

トリプル四重極型質量分析計を用いた食品中アレルギー分析

前島 希¹⁾、富上 香澄²⁾、稲垣 江梨²⁾、小林まなみ¹⁾

1) (株) 島津製作所; 2) (一財) 雑賀技術研究所

1. はじめに

食物アレルギーは食品中の特定のタンパク質（アレルゲン）に対する過剰な免疫反応によって引き起こされ、時には重篤な症状を呈する場合がある。食物アレルギーによる健康被害を防ぐため、食品表示について各国において厳格に定められている。日本では過去の健康被害の程度・頻度を考慮し、容器包装された加工食品について、特定原材料8品目では表示義務が、特定原材料に準ずるもの20品目については表示が推奨されている¹⁾。

近年、様々なメリットからアレルゲンをLC-MS/MSで分析する手法が注目を集めている。本発表では、LC-MS/MSを用いて加工食品中の特定原材料8品目と準ずるもの9品目を一斉分析した。Skylineを用いて新たにナッツ類4種、フルーツ5種に特異的なペプチドの選定およびMRMトランジションの作成を行った。また、食品中アレルゲン分析に最適化された抽出試薬および標準物質を用いて検量線を作成した。

2. 方法と結果

2-1. 準ずるもののMRMトランジション開発

標準物質としてくるみ、アーモンド、カシューナッツ、マカダミアナッツ、バナナ、キウイフルーツ、オレンジ、モモ、リンゴの食物由来アレルゲン抽出物（雑質技術研究所、図1）を使用した。標準物質はS-Trap（ProtiFi社製）とトリプシンを用いてペプチド断片に消化した。

定性のためのLC-MS/MS分析には、超高速液体クロマトグラフNexera™ X3 UHPLCと四重極飛行時間型量分析計LCMS™-9030を組み合わせたシステムを使用し、DDAモードでデータ採取を行った。解析にはSkylineを用い、アルゴリズムには高精度なペプチド同定が可能なMS Amandaを使用した。

原材料由来タンパク質のアミノ酸配列情報はthe Allergen Nomenclature database (www.allergen.org) およびUniProt (reviewed) から入手した。得られたMRMトランジション候補は、トリプル四重極質量分析計を用いてMRM最適化を行い、感度の良さ、特異性の高さ、イオン化の安定性から選別を行った。ワークフローを図2に示す。

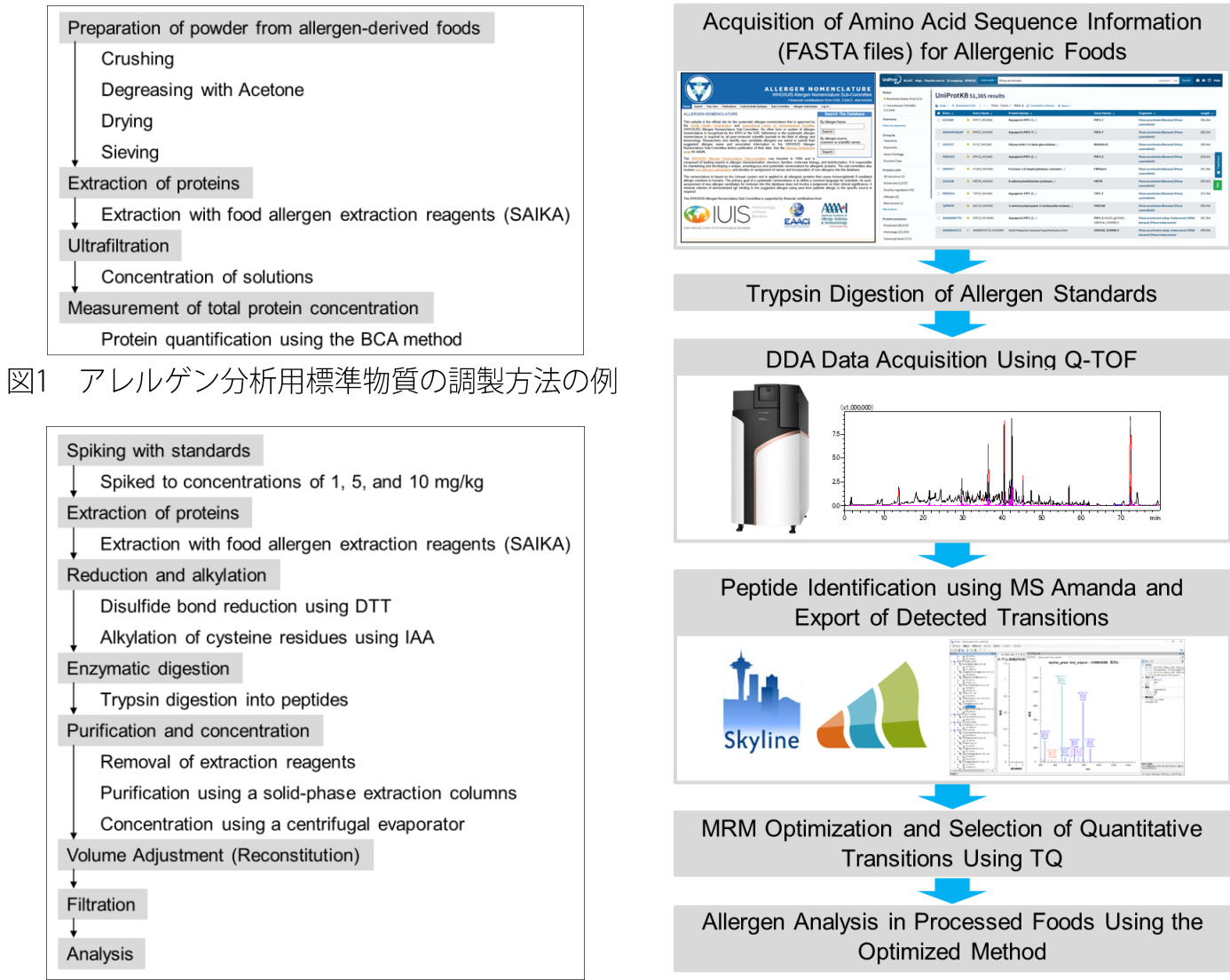


図1 アレルゲン分析用標準物質の調製方法の例

図3 加工食品中食物アレルギー
分析の前処理

図2 Skylineを用いたアレルゲン分析
用MRMランジションの作成方法

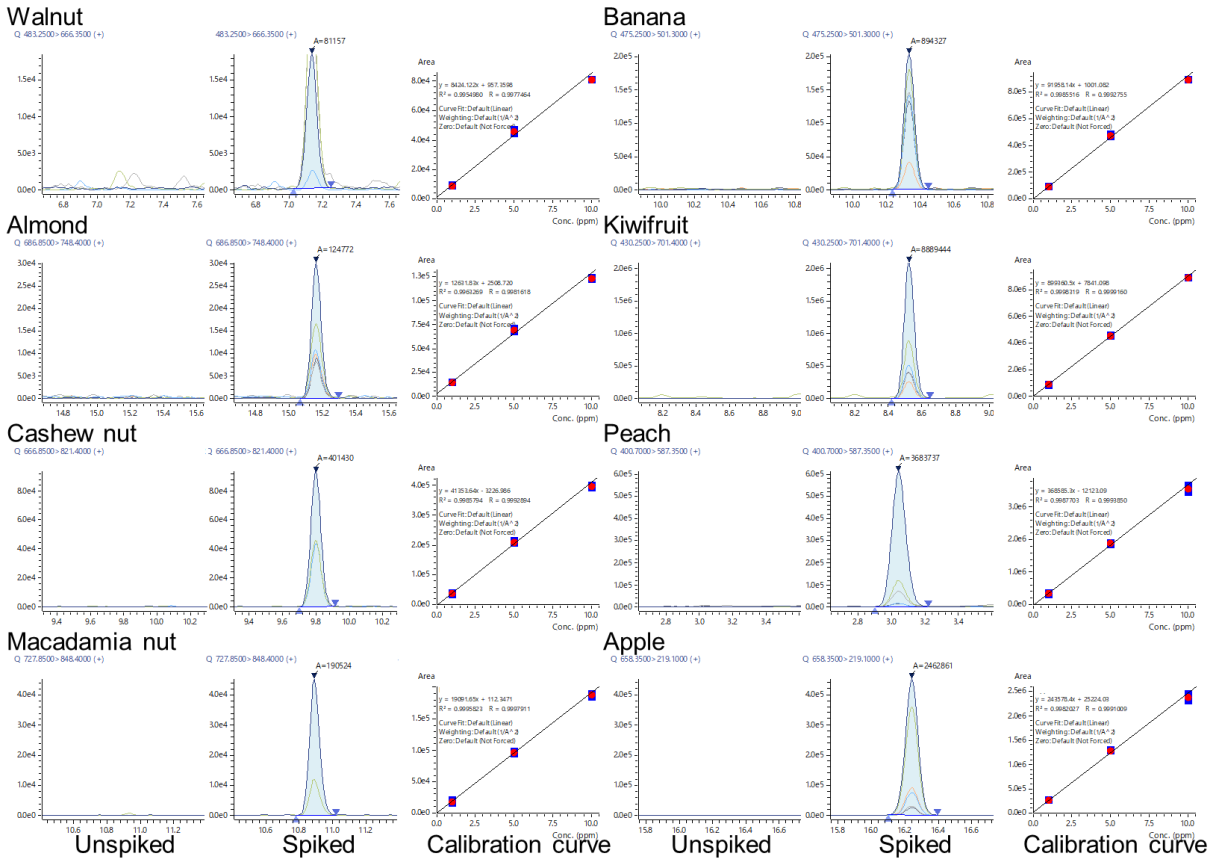


図4 未添加試料と10 mg/kg添加試料のMSクロマトグラムおよび検量線

3. 結果とまとめ

- ・4種類のナッツと5種類の果物について新たにMRMトランジションを開発し、オレンジを除く8品目で特異性の高い条件を構築できた。
- ・加工食品に標準物質を添加し、検量線を作成したところ、17品目で1 mg/kgから良好な直線性のある検量線を作成できた。

表1 作成したMRMトランジションの特異性の検証(*は直線性が良好ではないペプチドを示す)

[illegible]