

[操作条件]

(LC)

Model : Agilent 1000
Column : Zorbax Eclipse XDB C18
(内径2.1 mm, 長さ150 mm, 5 μ m)
Mobile phase: A; メタノール、
B; 10mM 酢酸アンモニウム
10%A/B--(20min)--40%A/B
アセトン ; 0.06ml/min
Flow rate : 0.2 ml/min
Oven temp. : 40°C
Injection vol.: 10 μ l

(MS)

Model : Agilent 1100MSD SL
Inization : APPInegative
Scan range : m/z 100-500
SIM ion : DON (355)、NIV(371)
Nebulizer : N2 (55psi)
Fragmentor voltage : 100V
Drying gas : N2 (7 L/min, 350°C)
Vaporizer temp. : 300°C

C. 研究結果及び考察

(1) 液体クロマトグラフ質量分析計によるデオキシニバレノール及びニバレノールの定量法の検討

デオキシニバレノール及びニバレノールの検出定量法とし、GC-ECD、GC-MS、HPLC-UV法(文献7-10)が報告されているが、GC-ECD、GC-MSではGCに導入する前に誘導体化する必要があり、HPLC-UVは検出感度低い等の難点がある。近年、高感度、高選択的分析法として液体クロマトグラフ質量分析計による方法が報告されている。イオン化法としてエレクトロスプレーイオン化

(ESI)が一般的であるが、デオキシニバレノール及びニバレノールの検出にはさほど高感度とはいえなかった。そこで、特定の化合物に対して特異的に直接イオン化が可能である紫外線ランプを使用した大気圧光イオン化(APPI)を検討した。Scanモードでのトータルイオンとマスフラグメントを図1に示したようにデオキシニバレノールではm/z 355が、ニバレノールはm/z 371がベースピークとなり、SIMモードでの測定イオンとした。検出限界、定量性、再現性、選択性等について検討した。デオキシニバレノール、ニバレノール共に2pg濃度(0.2ng/mlの標準溶液10 μ l注入)が検出可能であり、標準溶液の直線性は図2に示したように、1-100ng/mlの範囲でr=0.999701(DON)、r=0.999769(NIV)と良好な結果であった。また、麦類の試料に適用したとき、定量を妨害する夾雑物もなく、1ng/gの定量限界が十分保証された。図3に標準溶液のSIMクロマトグラム及び図4、5に低濃度汚染から高濃度汚染試料のクロマトグラム例を示した。

(2) 麦類の汚染調査結果

麦類81試料についてデオキシニバレノール及びニバレノールの汚染実態を調査した結果を表1に示した。デオキシニバレノールは68試料(84%)からニバレノールは67試料(83%)から定量限界1ng/g以上の濃度で検出され、検出された濃度の平均はデオキシニバレノール及びニバレノールそれぞれ238ng/g、10ng/gであった。

80%以上の麦類からデオキシニバレノール及びニバレノールが検出され、

汚染頻度が高い結果であった。また、汚染濃度を見たとき、デオキシニバレノールは平均濃度が238ng/gで、22試料32%が100ng/g以上であった。さらに、4試料がppmオーダーの汚染が認められ、これら麦類の最終製品への残留性の検討の必要性を示唆した。一方、ニバレノールは陽性試料の平均濃度は10ng/gで100ng/g以上が1試料であり、デオキシニバレノールに比べ、低濃度であった。しかし、デオキシニバレノールとニバレノール汚染濃度比は汚染菌の性質、地域性に大きく影響されることから、今回の結果は麦類の収穫地域によることが考えられ、ニバレノールの汚染状況の把握には、さらに収穫地を考慮した調査が必要であろう。

D. 結論

麦類81試料についてデオキシニバレノール及びニバレノールの汚染実態を調査した結果、デオキシニバレノールは68試料（84%）に、ニバレノールは67試料（83%）に汚染が認められた。検出された濃度の平均はデオキシニバレノール及びニバレノールそれぞれ238ng/g、10ng/gであった。

[文献]

1. Ueno, Y.: 食衛誌, 14, 403 (1973)
2. Ueno, Y.: 食衛誌, 14, 501 (1973)
3. *in* Trichothecenes-Chemical Biological and Toxicological Aspects, Ueno, Y. ed., Elsevir., (1983)
4. Tanaka, T. *et al.*, : J. Agric. Food Chem., 35 (5) 979 (1988)
5. Yoshizawa, T., : *in* Mycotoxins and Animal Foods, Smith, J. E. and Henderson R. S. eds., CRC Press, Inc., p. 306 (1991)
6. WHO: Environmental Health Criteria 105, Selected Mycotoxins : Ochratoxins, Trichothecens, Ergot, WHO, Geneva, 1990
7. Tanaka, T. *et al.*, : Food Add. Contam., 2, 259 (1985)
8. Tanaka, T. *et al.*, : J. Chromatogr., 328, 271 (1985)
9. Yoshizawa, T., : *in* Mycotoxin protocols, Truchsess, M. W. and Pohland A. E. eds., Humana Press, p. 115 (2001)
10. Tanaka, T., *et al.* : J. Chromatogr. A, 882, 23 (2000)

表 1. 麦類中のデオキシニバレノール (DON)及びニバレノール(NIV)

試料番号	デオキシニバレノール (ng/g)	ニバレノール (ng/g)
1	0	0
2	2	1
3	740	5
4	2	0
5	1	0
6	5	0
7	1	1
8	7	3
9	0	0
10	9	0
11	1	0
12	1	0
13	668	3
14	20	6
15	0	0
16	0	0
17	3	0
18	5	5
19	376	4
20	41	7
21	1	1
22	0	0
23	152	1
24	5	3
25	1	27
26	9	18
27	0	6

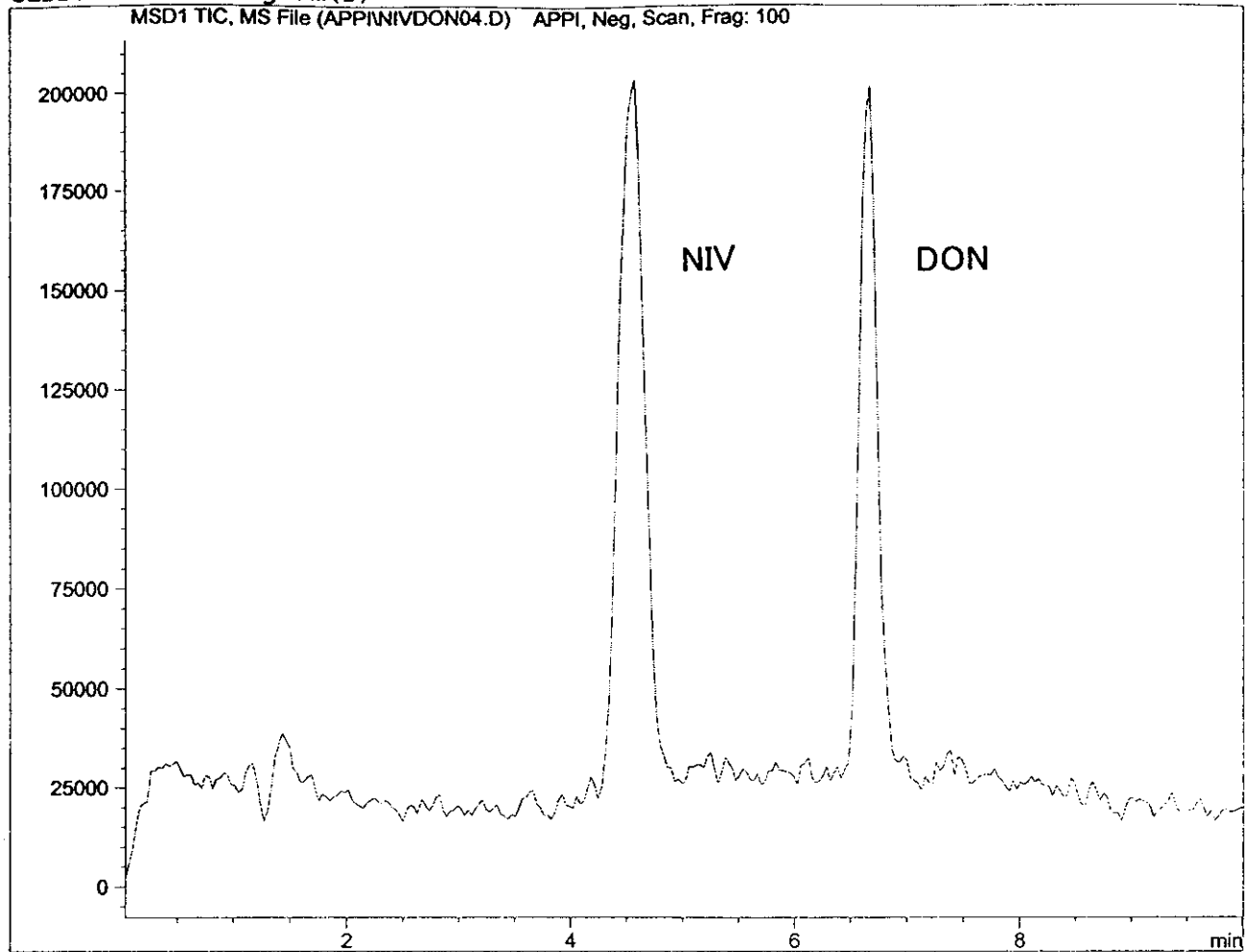
表 1. 麦類中のデオキシニバレノール (DON)及びニバレノール(NIV) (続き)

28	0	1
29	2	3
30	2	3
31	2	22
32	0	8
33	5	10
34	15	25
35	0	2
36	1	10
37	0	4
38	7	10
39	1	15
40	2	5
41	4	2
42	3	10
43	2	11
44	0	4
45	3	3
46	0	0
47	0	2
48	1	11
49	1	7
50	1	3
51	6	21
52	28	110
53	3	10
54	5	5
55	47	48
56	2248	18
57	151	6

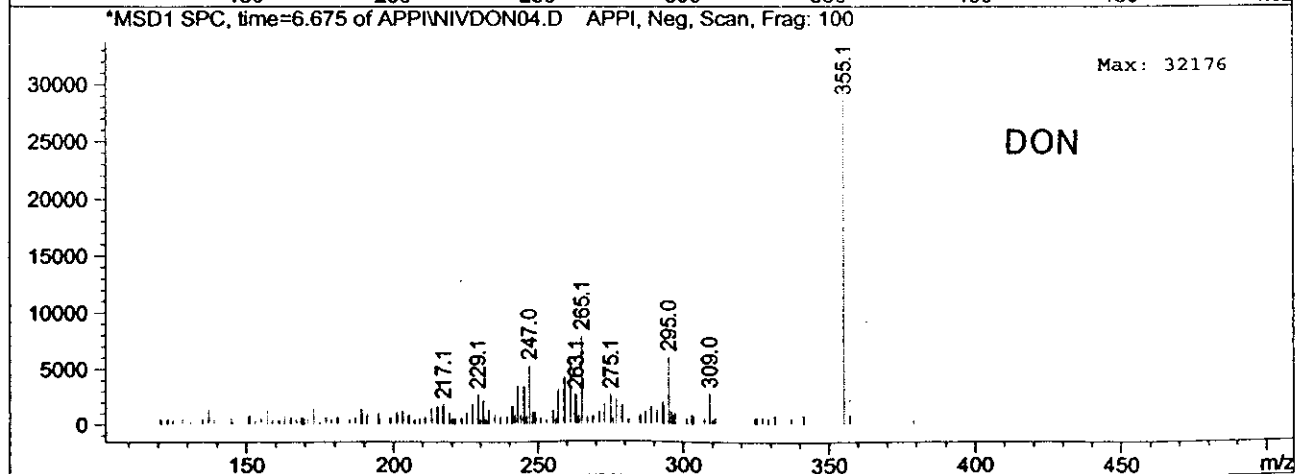
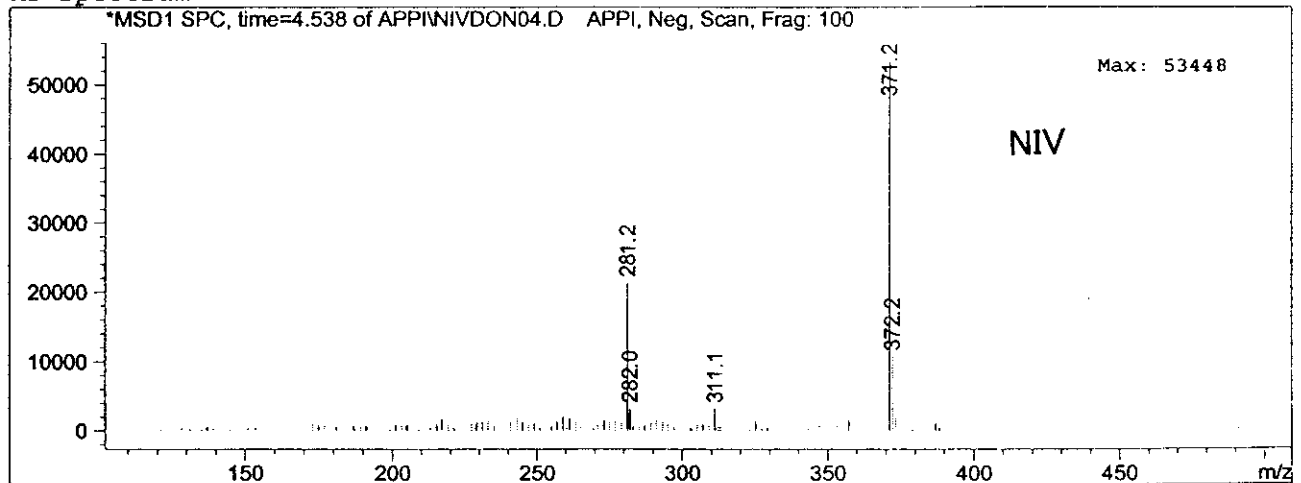
表 1. 麦類中のデオキシニバレノール (DON)及びニバレノール(NIV)(続き)

58	959	18
59	863	23
60	1938	14
61	302	6
62	1584	21
63	480	11
64	576	7
65	233	5
66	2105	21
67	506	7
68	554	7
69	184	3
70	276	6
71	398	6
72	13	2
73	395	14
74	130	8
75	5	3
76	9	2
77	2	1
78	3	1
79	6	0
80	34	1
81	5	2
陽性/全試料数	68/81	67/81
(%)	(84%)	(83%)
検出濃度範囲		
(ng/g)	1-2248	1-110
陽性試料の平均		
濃度 (ng/g)	238	10

Current Chromatogram (s)



MS Spectrum



1. Total ion chromatogram and mass spectra of deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV)

検量線：1~100ng/mlの標準溶液を10ul注入し検量線を作成した

Toxin	DON	NIV
Rt (min)	6.66	4.55
濃度 (ng/ml)	ピーク面積 x e5	ピーク面積 x e5
1.00	0.2221	0.3434
2.00	0.4475	0.6753
5.00	1.1769	1.7748
10.00	2.5314	3.9131
20.00	5.6867	9.1401
50.00	15.9254	25.2505
100.00	31.1777	51.1218

回帰分析：上記データより下記の関係式を求めた。

	相関係数	傾き	Y切片
DON	0.999701	3.159186	1.056657
NIV	0.999769	1.931300	1.413917

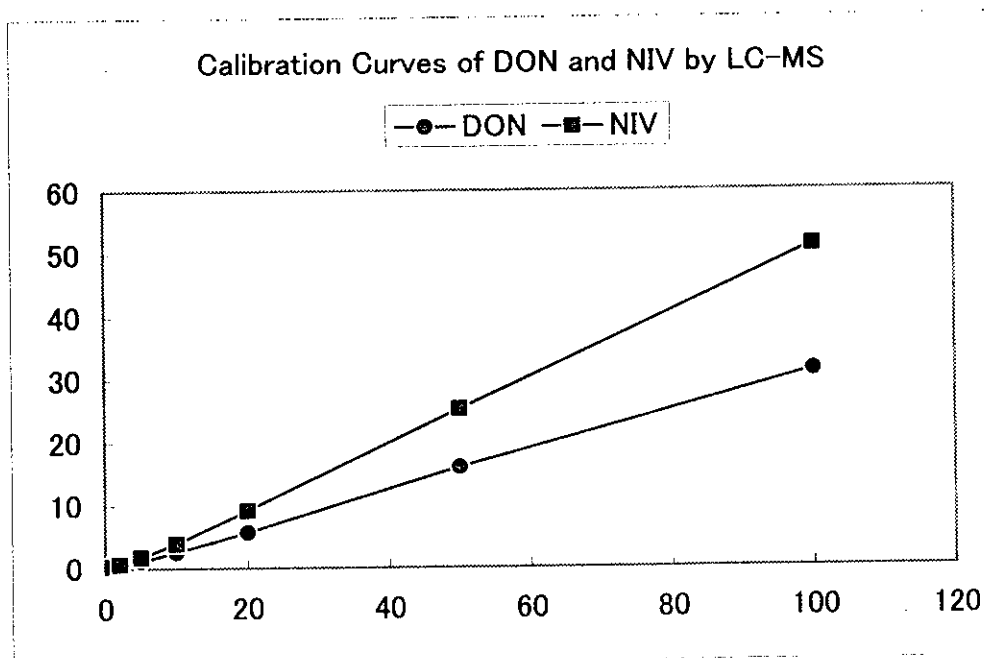
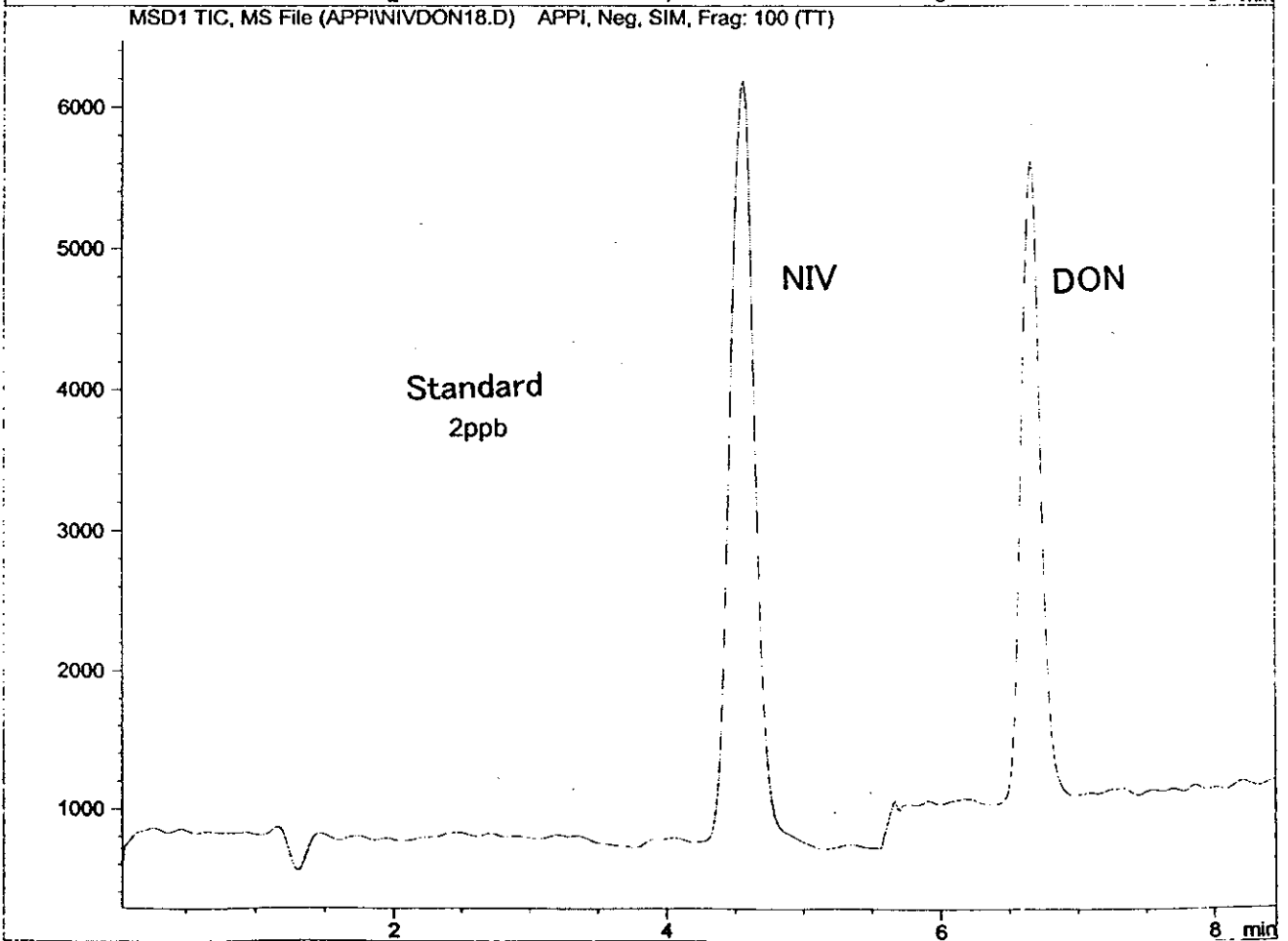
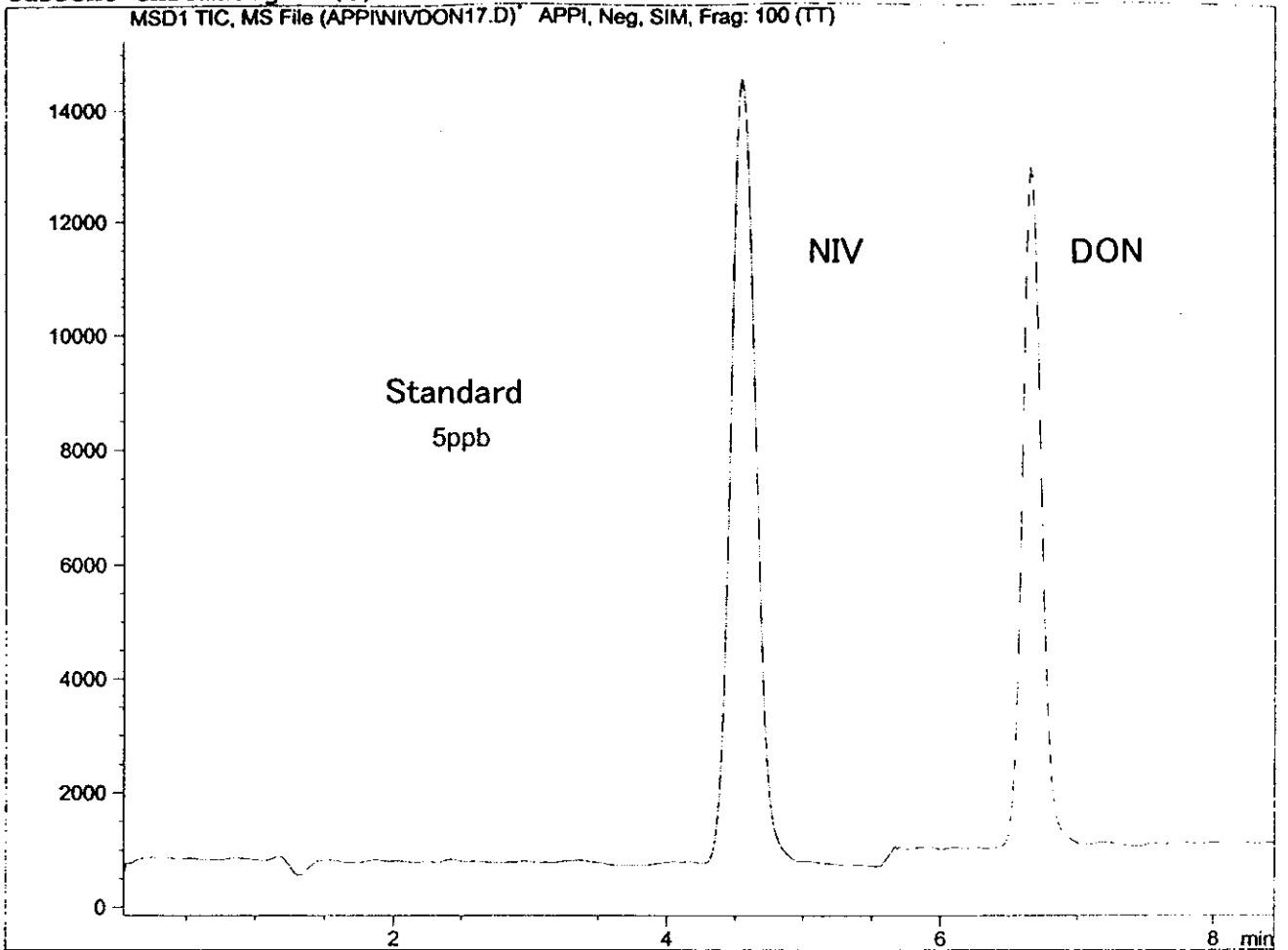


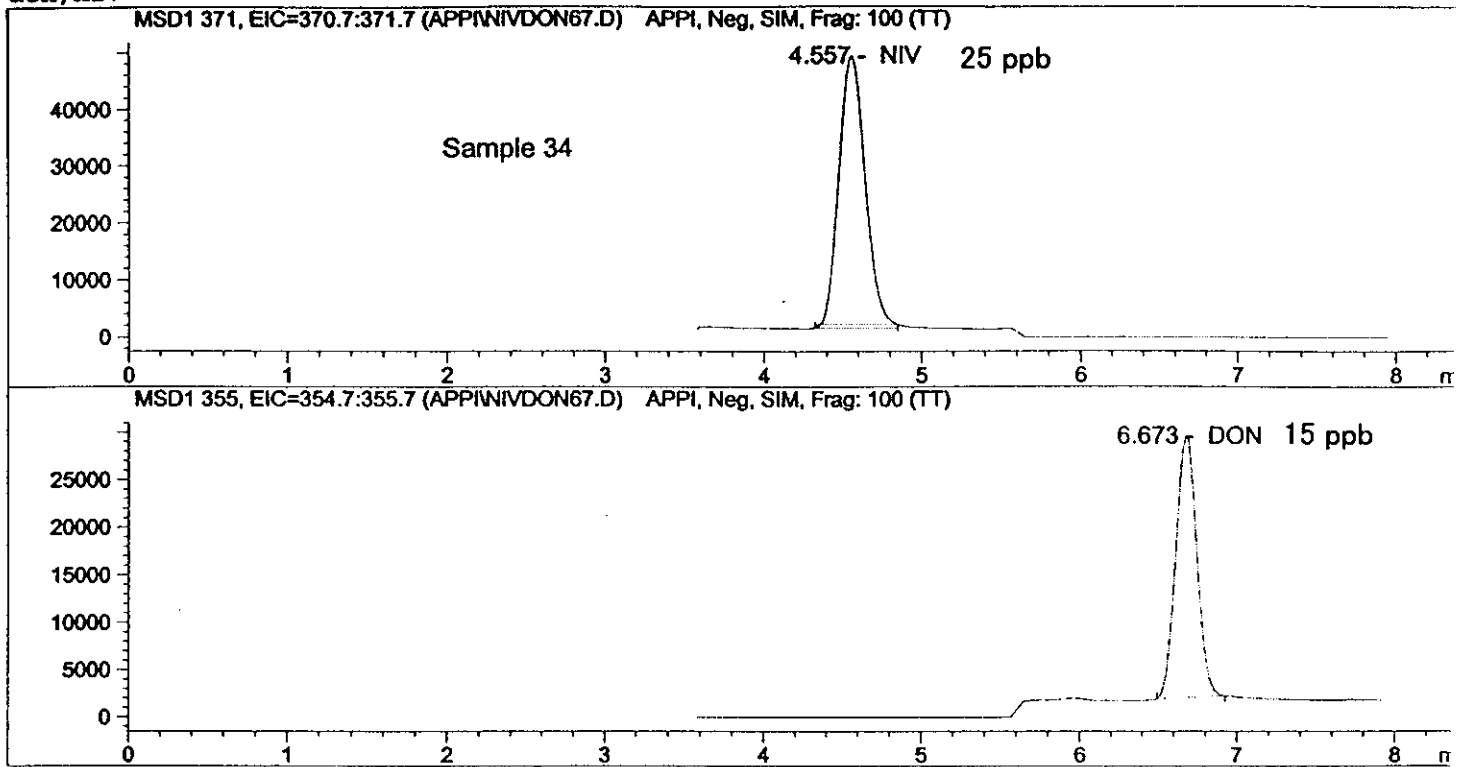
図2. デオキシニバレノール及びニバレノール標準溶液の検量線

Current Chromatogram(s)

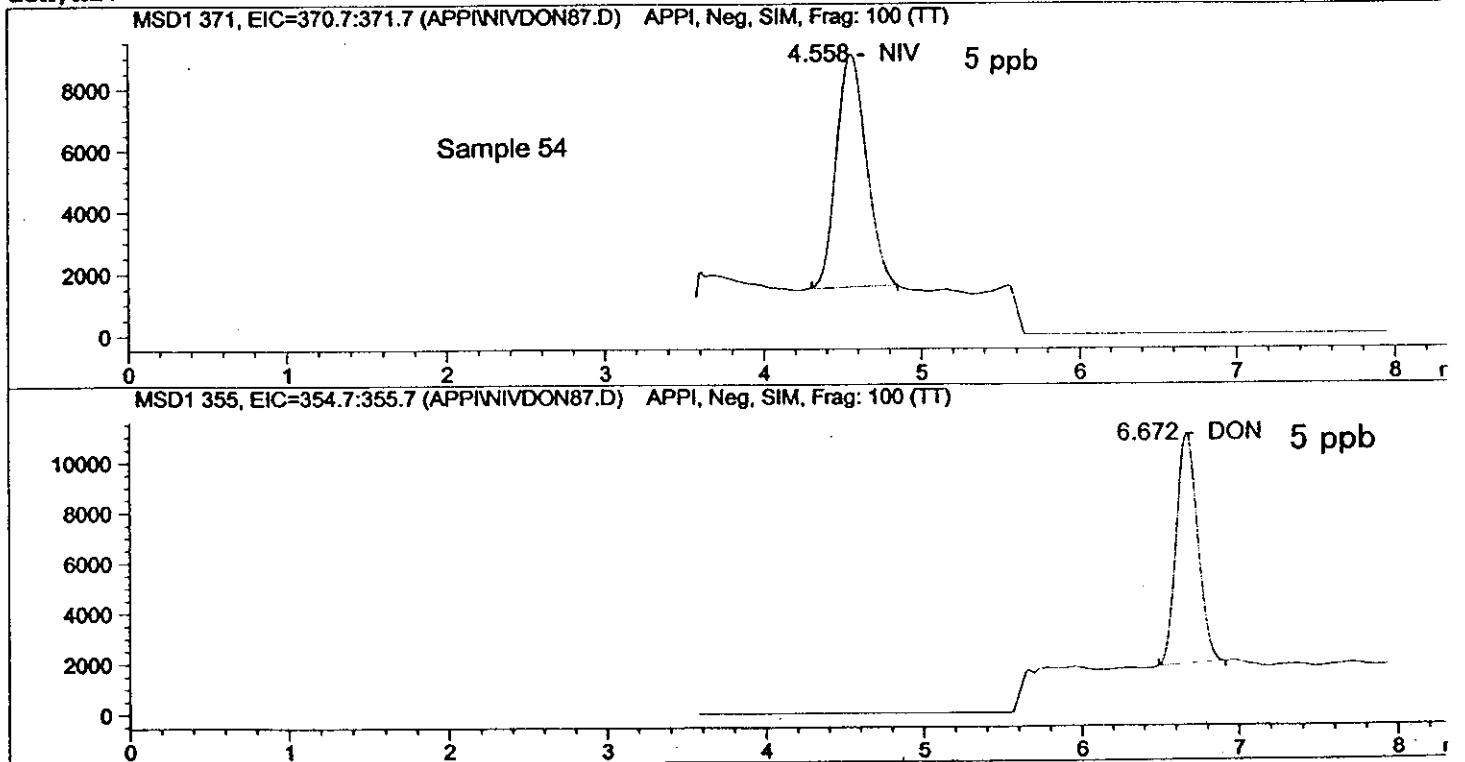


3. SIM chromatogram of deoxynivalenol (DON) and nivalenol (NIV) standard

don, niv

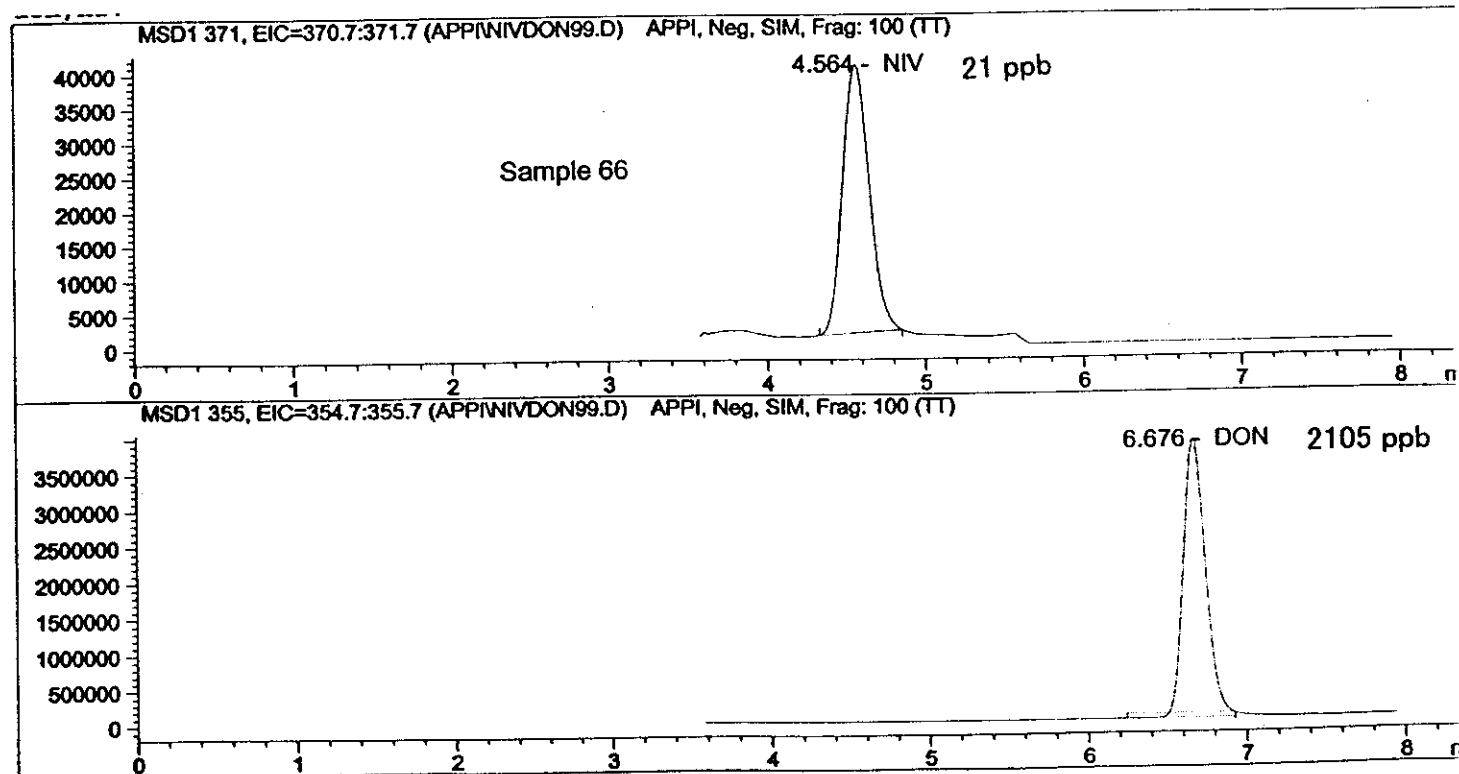
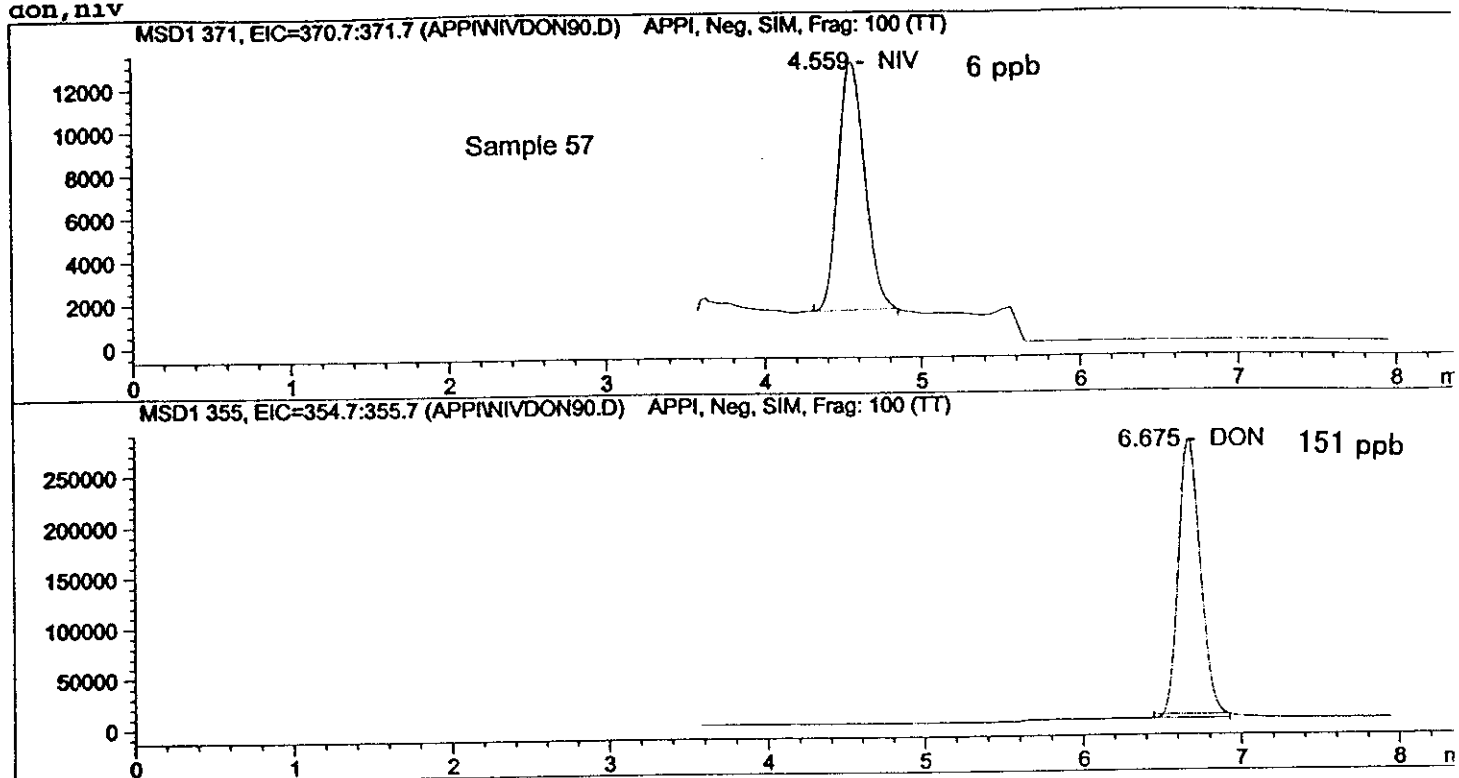


don, niv



☒ 4. SIM chromatogram of sample contaminated with DON and NIV

don, niv



☒ 5. SIM chromatogram of sample contaminated with DON and NIV