

●—— UPLC-IMS-MS を用いるキラルアミノ酸の高速一斉分析技術

キラル分子の識別分析は医薬品や農薬など様々な分野における需要が高く、近年益々の技術進歩を遂げている。タンパク質構成アミノ酸についてもエナンチオマーを識別可能な分離・検出技術が開発され、L 体と異なる生理機能を担う D-アミノ酸が報告されるなど注目を集めている。しかし従来法では、実試料中の異性体分離に数十分から数時間を要するものが多く、分析スループットと選択性の向上が課題であった。これに対し、イオンモビリティ分析 (IMS) は質量分析 (MS) と組み合わせることで迅速性と選択性を兼備した分析が可能であり、キラルアミノ酸への適用が進んでいる¹⁾²⁾。

タンパク質構成アミノ酸のうち L-イソロイシン (L-Ile) と L-スレオニン (L-Thr) は α 位および β 位に不斉炭素有し、生体内では α 炭素のみが反転したジアステレオマーの D-*allo*-Ile および D-*allo*-Thr が優先的に生成する。しかし、構造が酷似した Ile と *allo*-Ile、Thr と *allo*-Thr は識別分析が困難な場合が多く、*allo* 体を含めたタンパク質構成全アミノ酸の一斉分析はいまだ限られている。これに対し、最近 Jaag らはコアシェルカラムを装備した迅速キラル HPLC と IMS-MS、高分解能デマルチプレックス技術を組み合わせ、*allo* 体を含むタンパク質構成全アミノ酸を対象とするキラル識別一斉分析を検討している³⁾。この方法では 6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate により誘導体化したアミノ酸をキラル UPLC で光学分割した後に質量分析を行うが、Ile/*allo*-Ile および Thr/*allo*-Thr についてはエナンチオマーとジアステレオマーの一斉分離が不十分である。そこで、分析時間を延ばすことなく選択性を向上させるために更なる分離次元として IMS を搭載した。その結果、D-*allo*-Ile と D-Ile については衝突断面積値にほとんど差が無く、依然として分離困難であった一方、D-*allo*-Thr/D-Thr/L-*allo*-Thr/L-Thr の識別分析が可能であることが示されている。開発したキラル LC-IMS-MS のバリデーションの結果、生体試料の分析において十分な真度と正確性を有することが確認され、Leu-Asp-Thr-Leu-Leu-Ser-Leu-Gln-Leu-Val-Glu の配列を有する天然リポペプチド中のアミノ酸残基分析に適用されている。その結果、今まで絶対配置が未報告であったアミノ酸残基についても、本分析法を用いることで D 型または L 型残基として存在することを明らかにしている。

IM 分離は従来の HPLC や MS を用いる方法では困難であった異性体分離の領域に一石を投じる技術であり、タンパク質構成アミノ酸についてもキラルを識別した迅速一斉分析を達成する可能性を秘めている。しかし、Ile/*allo*-Ile などの構造が酷似した異性体については、現行の IMS を用いてもいまだ十分な分離は困難であり、引き続き性能向上や新たな技術開発が期待される。

- 1) S. Yang, L. Gu, F. Wu, X. Dai, F. Xu, Q. Li, X. Fang, S. Yu, C.-F. Ding : *Talanta*, **243**, 123363 (2022).
- 2) C. Xie, Y. Chen, X. Wang, Y. Song, Y. Shen, X. Diao, L. Zhu, J. Wang, Z. Cai : *Chem. Sci.*, **13**, 14114 (2022).
- 3) S. J. Jaag, Y. Valadbeigi, T. Causon, H. Gross, M. Lämmerhofer : *Anal. Chem.*, **96**, 2666 (2024).

〔九州大学大学院薬学研究院 石井 千晴〕

●—— ワイン中の揮発性チオール分析のための新しい前処理法

揮発性チオールはワインの香りの特徴づける重要な成分であるものの、含有量が極微量 (一桁 ng/L) であることに加え、酸化されやすい性質を有する。そのため、分析に先立ち、誘導体化処理と濃縮・精製処理が求められる。これまでに、誘導体化と、ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) や液体クロマトグラフィー質量分析計 (LC-MS) を組み合わせた測定法が考案されてきた¹⁾²⁾。しかし、抽出操作中でのエマルジョンの形成、長時間の抽出処理、前処理での塩の使用による MS の汚染などといった課題が存在する。

そこで、Zanoni らは、エブセレン (EBS) による誘導体化と固相抽出 (SPE) を組み合わせた新しい前処理法を開発した²⁾。本法は、既存の方法¹⁾²⁾ で使用されていたジクロロメタンのような環境負荷の高い有機溶媒や MS 汚染の原因となる塩析剤を一切使用せず、“Green Analytical Chemistry”⁴⁾ という近年の動向にも適合する分析法である。LC-MS/MS により、主要な揮発性チオールを含む 15 成分について分析を行い、多くの成分で 1 ng/L という極めて低い定量下限を達成した。これらの結果は、既存の QuEChERS 法²⁾ (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) と比較して、本法がより優れた分析性能を有することを示した。応用として、2019 年および 2023 年のイタリア産のワインを分析した結果、主要な香気成分に加え、これまで注目されてこなかった焦げ臭やロースト臭を示す 2-フランメタンチオールやベンジルメルカプタンが閾値を超えて検出され、ワインの香りの複雑性に寄与している可能性が示された。また、2019 年産と 2023 年産ではチオール組成に明確な違いがみられ、気候要因や醸造プロセスの影響も推測された。

以上のことから、EBS 誘導体化と SPE-LC-MS/MS を組み合わせることで、ワイン中の微量チオールの分析における感度・速度・環境配慮の課題を同時に解決した。本分析法は、ワインの香気研究や品質管理において、品種の個性を科学的に理解するための方法となる可能性を秘めている。

- 1) S. Vichi, N. Cortés-Francisco, J. Caixach : *Food Chem.*, **175**, 401 (2015).
- 2) S. Carlin, M. Piergiovanni, E. Pittari, M. Tiziana Lisanti, L. Moio, P. Piombino, M. Marangon, A. Curioni, L. Rolle, S. Río Segade, A. Versari, A. Ricci, G.P. Parpinello, G. Luzzini, M. Ugliano, D. Perenzoni, U. Vrhovsek, F. Mattivi : *Food Res. Int.*, **157**, 111404 (2022).
- 3) G. Zanoni, L. Giglini Tassotti, U. Vrhovsek, S. Carlin : *J. Food Compos. Anal.*, **142**, 107458 (2025).
- 4) P. Konieczka & M. Tobiszewski (Ed.) : “Special issue: Greenness Metrics for Analytical Methodologies”, (2023), (TrAC).

〔高知大学大学院総合人間自然科学研究科 橋上 敦志〕