パツリンのLC/MS分析

概要

パツリンはりんごに付着するAspergillus属やPenicillium属等の真菌が産生するかび毒で、りんごジュースなどの汚染が懸念されています。パツリンは熱安定性が高く、酸性条件でも安定なため、ジュースに加工する工程を経ても残存しているとされています。

動物実験における急性毒性としては、消化管の充血・膨張・出血・潰瘍等の症状が認められることが知られていますが、発ガン性については明らかになっていません。

パツリンについては、欧州諸国を中心にりんご果汁等を対象に基準値が設定されており、そのほとんどが50ppbとされています。厚生労働省でも、食品衛生法に基づき、りんごジュース及び清涼飲料水の原料用りんご果汁に含まれるパツリンを50ppb以下とする規格基準を設定しています（平成16年6月1日施行）。

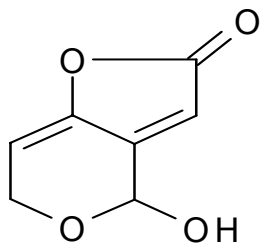
今回は、複雑なマトリックス中のターゲット化合物を高感度に検出するための選択性を有するLC/MS/MS法での分析を検討しました。

分析条件

HPLC
- 装置：Alliance 2695 セパレーションモジュール
- カラム：Waters Atlantis dC18, 2.1 x 150 mm, 5 µm
- カラム温度：40℃
- 移動相：1mM AcONH4aq. in A:H2O B:MeOH
- グラジエント：1%B（1 min hold）－90%B in 9 min and hold
- 流速：0.15 ml/min
- 注入量：50 µℓ

Mass Spectrometer
- 装置：Micromass Quattro *micro* API マス検出器
- イオン化：ESIネガティブ
- キャピラリ電圧：3.0 kV
- 脱溶媒ガス：600 ℓ/hr
- 脱溶媒ガス温度：400℃
- イオン源温度：120℃

構造式



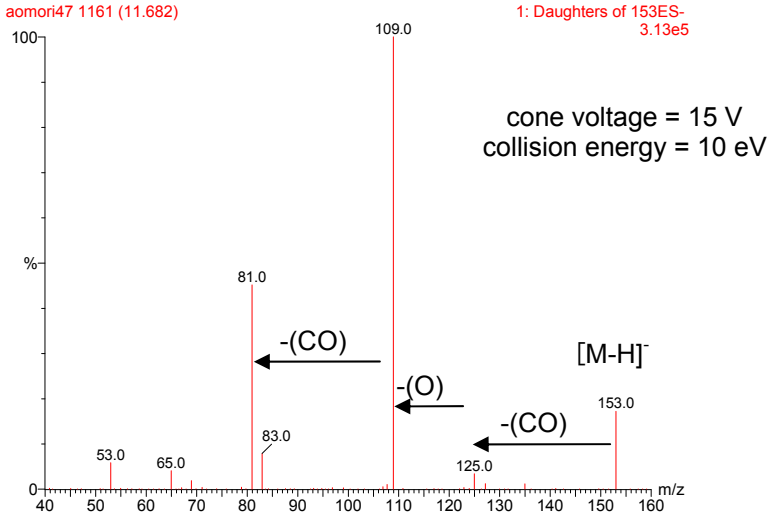
平均分子量：154.1
モノアイソトピック分子量：154.0

キーワード:
パツリン
かび毒
ESI
LC/MS/MS
Quattro *micro* API

MICROMASS® MS TECHNOLOGIES

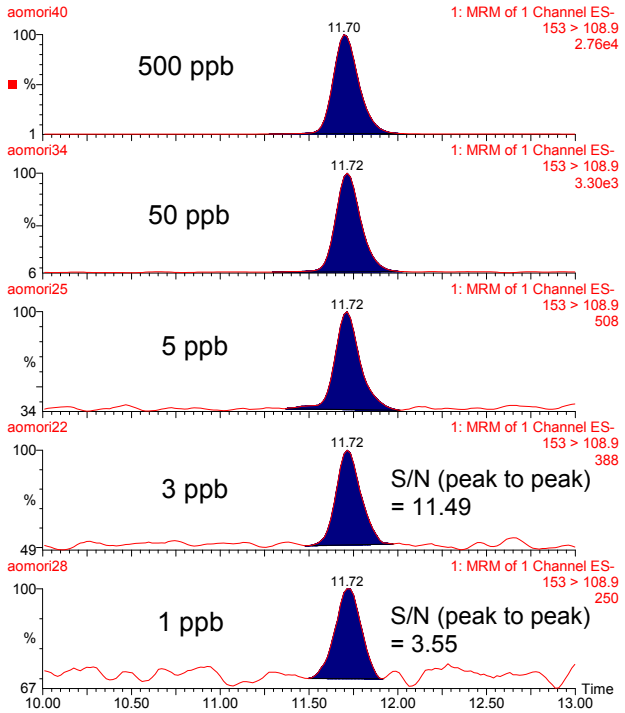
プロダクトイオンスペクトル（5ppm溶液）

MS1 で選択した擬分子イオンをコリジョンセルでフラグメンテーションさせたプロダクトイオンスペクトルです。m/z 153→m/z 109 のトランジッションをモニターする MRM で高感度・高選択が可能です。



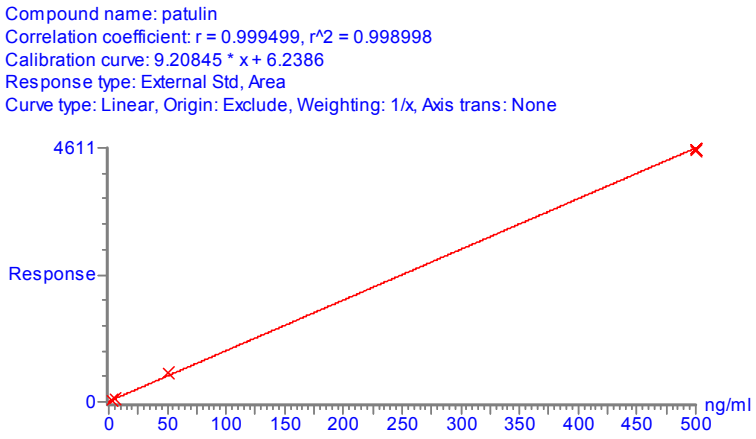
MRMクロマトグラム

標準溶液は全て酢酸水溶液（pH3.6 - 4.0）で調製しました。定量下限（S/N = 10）は 3 ppb、検出限界（S/N = 3）は 1 ppbでした。



直線性の確認（3–500 ppb）

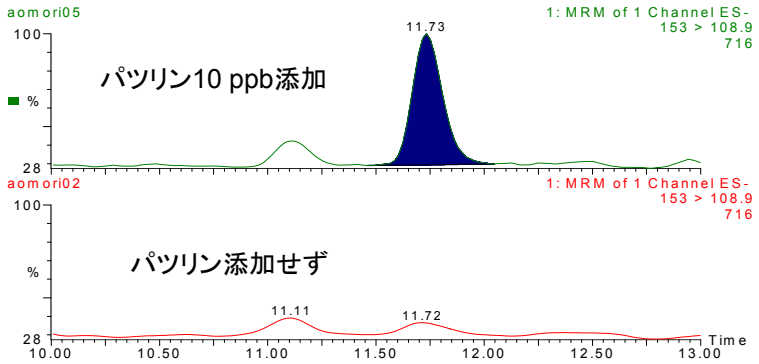
3-500 ppb 標準溶液を各 n = 3 で測定したところ、r2 = 0.999 の良好な直線性が得られています。



りんごジュースの分析例

サンプルの前処理には固相抽出カートリッジを使用しました。パツリン 10 ppb 添加での分析結果の回収率は約 80% でした。

サンプルの前処理
Waters Oasis HLBカートリッジ（3 cc/60 mg）をアセトニトリル及び蒸留水、各1 mℓでコンディショニングした後、サンプル1 mℓをロードします。蒸留水 2 mℓでカートリッジを洗浄し、アセトニトリル 1 mℓでパツリンを溶出しました。溶出液は N2 ガスを吹き付けて濃縮乾固し、残留物を酢酸水溶液（pH3.6 - 4.0）1 mℓ に溶解しました。



日本ウォーターズ株式会社
本社：東京都品川区北品川1-3-12　第5小池ビル
TEL:03-3471-7191　FAX:03-3471-7118