

氏 名	ほり 堀	まさ 正	のり 典
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)		
学 位 記 番 号	博 乙 第 33 号		
学位授与の日付	平成 7 年 3 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
学位論文題目	HPLC / MS による高度不飽和脂肪酸含有油脂の分子種解析に関する研究		
審 査 委 員	(主査) 教 授 佐 藤 昌 憲		
	教 授 田 中 信 男	教 授 古 沢 寿 治	助教授 山 岡 亮 平

論 文 内 容 の 要 旨

第1章:油脂はカロリー源、或いは脂溶性ビタミンや必須脂肪酸の供給源として重要な物質である。従来はリノール酸、リノレン酸などが注目されてきたが、最近では、むしろイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸などの高度不飽和脂肪酸がコレステロール値の低減などの点から再評価されている。そのため、これらの物質は健康食品、或いは機能性食品分野での展開が期待されている。工業的規模での生産には、高度不飽和脂肪酸を多く含む魚油から有効成分を濃縮、分離することが考えられるが、魚油の主成分であるトリアシルグリセリンは約 50 種以上の脂肪酸からなり、分離、分析は極めて困難である。申請者は高速液体クロマトグラフィー／質量分析法（略称 HPLC / MS）により油脂の精密な組成分析を行なう方法を開発し、その成果を、酵素を利用する魚油の改質等に資することを目的とした。

第2章:魚油の主成分であるトリグリセリドは、約 2 万種以上の分子種が統計的に存在することが知られている。個別的な分子種の識別と量的関係の解析には現在の HPLC 法では理論段数が足りない。現在、このような場合には保持時間を予想する因子として、Partition Number (PN) や、相対保持ポテンシャル (RPI) を導入して分子種の解析を行なっているが、これだけではトリアシルグリセリド混合物に対しては不十分である。申請者は HPLC / MS 分析に際して、これらの因子と分子種のマスペクトル分析を組み合わせる方法についての理論的考察を行なった。

第3章:HPLC によるイワシ油成分の分取を行ない、電界脱離イオン化・質量分析法 (FD-MS) 及びキャピラリー・ガスクロマトグラフィー (GC) を組み合わせて分子種の解析を行なった。一般的に FD-MS 法は分子イオンが検出されやすい方法であり、分子量が 750~1000、アシル基の総炭素数が 46~62 程度の分布をしていることが分かった。さらに HPLC により魚油を 12 の画分に分離し、各画分についての FD-MS 測定と、GC による脂肪酸分析を行ない、理論上の組み合わせから、極性の高い画分にはトリイコサペンタエノインなどの分子種が存在することが推定できた。

第4章:アンモニアを試薬ガスとする化学イオン化 (CI) 法により、標準品のトリアシルグリセリド及び月見草油を用いて HPLC / CI-MS による測定を行なった。分子イオン種、及び分子を特徴づけるイオン種が検出され、構成脂肪酸の解明ができた。しかし、魚油の場合にはイオン源フリットの目詰まりを起こす欠点があり、分析方法としては適当でないことが分かった。

第5章:高速原子衝撃イオン化 (FAB) 法は試料を加熱しないので、熱に不安定な物質でも分析可能である。マトリックスには m-ニトロベンジルアルコール (NBA) を用い、紫外検出器と質量分析器を直結するために、NBA を 10 μ l のミキサーを介して、ポストカラム方式によりイオン源に導入するシステムを構築した。これにより、紫外吸収と質量分析の情報を同時に得ることができた。各種の検討の結果、フ

リット上でイオン化が順調に行なわれていることが分かった。

第6章：HPLC/FAB-MS と HPLC 及び GC による成分の分取により、イワシ油を主原料とする脱酸・漂白魚油、及びその -60°C での溶媒分別魚油について分子種レベルでの解析を行ない比較した。その際、質量分析と共に、PN に基づく保持時間の情報も利用した。トリイコサペンタエノインは元の魚油中に約 0.6% 含まれているが、トリドコサヘキサエノインは殆ど含まれず、トリアシルグリセリド類を構成する脂肪酸は単純な統計的分布により存在するのではないことが分かった。又、低温溶媒分別魚油では PN が 36 以下の分子種は除去されずに残り、42 以上の分子種は殆ど除去されることを始めて明かにした。

第7章：HPLC/FAB-MS と PN の組み合わせにより分子種分析は進展したが、マスペクトル上で分子イオン種が観測され難く、アシルイオンがケミカルノイズの為検出困難な場合があること、その他の理由により、まだ HPLC の分離能が十分ではなかった。そこで保持時間予測のために、RPI 因子を導入し、これを酵素（リパーゼ OF）を用いた部分加水分解魚油のトリアシルグリセリド画分の解析に応用した。更に、負イオン FAB-MS 測定と高分解能マスキロマトグラムを用いることにより、精度が一層向上した。この方法によると、酵素で部分加水分解した魚油には高度不飽和脂肪酸からなるトリアシルグリセリドがほとんど元のまま残り、それ以外の脂肪酸からなる分子が選択的に分解を受けることが分かった。この事実は酵素を利用する魚油の改質に重要な知見である。

論文審査の結果の要旨

本論文は、関連する分野の主要な学会誌（審査付）に掲載された申請者を筆頭名とする 4 編の論文を基礎としている。

安価な魚油から人間の健康に必要な高度不飽和脂肪酸を採取することは、工業的にも重要な課題である。魚油の主成分であるトリアシルグリセリド類は極めて多種類の分子種からなり、現在まで精密に分子種を解析する方法はなかった。申請者は高速液体クロマトグラフィーによる高性能分離と、質量分析法に基づく精密同定に際し、実験的選択因子を組み合わせる方法により、各種のイオン化方法を採用した場合の選択性、感度、分解能等を比較検討し、実用に耐える解析方法を開発することに成功した。この成果を応用し、酵素による魚油の改質についても、明確な判断基準を示すことができ、工業的価値が高い。

なお、本論文の第6章、及び第7章の基礎とした申請者の発表論文2篇は（財）油脂工業会館より平成6年度、第38回油脂技術優秀論文賞を受賞することが決定しており、当該分野からも功績を認められている。