

Application News

No. C103

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

トリプル四重極型 LC/MS/MS を用いた小麦中のデオキシニバレノール関連物質 4 成分の一斉分析

Analysis of Nivalenol, Deoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol and 15-Acetyldeoxynivalenol Using Triple Quadrupole LC/MS/MS [LCMS-8050]

ニバレノールおよびデオキシニバレノールは赤かび病菌として知られるフザリウム属真菌が産生するかび毒です。デオキシニバレノールについては、平成 14 年 5 月 21 日に「小麦のデオキシニバレノールに係る暫定的な基準値の設定について」（食発第 0521001 号）で暫定的な基準値 1.1 ppm が設定されました。「デオキシニバレノールの試験法について」（食安発第 0717001 号、平成 15 年 7 月 17 日）には、HPLC による定性および定量

試験法と LC/MS による確認試験法が記載されています。

本報では、LC-MS/MS を用いることでニバレノールとデオキシニバレノール、デオキシニバレノールの代謝物である 3-アセチルデオキシニバレノールと 15-アセチルデオキシニバレノールも加え 4 成分を高感度で一斉分析することが可能となりますのでご紹介します。

M. Kobayashi

■ 標準溶液の分析

Analysis of a Standard Mixture

Fig. 1 に、4 成分混合標準溶液（各 10 ppb）を 2 μ L 注入した時のクロマトグラムと Table 1 に保持時間および面積値の 6 回繰り返し再現性を示します。ニバレノール類はエレクトロスプレーイオン化（ESI）法ネガティブモードで検出が可能です。LC の溶離液として水とアセトニトリルでも LC/MS 分析可能ですが、溶離液 A に低濃度の酢酸アンモニウム（今回は 0.5 mmol/L）を添加することで感度が向上しました。Fig. 1 には、分析したいいくつかの MRM トランジションの中で一番感度の良いトランジションのクロマトグラムを示しています。分析条件を Table 2 に示します。

分析条件の頑健性確認の為に、暫定基準値の約 1/100 にあたる 10 ppb の標準溶液を 6 回繰り返し分析しました。その際の保持時間および面積値の相対標準偏差（% RSD）を Table 1 に示します。保持時間および面積の再現性は良好でした。

Table 1 再現性 (10 ppb, n=6)
Repeatability (10 ppb, n=6)

	R.T. %RSD	Area %RSD
Nivalenol	0.04	2.57
Deoxynivalenol	0.04	6.52
15-Acetyldeoxynivalenol	0.06	4.09
3-Acetyldeoxynivalenol	0.05	2.58

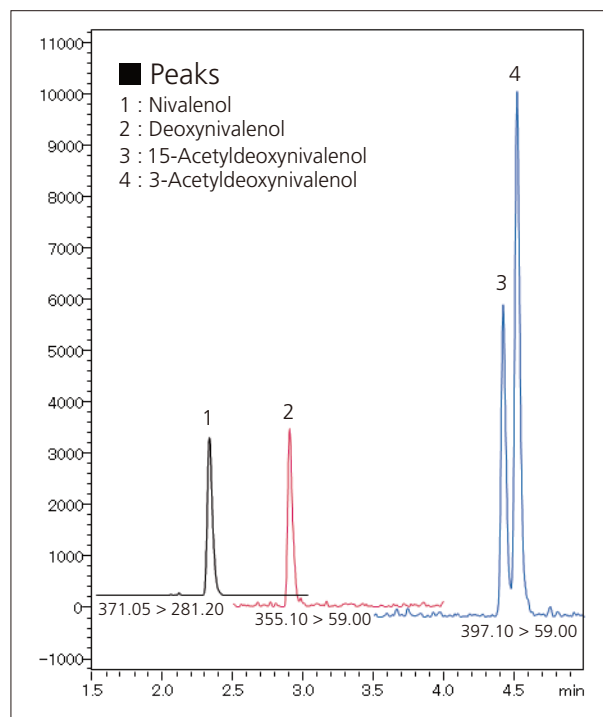


Fig. 1 標準溶液の MRM クロマトグラム (各 10 ppb)
MRM Chromatograms of a Standard Mixture (10 ppb each)

■ 検量線の直線性

Linearity of Calibration Curves

Fig. 2 に Table 2 の条件で分析した検量線を示します。各成分 1 ~ 250 ppb の濃度範囲で検量線を作成したところ、寄与率 $R^2 = 0.999$ 以上と良好な直線性が得られました。

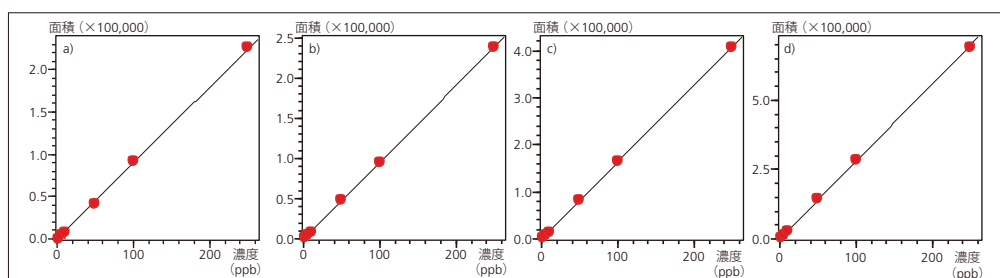


Fig. 2 検量線の直線性
Linearity of Calibration Curves a) Nivalenol b) Deoxynivalenol c) 15-Acetyldeoxynivalenol d) 3-Acetyldeoxynivalenol

■小麦の分析

Analysis of Wheat

Fig. 3 に小麦の前処理手順を示しました。小麦抽出液は多機能カラム“MultiSep # 227” (Romer Labs 社製) または“Autoprep MF-T” (昭和電工社製) を用いて精製しました。“MultiSep # 227” 前処理後の試料 (標準品未添加) と標準品添加試料のクロマトグラムを Fig. 4 に示しました。標準品は 4 成分がそれぞれ 25 ppb (暫定基準値の約 1/40) になるように添加しました。前処理後の試料のクロマトグラムでは

特に大きな夾雑物のピークは検出されませんでした。また、デオキシニバレノールが検出されましたが、暫定基準値以下でした。4 成分の添加回収率は 101 ~ 107 % と良好で、特にマトリクスエフェクトは認められませんでした。“Autoprep MF-T” (昭和電工社製) で前処理した試料においても、添加回収率について同等の結果が得られることを確認しています。

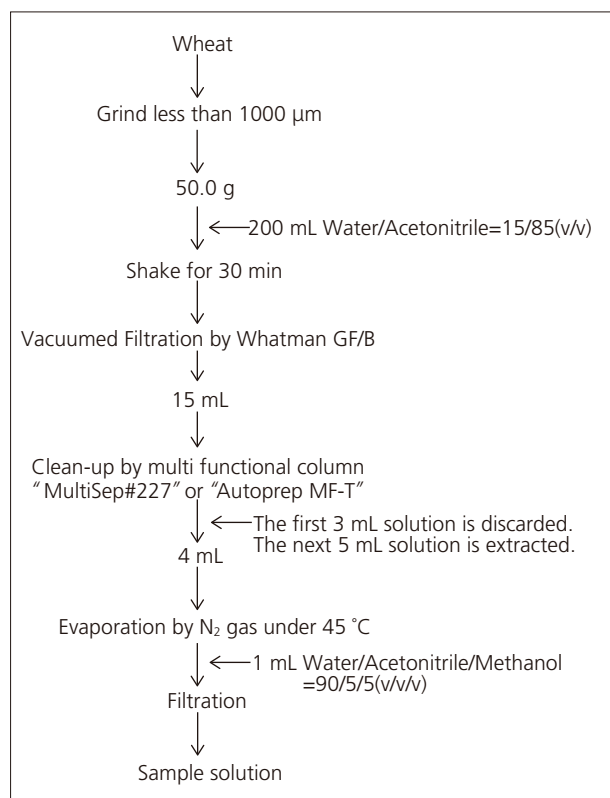


Fig. 3 前処理
Pretreatment

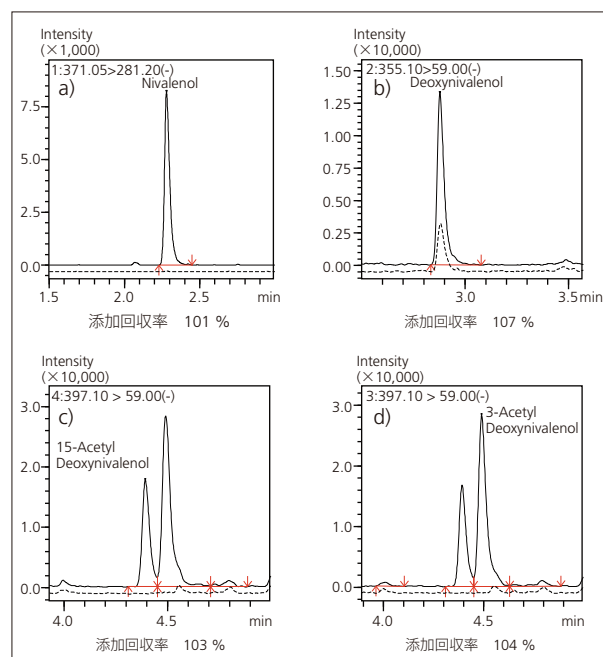


Fig. 4 小麦試料のクロマトグラム
(点線：標準品未添加, 実線：標準品添加 25 ppb)
a) ニバレノール b) デオキシニバレノール
c) 15-アセチルデオキシニバレノール
d) 3-アセチルデオキシニバレノール
Chromatograms of Wheat
(Dotted line: Unspiked Sample, Solid line: Spiked Sample, Spiked 25 ppb each)
a) Nivalenol b) Deoxynivalenol
c) 15-Acetyldeoxynivalenol d) 3-Acetyldeoxynivalenol

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODS III (150 mmL. × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)		
Mobile Phases	: A 0.5 mmol/L Ammonium Acetate - Water : B Acetonitrile		
Time Program	: 5 %B(0 min) → 45 %B (5.0 min) → 95 %B (5.01-7.0 min) → 5 %B (7.01 min) → STOP (12 min)		
Flow Rate	: 0.3 mL/min		
Column Temperature	: 40 °C		
Injection Volume	: 2 μL		
Probe Voltage	: -3.0 kV (ESI-negative mode)		
DL Temperature	: 100 °C		
Block Heater Temperature	: 200 °C		
Interface Temperature	: 200 °C		
Nebulizing Gas Flow	: 2 L/min		
Drying Gas Flow	: 10 L/min		
Heating Gas Flow	: 10 L/min		
MRM Transition			
	: Nivalenol	371.05 > 281.20	CE:16.0 V
	: Deoxynivalenol	355.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 15-Acetyldeoxynivalenol	397.10 > 59.00	CE:22.0 V
	: 3-Acetyldeoxynivalenol	397.10 > 59.00	CE:26.0 V

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

初版発行：2015年1月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※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。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

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/>

会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。