

LC-MSによる葉緑体に含まれる色素およびキノンの分析

Analysis of photosynthetic pigments and quinones in chloroplast using LC-MS

葉緑体 (Chloroplast) は植物に存在する細胞内小器官で、光合成の全行程を司る光合成器官です。葉緑体にはクロロフィル、カロチノイドなどの色素やナフトキノンを誘導体が含まれています (Fig. 1)。これらの分析にはODSカラムを用い、移動相としてメタノール/2-プロパノール系を用いるのが一般的です。

ここでは大気圧化学イオン化 (APCI) 法を用いた葉緑体中の色素・キノンの分析例を紹介いたします。APCIはプロトン性移動相を反応イオンとし、試料と反応イオンとのイオン分子反応により試料のイオン化を行っているため、通常液体クロマトグラフィーで利用される移動相をそのまま利用することができます。

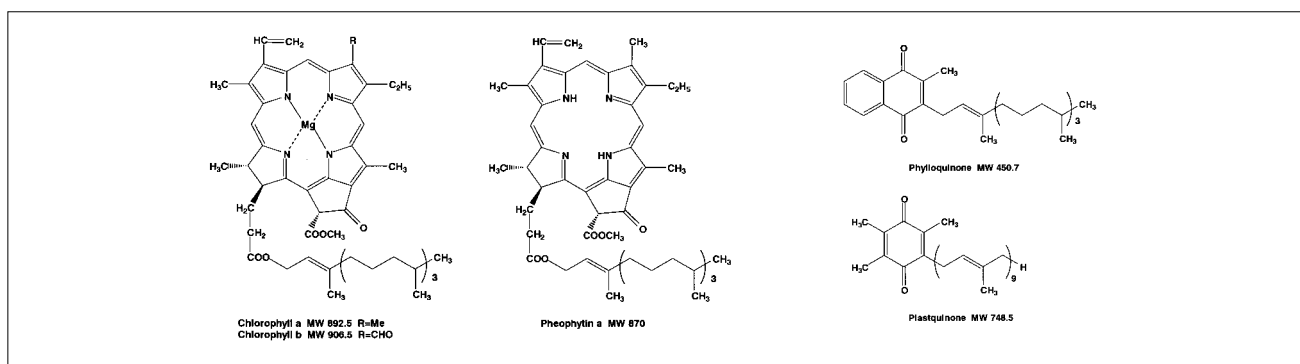


Fig.1 葉緑体中色素、キノンの構造
Structures of pigments and quinones in chloroplast

254nmで検出したクロマトグラムと質量分析法によるトータルイオンクロマトグラムは、異なるクロマトグラムのパターンを示します (Fig. 2)。UV検出器は特定の波長における吸光度を記録しているのに対し、質量分析計ではイオン化された化合物の総和を記録しているという検出方法の違いに由来します。各成分のプロトン化分子(MH⁺)でのマスクロマトグラムを出力することにより、クロロフィルb(m/z 907, A), クロロフィルa(m/z 893, B), フィロキノン(m/z 451, C), フェオフィチンa(m/z 871, D), ベー

タカロテン(m/z 537, E), プラストキノン(m/z 750, F)を確認することができます (Fig. 3)。Fig. 4にはこれらの成分のマススペクトルを示します。クロロフィルa, クロロフィルbおよびフィロキノンのマススペクトルではフィチル基が脱離したポルフィリン骨格のイオンも観察されています。

試料は東京大学大学院理学系研究科 園池公毅博士に提供していただきました。

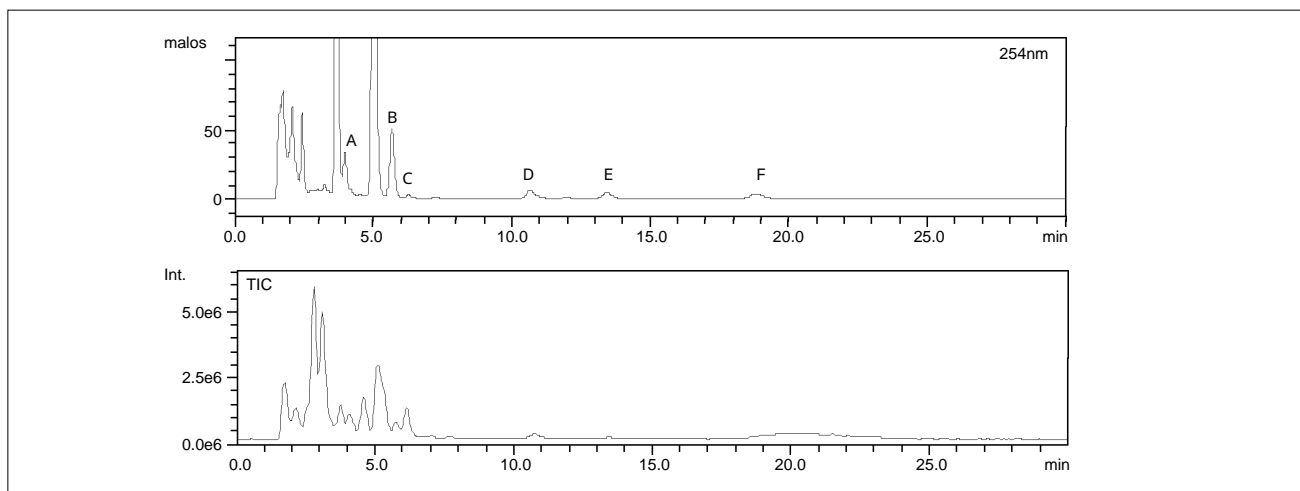


Fig.2 葉緑体抽出物のUVクロマトグラムとトータルイオンクロマトグラム
UV absorption and total ion chromatogram of extract from chloroplast

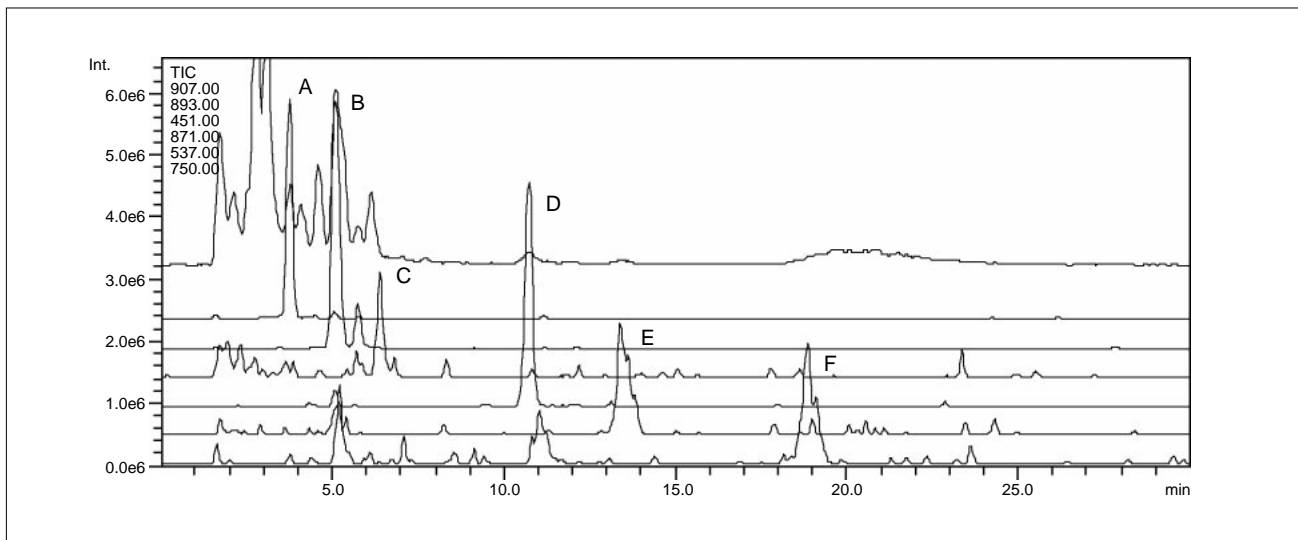


Fig.3 葉緑体抽出物のマスクロマトグラム
Mass chromatograms of extract from chloroplast

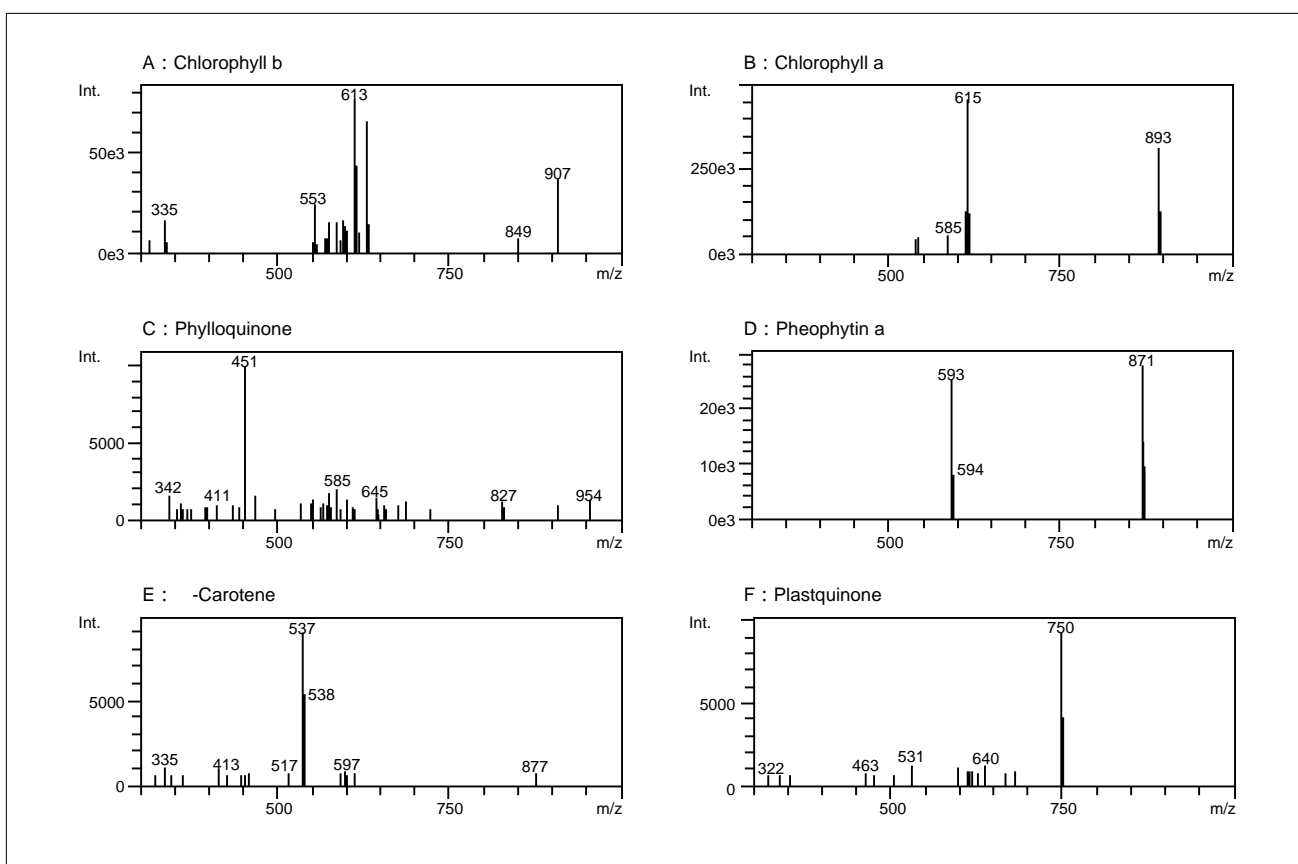


Fig.4 葉緑体中色素とキノンのマススペクトル
Mass spectra of pigments and quinones in chloroplast

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: STR ODS-II (2.0 mmI.D. x 150mmL)	CDL temperature	: 230
Mobile phase	: methanol -2-propanol (3:1)	Nebulizing gas flow	: 2.5L/min
Flow rate	: 0.2mL/min	CDL voltage	: -43V
Column temperature	: 40	DEFs voltage	: +46V
Probe voltage	: +3.5kV (APCI-positive mode)	Scan range	: m/z 250-1000

 島津製作所 分析機器事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

●東京 ☎(03)3219-1691
●京都 ☎(075)813-1691

SHIMADZU CORPORATION
INTERNATIONAL MARKETING DIVISION

3, Kanda-Nishikicho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8448, Japan
Phone : (03) 3219-5641 FAX : (03) 3219-5710
Cable Add. : SHIMADZU TOKYO

3094-10010-18A-ADI
2000.10