

## トウモロコシ中のフモニシンの分析例

## Determination of Fumonisin in Corn

フモニシンは、フザリウム属のカビなどにより生産されるカビ毒の一種であり、トウモロコシやイネなどにおいて検出されることがあります。この物質は、ウマの白質脳炎の原因物質であることが判明したり、ヒトの食道がんの原因物質のひとつと推定されるなど、大きな関心を集めています<sup>1,2)</sup>。

フモニシンはその構造の中に一級アミノ基を有するため、分析には、 $\gamma$ -フルアルデヒド (OPA) などにより蛍光誘導体化し、HPLC分析する方法が広く用いられてい

ます<sup>1-3)</sup>。この反応は試薬と混合し室温で放置するだけで非常に速やかに進行するため、試薬混合機能付きのオートインジェクターを用いれば、自動で行うことが可能です。

ここでは、OPAと3-メルカプトプロピオン酸を反応試薬として用いたプレカラム誘導体化-HPLC法によるフモニシンB<sub>1</sub>とB<sub>2</sub>の分析例を紹介いたします。また、オートインジェクターにより誘導体化反応を自動化したときの再現性や、実試料への適用例についてもあわせて紹介します。

(T.Goto)

## 標準試料の分析

## Analysis of Standard Solution

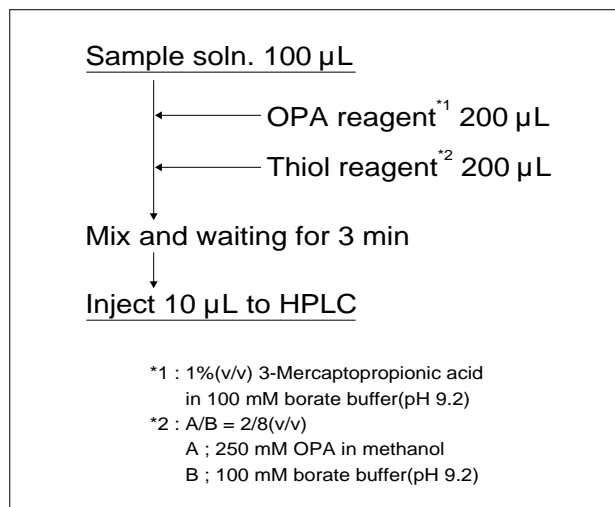
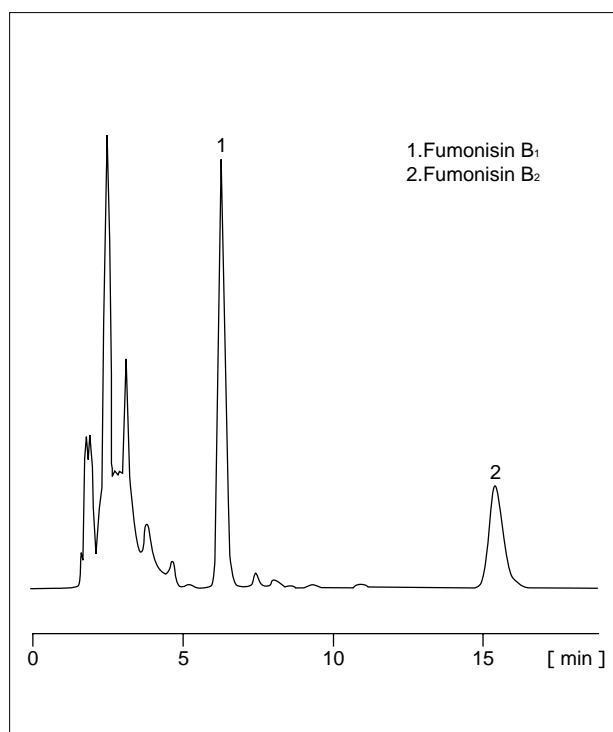
プレカラム誘導体化の手順をScheme 1に示します。OPAとともに反応に不可欠な求核試薬として、通常は2-メルカプトエタノールが用いられることが多いのですが、ここでは誘導体化物の安定性、試薬由来の夾雑ピークとの分離などを考慮して、3-メルカプトプロピオン酸を使用しました。

誘導体化物を注入してHPLCで分析するときの条件をTable 1に示します。移動相溶液については、そのpHを中性付近にした方が誘導体化物の検出感度がやや高くなるのですが、夾雑ピークとの分離や充填剤の耐久性などの点から、弱酸性の緩衝液を採用しました。

Fig.1には、フモニシンB<sub>1</sub>およびB<sub>2</sub>の標準品をこれらの条件で分析したときのクロマトグラムを示しました。本法における検出限界は、誘導体化反応に供する試料溶液中濃度として約10ng/mL (S/N=3,フモニシンB<sub>1</sub>)と求められました。

Table 1 分析条件  
Analytical conditions

Column	: STR ODS-II : (4.6mmI.D. × 150mmL.)
Mobile phase	: 50mM ( Sodium ) citrate buffer : ( pH4.3 ) /methanol ( 3/7,v/v )
Flow rate	: 1.0mL/min
Temperature	: 40
Detection	: RF-10AxL EX335nm,Em440nm

Scheme 1 プレカラム誘導体化手順  
Pre-column derivatization procedureFig.1 フモニシンB<sub>1</sub>,B<sub>2</sub>標準品のクロマトグラム  
Chromatogram of Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> Standard Mixture

## 繰り返し再現性

### Repeatability

Table 2には、誘導体化反応の操作を分析者が行った場合と、オートインジェクターで自動実行したときのピーク面積値の繰り返し再現性試験の結果を示しました。ここではオートインジェクターとしてSIL-10Aを用いました。

誘導体化物のピーク面積値は、反応開始からHPLCに注入するまでの経過時間により変化します。したがって、この時間を正確に制御することが必須条件ですが、それが守られていればどちらの方法でもほぼ同等程度の再現性が得られることがTable 2の結果からわかります。

Table 2 ピーク面積値の繰り返し再現性  
Repeatability

	Manual		Auto	
	Fumonisin B <sub>1</sub>	Fumonisin B <sub>2</sub>	Fumonisin B <sub>1</sub>	Fumonisin B <sub>2</sub>
1st	901,223	438,948	828,190	390,550
2nd	958,536	462,300	864,625	406,800
3rd	938,502	453,239	884,637	419,995
4th	916,852	441,436	868,233	410,227
5th	947,335	454,586	857,297	406,022
mean	932,490	450,102	860,596	406,719
s.d.	23,222	9,724	20,698	10,612
c.v.	2.49%	2.16%	2.41%	2.61%

## トウモロコシの分析

### Analysis of Corn

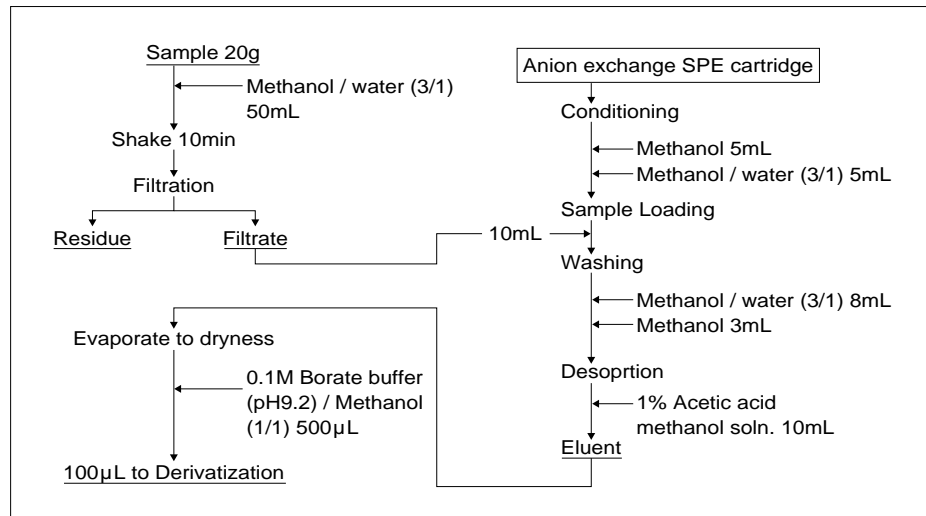
Scheme 2には、トウモロコシ試料の前処理の操作手順を示します。メタノール/水混合溶液により目的成分を抽出し、陰イオン交換樹脂を充填した固相抽出カートリッジを用いてクリーンアップしました。ここでは、固相抽出カートリッジとしてJ.T.Baker社製の“BAKERBOND spe Quaternary amine” (容量3mL)を用いました。

固相抽出カートリッジからの溶出液は、いったん蒸発乾固した後、ほう酸緩衝液/メタノール混合溶液に再溶解して誘導体化反応に供しました。OPAによる誘導体化反応はpH9以上で定量的に進行しますので、溶液中の酢酸はなるべく完全に除去し、再溶解のための溶液にpH緩衝力を持たせておくほうが定量性が向上します。

Fig.2には、以上の方法により前処理したトウモロコシを分析したときのクロマトグラムを示します。

### 【参考文献】

- 1) 上村：月刊フードケミカル，1994-1,94-103 (1994)
- 2) 上村：月刊フードケミカル，1996-4,41-48 (1996)
- 3) Shephard et al. : Journal of Liquid Chromatography, 13 (10), 2077-2087 (1990)



Scheme 2 試料の前処理手順  
Pretreatment of corn Sample

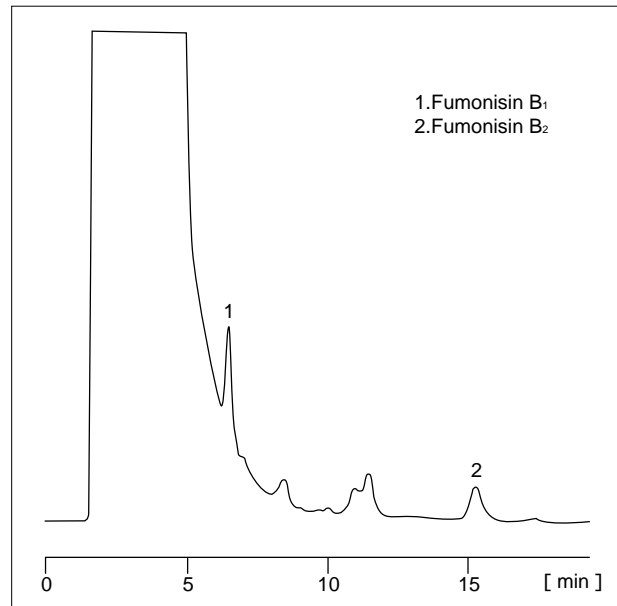


Fig.2 トウモロコシのクロマトグラム  
Chromatogram of corn Sample

初版発行：1998年12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。