

依頼分析制度整備に向けた可能性検討 — 複雑化・多様化する分析に備えて —

○ 沖田総一郎^{1*}, 蔵増亮佑¹, Kristina TODERICH²

¹ 鳥取大学技術部 生物生産管理部門 乾燥地科学分野,

² 鳥取大学 国際乾燥地教育研究機構

1. 概要

乾燥地研究センター（以下、センター）では、所有機器の維持管理費の増大や分析の担い手不足などが課題となっている。技術職員の依頼分析体制を整備することでこれらの課題緩和の可能性が考えられることから依頼分析を試験的に受託し、時間や費用、業務配分などを検討したので、本報告で事例として共有したい。測定試料はキヌア（*Chenopodium quinoa*）種子で、センター既存の設備で可能な範囲で網羅的に成分分析をという依頼だった。センターでの分析実績のある遊離アミノ酸、サリチル酸と、実績のない遊離脂肪酸、サポニンにおいて、それぞれ定量を行った。依頼から結果の報告までの過程を以降の章で順を追って紹介する。

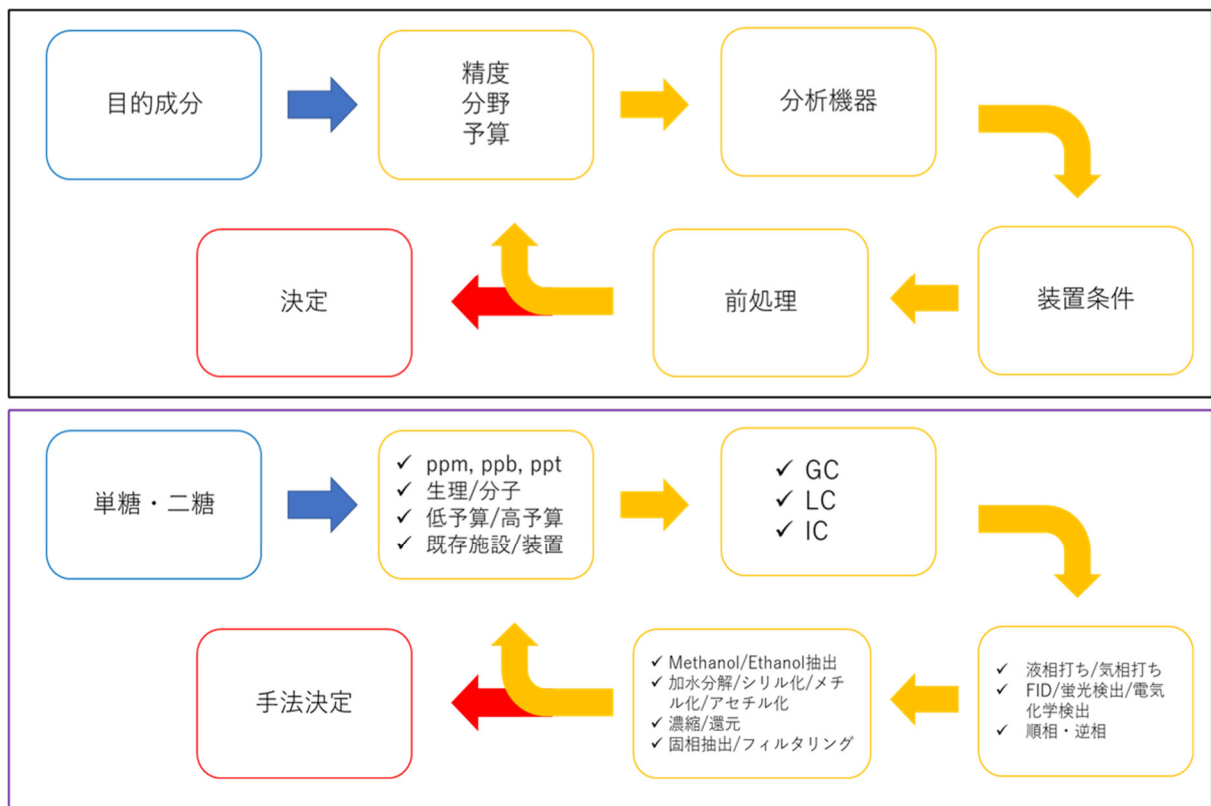


図1 分析手法決定までのプロセス

上段に概略を、下段に単糖・二糖定量の場合の例を示す。一般的に、実績のない分析の場合、手法の決定までに黄色のサイクルを複数回試行する。

表 1 目的成分ごとの前処理方法と使用機器

1) および 2) は参考文献を表す。*文献情報はまとめて報告末尾に記す

成分	前処理	測定機器
アミノ酸	MTBE+メタノール抽出 ¹⁾	LC-MS
脂肪酸	MTBE+メタノール抽出 ¹⁾ →メチルエステル誘導體化	GC-MS→LC-MS
サリチル酸	MTBE+メタノール抽出 ¹⁾	LC-MS
サポニン類	熱水抽出+加水分解 ²⁾	LC-MS

2. 背景

センターでは技術職員が分析装置の修理・メンテナンス、利用マニュアル作成、使用者講習などを行い、サンプルの前処理から機器の基本的な操作までを使用者が行っている。近年の分析技術の高度化にともない、試料の抽出や誘導體化などの前処理方法も多様化・複雑化しており、最適な前処理方法の選択自体が専門的で時間のかかる作業になった。また、機器使用者が不特定多数に及ぶことによると考えられるトラブルも多く、修理費用が高騰している昨今において機器の維持管理費を圧迫している。結果の質や再現性の点からも技術職員による依頼分析の需要は大きくなっており、技術職員の高度化といった視点からも議論が続けられてきたが、実施に至っていない。センター技術職員の業務は、分析装置の維持管理だけではなく、圃場・構内整備や発表会・報告会の会場設営・運営など多岐にわたり、依頼分析だけにまとまった時間を確保することが難しいことが要因の一つと思われる。この度、Kristina 特命教授から試験的にでも分析を依頼したい旨の相談があり、以降の制度整備のためのデータ採取のために受託した。

3. 分析手法の決定

分析手法の決定プロセスの概略を図 1 に示す。一般的に、分析手法の決定までには図 1 上段に示すような経路を試行しながら既存設備や精度などを考慮した最善解を探す。本報告では遊離アミノ酸とサリチル酸において、センターの LC-MS/MS での分析実績があり、これらの成分分析については前処理方法の簡素化を目的とした(表 1)。遊離脂肪酸分析では、国内文献と海外文献を参考に、キヌアサポニンの定量に関しては海外文献と依頼者の共同研究者の手法を参考に手法の開発を行った(表 1, 詳細は後述)。遊離脂肪酸分析は当初、機器分析分野の横野氏にご協力いただき、メチルエステル誘導體化を用いた GC-MS での定量を進めていたものの、分離条件探索と日程調整が難航したことから、センターの LC-MS/MS での分析に変更した(表 1)。

3.1. 分析実績がある成分

センター所属の研究者等によって装置条件が確立しており、参考文献も比較的豊富な遊離アミノ酸、サリチル酸については、サンプルの節約とコンタミネーションのリスクを低減するため、抽出-分画の工程を簡素化できる手法を探した。最近のプロテオミクス分野の発達に伴い、網羅的な定量を考慮した前処理方法の報告が多数確認されたため、前処理手法の決定までに要した時間は合計 9 時間で、比較的短時間であった(表 2)。分析実績がある成分においては、1)手法の絞り込みが容易であること、2)測定条件の検討過程が大幅に短縮可能であること、3)結果の解釈が容易であること、の 3 点が短時間で手法を決定できた要因と考えられる。1日 8 時間勤務として、技術職員 1 名の約 1.5 日の勤務で手法の

表 2 手法決定までに要した時間 (h)

文献調査や試験測定時の待機時間、見積もり依頼などの事務作業等に要した時間も含む。

	使用機器選定	装置条件検討	前処理方法選定	試験	合計
遊離アミノ酸、サリチル酸	0	0	9	0	9
遊離脂肪酸	40	88	9	88	225
サポニン	16	51	32	120	219

決定が可能なので、前処理にかかる時間（試料数～20 で約 10 時間）と分析に要する時間（試料数～20 で約 24 時間）、結果の整理にかかる時間（試料数～20 で約 1 時間）を考慮すると、本報告の例では最短 5 日程度で結果の受け渡しが可能と考えられる。

3.2. 分析実績がない成分

センターの LC-MS/MS での分析実績がない遊離脂肪酸分析は、参照可能な文献は豊富であったが、決定までに要した時間は合計で 225 時間と最も大きく、装置条件の検討と試験測定時間が多要素に比べて大きかった。これは、GC-MS での試験分析の条件検討、およびそのための前処理方法の調整などによるものと考えられる。GC-MS は湖山キャンパス内のベンチャービジネスラボラトリ棟（以下、VBL）内に設置されており、移動に時間がかかることや他業務との隙間時間での試験が難しかったことから、上述の時間以上に日数を必要とした。このような地理的要因と条件検討が難航したことから、センターの LC-MS/MS での分析に変更した。本報告では、上述の通り、遊離脂肪酸定量の手法決定に計 225 時間ほど要し、職員 1 人で行った場合、手法の決定だけで 28.1 日必要な計算となる。前処理にかかる時間（試料数～20 で約 10 時間）と分析に要する時間（試料数～20 で約 48 時間）、結果の整理にかかる時間（試料数～20 で約 1 時間）を考慮すると、結果の共有までに最短で 33 業務日数かかることになる。ただし、前述の通りセンターの技術職員が、31 日も一つの業務に専念することは現実的に難しく、実際には 5 か月～半年ほどかかった。

キヌアサポニンの定量に関しては、Kristina 特命教授から共有いただいた共同研究者が行っている定量方法と海外の文献を参考に手法を決定した。共同研究者提供の手法は、抽出・精製・濃縮などの工程で多くの試薬と器具、設備、技術が必要になり、センター内でそれらすべてをそろえることが難しかったため、参考文献も合わせて検討し、センター既存設備で実現可能な手法を検討した。キヌアサポニンの定量手法の決定までに要した時間は、遊離脂肪酸分析に次いで大きく、その約半分が試験測定だった。これは、サポニンをイオン化（LC-MS/MS での分析において必須）可能な状態にする前処理方法の検討に時間を要したことが一因と考えられる。サポニン定量手法の決定には計 219 時間かかっており、職員 1 人で行った場合、手法の決定だけで 23.4 日必要な計算となる。前処理にかかる時間（試料数～20 で約 24 時間）と分析に要する時間（試料数～20 で約 24 時間）、結果の整理にかかる時間（試料数～20 で約 1 時間）を考慮すると、結果の共有までに最短で 28 業務日必要である。遊離脂肪酸定量と同様、他業務と並行して進めると、実際には前処理から結果の共有までで 6～7 か月ほどかかった。また、本報告の所要時間には含まれていないが、サポニン分析用の標準試料がかなり希少で国内での取り扱い調査や納期にも時間がかかったため、合計で 10 か月ほど要したことになる。

3.3. 依頼分析実装を見据えた課題

分析実績がない成分の分析は、同じ分析装置を使用する場合でも、本報告の遊離脂肪酸定量とサポニン定量のように、参考文献の豊富さや実施環境によって手法の決定までの所

要時間が大きく異なることが具体的に示された。依頼分析制度を整備するうえで、分析実績のない成分分析の手法開発にかかる期間に関して具体的なデータが得られたとは、納期の決定や料金の決定において有益な情報となるだろう。また、分析実績のある成分については、結果の共有までの期間が現実的で、現状でもある程度依頼分析が可能と考えられる。一方で、実績のない成分分析にかかる納期と予算、技術職員のエフォート配分についての大きな課題も示され、依頼分析を実装するにあたってはこれらを考慮した制度整備が求められる。

4. 結果の共有

一般的には、得られた結果について、異常値・欠損などの確認後に生データをそのまま共有し、データの解釈にはその分野の専門知識が必要となることから、解析は基本的に研究者の領分とされている。本報告では前処理から分析までを技術職員で担当していることから、単位の変更などデータを加工したうえで生データとともに共有した。論文などを執筆する際は、実験方法などを細かく記述する必要もあり、今回の事例のように分析のほとんどを担う場合には、オーサiershipに関する取り決めや打ち合わせが必要である。昨今のオーサiership関連の問題や議論、技術職員の業績に関する議論を鑑みれば、現在のよ様な著者（研究者）任せではなく、規則化を検討することも依頼分析には求められる。

5. まとめ

本事例から、実績のある成分の依頼分析に限っては、現状でも他業務との調整ができれば実現可能であることが示された一方で、実績のない成分に関しては手法開発に長期間を必要とすることが示された。近年の分析技術の高度化とそれに伴う依頼分析への需要にこたえるためには、現在の業務負担の軽減と効率化など、分析業務以外についても検討する必要がある。

試料の前処理を依頼者に委ねることで依頼分析の回転が速くなるなど、本事例をとおして試料前処理から受託するメリットも得られたので、デメリットと併記して表3に示す。

特に有益と感じたのは試料前処理から受託することによる、1) 結果の再現性が向上すること、2) 障害発生時の対応が迅速になること、3) 試料の状態に由来する事故が減少すること、の3点だった。業務の断捨離も課題だが、試料前処理のように受託することで維持管理費の減少と故障期間の短縮などの利益を生む業務についても、今後具体的に検証していきたい。

表3 試料前処理受託のメリット・デメリット

メリット	デメリット
分析試料の状態把握	受託料の高額化
分析対象成分の増加	業務負担の増加
機器回転率向上	納品時期の長期化
信頼性・再現性向上	教育機会の減少
維持管理費の減額	
幅広い需要へ対応	

6. 謝辞

機器分析分野の横野氏に、成分分析に先立つ情報提供や GC-MS 使用方法の講習、メンテナンスに至るまでご協力いただきましたこと、この場を借りて感謝申し上げます。

- 1) Salem M., Bernach M., Bajdzienko K., Giavalisco P. A., 2017, Simple Fractionated Extraction Method for the Comprehensive Analysis of Metabolites, Lipids, and Proteins from a Single Sample., J. Vis. Exp., doi:10.3791/55802.
- 2) Gnoatto S. C. B., Schenkel E. P., Bassani, V. L., 2005, HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract., J. Brazil. Chem. Soc. 16, pp. 723–725.

* E-mail: okida@tottori-u.ac.jp