

# Application News

## No. L484

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

### “Prominence-i”による小麦中のニバレノール およびデオキシニバレノールの分析

Analysis of Nivalenol and Deoxynivalenol in Wheat by “Prominence-i”

ニバレノールおよびデオキシニバレノールは赤かび病菌として知られるフザリウム属真菌が産生するかび毒の一つです。デオキシニバレノールについては、平成14年5月21日に「小麦のデオキシニバレノールに係る暫定的な基準値の設定について」（食発第0521001号）で暫定的な基準値1.1 ppmが設定されました。

アプリケーションニュース No. L362 では超高速 LC システムでの分析例をご紹介しましたが、ここでは、「デオキシニバレノールの試験法について」（食安発第0717001号、平成15年7月17日）を参考にし、分析カラムの洗浄工程を追加しました。

新一体型高速液体クロマトグラフ “Prominence-i” の検出器部は、セル部分と光学系の両方を温調しています。今回のような短波長域での UV 検出では、環境による温度変化の影響を受けやすいのですが、良好な再現性が得られました。

A. Uchida A. Nomura

#### ■ 標準溶液の分析

Analysis of a Standard Mixture

Fig. 1 は、ニバレノールおよびデオキシニバレノールの標準溶液（各 4.0 ppm）を 10  $\mu$ L 注入した結果です。分析条件を Table 1 に示します。試験法ではイソクラティック分析ですが、本アプリケーションでは、デオキシニバレノールの溶出後に、カラム洗浄工程を追加しています。一体型高速液体クロマトグラフ Prominence-i には低圧グラジエントユニットが標準搭載されていますので、目的成分溶出後に、高い有機溶媒比率の移動相を簡単に送液できます。

暫定基準値の約 1/10 にあたる 0.1 ppm の標準溶液を 6 回繰り返し分析しました。その際の保持時間および面積の相対標準偏差 (%RSD) を Table 2 に、クロマトグラムを Fig. 2 に示します。

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack GIS C18 (250 mmL. $\times$ 4.6 mmI.D., 5 $\mu$ m)
Mobile Phase A	: Water/Acetonitrile/Methanol=90/5/5(v/v/v)
Mobile Phase B	: Acetonitrile/Methanol=50/50(v/v)
Time Program	: B Conc. 0 % (0-20 min)-50 % (20.01-25 min) -0 % (25.01-45 min)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 $^{\circ}$ C
Injection Volume	: 10 $\mu$ L
Detection	: UV 220 nm (Cell temp. 45 $^{\circ}$ C)

Table 2 再現性 (0.1 ppm, n=6)  
Repeatability (0.1 ppm, n=6)

	R.T.%RSD	Area %RSD
Nivalenol	0.09	0.68
Deoxynivalenol	0.06	0.76

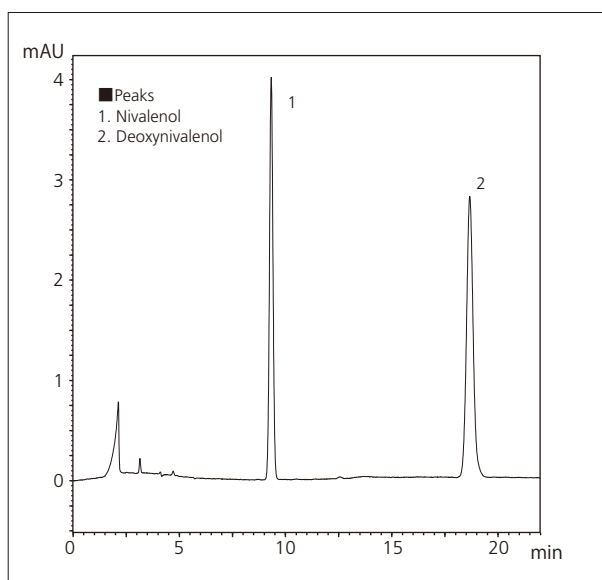


Fig. 1 標準溶液のクロマトグラム (各 4.0 ppm)  
Chromatogram of a Standard Mixture (4.0 ppm each)

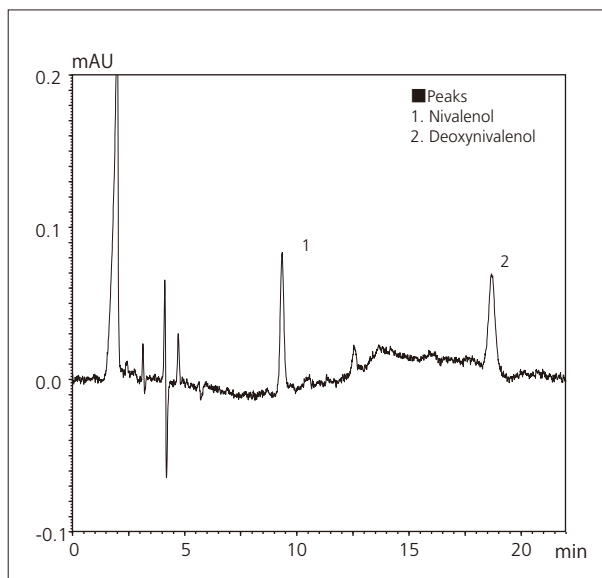


Fig. 2 標準溶液のクロマトグラム (各 0.1 ppm)  
Chromatogram of a Standard Mixture (0.1 ppm each)

## ■ 検量線の直線性

### Linearity of Calibration Curves

Fig. 3 に Table 1 の条件で分析した検量線を示します。各成分の 0.1 ~ 4 ppm の濃度範囲で検量線を作成したところ、各成分とも寄与率  $R^2=0.9999$  以上と良好な直線性が得られました。

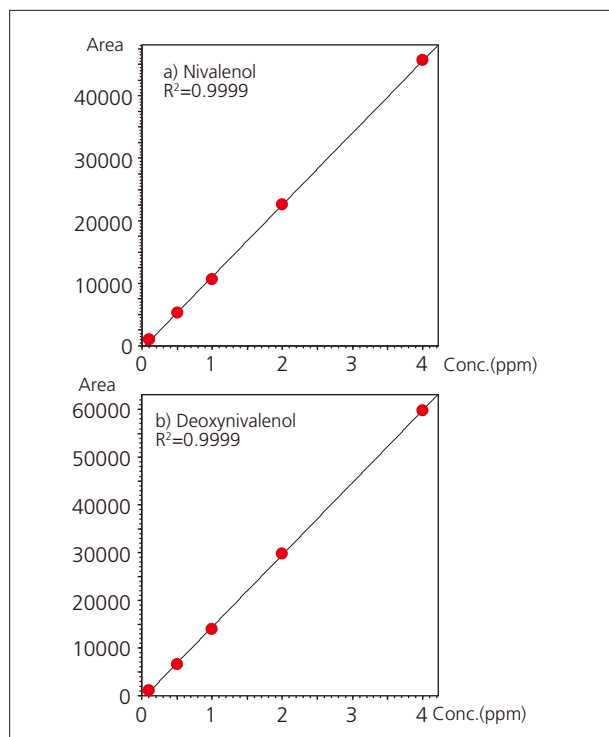


Fig. 3 検量線の直線性 a) ニバレノール b) デオキシニバレノール  
Linearity of Calibration Curves a) Nivalenol b) Deoxynivalenol

## ■ 小麦の分析

### Analysis of Wheat

Fig. 4 に小麦の前処理手順をしました。2種類の小麦について、それぞれ多機能カラム "MultiSep#227" (Romer Labs 社製) と, "Autoprep MF-T" (昭和電工社製) を用いて精製しました。

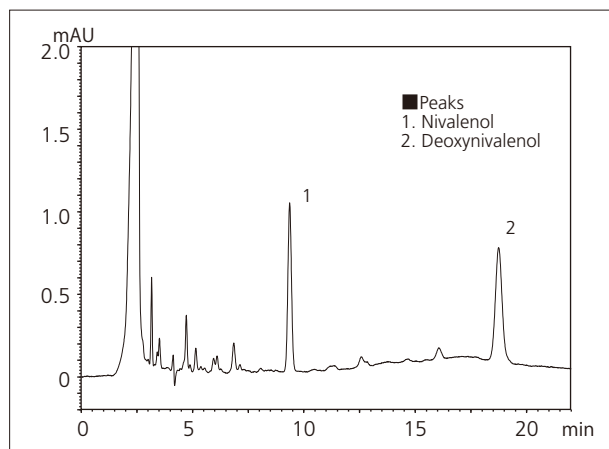


Fig. 5 小麦 A のクロマトグラム (各 1.0 ppm 添加) (MultiSep # 227)  
Chromatogram of Wheat A (Added 1.0 ppm each) (MultiSep # 227)

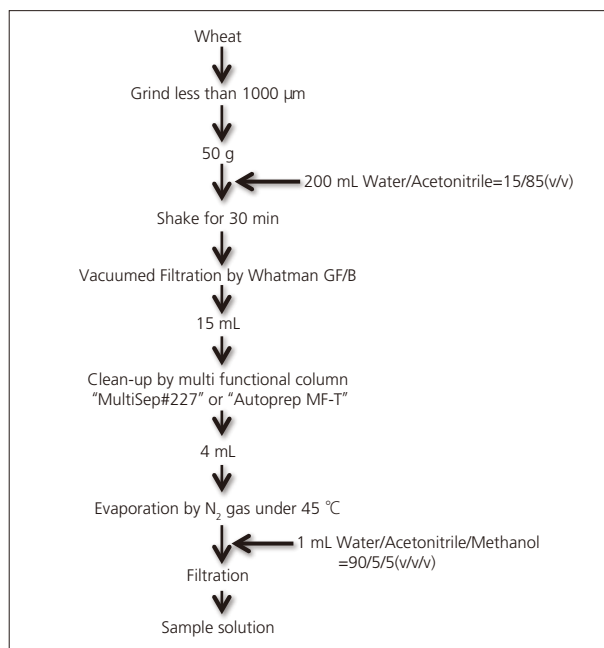


Fig. 4 前処理  
Pretreatment

それぞれの結果を Fig. 5, Fig. 6 に示しました。なお前処理した試料溶液にはニバレノールおよびデオキシニバレノールがそれぞれ 1.0 ppm になるように添加しました。

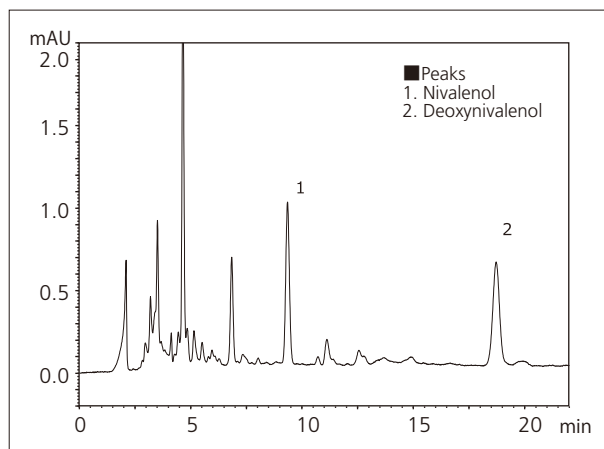


Fig. 6 小麦 B のクロマトグラム (各 1.0 ppm 添加) (Autoprep MF-T)  
Chromatogram of Wheat B (Added 1.0 ppm each) (Autoprep MF-T)