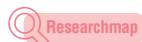




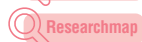
汎用的で高感度！超臨界流体を用いた新分析法 ～粉塵中の有害物質から生体高分子まで迅速かつ高感度に分析～

理学研究科 附属基礎理学プロジェクト研究センター

教授 豊田 岐聡

<https://researchmap.jp/toyodam>

特任研究員 本堂 敏信

<https://researchmap.jp/toshi-hondo>

研究の概要

プロトン移動反応 (PTR) 質量分析法 (MS) は、気体中の微量な揮発性有機化合物を高感度に検出するための手法として様々な気体試料の分析に応用されてきた。この PTR 質量分析法は、超臨界流体抽出 (SFE) やクロマトグラフィー (SFC) などの手法と組み合わせることで、脂質・脂肪酸などの不揮発性有機化合物の検出に応用でき、かつ非常に高い検出感度が得られることがわかってきた。この方法で、イベルメクチン (分子量 875) までのイオン検出が確認でき、脂肪酸では 10~200 amol という極めて低い定量限界が得られることがわかった。

研究の背景と結果

超臨界二酸化炭素 (scCO₂) を用いた物質の工業的抽出は 1970 年代に始まった。その応用は、コーヒー中のカフェインを選択的に除去する「脱カフェインプラント」(US Pat. 3969196) である。この例が示すとおり、SFE は単なる抽出と異なり、機械的に制御可能な、温度、圧力を操作することで、選択的に混合物を分離する分離手段である。また有機溶媒による抽出よりはるかに迅速に抽出操作を完了できる。我々は、1 μL 以下という微小 SFE ベッセルに、試料を塗布した金属フリットをセットし、25 MPa で SFE を行い、溶質を直接真空中の PTR チューブに導入することで、高い検出感度が得られる装置の試作に成功した。

PTR イオン化法は、高い検出感度と、広範囲の有機物をイオン化できる上、得られるスペクトルの解釈が容易という特徴がある。プロトン付加イオン生成を中心に調べられているが、今回、脂肪酸で高い感度が得られているのはプロトン脱離反応によるものである。我々は、SFE と組み合わせた場合の可能性を探るため、Table 1 に示す様々な物質の測定を試み、その多くで fmol から amol という低い定量限界が得られた。とりわけ、脂肪酸で低い定量限界が得られたことに注目している。脂肪・脂肪酸類は、scCO₂ に親和性が高く、SFE で扱い易い化合物であるので、生体試料中の存在量を *in-situ* で迅速に測定できる可能性に期待するからである。前節に述べた通り、アラキドン酸カスケードとして知られる反応中間代謝物について、炎症箇所など局所的な細胞 *in-situ* での SFE/SFC-PTR-MS による測定が可能となることで、生理学の発展としては将来のがん患者を助けることに繋がる期待がある。

研究の意義と将来展望

PTR イオン化が CO₂ には不活性であり、SFE の迅速抽出と組み合わせることで、不揮発性有機物の高感度測定ができることは当初から期待していた。今回、脂肪酸について期待を上回る低い定量限界が得られたことで、細胞レベルの脂質代謝研究に応用できる期待が高まった。たとえば体内で生成される脂肪酸の一種、アラキドン酸から派生する一連の代謝物は、痛み、発熱をはじめ、癌、躁うつ病との関連も研究されている。これら脂肪酸は体内に広く分布するが、存在量が少ない上、組織からの抽出操作が煩雑で、量の変化の測定は容易とはいえない。これらが迅速・高感度に定量できるようになれば、炎症箇所等の *in-situ* 分析が可能となり、生理学の発展に貢献できるのではないかと

期待している。

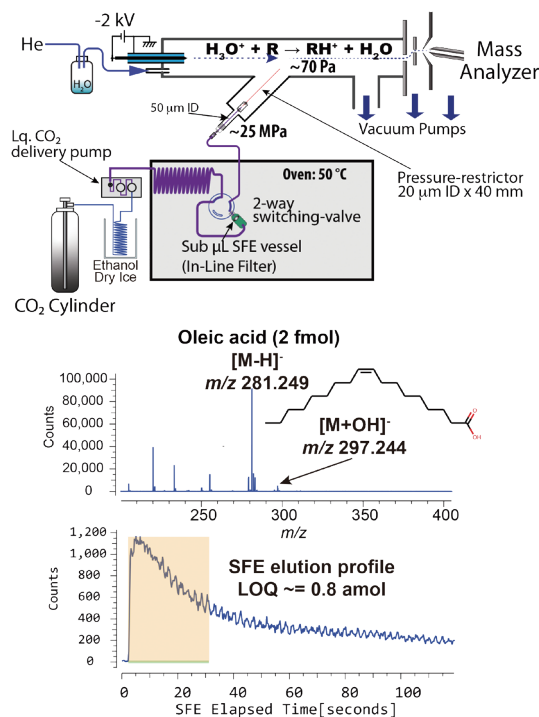
Table 1: SFE-DI-PTR Limit of Quantitation

Compound	mass	log(P)[1]	positive ion mode	negative ion mode
Acetaminophen	151.063	2.0	4.9 fmol [M+H] ⁺	274 fmol [M-H] ⁻
Phenacetin	179.095	2.0	1.4 fmol [M+H] ⁺	203 fmol [M-H] ⁻
Caffeine	194.080	-1.0	0.008 fmol [M+H] ⁺	-
Pyrene	202.078	4.6	9.5 fmol [M+H] ⁺	-
Oleic acid	282.256	6.1	-	0.048 fmol [M-H] ⁻
Stearic acid	284.272	6.3	-	10 fmol [M-H] ⁻
Linolic acid	280.240	5.9	-	0.2 fmol [M-H] ⁻
Arachidic acid	312.303	7.1	-	27 fmol [M-H] ⁻
Arachidonic acid	304.240	6.2	-	19 fmol [M-H] ⁻
Tetracosanoic acid	368.365	8.7	-	17 fmol [M-H] ⁻
α-Tocopherol	430.381	8.8	63 fmol [M+H] ⁺	4 fmol [M-H] ⁻
Vitamin K ₁	450.350	9.2	406 fmol [M+H] ⁺	41 fmol [M-H] ⁻
γ-Oryzanol A	602.434	10.2	-	530 fmol [M-H] ⁻
Reserpine	608.273	4.2	8.3 fmol [M+H] ⁺	8 pmol [M-H] ⁻
Ivermectin (B _{1a})	874.508	5.6	2.3 fmol [M+NH ₄] ⁺	-

References

- [1] Scott A. Wildman and Gordon M. Crippen. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 39(5):868-873, September 1999.

SFE-PTR ion monitoring



特 許 特願2021-017547

論 文 Hondo, Toshinobu; Ota, Chihiro; Miyake, Yumi et al. Analysis of nonvolatile molecules in supercritical carbon dioxide using proton-transfer-reaction ionization time-of-flight mass spectrometry. 2021 May 4; 93(17): 6589-6593. doi: 10.1021/acs.analchem.1c00898

参 考 URL https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2021/20210512_1

キ ー ワ ー ド 質量分析・超臨界流体抽出・クロマトグラフィー・プロトン移動反応イオン化