

Application News

No. L512

高速液体クロマトグラフィー
High Performance Liquid Chromatography

マイコトキシンスクリーニングシステム による穀類中のマイコトキシン分析

Analysis of Mycotoxins in Grain Using Mycotoxin Screening System

マイコトキシン（かび毒）とは、カビが産生する化学物質のうち、人や動物、作物に対して毒性を有するものを指します。特に、アフラトキシンは天然物質中でも最も強い発がん性物質の1つであり、WHOの国際がん研究機関（IARC）による評価では、グループ1（ヒトに対して発がん性がある）に分類され、世界中の多くの国や地域で厳しい規制が行われています。

ここでは、i-Series Solution Package マイコトキシンスクリーニングシステムを用いた穀類（薄力粉、米粉）中のマイコトキシンのスクリーニング分析例をご紹介します。

A. Uchida

■ i-Series Solution Package マイコトキシンスクリーニングシステム

i-Series Solution Package Mycotoxin Screening System

本スクリーニングシステムは、コンパクトで操作性の良い一体型 HPLC “i-Series” と前処理を含む分析方法がセットになっています。マイコトキシン分析専用のカラムとメソッドファイル、分析手法が書かれた取扱説明書およびレポートテンプレートがキット化されており、分析から解析までを Ready to Use の形で実施できます。スクリーニング用途として、食品中のマイコトキシンが基準値を超えているか否かを判断することが可能です。

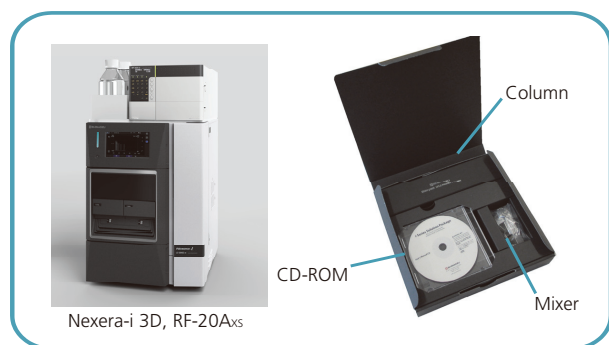


Fig. 1 マイコトキシンスクリーニングシステム
Mycotoxin Screening System

食品中のアフラトキシン類の分析は、現在 HPLC や LC/MS が主流となっています。HPLC の場合は、感度面から蛍光誘導体化が行われることが多いですが、手作業による誘導体化処理の煩雑さや時間がかかるなど難点があります。一方、LC/MS は感度面、選択性で優れていますが、導入には高額な費用が必要です。

本システムは、i-Series 内蔵の PDA 検出器のほかに、拡張検出器として世界最高レベルの感度を実現した蛍光検出器 RF-20Axs を併用しています。アフラトキシン類を誘導体化しなくても直接検出が可能です。

■ 標準溶液の分析

Analysis of Standard Solution

マイコトキシンスクリーニングシステムのスクリーニング対象を Table 1、構造式を Fig. 2、分析条件を Table 2 に示します。分析メソッドファイルがパッケージに含まれていますので、分析条件を設定する必要はありません。RF-20Axs は、オンタイム励起・蛍光波長切り替えを用いて分析しました。

Table 1 スクリーニング対象成分
Compounds for Screening

	Mycotoxin	Abbreviation	Matrix
1	Aflatoxin M ₁	AFM ₁	Milk
2	Aflatoxin G ₂	AFG ₂	Grain
3	Aflatoxin G ₁	AFG ₁	
4	Aflatoxin B ₂	AFB ₂	
5	Aflatoxin B ₁	AFB ₁	
6	Zearalenone	ZON	
7	Ochratoxin A	OTA	
8	Nivalenol	NIV	
9	Deoxynivalenol	DON	
10	Patulin	PAT	Apple

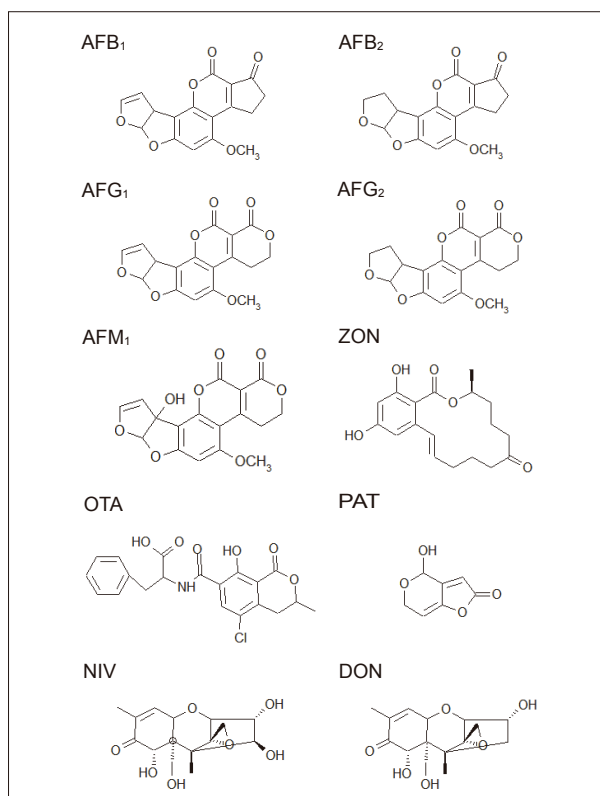


Fig. 2 スクリーニング対象マイコトキシンの構造
Structures of the Target Mycotoxins

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

System	: Nexera-i 3D, RF-20Axs
Column	: Shim-pack GIST C18 (75 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: A) 20 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH 2.5) B) Acetonitrile C) Methanol (Gradient elution)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 55 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Detection (RF-20Axs)	: AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ , AFM ₁ OTA, ZON : Ex 365 nm, Em 450 nm OTA, ZON : Ex 320 nm, Em 465 nm
Detection (Nexera-i 3D)	: NIV, DON : 220 nm (ch 1) PAT : 276 nm (ch 2)

食品中のマイコトキシンの規制値については国や地域により異なりますが、本スクリーニングシステムは最も厳しい EU の規制値（但しベビーフードを除く）にも対応しています。EU 基準値相当⁽¹⁾の標準溶液のクロマトグラムを Fig. 3 に示します。

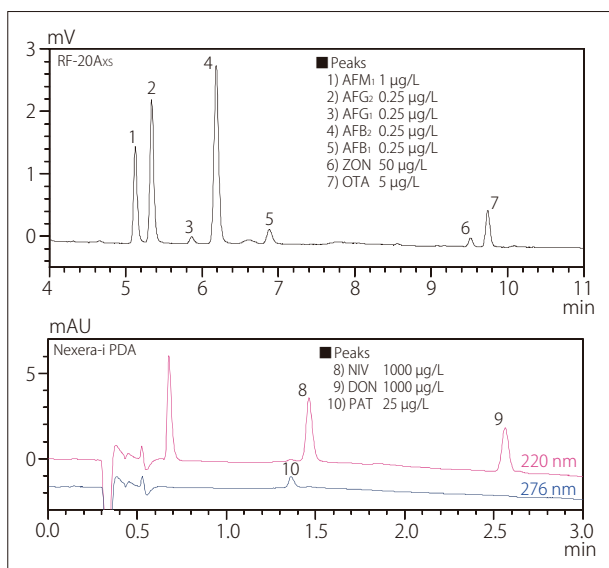


Fig. 3 標準溶液のクロマトグラム
Chromatograms of Standard Mixture

■ 穀類中のマイコトキシンの分析

Analysis of Mycotoxins in Grain

ここでは、製粉した穀類を前処理し分析した例をご紹介します。Fig. 4 は前処理方法の概略です。詳細については、マイコトキシンスクリーニングシステムの取扱説明書をご参照ください。薄力粉・米粉を前処理した試料と、Table 1 に示したスクリーニング対象成分のうち穀類に産生するマイコトキシンを標準添加した試料のクロマトグラムを Fig. 5, Fig. 6 に示します。

基準値相当の溶液の各ピーク面積と、試料中の各面積を比較することにより、基準値を超えて違反した試料かどうか判断できます。判定は分析終了後に煩雑な解析をせずに確認できるようにパッケージ化されていますので、容易にスクリーニングを行うことが可能です。

脚注

- (1) i-Series Solution Package マイコトキシンスクリーニングシステムの取扱説明書の前処理方法に従った場合の標準溶液中の換算濃度になります。
- (2) MycoSpin™ 400 および MultiSep® 227 は Romer Labs 社の登録商標です。

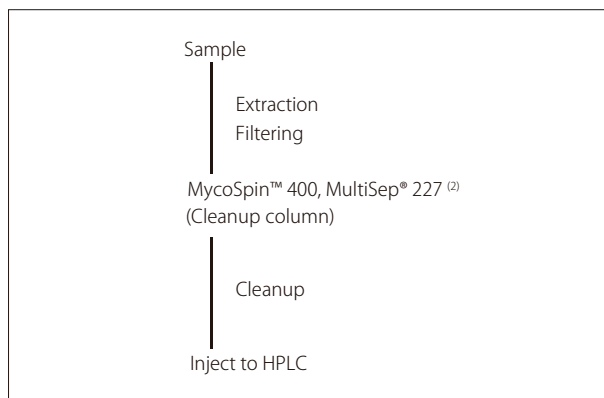


Fig. 4 前処理方法
Sample Preparation

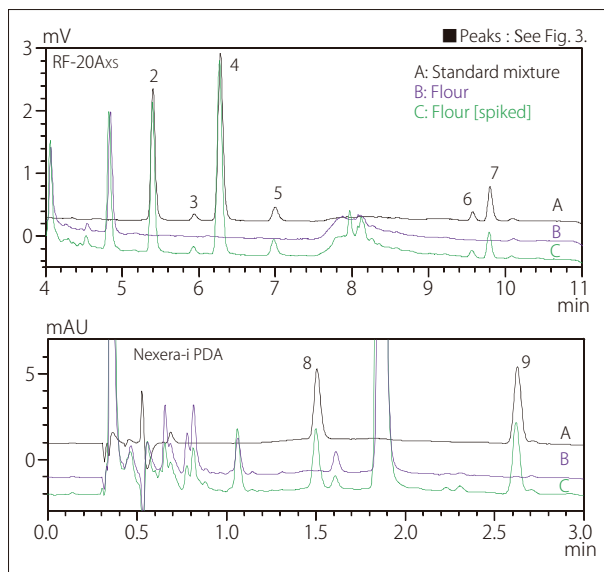


Fig. 5 薄力粉のクロマトグラム
Chromatograms of Flour

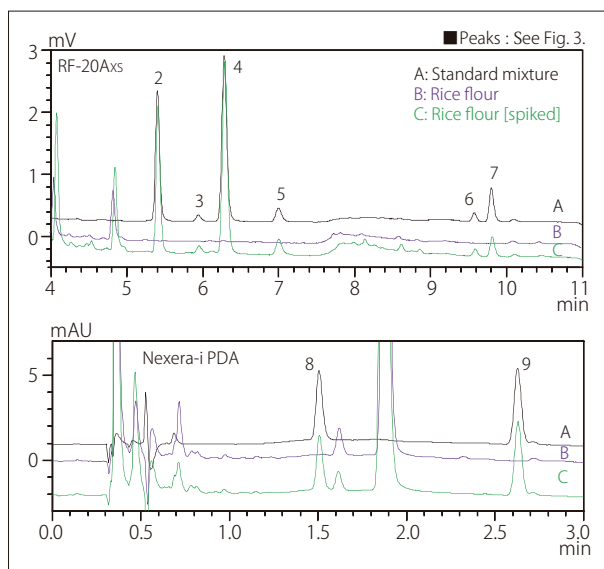


Fig. 6 米粉のクロマトグラム
Chromatograms of Rice Flour