

# サンプリーク WAX と高速液体 クロマトグラフィー (HPLC) を用いた サンザシゼリー中の人工着色料の分析

## 著者

Congcong Zhang and  
Xia Yang  
Agilent Technologies, Inc.

## 概要

この研究では、Agilent サンプリーク WAX と HPLC 分析を用いて、サンザシゼリーキャンディに含まれる 6 種類の人工着色料の定量分析メソッドを開発し、検証しました。このメソッドでは回収率と再現性に優れた信頼性の高いソリューションが得られ、他のフルーツゼリーキャンディの着色料の分析にもこのメソッドを使用できると考えられます。

## 実験方法

### ターゲット化合物

このアプリケーションノートで分析した 6 種類のターゲット化合物は、人工着色料のシトリン、アマランス、カルミン、サンセットイエロー、アルラレッド、プリリアントブルーです。図 1 に化学構造を示します。

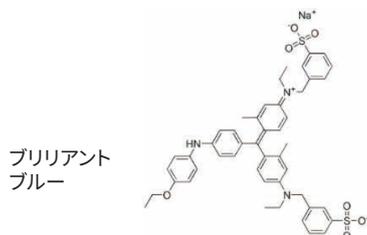
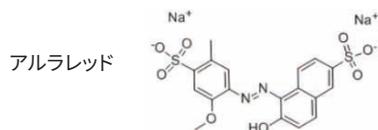
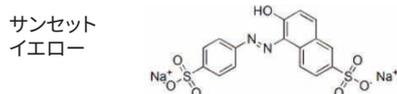
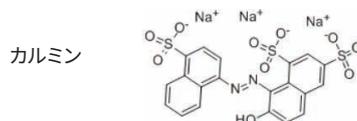
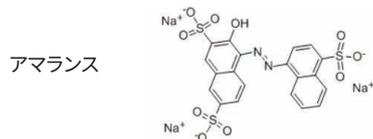
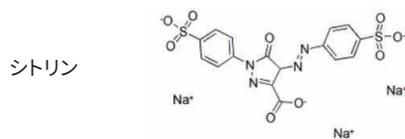


図 1. ターゲット化合物の化学構造

## HPLC 条件

パラメータ	設定値																		
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18、100 × 4.6 mm、2.7 μm (p/n 695975-902)																		
流量	1 mL/min																		
カラム温度	35 °C																		
注入量	10 μL																		
検出波長	425 nm (シトリン)、500 nm (アマランス、カルミン、サンセットイエロー、アルラレッド)、630 nm (プリリアントブルー)																		
移動相	A) 20 mM 酢酸アンモニウム pH 5 B) アセトニトリル																		
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>6.0</td> <td>100</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>11.0</td> <td>88</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>11.5</td> <td>88</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>12.0</td> <td>2</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	%A	%B	0	100	2	6.0	100	30	11.0	88	90	11.5	88	100	12.0	2	2
時間 (分)	%A	%B																	
0	100	2																	
6.0	100	30																	
11.0	88	90																	
11.5	88	100																	
12.0	2	2																	
ポストタイム	3 分																		

### 機器メソッド

サンプルの分析には、ダイオードアレイ検出器 (DAD) 付き Agilent 1260 Infinity II LC システムを使用しました。データの取り込みと処理には、Agilent ChemStation ソフトウェアを使用しました。

### サンプル抽出

サンザシゼリーを 2 g 秤量し、次に 20 mg のペクチナーゼと 5 mL の水を加え、15 分間超音波攪拌して酵素消化しました。さらに、

10 mL の抽出溶液 (アンモニア:水:アセトニトリル = 2:48:50) を加え、1 分間ボルテックスした後、10 分間遠心分離して上清を得ました。得られた上清を水で 30 mL にしました。このサンプル溶液をギ酸で pH 6 に調整すると、SPE クリーンアップが可能になります。以降の手順を図 2 に示します。

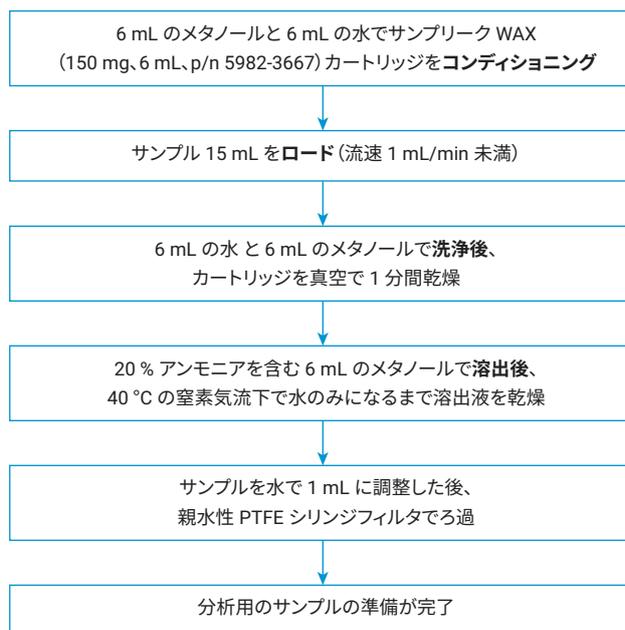


図 2. サンプル前処理のワークフローチャート

## 結果と考察

表 1. メソッド回収率 (REC) および RSD

分析対象物	0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加		1 $\mu\text{g/g}$ 添加		5 $\mu\text{g/g}$ 添加	
	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)	Rec (%)	RSD (%)
シトリン	99.4	7.9	96.6	2.5	92.2	2.1
アマランス	95.5	7.4	109.1	3.4	90.7	2.6
カルミン	111.3	6.3	89.3	2.8	88.9	2.0
サンセットイエロー	88.0	8.5	94.0	3.4	90.5	2.1
アルラレッド	102.1	7.9	107.3	4.5	90.8	4.4
ブリリアントブルー	98.9	8.9	79.7	4.0	88.3	3.3

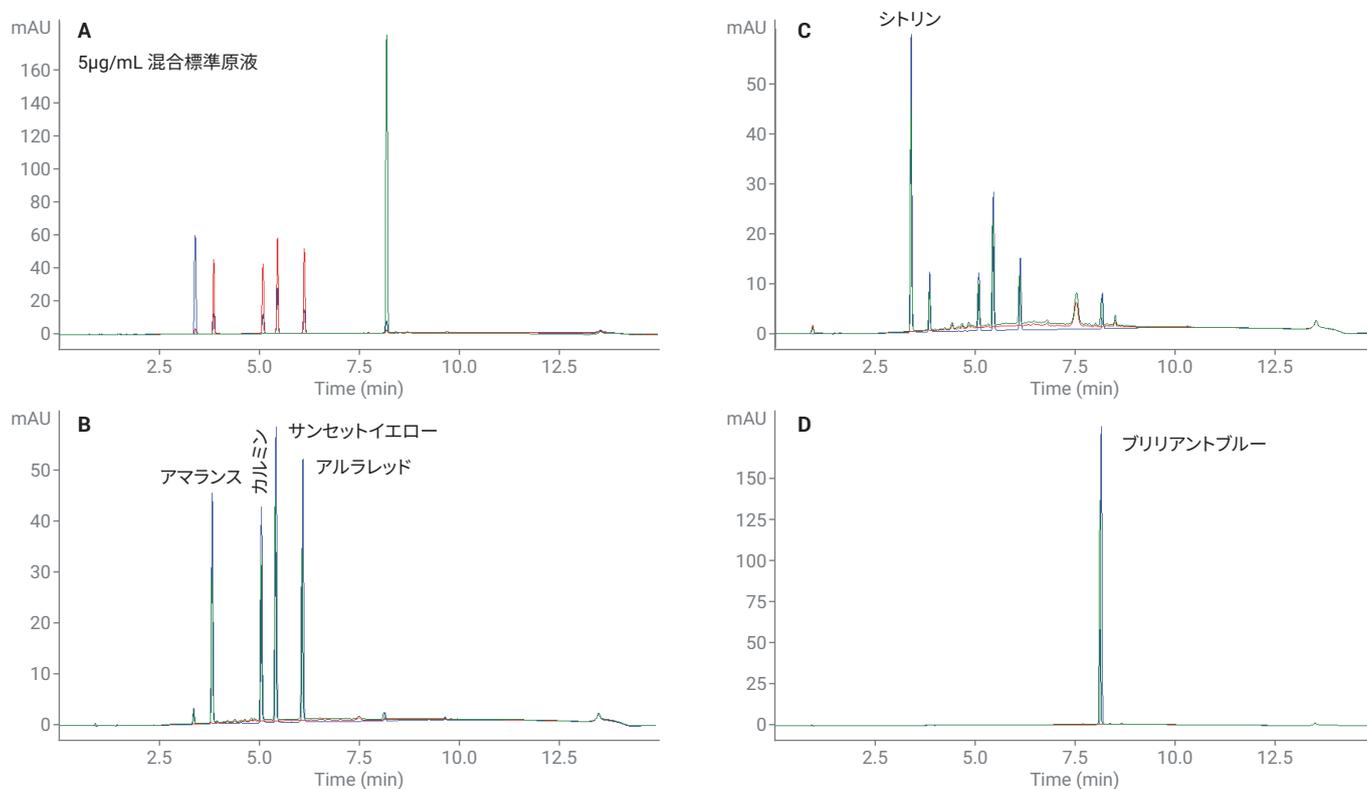


図 3. 標準原液中の 6 種類の人工着色料 (A) とサンゼリーサンプルのクロマトグラム (他の 3 つの図は、青—標準原液、赤—マトリックスブランク、緑—5  $\mu\text{g/g}$  を添加したサンプル)

## 結論

Agilent サンプリーク WAX SPE カートリッジと HPLC 分析を用いたこのメソッドで、サンザシゼリーキャンディに含まれる 6 種類の人工着色料を分析しました。その結果、約 79 % ~ 112 % の優れた回収率が得られました。このメソッドは他のフルーツゼリーキャンディに含まれる同じ 6 種類の人工着色料を検出する際に適用できると考えられます。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2020  
Printed in Japan, March 26, 2020  
5994-1843JAJP  
DE.3471875