

高速液体クロマトグラフィーによる食品中のサッカリン、ソルビン酸および安息香酸の同時定量法について

Simultaneous Determination of Saccharin, Sorbic Acid and Benzoic Acid in Foods by High Performance Liquid Chromatography

西野 茂幸 小塚信一郎 白石由美子
岸 信夫 青木 襄 高杉 信男

Shigeyuki Nishino, Shin-ichiro Kozuka,
Yumiko Shiroishi, Nobuo Kishi,
Minoru Aoki and Nobuo Takasugi

要 旨

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、食品中のサッカリン (SAC)、ソルビン酸 (SOA) および安息香酸 (BA) の同時定量法を検討した。

吸着-分配型カラム日立ゲル 3011 を用い、試料を水で抽出後、メンブランフィルターでろ過し、ろ液を直接 HPLC に注入して、それらをじん速に定量することができた。

また、市販食品について、本法とガスクロマトグラフィー (GC 法=公定法) との比較を行ったところ、ほぼ一致した値が得られた。

1. 緒 言

HPLC による食品中の SAC、SOA および BA の同時分析として、上田ら¹⁾の Dupont 製 Permaphase AAX を、高橋らの日本分光製 SN-01²⁾ のイオン交換型カラムを用いた方法が報告されている。

今回、我々は、吸着-分配型カラム日立ゲル 3011 を使用して、上記三成分の同時定量法を検討したので報告する。

2. 実験方法

2-1. 装置および器具

高速液体クロマトグラフ：日立 638-50 形

検出器：日立波長可変流動光度計

カラム：日立ゲル 3011, 10~15 μm , (4 mm ϕ \times 250 mm) カラムは、移動相組成液で、130 Kg/cm^2 , 60分間の湿式充てんを行った。

ホモジナイザー・ポリトロン[®] 超高速ホモジナイザー

メンブランフィルター：マイレックス[®] - HA, ポアサイズ 0.45 μm

2-2. 試 薬

サッカリンナトリウム・食品添加物用

ソルビン酸カリウム：和光純薬製 1 級品

安息香酸ナトリウム：同社製特級品

メタノール：同社製液体クロマトグラフ用

その他の試薬は市販特級品を用いた。

標準液：サッカリンナトリウム、ソルビン酸カリウムおよび安息香酸ナトリウムを用い、それぞれサッカリン、ソルビン酸および安息香酸として 1,000 ppm になるように水に溶解して標準原液とし、使用の都度水で希釈した。

移動相：メタノール 1,600 ml に水 400 ml, リン酸 10 ml およびトリエチルアミン 5 ml を加えて混合する。次いで、減圧下で超音波により脱気して使用した。

2-3 試験溶液の調製

試料 10 g に水 60 ml を加え、1 分間ホモジナイズし、水で全量を 100 ml とする。次いで、遠心分離 (3,000 rpm 5 分間) を行い、その上層液をマイレクスメンブランフィルターでろ過し、そのろ液を試験溶液とした。

2-4 HPLC による定量

試験溶液を直接 HPLC に注入し、ピーク高さにより定量した。

HPLC 条件を表-1 に示す。

表-1 HPLC 条件

カラム	日立ゲル 3011, 10~15 μm (4 mm ϕ \times 250 mm)
移動相	メタノール・水・リン酸・トリエチルアミン (80 : 20 : 0.5 : 0.25)
カラム温度	30 $^{\circ}\text{C}$
圧力	18 Kg/cm^2
流量	0.5 ml/min
検出波長	230 nm
感度	0.16 AUFS
チャート速度	5 mm/min
注入量	5 μl

3. 結果と考察

3-1 HPLC 条件の検討

イオン交換クロマトグラフィーでは、試料中に共存する塩類が定量に妨害を与え、移動相の pH 調節、保持も難しいため、分離モードとして吸着-分配を選んだ。また、室温では保持時間の変動が大きいので、カラム恒温槽を用いて、その温度を 30 $^{\circ}\text{C}$ の一定温度とした。

3-2 クロマトグラムおよび検量線

対象標準液のクロマトグラムを図-1 に、絶対検量線を図-2 に示す。

すなわち、約 13 分で SAC, SOA および BA の順に溶出し、検量線は三成分とも 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ まで直線性を示した。

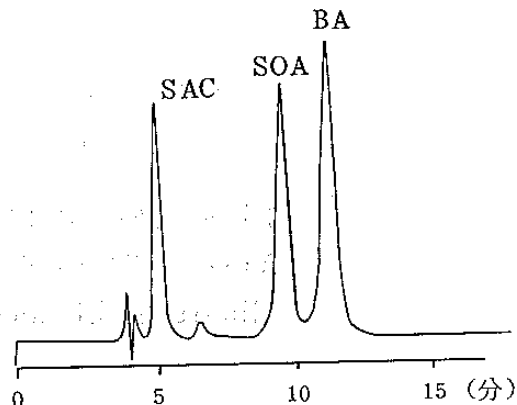


図-1 SAC, SOA および BA 標準液のクロマトグラム

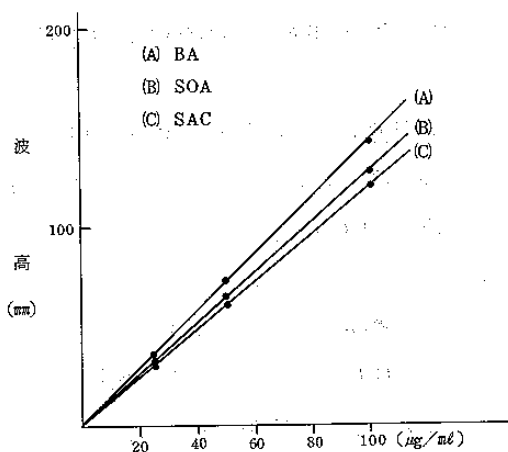


図-2 SAC, SOA および BA の絶対検量線

3-3 抽出条件 (pH) の検討

常法に従って調製した煮豆に、サッカリンナトリウム、ソルビン酸カリウムおよび安息香酸ナトリウムを添加し、炭酸ナトリウム溶液で pH をアルカリ性として、抽出率におよぼす pH の影響を検討した結果を図-3 に示す。

すなわち、pH 7~10 の範囲では、抽出率に差は認められなかった。

また、抽出時の温度差および超音波抽出についても検討したが、いずれも顕著な差は見られなかった。

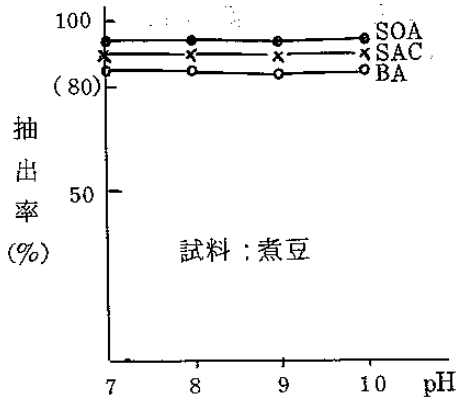


図-3 pHと抽出率の関係

3-4 他の食品添加物の影響

食品中への共存が予測され、紫外外部吸収をもつ他の食品添加物の影響を調べた結果、それらの妨害は認められなかった。

すなわち、デヒドロ酢酸、パラオキシ安息香酸エステル(エチル、プロピル、iso-プロピル、ブチル、iso-ブチル)およびグリチルリチン酸は安息香酸の後に、またL-アスコルビン酸はサ

ッカリンの前に溶出し、いずれも対象成分ピークと完全に分離した。

3-5 添加回収実験

煮豆等、4種類の市販食品を用いて、本法の添加回収率を検討した結果を表-2に示す。

回収率は90~104%で、満足できる値であった。

3-6 GC法(公定法)との比較

市販食品の煮豆、かまぼこ、たくあん漬、清涼飲料水、佃煮および珍味の6種、20検体について本法とGC法とを比較した結果を図-4に示す。

その結果、両法の測定値は、ほぼ一致した値であった。

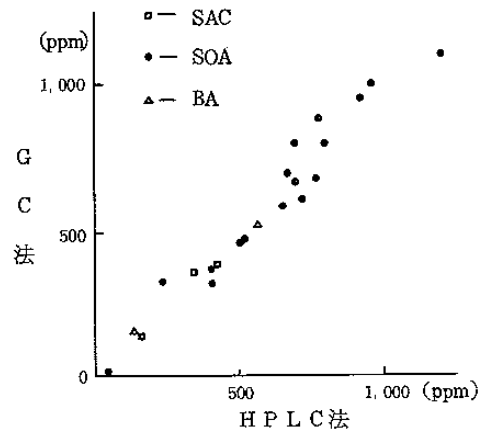


図-4 GC法とHPLC法の比較

表-2 SAC, SOAおよびBAの添加回収率

食品	SAC		SOA		BA	
	回収率(%)		回収率(%)		回収率(%)	
	0.5 mg添加	2.5 mg添加	0.5 mg添加	2.5 mg添加	0.5 mg添加	2.5 mg添加
煮豆	98.5	100.8	99.1	97.7	93.2	96.3
かまぼこ	104.0	99.6	101.6	102.8	90.0	99.6
たくあん漬	98.6	97.6	99.0	97.4	95.0	100.2
清涼飲料水	103.0	101.7	98.0	99.2	101.8	99.1

数値は各3回の平均値

4. 結 語

吸着-分配型カラム日立ゲル 3011 を用い、メタノール・水：リン酸・トリエチルアミン（80：20：0.5：0.25）を移動相として、試料を水で抽出後、直接 HPLC に注入したところ、食品中の SAC、SOA および BA を約 13 分で定量できた。

また、数種の市販食品についての添加回収率は 90～104% と良好で、GC 法の測定値との比較

からも、本法が食品中の SAC、SOA および BA スクリーニングに適用可能と考えられる。

5. 文 献

- 1) 上田雅彦, 間崎真典: 食衛誌, 18(2) 278 - 282 (1977).
- 2) 高橋勇夫, 飯塚俊彦, 氏家淳雄: 群馬県衛生公害研究所年報 (12) 74 - 78, (1980).