

機能性成分分析における 液体クロマトグラフ-質量分析計の活用

はじめに

液体クロマトグラフ-質量分析計は、適用可能な対象成分が多いことから、様々な分野で汎用的に活用されるようになりました。機能性成分の分野においても、液体クロマトグラフ-質量分析計を用いることにより、これまで分析が困難であった試料や成分の測定が可能となりました。2015年4月からはじまった機能性表示食品制度で、届出が受理された製品の関与成分の分析でも、液体クロマトグラフ-質量分析計を採用している事例がいくつか見られます。

本稿では、液体クロマトグラフ-質量分析計について簡単に解説し、機能性成分の分析事例を紹介します。

液体クロマトグラフ-質量分析計について

ここでは、液体クロマトグラフ-タンデム四重極型質量分析計（LC-MS/MS）について解説します。なお、イオン化法や質量分析計の種類などについては旧号の JFRL ニュース「質量分析法について」（Vol.4 No.15 Dec. 2012）で詳しく解説しています。

LC-MS/MS の測定イメージを図-1 に示しました。LC より導入された目的成分等はイオン源でイオン化されます。生成されたイオンはタンデム四重極型質量分離装置（MS1 及び MS2）で分離され、検出器に到達します。このような検出モードを SRM (Selected Reaction Monitoring) といい、選択性と感度が良好なことから、LC-MS/MS では最も使用頻度の多い検出モードの 1 つになります。なお、液体クロマトグラフ-シングル四重極型質量分析計（LC-MS）の場合は MS1 で選択したイオンを検出します。

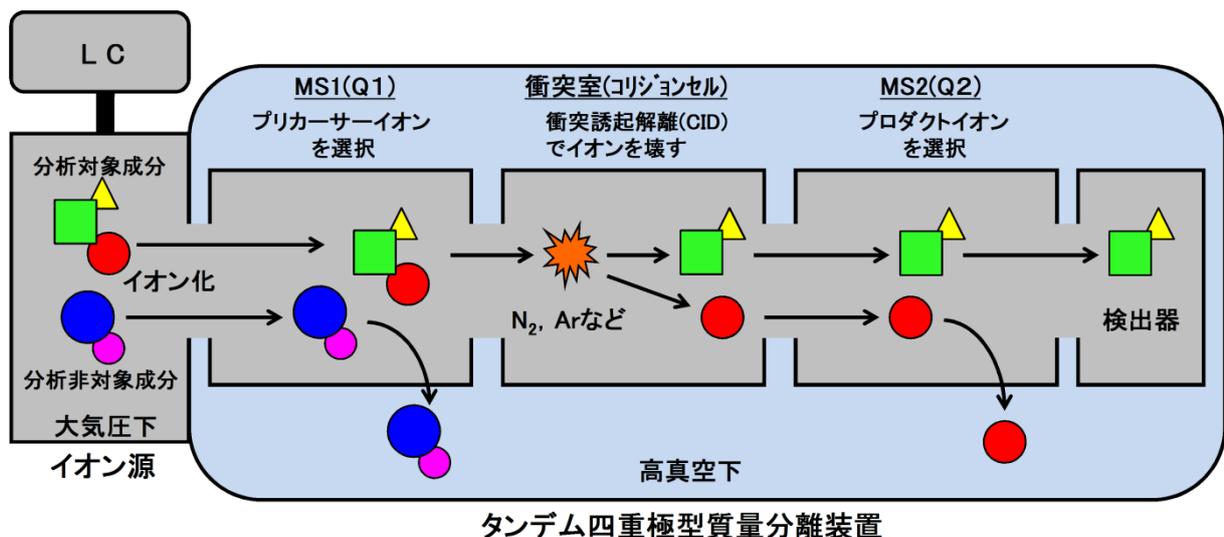


図-1 液体クロマトグラフ-タンデム四重極型質量分析計（LC-MS/MS）の測定イメージ

レスベラトロールの分析例

レスベラトロールはファイトアレキシン（病原菌感染時に植物体内で産生される防御物質）の一つで、ブドウの茎、葉及び果皮やメリンジョの種子などに含まれるポリフェノール的一种です。近年、抗酸化作用をはじめとする機能性、健康に関するさまざまな効能が注目され、科学雑誌 Nature¹⁾にも掲載された成分です。trans-レスベラトロールの構造式を図-2 に示しましたが、構造中にベ

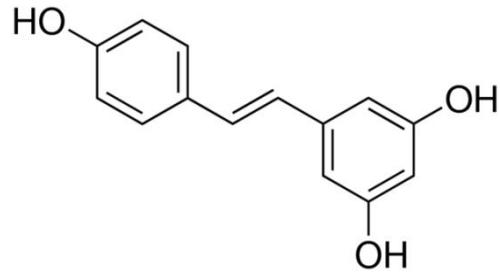


図-2 trans-レスベラトロールの構造式

ンゼン環や共役二重結合を有するため、測定には HPLC (UV 検出器) による検出が可能です。しかし、低含量で試料由来の妨害成分の影響を受けるような場合は液体クロマトグラフ-質量分析法に変更した方が選択性が高くなります。図-3 にメリンジョ由来レスベラトロール含有試料を分析した際の HPLC (UV 検出器) と LC-MS/MS のクロマトグラム例を示しました (矢印は trans-レスベラトロールのピーク位置を示す)。UV 検出器では夾雑成分の影響で trans-レスベラトロールのピークは不明瞭でしたが、LC-MS/MS では trans-レスベラトロールのみを選択的に検出することで定量を可能にしています。

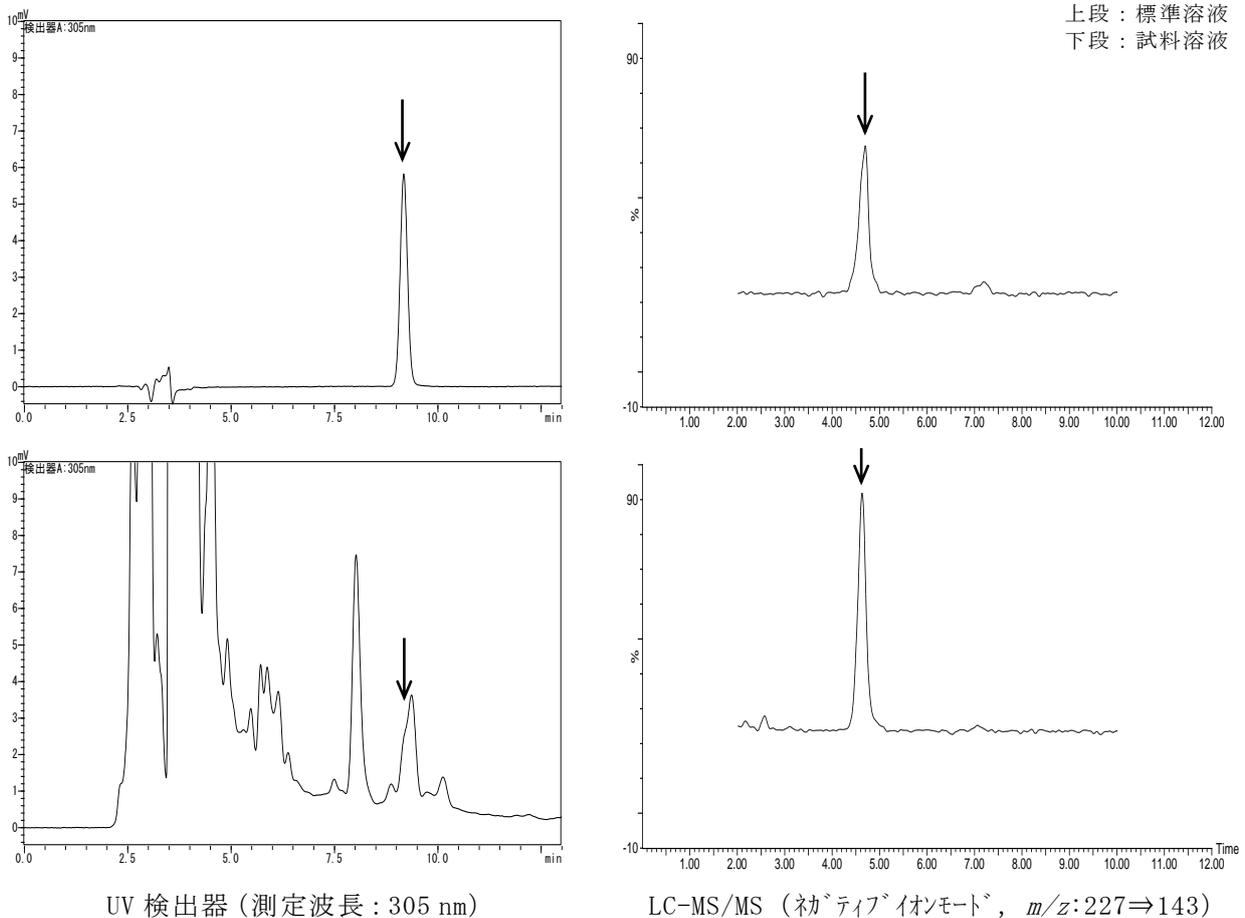


図-3 trans-レスベラトロールのクロマトグラム例

イチョウ葉テルペンラクトンの分析例

イチョウ葉エキスは、ドイツでは血流改善を薬効とする医薬品として認可されており、また国内でも認知機能の一部である記憶力の維持などを訴求した機能性表示食品も販売されています。イチョウ葉エキス特有のテルペンラクトンにギンコライド(A, B, C 等が存在)とピロバライドがあります(図-4)。

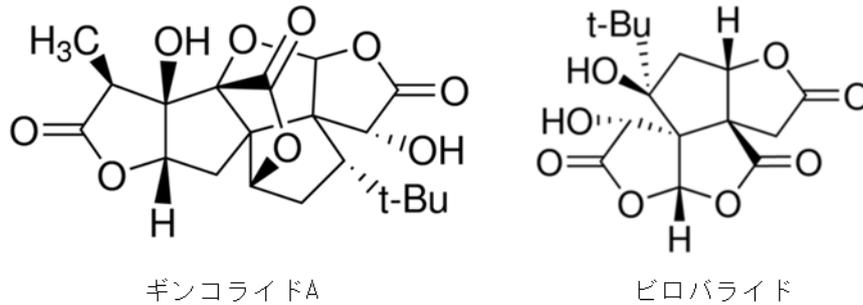


図-4 イチョウ葉テルペンラクトンの構造式

ギンコライド及びピロバライドも HPLC で測定しますが、紫外領域に特徴的な吸収を持たないことから、糖類の分析等に用いられる示差屈折検出器 (RI 検出器) を通常使用します。RI 検出器は移動相における屈折率の変化を検出することから、対象成分のみを選択的かつ感度よく検出することは困難です。このため、夾雑成分を除去する前処理操作を行った高濃度の対象成分を装置に導入して測定します。一方、ギンコライド及びピロバライドを LC-MS で測定すると、感度が RI 検出器と比べて 1000 倍以上向上するため、試料採取量を減らすことができ、また選択性も格段に向上しますので、前処理操作を省略してより短時間に低含量試料の分析も可能になります。RI 検出器と LC-MS の標準溶液のクロマトグラム例を図-5 に示しました。

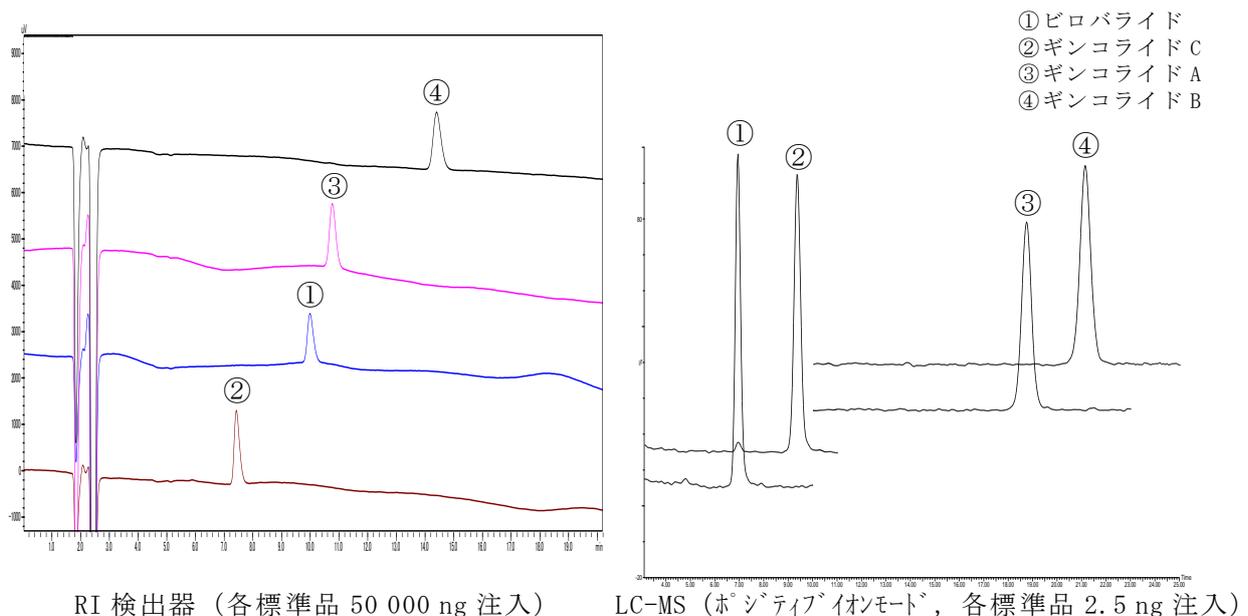


図-5 イチョウ葉テルペンラクトンのクロマトグラム例

ジンセノサイドの分析例

ジンセノサイドはオタネニンジン（高麗人参）、田七人参等に含まれるトリテルペンサポニン的一种で、基本骨格のサポゲニンに糖が結合した構造となっており、多数の類縁化合物が存在します。ジンセノサイド Rb₁ の構造式を図-6 に示しました。ジンセノサイド類は HPLC（UV 検出器）による測定例もありますが、多成分一斉分析の場合、それぞれのピークとさらには試料由来成分との分離を考慮する必要があります、分析時間も長くなってしまいます。

LC-MS/MS によるジンセノサイド類 19 成分のクロマトグラム例を図-7 に示しました。このように LC-MS/MS では、ピークが重なり合っても質量電荷比 (m/z) ごとに分離できますので分析時間の短縮が可能となります。

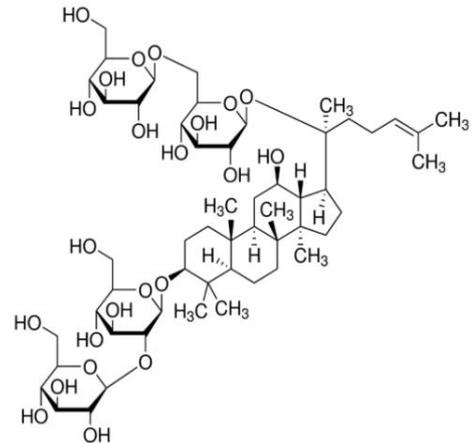


図-6 ジンセノサイド Rb₁ の構造式

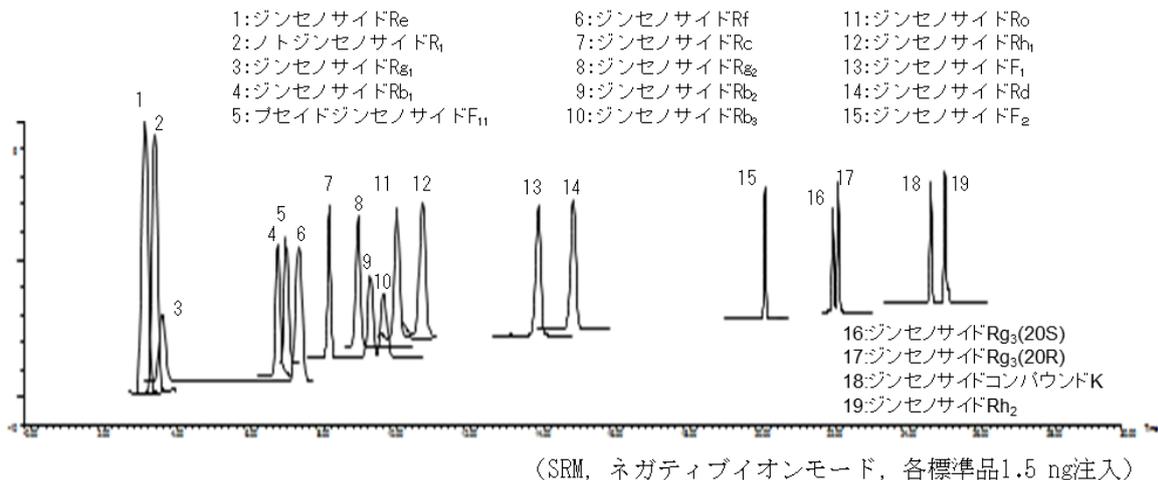


図-7 LC-MS/MS によるジンセノサイド類 19 成分のクロマトグラム例

おわりに

液体クロマトグラフ-質量分析計は、イオン化の工程が伴うため、試料由来成分の影響によりイオン化が抑制あるいは促進され、感度が低下、または上昇する現象がみられることがあります。この場合、前処理操作、希釈、LC 部で他の成分との分離を十分に行うなどの対策が必要です。しかし、これまで述べたように液体クロマトグラフ-質量分析計は感度、選択性に優れていますので、その特徴を理解して上手に使用することにより、様々な食品・分析対象成分の分析に活用できます。

弊財団では機能性成分をはじめとした様々な分析対象成分について、液体クロマトグラフ-質量分析計のアプリケーションを多数保有しておりますのでお気軽にご相談ください。

参考文献

- 1) Joseph A. Baur *et al.*, Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, **444**, 337-342 (2006)