

リンゴ果汁中のシトリニン分析法

渡辺 満

(東北農業研究センター)

Development of method for the determination of citrinin in apple juices

Mitsuru WATANABE

(National Agricultural Research Center for Tohoku Region)

1 はじめに

リンゴ青カビ病菌 (*Penicillium expansum*) はパツリンの他にも複数のかび毒を産生することが知られている。中でもシトリニン (図1) は海外で腐敗果実からパツリンとともに検出されており、リンゴジュース等の加工品が汚染する可能性がある。シトリニンは腎毒性を有するがその毒性は比較的穏やかなものとされており (LD50: ラット 50, マウス 112, ゴールデンハムスター 67, モルモット 43 mg/kg 体重), 基準値を設定している国はみあたらない。しかし, *Penicillium* 属の菌で同時に産生する場合があるオクラトキシンAが共存すると発ガン性を増強するという報告があり, 注意が必要である。本研究では, リンゴ果汁に含まれるシトリニン分析法を検討するとともに, 2005 年度に東北地域で収集した製品のシトリニン及びパツリン分析を行った。

2 試験方法

(1) HPLCによるシトリニン分析

ODS カラムを接続した HPLC により分析を実施した。溶離は 0.005%TFA を含むアセトニトリルの濃度を直線的に増加させることにより行った。検出は蛍光検出器 (Ex: 330 nm, Em: 500 nm) 及び UV 検出器 (330 nm) で行った。

(2) シトリニン抽出法及びシトリニン標準品の添加回収試験

パツリンに用いる酢酸エチルとともに, これまでリンゴ果汁の薄層クロマトグラフィーによる分析で用いられているクロロホルム及びクロロホルム: 酢酸エチル = 2: 1 の溶液について, 各 25 µg/L となるようにシトリニン標準品を添加, HPLC による分析を行い回収率を比較した。酢酸エチルに関しては 2.5 µg/L および 10 µg/L の濃度についても添加回収試験を実施した。

(3) 市販リンゴジュースの収集

岩手県及び青森店の小売り店で 100 点の国産果実を原

料としたリンゴジュース製品を購入し, 分析に供した。

3 試験結果及び考察

(1) シトリニンピークの分離と検出限界及び定量限界
リンゴ青かび病菌を接種したリンゴから調製したリンゴ果汁のシトリニンを分析したところ, 蛍光検出の場合にはシトリニンのピークは他ピークと良好な分離を示した (図2)。これに対して UV 検出器ではシトリニンピークと他ピークとの分離は不完全であった (図3)。このことから, シトリニンは蛍光検出により分析を実施することにした。本分析条件での検出限界 (S/N 比 3) は 0.2 µg/L, 定量限界 (S/N 比 10) は 0.6 µg/L とした。なお, このように実際にリンゴ青かび病菌は果実でシトリニンを産生することが確認された。

(2) シトリニンの抽出法

25 µg/L シトリニンを添加したリンゴ果汁の抽出に用いた溶媒の回収率は, 酢酸エチル: 105 %, クロロホルム: 94 %, クロロホルム酢エチ混液: 109 % であり, 回収率はいずれの溶媒でも良好であった (図4)。このことから, シトリニンの抽出にはパツリンと同じく酢酸エチルを使用可能であることがわかった。また, シトリニンの濃度を低濃度の 2 種類の濃度で添加した場合には, 回収率はそれぞれ 2.5 µg/L では 72 %, 10 µg/L では 76 % とやや低くなったが (図5) 繰り返し精度はそれぞれ 16% と 18% であった。これはコーデックスで規定されている残留動物薬分析法の条件における規定値, 即ち 1 ~ 10 µg/kg の濃度では繰り返し精度は 30 %, 許容添加回収率は 60 ~ 120 % と比較して, これら数値を満たすものであることから, 今回のデータはシトリニンの抽出溶媒として酢酸エチルが使用可能であることを示すものと考えられる。

(3) 収集したリンゴジュースのシトリニン分析

100 点の収集製品の中にはシトリニンの検出された製品はなかった。また同時にパツリン分析を実施しているが, これに関しても検出された製品はなかった。

4 まとめ

リンゴ果汁で汚染の恐れのあるシトリンについて酢酸エチルによる抽出及び蛍光検出器を接続した HPLC で高感度に分析できることを明らかにした。また、収集した市販製品にはシトリンとともにパツリンも検出された製品は無いことを確認した。

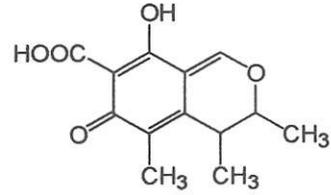


図1 シトリンの構造

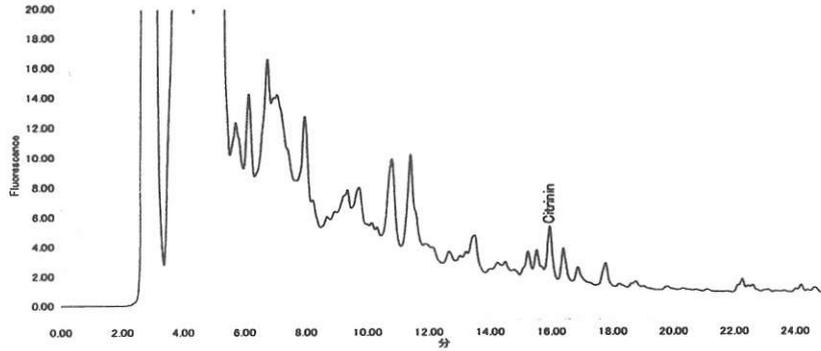


図2 蛍光検出器 (Ex: 330 nm, Em: 500 nm) によるリンゴ果汁中のシトリンの検出

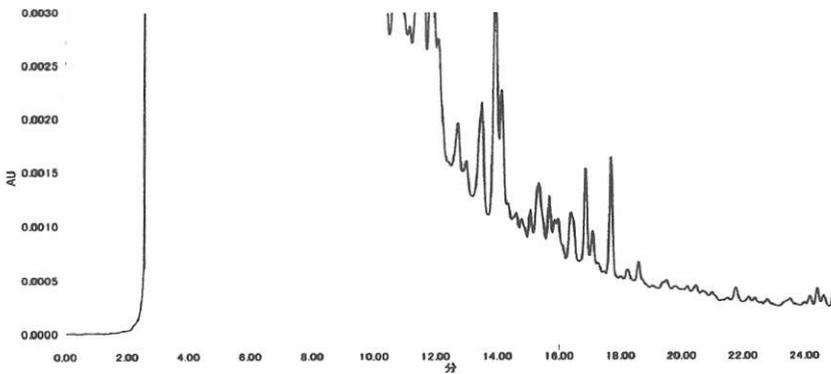


図3 UV 検出器 (330 nm) によるリンゴ果汁中のシトリンの検出

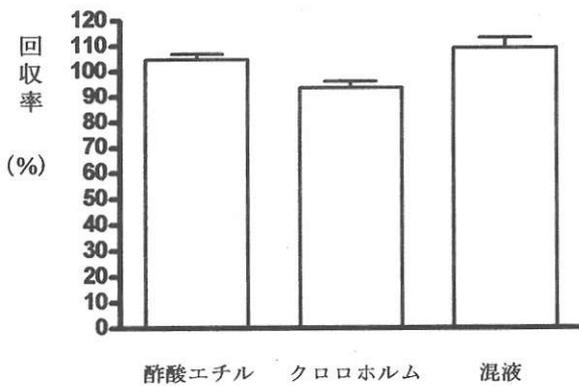


図4 抽出溶媒によるシトリン回収率の差異
平均値±SE (n=3)

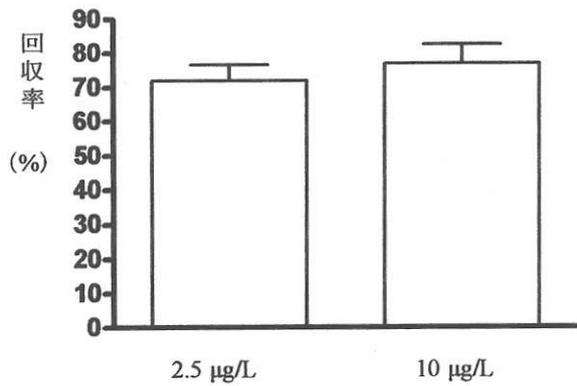


図5 添加量によるシトリン回収率の差異
平均値±SE (n=6)