

自動前処理法を用いた食品中の保存料分析法の開発

○小西賢治¹, 島三記絵¹, 日暮優斗², 伊藤里恵², 岩崎雄介²,
佐々野僚一^{1,2}, 穂山浩²

¹株式会社アイスティサイエンス, ²星薬科大学薬学部

【目的】食品中の細菌の増殖を抑制し、保存性を高める保存料として安息香酸、ソルビン酸およびそれらの塩類、デヒドロ酢酸ナトリウム、パラオキシ安息香酸エステル類が広く使用されている。食品中の食品添加物分析法では、前処理に水蒸気蒸留法と溶媒抽出法が用いられている。高たんぱく食品及び高脂質食品については、水蒸気蒸留法では低回収率になるため溶媒抽出法が推奨されている¹⁾。近年、分析技術者の人材不足や精度管理の観点から自動分析の需要が高まっている。本研究では、自動固相抽出装置を用いた前処理法²⁾を用いた高たんぱく、高脂質食品中の保存料分析法を検討した。

【方法】**前処理**：市販の食品（マーガリン、チーズ、魚肉ソーセージ）に保存料6種を添加し、分析法の評価を行った。溶媒抽出法に準じて抽出し、多検体自動固相抽出装置 STR100 および小型固相カートリッジ Smash-SPE PBX（アイスティサイエンス社製）を用いて前処理を行った。前処理フローを図1、に示す。抽出液を5 mmol/L クエン酸緩衝液（pH 4）で希釈することで、抽出液中の有機溶媒比率を下げるると同時に安息香酸、ソルビン酸の解離を抑えることで対象化合物を固相に保持させてメタノール/水（9/1）で溶出した。**測定**：HPLC；Prominence-i（島津製作所）、カラム；Inertsil ODS-3, 5 μ m, 4.6 \times 150 mm（GLサイエンス）、移動相 A；5 mmol/L クエン酸緩衝液（pH4.0）/アセトニトリル/メタノール（7:2:1）、移動相 B；5 mmol/L クエン酸緩衝液（pH4.0）/

アセトニトリル/メタノール（11:5:4）、流速；1.0 mL/min、カラム温度；40 $^{\circ}$ C、注入量；20 μ L、検出波長；230 nm および 260 nm

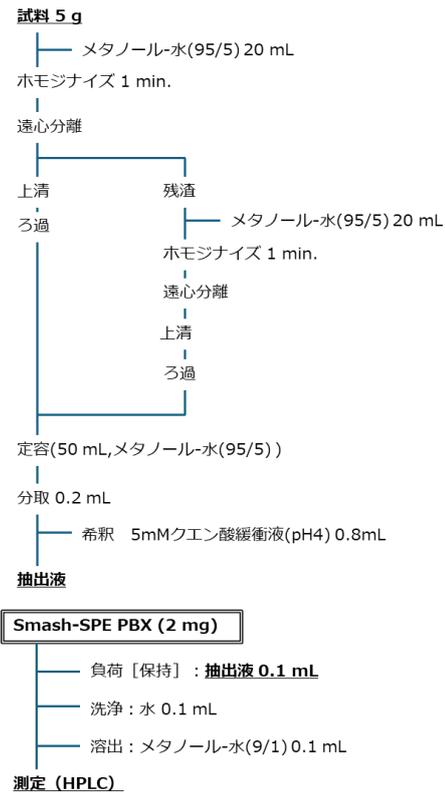


図 1. 前処理フロー

【結果と考察】溶媒抽出したサンプルを自動固相抽出装置で前処理し測定したところ迅速、簡便な操作で良好な回収率、再現性が得られている。現在詳細を検討中である。

【参考文献】

- 1) 食品中の食品添加物分析法について（平成12年3月30日付け衛化第15号厚生省生活衛生局食品化学課長通知）別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」
- 2) 小西ら,第118回日本食品衛生学会学術講演会要旨集,P54（2022）

自動前処理法を用いた食品中の保存料分析法の開発

e-mail : konishi@aisti.co.jp

○小西賢治¹, 島三記絵¹, 日暮優斗², 伊藤里恵², 岩崎雄介², 佐々野僚一^{1,2}, 穠山浩²
¹株式会社アイスティサイエンス, ²星薬科大学薬学部

【はじめに】

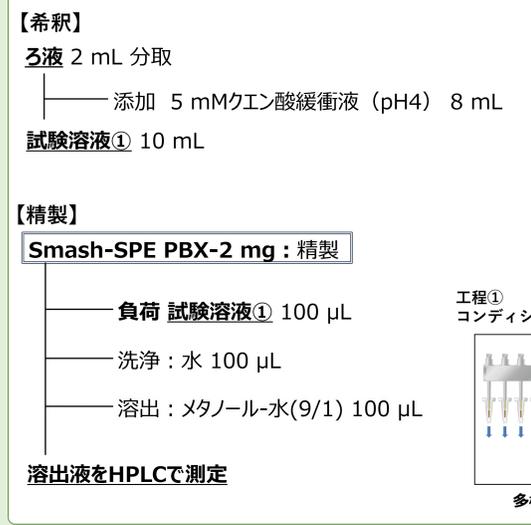
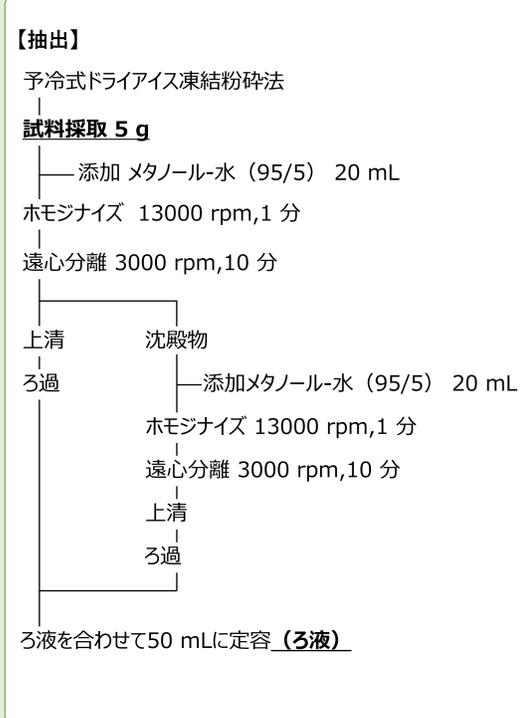
食品中の細菌の増殖を抑制し、保存性を高める保存料として安息香酸、ソルビン酸およびそれらの塩類、デヒドロ酢酸ナトリウム、パラオキシ安息香酸エステル類が広く使用されている。食品中の食品添加物分析法では、前処理に水蒸気蒸留法と溶媒抽出法が用いられている。高たんぱく食品及び高脂質食品については、水蒸気蒸留法では低回収率になるため溶媒抽出法が推奨されている¹⁾。近年、分析技術者の人材不足や精度管理の観点から自動分析の需要が高まっている。本研究では、自動固相抽出装置を用いた前処理法²⁾を用いた高たんぱく、高脂質食品中の保存料分析法を検討した。

【分析対象化合物】

| 成分名 | 安息香酸 | ソルビン酸 | デヒドロ酢酸 | | | |
|-----|------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|--|
| 構造式 | | | | | | |
| 物性 | LogP: 1.83 pKa: 4.21 | LogP: 1.33 pKa: 4.76 | LogP: 0.78 pKa: 5.3 | | | |
| 成分名 | パラオキシ安息香酸エチル | パラオキシ安息香酸イソプロピル | パラオキシ安息香酸プロピル | パラオキシ安息香酸イソブチル | パラオキシ安息香酸ブチル | |
| 構造式 | | | | | | |
| 物性 | LogP: 1.96 pKa: 8.31±0.13 | LogP: 2.34 pKa: - | LogP: - pKa: 8.4 | LogP: 3.4 pKa: - | LogP: 3.6 pKa: 8.47 | |

NLM. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, (参照 2022-08-24)

【前処理フロー】



【測定条件】

HPLC : Prominence-i (島津製作所)

カラム : Inertsil ODS-3 (内径4.6 mm×長さ150 mm×粒径5 µm) GLサイエンス

移動相 : A) 5 mM クエン酸緩衝液(pH4.0)/アセトニトリル/メタノール混液 (7 : 2 : 1)
 B) 5 mM クエン酸緩衝液(pH4.0)/アセトニトリル/メタノール混液 (11 : 4 : 5)

グラジエント条件 : B.Conc 0 % (0-10 min) → 100 % (15 - 27 min) → 0 % (27 - 30 min)

カラム温度 : 40 °C

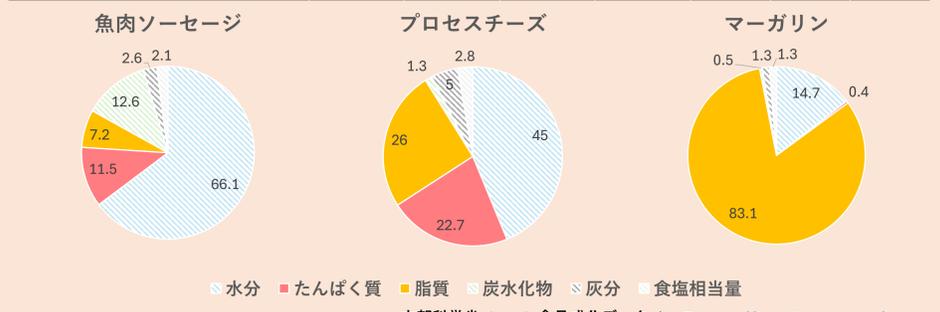
流速 : 1.0 mL/min 注入量 : 20 µL

検出器 : UV 測定波長 : 230 nm, 260 nm

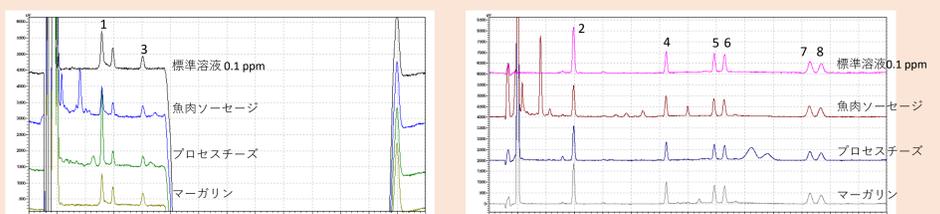
【添加回収試験】

高たんぱく食品および高脂肪食品として、魚肉ソーセージ、プロセスチーズ、マーガリンを分析試料として用いた。試料中濃度0.005 g/kgとなるように混合標準溶液を試料に添加して添加回収試験 (n=5) を実施したところ、以下の通り良好な回収率および再現性を得られた。

| 成分名 | RT(分) | 魚肉ソーセージ | | プロセスチーズ | | マーガリン | |
|-----------------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 回収率 (%) | RSD (%) | 回収率 (%) | RSD (%) | 回収率 (%) | RSD (%) |
| 安息香酸 | 6.4 | 101.0 | 8.5 | 108.1 | 10.8 | 102.1 | 5.5 |
| ソルビン酸 | 7.4 | 87.9 | 2.0 | 87.7 | 5.1 | 98.7 | 6.3 |
| デヒドロ酢酸 | 10.0 | 81.4 | 5.5 | 75.9 | 8.4 | 108.4 | 6.8 |
| ヒドロキシ安息香酸エチル | 15.5 | 100.0 | 3.4 | 96.2 | 4.9 | 104.5 | 7.4 |
| ヒドロキシ安息香酸イソプロピル | 19.8 | 93.3 | 2.6 | 95.6 | 5.1 | 101.3 | 8.9 |
| ヒドロキシ安息香酸プロピル | 20.8 | 96.0 | 3.1 | 92.5 | 4.2 | 91.6 | 9.1 |
| ヒドロキシ安息香酸イソブチル | 28.5 | 91.8 | 2.7 | 102.4 | 3.5 | 102.4 | 9.6 |
| ヒドロキシ安息香酸ブチル | 29.4 | 93.0 | 5.2 | 97.0 | 5.5 | 99.6 | 6.2 |



【UVクロマトグラム】



1.安息香酸, 2.ソルビン酸, 3.デヒドロ酢酸, 4.パラオキシ安息香酸エチル, 5.パラオキシ安息香酸イソプロピル, 6.パラオキシ安息香酸プロピル, 7.パラオキシ安息香酸イソブチル, 8.パラオキシ安息香酸ブチル

【まとめ】

高たんぱく、高脂肪食品中の保存料分析法について検討を行った。試料として魚肉ソーセージ、プロセスチーズ、マーガリンを用いて、凍結粉砕した試料を溶媒抽出法を用いて抽出し、自動固相抽出装置で前処理し測定したところ迅速、簡便な操作で良好な回収率、再現性が得られたことから、本法は高たんぱく、高脂肪食品中の保存料分析法として有用であると考えられた。

【参考文献】

- 食品中の食品添加物分析法について (平成12年3月30日付け衛化第15号厚生省生活衛生局食品化学課長通知) 別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」
- 小西ら,第118回日本食品衛生学会学術講演会要旨集,P54 (2022)