NOTE

高速原子衝撃質量分析法におけるマトリックスの選択基準

Criterion for the Choice of Matrix in Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry

高山 光男^{*a)}・高橋 利枝^{b)}

Mitsuo TAKAYAMA and Toshie TAKAHASHI

(Received March 8, 1996)

A criterion for the choice of liquid matrix in fast atom bombardment mass spectrometry (FAB-MS) has been presented. The results obtained from the criterion indicated that suitable matrices for positive-ion FAB are thioglycerol (TG), dithiothreitol (DTT), and *m*-nitrobenzyl alcohol (NBA) and those for negative-ion FAB are triethanolamine (TEA) and diethanolamine (DEA). Further, the criterion proposed that glycerol (G) is a suitable matrix material for both positive and negative-ion modes. These indications were in good agreement with the empirical facts.

はじめに

質量分析におけるイオン化法、特に、高速原子衝撃法 (fast atom bombardment, FAB)、液体二次イオン法 (liquid secondary ion, LSI)、液体イオン化法 (liquid ionization, LI)、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI) などのマトリックスを使用するソフトイオン化法にとって、試料化合物に適したマトリックスを選択することが本質的に重要である。FAB および LSI における各種化合物に対する液体マトリックスの適用性は、これまで多くの研究者によって報告されているが、最近、著者の一人によって広範な文献検索とより普遍性の高いマトリックスの探索が行われた^{1), 2)}。限られた種類の化合物への各種マトリックスの適用であったが、それによれば、

1. 正イオンでは、DTT/TG と NBA が広範な化合物に適用可能¹⁾、
2. 負イオンでは、化合物に強く依存²⁾、

とする結果が得られている。ここで、DTT/TG は dithiothreitol (DTT) と thioglycerol (TG) の 1:1 ~ 1:3 (v/v) 混合物、NBA は *m*-nitrobenzyl alcohol である。DTT/TG はそれまで考慮されたことのなかった系であった。その際、マトリックスの適否を判断するために、次の二つの基準が採用された。

- I. 相対強度比 $I([M+H]^+)/I(\text{matrix ion})$ 、
- II. $[M+H]^+$ の絶対強度

^{*a)} 東邦大学薬学部 (〒274 船橋市三山 2-2-1)

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University (2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274, Japan)

^{b)} 東京大学医学部 (〒113 文京区本郷 7-3-1)

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, The University of Tokyo (7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan)

Fig. 1. Positive ion FAB mass spectra of glycyl-glycyl-L-leucine obtained with (a) DTT/TG12 and (b) G/TG23 matrices.¹⁾ Asterisk indicates the peaks originating from the matrix.

これらの値が大きいかほど良いマトリックスと判断されるが、必ずしも両方の基準を満たさない場合がある。Fig. 1 は、glycyl-glycyl-L-leucine (MW 245) を DTT/TG12 と G/TG23 マトリックスで測定したものであるが¹⁾、その相対強度比（絶対強度）の値は、DTT/TG12 では 25.0 (936)、G/TG23 では 3.59 (1112) であった。DTT/TG12 は DTT と TG の 1:2 (v/v) 混合物、G/TG23 は glycerol (G) と TG の 2:3 (v/v) 混合物である。この化合物に対しては、相対強度比の基準からは DTT/TG12 の方が良いが、絶対強度の基準からは G/TG23 が良いということになる。こうした場合には、1. 相対強度比の基準を優先した。理由は、マトリックス由来のピークの出現が解析を困難にするためである。スペクトル中、* はマトリックス由来のピークを示す。同様の基準は、配糖体の負イオン測定に適するマトリックスの選択にも使われた³⁾。

一般にマトリックスの適合性は、化合物の性質にも強く依存するため、適当なマトリックスの探索の基本は与えられた化合物に対する実際の測定にある。しかし、膨大な数の有機化合物に対し多種類のマトリックスを適用することは実際には不可能である。また、液体マトリックスの選択基準を一部の物理化学量や物性（プロトン親和力、塩基性度、酸性度、表面張力、表面活性、粘性、水素結合能、溶解度、双極子モーメント、など）の観点から理論的に考察することは可能であるが、それらを総合的に組み合わせ先験的に良いマトリックスを選び出すことも不可能なように思える。

順序として、マトリックスの選択基準は FAB イオン化法の機構から自然に導かれるべきであろうが、そのイオン化現象の多様性と複雑性はまだ十分には理解されていないのが現状である。一方で、実用的な要求として、これまで単に経験的に良いとされてきたマトリックスの使用以上に、複数のマトリックスからより良いマトリックスを選択するための判定基準の提出が求められている。本論文では、2 種のマトリックス A と B が与えられたときに、正イオンおよび負イオン測定でどちらのマトリックスを使用すべきか判断するための基準を提出する。この基準は、使用するマトリックスのいかなる物理化学量や物性も用いないオーバーオール判定法である。すなわち、A と B から成る混合マトリックスの FAB 測定したとき、一方をマトリックス、もう一方を試料化合物に見立て、どちらのマトリックス由来のピークが強く出現するかを調べる。より強く出現するマトリックスは不適、弱く出現するかピークを現さないマトリックスが良いマトリックスであると判断する。この判定法によって得られた結果は、これまで経験的に良いとされてきたマトリックスと良く一致した。

Fig. 2. Suitability of liquid matrices in positive-ion fast atom bombardment mass spectrometry. The suitability of the matrices B in abscissa, G, TG, TEA, DTT, DEA, NBA, and NPOE, can be judged by the positive values of $\log R$ which means logarithm of the abundance ratio R of A-matrix ion peak to B-matrix ion peak in a 1 : 1 (v/v) mixture of A and B.

Fig. 3. Suitability of liquid matrices in negative-ion fast atom bombardment mass spectrometry. The suitability of the matrices B in abscissa, G, TG, TEA, DTT, DEA, NBA, and NPOE, can be judged by the positive values of $\log R$ which means logarithm of the abundance ratio R of A-matrix ion peak to B-matrix ion peak in a 1 : 1 (v/v) mixture of A and B.

実 験

質量スペクトルは、日本電子 JMS-DX303 型二重収束質量分析計と JMA-DA5100 型データ処理システムを使って得られた。高速中性原子には 5 kV に加速された Xe ビームを用いた。使用したマトリックスは、DTT, TG, NBA, glycerol (G), *o*-nitrophenyl octyl ether (NPOE), diethanolamine (DEA), triethanolamine (TEA) であった。マトリックス A と B から成る二成分混合マトリックス A/B は、1:1 の容積比で 10 μ L 用マイクロピペット (Drummond Sci. Co., Pennsylvania, USA) 中で混合調製された。

上記マトリックスのすべての組み合わせの混合マトリックスが調製され、正イオンおよび負イオン FAB 質量スペクトルが得られた。各スペクトルは再現性が確認され、3 回スキャンして平均化された。

結果および考察

各質量スペクトルのピーク強度の評価のため、各マトリックス由来のピークは次のように選ばれた。正イオンでは、G: $[G+H]^+$ at m/z 93, TG: $[TG+H-H_2O]^+$ at m/z 91, TEA: $[TEA+H]^+$ at m/z 150, DTT: $[DTT+H]^+$ at m/z 155, DEA: $[DEA+H]^+$ at m/z 106, NBA: $[NBA+H]^+$ at m/z 154, NPOE: $[NPOE+H]^+$ at m/z 252。負イオンでは、G: $[G-H]^-$ at m/z 91, TG: $[TG-H]^-$ at m/z 107, TEA: $[TEA-H]^-$ at m/z 148, DTT: $[DTT-H]^-$ at m/z 153, DEA: $[DEA-H]^-$ at m/z 104, NBA: $[NBA-H]^-$ at m/z 153, NPOE: $[NPOE-H]^-$ at m/z 251。

マトリックス A を試料化合物に見立て、そのイオン強度を $I(A)$ 、マトリックス B のイオン強度を $I(B)$ として、得られたスペクトルから強度比 $R=I(A)/I(B)$ を求めた。例えば、G をマトリックスとして選んだときの強度比は、 $I(TG)/I(G)$: 0.234, $I(TEA)/I(G)$: 942.9, $I(DTT)/I(G)$: 0.083, $I(DEA)/I(G)$: 1472, $I(NBA)/I(G)$: 0.331, $I(NPOE)/I(G)$: 14.53 のようであった。得られた強度比の範囲が数桁にも及んだため、数値の評価には対数 $\log R$ を用いた。Fig. 2 と Fig. 3 にはそれぞれ正イオンと負イオン測定で得られた結果を示す。横軸には、マトリックス B として G, TG, TEA, DTT, DEA, NBA, NPOE が並べられ、縦軸には $\log R$ が示してある。

Fig. 2 の G において、TG, DTT, NBA の $\log R$ は負値側へ、TEA, DEA, NPOE は正值側にある。これは、正イオン測定には、G よりも TG, DTT, NBA を使うべきで、TEA, DEA, NPOE は G より適さないことを意味している。すなわち、正イオン測定には、Fig. 1 において正值側へ棒グラフが伸びているマトリックスを使うべきことを表しており、G, TG, DTT, NBA を選択すると良いことになる。これは、正イオンには DTT/TG と NBA が比較的適しているとする報告と一致している¹⁾。

一方、Fig. 3 の G においては、TEA, DEA の $\log R$ は負値側へ、TG, DTT, NBA, NPOE は正值側にある。これは、負イオン測定には、G よりも TEA, DEA を使うべきで、TG, DTT, NBA, NPOE は G より適さないことを意味する。Fig. 3 において正值側へ棒グラフが伸びているのは、G, TEA, DEA であり、これらが負イオン測定に適していることを示している。負イオン測定に TEA, DEA が適するとするここでの結果も一般に知られている経験的事実と一致するが、各棒グラフの正負方向への伸びかたが Fig. 2 に比較してやや不揃いである。Fig. 3 において、スター印は NBA と DTT 由来のピーク質量数が重なったことを表しているが、そのスペクトルパターンより DTT 由来のピークのみが観測されていることがわかった。

今回の実験から、G は正イオン、負イオンのどちらの測定にも適する中庸的なマトリックスであることが示された。一方、NPOE はどちらの測定にも適さないことを示した。これらもまた、一般的な経験と一致するものである。Fig. 2 と Fig. 3 において、TG, TEA, DTT, DEA, NBA の棒グラフの伸び

ている方向が互いに逆であることが、正イオン測定と負イオン測定へのマトリックスの適性の違いを明瞭に表している。初めに述べたように、ここで得られた選択基準をなにか特別の物理化学量や物性値で説明するのは困難なように思える。DEA と TEA のプロトン親和力 (954 kJ/mol for DEA, 975 kJ/mol for TEA)⁴⁾ は他のマトリックスに比較して大きいので、これは試料分子 M からプロトンを引き抜き $[M-H]^+$ を生成させるのに有利に作用するであろうが、実際のイオン生成量はマトリックス表面の破壊領域の大きさや試料分子の飛び出しやすさにも影響されるので、オーバーオールな評価が必要なのである。

ここで提出したマトリックスの選択基準に関するオーバーオール判別法は、これまで経験的に知られていた適正マトリックスと一致する結果を与えた。この方法は、新しいマトリックスの評価に利用できるとともに、合成等により新しいマトリックスを開発するうえで有効となるであろう。

文 献

- 1) M. Takayama, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 42, 11 (1994).
- 2) M. Takayama, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 42, 249 (1994).
- 3) M. Takayama, *Org. Mass Spectrom.*, 26, 1123 (1991).
- 4) J. A. Sunner, R. Kulatunga, and P. Kebarle, *Anal. Chem.*, 58, 1312 (1986).

Keywords

FAB-MS

Choice of matrix

Positive-ion

Negative-ion