

自動前処理装置を用いたアフラトキシン分析法

(全自動固相抽出装置ST-L400)



全自動固相抽出装置
ST-L400
For STQ Method

はじめに

アフラトキシンとはアスペルギルス・フラバス (*Aspergillus flavus* : コウジカビの一種) などから生成されるカビ毒の総称であり、中でもアフラトキシンB1は天然物で最も強力な発がん性物質として知られています。

アフラトキシンについてはB1, B2, G1及びG2の総和として基準値が定められており、その試験法については厚生労働省から『総アフラトキシンの試験法』¹⁾として示されています。

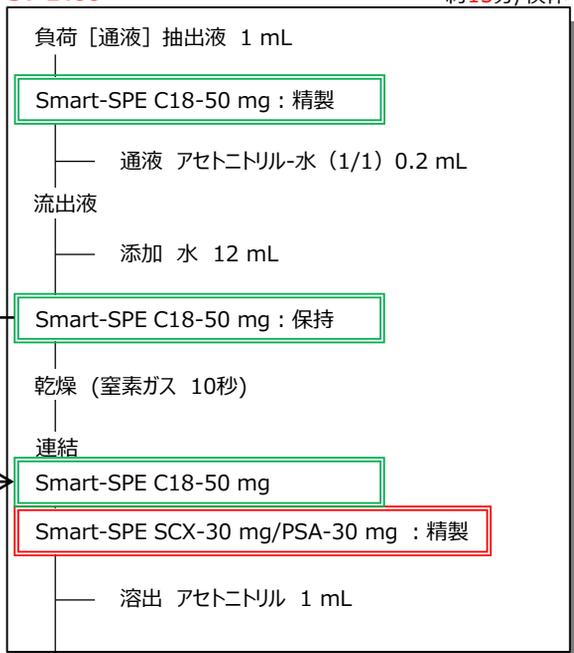
本アプリケーションでは、分析精度の安定・向上ならびに作業者のばく露防止を目的として全自動固相抽出装置を使用した分析方法を紹介します。

前処理フロー

- 試料 50 g
 - 添加 アセトニトリル-水 (9/1) 200 mL
- ホモジナイズ (5 min)
- 抽出液 5 mL分取
 - 添加 水 5 mL
- 遠心分離 (3,500 rpm 5 min)

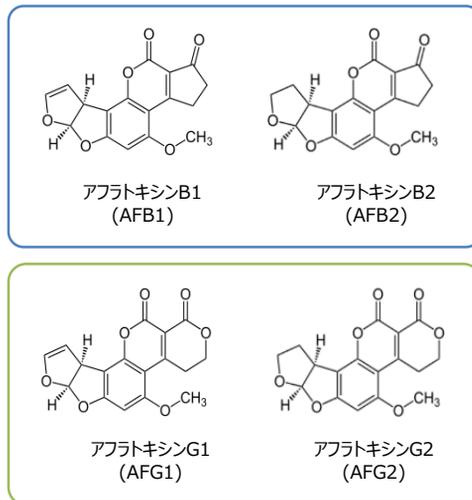
ST-L400

約15分/検体



定容 2 mL (水 約1 mLを添加して調整)

対象化合物



実験方法

- 分析試料：アーモンドパウダー、トウモロコシ
- 粉碎方法：ミルにて常温粉碎(トウモロコシのみ)
- 添加濃度(試料中)：各2.5 µg/kg
- 検量線：1点 0.1563 ppb(絶対検量線)



ホモジナイズ



遠心分離後



全自動固相抽出装置 ST-L400
(アイスティサイエンス)

Sample



Information

日本食品衛生学会
第115回学術講演会
ポスター発表(P-60)

「自動前処理装置によるアフラトキシン(B1, B2, G1, G2)分析法の開発」
○小西賢治、鳥三記絵、佐々野僚一、齋藤勲
(株)アイスティサイエンス

Key word

- ・ 自動前処理装置
- ・ 固相抽出
- ・ カビ毒

AiSTI SCIENCE

Product

ST-L400
Smart-SPE C18-50
Smart-SPE SCX-30
Smart-SPE PSA-30

株式会社アイスティサイエンス

www.aisti.co.jp

お問い合わせ先

TEL. 073-475-0033

E-Mail; as@aisti.co.jp

測定条件

【測定装置】

Nexera X2及びLCMS-8045 (島津製作所製)

【LC条件】

分析カラム: Shimpack FC-ODS (2 mmI.D. × 150 mL, 3 μm)

移動相 A液: 10 mM酢酸アンモニウム水

B液: メタノール

流速: 0.2 mL/min

グラジエント: B.Conc40%(0-2 min)→60%(10 min)→

90%(12-14 min)→40%(14.1-15 min)

分析時間: 15分

注入量: 10 μL

カラム温度: 40 °C

【MS条件】

イオン化モード: ESI positive

ネブライザーガス流量: 2 L/min

ドラインガス流量: 10 L/min

ヒーティングガス流量: 10 L/min

インターフェース温度: 300 °C

DL温度: 250 °C

ヒートブロック温度: 400 °C

測定モード: MRM



Nexera X2及びLCMS-8045
(島津製作所)

検討

1. C18ミニカラムによる精製・保持

C18ミニカラムとアセトニトリル-水比率による精製・保持の最適条件を検討しました。

図1の結果より、アフラトキシンはアセトニトリル-水(1/1)の比率でC18から流出しました。そこで無・低極性夾雑物の除去効果を高めるため抽出液に水を添加し、アセトニトリル-水(1/1)に調製して最初のC18に通液しました。

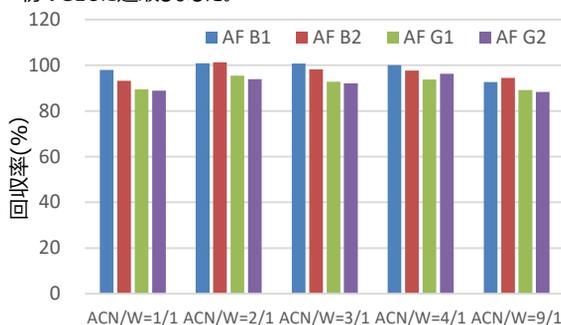


図1 C18ミニカラムにおけるアセトニトリル-水比率と回収率の関係

図2の結果より、アフラトキシンはアセトニトリル-水(1/20)の比率でC18に保持しました。そこで最初のC18からの流出液に更に水を添加し、アセトニトリル-水(1/20)に調製して2個目のC18に通液しアフラトキシンをC18に保持させました。これにより高極性夾雑物を除去しました。



図2 C18ミニカラムにおけるアセトニトリル-水比率と保持の関係

2. イオン交換系ミニカラムによる精製

C18で保持したアフラトキシンを溶出する際に、イオン系夾雑物の除去を目的として追加精製を行うことにしました。陰イオン交換カラム、陽イオン交換カラムの組合せについてアーモンド抽出液に標準溶液を添加して回収率を評価したところ、図3よりSCX+PSAで良好な回収率が得られました。

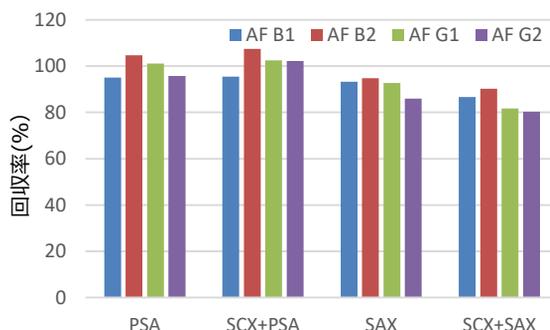


図3 陽イオン交換、陰イオン交換ミニカラムにおける回収率

結果と考察

アーモンドおよびトウモロコシを用いて4種類のアフラトキシン(B1,B2,G1,G2)の添加回収試験を行いました(添加濃度: 試料中2.5μg/kg)。各成分について測定時の夾雑物の影響もなく、回収率、再現性ともに良好な結果が得られました(表1)。

表1 添加回収試験結果

	保持時間※ (分)	(n=5)			
		アーモンド		トウモロコシ	
		回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
AF B1	8.95	93	6.5	94	7.0
AF B2	8.01	83	3.7	86	9.4
AF G1	7.08	89	6.0	107	6.9
AF G2	6.06	85	5.1	100	8.9

※保持時間は弊社実測値

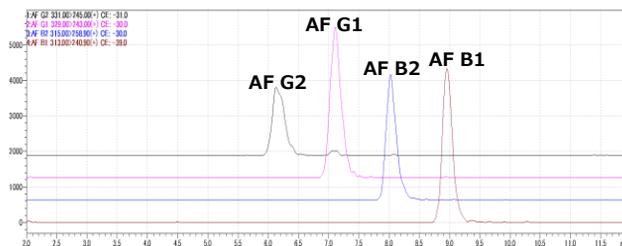


図4 標準試料(0.1563ppb)のクロマトグラム

参考文献

- 厚生労働省, 食安発0816第2号 平成23年8月16日
- 厚生労働省 ホームページ “違反事例”
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/yunyu_kanshi/ihan/index.html, (参照 2019-09-30)