

# ケイソウ土カラムを利用したリンゴジュース中パツリン前処理法の検討

○高柳 学<sup>1</sup>、国枝 巧<sup>1</sup>、陳 杏玲<sup>1</sup>、三浦 早紀<sup>1</sup>、太田 茂徳<sup>1</sup> (1. ジーエルサイエンス株式会社)

○Manabu Takayanagi<sup>1</sup> · Takumi Kunieda<sup>1</sup> · Xingling Chen<sup>1</sup> · Saki Miura<sup>1</sup> · Shigenori Ota<sup>1</sup> (1. GL Sciences Inc.)

## 研究の背景

パツリンはPenicillium 属や Aspergillus 属等のカビにより産生されるカビ毒で、リンゴ及びその加工品に汚染例が報告されている。

試験法では抽出で2回、精製で2回液液抽出を行い、試料溶液を調製する操作が非常に煩雑であり、多検体の処理には向いてない。

## 研究の目的

本検討では以下の固相抽出カラムを使用し、より簡便かつ精製効果の高い前処理方法の構築を行った。

- **InertSep K-solute 2mL用 (ケイソウ土カラム)**  
液液抽出の代替法として広く使われており、エマルジョンの影響を受けることなく、溶媒による目的成分の抽出を可能とする固相抽出カラム
- **InertSep FL 500mg/6mL (クリーンアップ用固相抽出カラム)**  
一般的なクリーンアップ剤であるフロリジルを充填した固相抽出カラム

## 研究・実験方法

前処理方法を、以下のように検討を行った。

### 検討① 溶出溶媒の決定

回収率が高く、濃縮手順がより簡便な溶媒の選択

### 検討② クリーンアップ固相の選定

操作が簡便かつ精製効果が高いクリーンアップ用固相抽出カラムの選定

### 検討③ 溶出液濃縮方法

高感度かつ安定的に分析を行えるような、溶出液濃縮方法の最適化

### 実験手順

以下の手順にて前処理を行った。

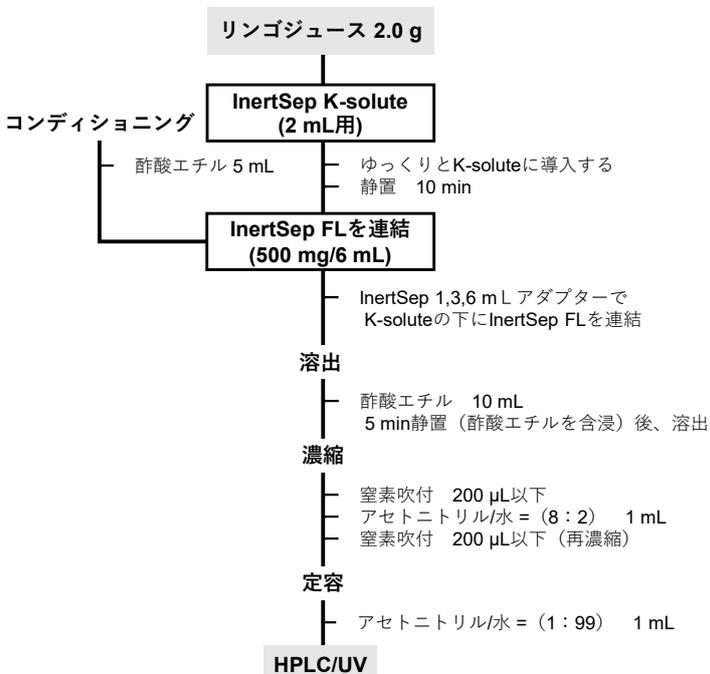


図1 固相前処理フローチャート

### 分析条件

**HPLC System** : 高速液体クロマトグラフ Primaide  
**Column** : InertSustain C18 (GL Science Inc.) (5 μm, 4.6 mm I.D. x 150 mm)  
**Eluents** : A) CH<sub>3</sub>CN  
 B) H<sub>2</sub>O  
 A/B = 1/99 (v/v)  
**Flow Rate** : 1 mL/min  
**Col. Temp.** : 40 °C  
**Detection** : UV 276 nm  
**Injection Vol.** : 40 μL

## 研究・実験結果

### 検討① 溶出溶媒の決定

適切な溶出溶媒と溶媒量を決定するため、アセトニトリル・酢酸エチル・ヘキサンの3種類を使用し、分画試験を行った。

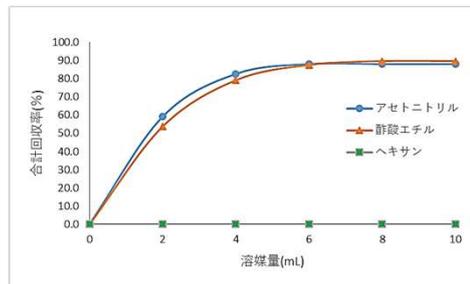


図2 各溶媒によるパツリンの回収率

アセトニトリル及び酢酸エチルを使用した場合、回収率が良好であった。また、溶媒量としては10mL程度が適当であると考えられた。

今回は濃縮の操作上、溶出溶媒として水と混ざりにくい酢酸エチルを選択することとした。

### 検討② 精製条件の確立

クリーンアップ用固相抽出カラムを選定するため、7種の固相を用い、パツリンの回収率および精製効果を比較した。

表1 各種固相の回収率

固相カラム	回収率(%)
NH <sub>2</sub>	13.4
PSA	0
SAX	75.5
FL	87.6
AL-B	0
AL-N	0
AL-A	0

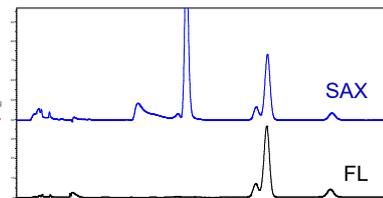


図3 SAX・FLによる夾雑成分の除去効果の比較

パツリンの回収率が高く、夾雑成分の精製効果が高いFLを採用した。固相のカラムのサイズについては、500mg/6mLが回収率が良好、かつ自然落下処理可能であることから、妥当であると考えられた。

### 検討③ 試料溶液の最適化

溶出液を濃縮する時に乾固させると、回収率が不安定となりやすい傾向がみられた。

また注入時の有機溶媒比率によっては、ピーク形状が悪化する恐れもあったため、分析時の試料溶液の最適条件の検討を行った。

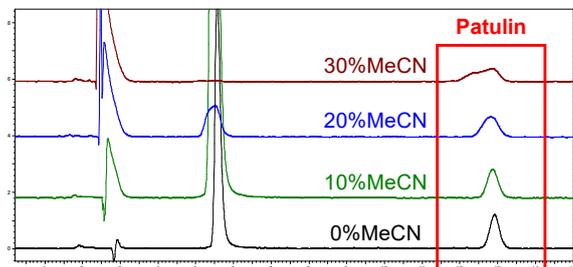


図4 各溶媒濃度の試料を分析したクロマトグラム

溶出液の溶媒を除去する際、有機溶媒比率が10-20%以下であれば、乾固までせずとも、ピーク形状に問題がないことがわかった。

## 考察・結論

検討した方法の確認のため、市販のリンゴジュースに0.05mg/kg相当となるようパツリンを添加し、標準添加試験を行った。

添加回収試験結果 (n=5, 2day)

Rec.(%)	94.9
C.V.(%)	4.8

平均回収率94.9%と良好な結果が得られたため、今回構築した前処理方法は、より簡便かつ精製効果の高いものであることが確認できた。