

意見書

志 田 保 夫

前東京薬科大学薬学部中央分析センター教授

日本質量分析学会会員

研究テーマ

液体イオン化質量分析法によるエタノール・水クラスターの測定

著書

「これならわかるマスペクトロメトリー」化学同人・2001年

「マスペクトロメトリー関係用語集」日本質量分析学会・1997年

その他

守大助氏の弁護人である阿部泰雄弁護士、小関眞弁護士より、大阪府警察本部刑事部科学警察研究所技術員西川真弓及び土橋均作成の平成13年1月19日付鑑定書（甲103号証）及び土橋均の法廷証言（以下「土橋鑑定」という）と最高検察庁検察官河村博作成の平成19年8月31日付答弁書に記載された鑑定に関する見解について意見を求められた。よって、以下の通り意見を述べる。

1 土橋鑑定の定性分析

土橋鑑定における使用機器は、マイクロマス社製四重極型のLC/MS/MS装置であり、イオン化法はESI法（エレクトロスプレーイオン化法）によっている。

定性分析はベクロニウムの標品と鑑定資料をプロダクトイオンスキャンモードにより分析して両者を比較するという方法を採用している。すなわち、ベクロニウムの標品と鑑定資料について m/z 258 をプリカーサーイオンとし、CID（衝突誘起解離）で開裂して生成した同イオンのプロダクトイオンの種類と m/z 258 のトータルイオンクロマトグラムのピークの保持時間

をそれぞれ比較して、鑑定資料にベクロニウムが含まれているとの結論を導いている。

2 土橋鑑定の定性分析の評価

ベクロニウムの分子量は557（整数質量である。精密質量は557.4318）であり、その分子イオンないし分子量関連イオンは m/z 557 ないし m/z 279（2価）である。質量分析におけるイオン化法で最もソフトなイオン化法であるESI法でベクロニウムを測定した場合には必ず m/z 557 ないし m/z 279 イオンが検出される。したがって、ベクロニウムの標品から m/z 557 ないし m/z 279 イオンが検出されることを確認してから鑑定資料を分析することが不可欠である。MS/MSによる定性分析や定量分析は、 m/z 557 ないし m/z 279 イオンを検出してから開始するべきである。

土橋鑑定は、ベクロニウムの標品分析において分子イオンないし分子量関連イオンである m/z 557 ないし m/z 279 イオンを検出せずにLC/MS/MSによる分析を行っている。このような分析は、分析対象であるベクロニウムから生成されるイオンを確認するという質量分析の基本を押さえていないものである。

次に、土橋鑑定は、ベクロニウム標品を分析するにあたり m/z 258 イオンをプリカーサーイオンとしている。しかし、検察官答弁書によれば、同鑑定ではベクロニウム標品から m/z 258 イオンが検出されるかの確認をしていない。プリカーサーイオンを選択して定性分析を行う場合には、分析ごとにプリカーサーイオンが分析対象化合物から生成されることを確認するべきである。その確認を怠った土橋鑑定の分析方法は誤りである。

3 ベクロニウムから m/z 258イオンは生成しない

- 1) 検察官答弁書で「ESIのイオン化には、装置の差、移動相の差など多くの要因が絡む上、イオン化後の開裂にもイオン源の真空度、ガス量、装置の条件など様々な要因が考えられ、付加、開裂などが起きることが十分にあり

得るのである。(中略) 条件次第で分子量関連イオンが開裂することがあり、そのような場合には、フラグメントイオンしか検出できないこともあり得るのである。」(16頁)「分子量関連イオンが主要イオンとして観察されないことは十分に起こりうることであり、土橋鑑定において、イオン化のベースピークが m/z 258 となる、すなわちベクロニウムが脱アセチル化体として観察されていたとしても何ら不思議なことではなく、 m/z 258 をプリカーサーイオンとして選択したことに問題はない。」(18頁) としている。

つまり、同答弁書は、ベクロニウムをESI法でイオン化して測定した場合であっても、分子イオンないし分子量関連イオンである m/z 557 ないし m/z 279 イオンが検出されずに m/z 258 イオンが検出される場合や、 m/z 258 イオンがベースピークとして観測される場合もあるとしている。

しかしながら、上記検察官の主張は、これまで発表されている論文等の測定データに反するものである。質量分析装置(LC/MSないしLC/MS/MS)を使用してベクロニウムの定性分析を行った論文等(外国4論文、影浦鑑定意見書)を確認しても、ベクロニウムからフラグメントイオンとして m/z 258 イオンが検出されたとの報告例はない。

検察官は、ベクロニウムがLCの移動相の影響などで分解ないし開裂する可能性を指摘しているが、全く根拠のない主張である。移動相は化合物を分解ないし開裂させないように選択・調整されているのであり、そもそも、移動相により物質が分解ないし開裂したならLCによる分析はできないことになる。また、分析対象化合物が移動相内で分解ないし開裂するとなると、それは、時間的あるいは場所的に不安定な分解ないし開裂であるから、同じ化合物が同じ時間で溶出しなくなり、それぞれの化合物ごとのピークを描くことができなくなってしまう。検察官の主張は、LCを全く理解しない者が行ったとしか考えられない。

2) 私がこれまでに行ったベクロニウム標品のESI測定では1価 m/z 557

ないし2価 m/z 279のイオンしか検出されていない。さらに、イオン化の際や質量分析の過程の中で開裂は起こらず m/z 258が生成されることはなかった。

そこで、検察官が主張するようにベクロニウム標品から m/z 258イオンが生成・検出されるかどうかを確認するためベクロニウムイオンを二通りの方法で開裂させる分析実験を行った。

一つは、コーン電圧を変えるという方法、そして、もう一つがベクロニウムの分子イオンである m/z 557と分子量関連イオンである m/z 279を不活性ガスに衝突させて強制的に開裂させるという方法（CID・衝突誘起解離）である。しかし、 m/z 258イオンは全く検出されなかった。

ここから導かれる結論は以下の通りである。

すなわち、ベクロニウムは、イオン化の段階や、他の要因で開裂することはあるが、どのように開裂しても m/z 258イオンは生成されない。標品のベクロニウムをエレクトロスプレーイオン化法により質量分析したところ m/z 258のベースピークが検出されたとする土橋鑑定書の記載は事実に反し誤ったものである。そして、「本件鑑定において、イオン化のベースピークが m/z 258となる、すなわちベクロニウムが脱アセチル化体として観察されていた」との検察官の主張も誤りである。

ベクロニウムの定性分析にあたり、 m/z 258イオンをプリカーサーイオンとした選択は誤りである。土橋鑑定における比較分析は標品のベクロニウムの分析段階においてすでに誤っていたのである。

4 分析機器について

1) 本件分析実験で使用した分析装置と土橋鑑定が使用した分析装置は以下の点が異なっている。

① LC（液体クロマトグラフィー）付属の有無

本件分析実験で使用した装置にはLCがついていないが、土橋鑑定で使用

したものにはLCが付属している。

② 質量分析測定器の違い

本件分析で使用した測定器は飛行時間型（TOF）であるのに対し土橋鑑定では4重極型という点で異なる。

2) しかし、イオン化法は同じESI法であり、コーン電圧の変更ができるという点でも共通しており、イオン化後の分析条件について差はない。したがって、本分析実験で発生しないフラグメントイオンが、装置の違いが原因となって土橋鑑定の分析装置で発生することはない。

本件分析実験の結果から、どのような分析装置であってもベクロニウムから m/z 258 イオンが検出されることはないと言える。

5 分析実験の内容

1) コーン電圧を10Vから100Vまで変化させる方法による分析

ESI法によるイオン化の場合にはイオンの開裂がほとんど起こらないとされているが、コーン電圧の変化させることにより分析対象化合物を開裂させてフラグメントイオンを生成することができる。

そこで、ベクロニウムを質量分析する際にコーン電圧を10ボルトから100ボルトまで10ボルトずつ変化させて生成されるフラグメントイオンを確認する実験をおこなった。同実験では様々なフラグメントイオンは検出されるが m/z 258 は検出されなかった（別紙1参照）。

なお、この方法はある意味では過酷な条件下での測定であり、構造研究などで行うことはあっても通常測定でこのような方法で測定することはない。

実験状況

実験日 2008年7月1日

質量分析装置は、東京薬科大学の飛行時間型質量分析装置（TOF・マイクロマス社製）を使用し、イオン化法はESI法で実施した。和光純薬工業

株式会社製の臭化ベクロニウムを純水に溶解し、マイクロシリンジによりMSに直接投入した。

2)ベクロニウムイオンをCIDで開裂させる方法による分析

MS/MSとCIDを使用して、ベクロニウムの分子イオンないし分子量関連イオンである m/z 557 と m/z 279 イオンを開裂させて m/z 258 イオンが生成するか否かの実験を行った。同実験では m/z 557 イオンを開裂させた場合も、 m/z 279 イオンを開裂させた場合も様々なフラグメントイオンが検出されたが、 m/z 258 は一切検出されなかった（別紙2参照）。

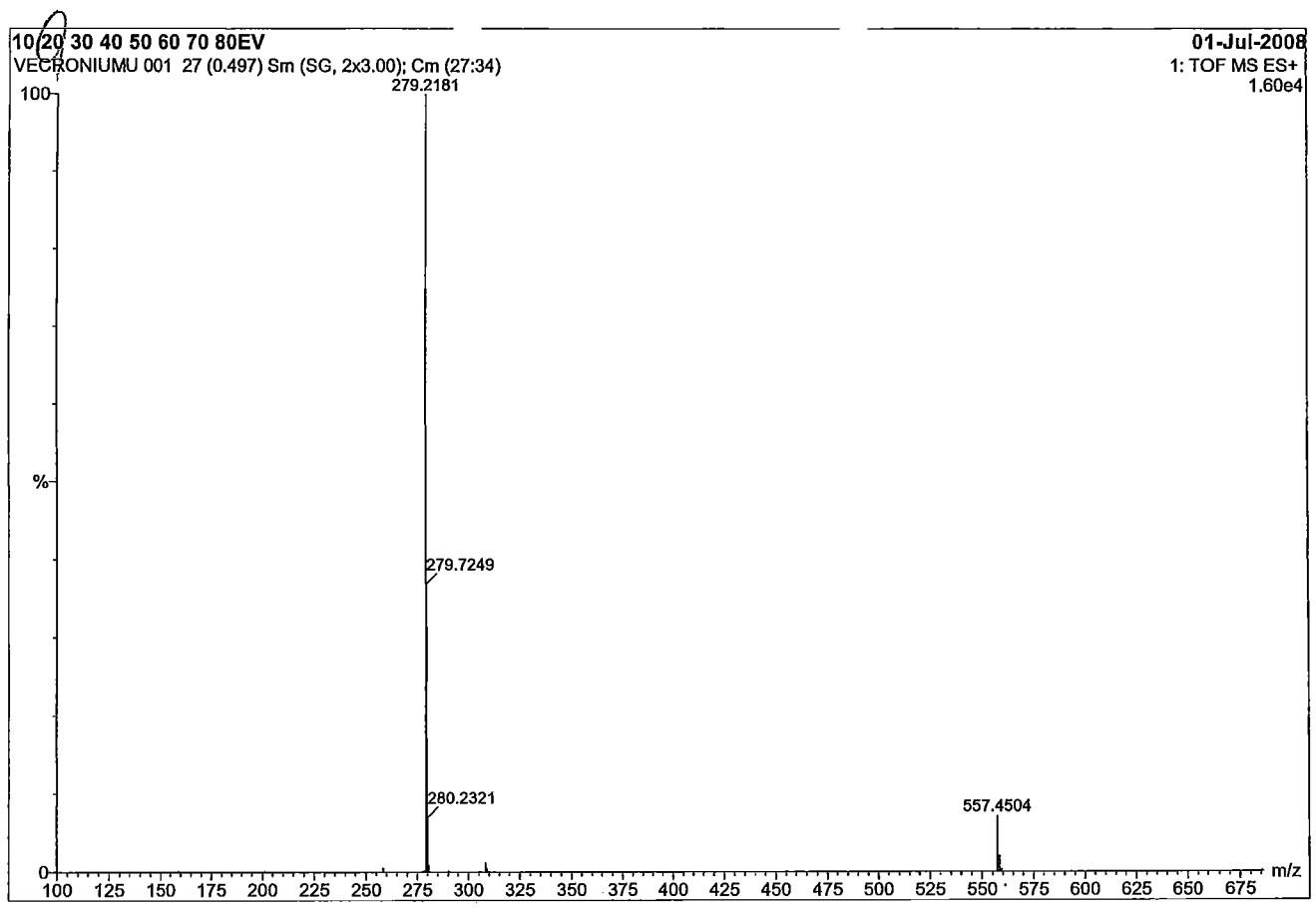
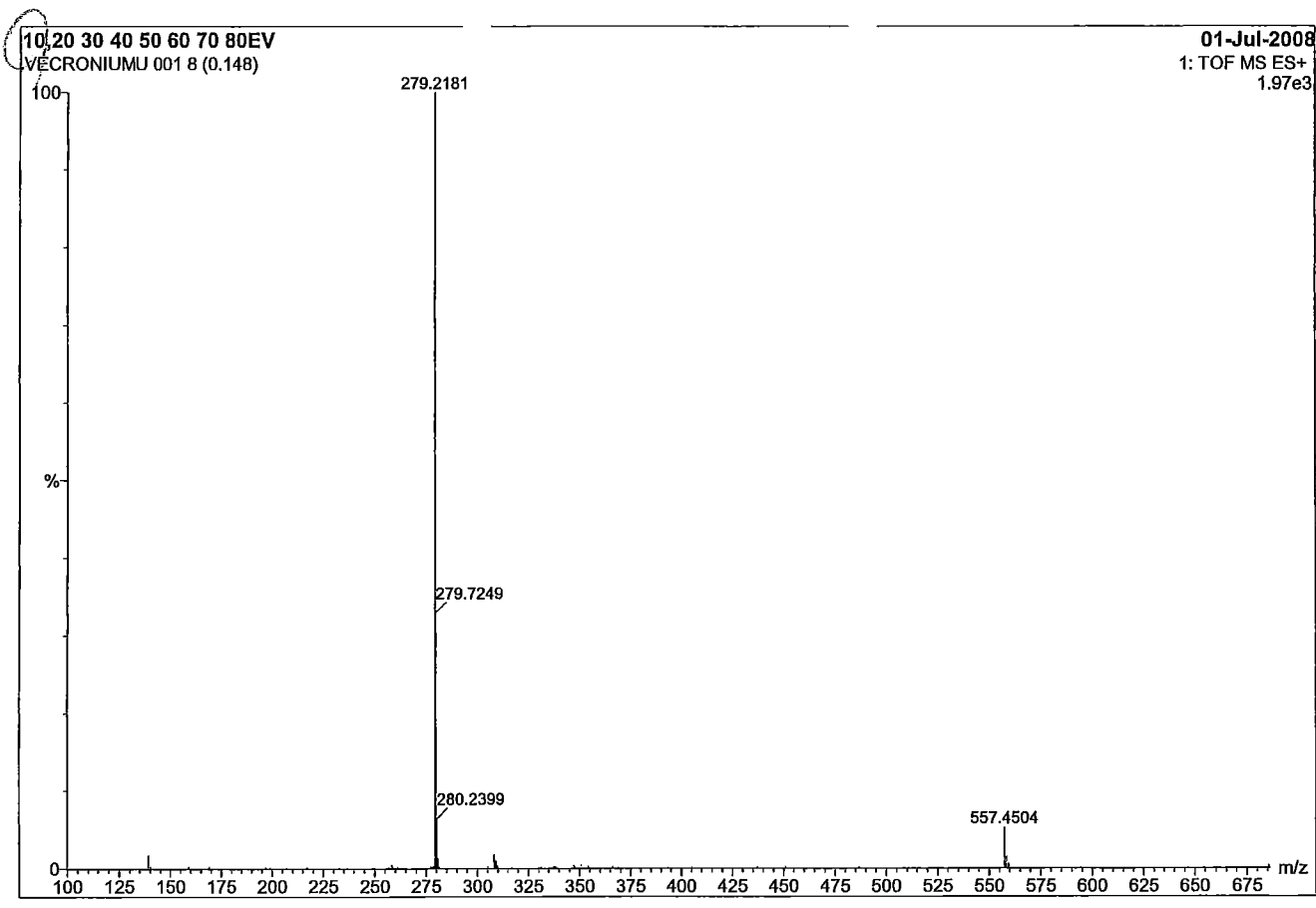
実験状況

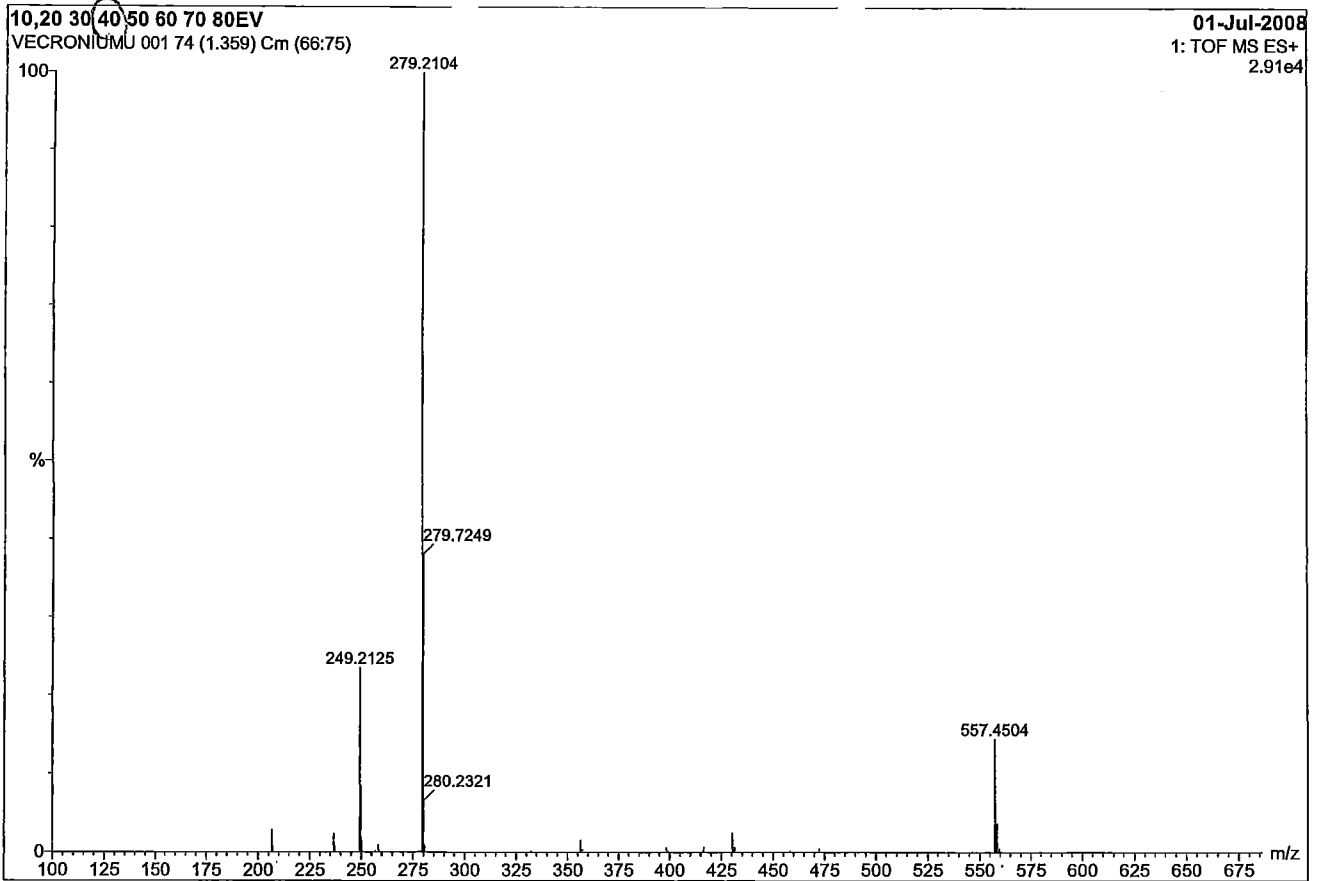
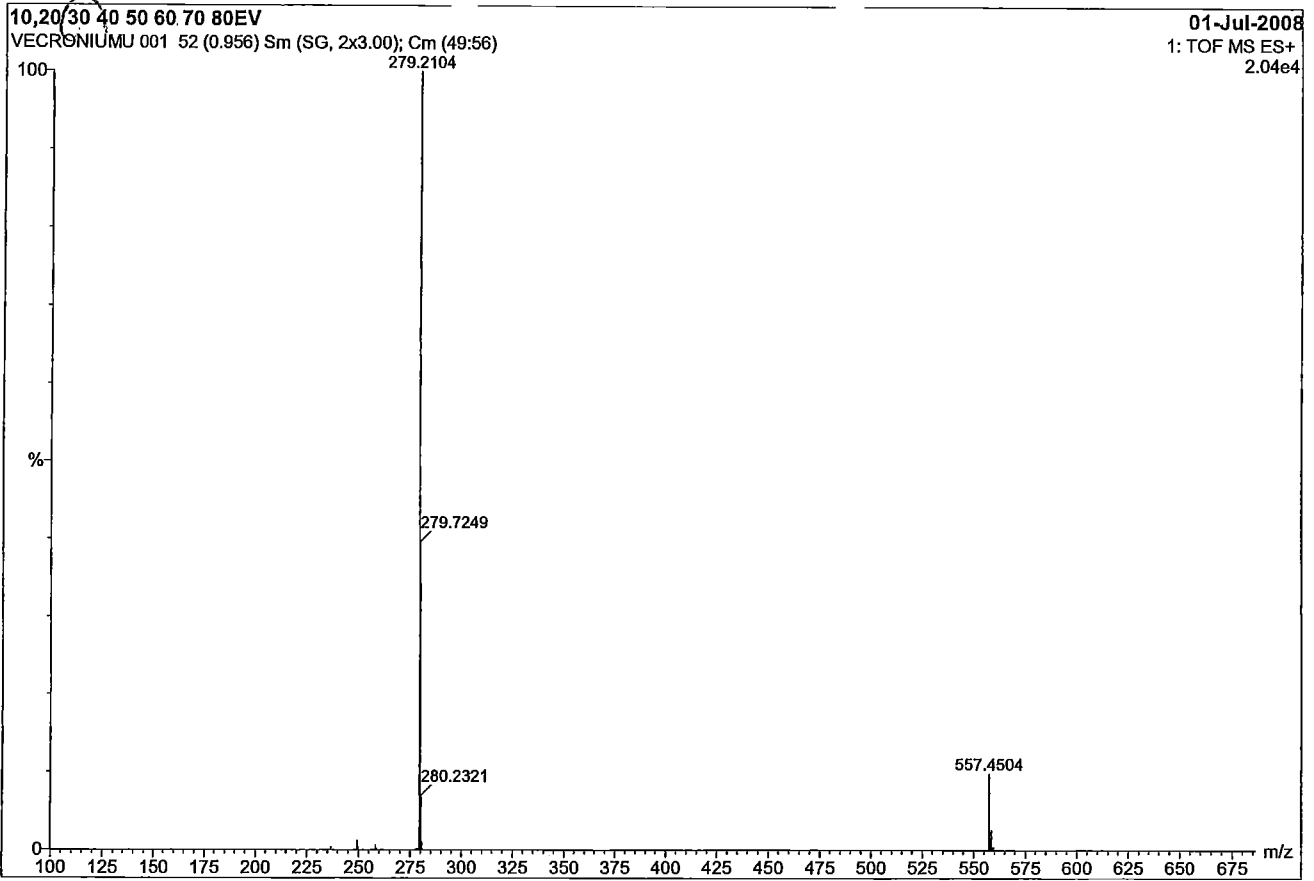
実験日 2010年12月21日

質量分析装置とイオン化法は前記実験と同じである。コーン電圧は60ボルト、CID電圧20ボルトとし、和光純薬工業株式会社製の臭化ベクロニウムを純水に溶解しマイクロシリンジによりMS/MSに直接投入して測定した。

2012年1月27日

志 田 保 夫





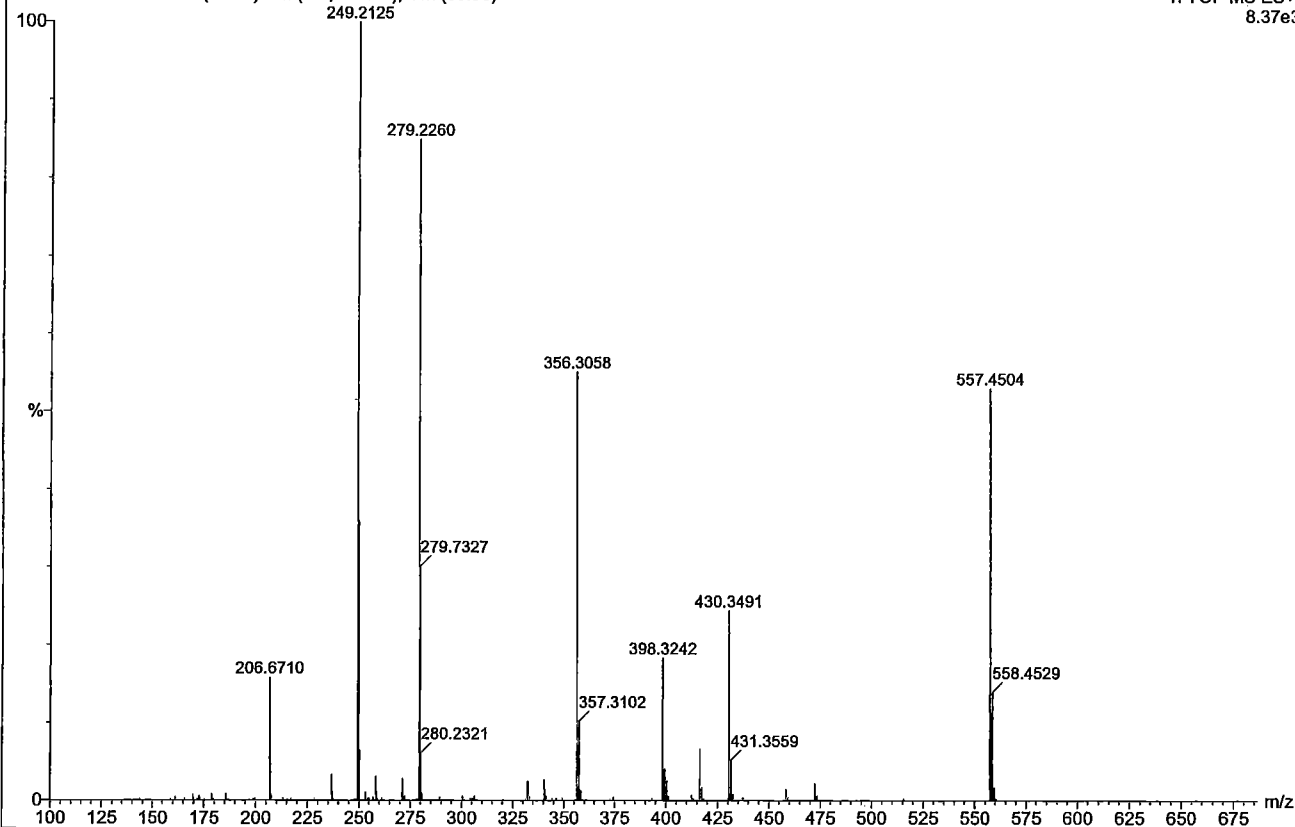
10,20 30 40 50 60 70 80EV

VECRONIUMU-001 95 (1.744) Sm (SG, 2x3.00); Cm (89:96)

01-Jul-2008

1: TOF MS ES+

8.37e3



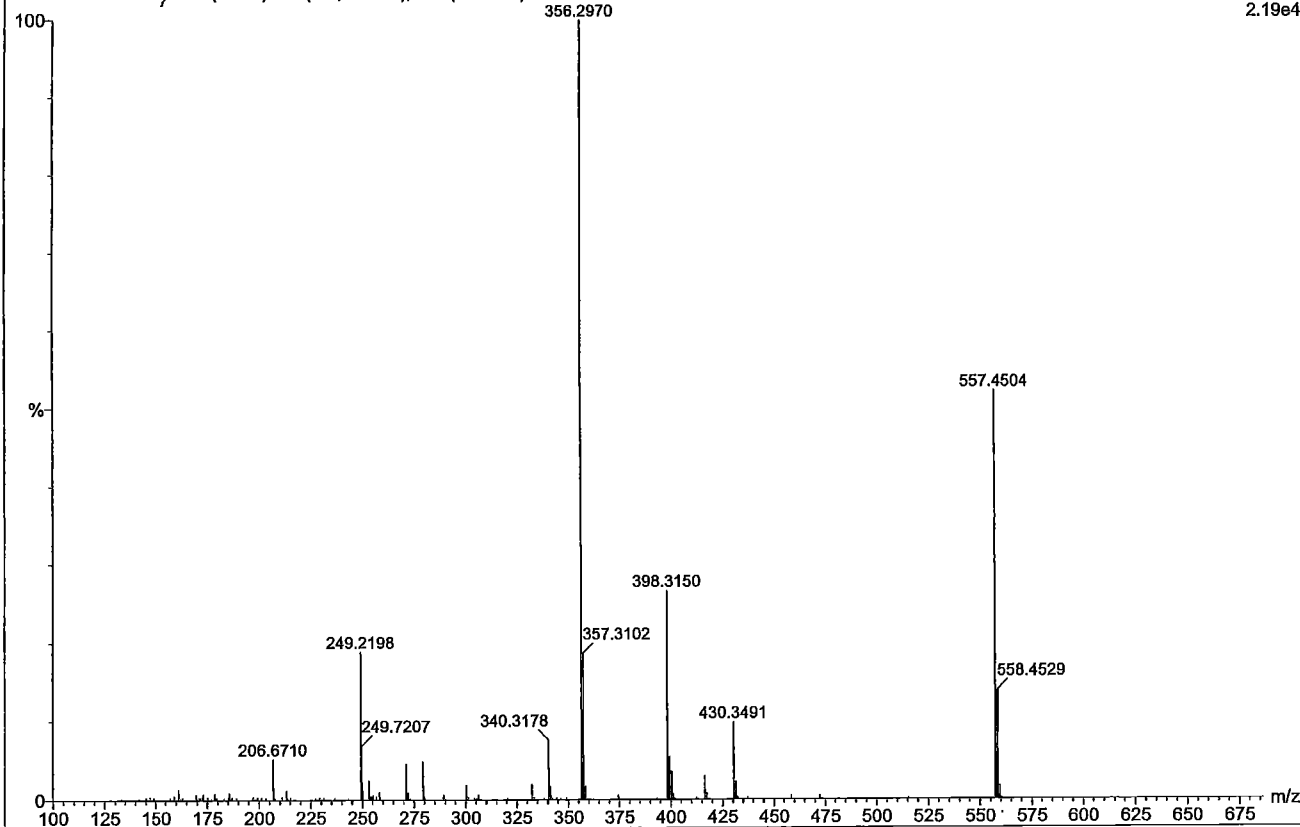
10,20 30 40 50 60 70 80EV

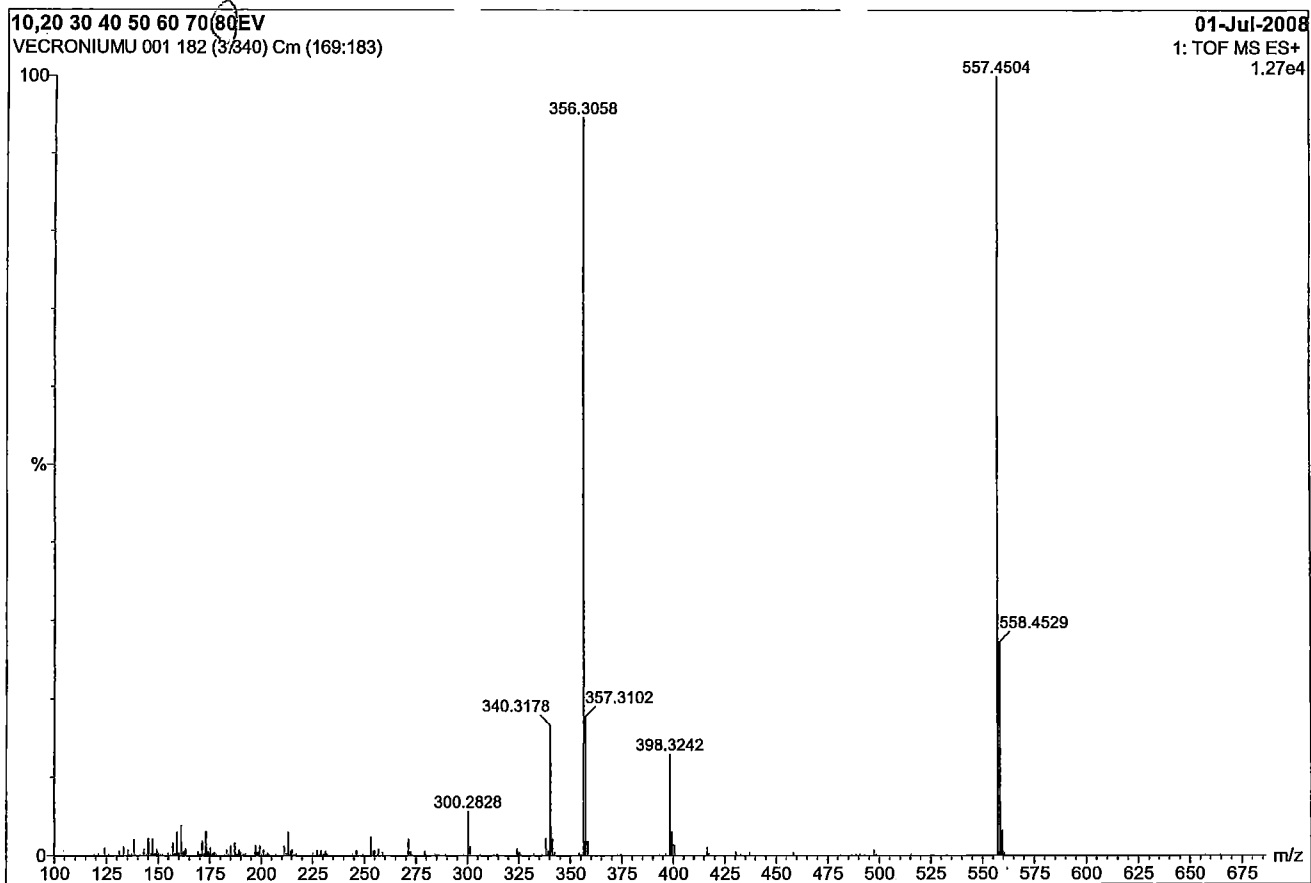
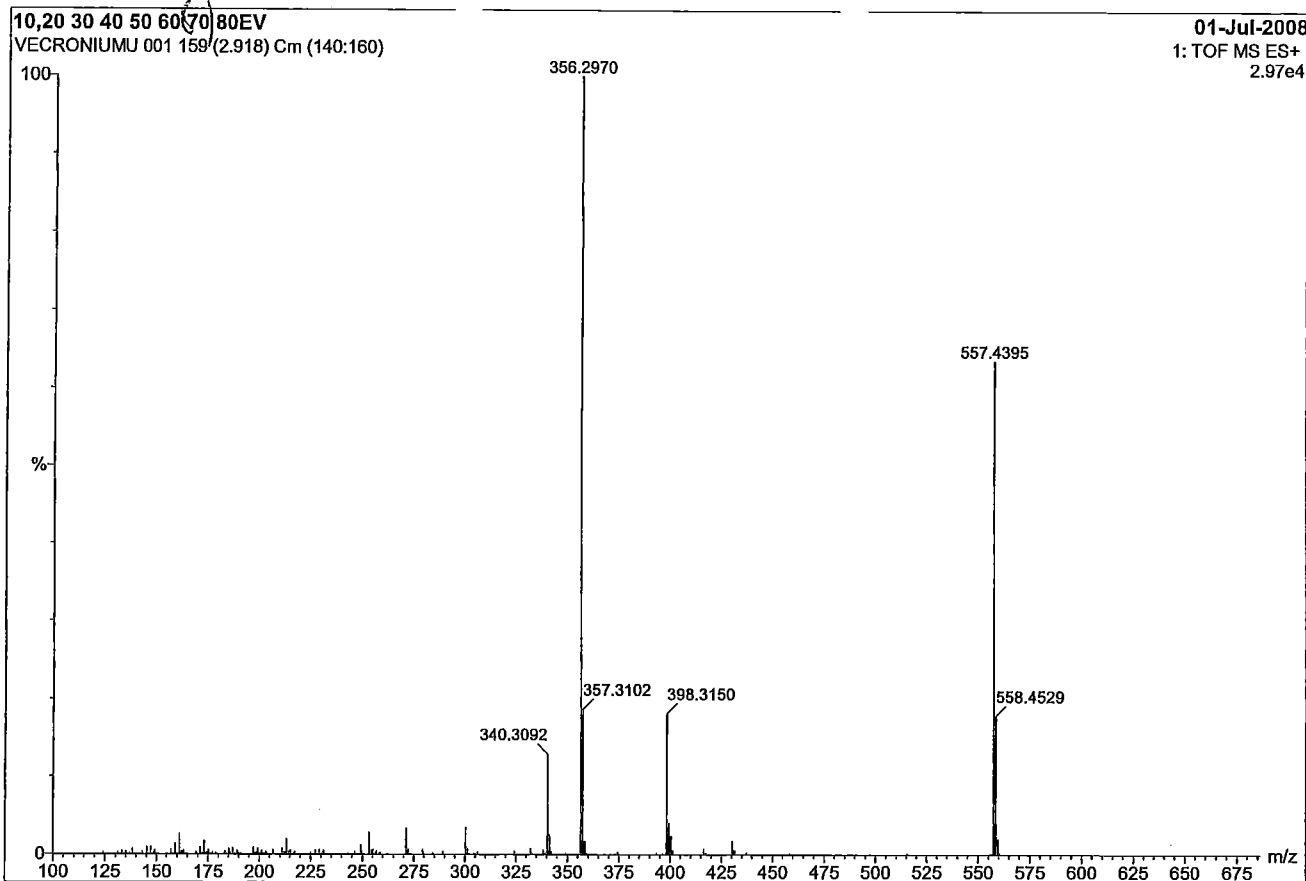
VECRONIUMU 001/121 (2.221) Sm (SG, 2x3.00); Cm (109:124)

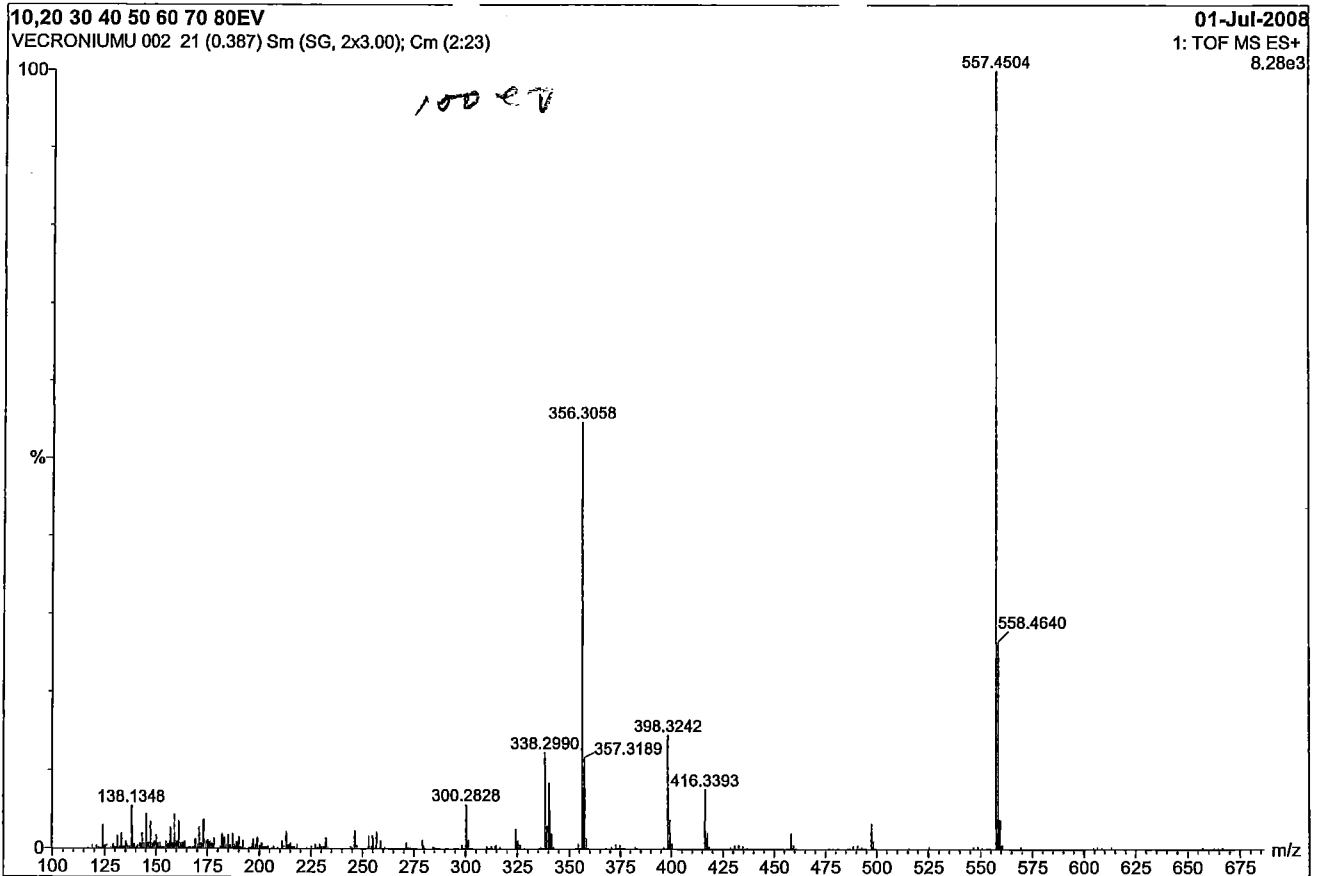
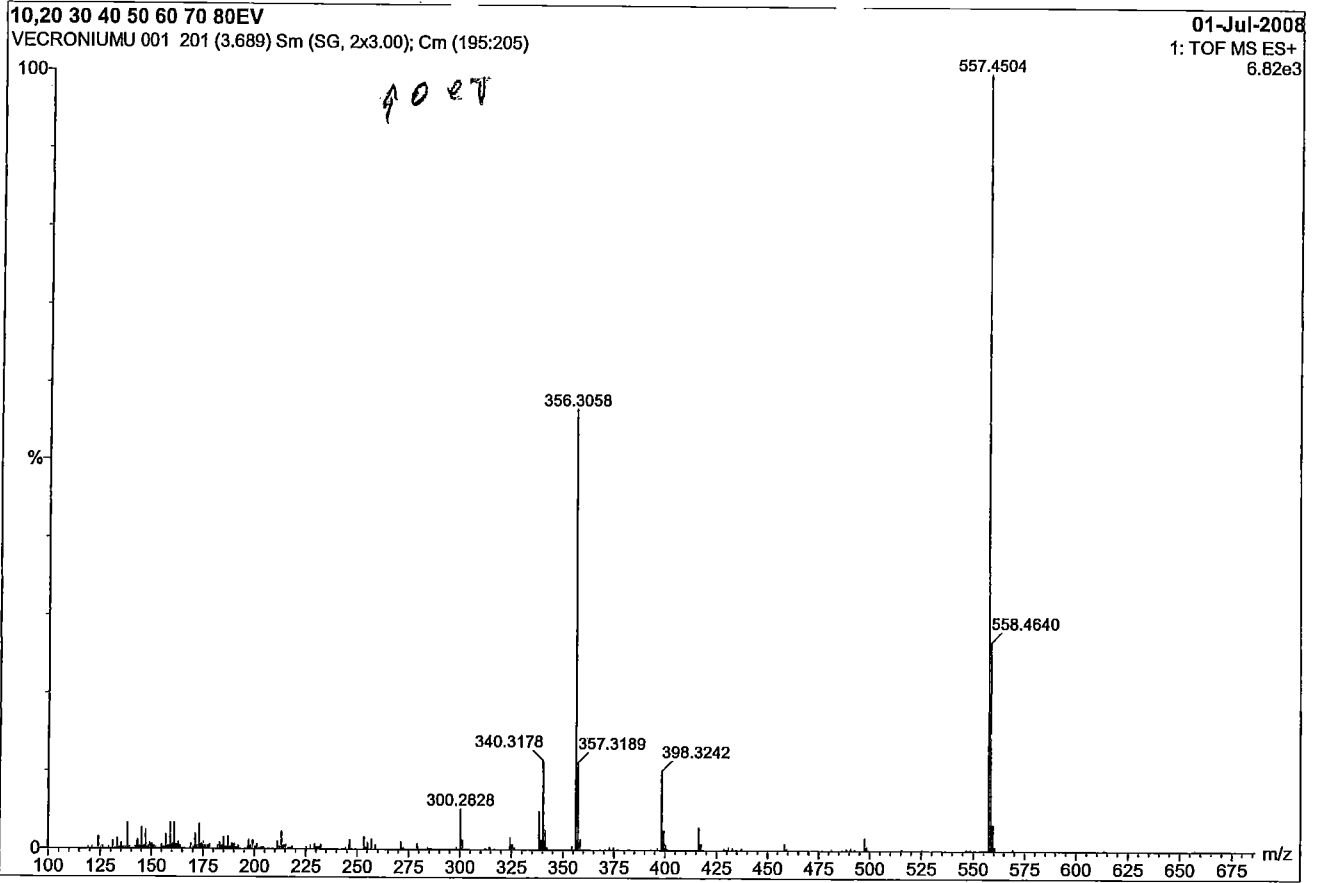
01-Jul-2008

1: TOF MS ES+

2.19e4





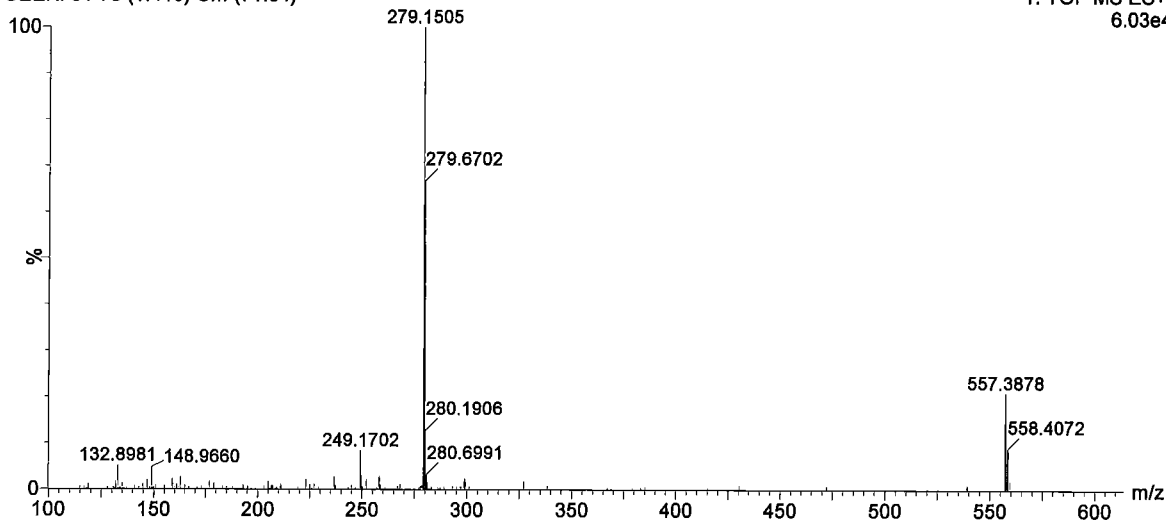


小関O1 Vecuronium Bromide ESI測定 質量スペクトル

VECURONIUM Br

OZEKI 01 75 (1.419) Cm (71:84)

1: TOF MS ES+
6.03e4



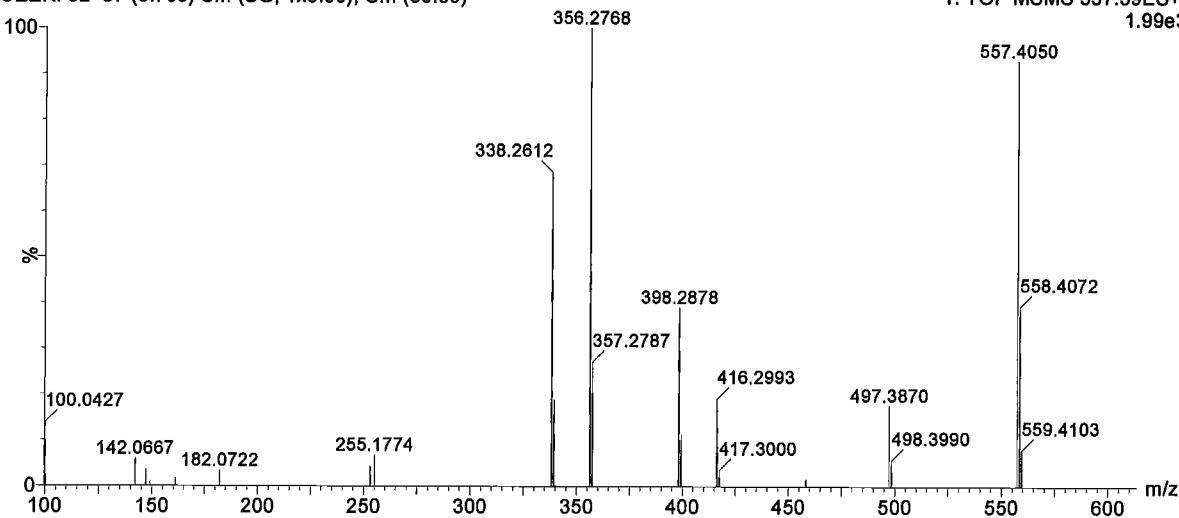
小関O2

m/z 557のMS/MS スペクトル

VECURONIUM Br

OZEKI 02 37 (0.703) Sm (SG, 1x3.00); Cm (30:39)

1: TOF MSMS 557.39ES+
1.99e3



小関O3

m/z 557の2価イオン(558/2)=279 m/z 279のMS/MSスペクトル

VECURONIUM Br

OZEKI 03 25 (0.478) Cm (6:25)

1: TOF MSMS 279.17ES+
8.28e4

