最後までやり通せた事に満足している。仕事の上で、積極的に研究に取り組めないで終止符を打つ事になってしまいました。唯一気にしながら、あるいは興味を持って進めて来たのが、フグ毒との関わりでした。本日はとりとめのない話に終始してしまいました事をお詫びしなければなりません。分析機器が小型化、汎用化し専門職としてのマス屋は我々が最後かもしれません。装置が成熟し今や道具として使われる事が多くなったことは嬉しくもあり、寂しい気持ちもあります。しかし、まだ万能のマスは開発されていないし、特にイオン化の部分はこれから研究がされなければならない分野ではないかと思う。感度においても一つの分子を検出できる。誰もが望むそんな装置が究極のマスではないだろうか。

平成23年9月