

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、島三記絵、佐々野僚一、斉藤勲
株式会社アイスティサイエンス

【目的】アフラトキシン(以下AF)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AFB1は天然物で最も強力な発がん性物質として知られている。検査方法については、厚生労働省から『総アフラトキシン (AFB1, B2, G1, G2) の試験法¹⁾』が公開されているが、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固相抽出操作の自動化を検討した。

【方法】分析試料：アーモンド、標準品：アフラトキシン混合標準液 (B1, B2, G1, G2 各 25 μg/ml アセトニトリル溶液) (富士フィルム和光純薬)、自動前処理装置：ST-L400 (アイスティサイエンス)、測定装置：Nexera X2 及び LCMS-8045 (島津製作所)

抽出 (溶媒抽出) 操作：試料 50.0 g にアセトニトリル-水 (9/1) 200 mL を加えホモジナイズした後、上澄み 10 mL を遠心分離したものを抽出液とした。

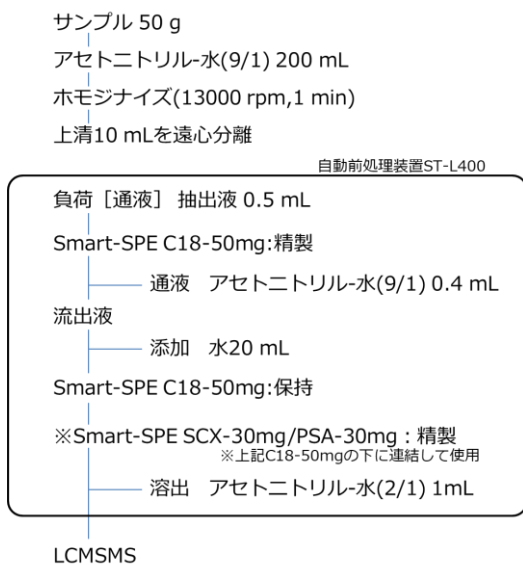


図1) 前処理フロー

精製 (固相抽出) 操作：抽出液 0.5 mL を取り C18 に通液した。流出液および洗浄液 (アセトニトリル-水 (9/1)) 0.4 mL に水 20 mL を混合し別の C18 に通液して AF を保持させた。C18 に SCX と PSA を連結し、アセトニトリル-水 (2/1) 1 mL で溶出・定容したものを試験液とした。

【結果と考察】固相 C18 への保持：アセトニトリル-水比率を変化させて C18 に通液した際に AF が保持される条件を検討した。アセトニトリル-水 (1/20) のとき、AF が十分保持された。

固相 C18 からの溶出：アセトニトリル-水 (2/1) を用いることで脂質などの無極性夾雑物 C18 に保持させたままから AF を溶出できた。また溶出の際に陰イオン交換相互作用を持つ PSA、陽イオン交換作用を持つ SCX を連結して追加精製を行った。

添加回収試験 (n=5) による試験法の評価：試料中濃度が各 2.5 μg/kg となるように AF を添加したアーモンドを分析用サンプルとして添加回収試験を行ったところ、下表1) のとおり良好な結果が得られ、夾雑成分による影響は見られなかった。

		※n=5	
	回収率 (%)	RSD (%)	
AF B1	93	6.5	
AF B2	83	3.7	
AF G1	89	6.0	
AF G2	85	5.1	

表1) 添加回収試験結果

固相抽出操作を自動化することで、ばく露を防ぎながら安定した精度で分析できた。今後はスパイス等について検討したい。

1) 厚生労働省, 食安発0816第2号 平成23年8月16日