

1. LC-MS/MS による機能性成分分析法

■分析メソッドについて

・本ワイドターゲット分析は日本食を構成する農産物等の食品中の機能性成分を一斉分析するために開発された方法です。

・食品の群間比較やスクリーニングを目的に使用することができ、図1に記載した前処理の後、LC-MS/MS を使って分析、解析ソフトでデータ解析を行って、1点検量線による相対濃度値を算出します。

・分析メソッドは、ポリフェノール (P)、アミノ酸・ジペプチド (A)、一次代謝物(M)、カロテノイド (C)、リン脂質 (Ph) の5種類を開発し、それぞれの対象化合物はPが145化合物、Aが60化合物、Mが58化合物、Cは22化合物、Phは9化合物(ただし、脂質の α -リノレン酸はメソッドMで測定)としました。

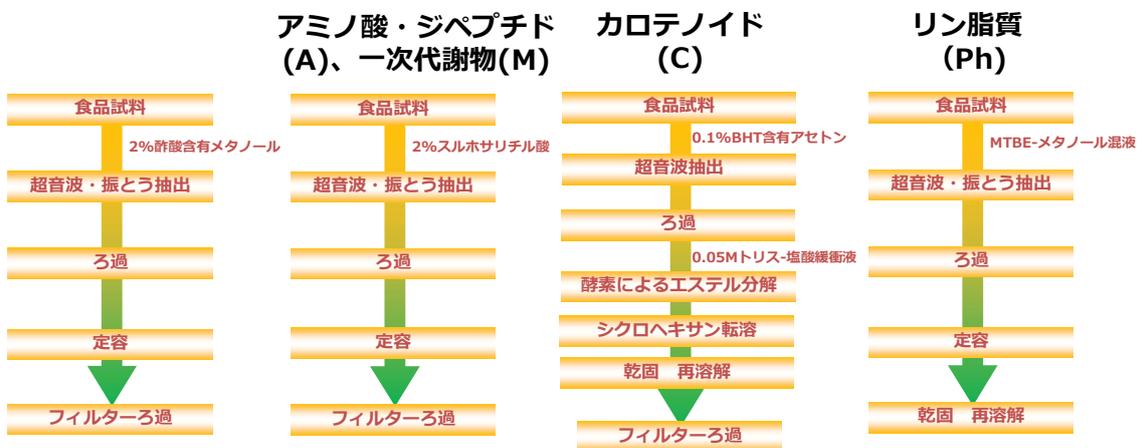


図1. 分析メソッド別食品前処理法

■分析を実施した食品

・日本食を構成する主要な食材(食品)を32品目選択し、文献調査から含有が想定される機能性成分に合わせ分析メソッドを選択し、分析を行いました表1。

表 1. 食品品目別選択分析メソッド

品目	分析メソッド				
	ポリフェノール(P)	アミノ酸・シバプチド (A)	一次代謝物 (M)	カロテノイド (C)	リン脂質(Ph)
大麦	○	○		○	
米	○	○		○	○
小麦		○		○	
さつまいも	○	○			
じゃがいも	○	○			
大豆	○	○		○	○
ごま		○		○	
えだまめ	○	○			
かぼちゃ (西洋かぼちゃ)	○	○		○	
キャベツ	○	○			
小松菜	○	○		○	
しそ (大葉)	○	○		○	
大根	○	○			
たまねぎ	○	○			
トマト	○	○		○	
なす	○	○		○	
人参	○			○	
ネギ (根深ねぎ)	○	○			
ピーマン (青ピーマン)	○	○			
パプリカ(黄色)	○	○		○	
ブロッコリー	○	○		○	
ほうれんそう	○	○	○	○	
ごぼう	○	○			
レタス	○	○			
みかん	○	○	○	○	
リンゴ	○	○	○		
椎茸	○	○	○		
わかめ	○	○		○	
鮭	○	○		○	
鶏胸肉		○			
鶏卵		○			○
緑茶	○	○	○	○	

2. LC-MS/MS による機能性成分分析の解析に用いた濃度算出方法

■ 検量線について

- ・ 定量下限 (報告下限) は基本的に 100 ng/mL(100ng/g)に設定し、ダイナミックレンジは 10 ng/mL~1000 ng/mL で直線性が得られた範囲としています。
- ・ 100 ng/mL では検出が難しい化合物は、別途ダイナミックレンジを設定し、定量下限 (報告下限) も変更しています。
- ・ 算出方法は、標準品を用いた 1 点検量とし、内標準物質を用いて補正を行いました。

■濃度について

◎試験溶液

・前処理による調製を行った試験溶液は以下の希釈系列を作製し、1回ずつ分析しました。

原液、10倍希釈、100倍希釈、1000倍希釈

・この4段階の希釈系列のうち、次に示す3つの基準に適合する数値を採用しております。

- 1、ダイナミックレンジ内
- 2、S/N>10
- 3、面積値が10,000以上

※上記の基準に当てはまらないものの濃度を採用した場合は、備考欄に注記があります。

※備考欄にS/N<10と記述されている場合は、上記の基準2には該当しませんが、1、3の基準に合致し、かつマスクロマトグラムにて確認し、採用したことを示しています。

・上記の基準に複数の希釈系列の測定値が該当した場合は、希釈率の高い方の値を採用しています。

・100ng/mL(100 ng/g)未満は<LLOQ(Lower limit of quantification) と表示しています。

・ダイナミックレンジを超える場合(ULOQ; Upper limit of quantification)は、参考値としての数値が入力されています。

◎試料

・採用した試験溶液濃度における測定値を用い、試料採取量、抽出液量、希釈倍率により算出しました。

・定量限界(報告下限)未満は<LOQ(limit of quantitation)と表示しています。

・定量限界(報告下限)、LOQ(limit of quantitation)は、試験溶液の定量下限(報告下限)濃度から、試料採取量、抽出液量、希釈倍率等を勘案して算出しています。

・保持時間、MRM トランジションともに同一の以下の化合物は、合算値として表示しています。

メソッド(略称)	化合物名
カロテノイド(C)	alpha-Spinasterol/Stigmasterol
	beta-Tocotrienol /gamma-Tocotrienol
	Sesamin/Episesamin
アミノ酸・ジペプチド(A)	1-Methylhistidine/3-Methylhistidine

■その他

・その他注釈は、エクセルファイル末尾に記載がありますので、参照してください。

■本ワイドターゲット分析法(5メソッド、解析基準)の開発者

株式会社島津製作所、一般財団法人日本食品分析センター、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

なお、本分析法の開発および32品目食材の分析は、戦略的イノベーション推進事業(SIP2)「スマートバイオ産業・農業基盤技術(管理法人：生研支援センター)(2018～2022年度)の助成によって実施されました。

以上