

トリプル四重極質量分析計LCMS-8060NX による食品中水溶性ビタミンの分析

川嶋 美帆

ユーザーベネフィット

- ◆ 含有量が大きく異なる水溶性ビタミンも同時に定量することが可能です。
- ◆ IonFocus™ユニットが効率的にイオンをMSへ導入するため、イオン源をMS導入部から離しても高感度を維持しつつ高い装置頑健性を実現します。
- ◆ 調製粉乳や乳原料のような複雑な食品マトリクス中でも高い回収率を示します。

■はじめに

ビタミンは、その性質により水溶性ビタミンと脂溶性ビタミンに分類されます。

水溶性ビタミンの一般的な分析手法としては、微生物法、蛍光法、HPLC法など複数の方法がありますが、HPLC法以外は単一のビタミンしか測定できないため、分析に時間と手間がかかるのが欠点です。一方、HPLC法では複数のビタミンを同時に測定することが可能ですが、ビタミンによっては食品中の含有量が微量で、複雑なマトリクス中では分析に支障をきたす場合があります。

LC/MS/MS法では、複雑なマトリクス中でも選択的かつ高感度に分析することができるため、より効率的にビタミンを一斉定量することが可能です。

LC/MS/MS法で食品のような複雑なマトリクスを測定する場合の問題としてMSの汚染があります。その対策の一つとして、イオン源をMS導入部から離すことによりその影響を抑える方法があります。LCMS-8060NXのIonFocusユニットは、効率的にイオンのみをMSへ導入するため、イオン源をMS導入部から離しMS部の汚染を低減しつつ、高感度分析を提供します。

本稿では、LCMS-8060NXを用いた水溶性ビタミン4種の分析法を構築し、食品の一斉分析を行った例をご報告します。

■測定試料

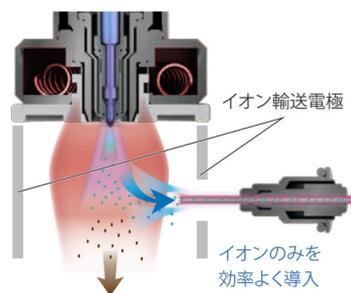
調製粉乳4点および乳原料を酸加水分解した試料溶液*1を使用しました。

■分析条件

分析条件を表1および表2に示しました。

各化合物のMS/MSパラメータは、自動MRM最適化機能により選択された値を使用していますが、ニコチン酸アミドおよびパントテン酸については、定量する試験溶液の濃度に適した検量線範囲に調整するため、選択された最適値とは異なるコリジョンエネルギーを設定しました。

質量分析計に使用したLCMS-8060NXのIonFocusユニットは、フォーカス電極によりイオンのみを効率的に質量分析計に取り込み、不要な中性粒子を除去します。本分析条件ではプローブポジションを4.5 mmに設定し、イオン源とMS導入部を離すことでMSの汚染を抑えつつ、IonFocusユニットの効果により高感度を実現しました(図1)。



汚染やマトリクス効果の原因となる中性粒子(マトリクス)は除去。

図1 IonFocusユニットのコンセプト

表1 LCMS分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X3)	
Column	: L-column™3 C18 Metal-free (150 mmL × 2.0 mmI.D., 3.0 μm)
Mobile phases	: A) 10 mmol/L Ammonium bicarbonate in H ₂ O B) Acetonitrile
Gradient Program	: B 2% (0-3 min) – B 60% (4-5 min) – B 98% (5.01-9 min) – B 2% (9.01-13 min)
Flow rate	: 0.35 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 1 μL
[MS conditions] (LCMS-8060NX)	
Ionization	: ESI (Positive mode)
Probe Voltage	: -0.5 kV
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 25.0 L/min
Heating gas flow	: 15.0 L/min
DL/ Heat Block Temp.	: 250 °C/300 °C
Interface Temp.	: 400 °C
Probe position	: 4.5 mm

表2 MS/MSパラメータ

Compound	Quantitative MRM transition (m/z)	Qualitative MRM transition (m/z)
Biotin	245.10>227.00	245.10>96.95
Nicotinic acid	124.00>80.00	124.00>78.05
Nicotinamide	123.00>79.90	123.00>77.90
Pantothenic acid	220.10>89.90	220.10>202.15

■ 標準試料の分析結果

調製した検量線用標準試料を3回繰り返し分析し、直線性を確認しました。検量点の最低濃度におけるクロマトグラムおよび外部標準法により作成した検量線を図2に示しました。また、検量線範囲を表3にまとめました。

検量点は全て正確さ80~120%以内、かつ面積再現性20%以下であることを確認の上で決定しました。全成分において、相関係数Rが0.998以上の良好な直線性が得られました。

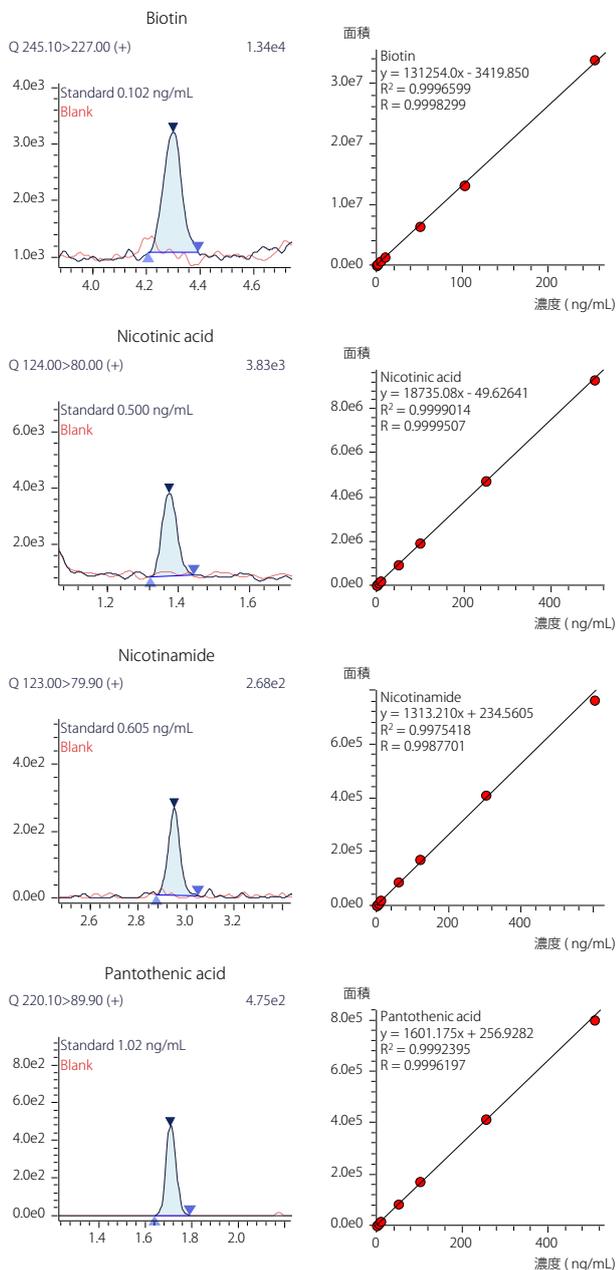


図2 クロマトグラムおよび検量線

表3 各水溶性ビタミンの検量線範囲 (ng/mL)

Compound	Calibration curve (ng/mL)	Correlation coefficient (R)
Biotin	0.102 - 254	0.999
Nicotinic acid	0.500 - 500	0.999
Nicotinamide	0.605 - 605	0.998
Pantothenic acid	1.02 - 510	0.999

■ 乳原料の分析結果

各試験溶液を3回繰り返し分析し、各水溶性ビタミンの定量を行いました。乳原料を分析した際のクロマトグラムを図3に示しました。また、微生物定量法と定量値を比較した結果を表4に示しました。

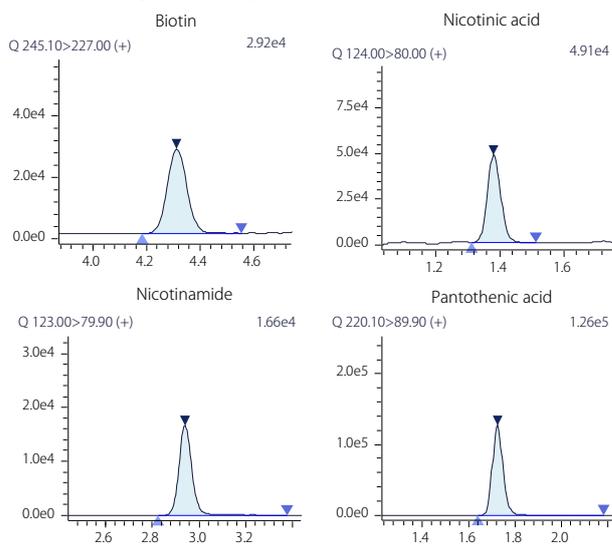


図3 乳原料中の各水溶性ビタミンのクロマトグラム

表4 LC/MS/MS法と微生物定量法の比較

Compound	LC/MS/MS法	微生物定量法
Biotin	56.24	60.8
Niacin*	242.45	274.7
Pantothenic acid	1.14	1.33

* ナイアシンはニコチン酸とニコチン酸アミドの合算値

■ 調製粉乳および乳原料の添加回収試験結果

各試験溶液中に水溶性ビタミンを添加し、添加回収試験を行いました。その結果を表5に示しました。

表5 各試験溶液の添加回収率

Compound	調製粉乳01	調製粉乳02	調製粉乳03	調製粉乳04	乳原料
Biotin	79.4 %	86.0 %	52.9 %	84.4 %	76.1 %
Nicotinic acid	90.6 %	112.0 %	91.2 %	89.7 %	102.8 %
Nicotinamide	89.1 %	98.0 %	115.6 %	92.4 %	88.8 %
Pantothenic acid	80.8 %	103.6 %	103.2 %	87.5 %	98.7 %

■ まとめ

LC/MS/MSによる水溶性ビタミンの一斉分析法を開発しました。本分析方法により、調製粉乳や乳原料のような複雑なマトリクス中でも水溶性ビタミンを正確に定量することが可能です。

*1 本稿で使用しました試験溶液は、森永乳業株式会社様よりご提供いただきました。深く感謝申し上げます。

LCMS、IonFocus、およびNexera は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。L-columnは、一般財団法人 化学物質評価研究機構の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00033-JP 初版発行：2021年 3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2021