

# 大阪大学蛋白質研究所先端核磁気共鳴装置群利用報告書

(トライアルユース・成果公開利用)

利用企業名	(株) 東レリサーチセンター	
利用者部署、氏名	構造化学研究部 構造化学第2研究室 三好理子	
連絡先 住所	〒520-8567 滋賀県大津市園山 3-3-7	
連絡先 電話番号 Fax、E-Mail	Tel. 077-533-8617 Fax 077-533-8696 E-mail riko_miyoshi@trc.toray.co.jp	
利用課題名	固体 DNP および固体装置による低炭素濃度試料の固体 $^{13}\text{C}$ NMR 測定	
概要	<p>低濃度の有機物を含む無機物（有機修飾シリカ等）においては、有機物の濃度が低いために通常の固体<math>^{13}\text{C}</math> NMR 測定では詳細な構造解析が困難であった。高感度DNP 法を用いることで、短時間で低濃度有機成分の検出を実現したい。</p> <p>昨年度、無機固体触媒にシランカップリング剤を付加した材料に対してDNP法を適用した結果、DNP エンハンスメントが10%程度認められたものの、短時間での測定は困難であった。DNPエンハンスメントがあまり高くならなかった原因としては、無機材料とDNP法で用いたラジカルとの親和性が低かった可能性や、有機修飾剤とラジカルとの親和性が低かった可能性等が考えられた。</p> <p>そこで、粒子径がより小さく、酸性点を持たない非晶シリカを無機材料とすることで比表面積を増やし、溶媒との親和性の向上を狙った。シランカップリング剤の構造も、溶媒との親和性の高いと期待される材料とした。</p>	
利用実施時期及び期間	平成 27 年 11 月 16 日－11 月 20 日、 平成 27 年 11 月 30 日－12 月 4 日、 平成 28 年 1 月 12 日－1 月 15 日	
利用NMR装置	460 GHz/ 700 MHz MAS-DNP-NMR	
成果の概要	目的	高感度な DNP 法を用いた $^{13}\text{C}$ CPMAS NMR 測定により、シリカ表面に修飾された微量のアミノ系カップリング剤を短時間で検出し、構造解析を行った。

	<p>実験内容</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>試料調製 アミノシリカ粉末 26.3mg をバイラジカル TOTAPOL の 20mM 溶液 39<math>\mu</math>L で impregnate(粉末試料に少量のラジカル溶液を垂らし練り混ぜる)した。溶媒には DNP 用標準溶液=d8-glycerol/D2O/H2O=6/3/1 (w/w/w)を用いた。これを JEOL 製 3.2mm Si3N4 rotor に卓上遠心機を使って詰めた。53mg の試料がダイフロン製スペーサを上下に二個使用してセンターパックされており、このうち 19mg がアミノシリカ、残りがマトリクス重量である。</li> <li>測定 サンプル: アミノ系カップリング剤修飾-シリカ粉末 プローブ: JEOL 3.2 HC DNP-NMR 装置: 16.4T (700 MHz 1H, 460 GHz e-) 測定温度: 60 K, 100 K MAS: <math>\nu</math>R = 4.8 kHz, 9.8 kHz 測定法: 飽和回復-1H-13C CP-acq. (5ms) with 70 kHz TPPM decoupling ct=2ms, rd=13 s for T1H was ~10 sec @ 100 K Gyrotron: FU CW G01, V<sub>k</sub>/V<sub>a</sub>=18kV/ 11.8kV, I<sub>b</sub>=270 mA</li> </ul>
	<p>結果及び考察</p> <p>&lt;結果&gt; 有機修飾シリカの推定構造を図 1 に、元素分析結果を表 1 に示す。 アミノシリカ信号の DNP による信号増強率 <math>\epsilon</math> DNP は: T = 100 K, <math>\nu</math>R = 9.8 kHz で <math>\epsilon</math> DNP ~12 (~14 for glycerol)であった。試料冷却による核分極の増大が 3 倍程度あると考えられるので、総合感度利得は <math>\epsilon</math> Total~36 となる。T = 60 K, <math>\nu</math>R = 4.8 kHz では <math>\epsilon</math> DNP ~20 (~25 for glycerol)。試料冷却から核分極の増大が 5 倍程度あると考えられ、総合感度利得は <math>\epsilon</math> Total ~100 と算出される。</p> <p>図 2 のスペクトルで脂肪族信号に対する S/N 比は~15 であった。測定時間は 32 回積算、6.9 分。DNP 測定に使用した試料管内のアミノシリカ試料が 19mg であること、この 10wt%が有機部に当たること、カップリング剤の分子量 226 から単純計算をすれば、80<math>\mu</math>mol の天然標識有機物で上記のスペクトルを得た事になる。S/N~15 からすると、有機物修飾は 1wt%程度でも同様の測定時間で信号が見え始めることを示している。</p> <p>図 3 の室温の CP スペクトル(東レリサーチセンター提供、30 時間=1800 分積算、試料量~80mg、S/N 比=15.4) と比べると、DNP 測定では同じ S/N 比を、<math>&lt;1/4</math> の試料、<math>1/260</math> の測定時間で得ている。</p> <p>図 2 の DNP スペクトルでは、脂肪族信号に S/N~15 を得るのに 6.9 分かかったから、測定時間短縮率は 1800 分/6.9 分=261 倍である。DNP 測定に使用した試料量が~1/4 であることも含めると、室温での CPMAS スペクトルと比べて <math>\sqrt{261} \times 4 \sim 64</math> 倍の感度向上が実現している計算になる。上記 <math>\epsilon</math> Total ~ 36 との開きには、S/N や試料量の見積もり誤差以外に、使用したプローブの検出効率、選択したパラメータの良し悪し、低温 RF 回路による熱ノイズ低減の寄与が含まれる。</p> <p>DNP スペクトルにも、室温 CP スペクトルにも 165ppm 付近に微弱なピークが観測されている。図 2 のインセットに示したのは T = 60K でより高感度に得たスペクトルで、このマイナーピークについてサイドバンドまで含めてははっきり観測できており、CSA が大きなカルボキシル炭素由来であることが確かめられる。大気中における反応では、雰囲気中の二酸化炭素とアミン側鎖からカルバメートが微量に生成する可能性を示している。</p> <p>&lt;考察&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>水溶性有機物で修飾された材料の表面は、従来の TOTAPOL+グリセロール-水マトリクスという組み合わせで、およそ期待通りの感度向上が得られる。</li> <li>得られた感度向上は、測定のスループットを向上するのみならず、</li> </ul>

		<p>反応副産物の議論も可能にする。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>得られた感度から、表面修飾率が更に 1/10 程度低くても十分研究対象にできると示唆される。</li> <li>DNP マトリクス由来のグリセロール信号は、市販されている <math>^{13}\text{C}</math>-depleted glycerol (<math>^{12}\text{C}=99.95\%</math>) を用いれば、強度を <math>\sim 1/20</math> にでき、およそノイズレベルに落とすことが可能である。</li> </ul> <p>本分析に当たり、松木陽先生はじめ大阪大学 蛋白研の方々に非常にお世話になりました。深くお礼を申し上げます。</p>
社会・経済への波及効果の見通し		<p>有機修飾されたシリカなどの構造解析、結合状態分析において、直接化学構造情報が得られるのは固体 NMR だけであると考えられる。DNP 法により、高感度で微量の有機成分の構造解析が可能となる見通しがついたことで、産業利用されている微量の有機修飾剤全般における分析需要に波及すると期待される。</p>
成果公開時期の希望		<p><input checked="" type="checkbox"/> 即時公開    <input type="checkbox"/> 論文・特許公開後（最大 2 年後まで）</p>
利用周辺環境に関する希望		<p>先生方の研究を妨害しない範囲で、産業利用可能な測定時間を少しずつ増やしてほしいと希望します。</p>
その他		<p>別途、成果公開あるいは専有での利用を計画します。</p>

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。

スペクトルまたは図の添付欄

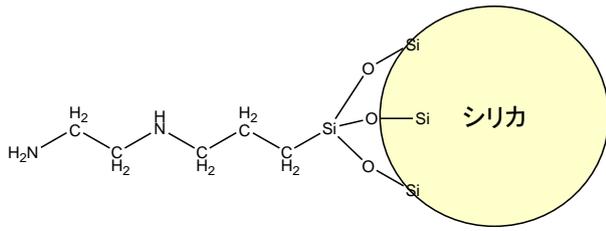


表1 有機修飾シリカの元素分析結果

試料名	試料中の各元素含量(質量%)		
	炭素	水素	窒素
アミン修飾シリカ	7.2	2.1	3.2

図1 有機修飾シリカの推定構造

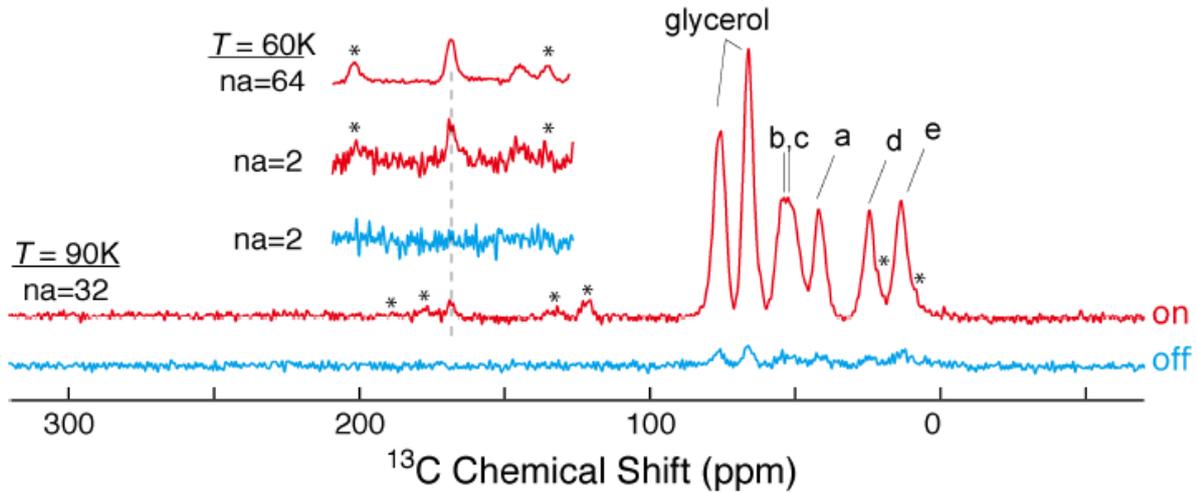


図2 T = 100 K,  $\nu R = 9.8$  kHz における  $^{13}C$  CP MAS スペクトル。マイクロ波 off (青) と on (赤)。32 回積算、繰り返し 13 秒。\*はスピニングサイドバンド。インセットは T = 60 K,  $\nu R = 4.8$  kHz のスペクトル。マイクロ波 off (2 回積算、青)、on (2 回、赤下)、on (64 回、赤上)。ウィンド関数無し。

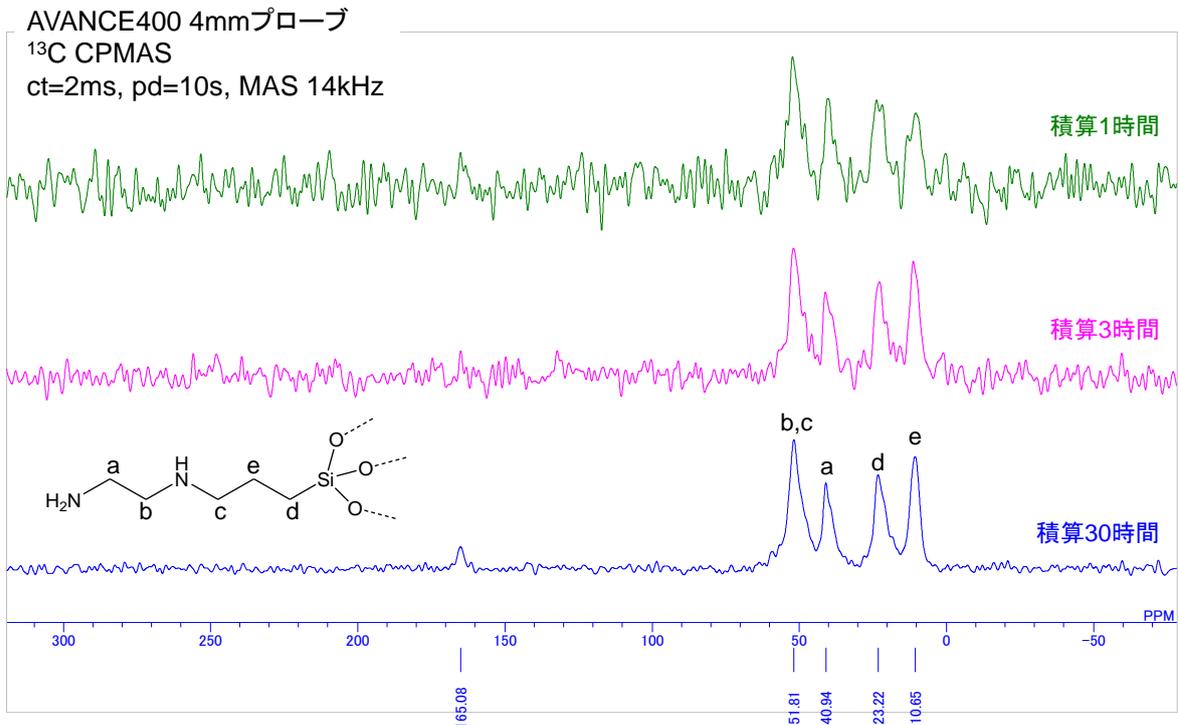


図3 室温における一般的な条件での  $^{13}C$  CPMAS スペクトル。ウィンド関数無し。