

高速液体クロマトグラフィー No. L248

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

アオコ中のミクロシスチンの分析

Determination of Microcystins in Blue-green Algae

近年、琵琶湖や霞ヶ浦などの湖沼では富栄養化が進み、それともなつて「アオコ」と呼ばれる現象が生じて社会問題となっています。「アオコ」とは藍藻類が大発生して湖沼や池の表面に緑色の粉をふいたような状態を指します。

「アオコ」を形成する藍藻類の中には毒素を生産するものがあり、水質への影響が懸念されています。その毒素の代表的なものがミクロシスチンです。ミクロシスチンは肝臓毒であり、外国ではアオコの発生している湖沼の水を飲んだ家畜が死亡した事例もあります。

ミクロシスチンの構造はFig. 1に示したようなものです。¹⁾ 7つのアミノ酸からなる環状ペプチドで、結合しているアミノ酸の種類により50以上の種類があるといわれています。そのうち、日本の湖沼における代表的なものとしてミクロシスチンLR, YR, RRなどがあります。

ミクロシスチンの代表的な分析方法としては、HPLC法、TLC法、LC/MS法、ELISA法などが挙げられます。ここではもっとも一般的に使われているUV検出HPLCによる分析例を紹介します。(T. Goto)

Table 1には分析条件を、Fig. 2にはアオコ試料のクロマトグラム例を示しました。

各成分の分離は逆相モードで行われます。次のページのFig. 3に示したように、移動相溶液に使用する緩衝液のpHによってミクロシスチン類の保持時間はそれぞれに独自の変化をします。ここでは、3種類のミクロシスチンの分離が最も良いpH 3.0の緩衝液を移動相に使用しました。

検出は、240nmのUV吸収をモニターすることで行います。次のページのFig. 4には、フォトダイオードアレイUV-VIS検出器を用いて採取したミクロシスチンのUVスペクトルを示しました。

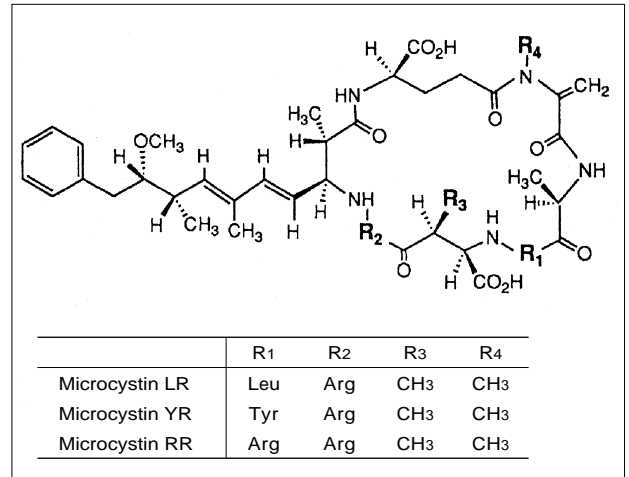


Fig.1 ミクロシスチンの構造
Structures of Microcystins

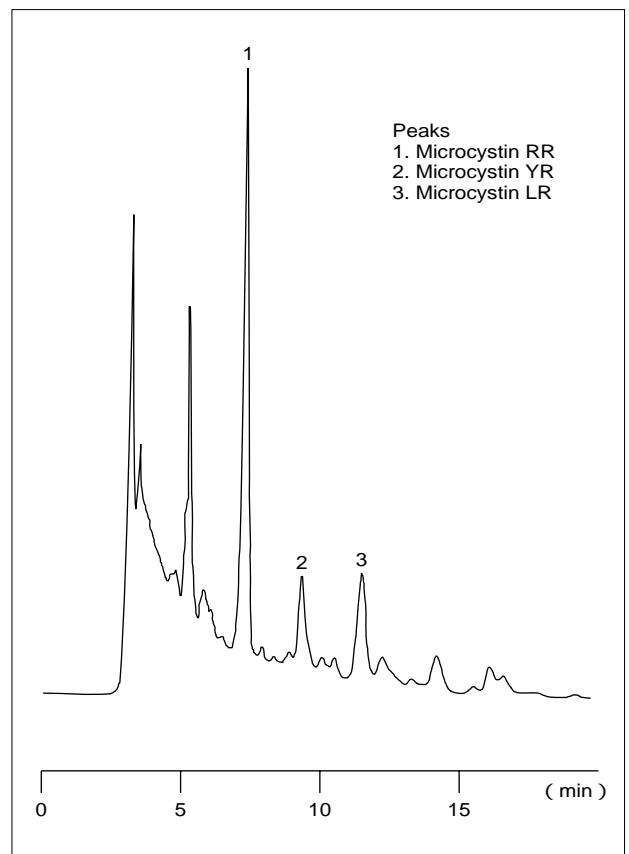


Fig.2 アオコの分析例
Chromatogram of Blue-green Algae

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: STR ODS-II (6.0mm I.D. × 150mm L.)
Mobile Phase	: 50mM (sodium) phosphate buffer (pH 3.0) / methanol (4/6, v/v)
Flow Rate	: 1.0mL/ min
Temperature	: 40
Detection	: SPD-10A at 240nm

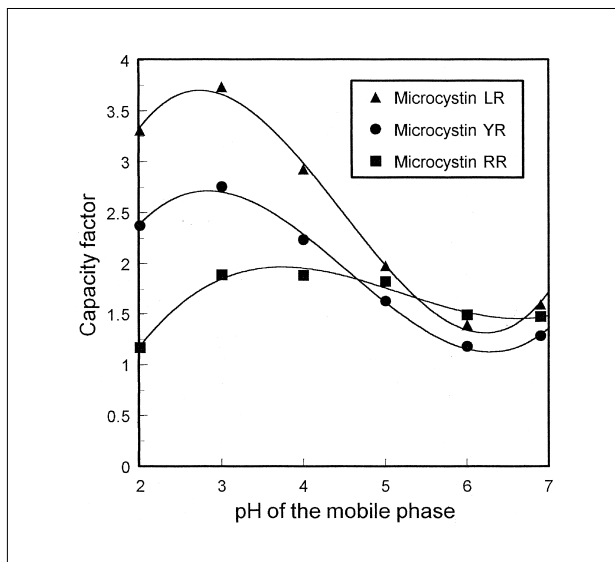


Fig.3 ミクロシスチンの固定相への保持に対する移動相中のりん酸緩衝液のpHの影響
Effect of pH of the Mobile Phase on Capacity Factor of Microcystins

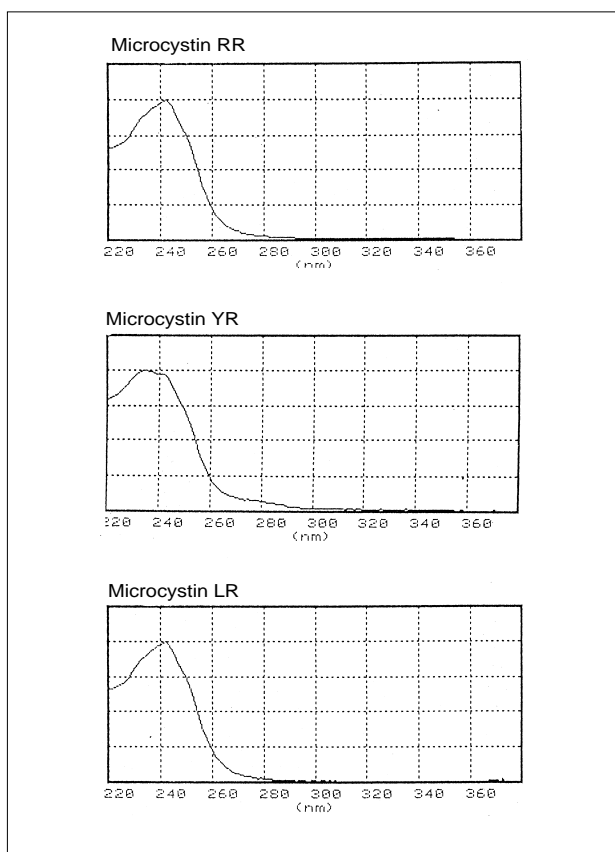
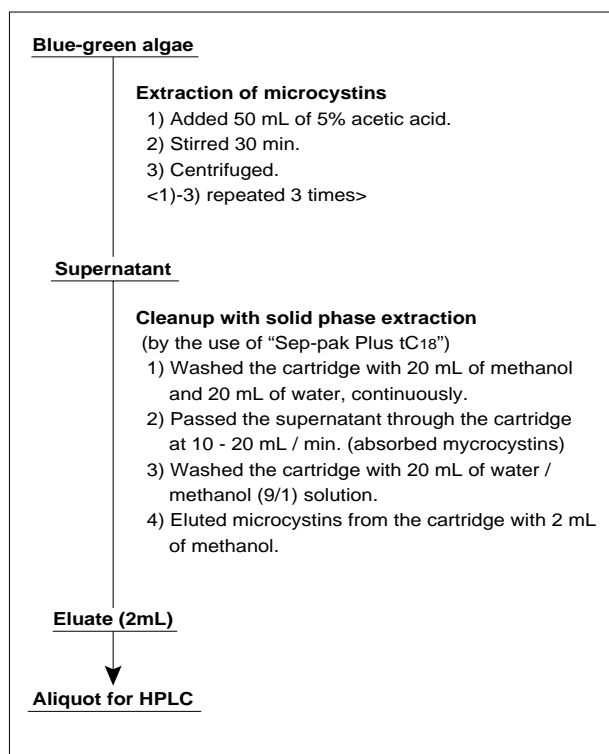


Fig.4 ミクロシスチンのUVスペクトル
UV Spectra of Microcystins

Scheme 1にはアオコ試料の前処理手順を示しました。^{2,3)}

アオコからミクロシスチンを抽出するために、ここでは5%酢酸を用いました。かくはんと遠心分離の操作を3回繰り返し、上清をあわせて次のクリーンアップ操作に供しました。

クリーンアップは固相抽出法により行いました。市販の固相抽出用ODSカートリッジに上述の抽出液を通して成分を吸着させ、いったん洗浄したのち、メタノールで溶出させました。最後の溶出操作は、なるべくゆっくりと(1~2 mL/min程度)通液することにより、少ない液量で効果的に溶出させることができます。また、今回は水/メタノール=9/1で洗浄を、メタノール100%で溶出を行いました。洗浄液についてはメタノール比を増やし(8/2程度)、溶出液については水を加える(水/メタノール=1/9~2/8)ことにより、ソルベントフロントのピークが小さくなって、よりきれいなクロマトグラムが得られるようです。



Scheme 1 アオコ試料の前処理
Sample Pretreatment

試料は国立環境研究所 化学環境部 彼谷邦光先生よりご提供いただきました。

【引用文献】

- 1) 彼谷邦光：環境化学，2 (3)，457-477，1992
- 2) K. -I. Harada, et al. : Toxicon, 26 (5), 433-439, 1988
- 3) K. -I. Harada, et al. : J. Chromatogr., 448, 275-283, 1988

初版発行：1997年4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。