

GC/MS によるマイクロシスチンの分析

Analysis of Microcystin by GC/MS

はじめに

Introduction

マイクロシスチン (Fig.1) は、湖沼の富栄養化により、大量発生する藍藻類で生産される肝臓毒です。その毒性をマウス腹腔内投与による半数致死率(LD50)で表すと、おおよそ100 μ g/kgです。これらの有毒藍藻類の発生を押さえる技術や、毒素を無毒化する開発が行われていますが、

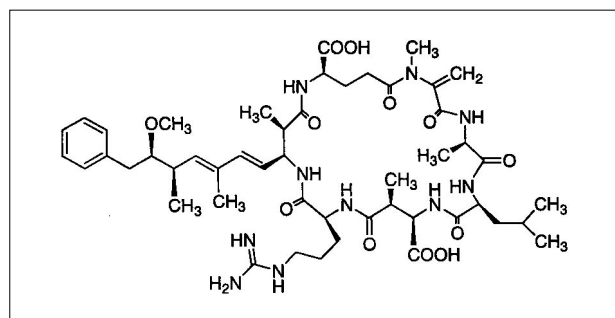
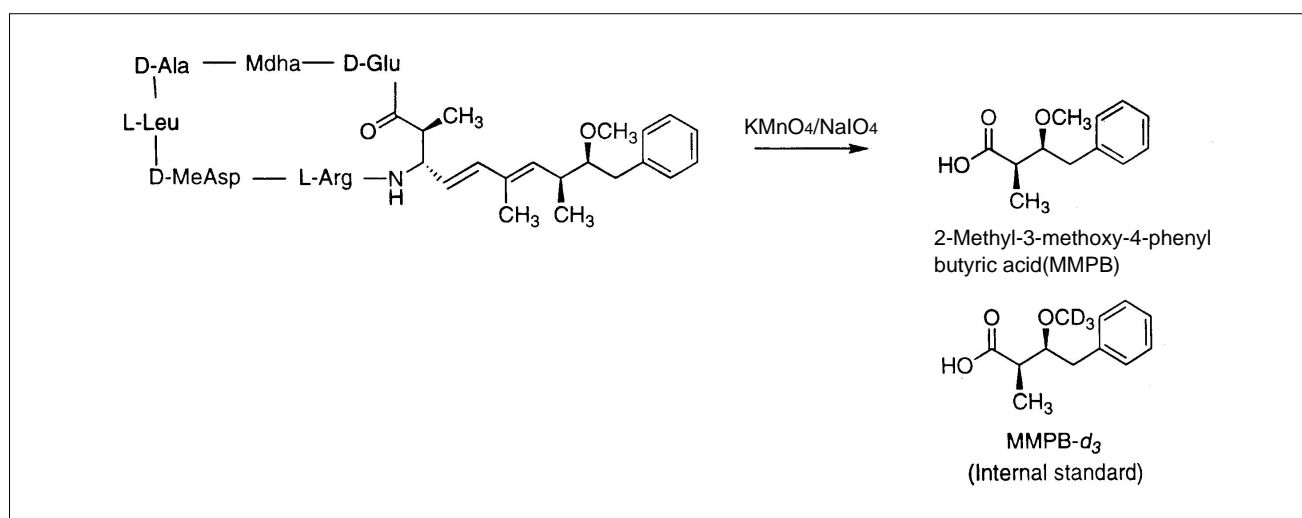
水源全体をコントロールすることは難しく、安全な飲料水を確保することは、重要な課題の一つとなっています。今回はこれらのマイクロシスチンの分解物である、2-Methyl-3-methoxy-4-phenylbutyric acid (MMPB) の測定例をご紹介します。

A.Hashimoto

分析の概要

Outline of Analysis

一般には、水試料からマイクロシスチン類を抽出し、過マンガン酸カリウム/過ヨウ素酸ナトリウムで共役二重結合を酸化分解し、生成する2-Methyl-3-methoxy-4-phenylbutyric acid (MMPB) をメチル化したものをGC/MSで定量し、マイクロシスチン-L, R換算等量を求めます。内部標準物質として、MMPB-d₃を用います。

Fig.1 マイクロシスチン-LR
Microcystin-LRFig.2 マイクロシスチンからMMPBの生成
MMPB Derivation from MicrocystinTable 1 分析条件
Analytical Conditions

[GC]	[MS]
Column : DB-1 30m × 0.25mm I.D. df=0.5 μ m	Interface Temp : 250°C
Column Temp : 80°C(1min)-5°C/min-250°C	Ionization Method : CI(Isobutane)100kPa
Carrier Gas : He 64.5kPa	
Injection Mode : Splitless	<SCAN MODE>
Injection Volume : 1 μ L	Scan Range : m/z 100-300
Sampling Time : 1min	Interval Time : 0.5sec
	<SIM MODE>
	m/z 223, 226
	0.2sec

EI スキャンモードにおける分析

Analysis in EI Scan Mode

MMPBをEI（電子イオン化法）によりスキャンモードで分析したクロマトグラムを示します。（分析条件はTable 1参照）

EI法によるマススペクトルでは分子イオンを得ること

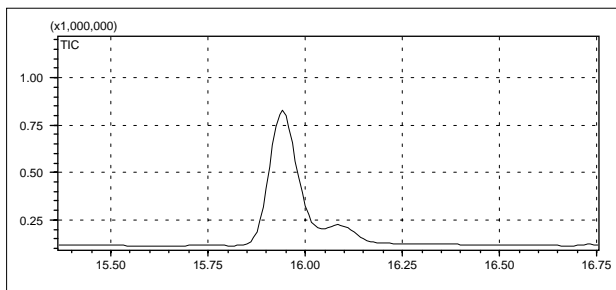


Fig.3 EI法でのMMPBのトータルイオンクロマトグラム
MMPB Total Ion Chromatogram by EI Method

はできず、また強度の強いピークの質量は小さく、夾雑物と重なる可能性があります。さらに、MMPBとMMPB-d₃はほとんど同じマススペクトルであるため分離検出できず、CI（化学イオン化）法を検討しました。

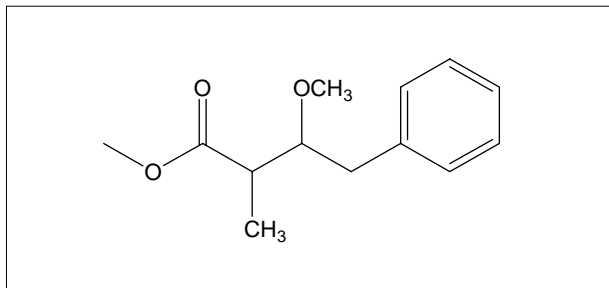


Fig.4 MMPBの構造式
MMPB Structure

CI SIMモードにおける分析

Analysis in CI SIM Mode

MMPB及びMMPB-d₃（内部標準物質）のSIM分析例を示します。

反応ガスとしてイソブタンを用い、MMPBは擬似分子イオン(MH)⁺の $m/z=223$ 、MMPB-d₃は $m/z=226$ をそれぞれのターゲットイオンとしました。（分析条件はTable 1参照）

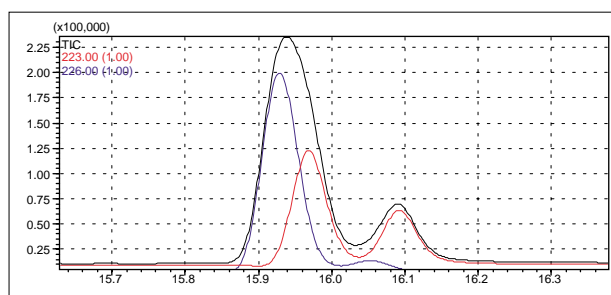


Fig.5 CI法でのSIMクロマトグラム
SIM Chromatograms with CI Method

検量線

Calibration Curve

三種類の濃度（24ppb、120ppb、600ppb）のMMPB溶液を調整し、検量線を作成しました。（SIMモード測定。分析条件はTable 1参照）その結果、良好な直線性の検量

線が得られました。なお、内部標準物質としてはMMPB-d₃を各100ppb添加しました。

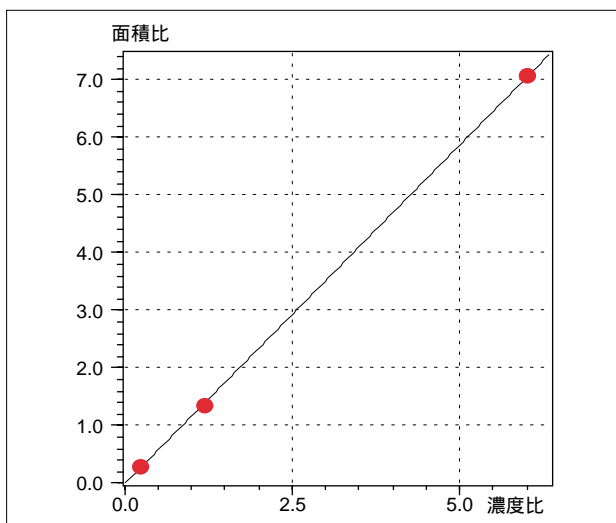


Fig.6 検量線
Calibration Curve

化合物名：MMPB

m/z ：223

$f(x) = 1.168354 * x + 0.000000$

相関係数(R) = 0.999972

寄与率(R²) = 0.999943

平均RF：1.16 RFSD：0.03 RFRSD：2.48

検量線：直線

原点：原点を通す

重み付け法：なし

内部標準法

#	濃度比	平均面積比
1	0.240	0.28
2	1.200	1.36
3	6.000	7.02

初版発行：2003年6月

 島津製作所 分析計測事業部 応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)

● 携帯電話専用番号(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。