



Title	超臨界流体クロマトグラフィー/質量分析を基盤としたカロテノイドの分析技術開発
Author(s)	松原, 惇起
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/24735">https://hdl.handle.net/11094/24735</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	まつばらあつき起 松 原 惇 起
博士の専攻分野の名称	博 士（工学）
学 位 記 番 号	第 2 5 6 2 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科生命先端工学専攻
学 位 論 文 名	超臨界流体クロマトグラフィー／質量分析を基盤としたカロテノイドの 分析技術の開発
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 福崎 英一郎  (副査) 教 授 渡邊 肇 教 授 村中 俊哉 准教授 馬場 健史 教 授 大竹 久夫 教 授 原島 俊 教 授 福井 希一 教 授 紀ノ岡 正博 教 授 藤山 和仁 教 授 仁平 卓也

## 論 文 内 容 の 要 旨

本論文では超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）の代謝物解析における適用技術開発を行い、従来法による迅速な分析が困難であったカロテノイドおよびその誘導体について分析系を構築することで、その有用性を検証した。

第一章では、緒論として本論文における中心技術であるSFCおよび分析対象であるカロテノイド研究の近年の動向をまとめ、現在、当該研究分野が直面している問題点を提示した。

第二章では、構造異性体を3組含む7種のカロテノイドの混合物を用い、各種分析条件を検討することでSFC/MSのカロテノイド分析における潜在能力を検証した。種々の分析条件を検討したところ、C18カラムで20分以内に十分な分離が得られ、C30カラムを用いた液体クロマトグラフィー（LC）による分離と比較して約2倍の理論段数が得られた。さらにそれぞれのカロテノイドの検出下限値は、約数十fmolであり、従来の液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）法に比べて10倍以上感度が高かった。この結果により検出感度の高いエレクトロスプレーイオン化（ESI）法に適した溶媒であるメタノールにより疎水性代謝物を溶出できるSFCが、MSとの接続において有用であることを示した。

第三章では、これまでに明らかにしたSFC/MSの特性を効果的に応用することで、カロテノイドエポキシドの分析系の構築に取り組んだ。カロテノイドエポキシドは生体内における主要なカロテノイドであるヒドロキシカロテノイドと分離するのが難しいこと、微量しか存在しないことから、従来法による分析が困難であった。そこで、SFC/ESI-MS/MSの適用を試みた。当該技術を用いることで、溶媒による制限のためLC/MS/MSでは難しかったカロテノイドエポキシドの構造特異的な検出が可能となった。さらに、20分以内にヒト生体内に含まれる主要な5種のカロテノイドを良好に分離可能であり、さらにヒドロキシ体と異性体であるエポキシ体のピークトップが分離可能であることが分かった。また、当該分析条件における各々のカロテノイドの検出限界は約0.1 fmolであり、ヒトの血清0.1 mlから、5種のカロテノイドに加え、6種のエポキシカロテノイドを検出することが可能になった。以上より、カロテノイドの酸化生成物であり、酸化ストレスマーカーの候補化合物であるとともに、発がん誘導作用が報告されるなどその生理作用が注目されているエポキシカロテノイドの生体内における動態解析を行うための実用的な分析系を構築できた。

第四章では、以上の研究成果と意義をまとめ、今後の課題と展望について記述した。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）の代謝物解析における適用技術開発を行い、従来法による迅速な分析が困難であったカロテノイドおよびその誘導体について分析系を構築することで、その有用性を検証したものである。

第一章では、緒論として本論文における中心技術である SFC および分析対象であるカロテノイド研究の近年の動向をまとめ、現在、当該研究分野が直面している問題点を提示している。

第二章では、カロテノイドの混合物を用い、各種分析条件を検討することでSFC/MSのカロテノイド分析における潜在能力を検証している。SFCを用いて構築した分析系は液体クロマトグラフィー（LC）による分離と比較して約2倍の理論段数が得られていた。さらにそれぞれのカロテノイドの検出下限値は、約数十 fmol であり、従来の液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）法に比べて 10 倍以上感度が向上していた。この結果により、検出感度の高いエレクトロスプレーイオン化（ESI）法に適した溶媒であるメタノールにより疎水性代謝物を溶出できるSFCが、MS との接続において有用であることを示している。

第三章では、これまでに明らかにしたSFC/MSの特性を効果的に応用することで、カロテノイドエポキシドの分析系の構築に取り組んでいる。カロテノイドエポキシドは生体内における主要なカロテノイドであるヒドロキシカロテノイドと分離するのが難しいこと、微量しか存在しないことから、従来法による分析が困難であった。そこで、本論文ではSFC/ESI-MS/MSの適用している。当該技術を用いることで、溶媒による制限のためLC/MS/MSでは難しかったカロテノイドエポキシドの構造特異的な検出が可能となった。さらに、20 分以内にヒト生体内に含まれる主要な 5 種のカロテノイドを良好に分離可能であり、さらにヒドロキシ体と異性体であるエポキシ体のピークトップが分離可能であった。また、当該分析条件における各々のカロテノイドの検出限界は約 0.1 fmol であり、ヒトの血清 0.1 ml から、5 種のカロテノイドに加え、6 種のエポキシカロテノイドを検出することが可能であることを示している。以上より、カロテノイドの酸化生成物であり、酸化ストレスマーカーの候補化合物であるとともに、発がん誘導作用が報告されるなどその生理作用が注目されているエポキシカロテノイドの生体内における動態解析を行うための実用的な分析系を構築できたとと言える。

第四章では、以上の研究成果と意義をまとめ、今後の課題と展望について記述している。

以上のように、本論文は従来工業的な精製技術として応用されてきた SFC の生体分子分析における有用性を実証している。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。