

## LC-MSによる下痢性貝毒 (DSP) の分析

### Analysis of Diarrhetic Shellfish Poison (DSP) using LC-MS

下痢性貝毒 (Diarrhetic Shellfish Poison, DSP) は、2枚貝が渦鞭毛藻 *Dinophysis fortii* や *Dinophysis acuminata* などの有毒プランクトンを摂取したさいに中腸腺に蓄積される物質で、嘔吐・下痢・腹痛を伴う急性の胃腸炎を起こします。通常、人が摂取する量では死亡はしませんが、家庭料理程度の熱処理では分解しないといわれています。代表的な下痢性貝毒はオカダ酸 (Okadaic acid, OA), ディノフィシストキシン (Dinophysistoxin, DTX), ペクテノトキシン (Pectenotoxin, PTX), イェットキシシン (Yessotoxin) などで、複雑な構造をしているうえ、適当な発色団を持たないため、その分析は結構厄介です。

日本では生物検定法であるマウス単位法が公定法となっていますが、蛍光誘導体化後HPLCで分析する方法も良く知られています。

ここでは、LC-MSによるOA, DTX-1, PTX-6 (Fig.1) の分析例を紹介します。OAの正および負イオンESIマススペクトルをFig.2に示します。負イオンESI法では脱プロトン分子 (M-H) が明瞭に観察されます。正イオンではナトリウムイオン付加型分子 (M+Na)<sup>+</sup> のほか、プロトン化分子より水分子が1~4個脱離したフラグメントイオンが確認されます。

H.Murata

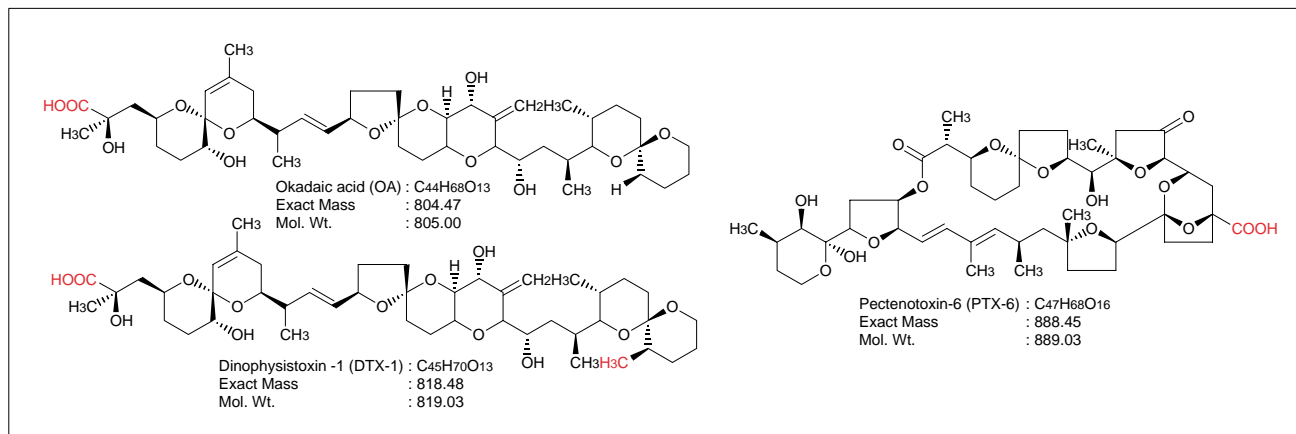


Fig.1 オカダ酸 ディノフィシストキシン-1およびペクテノトキシン-6の構造  
 Structures of okadaic acid (OA), dinophysistoxin-1 (DTX-1) and pectenotoxin-6 (PTX-6)

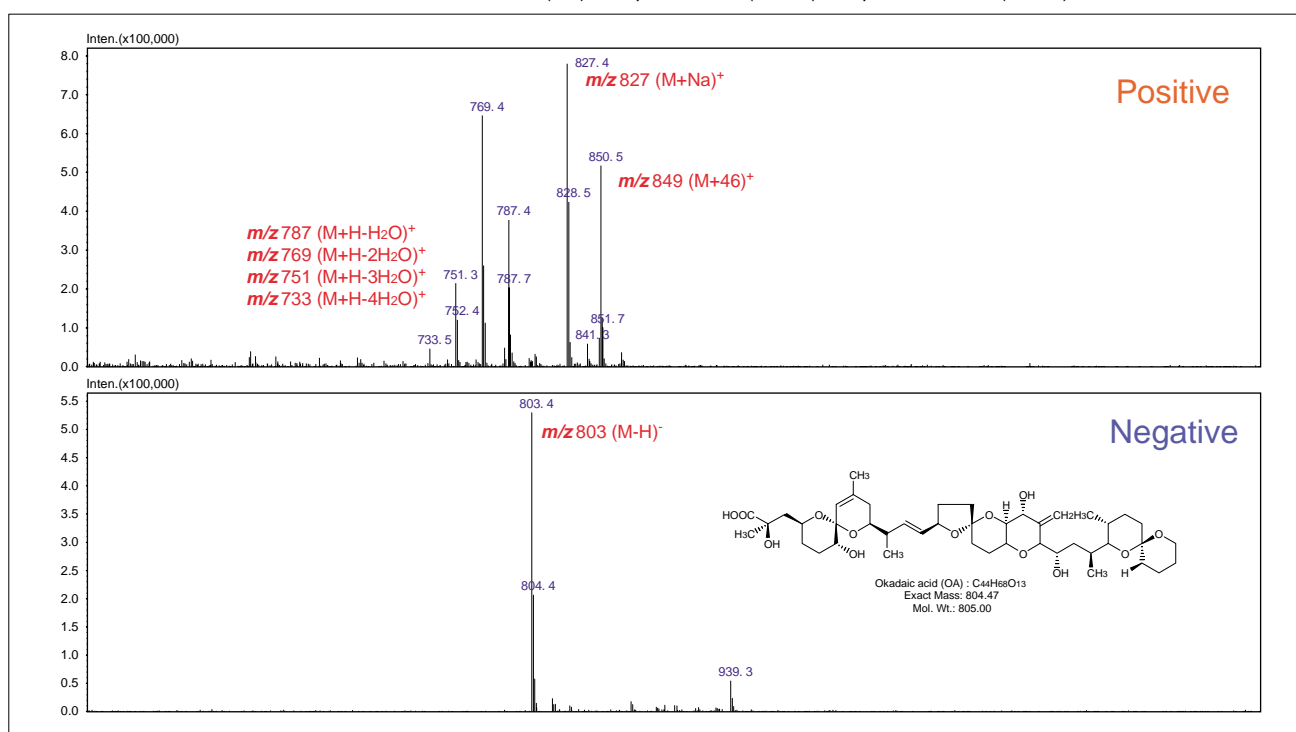


Fig.2 オカダ酸の正イオンおよび負イオンESIマススペクトル  
 Positive & negative ESI mass spectra of okadaic acid (OA)

負イオン検出では脱プロトン分子 ( $M-H$ ), 正イオン検出ではナトリウムイオン付加型分子 ( $M+Na$ )<sup>+</sup>の  $m/z$  を用いた選択イオン検出 (SIM) 分析の結果, 13 ~ 1625ng/mLの濃度で良好な直線性得られ, 定量限界はいずれも13ng/mLでした (負イオン検出でのPTX-6を除く).

PTX-6は負イオン検出の場合の方が正イオン検出に比べ5倍ほど感度が悪くなることやPTX類にはカルボン酸を含まない異性体が存在することから, PTX類の分析が必要となる場合は, スペクトルが若干複雑になりますが正イオン検出の選択が適していると思われます。

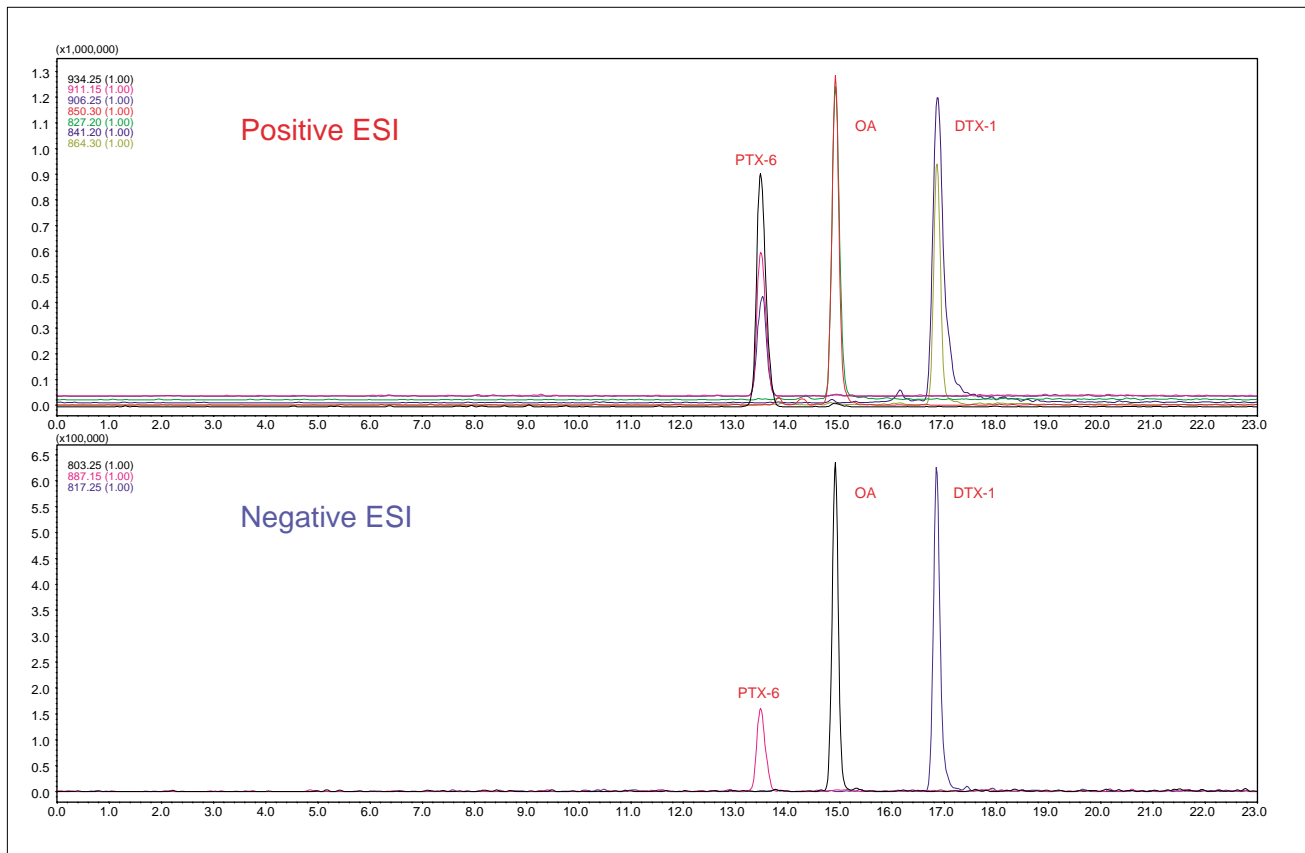


Fig.3 正イオンおよび負イオンESIを用いた下痢性貝毒のSIMクロマトグラム  
Selected ion monitoring chromatograms for diarrhetic shellfish poison using positive and negative ESI

Table 1 分析条件  
Analytical conditions for LC-MS

Column	: Shim-pack VP-ODS (2.0mm I.D. × 150mmL.)	
Mobile phase A	: 5mM ammonium acetate + 0.1% formic acid-water	
Mobile phase B	: acetonitrile	
Gradient program	: 10%B (0 min) → 90%B (15-20 min)	
Flow rate	: 0.2mL/min	
Column oven temperature	: 40°C	
Injection volume	: 2μL	
Probe voltage	: -3.5kV (ESI-Negative mode)	+4.5kV (ESI-Positive mode)
Nebulizer gas flow	: 1.5L/min	←
Drying gas pressure	: 0.2Mpa	←
CDL temperature	: 200°C	←
Block heater temperature	: 200°C	←
CDL & Q-array voltage	: using default values	←
SIM	: $m/z$ 803.25, 887.15, 817.25 for Negative mode	
	: $m/z$ 906.25, 911.15, 634.25, 850.30, 827.20, 864.30, 841.20 for Positive mode	