

Application News

No. B84

MALDI-TOF 質量分析法

卓上型MALDI-TOF MSと統計解析ソフト eMSTAT Solution™による植物油種の簡便・迅速な識別

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 (MALDI-TOF MS) は、低分子から高分子に至るまで、広い範囲のサンプルの分子量情報を簡便・迅速に得られるという特長を持っています。この MALDI-TOF MS は、研究開発を行う研究室において、或いは品質管理の現場において、合成品や天然物の分子量確認等に広く用いられています。さらには、MALDI-TOF MS が広い質量範囲の複数の成分を一価のイオン (1 成分=1 ピーク) として検出できるという特徴を活かして、食品や生体試料の性状変化をプロファイリングする試みも行われつつあります。

ここでは、卓上型の MALDI-TOF MS と統計解析ソフト eMSTAT Solution を使って、植物油の簡便・迅速な識別を行った例を紹介します。

K. Shima

■材料と方法

市販の植物油 6 種 (オリーブ油 3 種、アマニ油、ヒマワリ油、グレープシード油) をクロロホルムで 1 mg/mL に希釈したものを試料として用いました。油試料を等量のマトリックス溶液、カチオン化剤と共に、MALDI 測定用ステンレスプレート上に滴下して乾燥させました。

マトリックスは 2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (DHB、10 mg/mL) をメタノールに溶解させたもの、カチオン化剤はヨウ化ナトリウム (1 mg/mL) をテトラヒドロフランに溶解させたものを用いました。測定は卓上型 MALDI-TOF 質量分析計 MALDI-8020 (図 1) を用いて行いました。

各マススペクトルから得られたピークリストを eMSTAT Solution ソフトウェアを用いて多変量解析を行うことにより、各油種の識別を試みました。

■結果

植物油 6 種のマススペクトルを図 2 に示します。主に、 m/z 600 付近にジアシルグリセロール (DAG)、 m/z 900 付近にトリアシルグリセロール (TAG) 由来のナトリウムイオン付加分子が検出されました。検出された主な TAG の構成脂肪酸を参考文献に基づいて推定した結果を表 1 に示します。



図 1 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

表 1 植物油のマススペクトル中の主なピークの m/z から推定される成分の例^{1), 2)}

観測 m/z	推定される成分の例
873.7	C55:6 (PLnLn)*
875.7	C55:5 (PLLn)
877.8	C55:4 (PLL/PLnO)
879.8	C55:3 (PLO/PLnS)
881.5	C55:2 (POO/PLS)
895.6	C57:9 (LnLnLn)
897.7	C57:8 (LLnLn)
899.7	C57:7 (LLLn)
901.5	C57:6 (OLLn/SLnLn)
903.8	C57:5 (OOLLn/OLL)
905.5	C57:4 (SLL/OOL)
907.5	C57:3 (OOO/SOL)

* カッコ内 L=リノール酸、Ln=リノレン酸、O=オレイン酸、P=パルミチン酸、S=ステアリン酸

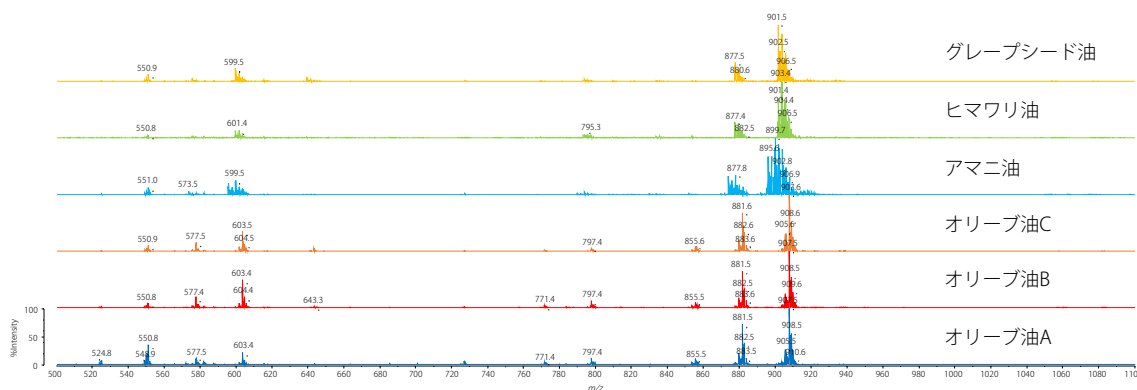


図 2 植物油のマススペクトル

MALDI-TOF MS で検出された植物油のピークリストを用いて、eMSTAT Solution による多変量解析（アルゴリズム：PLS-DA）を行った結果（スコアプロット）を図 3 に示します。各植物油は、高オレイン酸タイプのオリーブオイル 3 種、高リノレン酸タイプのアマニ油、高リノール酸タイプのヒマワリ油とグレープシード油の 3 グループに分かれ、各植物油の構成脂肪酸を反映した結果になりました。ローディングプロットの結果（図 4）からは、高オレイン酸型は m/z 907、高リノール酸型は m/z 903、高リノレン酸型は m/z 899 のピークがグループ分けに主に寄与していることがわかります。

次に、未知の植物油脂の主要構成脂肪酸がどのタイプに属するかを判別するための判別モデル（アルゴリズム：Random Forest）を、今回測定した植物油のデータを用いて作成しました（図 5 上）。作成した判別モデルを用いて、別途測定した別メーカーのオリーブ油の判別分析を行ったところ、全て高オレイン酸型と判定され正しい結果となりました（図 5 下）。

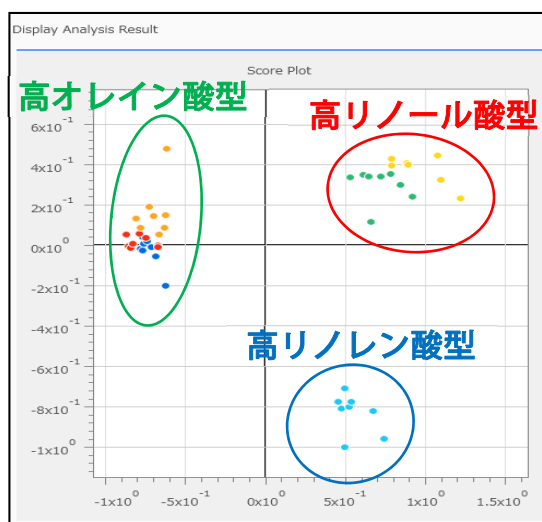


図 3 植物油の多変量解析結果（スコアプロット）
●オリーブ油 A ●オリーブ油 B ●オリーブ油 C
●アマニ油 ●ヒマワリ油 ●グレープシード油

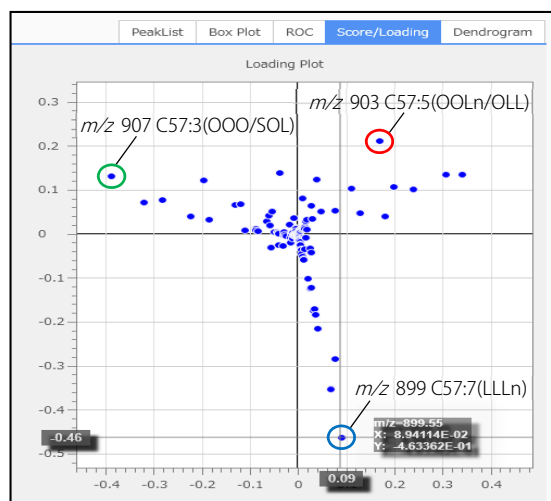


図 4 植物油の多変量解析結果（ローディングプロット）

判別モデル作成

Discrimination Model

Name: Oil type Random forest Model Algorithm: RandomForest

Comment:

Training Data: Num Learning Cycles: 50 [Auto] Min Leaf Size: 1 [Auto] Max Evaluations: 10

Cross Validation: Type: KFold Value: 2 Estimated Error:

Create Model

Training Data

215 peaks

P-Value: Top 10 m/z Range: 500 - 3000

m/z	ANOVA	High ole	High lin	High lln
895.5600	1.2246E-44	4	8	0
897.5900	3.3965E-37	3	8	0
882.5400	1.6986E-32	24	4	5
899.5500	5.8633E-28	2	8	1
881.4900	8.0195E-28	24	5	10
908.5500	2.0346E-22	24	5	11
909.5300	7.7669E-20	24	5	10
907.4900	4.446E-19	24	6	13
896.5400	3.3403E-18	3	7	0
873.4700	2.5441E-17	0	7	0
904.4700	4.6155E-17	17	7	15

判別分析

Sample Name & Result

Add Sample

Select				
Name	test1_oliveoil	test2_oliveoil	test3_oliveoil	test4_oliveoil
Group	High oleic	High oleic	High oleic	High oleic
Score	93	93	92	93
873.4700	---	---	---	---
881.4900	4683.7	16918.9	21436.8	12148.1
882.5400	2442.5	8411.3	11053.1	6596.4
895.5600	---	---	101.2	67
896.5400	---	---	48.6	50.9
897.5900	---	---	44.9	---
904.4700	151.8	290.9	358.3	3129.1
907.4900	9209.3	35038.8	41980.6	25532.6
908.5500	4846.5	18236	23923.6	13450.8
909.5300	2453.4	10200	12044.6	---

図 5 植物油の判別分析
（上：作成した判別モデル、下：オリーブ油の判別分析結果）

まとめ

卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020 と統計解析ソフトを用いて、植物油を主要構成脂肪酸ごとに簡便・迅速にグループ分けできることが示されました。今回は脂質を測定対象としましたが、同様の分析は、タンパク質、糖鎖、合成物、生体試料などの多様な成分にも適用することが可能と考えられます。

卓上型のコンパクトさと分子プロファイリングに十分な性能を兼ね備えた MALDI-8020 は、多様な試料の特性評価を簡便・迅速に行いうる製品として、今後の展開が期待されます。

<参考文献>

- 大谷 肇、山橋 友紀、石田 康行、2010. マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法による乾性油の硬化挙動解析. 第58回質量分析総合討論会
- Picariello G, Paduano A, Sacchi R, Addeo F, 2009. Maldi-tof mass spectrometry profiling of polar and nonpolar fractions in heated vegetable oils. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (12), pp. 5391-5400

eMSTAT Solution は、株式会社 島津製作所の商標です。

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：2018年9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。