染織文化財に用いられた染料の微量分析手法の開発（1）

―ESIイオン化質量分析によるアントラキノン系赤色染料の同定―

佐々木　良子[1)]・佐々木　健[2)]

●キーワード：質量分析（mass spectrometry），染料分析（dye analysis），ESIイオン化（ESI ionization），アントラキノン系染料（anthraquinone dye），MS/MSスペクトル（MS/MS spectrometry）

1．はじめに

文化財染織品の繊維材質や染料に代表される有機遺物の材質や構造の解析手法の確立と，高精度化は重要な研究課題である。有機質文化財における分析の対象は，染料等の低分子化合物からタンパク質，セルロース等の高分子化合物，それらが特定構造を取り巨大な集合体を作った繊維・漆・紙などのマクロ構造体まで多岐にわたる。そのため，物質の同定には分析対象に応じた最適の手法を選択して用いる必要がある。著者らは「収蔵場所での非破壊非接触分析」から「微量破壊分析」にいたるすべての状況下において，有機物の分子レベルでの同定を目指した研究を行なってきた。特に，染料の分析において，要望の多い非破壊分析と極微量の試料採取による破壊分析の高度化の両面から詳細に検討してきた（佐々木・佐々木2005，佐々木，2008）。

非破壊分析では反射・蛍光スペクトル法と蛍光X線を用いた元素分析などの手法を複合的に用いる手法を開発し（佐々木・佐藤・肥塚・河合・前川・佐々木，2001），微分に代表される数学的なスペクトル解析手法を導入することで目視では決定が困難な変退色の激しい資料の染料成分の同定が可能であることを示してきた（佐々木・小池・矢野・佐々木，2007）。また，重ね染めにおける場合のような複数染料成分の同定に蛍光分光分析，とりわけ励起スペクトルが有効であることを報告してきた（佐々木・藤井・佐々木，2008）。さらに，これらの研究過程において単繊維で可能となる顕微反射分光分析システムを開発し，その有効性を報告してきた（佐々木・松原・岡田・土橋・佐々木，2007）。

破壊分析においては吸収スペクトル測定に加えて，HPLCを用いた分析，キャピラリー電気泳動法および質量分析法による微量サンプリング法を新たに導入し（佐々木1997，Sato・Sasaki，2001），下池山古墳出土繊維品（佐藤・佐々木・肥塚・今津1997）ならびに伝世染織品（Sasaki・Sato・Omura・Sasaki，2008）の分析を行ってきた。さらに，このような各種の破壊分析手法に技術史的な方法論や非破壊分析などの予備調査による対象の絞り込みとを併用することにより，極微量サンプリングでの分析が可能となり，重ね染めにおける構造類似の複数染料が高精度で同定できることを示してきた（佐々木・松原・岡田・土橋・佐々木，2007）。

有機化合物の質量分析では分子イオンから物質の分子量が，フラグメントイオンから分子の構造についての情報が得られるため，物質の同定においてきわめて有効である。質量分析におけるイオン化法は各種知られているが，分析の際には試料となる物質の構造，物理的性質に

[1)] 京都工芸繊維大学美術工芸資料館＆ベンチャー・ラボラトリー　〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町

[2)] 京都工芸繊維大学生体分子工学部門　〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町

より適切なイオン化法を選択する必要がある。一般にGC/MS等で用いられる電子衝撃法（EI）は試料の加熱，気化を要するため，インジゴ系化合物やアリザリンなどの比較的熱安定性の高い一部の物質の分析に限定される（Sasaki・Sato・Koezuka・Nakajima・Maekawa・Sasaki, 2002）。これに対してESIイオン化法は試料溶液を微液滴として噴霧することできわめて温和な条件でイオン化させることができ，一般にフラグメンテーションを伴わない分子イオンが親イオンとして得られる。そのため物質の構造を反映する分子量情報が直接得られることが特徴である。我々はEIイオン化法をインジゴ系染料分析へ応用し，貝紫の同定（Sato・Sasaki, 2003）ならびにアカネ系染料の分析（Sasaki・Sato・Omura・Sasaki, 2008）に有効であることを示してきた。ESIならびに類似イオン化法の文化財試料への適用事例としては，極初期に一部で用いられたTSP（Thermospray）イオン化（Shibayama・Sato・Yamaoka, 2006），各種染料へのACPIイオン化法の適用（Ferreira, *et al*, 2001, Hulmu, 2005, Zhang・Laursen, 2005）ならびにラック顔料成分の分析に応用した例（White・Kirby, 2001）が報告されている。いずれも高濃度での試料が必要とされ，とくにラック顔料の分析では有効な結果が得られていない。

天然の赤色染料としてアントラキノンを基本骨格に持つ一連の染料が知られている。我が国に固有の染料としては日本茜のみであるが，海外に目を転じると同じ基本骨格を有するものの周辺構造の異なる多様な成分を含む染料が存在し，いずれも赤色から黄橙色の染料として利用される。一部地域に使用が限定されものも含めると数十種類に達するが，古来より汎用されてきたものの数は限定される。Fig. 1に代表的なアントラキノン系の赤色染料とその構造を示した（Cardon, 2007）。Alizarin, Purprinは西洋アカネ（Madder, *Rubia tinctrium*）他のアカネ類，Kermesic acidはケルメス（Kermes, *Kermes vermilio*），Carminic acidはコチニール（Cochineal, *Coccus cacti* auct）に由来する主要染料成

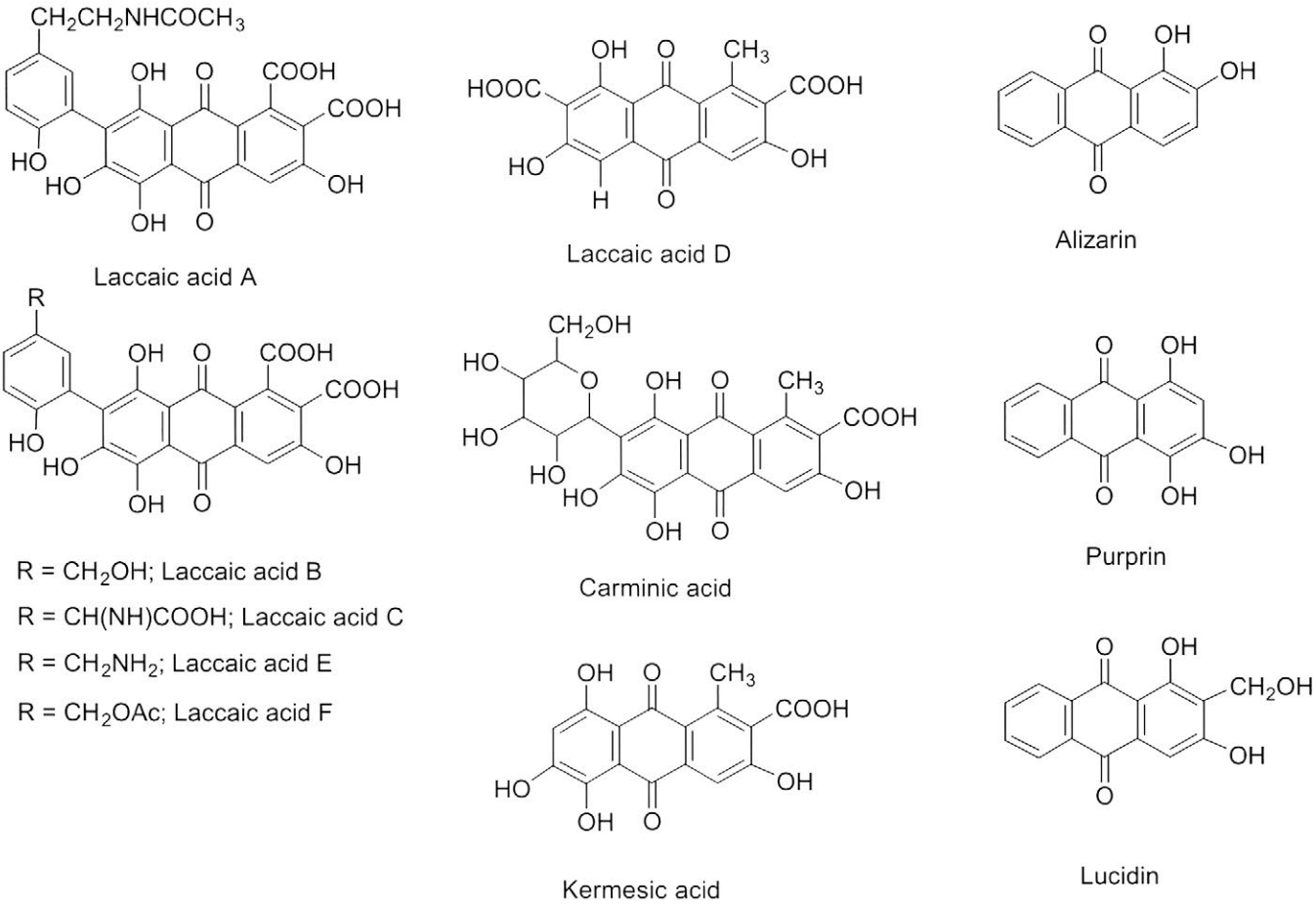

図1　アントラキノン骨格を有する代表的な赤色染料の構造
Fig. 1　Chemical structure of typical red dyes with anthraquinone backbone

分である。Laccaic acid 類はラック（Lac, *Laccifer lacca* kerr）に由来する複数の類似構造を有する化合物群であるが，主要な成分は Laccaic acid A である。これらの染料成分の可視吸収スペクトルは Alizarin を除いて 500nm 付近に極大吸収を示し，きわめて類似している。そのため単純なスペクトルの比較のみでは相互に区別するのが困難である。

本研究ではこれら一連の赤色染料の同定に対し，質量分析による染料成分の分子構造に基づく極微量分析を検討した。イオン化法として極性分子のイオン化に有効とされる ESI イオン化法を採用した。これとイオントラップ型（ESI-IT）質量分析計と組み合わせ，MS^n手法ならびに重水素交換法を併用することで染料分子の分子構造に基づく高精度・微量同定手法としての有効性とその限界について調査した。

2．試　料

今回の測定において用いた試料はラック，コチニール，ケルメスおよび西洋アカネで染色したウールで，染色方法はいずれも既報である（佐々木・松原・岡田・土橋・佐々木，2007）。

3．実　験

各種標準赤色染料抽出液：既報に従って染色ウール断片 1 mg から 5 %HCl-MeOH を用いて調製した（佐々木・松原・岡田・土橋・佐々木，2007））。

紫外・可視吸収分光分析：島津製作所 3101PC 型紫外・可視分光光度計を用いた。

質量分析：ESI イオン化による質量分析は Thermoelectron LCQ を用い，インフュージョン法により，メタノール溶媒で希釈した染料抽出溶液をイオン源内に直接導入することにより行った。

4．結果と考察

4.1. ESI イオン化によるアントラキノン系赤色染料抽出液の質量分析

今回の測定において用いた赤色染料中に含まれるものと想定される主要染料成分の質量数を Table 1 にまとめた。測定用試料は，染色標品 1 mg からメタノール－5 %塩酸水溶液（1：1）混合溶液 100 μl を用いて染料成分を抽出した。ESI イオン化による質量分析は，その染料試料抽出液をメタノールで 100 倍に希釈した溶液を用いて行った。希釈前の抽出液の吸収スペクトルは Fig. 2 に示したようにおおむね 0.5 前後の吸光度を示した。コチニール成分中の Carminic acid やラック中の Laccaic acid A の 500nm 付近の吸光係数（log ε）が 4 前後であることから評価して，これらの赤色成分は 10^{-4} mol/L 程度の濃度であると想定される。この質量分析には 100 倍希釈後の溶液をおよそ 10 μl 用いたため，測定に用いた染料成分の量は 0.01nmol 程度と見積もる

表 1　代表的なアントラキノン系赤色染料の分子組成と質量数
Table 1　Molecular Masses of Typical Anthraquinone Red Dyes

Dyes	Molecular formula	Molecular mass
Laccaic acid A	$C_{26}H_{19}NO_{12}$	537
Laccaic acid B	$C_{24}H_{16}O_{12}$	496
Laccaic acid C	$C_{25}H_{17}NO_{13}$	539
Laccaic acid D	$C_{16}H_{10}O_7$	314
Carminic acid	$C_{22}H_{20}O_{13}$	492
Kermesic acid	$C_{16}H_{10}O_8$	330
Alizarin	$C_{14}H_8O_4$	240
Purprin	$C_{14}H_8O_5$	256
Lucidine	$C_{15}H_{10}O_5$	270

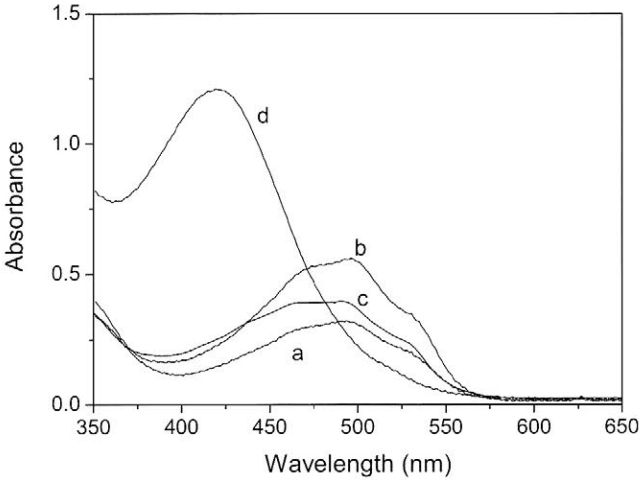

図 2　アントラキノン系赤色染料染色糸からの 5 %HCl/CH_3OH（1:1）溶液による抽出液の可視吸収スペクトル。
a：ラック，b：コチニール，c：ケルメス，d：西洋アカネ
Fig. 2　Visible absorption spectra of extracts from anthraquinoide red dyed wool threads with 5 %HClaq/CH_3OH,
a: Lac, b: Cochineal, c: Kermes, d: Madder.

ことができる。

ラック染色糸からの抽出液のESIイオン化によるマススペクトルはFig. 3に示したようにm/z 536と492にピークを与えた。ラック染料の成分は，構造が類似したLaccaic Acid A, B, C, Dと呼ばれる一連の化合物の混合物である。m/z 536のイオンはLaccaic acid類の中で主成分とされているLaccaic acid Aから水素が脱離した［M-H］に相当する。また，m/z 492のイオンはLaccaic acid Aから1個のCOOH基がHに置換した成分の質量に等しいが構造については不明である。本

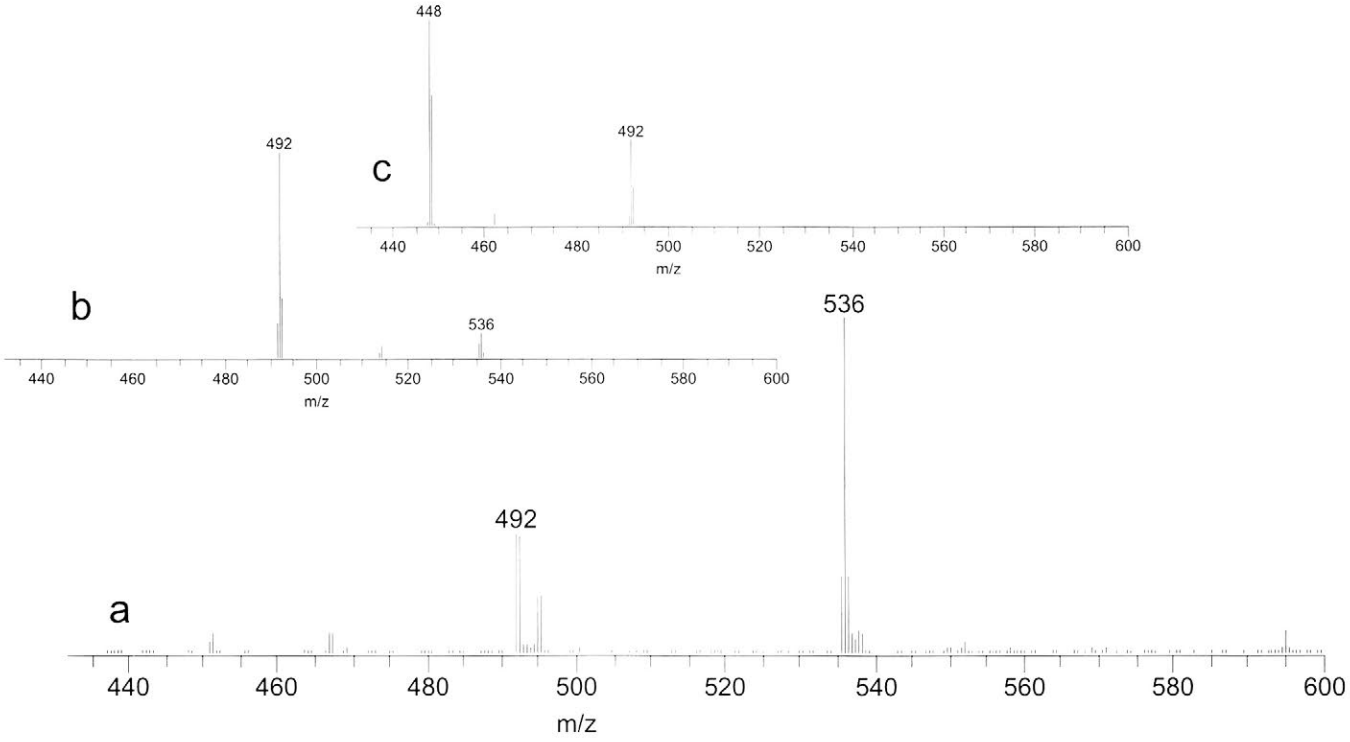

図3　ラック染色糸からの抽出液のESIマススペクトル，
a：MSスペクトル，b：MS^2スペクトル（ターゲットイオンm/z 536），c：MS^3スペクトル（ターゲットイオンm/z 536および492）
Fig. 3　ESI mass spectra of extract (1/100) from Lac dyed wool threads.
a: MS spectrum, b: MS^2 analysis targeted on m/e 536, c: MS^3 analysis targeted on m/z 536 and 492.

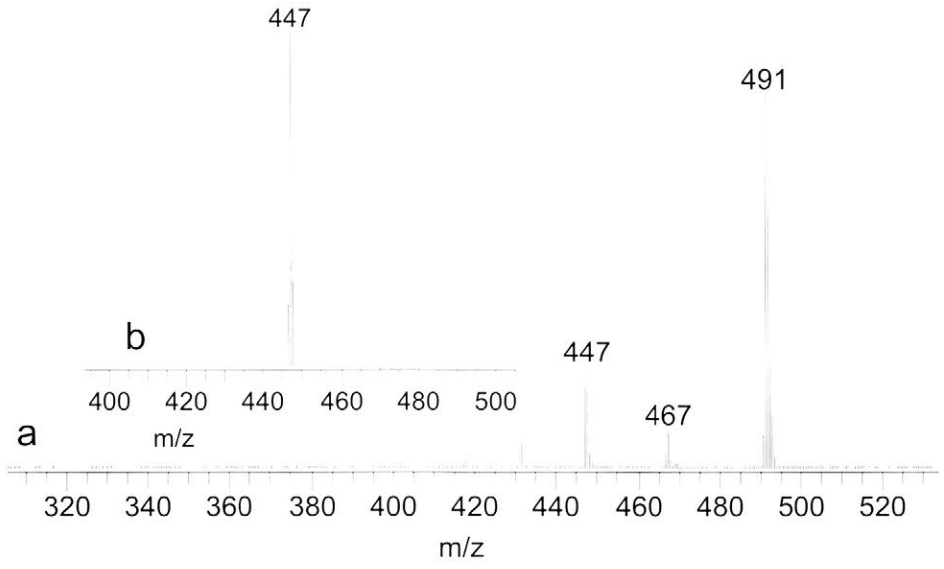

図4　コチニール染色糸からの抽出液のESIマススペクトル。
a：MSスペクトル，b：MS^2スペクトル（ターゲットイオンm/z 491）
Fig. 4　ESI mass spectra of extract (1/100) from Cochineal dyed wool threads.
a: MS spectrum, b: MS^2 analysis targeted on m/z 491.

分析条件下においてはLaccaic acid B, C, Dに相当する質量数のピークは認められなかった。コチニール染色糸からの抽出液においてもラックと同様に，主成分とされるCarminic acidの［M-H］のイオンに相当するm/z 491にピークが認められた（Fig. 4)。ケルメスではラック，コチニールと異なり，［M-H］$^-$に相当するm/z 329のイオンは非常に弱く，主に構造未知の物質によるピークが検出された（Fig. 5)。10倍高濃度ではm/z 329のイオンが検出可能であるが，希釈によって未知物質による妨害が顕著となり，ノイズとの区別が困難となる。西洋アカネ染色糸から同様の条件で抽出，100倍希釈して質量分析を行った場合も，同様に有意のスペクトルが認められなかった。10倍希釈試料の分析ではFig. 6に示したように主成分とされるアリザリンおよびプルプリンの［M-H］$^-$に相当するm/z 239および255のイオンが検出された。m/z 269のイオンは西洋アカネ根茎中でPrimeverose配糖体として存在するLucidineの［M-H］$^-$に一致する。このようにEIイオン化が適用できないラックならびにコチニール分析に対して本イオン化法が有効であった。また，同じアントラキノン骨格を有する分子であるにもかかわらず，ケルメスおよび西洋アカネ成分ではその分子イオンに対する感度が低く，分子イオンの検出には比較的高い濃度が必要であった。このように染料成分の構造と含まれる未知物質によりイオ

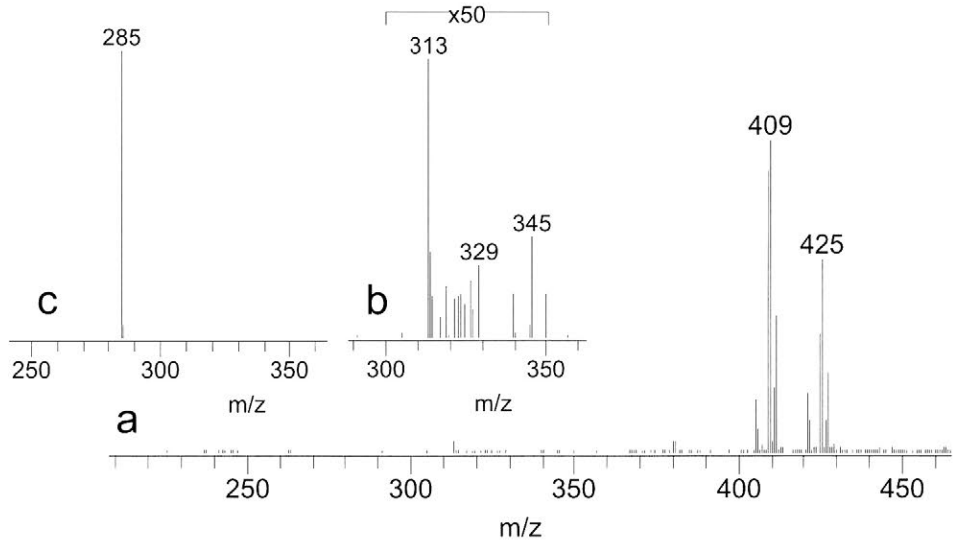

図5　ケルメス染色糸からの抽出液のESIマススペクトル。
a：MSスペクトル，b：MS^2スペクトル（ターゲットイオンm/z 329）

Fig. 5　ESI mass spectra of extract (1/100) from Kermes dyed wool threads.
a: MS spectrum, b: expanded spectrum (x 50) from m/z 290 to 360, c: MS^2 analysis targeted on m/z 329.

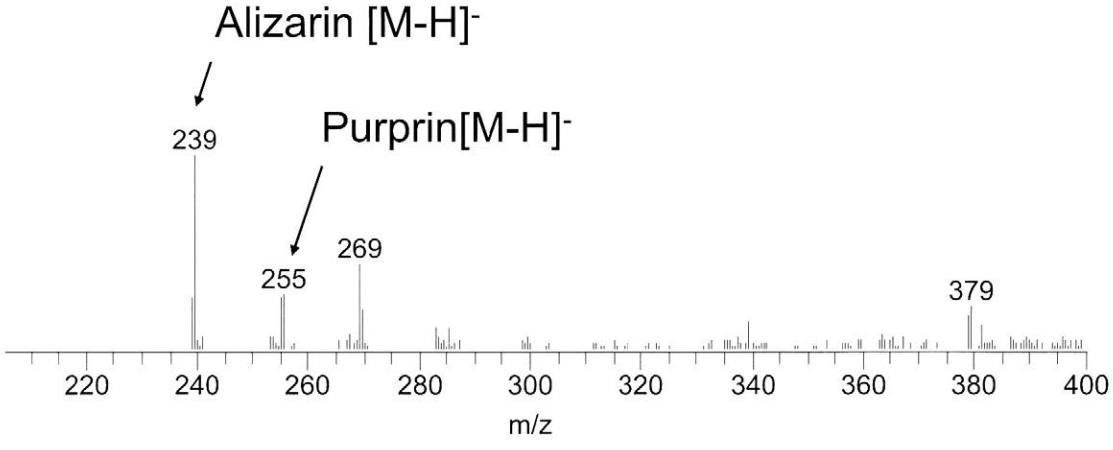

図6　西洋アカネ染色糸からの抽出液のESIマススペクトル。
Fig. 6　ESI mass spectrum of Madder extract (1/10).

ン化に対する有効性が大きく異なることが分かった。

4.2. MS/MS 分析

ESI イオン化法ではフラグメンテーションを伴わないため，容易に分子量情報が取得できるが，フラグメントイオンによる部分構造情報を得ることができない。しかしながら，MS/MS（MS^2）法を用いると生成するプロダクトイオンから分子の部分構造についての情報が得られる（Gross, 2004）。MS^2 分析では試料分子の一度目の MS 分析で生成した特定の質量数のプレカーサーイオンをターゲットとし，そのイオンを選択的に分解（CID, Collusion Induced Dissociation）させることにより，中性物質が脱離（Neutral loss）してプロダクトイオンが得られる。このプロダクトイオンはターゲットとしたイオンを与える分子から特定の官能基あるいは部分構造が脱離したものであり，このプロダクトイオンの質量数とプレカーサーイオンの質量数との差から分子の構造に関する情報が得られる。また，この方法は，偶然に同質量数を与える物質による誤認を排するとともに，多量の妨害イオン中に存在する極微量の目的成分の検出にも利用することができる。今回の分析に用いたイオントラップ型質量分析計では解析対象となる特定のイオンを選択的に捕捉することができるため，複数回の CID による分解操作，すなわち MS^n が可能である。

ラック，コチニールおよびケルメス染色糸抽出液 100 倍希釈溶液に対し，$[M-H]^-$ イオンをターゲットとする CID による MS/MS（MS^2）および MS/MS/MS（MS^3）分析を行い，特定の中性分子の脱離により，分子構造を反映する固有の質量数のプロダクトイオンを得た。結果は Fig. 3 から Fig. 5 に挿図として併記した。Laccaic acid A の［M-H］イオンに相当する m/z 536 でのラック染糸抽出液の $(MS)^2$ では m/z 492［M-45］にピークが認められた。CID により 44Da に相当する中性分子が脱離したことを示す。さらに，二つのイオン m/z 536［M-H］および 492［M-45］$^-$ を選択して MS/MS/MS（MS^3）スペクトルを測定した結果，プロダクトイオンとして m/z 448［M-89］のみが検出された。この結果は m/z 536 のイオンを与える物質は二つの質量数 44 のフラグメントが脱離可能な構造であることを示し，Fig. 7 に示したように Laccaic acid A 分子中に存在する二つのカルボキシル基が連続的に脱炭酸（質量数 44Da の中性ロス）することにより二つのプロダクトイオンに相当する質量数のイオンを与えるものと考えられる。すなわち，m/z 536 のイオンを与える物質は二つの COOH 基を有する質量数 536 の組成を持つ構造であることを示し，このイオンが Laccaic acid A に由来することを明確に裏付けるものである。

コチニール染色糸からの抽出液を用いて Carminic acid の［M-H］イオンに相当する m/z 491 をターゲットとして MS^2 分析を行うと，質量数 44 の中性分子の脱離による m/z 447 のプロダクトイオンが得られた。このイオンは Fig. 8 に示したように Carminic acid 中の COOH 基の脱離（CO_2 の中性ロス）によって生成するものである。MS^3 分析では特徴的なピークは認められず，Carminic acid 中には一つの COOH 基のみが存在することを反映している。

ケルメス抽出液の分析では前述のように Kermesic acid の［M-H］に相当する m/z 329 のイオンが弱く，ノイズとの区別が困難である。しかしながら，m/z 329 を選択して MS^2 分析を行うと m/z 285［M-45］のイオンのみが検出された。このイオンは Kermesic acid から CO_2 の中性ロスによって生成するイオンであり，一つの COOH 基を有する構造を支持するものである。このように通常の質量分析では有効なピークが得られない

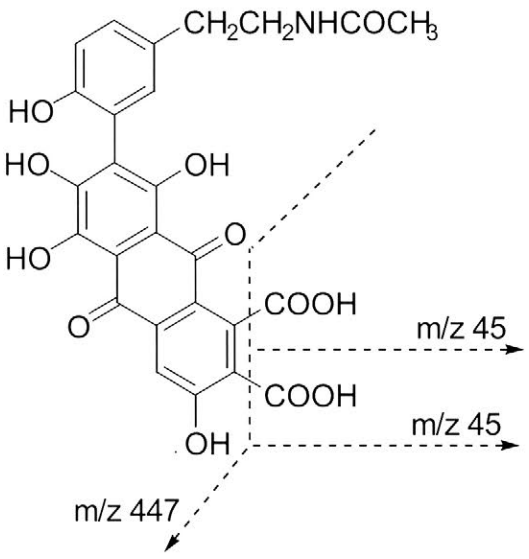

図 7　Laccaic acid A のフラグメントパターン
Fig. 7　Fragmentation pattern of Laccaic acid A

ような場合であってもMS²と組み合わせることにより同定が可能となる。

西洋アカネ成分のAlizarinあるいはPurprinではMS²分析には大きなCIDのエネルギーを要し，また，有意のプロダクトイオンが得られないため，本手法は有効ではない。このようにMS²解析では比較的脱離しやすいCOOH基のような官能基が存在する場合に，その特定に特に有効である。MS²分析では分子構造に応じた特定のプレカーサーイオンの質量数に応じた特定のプロダクトイオンが得られ，両者の相互関係を考慮することにより，分子構造に基づく，偶然性を排した微量成分の同定が可能である。

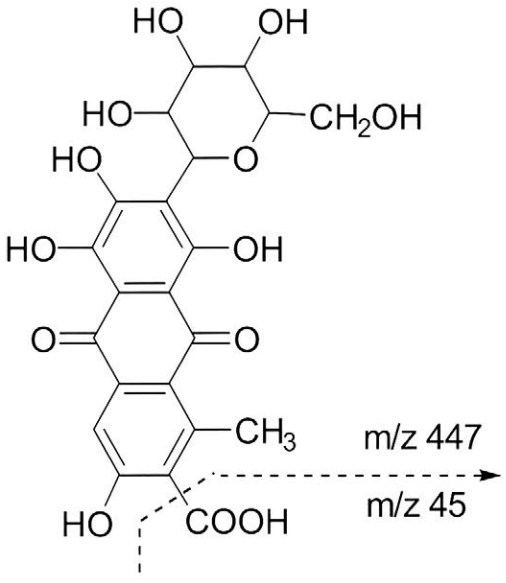

図8　Carminic acidのフラグメントパターン
Fig. 8　Fragmentation pattern of Carminic acid

4.3.　重水素化溶媒中での質量分析

水酸基（－OH），カルボキシル基（－COOH）のように陰性のヘテロ原子に結合した水素原子は水やアルコール中の－OH基の水素原子と容易に交換する。試料の溶媒として重水（D_2O）や重メタノール（CH_3OD）の様な重水素化溶媒を用いると，重水素交換が起こり試料分子中のOH基やCOOH基がODならびにCOODへ変化する。そのため重水素交換を伴う条件下で質量分析を行うとHとD交換一箇所につき質量数が1 Da増加する。COOH基やOH基の数に応じて質量数が増加することから，この現象を利用すると分子内に存在する交換性官能基の数を特定することができる。Laccaic acid類，Carminic acidにはFig. 9に示したように多数の水酸基，カルボキシル基ならびにアミド基を有するため，CH_3OD溶媒を用いると，これらの官能基の数に応じて質量数が異なるスペクトルが得られる。従って，質量分析における$[M\text{-}H]^-$イオンによる分子量情報，MS^n解析による部分構造情報に加えて，この重水素交換法をと併用することにより，交換性官能基数についての情報が得られる。

ラック染色糸およびコチニール染色糸からの抽出液を

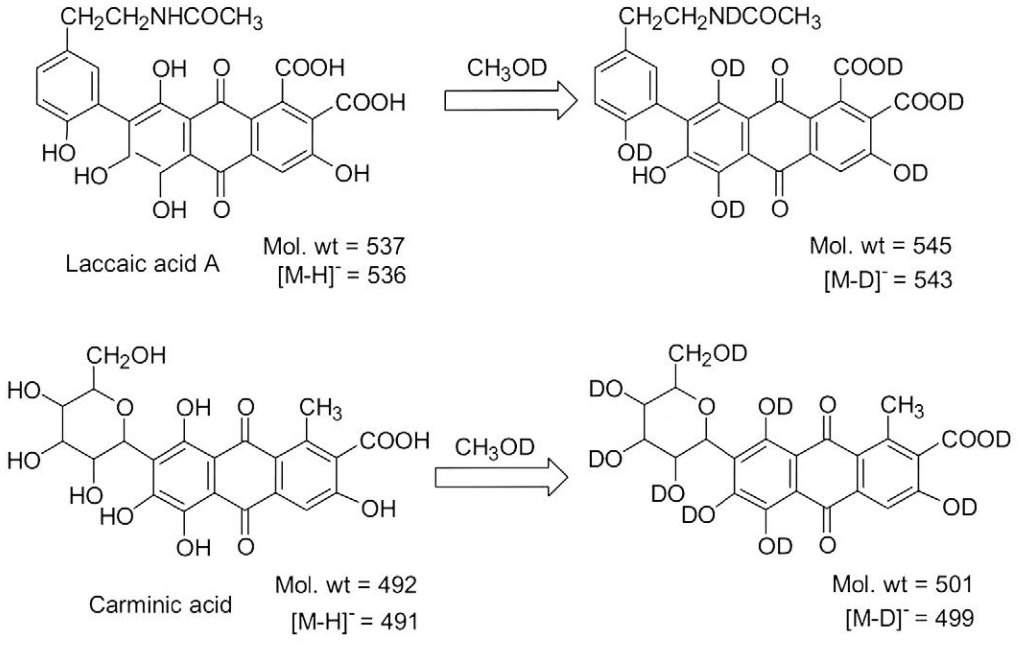

図9　Laccaic acid Aおよび Carminic acidの重水素交換生成物の構造
Fig. 9　Structure of deuterium exchange products of Laccaic acid A and Carminic acid

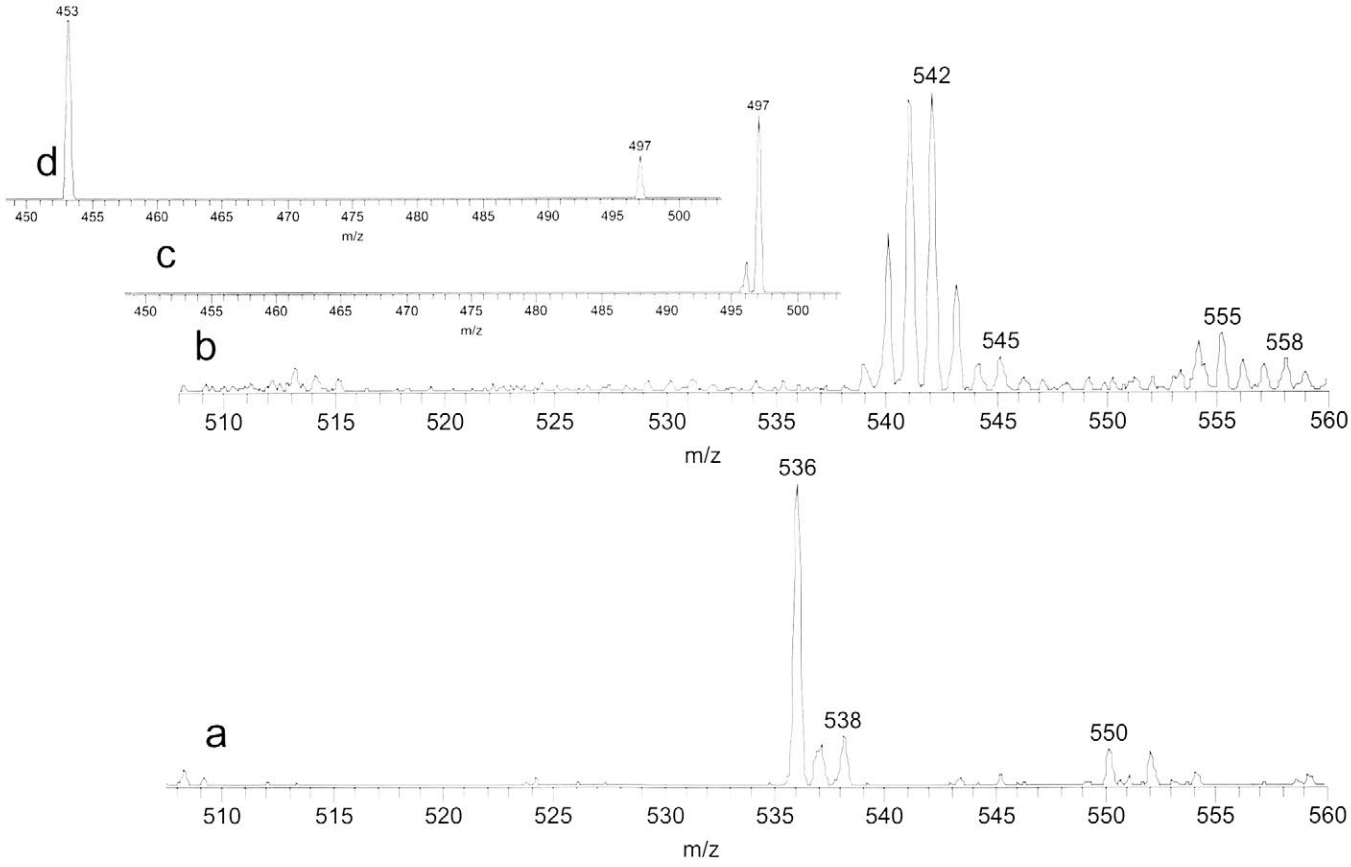

図 10　CH_3OD 中におけるラック染色糸からの抽出液の ESI マススペクトル。
a：CH_3OH 中，b：CH_3OD 中，c：CH_3OD 中における MS^2 スペクトル（ターゲットイオン m/z 541），
d：CH_3OD 中における MS^3 スペクトル（ターゲットイオン m/z 541 および 497）

Fig. 10　ESI mass spectra of lac dyed wool extract (1/1000) in CH_3OD,
a: in CH_3OH, b: in CH_3OD, c: MS^2 analysis targeted on 541 in CH_3OD,
d: MS^3 analysis targeted on 541Da and 497 in CH_3OD

CH_3OD で 1 /100 に希釈した溶液の ESI イオン化質量分析の結果をそれぞれ Fig. 10 および Fig. 11 に示した。測定の条件は希釈に用いた溶媒を除いて前述と同じである。ラック抽出液の分析では Fig. 10a に部分拡大図を示したように CH_3OH 中では m/z 536 に Laccaic acid A の［M-H］$^-$ に相当するイオンが認められるが，この同じ試料を CH_3OD で希釈して測定したところ，Fig. 10b に示したように m/z 536 のピークは消失し，新たに m/z 539 から 543 にかけて 5 本のピークが認められた。この結果は m/z 536 の質量を与える分子には少なくとも 7 個の交換性水素が存在することを示すものである。イオン化において［M-H］$^-$ あるいは［M-D］$^-$ を与えるために，一つの水素あるいは重水素が失われることを考慮すると 8 個の交換性水素が存在するものと考えられる。Laccaic acid A の構造には，Fig. 9 に示したように 2 つの COOH 基，5 個の OH 基および 1 つの NH 基が存在する。CH_3OD で希釈することで生じた m/z 539 から 543 のイオンは，全て同じ分子骨格を有するが，重水素に置き換わった水素の数の異なる Laccaic acid A が平衡混合物として存在する結果生じたものである。この中で例えば 5 個の H が D に置き換わったと想定される m/z 541 のイオンをターゲットとして選択的に MS/MS 解析を行うと，質量数 44 の CO_2 が脱離し，CH_3OH 中と比べて質量数が 5 Da 大きい m/z 497 にプロダクトイオンが検出された（Fig. 10c）。この結果は CID による分解を経ても 5 個の水素が D に交換した状態にあることを示し，重水素化溶媒を用いることで新に現れたピークがいずれも重水素交換で生じたものであることが分かる。

Fig. 11a にコチニール染色糸抽出液の CH_3OH 中と CH_3OD 中の測定結果を示した。ラックの場合と同様に CH_3OH 中では m/z 491 に現れる［M-H］$^-$ のイオンが

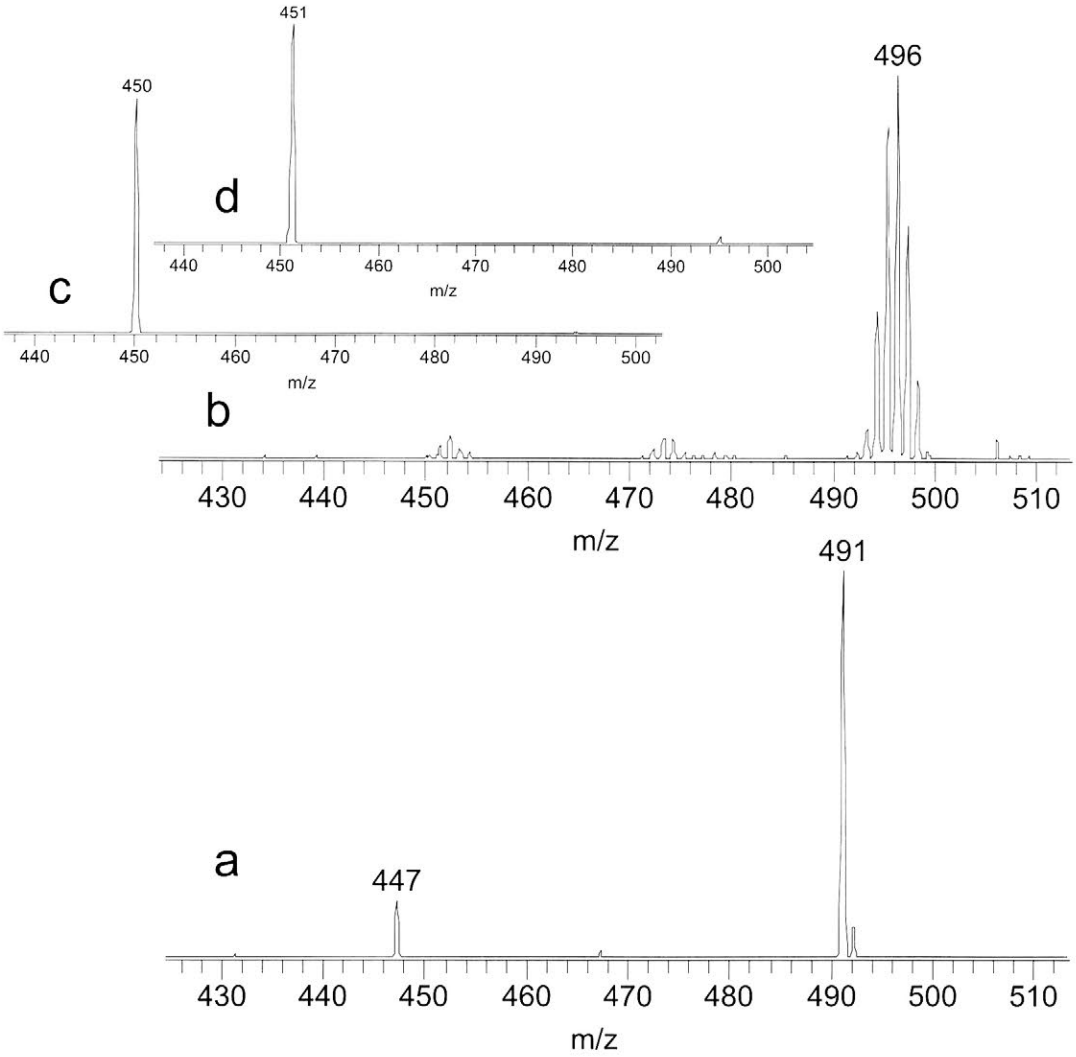

図 11　CH_3OD 中におけるコチニール染色糸からの抽出液の ESI マススペクトル。
a: CH_3OH 中，b: CH_3OD 中，c: CH_3OD 中における MS^2 スペクトル（ターゲットイオン m/z 494），
d: CH_3OD 中における MS^2 スペクトル（ターゲットイオン m/z 495）.

Fig. 11　ESI mass spectra of Cochineal dyed wool extract (1/1000) in CH_3OD,
a: in CH_3OH, b: in CH_3OD, c: MS^2 analysis targeted on m/z 494 in CH_3OD,
d: MS^2 analysis targeted on m/z 495.

CH_3OD 中では m/z 493 から 499 の 7 つのピークに分裂し，一部の水素が重水素と交換していることを示している。Carminic acid には Fig. 9 に示したように 1 つの COOH 基，4 個のフェノール性 OH 基，4 種のアルコール性 OH 基が存在する。これら全ての交換性水素が重水素に置き換わると質量数は 9 Da 増加して 501 となるが，実際の測定では［M-D］$^-$ に相当する m/z 499 のイオンが全ての交換性水素が重水素に交換した場合に得られる質量数である。また，3 個の交換が起こったと想定される 3 Da 大きな質量数である m/z 494 をターゲットとする MS/MS 測定では，CO_2 の脱離による 44Da 減少した m/z 450 にプロダクトイオンが検出された。この CO_2 の中性ロスは CH_3OH 中での MS/MS と同様の結果である。この重水素交換によって新たに生じた複数のピーク群はいずれもコチニール中の Carminic acid 部分的重水素交換体が平衡的に存在する結果である。

このように ESI イオン化に MS，MS/MS に加えて重水素交換法を併用することで染料分子の分子構造に基づく確定的な同定が可能である。

4. 4.　高感度分析への応用

ESI イオン化法による質量分析は標的とする物質の構造ならびに夾雑物の存在により分子イオンに対する測定感度が大きく異なる。一般に良好なイオン化が起こる場合には pmol（10^{-12}mol）レベルでの超微量分析が可能であるとされている。そこで本分析手法での超微量分析

手法への応用を検討した。

Fig. 12 にラック染色糸抽出液を CH_3OH で 1/10000 に希釈した溶液の ESI イオン化によるマススペクトルを示した。この濃度では吸収スペクトルの測定ならびに可視吸収をモニターする HPLC での測定は不可能である。1/1000 希釈までは前述と同様に Laccaic acid A

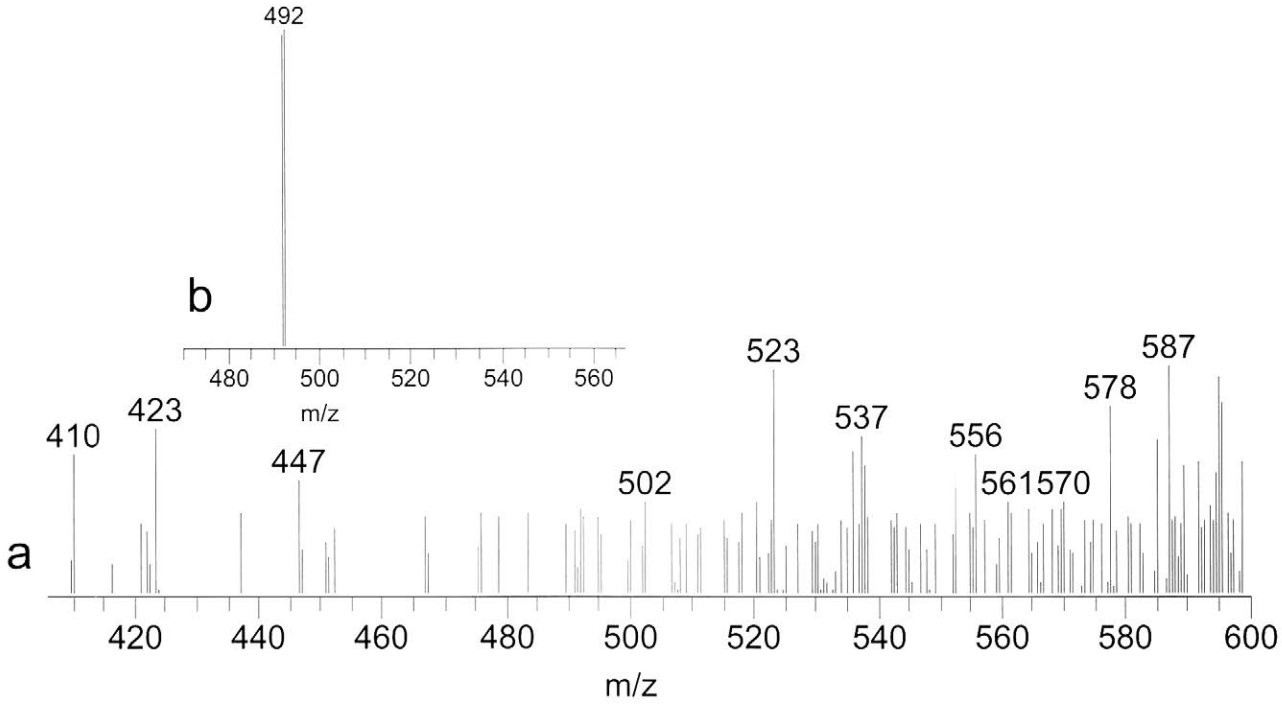

図 12　ラック染色糸抽出液希薄溶液（1/10000）の ESI マススペクトル。
a：MS スペクトル，b：MS^2 スペクトル（ターゲットイオン m/z 536）

Fig. 12　ESI mass spectra of diluted Lac dyed wool extract (1/10000),
a: MS spectrum, b: MS^2 analysis targeted on m/z 536.

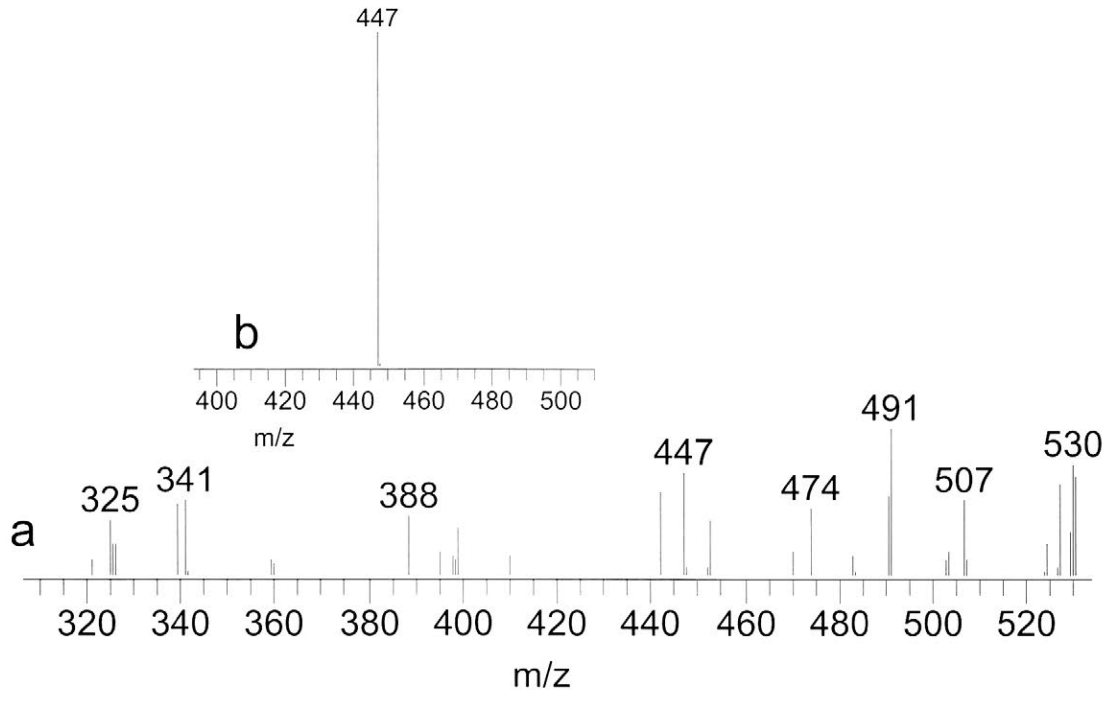

図 13　コチニール染色糸抽出液希薄溶液（1/1000000）の ESI マススペクトル。
a：MS スペクトル，b: MS^2 スペクトル（ターゲットイオン m/z 491）

Fig. 13　ESI mass spectra of diluted Cochineal dyed wool extract (1/1000000),
a: MS spectrum, b: MS^2 analysis targeted on m/z 491.

の［M-H］⁻に相当するm/z 536イオンが観測されるが，1/10000にまで希釈すると，相当するイオンはノイズとの区別が困難となる。しかしながら，m/z 536をターゲットとするMS²解析を行うと，高濃度での測定と同様に脱炭酸による［M-45］⁻に相当するm/z 492にプロダクトイオンが認められた。この結果は，吸収スペクトルなどの従来法が適用困難な極微量においてもESIイオン化による質量分析が可能であり，ターゲットイオンとプロダクトイオンの組み合わせから染料成分の同定が可能であることを示すものである。

コチニール成分のCarminic acidではさらに低い濃度での測定を行うことができた。コチニール染色糸抽出液を1/1000000の濃度まで希釈してESIイオン化による分析を行うとFig. 13に示したように［M-H］⁻に相当するm/z491ピークはノイズと同レベルとなり，通常のMSでの同定は不可能であった。しかしながら，m/z 491のイオンをターゲットとするMS²分析を行うと脱炭酸に由来する［M-45］⁻に相当するm/z 448にピークが認められ，ターゲットイオンとプロダクトイオンの組み合わせから，コチニールの染料成分であるCarminic acidが存在していることが分かった。このようにコチニールならびにラックではきわめて高感度分析が可能であった。また，ラックと比べるとコチニールは100倍の高感度を示し，pmolレベル以下での分析が達成された。このような高度希釈条件下での染料濃度は繊維断片10ng/mlからの抽出液に相当し，この繊維断片の量はおよそ数mmの絹糸一本の単繊維に相当する。このようにESIイオン化質量分析を用いると極微量の繊維断片で染料成分の同定が可能であることを示し，吸収スペクトル，HPLCの測定における濃度に比べてきわめて微量のサンプリングで構造情報に基づく精度の高い分析が可能となった。本ESIイオン化質量分析法を同様に高感度分析が可能であるものの対象が限られるEIイオン化法と適切に組み合わせることにより，アントラキノン系赤色染料の極微量で高精度同定法として利用できることを示した。

謝　辞

本研究の一部は佐々木良子に対する文部科学省科学研究費補助金特定領域研究（課題番号20032010）により行った。

引用文献

佐々木良子 1998「キャピラリー電気泳動の考古学への応用」『*CE* アドバンス』2 pp.20-24

佐々木良子・佐藤昌憲・肥塚隆保・河合貴之・前川善一郎・佐々木健 2001「反射分光分析による文化財染織品に用いられた天然染料の分析」『考古学と自然科学』40/41 pp.1-15

佐々木良子・佐々木健 2005「スペクトロスコピーによる天然染料の分析」『絹文化財の世界』pp.156-168 角川書店

佐々木良子・小池富雄・矢野俊昭・佐々木健 2007「徳川美術館蔵『兎に立波文』羽織断片の化学分析と復元」『文化財保存修復学会誌』52 pp.22-36

佐々木良子・松原淳子・岡田文男・土橋理子・佐々木健 2007「紫円文コプト織り（奈良公園シルクロード交流館蔵）の材質分析—微量分析手法への顕微反射スペクトルと質量分析の適用—」『考古学と自然科学』56 pp.27-39

佐々木良子 2008「文化財染織品を科学の眼で見てみると・・・」『繊維学会誌』64 pp.36-44

佐々木良子・藤井健三・佐々木健 2008「「白絖地雪輪波頭に菊文様小袖裂」の非破壊分析」『文化財保存修復学会誌』53 pp.35-53

佐藤昌憲・佐々木良子・肥塚隆保・今津節生 1997「天理市下池山古墳出土の繊維品に用いられた天然染料の同定」『日本文化財科学会第14回大会（天理）研究発表要旨集』p.44

Cardon, D. 2007 *Natural Dyes*, pp.107-166, Archetype, London

Ferreira, E. S. B., Quye, A., McNab, H., Hulm, A. N., Wouters, J., Boon, J. J. 2001 Development of Analytical Techniques for the Study of Natural Yellow Dyes in Histric Textiles. *Dyes in History and Archaeology*, 17, pp.179-186

Gross, J. H. 2004 *Mass Spectrometry*, pp. 441-474, Springer, New York

Hulmu, A. N. *et. al*, 2005, *Scientific Analysis of Ancient and Historic Textiles* 1, pp. 208-213

Sasaki, Y., Sato, M., Koezuka, T., Nakajima, T., Maekawa, Z., Sasaki, K. 2002 Mass Spectroscopic Identification of Natural Dyestuffs for Ancient Textiles. *International Congress of the Conservation and Restoration for Archeological Object*, pp.109-112, Nara National Institute of Cultural Properties

Sasaki, Y., Sato, M., Omura, M, Sasaki, K. 2008 Dye Analysis of Braids Used for Japanese Armor Dating from the 14th to 16th Centuries, *Dyes in History and Archaeology*, 21, pp.119-126

Sato, M., Sasaki, Y. 2003 Blue and Purple Dyestuffs Used for Ancient Textiles, *Dyes in History and Archaeology*, 19, pp.100-105

Shibayama, N., Sato., M, Yamaoka, R. 2003 Analysis of Colored Compounds found in Natural Dyes by Thermospray Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (TSP-LC-MS) and a Preliminary Study of the Application to Analysis of Natural Dyes Used on Historic Textiles, *Dyes in History and Archaeology*, 20, pp.51-69

White, R., Kirby, J. 2001 Preliminary Research into Lac Lake Pigments using HPLC/Electrospray Mass Spectrometry, *Dyes in History and Archaeology*, 17, pp.167-178

Zhang, X., Laursen, R. A. 2005 Development of Mild Extraction Methods for the Analysis of Natural Dyes in Textiles of Historical Interest Using LC Diode Array Detector-MS, *Analytical Chemistry*, 77, pp.2022-2025.

(2008年11月3日受付, 2009年3月1日受理)

Development of Micro-analytical Techniques for Dyes in Historic Textiles (1) : ESI Mass Spectrometric Analysis of Anthraquinone Red Dyes

Yoshiko SASAKI[1], **and Ken SASAKI**[2]

[1] The Museum and Archives, Kyoto Institute of Technology, Kyoto, Matsugasaki, Sakyo-ku, Kyoto 606-8585, JAPAN

[2] Department of Biomolecular Engineering, Kyoto Institute of Technology, Matsugasaki , Sakyo-ku , Kyoto, 606-8585, JAPAN

Red dyes such as madder, kermes, cochineal and lac are frequently used in historical textiles. The coloring principles in these dyes have a common anthraquinone structure and therefore exhibit similar chemical and physical properties. For this reason, discrimination and/or identification by usual spectroscopy techniques can be difficult. The authors have developed an analytical protocol for accurate identification of dyestuffs in micro-sampling, by combining two or more instrumental techniques, and have shown the effectiveness of Electrospray Ionization - Ion Trap (ESI-IT) mass spectrometry for identification of the extracted red dyestuffs. One of the important features of the ion trap analyzer is the MS^n capability. The MS^n spectra can provide structural information on the dye molecules, and can also be used for molecular identification by comparison with MS^n spectra of reference compounds, even in the presence of significant levels of impurities. The MS^n analysis is also highly sensitive: by the application of this methodology, sampling amount could be decreased by a factor of 10,000 for lac and 1,000,000 for Cochineal compared to typical HPLC and spectroscopic conditions. We also indicated utilities of deuterium exchange techniques for identification of the polyhydroxyated compounds such as lac and cochineal.