



Agilent 6460 による下痢性貝毒の分析



<要旨>

下痢性貝毒の LC-MSMS による高感度分析法を開発しました。この分析法の定量限界はオカダ酸(OA):0.093ng/mL、ジノフィシストキシン-2(DTX-2):0.083ng/mL 及びジノフィシクトキシン-1(DTX-1):0.062ng/mL でした。また、検量線の決定係数(r^2)は全て 0.999 以上でした。再現性は全ての下痢性貝毒で RSD<5% でした。

Key Words: DMRM、下痢性貝毒、オカダ酸、ジノフィシストキシン-1、ジノフィシストキシン-2、LC-MSMS

1. はじめに

我が国においてもホタテガイやムラサキイガイなどで下痢性貝毒の発生が報告されており、麻痺性貝毒及び下痢性貝毒を含む貝類の取扱いについては、「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて」(昭和 55 年 7 月 1 日環乳第 29 号)に基づき取り扱われていました。しかし、下痢性貝毒を含む貝類については国際的に機器分析法の導入が進められていることから、我が国においても機器分析法が導入されることとなり、平成 27 年 3 月 6 日に厚生労働省より「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて (平成 27 年 3 月 6 日食安発 0306 第 1 号)」が通知されました。その結果、下痢性貝毒の規制値が、可食部 1kg 当たりの毒量 0.16mgOA (オカダ酸) 当量に変更されました。これら下痢性貝毒の検査についても同日、「下痢性貝毒の検査について (平成 27 年 3 月 6 日食安基発 0306 第 3 号・食安監発 0306 第 1 号)」が出され、定量限界値が 0.01mg/kg 以下と定められました。また、ホタテガイで妥当性が確認された試験方法として LC-MSMS 法が記載されています。そこで、弊社 LC-MSMS を用いて、検討を行いました。

2. 装置及び測定条件

分析条件は表.1 に示した通りです。装置は Agilent6460 Triple Quadrupole LC/MS を使用しました。分析用カラムは逆相系の Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHT (50mm,2.1mm,1.8um)、移動相にはアセトニトリル及び 0.1% ぎ酸+10mM ぎ酸アンモニウム混合水溶液を使用しました。各下痢性貝毒の SRM 条件はプロトン化分子をプリカーサーイオンとしたプロダクトイオンスペクトルから定量用及び確認イオンを選択し、最適条件は表 2 に示した通りです。

表.1 下痢性貝毒類の LC-MSMS による分析条件

LC	: 1290 Infinity
Column	: ZORBAX Eclipse Plus C18(50mm,2.1mm, 2.0um)
Mobile phase	: A:0.1%ぎ酸+10mMぎ酸アンモニウム B:アセトニトリル 30%B---(5min)---100%B
Column temp	: 40°C
Sample volume	: 5 uL
Flow rate	: 0.2mL/min
MS	: Agilent6460 Triple Quadrupole LC/MS
Ionization	: AJS(Negative)
SRM ion	: Table 2
Drying gas	: 10L/min at 350°C
Nebulizer gas	: 345kPa
Sheath gas	: 12L/min at 300°C
Fragmentor	: 180V
Nozzle Voltage	: 1500V

表 2 下痢性貝毒類の SRM 条件

No	Mycotoxins	Precursor	Product		CE(eV)		TS
			定量イオン	確認イオン	定量イオン	確認イオン	
1	OA+DTX2	803.5	255	113	55	65	1
2	DTX1	807.5	255	113	55	65	2

3. 結果及び考察

最適分析条件で下痢性貝毒標準液を測定した結果の SRM クロマトグラムは図 1~3 に示しました。各下痢性貝毒の定量限界 (S/N=10) は ODA:0.093ng/mL、DTX-2:0.083ng/mL 及び DTX-1:0.062ng/mL でした。

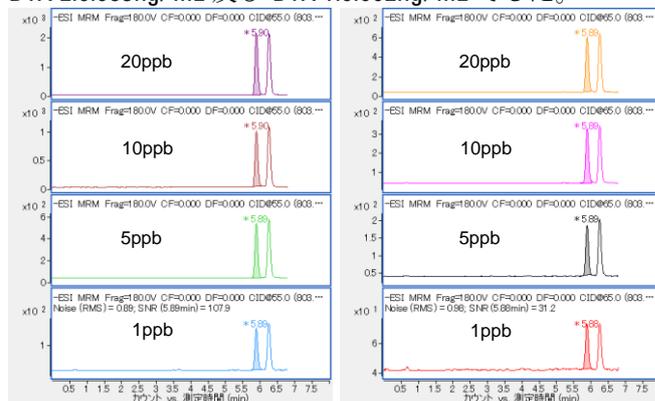


図 1 OA の SRM クロマトグラム

左:定量イオン、右:確認イオン



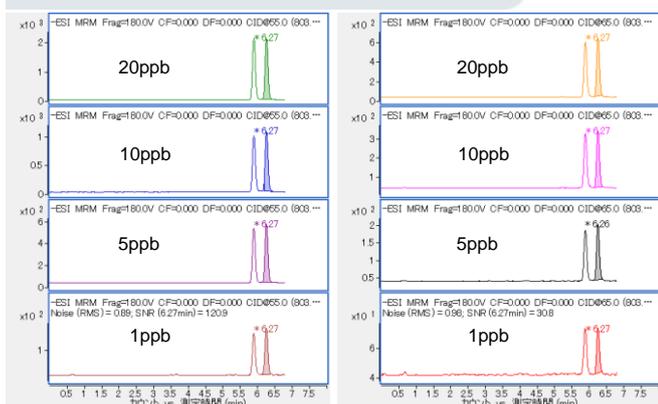


図2 DTX-2のSRMクロマトグラム
左:定量イオン 右:確認イオン

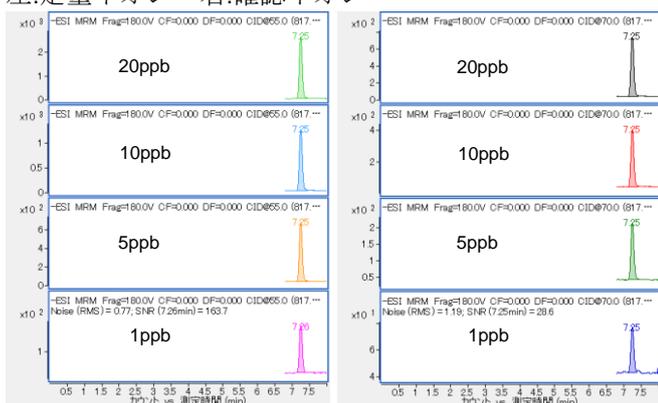


図3 DTX-1のSRMクロマトグラム
左:定量イオン 右:確認イオン

各下痢性貝毒の1~20ng/mL範囲での検量性は図4に示しましたが、決定係数は全化合物で0.999以上と良好な結果でした。

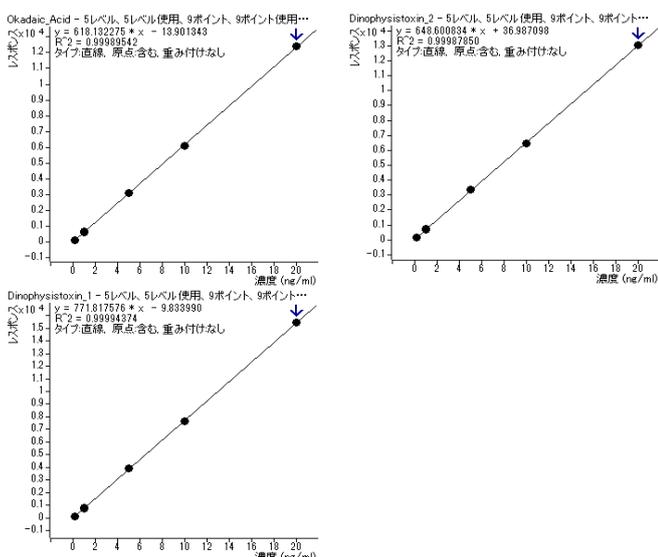


図4 各下痢性貝毒の検量線(1~20ng/mL)

再現性に関しては、1ng/mL標準液をn=5で測定を行いました。結果のSRMクロマトグラムは図5~7に示しましたが、相対標準偏差は全化合物で2%以下と良好な結果でした。

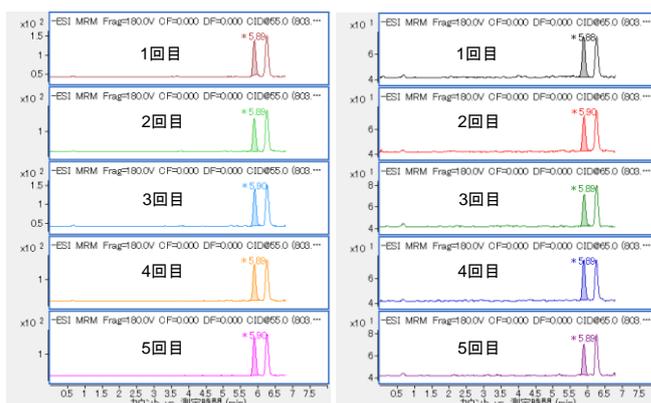


図5 OAの再現性SRMクロマトグラム(濃度:1ng/mL)
左:定量イオン 右:確認イオン

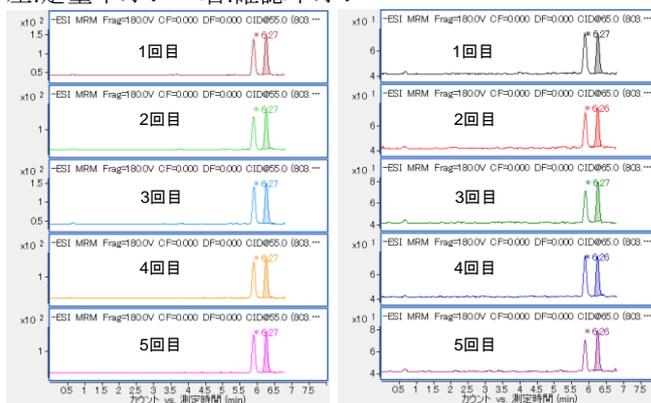


図6 DTX-1の再現性SRMクロマトグラム(濃度:1ng/mL)
左:定量イオン 右:確認イオン

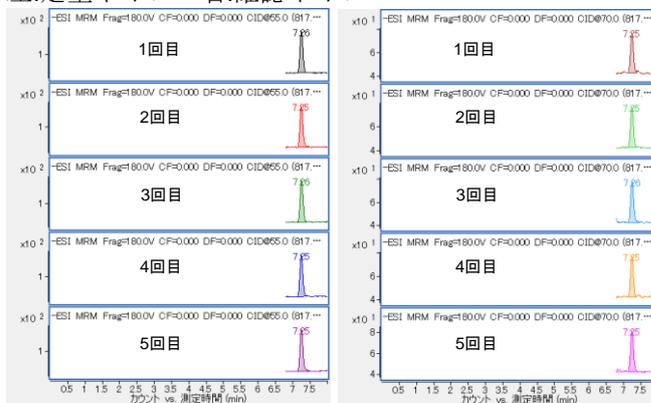


図7 DTX-2の再現性SRMクロマトグラム(濃度:1ng/mL)
左:定量イオン 右:確認イオン

4.まとめ

今回、下痢性貝毒3種類(OA,DTX-2,DTX-1)の標準液を用いて分析条件の最適化を行い、感度、直線性及び再現性について評価を行いました。その結果検出限界は0.062~0.093ng/mLと検査法で要求されている検液での定量下限値である1ng/mLを十分に満たす値でした。

【LC-MS-201507TK-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp