

Agilent 6550 によるジャガイモ中 ポテトグリコアルカロイドの分析



＜要旨＞馬鈴薯中有毒物質であるポテトグリコアルカロイド(PGA)の一種である α -ソラニン及び α -チャコニンの LC-QTOF を用いた分析法を検討しました。その結果、TOF モードによる検出限界は 1 ng/mL 以下でした。また、観察された各化合物のプロトン化分子のモノアイソトピック質量は理論値に対する相対質量誤差が 1 ppm 以内でした。この分析法を用いて、馬鈴薯の測定を行いました結果、 α -ソラニン及び β -チャコニン以外のアルカロイドであるアグリコンの異なる未知化合物が検出され、構造推定を行いました。

Key Words: α -ソラニン、 β -チャコニン、LC-QTOF、自然毒

1. はじめに

馬鈴薯は有毒化合物としてポテトグリコアルカロイド(PGA)を含有しており、特に芽、皮部、果実部の順に多く含んでいます。PGA の 95 % は α -ソラニン及び α -チャコニンでありその他 5 % は糖部分の異なる PGA が存在すると言われております。馬鈴薯による食中毒は年 1~数件程度ですが、集団食中毒が我が国において発生しています。従って、厚生労働省では馬鈴薯のリスクプロファイルが作成されています。従来の PGA の分析は TLC で行われていましたが、最近では LC-MS を用いた分析法が多く報告されています。そこで、今回 LC-QTOF を用いて α -ソラニン、 α -チャコニンのターゲット分析及びその他 PGA 類の測定を行いました。

2.1 装置及び測定条件

分析条件は表 1 に示した通りです。LC 条件はカラムに 1.8 μ m の微小粒子径の逆相カラムを使用し、0.1 % 乙酸+ギ酸アンモニウム緩衝液とアセトニトリルのグラジエントで測定しました。イオン化法には ESI を使用し、正イオンモードで測定しました。

表 1 PGA の分析条件

LC	: 1260 Infinity
Column	: ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD(100mm,2.1mm,1.8 μ m)
Mobile phase	: 0.1% HCOOH +10mM HCOONH_4 B:アセトニトリル 5%---(30min)---100%B
Column temp	: 40 $^{\circ}\text{C}$
Sample volume	: 3 μ L
Flow rate	: 0.2mL/min
MS	: Agilent 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS
Ionization	: AJS(Positive)
Lock mass	: m/z=121.050,922.00
Drying gas	: 20L/min at 350 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 360v
Sheath gas	: 12L/min at 400 $^{\circ}\text{C}$
Nozzle voltage	: 0V

2.2 試料前処理

馬鈴薯は芽(4 g)、皮(40 g)、実(95 g)についてそれぞれ細かく粉碎後、メタノールで芽は 30 分間振とう抽出、皮及び実は 5 分間、10000 回転でホモジナイズ抽出しました。その抽出液は遠沈(4000 回転/5 分)後、上清を 0.2 μ m フィルターでろ過後、芽は 1000 倍、皮と実は 100 倍メタノールで希釈して LC-QTOF で分析を行いました。

3. 結果

図 1 に馬鈴薯の主 PGA である α -ソラニンと α -チャコニン標準品のベースピークイオンである $(\text{M}+\text{H})^+(\text{m}/\text{z}=868.50, 852.51)$ による抽出イオンクロマトグラム(抽出質量範囲: ± 0.01 Da)及びベースピークイオン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を示しました。

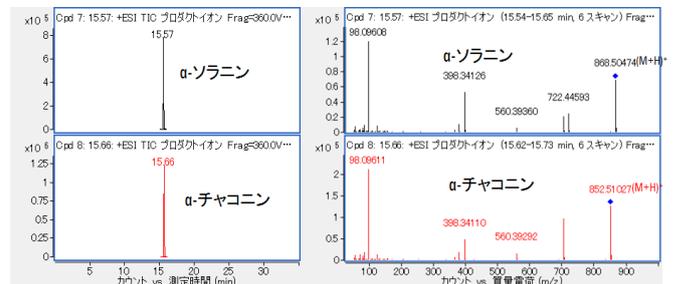


図.1 馬鈴薯中主 PGA 標準品の EIC, プロダクトイオンスペクトル(濃度:10ppb)

EIC の S/N は図 1 に示しましたが、この結果から検出限界(S/N=3)は 0.14 及び 0.12 ppb でした。また、各 PGA のベースピークイオンはプロトン化分子であり、



その相対質量誤差は 10-500 ppb で±1 ppm 以内と良好でした。

QTOFモードによるプロダクトイオンスペクトルはコリジョンエネルギーを 100 eV まで上げることで特異的なプロダクトイオンが観察され、これらプロダクトイオンの組成式を計算することで PGA の確認が可能でした。また、プロダクトイオンスペクトルをライブラリに登録することでライブラリ検索によるスクリーニングが可能でした。

検量線は図 2 に示しましたが決定係数は 0.999 以上と良好でした。

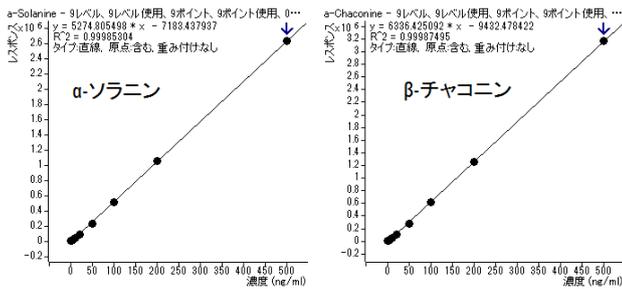


図 2 PGA 標準品の検量線

実試料として馬鈴薯の芽、皮及び実を個別に抽出して測定を行いました。抽出液は精製せず、フィルターでろ過、希釈することで直接 LC-QTOF で分析が可能でした。

図 3 に芽抽出液の TIC 及び PGA の EIC と MSMS スペクトルを示しました。矢印で示したピークが、そのプロトン化分子と推定した精密質量から PGA と考えられ、保持時間 15.3 分のピークが図 3 に示した通り、α-ソラニンと α-チャコニンでした。

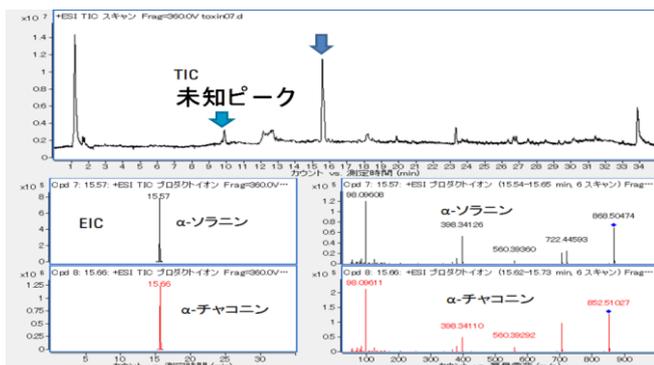


図 3 馬鈴薯(芽)に TIC, EIC 及びプロダクトイオンスペクトル

表 2 には α-ソラニンと α-チャコニンの測定結果を示しましたが、プロトン化分子の精密質量は相対質量誤差が 0.88~1.31 ppm、プロダクトイオンスペクトルのライブラリ類似度は 75~83、定量値は 4~3792 μg/g でした。

表 2 馬鈴薯中 PGA の測定結果

	α-Solanine結果			α-Chaconine結果		
	質量精度	ライブラリ検索	定量値	質量精度	ライブラリ検索	定量値
芽	1.21	78	2088	1.11	76	3792
皮	0.98	81	70	1.31	83	214
実	1.04	77	4	1.07	75	7

濃度: μg/g

未知ピークについてはプロトン化分子の精密質量 ($m/z=884.4989$) から α-ソラニンの水酸化体と推定しました。さらに、精密プロダクトイオンスペクトル(図 4) 及び EPIC 理論に準じた MSC ソフトウェアにより α-ソラニン水酸化体の妥当性を評価しました。結果は図 5 に示しましたが、妥当性スコアは 88 でした。

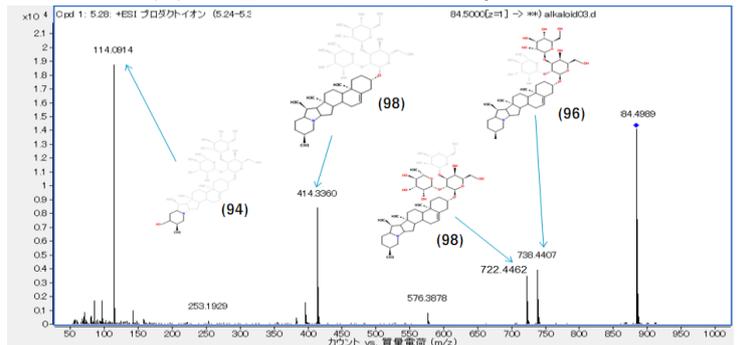


図 4 未知ピークのプロダクトイオンスペクトル ():プロダクトイオンの妥当性スコア

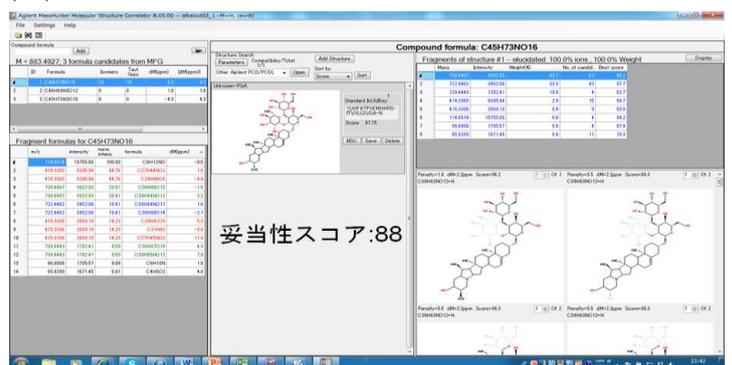


図 5 未知ピークの EPIC 理論による構造推定結果

4.まとめ

今回、馬鈴薯中 PGA である α-ソラニンと α-チャコニンの LC-QTOF を用いた分析法について検討しましたが、標準品による感度は 0.1 ppb と高感度分析が可能であり直線性も決定係数で 0.999 以上と良好な結果でした。また、プロトン化分子の測定相対質量誤差は±1 ppm 以内と化合物の信頼のおける確認が可能でした。主未知ピークは、そのベースピークイオンの精密質量から α-ソラニンの水酸化体と推定し、精密プロダクトイオンスペクトルを MSC ソフトウェアで評価することで妥当性は 88 と高い値でした。

【LC-MS-201511TK-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