

Application News

No. B107

MALDI-TOF Mass Spectrometry

表面支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (SALDI-MS)を用いたワックスの迅速な特性評価

マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOF MS)は、低分子から高分子に至るまで、多様なタイプの試料の分子量情報を簡便・迅速に得ることができるため、合成および生体高分子の研究開発および品質管理において幅広く応用されています。

MALDIでは、試料はマトリックスとよばれるイオン化補助剤の溶液と混合することによって調製します。マトリックスとは、主に低分子の有機化合物であり、ペプチドの測定には α -シアノ-4-ヒドロキシベンズ酸、タンパク質の測定にはシナピン酸といったように、試料の種類に応じて、効率的な脱離およびイオン化を行うための最適なマトリックスを選択する必要があります。

ここでは、試料とマトリックス溶液との混合を必要としない、従来のMALDIよりもさらに迅速な方法を紹介します。

この手法では、マトリックスをエッチングした銀箔で置き換えて、その銀箔表面からイオン化を行います。このような手法は表面支援レーザー脱離イオン化質量分析法(SALDI-MS)と呼ばれています。この方法は、試料調製時間の短縮に加えて、MALDIと比べて低分子領域のバックグラウンドノイズが少ないという特徴があります。

SALDI-MSの分析例として、複雑な脂質混合物からなる種々のキャンドルワックスを分析しました。ミツバチの巣から得られる蜜蝋はパラフィンワックスに比べて高価なため、ろうそくに含まれる蜜蝋の含有量は重要な品質基準とされています。

一方、ステアリンキャンドルに含まれるステアリンは、石油ではなく植物原料で製造されているため、再生可能で環境に優しいパラフィン代替品とみなされています。これらのミツバチまたは植物によって生産される特徴的なパラフィンワックス化合物の主要成分を検出することによって、品質表示をチェックすることが可能となります。

A. Schnapp

■ 試料調製

銀箔を切断した後、ペンタン、アセトン、メタノールおよび水で洗浄、平坦化し、表面外観が灰色になるまで50°Cで硝酸(23%)中でエッチングしました。最後に、エッチングした銀箔を水で洗浄し、MALDIターゲット上に導電性テープで貼り付けました^{1),2)}。

ろうそくのワックスは銀箔に直接塗り付けて卓上型MALDI-TOF MSのMALDI-8020を用いて測定しました。この手法を評価するために、標準物質と溶かしたろうそくのワックスのサンプルも測定しました。得られたマススペクトルデータは統計解析ソフトeMSTAT Solution™を用いて解析し、ろうそくの主成分をスコアプロットで可視化しました。ワークフローを図1に示します。

■ 異なる脂質クラスのマスマスペクトル

ワックスの成分は銀イオン付加分子として検出されました。このメソッドにより観測される脂質クラスの範囲は官能基を持たない飽和炭化水素、すなわちアルカンにも及びます。

これらの検出は、揮発性化合物の蒸気圧によってのみ制限されるため、分析可能なアルカンは23以上の炭素原子を有するものに限られます。試料を質量分析計に導入直後に分析すれば、さらに短い鎖長の成分が観測される場合があります(図2)。

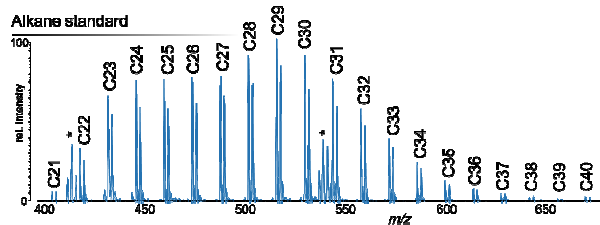


図2 アルカン混合物のマスマスペクトル
(GC-スタンダード、数字は炭素数。*は銀クラスターを示す)

図3にミツバチに由来する蜜蝋のマスマスペクトルは特徴的なプロファイルを示します。このマスマスペクトルは、偶数の炭素原子を有するワックスエステル^{1),3)}と、奇数の炭素原子を有する飽和または一価不飽和炭化水素^{1),4)}から構成されています。

ろうそくのワックスを直接塗布

MALDI-TOF MSで測定

統計解析ソフトによるグルーピング



図1 ワークフロー

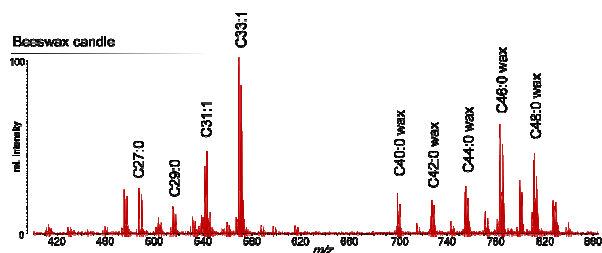


図3 蜜蝋ろうそくのマスペクトル (1,3,4)

ステアリンキャンドルは、植物性や動物性の脂肪をけん化したものです。従って、それらは石油に代わる再生可能なグリーンな代替物と考えられています。ステアリンキャンドルはパルミチン酸とステアリン酸の二つの遊離脂肪酸(FFA)から成る特徴的なプロファイルを示します(図4)。

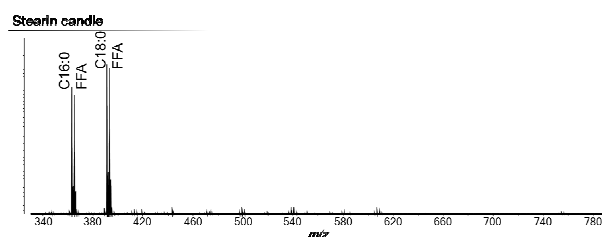


図4 ステアリンキャンドル(パルミチン酸(C16)とステアリン酸(C18)).

パラフィン安価であり、ろうそくを製造するための最も一般的な資源で、石油に由来するため、マスペクトル中には、使用される分画に含まれる鎖長が異なる複数のアルカンが観測されています(図5)。

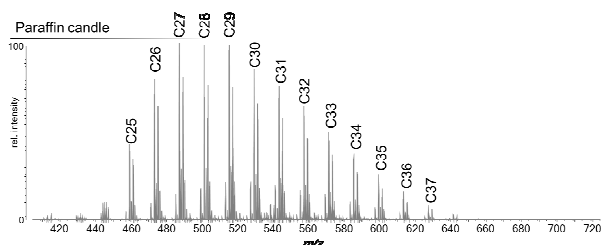


図5 ろうそくのパラフィン(炭素数25~37のアルカン)

これらの三つの例によって、エッチングした銀箔を用いたSALDI-MSで広範囲の異なる脂質クラスを分析できることが示されました。すなわち、(i)官能基を持たない、GCを用いて分析することが一般的なアルカンや、(ii)極性が高く揮発性の低い、誘導体化なしではGCによる分析が困難な遊離脂肪酸やワックスエステルのような脂質を測定することが可能です。SALDI-MS法はクロマトグラフィーによる分離は必要ないので、GCと比べて迅速な測定が行えます。

eMSTAT Solutionは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

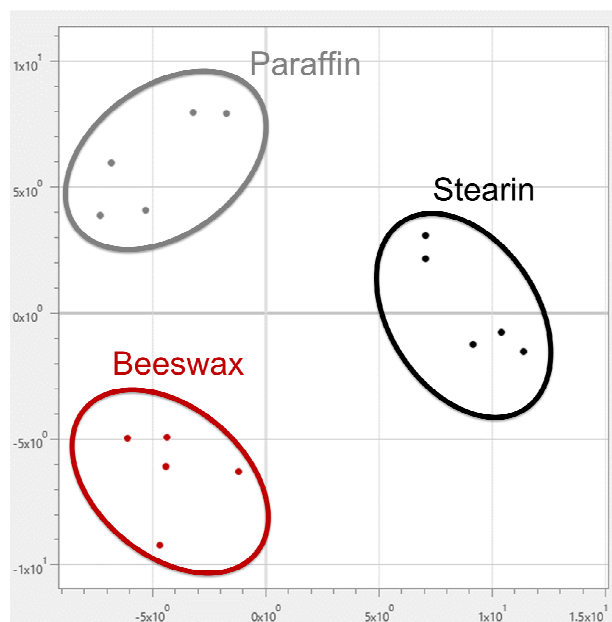


図6 eMSTAT Solutionによる多変量解析結果 (Score plot)

統計解析ソフトによる主成分分析

統計解析ソフトeMSTAT Solutionを用いて多変量解析を行うことにより、原材料が異なるろうそくのグルーピングが行えました(図6)。判別分析機能を用いることにより、主成分との類似度をスコア化することも可能です。

結論

本稿によって、GC-MSによる同時検出が困難な、炭化水素と低揮発性化合物の両方を含む複雑な脂質混合物を分析する方法の可能性が示されました。この手法は工業用ワックス、石油、昆虫フェロモンの分析等への応用が考えられます。クロマトグラフィーによる分離も誘導体化も必要なく、試料を溶解する必要もないので、この方法は非常に迅速です。統計解析ソフトのeMSTAT Solutionは、サンプルのマスペクトルとリファレンスとなるサンプルのマスペクトルとの関係性を解析する際に役立ちます。

参考文献

- 1) Schnapp et al., *Methods*, 2016, 104, 194-203.
- 2) Bien et al., *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411 (13), 2981-2993.
- 3) Fröhlich et al., *J Chem Ecol*, 2000, 26, 123-137.
- 4) Ferreira-Caliman et al., *J Chem Ecol*, 2012, 38, 418-426.

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年1月

島津コールセンター 0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。

＞ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ MALDI-8020

マトリックス支援レーザー脱離イオン化
飛行時間型質量分析計

関連分野

＞ 石油・化学工業

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ