

平成 24 年度 技術部短期集中技術研修

－質量分析装置の測定技術の習得－

西 麻耶子

工学部 技術部 応用分析技術系(機器分析・化学 WG)

1. はじめに

試料の質量を正確に測定できる質量分析装置は、材料・化学・生物学など分子を扱う全ての研究分野において不純物等未知物質の同定やタンパクの分析などに威力を発揮し、いまや必須の分析手段となっている。この装置は高感度・高精度分析が可能であるため、測定機器の普及に伴い、その重要性・汎用性は益々高まって行くものと考えられる。

質量分析装置は試料の種類や目的によって使い分ける必要があるため、多様に開発されており、本学には、エレクトロスプレー質量分析装置(ESI-MS) とこれに接続して混合物を分離できる液体クロマトグラフィー(LC)が導入されている。今回の研修では、LC や ESI-MS を用いた構造異性体の同定や定量分析が可能な質量分析装置の分析技術、試料調製技術を習得することを目的として研修を行った。本研修は沖縄高等専門学校(沖縄高専) 副技術部長 蔵屋英介様に平成 25 年 2 月 18 日(月)~平成 25 年 2 月 21 日(木)の期間でご指導いただいた。沖縄高専では、LC/ESI-MS を用いた研究成果を多く報告しており、実際の分析技術、及び、最近脚光を浴びている質量分析装置の測定技術について学ぶことによって、メーカー研修では習得できない生きた技術を習得することができた。

2. LC/ESI-MS

LC/ESI-MS は溶媒中に溶解している試料の質量を測定することができる。まず、LC によりカラムと試料溶液に含まれるいくつかの物質との親和性の差により、試料を分離する。続いて、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を用いて試料溶液に高電圧をかけ、正イオンと負イオンに分ける。これを質量分離部で質量に応じて分離し、検出器で検出することにより、イオンの質量を知ることができる。

上述の通り、ESI-MS は LC と接続することで構造異性体の同定が可能である。しかし、様々な研究室が多様なサンプルを持ち込み、多くの研究室が LC を所有しているため、現在私の管理する ESI-MS と LC は接続していない。各研究室の LC で分離した試料を受け取り、依頼測定として測定している。しかし、LC と ESI-MS を接続すれば、LC を持たない研究室に対しても研究支援を行うことができる。また、LC の測定技術を身につけることで依頼測定試料への理解が深まり、より精密な測定が可能になる。

また、本学に導入されている LC/ESI-MS の質量分離部は飛行時間(TOF)型であり、イオン源で一定の加速電圧で加速されたイオンが検出器に到達するまでの時間を測定することで、イオンの質量を知ることができるが、この検出器では定量分析を行うことができず、四重極(Q)型を用いなければならない。しかし、定量分析を希望する声もしばしば聞かれ、現在、導入申請を行っている。沖縄高専は Q 型質量分析装置(LC/ESI-Q-MS)を導入しており、熊本大学にも導入された際に迅速に測定に対応できるよう、定量分析の研修も行った。

3. 研修内容

試料は緑茶、紅茶、烏龍茶、韃靼そば茶、嬉野紅茶中のカテキン類 8 種、カフェインとした。8 種の



図 1：沖縄高等専門学校の LC/ESI-Q-MS
MS は Waters 社製 Quatro micro
LC は Waters 社製 AcQuity

カテキン類のうち、[カテキン・エピカテキン]、[ガロカテキン・エピガロカテキン]、[カテキンガレート・エピカテキンガレート]、[ガロカテキンガレート・エピガロカテキンガレート]は、それぞれ組成式が同じ、つまり質量も同じで構造が異なる構造異性体である。カテキン類とカフェインを 100℃または 70℃で茶中から抽出し、含まれる成分量の違いを測定した。

1 日目：LC/ESI-Q-MS で効率的にイオン化するための試料調製

それぞれの茶を 2g ずつ分取した。100℃又は 70℃の湯、メタノールで抽出し、ろ過した。(※嬉野紅茶のみ、70℃未抽出)



図 2：茶抽出液

2 日目：LC/ESI-Q-MS で効率的にイオン化するための試料調製

サンプルの定量分析—条件検討；イオン化の可否

それぞれの茶抽出液を適当に希釈し、フィルターろ過を行った。純粋なカテキン類 8 種とカフェインに対して溶媒、電圧、その他の測定条件を決定するための測定を行った。

3 日目：構造異性体の同定—構造異性体分離条件の検討

サンプルの定量分析—検量線の作成、サンプル測定

カテキン類 8 種のうち、構造異性体同士が分離するようになりテンションタイムを検討した。また、定量分析を行うため、検量線が必要となる。純粋なカテキン類 8 種とカフェイン(それぞれ 6 段階の濃度のものを用意)を、2、3 日目に決定した条件で測定し、検量線を作成した。さらに、それぞれの茶の抽出液を、2、3 日目に決定した条件で測定した。

4 日目：構造異性体の同定—構造異性体分離

サンプルの定量分析—測定、解析

前日の結果が検量線から外れていたため、再測定した。結果を解析し、それぞれの茶抽出液に含まれるカテキン類、カフェインの量を算出した。

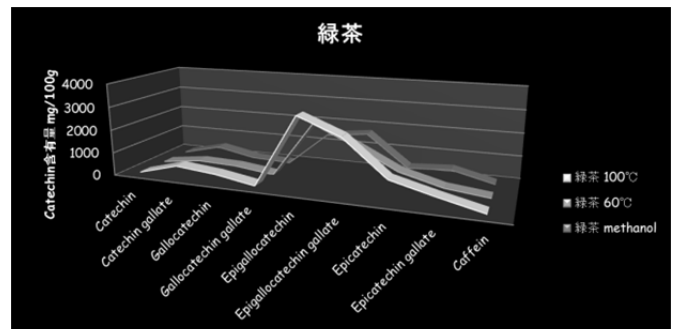


図 3：緑茶中に含まれるカテキン類、カフェインの量他の茶についても同じようにグラフを作成している

4. 成果と今後の展望

内容の濃度が濃いわりには研修期間が短かったため、研修先の技術職員の経験に依るところもあり、今後、可能な部分は学内での訓練が必要となる。メーカー研修では習得できないような、熟練した技術職員の技術を教授いただいたため、現在、関連研究室にて継続して技術習得に努めているところである。

また、定量分析の研修を行ったことにより、今後導入される可能性の高い定量分析のできる四重極 (Q) 型の装置を扱う際の技術的側面への貢献ができることは間違いない。

本研修の結果に関しては、本学で中学生の夏休み期間に実施している夏休みの自由研究相談会のテーマの一つである「お茶を科学する」で使用させていただいた。私の知りうる限りで、茶中のカテキン、カフェインの量を茶の種類や抽出温度によって定量している資料はなかったため、今回の結果を資料に含めることによって、より中学生に『科学らしさ』を伝えることができたように思う。

5. 謝辞

藏屋英介様をはじめ、沖縄高専の皆様には深謝いたします。また、熊本大学 工学部 前技術部長 里中忍教授、前副技術部長 神澤龍市様には大変なお力添えをいただきました。心よりお礼申し上げます。その他にも、多くの皆様にご協力いただきました。ありがとうございました。