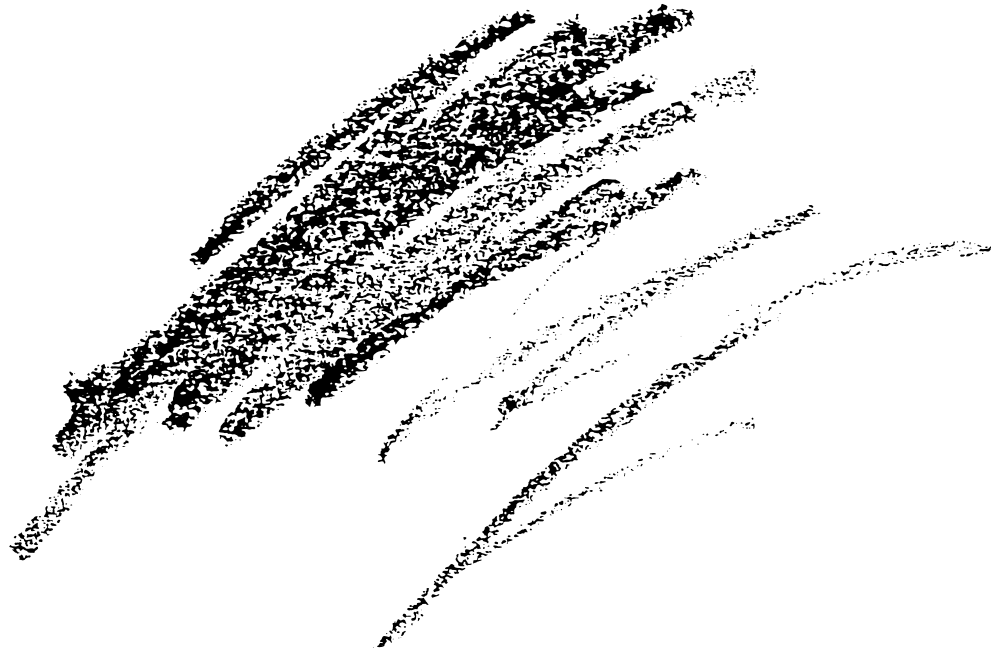




LC Application News No.75

プログラマブル3D蛍光検出器を用いたアフラトキシン類の分析



アフラトキシン(AF)はマイコトキシンの一つで、急性毒性だけでなく強力な発がん性を有していることが知られており、ピーナッツやトウモロコシなどへの汚染が問題になっています。AFにはいくつかの異性体がありますが、農産物からは主にB₁、B₂、G₁、G₂の4種類(Fig.1)が検出され、最も毒性の強いB₁に対して日本ではナッツ類に対して10ng/mlの規制値が設定されています。

農産物中のAFの分析では、複雑なマトリックス中のAFを高感度で選択的に検出しなければなりません。ここでは、オンラインで蛍光スペクトルの採取が可能なAgilent 1100シリーズ蛍光検出器を用いた蛍光検出 HPLC法によるAFの分析を紹介します。AF B₁、G₁は水を含む系では蛍光強度が非常に弱いため、参考文献にしたがってそれぞれAF B_{2a}、G_{2a}に誘導体化後、分析しました。

Fig.2にAF B_{2a}、B₂、G_{2a}、G₂のクロマトグラム(各5ng/ml)を示します。装置構成、分析条件をそれぞれTable 1、2に示します。

Fig.3は、Fig.2のクロマトグラムからオンラインで採取したAF B_{2a}、B₂、G_{2a}、G₂の蛍光スペクトルです。蛍光スペクトルをオンラインで採取できるため、ライブラリーサーチ機能を利用することで、検出されたピークの同定を迅速かつ容易にしかも精度良く行うことが可能です。

この分析条件における検出下限(S/N=2)は、0.1 ~ 0.3ng/ml、ピーク面積値の繰返し再現性は0.3 ~ 1%(n=6、5ng/ml)でした。

AF B₁、B_{2a}、B₂、G₁、G_{2a}、G₂の構造

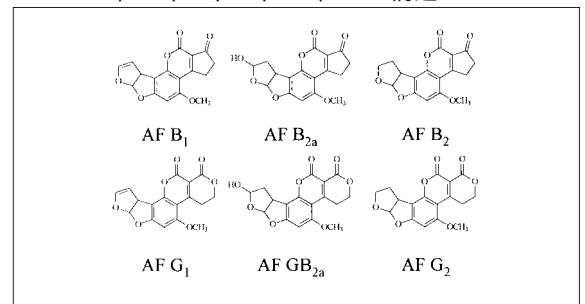


Fig.1 アフラトキシン B₁、B_{2a}、B₂、G₁、G_{2a}、G₂の構造

AF B₁(B_{2a}として)、B₂、G₁(G_{2a}として)、G₂の分離例

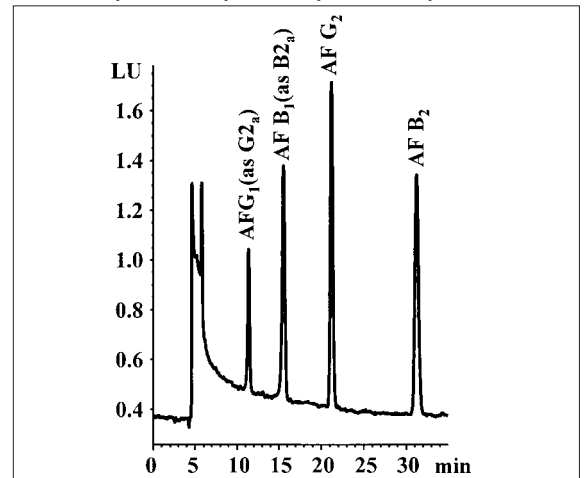


Fig.2 アフラトキシン B₁、B₂、G₁、G₂の分離

装置および方法

Table 1に装置構成、Table 2に分析条件を示します。

Table 1 System configuration

Quaternary pump	G1354A
Automatic sampler	G1313A
Column compartment	G1316A
Fluorescence detector	G1321A
3D ChemStation	G1319A

Table 2 Analytical condition

Column	: Inertsil ODS-3 (5 μ m) (4.6 × 250 + 4.6 × 150mm)
Mobile phase	: H ₂ O / CH ₃ CN / MeOH = 300/50/150
Flow rate	: 1.0ml/min
Injection vol.	: 20 μ l
Column temp.	: 40
Detector	: Fluorescence detector, Ex.; 365nm, Em.; 450nm

アフラトキシン B_{2a}、B₂、G_{2a}、G₂の蛍光スペクトル(Ex.; 365 nm)

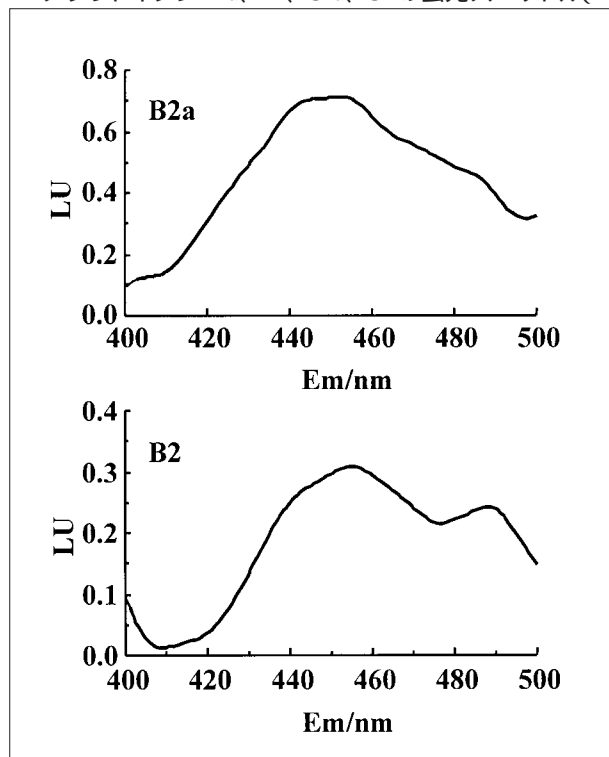


Fig.3A アフラトキシン B_{2a}、B₂の蛍光スペクトル

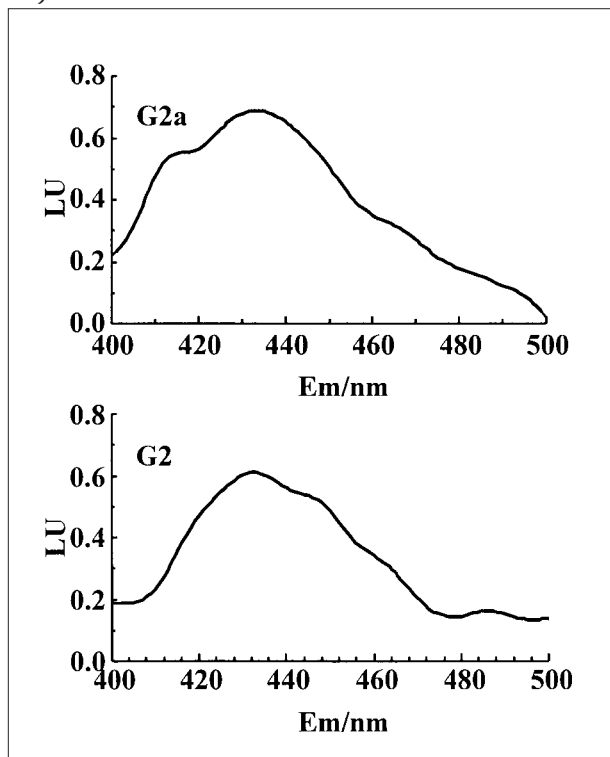


Fig.3B アフラトキシン G_{2a}、G₂の蛍光スペクトル

(参考)

- (1) H. Akiyama, D. Chen, M. Miyahara, M. Toyoda, and Y. Saito, *J. Food. Hyg. Soc. Japan.*, 37, 195 (1996).
- (2) R. W. Beaver, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 18, 315 (1989).