

浜松キャンパス共同利用機器センターの分析機器を用いた技術研修報告

メタデータ	言語: ja 出版者: 静岡大学技術部 公開日: 2023-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 早川, 敏弘 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/00029516

浜松キャンパス共同利用機器センターの分析機器を用いた 技術研修報告

早川 敏弘

(静岡大学 技術部 機器分析部門)

1. はじめに

本学の技術部では例年、技術部新規採用者に対して技術的な研修を開催している。技術部は全 6 部門で構成されており、各部門がプログラムを立案することで、研修は数日間に渡り実施される。本研修は筆者が所属する機器分析部門の研修として取り入れることを想定して実施した。

筆者は浜松キャンパス共同利用機器センター(以下、センターと呼称)に所属し、機器分析部門の部門員も多くが所属している。センターは化学物質を分析する装置も数多く保有している。その中で、質量分析装置(MS)は物質の質量を、核磁気共鳴分光装置(NMR)は原子間の位置関係を、フーリエ変換型赤外分光装置(FT-IR)は原子間の結合の種類を分析することができる。以上の 3 機種で得られたデータを組み合わせることで、簡易な化学構造であれば、未知化合物の同定が可能である。本研修では操作実習とデータ解析を通して、本部門で扱う装置や業務の理解を深めることを目的とした。



2. 研修内容

2.1 研修準備

筆者は大学連携研究設備ネットワーク主催「令和 3 年度第 2 回 NMR 構造解析講習」を受講している。講習会で課題として取り上げられた試薬を購入し、本研修では未知試料と想定した。未知試料は液体の有機物であることを前提に研修を実施した。また NMR の構造解析資料についても講習会資料^[1]を参考に作成した。

2.2 研修の流れ

研修には 4 名(浜松 : 2 名, 静岡 : 2 名)が参加した。スケジュールは以下の通りである。

日時 : 令和 4 年 9 月 15 日(木)

10:00~ 座学(装置説明・測定原理について) → 11:00~ 操作実習①(FT-IR)

→ 12:00~ 昼休憩 → 13:00~操作実習②、③ (NMR・MS) → 15:30-16:30 まとめ (構造解析)

2.3 座学の実施

座学資料については各装置、以下の資料を参考に作成した。

FT-IR : 「セミナーテキスト フーリエ変換型赤外分光法」(日本分光株式会社)

MS : 「Compact アドバンスド トレーニングコース」(ブルカー・ジャパン株式会社)

NMR : 「NMR 基本講習会(2019.8.28)資料」(大学連携研究設備ネットワーク主催)^[2]

2.4 操作実習の実施

2.4.1 フーリエ変換型赤外分光装置(FT-IR) 機種：FT/IR-6300(日本分光)

今回のような液体試料の場合、附属のユニットを用いた全反射法(ATR法)での測定が簡易であり、操作実習で採用した。得られたデータは図2に示す。2800-3000 cm^{-1} のピークはC-H伸縮振動のピークであり、有機物では一般的である。1700 cm^{-1} 付近のピークはC=O伸縮振動のピークである。また、有機物の官能基としてよく観測されるO-H伸縮振動のピークが存在すれば図2のように3000-3500 cm^{-1} 付近にブロードなピークとして現れるが、今回の試料では観測されなかった。このため、未知試料にはエステルもしくはアルデヒドが含まれることが推定される。また、500-1500 cm^{-1} 付近には複数のピークが現れるが、この領域は指紋領域と呼ばれ、各物質固有の波形を示す領域である。データベースとの照合に有意ではある¹⁾が、今回の研修のようなゼロからの同定には不向きであるため構造の検討材料からは除外した。



図1 実習風景

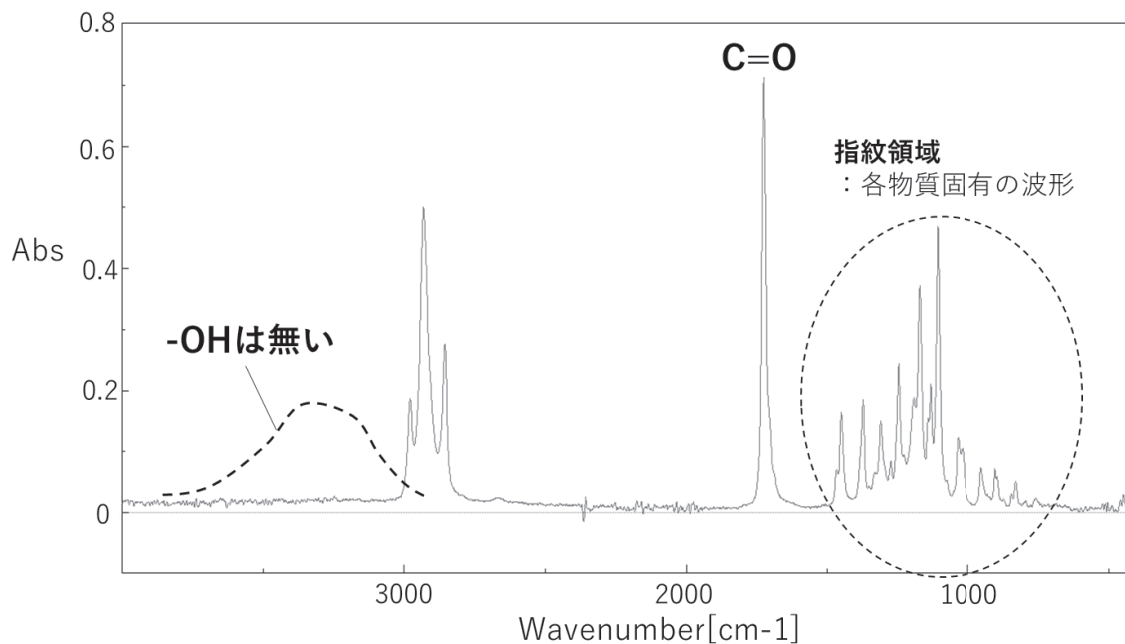


図2 FT-IR 測定結果

2.4.2 質量分析装置(MS) 機種：compact QTOF(Bruker)

飛行時間型 MS(TOF-MS)はイオン化されたサンプルが、電圧により加速されることで、検出器へのイオンの到達時間の違いから質量(m/z)を算出する。センターではイオン化をさせるイオン源にESI(エレクトロスプレーイオン化法)とAPCI(大気圧化学イオン化法)の2種類のプローブを保有している。事前測定でAPCIプローブではサンプル由来のピークが観測されたが、ESIプローブでは、サンプルと思われるピークが観測されなかった。ESI法では低極性の試料のイオン化は不向きであるため、未知試料は低極性であると考えられ、APCIプローブを用いて操作実習を実施した。

m/z：171.1393 にサンプル由来のピークが確認され、装置付属の解析ソフト「data analysis」(Bruker)の「Smart Formula」機能より、H+が付加した $C_{10}H_{19}O_2$ (m/z:171.1380)が最も類似した分子式だと推定された。また各原子は同位体の存在比率が異なるため、分子式によるピークの分裂パターンは多様である。仮に未知試料に H+が付加した分子式を $C_{10}H_{19}O_2$ とし「data analysis」の「Simulate Pattern」によりピークの分裂パターンをシミュレーションすると、図3のように実測の分裂パターンと一致した。そのため、未知試料の分子式は $C_{10}H_{18}O_2$ であるとし、構造解析時にこの情報を使用した。

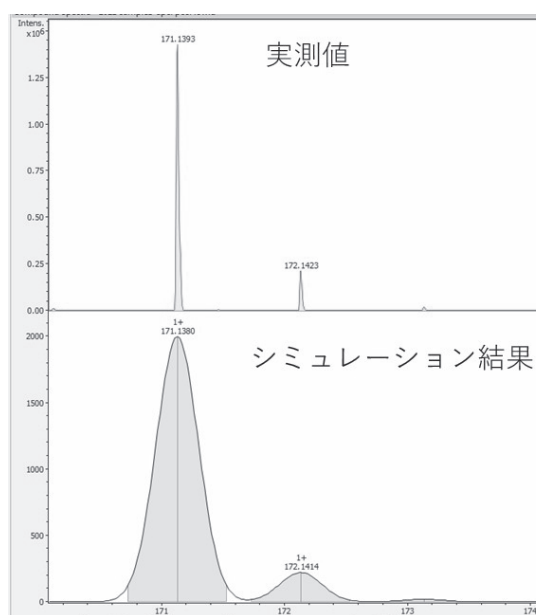


図3 シミュレーション結果

2.4.3 核磁気共鳴装置(NMR) 機種：AvanceIII HD400(Bruker)

未知試料は重クロロホルムに混和させ、測定サンプルを事前に調製した。構造解析は図4のようなNMR装置メーカーの日本電子が推奨する構造解析⁵⁾の手順によって6種類の測定データを組み合わせて実施する。研修時間の都合により、操作実習では¹H-NMR測定のみを実施し、他のデータは筆者が事前に測定したものを構造解析に使用した。測定データについては2.5 構造解析の項で説明する。



図4 NMRの構造解析手順

2.5 構造解析

構造解析は筆者が解説する座学形式で実施した。構造解析では MS と FT-IR の結果から分かっている情報を念頭に置き、2.4.3 の図 4 に従って NMR の結果より構造解析を実施した。前提条件は以下である。

MS : 未知試料の分子式は $C_{10}H_{18}O_2$ であり、不飽和度を計算すると 2 である。

FT-IR : エステルもしくはアルデヒドの構造を有する。

上記の二つを組み合わせると、不飽和度は 2 であり、1 つはエステルもしくはアルデヒドの $C=O$ の二重結合のものであることから、未知試料はこの他に二重結合一つ、もしくは環構造を 1 つ有することが決定される。以下、図 4 の解析手順に従い構造解析した結果を、研修で使用した資料を抜粋して説明する。

2.5.1 Step1(^{13}C -NMR、DEPT135)

Step1 では原子団と官能基の推定をした。 ^{13}C -NMR 測定は炭素核のケミカルシフトからどのような官能基が存在するか推定できる。また DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)135 測定は各炭素に結合している 1H 数によってシグナルの現れる向き(正または負)が異なるため、原子団の特定が可能となる。結果は図 5、6 に示す。各スペクトルより下記のことが分かる。 ^{13}C -NMR スペクトルでは低周波側から A~G までナンバリングした。

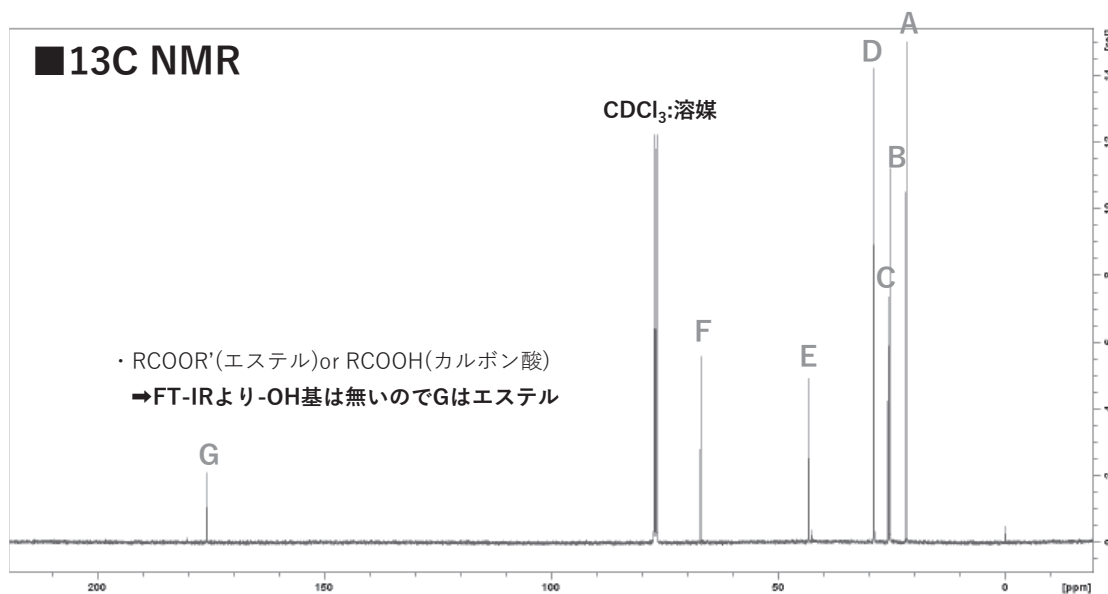
^{13}C -NMR :

- 170~180ppm 付近のピーク G はカルボン酸もしくはエステルに基因するピークであり、FT-IR の結果と合わせると未知試料はエステルの構造を有する。
- $C_{10}H_{18}O_2$ は炭素数 10 であるが A~G の 7 個分しかピークが存在しないため、等価な位置関係の炭素が 3 個存在する。

DEPT135 :

- DEPT135 では 1 級、3 級炭素は上向き、2 級炭素は下向き、4 級炭素はピークが消失する。また 1 級炭素ほど低周波数側に現れるため、A: CH_3 、B,C,D : CH_2 、E,F : CH 、G : C(エステル)ということが分かる。

^{13}C -NMR と DEPT135 を組み合わせると図 7 のような構造が存在することがわかる。



※ $C_{10}H_{18}O_2$ の炭素数10であるがA~Gの7個しかピークがない。
→等価な位置関係のCが3箇所存在する。

図 5 ^{13}C -NMR 結果

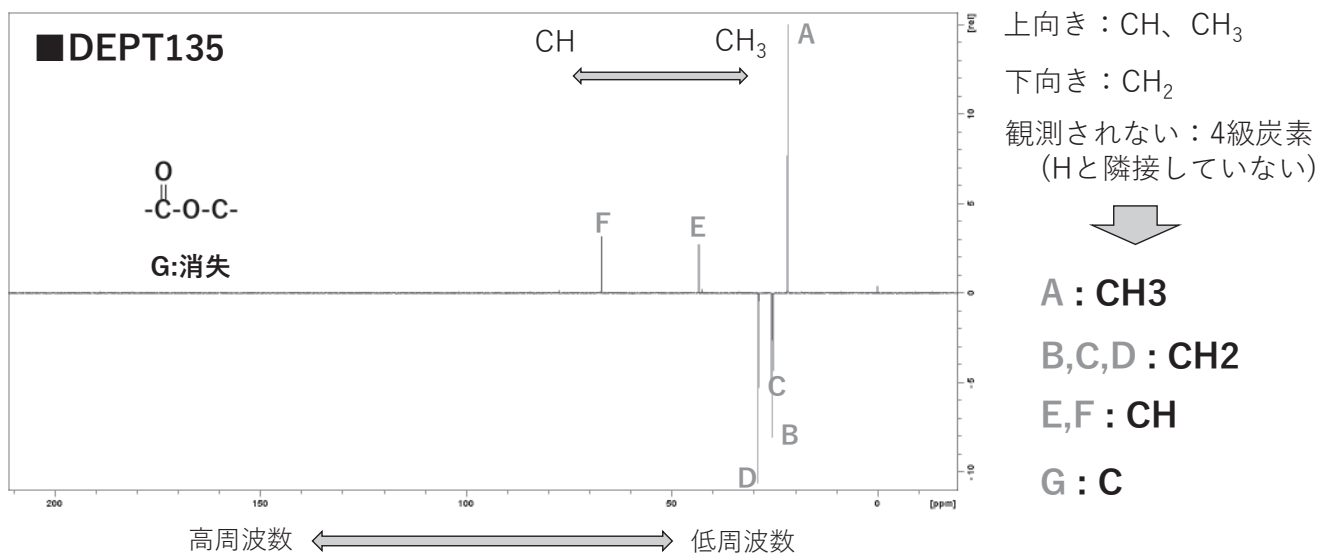


図6 DEPT135 結果

■ Step1のまとめ

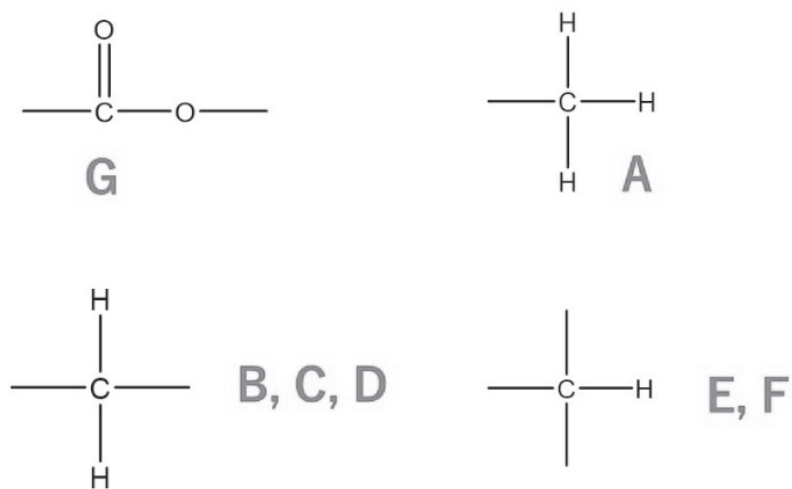


図7 Step1 のまとめ

2.5.2 Step2 (^1H - ^{13}C HMQC, ^1H -NMR)

^1H - ^{13}C HMQC(Heteronuclear Multiple Quantum Correlation)は図8のようなスペクトルの相関から炭素に直接に結合した水素を帰属することができる。

上段のスペクトルは ^1H -NMRのスペクトルを示すが、各炭素と相関のある水素についてナンバリングした。図9は図8の1-2ppm(上段： ^1H -NMR)付近を拡大したスペクトルである。

図10には ^1H -NMRのスペクトルを示している。 ^1H -NMRの各ピークの積分強度比は各水素の数に比例する。未知試料の分子式は $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$ であり、水素の数は18個である。各ピークの積分強度の比から、各水素の数の内訳は図中の表のようになる。ここで水素A、B1、C1はピークの分離が難しかったため、一つのピークとして計算したが、水素Aは強度が大きく、DEPT135より CH_3 であることが分かっているため、水素の数は6個と仮定した。またHMQCと水素C2、B2の数の関係から水素C1、B1の数もそれぞれ決定できる(図10)。Step2では図11のような構造までが推定可能である。

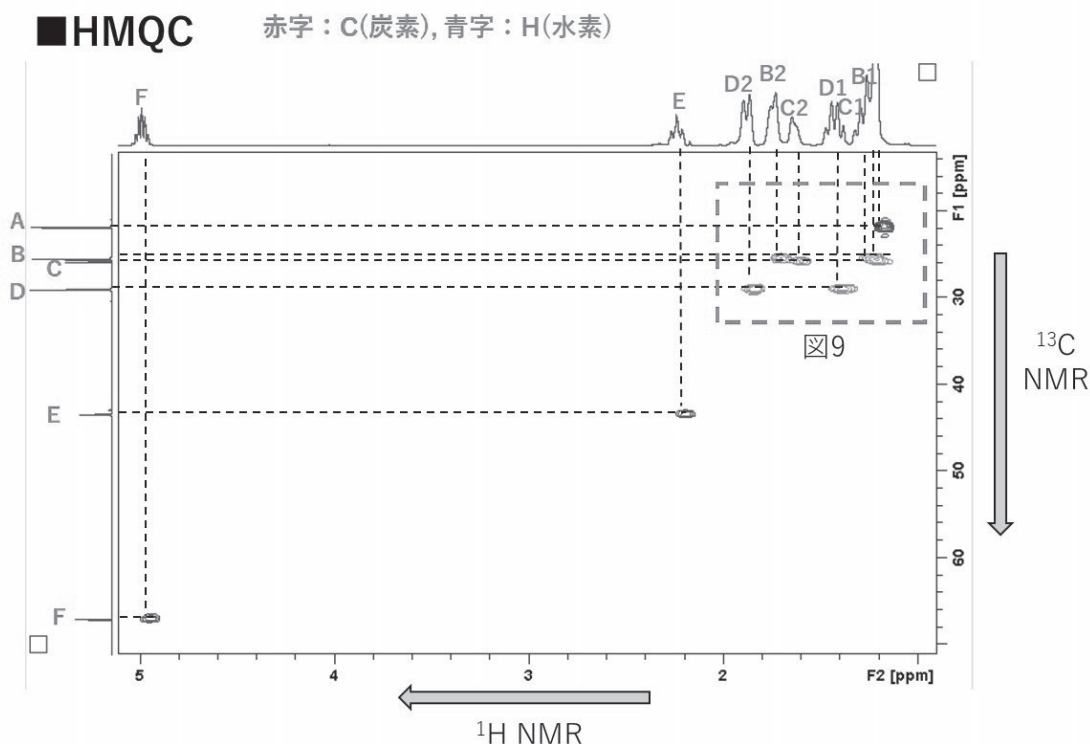


図8 ^1H - ^{13}C HMQC 結果

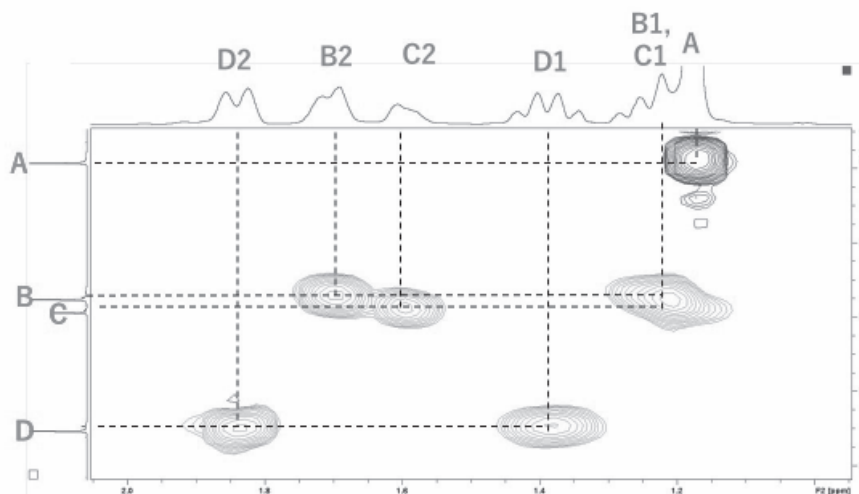


図9 ^1H - ^{13}C HMQC 結果拡大(1~2ppm)

■¹H-NMR

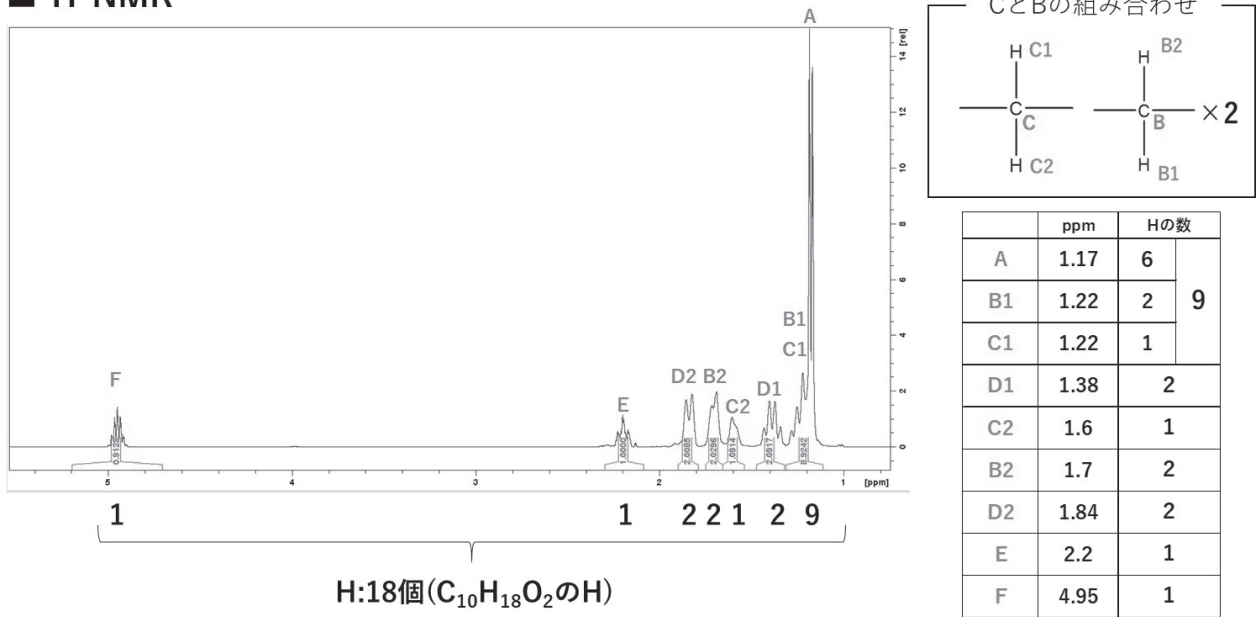


図10 ¹H-NMR 結果

■Step2のまとめ

※等価な位置関係の炭素が3個(①~③)存在する。

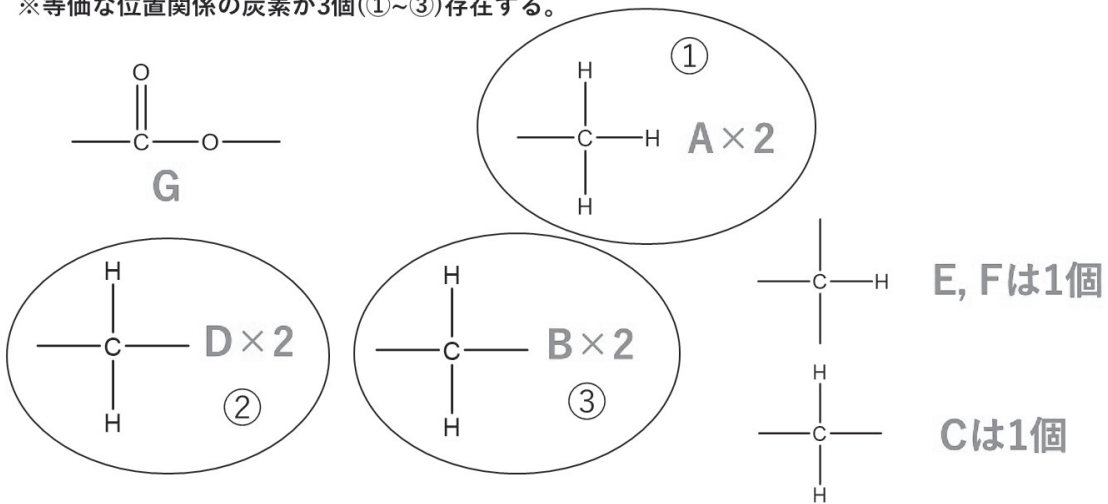


図11 Step2のまとめ

2.5.3 Step3 (^1H - ^1H COSY)

^1H - ^1H COSY(CORrelation SpectroscopY)は図12のようなスペクトルの相関から隣り合う水素の関係を調べることができる。図12では上・左段は同一の ^1H -NMRが表示されている。例として水素A、Fには赤丸のように相関が見られ、構造を繋ぎ合わせると図12中のような構造を持つことが推定される。各水素同士の相関関係を調べると図13中の表のように整理でき、①~③のように繋ぎ合わせることができる。

Step3では図14のような構造までが推定可能である。

■COSY

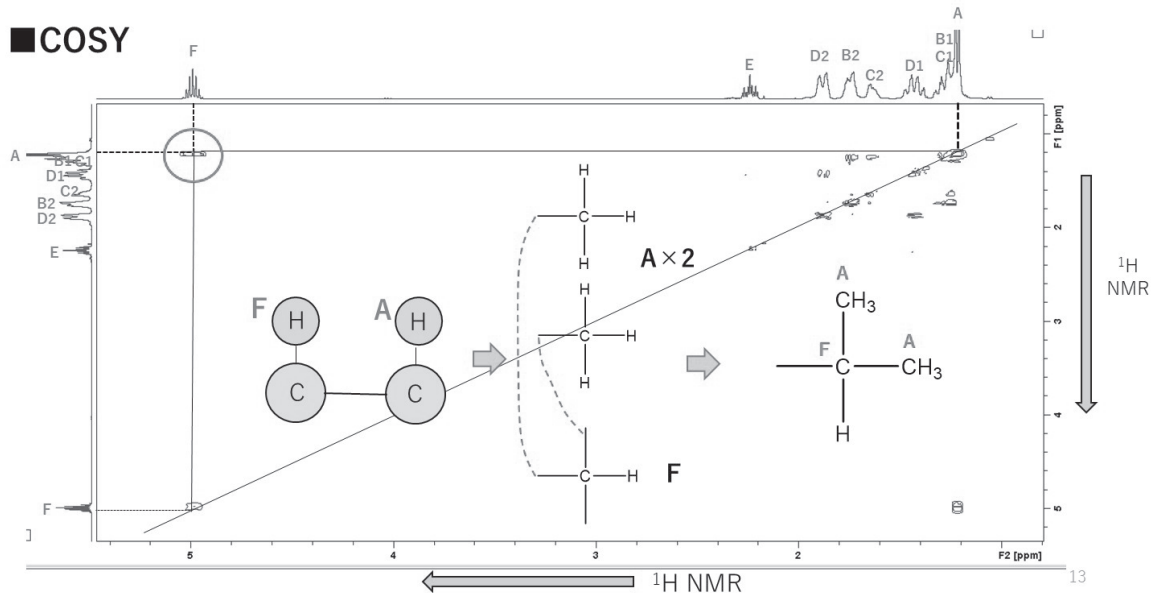
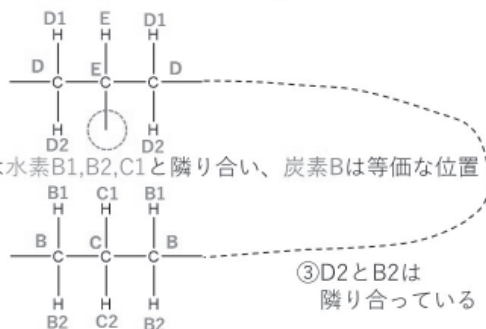


図12 ^1H - ^1H COSY 結果①

■COSY

COSY	^1H	F	E	D2	B2	C2	D1	C1	B1	A
^1H	ppm	4.95	2.2	1.84	1.7	1.6	1.38	1.22	1.22	1.17
A	1.17	○								
B1	1.22				○	○	○			
C1	1.22			?	○	○	○			
D1	1.38		○	○				○	○	
② C2	1.6				○			○	○	
B2	1.7				○	○		○	○	
③ D2	1.84		○	○			○			
① E	2.2			○			○			
F	4.95									○

① 水素Eは水素D1,D2と隣り合い、炭素Dは等価な位置



~これまでの構造~

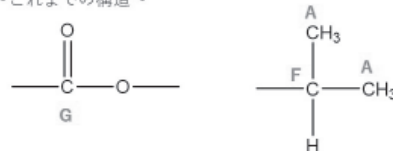


図13 ^1H - ^1H COSY 結果②

■Step3のまとめ

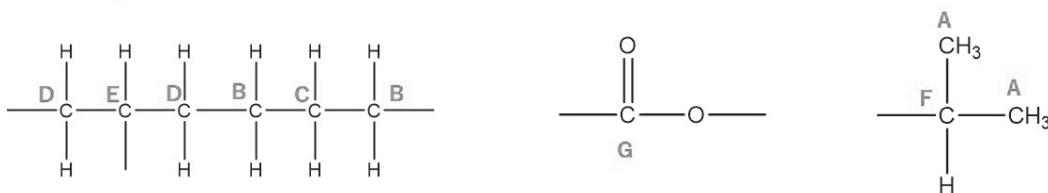


図14 Step3 のまとめ

2.5.4 Step4 (^1H - ^{13}C HMBC)

^1H - ^{13}C HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)は図 15 のようにスペクトルの相関から、水素と 2~3 結合離れた炭素との関係調べることができる。上段は ^1H -NMR、左段は ^{13}C -NMR が表示される。

例として図 15 中の①、②より水素 F から見て 2 結合又は 3 結合離れた炭素は炭素 A と G であることが分かる。また、水素 F は高周波数側のピークであることから水素 F が結合した炭素は酸素に結合していると考えられる。③より炭素 G から見て 2 結合離れた水素は水素 E であることから図 15 中の構造が考えられる。また、これまでの ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR からエステル他に二重結合を持つ構造が帰属されないことから、不飽和度 2 より、残りは一つの環構造を持つことが考えられる。最終的に図 16 のような構造になり、イソプロピルシクロヘキサンカルボキシレートと決定した。

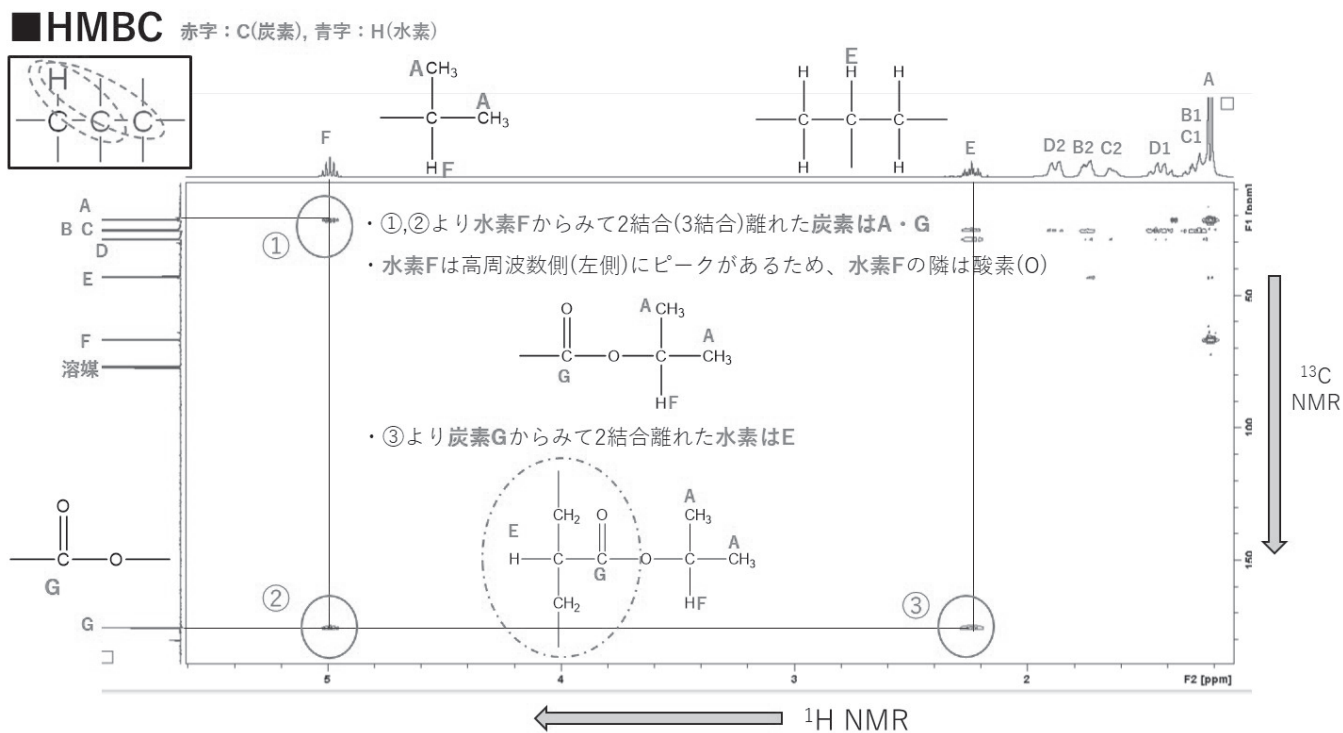


図 15 ^1H - ^{13}C HMBC 結果

Step4のまとめ

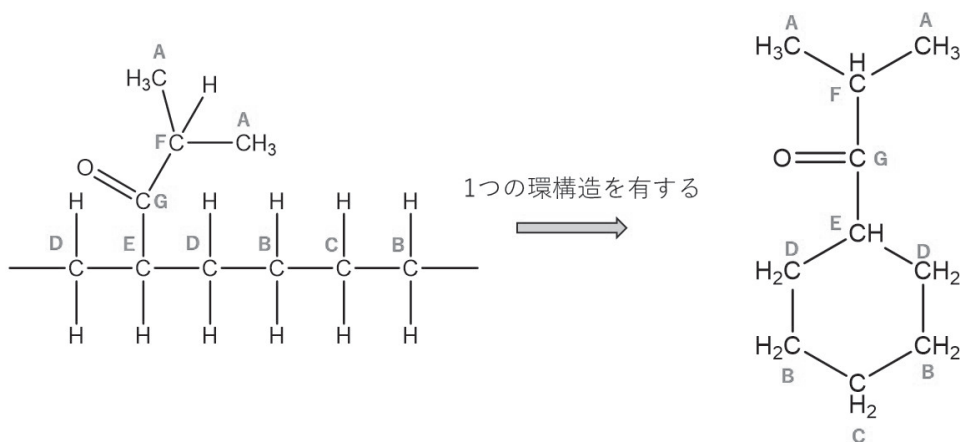


図 16 Step4 のまとめ

3. まとめ(研修後のアンケートの実施)

研修の改善を図るため、研修後に参加者へアンケートを実施した。アンケート結果の抜粋は図 17 に示す。座学は全体的に難しいと感じる参加者が多かったため、分かりやすくする工夫が必要だと感じた。操作実習に関しては、丁度良かったという声もあり、参加者にもそれなりにストレスなく操作ができたのではないかと考えている。また、「分析装置が使用でき、興味深い研修であった。」「実際に装置が動くところを見て、理解が深まった。」などの感想があり、当初の目的である新規採用者研修としても妥当性があるのではと感じている。

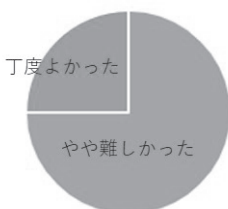
また、参加者からのアドバイスは下記が挙げられた。

- ・座学の装置原理の説明部分は基礎知識がないと難しいと感じた。
- ・各装置の実習時間がより確保できれば、理解が一層深まると思う。
- ・データの構造解析は発表者が一方的に解説する形式であったため、新人研修に織り込む際は、参加者が部分的でも考える(クイズ形式など)形式であれば、より良くなると思う。

これらの意見を踏まえた上で、今後、より受講しやすい研修となるように改善を検討していく予定である。

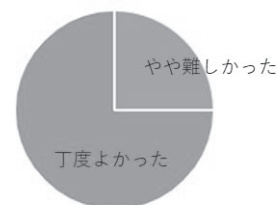
Q1 午前中の座学(装置の原理)で感じた難易度について教えてください。

- 大変難しかった 0
- やや難しかった 3
- 丁度良かった 1
- やや簡単だった 0
- 簡単だった 0



Q3 装置操作の実習で感じた難易度について教えてください。

- 大変難しかった 0
- やや難しかった 1
- 丁度良かった 3
- やや簡単だった 0
- 簡単だった 0



Q2 構造解析(測定データからの未知試料の同定)の座学で感じた難易度について教えてください

- 大変難しかった 1
- やや難しかった 2
- 丁度良かった 1
- やや簡単だった 0
- 簡単だった 0

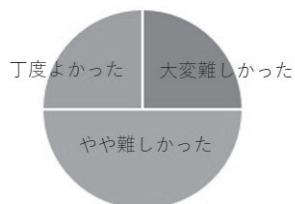


図 17 アンケート結果

参考文献・引用文献

- [1] 鳥居実恵 技術職員(名古屋大学)：「令和3年度第2回 NMR 構造解析講習(2021.6.24 開催)」
(大学連携研究設備ネットワーク主催)
- [2] 木村悟 技術専門職員(北海道大学)：「溶液 NMR 基礎」
- [3] 日本分光株式会社：「セミナーテキスト フーリエ変換型赤外分光法」
- [4] ブルカージャパン株式会社：「Compact アドバンスド トレーニングコース」
- [5] 日本電子株式会社：「第 12 回基礎型 NMR ユーザーズミーティング(2021.6.11 開催)」