

Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS による ツブ貝に含まれるテトラミンの定量分析

著者

安田 恭子

滝埜 昌彦

澤田 浩和

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ツブ貝（エゾバイ科エゾボラ属）の唾液腺にはテトラミン（テトラメチルアンモニウム）という毒素が含まれていることがあります。本アプリケーションノートではエゾボラモドキ（通称赤バイ貝）の唾液腺からテトラミンを抽出し、トリプル四重極検出器で測定した分析例を報告します。定量分析の結果、唾液腺 1 g あたり 10.7 ~ 19.8 mg のテトラミンが検出されました。

目的

ツブ貝は、エゾバイ科エゾボラ属の通称です。この貝は、可食部である筋肉の内部に唾液腺を持っています。この唾液腺にはテトラミン（テトラメチルアンモニウム）という毒成分を含んでいることがあります。唾液腺は筋肉内部にあるため、喫食による中毒被害が年間数件程度報告されていますが、死亡例はありません¹⁾。このアプリケーションノートでは、HILIC カラムとトリプル四重極検出器を用いて、ツブ貝に含まれるテトラミンの検出を試みました。

分析条件

使用した機器一覧を表 1 に、また分析条件を表 2 に示しました。MS はイオン源に ESI を使い、正イオンモードで測定しました。HPLC カラムは内径 2.1 mm、長さ 100 mm の Agilent Poroshell 120 HILIC カラムを用いました。MRM 条件は、Agilent Optimizer ソフトウェアを使用し、適切な条件を設定しました。

試料は市場で購入したエゾボラモドキ（通称赤バイ貝）を用いました。唾液腺からのテトラミンの抽出方法は既存の報告をもとにメタノール抽出を採用しました（図 1）^{2,3)}。今回購入した試料からは、高濃度のテトラミンが検出されたため、最終検液はメタノールで 100,000 倍希釈後、LC/MS に供しました。

標準物質は富士フィルム和光純薬（株）製 塩化メチルアンモニウム (208-00622) を使用しました。テトラミン標準品は 1,000 mg/L の濃度となるようにメタノールで調整し、保存標準液としました。この保存標準液をメタノールで 0.5 ~ 20.0 ng/mL 濃度となるように調製し検量線作成に使用しました。

表 1. 機器一覧

型番	装置名
Ultivo	トリプル四重極MS (LC/TQ)
G7104C	1260 Infinity II フレキシブルポンプ
G7167A	1260 Infinity II マルチサンブラ
G7116A	1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット

表 2. 分析条件

パラメータ	値
乾燥ガス	N ₂ , 250 °C, 10 L/min
シースガス	N ₂ , 350 °C, 12 L/min
極性	正イオンモード
イオンソース	AJS (Agilent Jet Stream, ESI)
ネブライザ	N ₂ , 50 psi
ノズル電圧	0 V
キャピラリ電圧	3000 V
測定トランジション	74>58 (CE = 22 V)、74>42.1 (CE = 18 V)
フラグメンタ電圧	80 V
カラム	Poroshell 120 HILIC 内径 2.1 mm 長さ 100 mm 粒子径 2.7 μm (PN695775-901)
移動相	A : 0.1 % ギ酸、20 mM ギ酸アンモニウム水溶液 B : アセトニトリル 条件 : 70 %B イソクラテック
流速	0.2 mL/min
カラム温度	40 °C
注入量	1 μL
サンプル希釈溶媒	メタノール

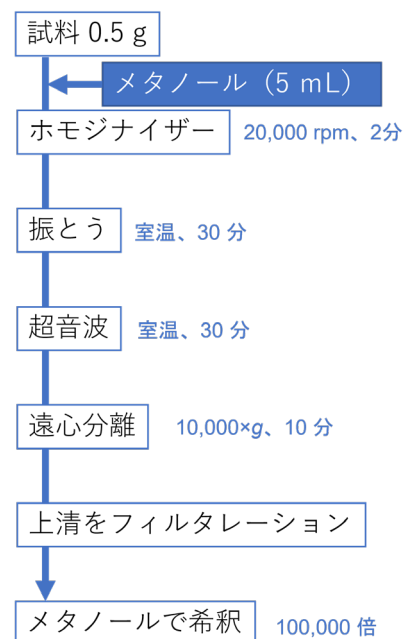


図 1. 前処理のワークフロー

結果および考察

Agilent Poroshell 120 HILIC カラムを用いて LC/MS/MS でテトラミンを分析したところ、保持時間約 3.4 分に $m/z = 74 > 58$ および $m/z = 74 > 42.1$ のピークを得ました。図 2 には標準品 0.5 ng/mL 濃度におけるテトラミンの MRM クロマトグラムを示しました。図 3 には 10 ng/mL 濃度における標準品の再現性 (N=7) を示しました。再現性は面積 %RSD 評価で 1.44 % と非常に良好でした。また標準品 (0.5 ~ 200 ng/mL) を用いて作成した検量線は、決定係数 0.998 以上の良好な直線性を示すことが分かりました (図 4)。

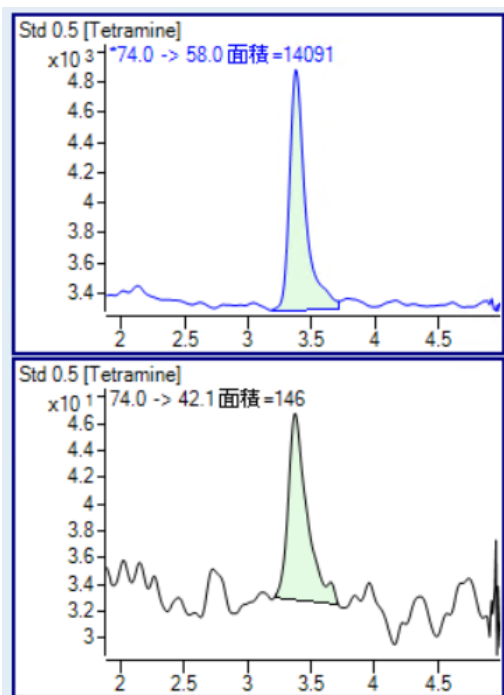


図 2. 標準品の MRM クロマトグラム。濃度は 0.5 ng/mL

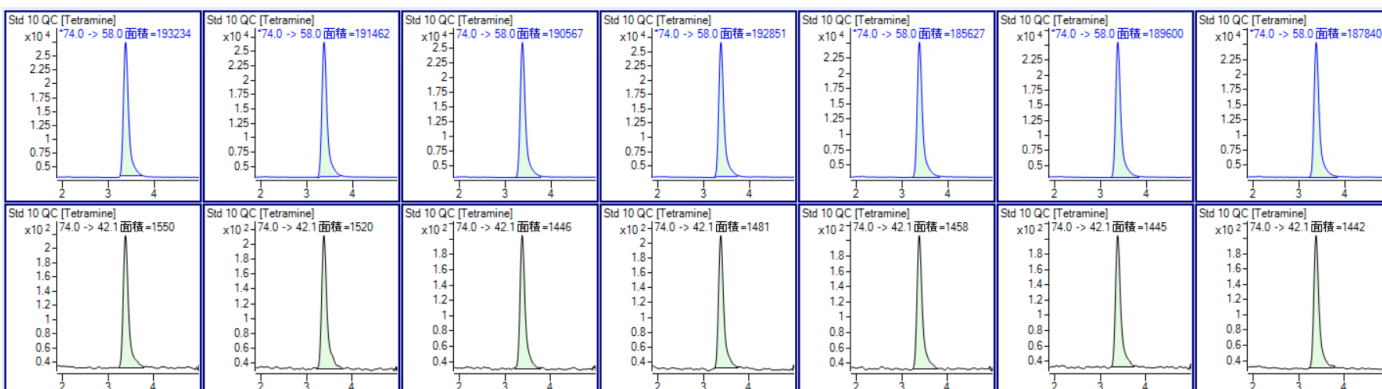


図 3. 標準品の再現性 (10 ng/mL)

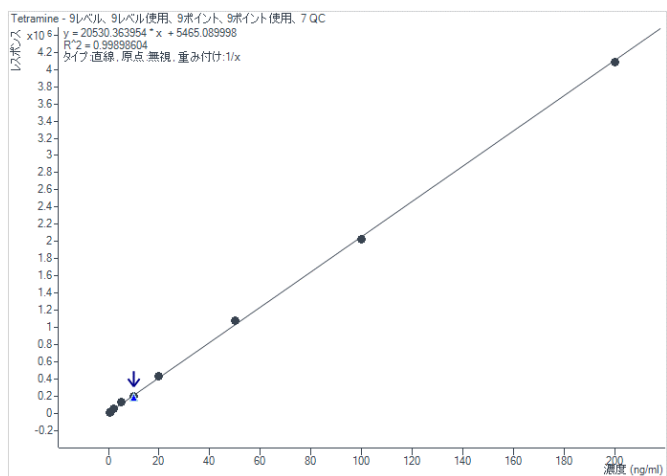


図 4. 検量線 (0.5 ~ 200 ng/mL)

ツブ貝唾液腺抽出液中のテトラミンを定量した代表例として、実試料のクロマトグラムを図 5 に示しました。その結果テトラミン標準品と同様に保持時間約 3.4 分にピークが検出されました。また図 5 には 5 回の繰り返し測定を行ったクロマトグラムも示しています。実試料の再現性も良好で、この試料の場合は面積 %RSD 評価で 4.3 % でした。

実試料を図 1 に示した方法で 5 回前処理を行い、測定で得られた定量値を表 3 に示しました。定量値は 10.7 ~ 19.8 mg/g でした。

表 3. 各試料の定量値

試料#	定量値 (mg/g)
1	13.4
2	17.3
3	19.8
4	10.7
5	14.3

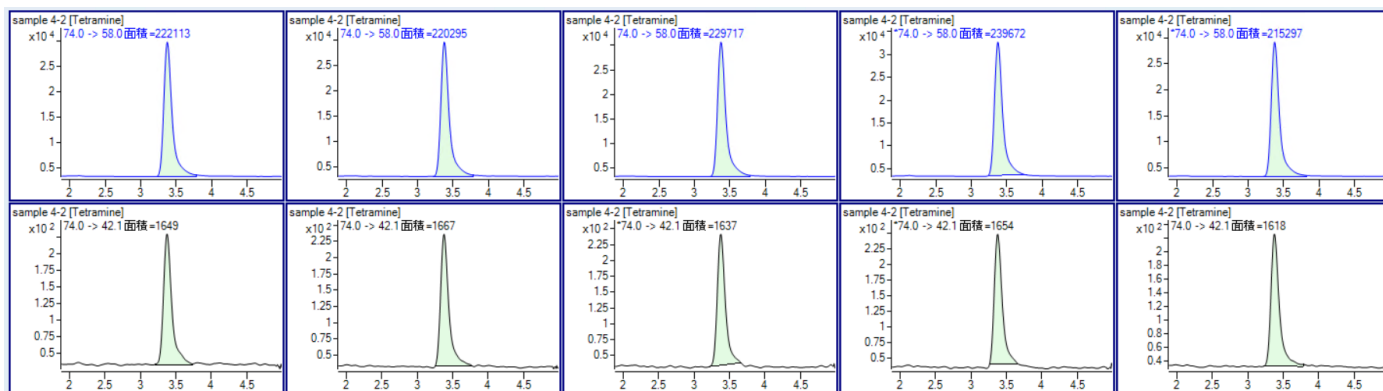


図 5. 実試料の再現性

まとめ

Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS を用いて、ツブ貝唾液腺に含まれるテトラミンの定量分析を試みました。その結果、感度、直線性、再現性が良好な結果が得られ、本報はテトラミンの分析法として有効であることが示されました。

参考

- 1) Takashi Watari., et al., Journal of General and Family Medicine, **22**, 15-23 (2021).
- 2) Kawashima Y., et al., Toxicon, **44**, 185-191 (2004).
- 3) 桐明 絢, 石崎 松一郎, 長島 裕二, 食品衛生学雑誌, **62**, 203-208 (2021).

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE25235188

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, February 21, 2023

5994-5879JAJP