

ノート

固体高分解能NMRを利用した税関分析への応用

山崎 幸彦, 柴田 正志, 木村 久美, 赤崎 哲也, 熊沢 勉*

Application of solid state NMR method to custom analysis

Yukihiko YAMAZAKI, Masashi SHIBATA, Kumi KIMURA, Tetsuya AKASAKI
and Tsutomu KUMAZAWA

Central Customs Laboratory ; Ministry of Finance
531 Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271-0076 Japan

Solution state NMR method is one of the most useful method in customs analysis, so it has been used for the analysis of food, polymer, etc. But in solution state NMR method, a deuterated solvent such as chloroform-d6 and benzene-d6 is necessary for measurement. Therefore if the sample cannot be dissolved in such a deuterated solvent, we cannot use the solution state NMR method.

By using solid state NMR method we can analyze the solid sample as it is. Considering this advantage, we examined whether or not solid state NMR can be applied to custom analysis. In this report we especially examined CP/MAS method.

As a result, it was found that solid state NMR method is useful for the qualitative analysis of solid sample such as starch and modified starch.

1. 緒 言

現在、我が国における輸入品は、野菜等食料品をはじめ多品目にわたっており、さらにそれらが調整されて組成が複雑になっている。

従来から当所では、輸入品の化学的な分析手法の一つとして溶液高分解能 NMR を用いており、食品及び有機化学品等の構造解析においてその能力を発揮してきた。

溶液高分解能 NMR 法は、試料を重クロロホルム、重ベンゼン等の重溶媒に溶かして測定する方法であり、構造解析において有名な知見が得られる一方で、試料が重溶媒に溶けない場合は測定できないなどの欠点を持ち、測定できる試料に制限がある。

これに対し、固体高分解能 NMR 法は、その名の通り、試料を固体のまま測定できる方法として注目され、当所においても平成 9 年 12 月に導入されたところである。

本研究では、今回導入された固体高分解能 NMR 装置の測定理論について簡単に説明するとともに、溶液 NMR 法と固体 NMR 法の測定データの比較をふまえ、実際の税関分析における応用例を紹介する。

2. 実 験

2.1 標準試料

固体高分解能 NMR における測定データと従来の溶液 NMR 法によるデータを比較するためカフェイン及びポリスチレンの 2 種類を用いることとした。

カフェインは和光純薬工業株式会社製のものを、ポリスチレンはアルドリッチ社製のものをを用いた

2.2 分析試料

固体高分解能 NMR 法は、試料をそのまま測定できるという利点から、溶液 NMR 法とは違った測定方法が期待される。今回は、その利点を利用するという意味で、変性でんぷんを用いることとした。

でんぷん及び変性でんぷんは、次のものを使用した。

でんぷん

カチオン化でんぷん

アセチル化でんぷん

ヒドロキシプロピルエーテル化でんぷん（いずれも日本コーンスターチ社製のもの）

*大蔵省関税中央分析所 〒271-0076 千葉県松戸市岩瀬 531

2.3 測定機器

固体高分解能 NMR CMX-300 (日本電子株製)

溶液高分解能 NMR JMN-LA300 (日本電子株製)

FT-IRMagnaIR-760 (Nicolet 社製)

2.4 測定方法

固体 NMR 法は、試料を測定する際に、種々の測定方法がある。

今回は、最も一般的な測定方法である CP/MAS 法を用いることとした。

また積算回数は、800 回に、試料の回転速度は 3500kHz に統一した。

MAS 法及び PST/MAS 法について説明していく。

まず、CP/MAS 法であるが、これは下記に示すように 2 つの測定方法を組み合わせたものである。

CP: クロスポラリゼーション (cross polarization), C-H 間に働く双極子-双極子相互作用を利用し、磁化を移動させる交差分極のことをいう。この方法により、観測核の感度が最大 4 倍に向上する。一般的には、天然存在比の少ない核 (^{13}C や ^{15}N 等) に用いる。

MAS: マジックアングルスピニング (magic angle spinning), 観測核に働く化学異方性が 0 となる角度 ($\theta = 54.44^\circ$) で試料を高速回転させること。この方法を用いることで、得られる信号をシャープにすることができ、基本的には化学シフトの情報を得ることができる。

では、なぜこの MAS という操作が必要なのか、模式図を Fig. 1 に示す。

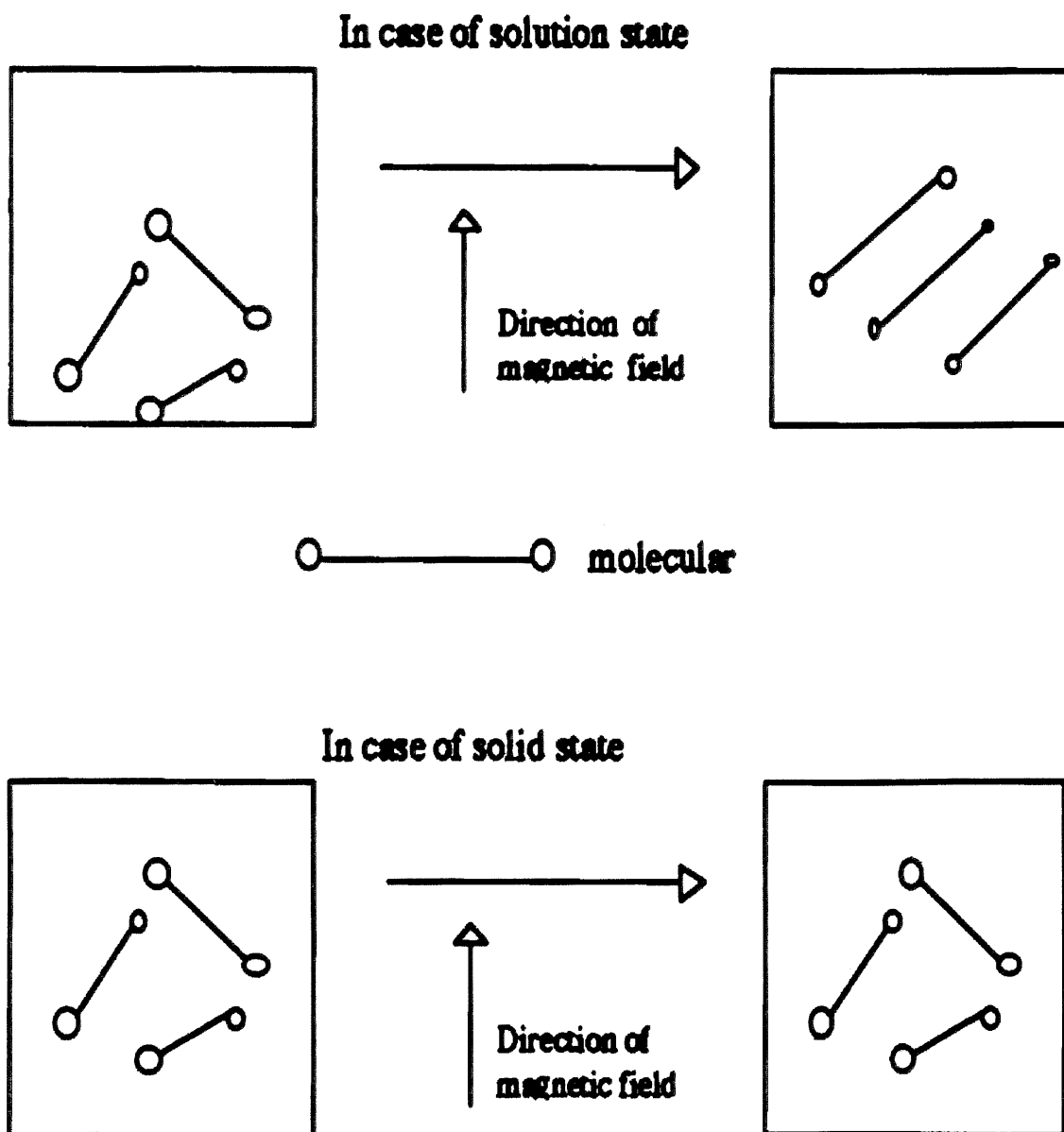


Fig.1 Aimage of molecular morion around the magnetic field

溶液状態で試料を NMR 法により測定する場合、分子が自由に運動できる環境にあるため、ある方向から磁場をかけたとき、磁場に対して最も安定な方向に向くことができる（この分子と磁場のなす角をマジックアングルと呼ぶ）。従って、分子は溶液中では、理論的に化学シフト異方性が 0 という状態にあり、NMR により得られる情報は、観測核における磁場の遮蔽定数より得られる情報、いわゆる化学シフトのみが得られる。

ところが、固体状態では、分子は自由に運動できる環境にない、つまり分子運動が束縛されている状態にあるため、ある方向から磁場をかけても分子は磁場に対して安定な方向に向くことができない。従って、分子の方向と磁場のなす角がまちまちになるため、核に働く遮蔽定数が変わり、結果として一つの分子に対しあらゆる化学シフトが存在することになる。これを化学シフトの異方性という。

では、ここで MAS という操作を行うとどのようなことになるかというと、試料を先程のマジックアングルで高速回転させることによって試料中の分子の向きは見かけ上平均化されてマジックアングルに向くことになる。従って、化学シフトの異方性は理論上 0 となり、結果として、化学シフトの情報のみが得られることとなる。このことから、NMR における化学シフトの情報のみが必要な場合、この MAS という操作が必要となる。

この CP/MAS 法の特徴として、先にも述べたように、核間の双極子-双極子相互作用を利用して磁化を移動させるため、双極子-双極子相互作用が強く働くもの、いわゆる結晶性が高く分子運動性の悪いものほど、信号が強く出るという特徴がある。

次に、PST/MAS 法について説明する。

PST とはパルス飽和移動 (pulse saturation transfer) のことであり、溶液 NMR では一般的に行われている、NOE を利用して信号を強くする方法である。しかし、溶液 NMR 法で用いられているパルスを用いると固体 NMR 法では試料の発熱などがあり、測定が困難であるため、実際には Fig. 2 で示すようなパルス列を用いて測定する。

この PST/MAS 法の特徴として、NOE が強く働くもの、つまり運動性のよい分子ほど信号が強く出る特徴がある。

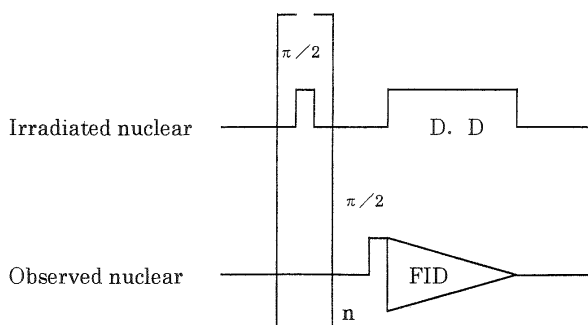


Fig.2 Pulse sequence of PST/MAS

D.D : dipolar decoupling FID : free induction decay

4. 結果及び考察

4. 1 標準試料の比較

実際に標準試料を用いて CP/MAS 法により測定した結果を Fig. 3 ~ 6 に示す。カフェインの溶液 NMR スペクトルと固体 NMR スペクトルを比較すると、どちらも化学シフトのみの情報が得られることがわかる。しかしながら、固体 NMR のスペクトルは溶液のものに比べて信号がブロードになり、かつ信号強度も溶液のものと異なることが認められる。これは、上記 3 でも説明したように、CP/MAS 法で測定した場合、分子運動が束縛されているものほど信号強度が強くなり、かつブロードになったものと考えられる。従って、この CP/MAS 法は定性分析に向いているが定量分析を行う場合は一考察を要するといえる。

次に、ポリスチレンの溶液 NMR スペクトルと固体 NMR スペクトルを比較すると、固体 NMR におけるシグナルの線幅は、先ほどのカフェインとほぼ同程度であることが認められる。従来、溶液 NMR 法では分子の運動性は分子量や粘度にかなり依存し、両者の影響がシグナルの線幅に影響を及ぼすといわれていたが、固体 NMR では結晶性に強く依存するため、分子量や粘度以外でもシグナルの線幅に影響する要素があるといえる。従って、ポリスチレンとカフェインを比較した場合でも、溶液 NMR 法ではポリスチレンの方がカフェインに比べシグナルの線幅が広いが、固体 NMR 法では、ほぼ同程度になるものと考えられる。

4. 2 実際の試料への応用

4. 1 において、固体 NMR 法の利点と欠点がある程度明らかになったので、実際の試料について検討する。

そこで、今回用意した 4 種類のでんぷん及び変性でんぷんの赤外吸収スペクトルを Fig. 7 ~ 10 に示す。

アセチル化でんぷんについては 1740 cm^{-1} にカルボニル基に由来する吸収が認められるものの、他の変性でんぷんについてはでんぷんと同様の吸収を示すことがわかる。従って、赤外法によりこれら変性でんぷんについて変性の有無を調べることは非常に困難であり、これら変性の有無を調べるには他の測定法を用いる必要がある。

次に、CP/MAS 法による固体 NMR スペクトルを Fig. 11 ~ 14 に示す。

でんぷんは、 61 ppm 、 70 ppm 、 81 ppm 及び 100 ppm にそれぞれシグナルが認められる。それに対し、アセチル化でんぷんはでんぷんに由来するシグナルのほかに新たに 20 ppm 及び 172 ppm に CH_3 基及び CO 基に由来するシグナルが認められる。同様に、カチオン化でんぷんについては、 54 ppm に $\text{N}-\text{C}$ 結合に由来するシグナルが認められ、ヒドロキシプロピルエーテル化でんぷんについても 19 ppm 及び 57 ppm に CH_3 基及び $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 結合に由来するシグナルが認められる。このことから、赤外法では困難であった変性でんぷんについても固体 NMR 法を用いることにより変性の有無を判定することができるといえる。

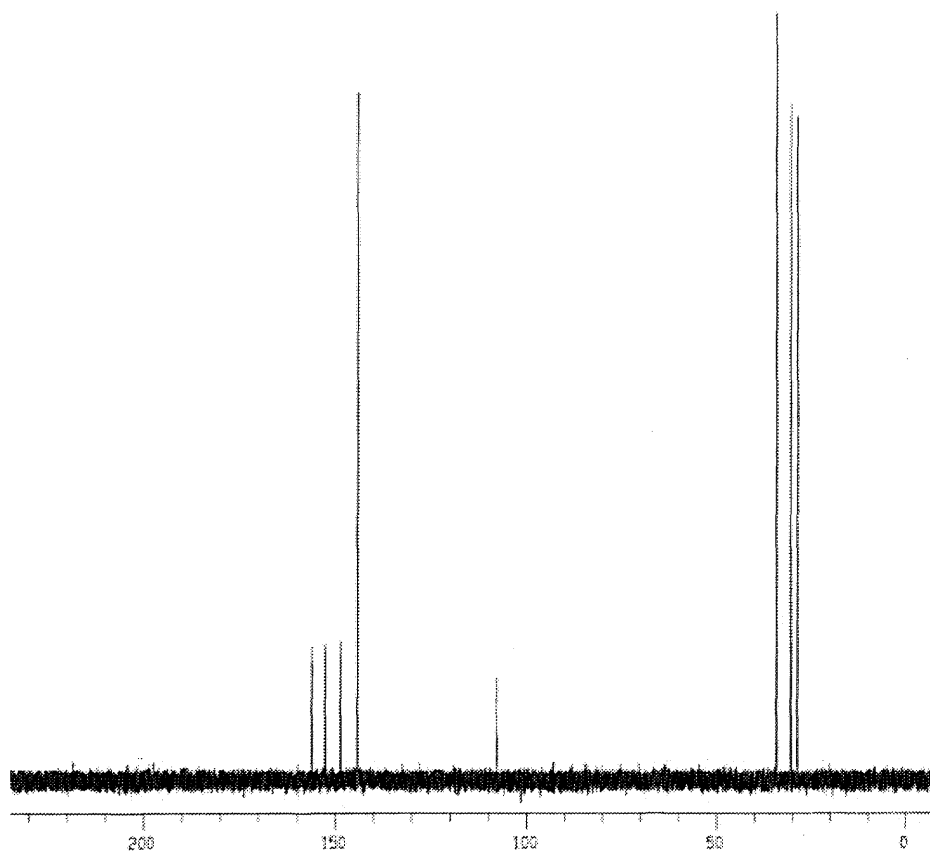
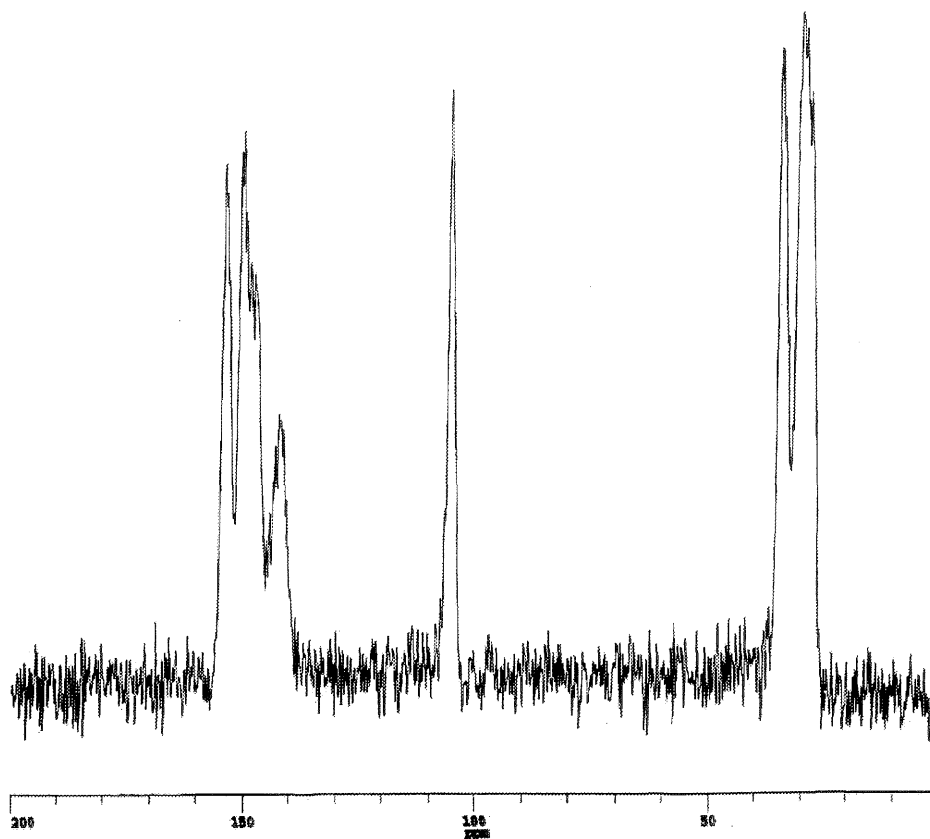


Fig.3 Solution state NMR spectrum of caffeine

Fig.4 ^{13}C CP/MAS solid state NMR spectrum of caffeine

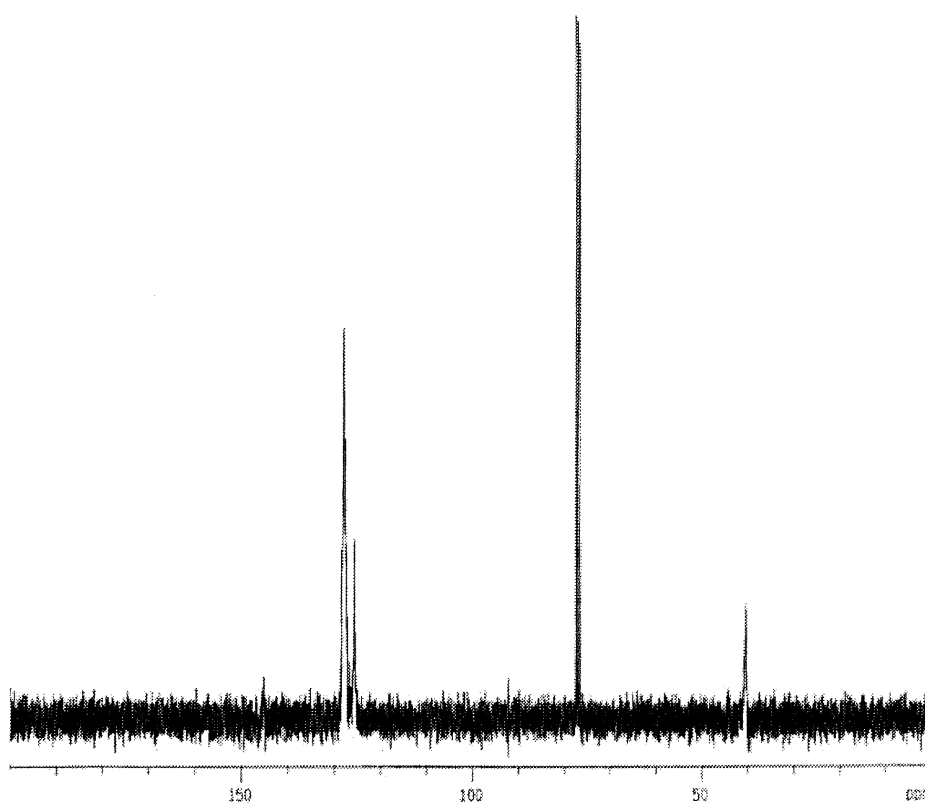


Fig.5 Solution state NMR spectrum of polystyrene

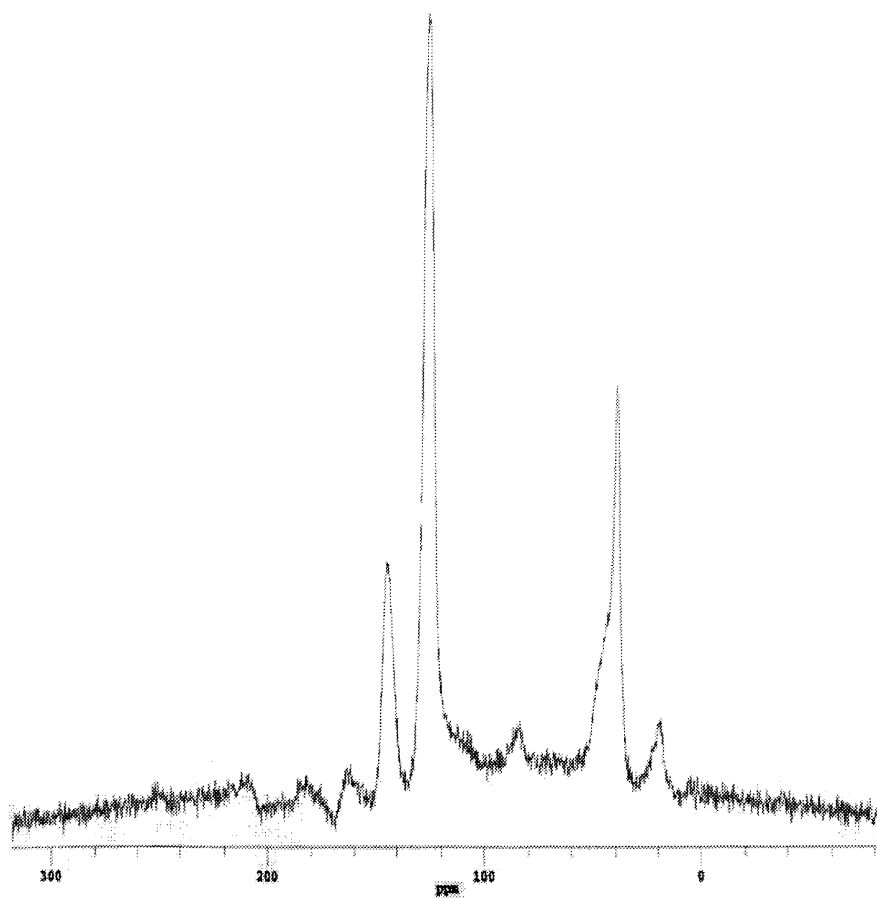


Fig.6 ^{13}C CP/MAS solid NMR spectrum of polystyrene

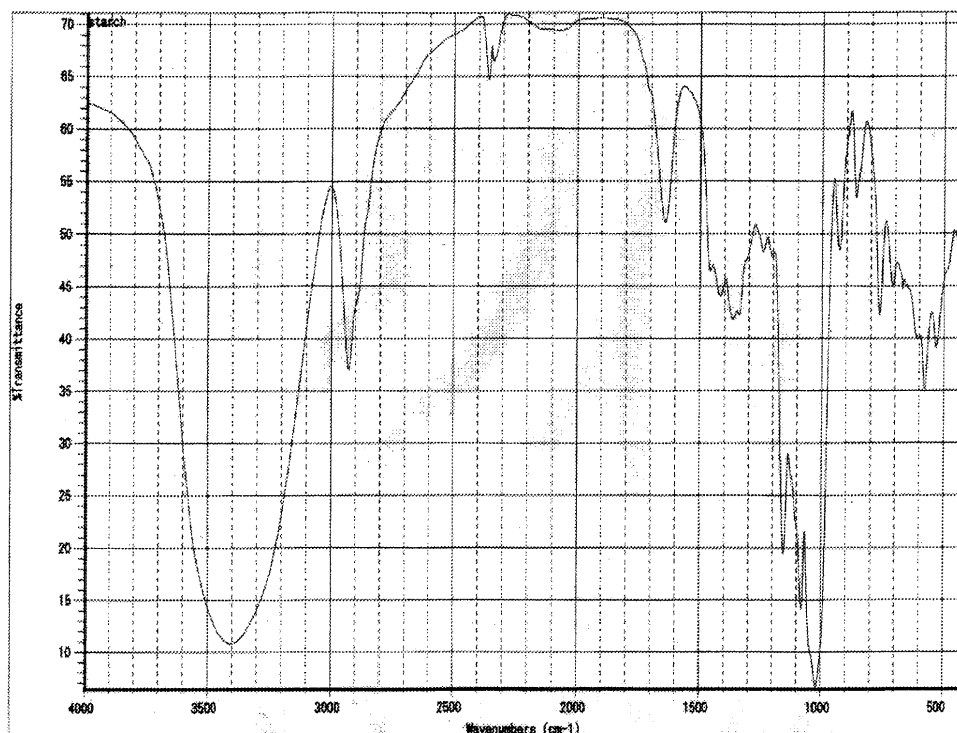


Fig.7 IR spectrum of starch

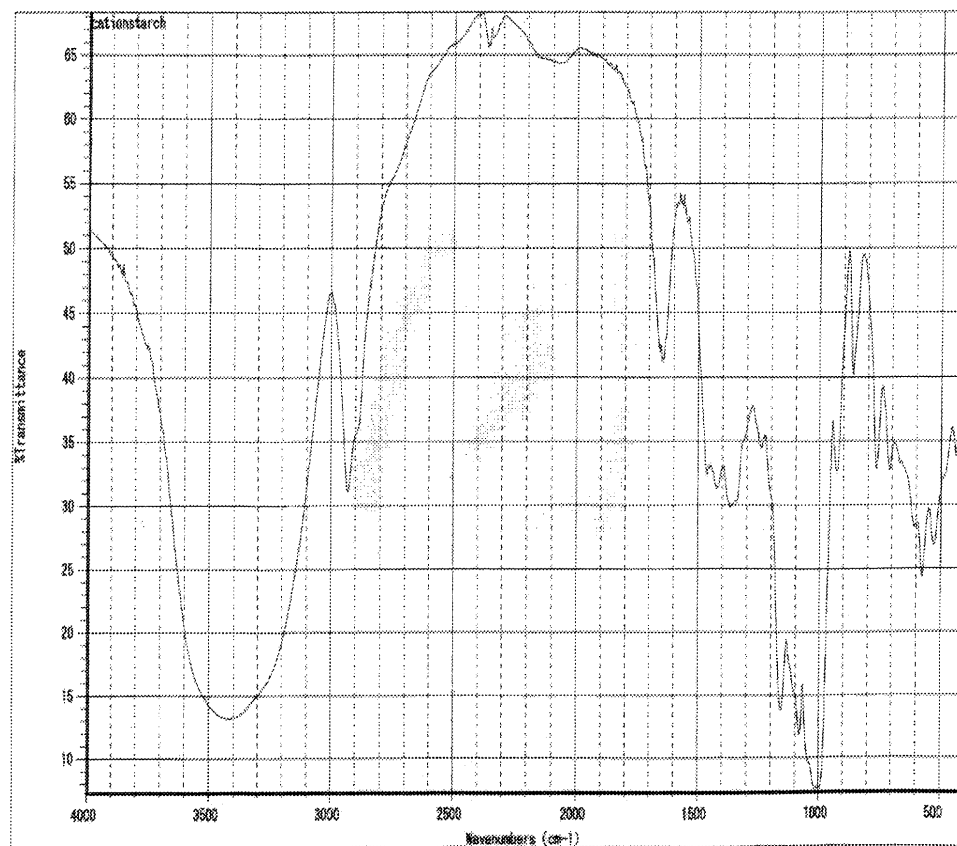


Fig8 IR spectrum of Cationic starch

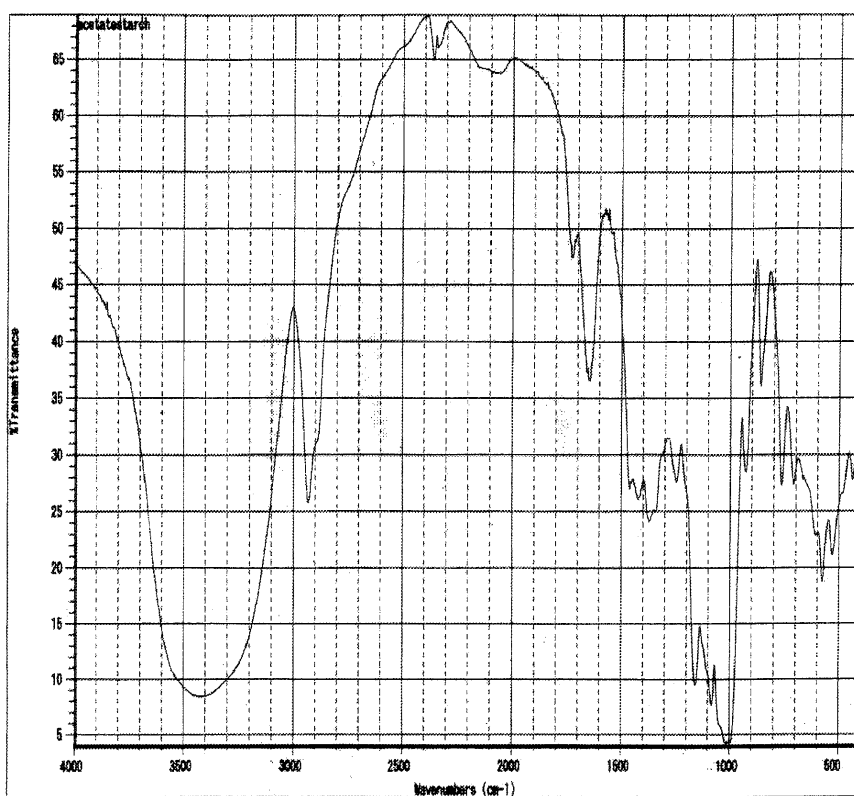


Fig.9 IR spectrum of Acetylated starch

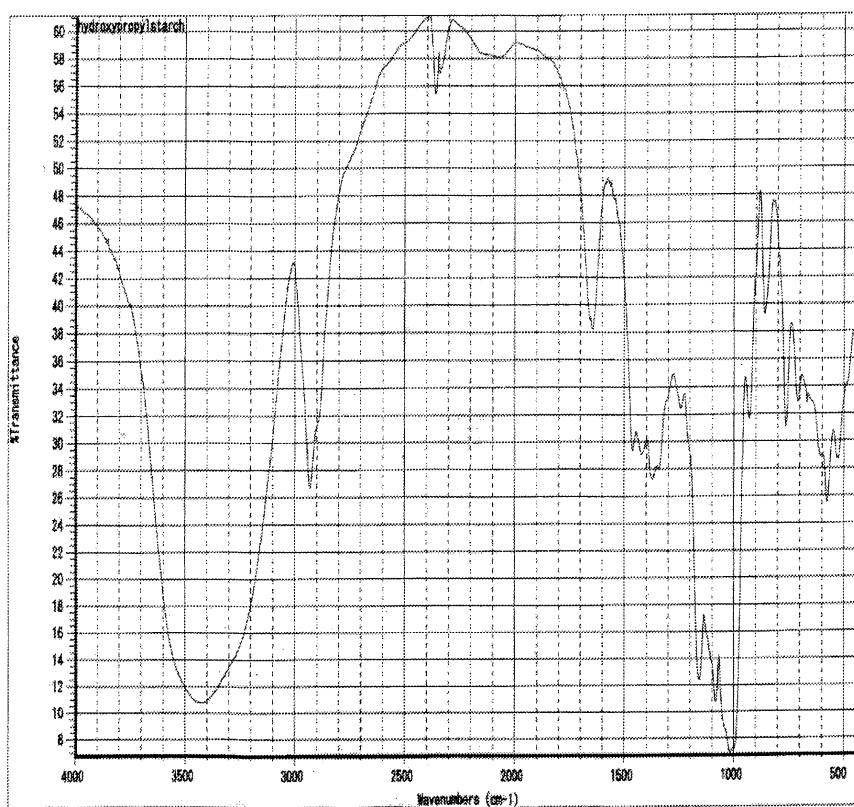
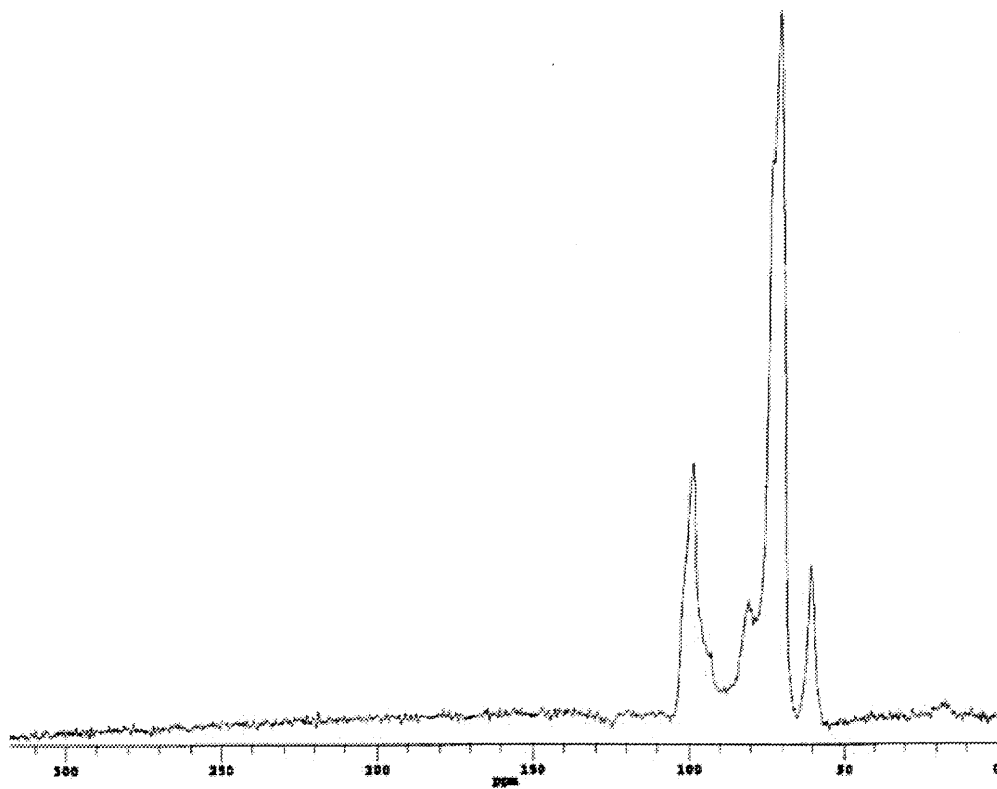
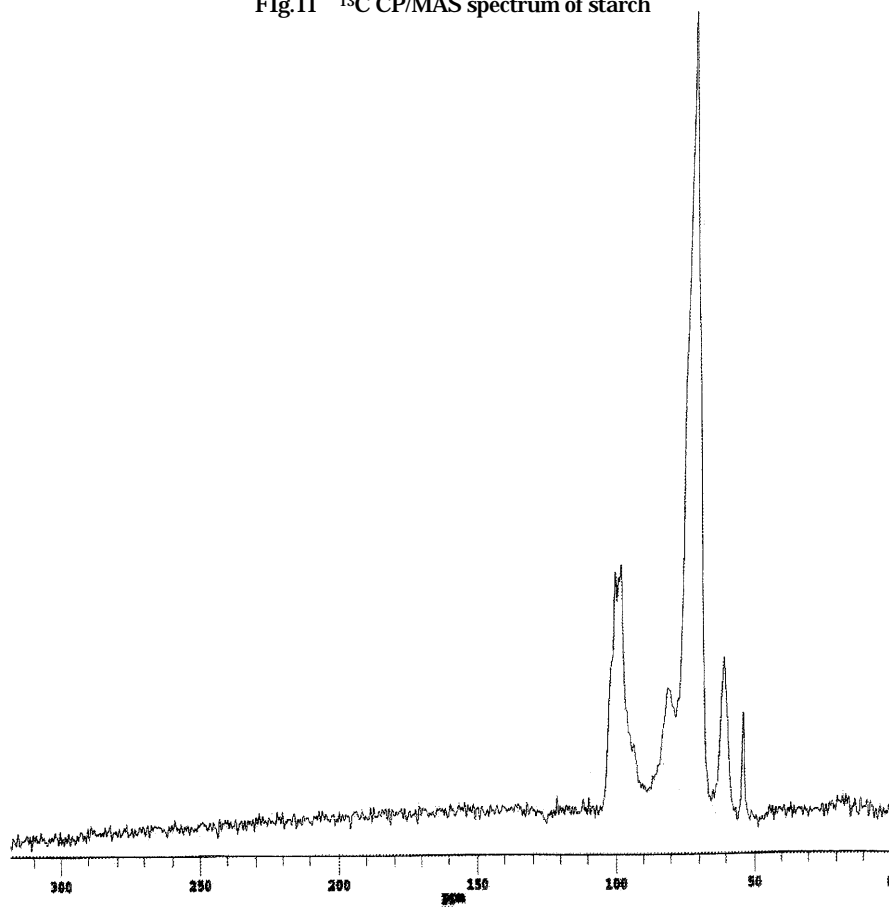
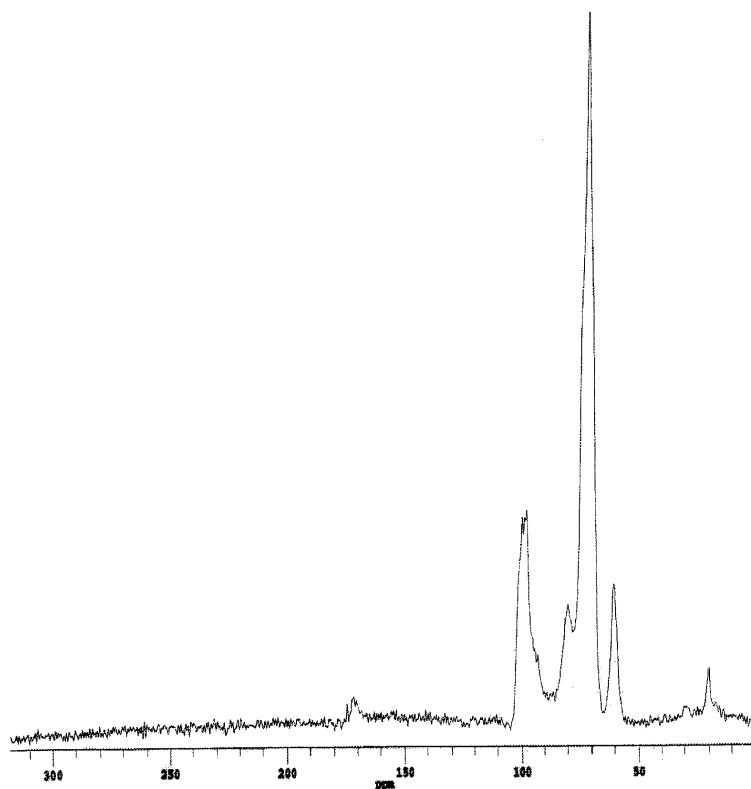
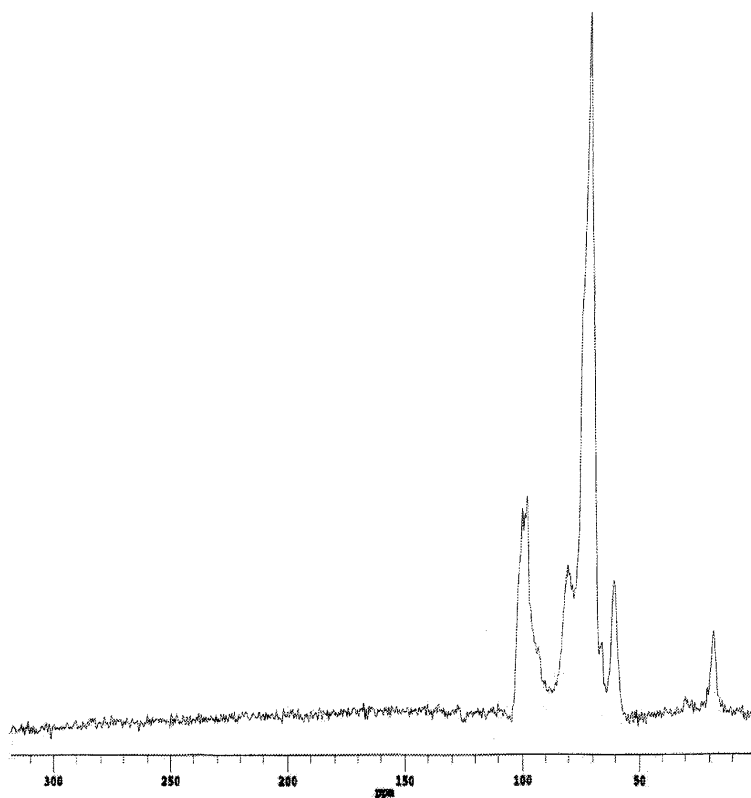


Fig.10 IR spectrum of hydroxypropyl starch

Fig.11 ^{13}C CP/MAS spectrum of starchFig.12 ^{13}C CP/MAS spectrum of cationic starch

Fig.13 ^{13}C CP/MAS spectrum of acetylated starchfig.14 ^{13}C CP/MAS spectrum of hydroxypropyl starch

しかし、4.1でも述べたように、CP/MAS 法は定量分析において一考察を必要とすることから、アセチル化でんぷんのよ

うに置換度の測定を必要とするものは、他のパルス法を検討する必要があるものと思われる。

5. 要 約

以上述べたことを簡潔にまとめてみると、

固体 NMR 法は試料を重溶媒に溶かしたりせずそのまま測定できるため、非常に簡便な方法であると考えられる。また、基本的には溶液 NMR 法と同様の化学的知見を得られることから、試料の一次構造を調べるには非常に有用な方法であるといえる。

固体 NMR 法の最も一般的な測定方法である CP/MAS 法は、そのシグナル強度が分子の結晶性や運動性に依存するため、定量分析に用いるためには一考察を要する。

でんぷん及び変性でんぷんを固体 NMR で測定すると、赤外分光分析法では確認できなかった変性の有無を確認することができた。このことは、変性でんぷんの標準試料を入手することで、他の変性でんぷんについても変性の有無を分析することができるものと思われる。

文 献

- 1) 安藤勲：高分子の固体 NMR，講談社（1994）