4-(p-ニトロベンジル) ピリジンによる薄層上でのトリコテセン系 マイコトキシンの検出・定量

加 藤 俊 博・滝 谷 昭 司*¹

T. KATO and S. TAKITANI*¹: Detection and determination of trichothecene mycotoxins with 4-(p-nitrobenzyl) pyridine on thin layer chromatography

トリコテセン系マイコトキシンがアルキル化剤や有機リン化合物の呈色試薬として用いられている 4-(p-ニトロベンジル) ピリジン (NBP) とテトラエチレンペンタミン (TEPA) により青色を呈することを見出し、この反応を検討して薄層クロマトグラフィーによるトリコテセン系マイコトキシンの検出・定量法を確立したので報告する。

操 作 法

トリコテセン系マイコトキシンのクロロホルム溶液 (ニパレノールは水溶液) 2 μ l を市販プレコートシリカゲル薄層にスポットし、適当な溶媒系で原点より

10 cm 展開後風乾し、3% (w/v) NBP クロロホルム-四塩化炭素 (2:3) 溶液に浸す。風乾後 150° で30分間加熱し、冷後 10% (v/v) TEPA クロロホルム-四塩化炭素 (2:3) 溶液に浸して発色させる。定量は島津クロマトスキャナ-CS-910 を用いて二波長測光 ($\lambda_1=610$ nm, $\lambda_2=710$ nm) を行う。検出を目的とする場合には NBP 濃度を 1% とする。

結果および考察

本法はトリコテセン系マイコトキシンの共通構造である 12, 13-エポキシ基と NBP の反応に基づくものであり、従ってトリコテセン系マイコトキシンに共通の

Table 1. Chromatographic data of trichothecene mycotoxins

Mycotoxin	R _f value ^a				Detection limit ^b μ g/spot	Determination range ^b μ g/spot	Color stability hr
	A	B	C	D			
Tetraacetylivalenol	0.72	0.62	0.53	0.63	0.1		3
Crotocin	0.72	0.59	0.43	0.65	0.05		1
T-2 toxin	0.64	0.55	0.38	0.52	0.1	10-0.1	3
Diacetoxyscirpenol	0.60	0.52	0.34	0.50	0.2	10-0.5	3
Diacetylivalenol	0.57	0.51	0.34	0.44	0.05		3
Fusarenon-X	0.36	0.41	0.24	0.29	0.05	10-0.1	2
Neosolaniol	0.39	0.38	0.14	0.29	0.1	10-0.2	1.5
HT-2 toxin	0.31	0.30	0.13	0.21	0.02	10-0.05	3
7,8-Dihydroxy-diacetoxyscirpenol	0.32	0.35	0.14	0.24	0.2		1.5
Deoxynivalenol	0.23	0.31	0.16	0.20	0.1		
Nivalenol	0.07	0.09	0.03	0.03	0.05	10-0.2	3

^a A, CHCl₃-CH₃OH (9+1); B, C₆H₆-(CH₃)₂CO (1+1); C, CH₃COOC₂H₅-n-C₆H₁₄ (5+1); D, CHCl₃-(CH₃)₂CO (3+2).

^b Solvent system A was used.

*¹ 東京理科大学薬学部 (〒162 東京都新宿区市ケ谷船河原町12)

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo (12, Ichigayafunagawara-machi, Shinjuku-ku, Tokyo 162)

選択的な検出・定量が可能となった。本法により求めた数種のマイコトキシンの検量線を Fig. 1 に示す。デシトメトリーに当っては、ジグザグスキャン法、反射法、二波長測光法を併用してスポットの形状の違いによる誤差や薄層の厚みむら、バックグラウンドに起因するベースの乱れを除去した。同一プレートにおける呈色の再現性は良好で変動係数は5%前後であった。トリコテセン系マイコトキシンの R_f 値、定量下限、検出限界、呈色の安定性などを Table 1 に示す。

本法は検出・定量感がガスクロマトグラフィーに匹敵し、かつ簡易な方法であるので各方面でのトリコテセン系マイコトキシンの検索・定量への応用が期待される。

謝辞 本研究に当りマイコトキシンを分与された本学薬学部上野芳夫教授、理化学研究所辰野高司博士に感謝する。またデシトメトリーを行うに当り御協力いただいた島津製作所岩永洋一郎氏に感謝する。

Fig. 1. Calibration curves for trichothecene mycotoxins. a, HT-2 toxin. b, nivalenol. c, fusarenon-X. d, T-2 toxin. e, neosolaniol. f, diacetoxyscirpenol.