

食品マトリックス中の マイコトキシンの分析



Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS システム



図 1. Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS と
統合された Agilent 1260 Infinity II Prime LC

概要

マイコトキシンは、穀物から果物、野菜、ナッツ、スパイスまでのさまざまな農作物に発生する菌類から産出される化合物です。汚染された穀物の摂取により、マイコトキシンはヒトや家畜に害を及ぼす場合があります。摂取のリスクを最小限に抑えるために食品中のマイコトキシンのレベルがモニタリングされています¹。世界中の規制機関が最大残留基準値 (MRL) を 10 ng/g (ppb) 未満から 500 ppb を超える濃度にまで設定して、有害なレベルのマイコトキシンが食品供給に侵入しないようにしています。マトリックスの組成ごとに異なる検出課題が生じるため、さまざまな食品マトリックスにわたる低レベルでのマイコトキシン化合物の検出および正確な定量が重要となります。

この資料では Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS による、一般に規制対象となっている 3 つの食品中から最大 12 種類のマイコトキシン化合物について、正確な定量分析を紹介します。

詳細については、以下をご覧ください。

www.agilent.co.jp/chem/ultivo-lcms



Agilent Technologies

Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS

Ultivo は、環境分析ラボや食品安全性分析ラボが直面する多くの課題を解決するよう設計されています。Ultivo の革新的な各テクノロジーは、設置スペースを大幅に縮小しつつ、より大型の MS システムが発揮する多くの性能も保持しています。

VacShield、サイクロンイオンガイド、ボルテックスコリジョンセル、双曲線四重極などの革新的技術により、最大の定量性能をコンパクトな装置で実現し、機器の信頼性と堅牢性を強化し、その結果、稼働時間を向上させます。Ultivo は、ユーザーによるシステムメンテナンスを低減しており、質量分析を専門としない MS ユーザーでも容易に運用しメンテナンスできます。

また、Agilent MassHunter ソフトウェアを使用すると、データ取り込み、メソッド設定、データ解析、レポート作成を容易に実行できます。この結果、データ取り込みからレポート作成までの時間を短縮して、ラボの生産性を向上させ信頼性を高めることが可能です。

実験方法

サンプル前処理

マイコトキシンの分析用に、一般に規制対象となっている食品穀物の多様なマトリックス化合物として、トウモロコシ、ピーナッツ、黒コショウを選択しました。ダイナミック MRM (dMRM) を 9 分間の LC/トリプル四重極メソッドで用いて、トウモロコシおよびピーナッツマトリックス中の 12 種類のマイコトキシンと黒コショウマトリックス中の 5 種類のマイコトキシンを定量しました。分析ではマイコトキシン標準をマトリックス抽出物にポストスパイクしました。

トウモロコシおよびピーナッツの 5 g のサンプル、黒コショウの 2 g のサンプルを、10 mL の ACN、10 mL の H₂O、EN 抽出塩 (5982-5650) で抽出しました。トウモロコシには果実および野菜用の分散 SPE (dSPE) (5982-5058) を、黒コショウには汎用 dSPE キット (5982-0029) を使用しました。各マトリックスについて最終クリーンアップステップで、カートリッジ形式の新しい改良型脂質除去充填剤を使用しました。分析の前に、スパイクした黒コショウ抽出物を 30:70 の抽出物/水分で希釈しました。

分析条件

表 1. LC および MS 分析条件

Agilent 1290 Infinity II LC		
カラム	Agilent Eclipse Plus C18、3.0 × 150 mm、1.8 μm	
カラム温度	45 °C	
注入量	2 μL (トウモロコシとピーナッツの抽出物)、10 μL (黒コショウの抽出物)	
移動相	A) 水、0.5 mM フッ化アンモニウム + 5 mM ギ酸アンモニウム + 0.1 % ギ酸 B) MeOH、0.5 mM フッ化アンモニウム + 5 mM ギ酸アンモニウム + 0.1 % ギ酸	
流量	0.450 mL/min	
グラジエント	時間 (分)	% B
	0	30
	0.5	30
	7.5	100
	9.0	100
	9.1	30
Agilent Ultivo		
乾燥ガス温度	250 °C	
乾燥ガス流量	8 L/min	
シースガス温度	350 °C	
シースガス流量	12 L/min	
ネブライザ圧力	30 psi	
キャピラリ電圧	3,300 V (+)、2,800 V (-)	
ノズル電圧	0 V (+)、0 V (-)	
サイクル時間	500 ms	

結果と考察

マイコトキシンのシグナルレスポンス

サンプル前処理法、LC 分離、Ultivo トリプル LC/MS システムで採用された革新的なテクノロジーを組み合わせることで、さまざまな食品マトリックスに含まれるマイコトキシンについて優れた精度と感度を得ることができました。図 2 に例を示します。

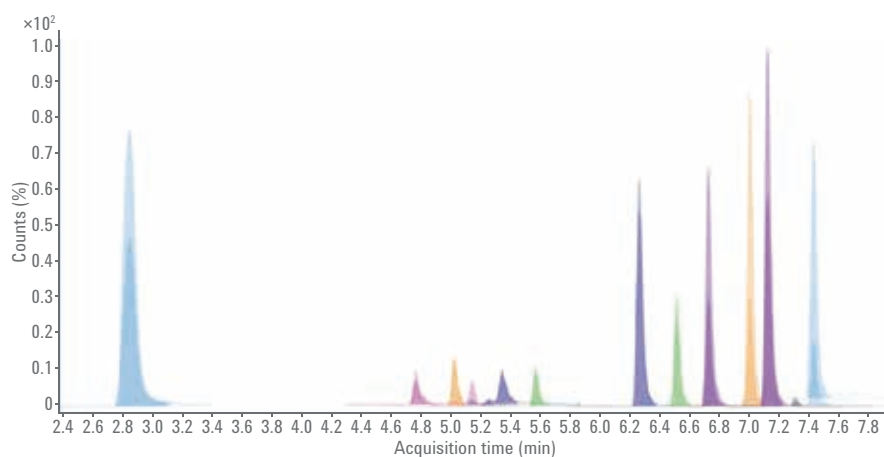


図 2. トウモロコシマトリックス中の 1/10 MRL でのマイコトキシンの検出

マイコトキシンの最大残留基準値 (MRL) と感度

調査対象の各マトリックスに含まれる大部分のマイコトキシン化合物について定量下限 (LOQ) が該当する MRL の 1/20 に達し、優れた感度を実現しました (表 2、図 3)。

表 2. 各マイコトキシンと今回の調査で使用した特定のマトリックスに対する最大残留基準値 (MRL)。EU reg No. 1881/2006 および 105/2010 を基準として使用。今回の調査で使用した該当するすべての MRL は、SANTE MRL 以下です。

マイコトキシン	マイコトキシンに対する欧州連合の MRL ^{2,3}			今回の調査で使用した該当する MRL のレベル	
	トウモロコシ	ピーナッツ	黒コショウ	トウモロコシとピーナッツ	黒コショウ
アフラトキシン B1	2 ppb	2 ppb	5 ppb ^a	2 ppb	5 ppb
アフラトキシン B2	アフラトキシンの合計: 4 ppb	アフラトキシンの合計: 4 ppb	アフラトキシンの合計: 10 ppb	2 ppb	5 ppb
アフラトキシン G1				2 ppb	5 ppb
アフラトキシン G2				2 ppb	5 ppb
オクラトキシン A	3 ppb	N/A	15 ppb ^b	3 ppb	15 ppb
フモニシン B1	500 ppb	N/A	N/A	500 ppb	含まれない
フモニシン B2	フモニシンの合計: 1,000 ppb	N/A	N/A	500 ppb	含まれない
フモニシン B3		N/A	N/A	500 ppb	含まれない
デオキシニバレノール	750 ppb	N/A	N/A	75 ppb	含まれない
ゼアラレノン	100 ppb	N/A	N/A	100 ppb	含まれない
T-2 トキシン	N/A	N/A	N/A	100 ppb	含まれない
HT-2 トキシン	N/A	N/A	N/A	500 ppb	含まれない

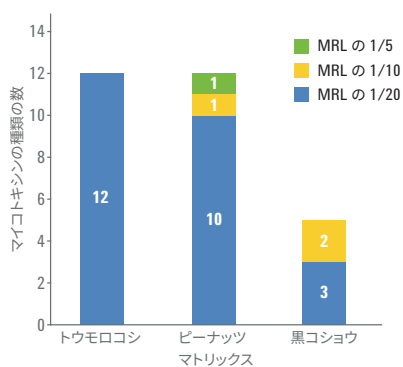


図 3. 各マトリックス中のすべてのマイコトキシンの定量下限

マイコトキシンの精度と直線性

今回分析したすべての化合物について、使用したキャリブレーション範囲全体で R^2 値 >0.99 の優れた直線性が得られました。調査したマトリックス中のマイコトキシンの精度の値は、10%未満の %RSD 値を LOQ で示しました。

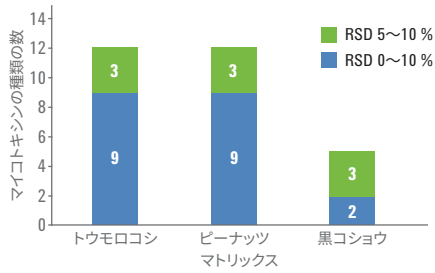


図 4.3 種類のすべてのマトリックスについて LOQ で RSD <10% となる優れた精度を示しています。

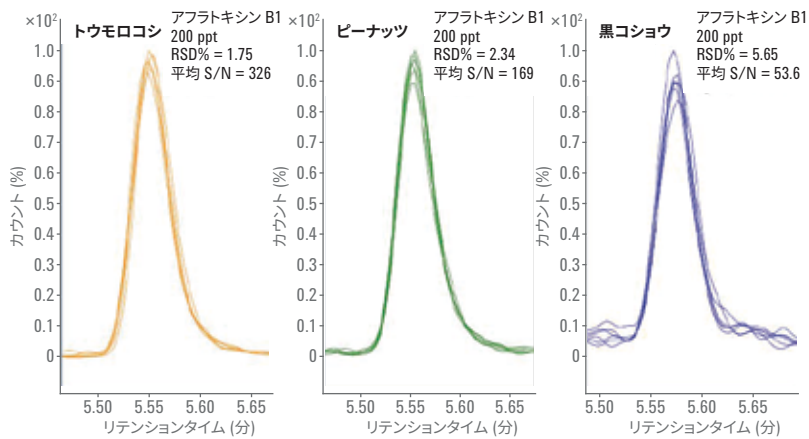


図 5. 全マトリックス中のアフラトキシン B1 について 1/10 MRL (200 ppt または 500 ppt) で優れた精度を示しています。

参考文献

1. Bennett, J. W.; Klich, M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* **2003**, *16*(3), 497-516.
2. Commission Regulation (EC) No 1881/2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union. L 364/5-24. 19 December **2006**.
3. Commission Regulation (EU) No 105/2010. Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A. L 35/7-8. Official Journal of the European Union. 5 February **2010**.

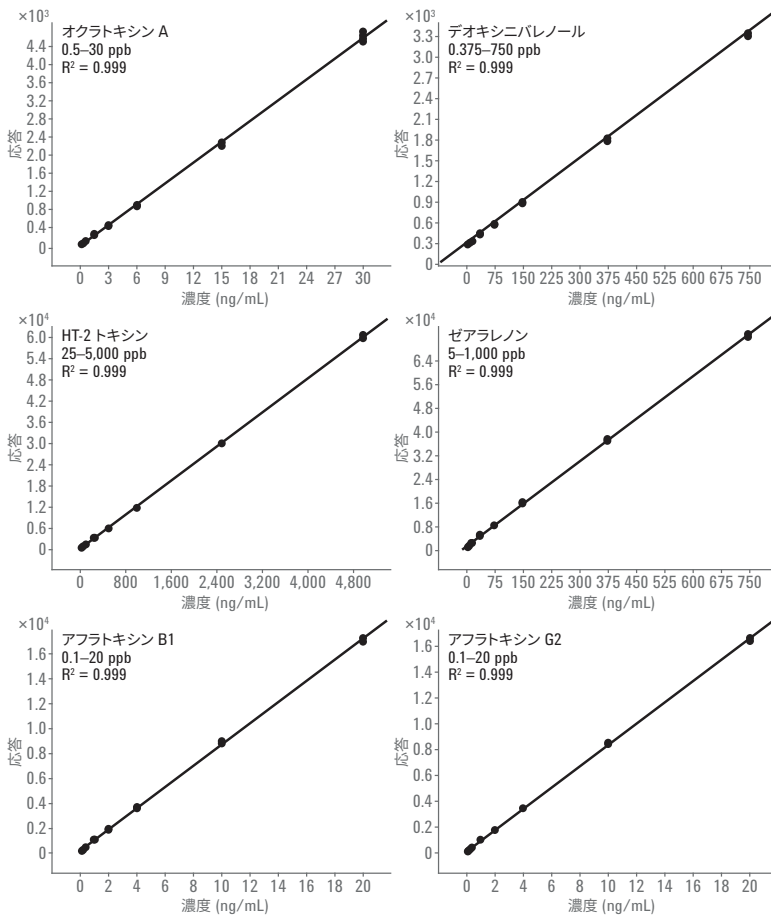


図 6. 対象マトリックスのすべての化合物において、 R^2 値 ≥ 0.99 の優れた直線性を示しました。上の図は、トウモロコシマトリックス中の 6 種類のマイコトキシンの直線性についての例です。

結論

- Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS は、ラボで必要な作業スペースを最小に抑えメンテナンスの課題を低減できるきわめて革新的な質量分析システムです。ハイスループットを必要とするラボのために生産性の高い作業環境を作り出します。
- Ultivo は、小型かつ強力なツールです。さまざまな食品マトリックスに含まれる規制対象となっているマイコトキシンが規定の MRL レベルよりも低いレベルで含まれる場合でも正確かつ高感度で検出します。
- Agilent MassHunter ソフトウェアは、LC/MS データを管理し、レポートを作成するための使いやすく包括的なツールです。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタム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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2017

Printed in Japan, June 27, 2017

5991-8162JAJP

Rev 1.0



Agilent Technologies