

HPLCによる食品中の合成保存料および合成甘味料の一斉分析法について

—エチルエーテル抽出法と固相抽出法の比較—

長谷川康行、橋本 博之、眞壁 祐樹、佐二木順子、宮本 文夫

Simultaneous Determination of Artificial Preservatives and Artificial Sweetener in Foods by HPLC

—Comparison of Clean-up Method Using Extraction with Ethyl Ether and the Method with Solid-phase Extraction—

Yasuyuki HASEGAWA, Hiroyuki HASHIMOTO, Yuhki MAKABE,
Junko SAJIKI and Fumio MIYAMOTO

Summary

For the determination of 9 artificial preservatives and an artificial sweetener in foods by high-performance liquid chromatography (HPLC), clean-up method (Oasis MAX method) using Oasis MAX cartridge column as solid-phase extraction was applied. Methanol eluate obtained by the Oasis MAX method was used as test solution for sorbic acid (SOA), dehydroacetic acid (DHA) and 6 p-hydroxybenzoate esters, and the following methanol containing 0.01 mol/L hydrochloric acid eluate was used as test solution for SOA, DHA, benzoic acid (BA), and saccharin (SAC). Recoveries and contents of measurement substances obtained from foods by use of the Oasis MAX method were compared with those obtained by use of clean-up method (ethyl ether method) using extraction with ethyl ether. Thirty seven of 48 recovery values of those substances obtained from fish sausage and dressing by Oasis MAX method were higher than those obtained by ethyl ether method. Values of content of those substances obtained by Oasis MAX method from 6 samples (3 commercial foods added with artificial preservatives and an artificial sweetener, 2 samples for proficiency testing of laboratories at 2006 and 2007, and one sample for inter-laboratories evaluation in Chiba pref. at 2006) were higher than those obtained by ethyl ether method. Oasis MAX method was superior to the ethyl ether method, and will be useful for examination of those substances.

キーワード：合成保存料；合成甘味料；高速液体クロマトグラフィー；固相抽出；
Oasis MAXカートリッジカラム；エチルエーテル抽出

Key Word：artificial preservative；artificial sweetener；HPLC；solid-phase extraction；
Oasis MAX cartridge column；extraction with ethyl ether

はじめに

著者らは現在、合成保存料のソルビン酸 (SOA)、安息香酸 (BA)、デヒドロ酢酸 (DHA)、6種のパラオキシ安息香酸エステル (PHBA-Es) 類および合成甘味料のサッカリンナトリウム (SAC) の10物質の検査は、食品試料にメタノール水 (1:1) 混液またはメタノールを加えホモジナイズ抽出した後、試料抽出液の一定量に硫酸を加えて酸性下でエチルエーテルで抽出精製 (以下、エチルエーテル法と略す) を行い、エチルエーテルを濃縮して得られた試験溶液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定する方法¹⁾を用いている。この方法で業務管理基準²⁾の精度管理の条件である「70%から120%の間の回収率の確保³⁾」については、ほぼ満足できる結果を得ているが、有機溶媒を用いているため取り扱う人への影響が懸念され、エチルエーテル法の代わりとなる簡便な精製法が望まれている。

著者らは既報⁴⁾で保存料および甘味料18種について固相抽出による精製操作の基礎検討を行った。SOA、BA、DHA、6種のPHBA-Es類およびSACの10物質を定量的

に精製処理できる固相抽出カートリッジカラムとしては Oasis HLB と Oasis MAX の2種がある。Oasis HLB は中性、酸性および塩基性物質の区別なくほとんどの保存料および甘味料物質を保持することができるが、逆に選択性に欠けるため、食品由来の妨害物質も多く保持される可能性が高く、精製効果の点では十分とは言えない。これに対し、Oasis MAX で精製できる物質は、エチルエーテルや酢酸エチルによる抽出精製法で測定できる物質とほぼ同様であり、溶媒を用いた抽出精製法と同等の精製能力を有しているものと考えられる。そこで、本報の検討では Oasis MAX カートリッジカラムによる精製方法 (以下、Oasis MAX 法と略す) を用いることとし、従来用いているエチルエーテル法と比較検討することとした。

実験方法

1. 試料

保存料および甘味料無添加試料として、SAC、SOA、BA、DHA、PHBA-Es 類の添加表示のない市販の魚肉ソーセージ、ドレッシングを用いた。保存料および甘味料添

加試料として、SAC、SOA、BA、PHBA-Es 類の添加表示のある市販の福神漬け、らっきょう甘酢漬け、清涼飲料水、平成18～19年度外部精度管理試料（清涼飲料水）および平成18年度千葉県保健所等精度管理調査試料⁵⁾（醤油入りドレッシング）を用いた。

2. 試薬および試液

1) 標準品

BA、SAC、SOA、DHA：和光純薬工業(株)製試薬特級品または特級品

パラオキシ安息香酸メチル (PHBA-Me)、パラオキシ安息香酸エチル (PHBA-Et)、パラオキシ安息香酸イソプロピル (PHBA-isoPr)、パラオキシ安息香酸プロピル (PHBA-Pr)、パラオキシ安息香酸イソブチル (PHBA-isoBu)、パラオキシ安息香酸ブチル (PHBA-Bu)：東京化成工業(株)製特級品

2) 標準溶液：SACは120℃で4時間乾燥後100 mgを、その他は100mgを、メタノール-水 (1:1) 混液50mLまたはメタノール50mLに溶解した後、メタノール-水 (1:1) 混液を加えて100mLとしたものを標準原液とした (各1000 μg/mL)。標準原液は冷蔵庫内で遮光・密閉して保存し、SOA および DHA は調製後1週間以内のものを使用した。各標準原液を用時メタノール-水 (1:1) 混液で希釈して1.0～10.0 μg/mLの標準溶液 (単独および混合) を調製した。

3) 5mmol/Lクエン酸緩衝液 pH4.0：クエン酸 (1水和物) 7gとクエン酸ナトリウム (2水和物) 6gを水に溶解し1000mLとし、これを水で10倍希釈して用いた。

4) 10%塩化ナトリウム含有1%硫酸溶液：塩化ナトリウム100gに水700mLおよび10%硫酸100mLを加えて溶解し、水で1000mLとして用いた。

5) 0.01mol/L塩酸含有メタノール：メタノール1000mLに濃塩酸1.0mLを加えて溶解し、用いた。

6) 精製用カートリッジカラム：Oasis MAX (6 cc、150mg、Waters 社製) は使用前に0.01mol/L塩酸含有メタノール 5mLおよび水10mLを順次流し、コンディショニングしたものを用いた。

7) メンブランフィルター：13HP045AN 親水性 PTFE 0.45 μm (アドバンテック東洋(株)製) を用いた。

8) 水は精製水を用い、特に品質の記載のない試薬およびその他の試薬はいずれも試薬特級品を用いた。

3. 装置

1) 高速液体クロマトグラフ

(1) 日本分光(株)製980-PU型ポンプ、同860-CO型カラム恒温槽、同970-UV型紫外検出器、(株)島津製作所製 CR-7A plus型データ処理装置

(2) (株)島津製作所製 LC-10AT vp型ポンプ、同 FCV-10AL vp型ミキシングポンプ、同 DGU-14A型デガッサー、同 SIL-10AD vp型オートインジェクター、同 CTO-10A vp型恒温槽、同 SPD-M10A vp フォトダイオードアレイ検出器、同 CBM-10A型コミュニケーション

ンバスモジュール、同 CLASS-10型データ処理機

4. HPLC 条件

カラム¹⁾：ジーエルサイエンス社製 Inertsil ODS-2 (4.6 mm i.d.×150mm)

カラム温度¹⁾：40℃

注入量¹⁾：20 μL

フォトダイオードアレイ測定波長：210～300nm

SAC、BA、SOA、DHA 検出用移動相¹⁾、流量および検出波長：メタノール-アセトニトリル-5mmol/Lクエン酸緩衝液 pH4.0 (6:12:82)、0.8mL/min、230nm

PHBA-Es 類検出用移動相、流量および検出波長：アセトニトリル-水 (35:65)、1.0mL/min、254nm

5. 試験溶液の調製

1) エチルエーテル法

土田ら¹⁾のスクリーニング検査用の試験溶液 I の調製方法を簡略化した方法を用いた。

試料10gにメタノール-水 (1:1) 混液60mLまたはメタノール60mLを加え5分間ホモジナイズ抽出 (液体試料は混和して抽出) し、ホモジナイズした溶媒で100mLにメスアップした後、よく混合し、綿栓でろ過した。ろ液10mLを分液ロートに採り、塩化ナトリウム 2g、10%硫酸10mLを加え、更にエチルエーテル100mLを正確に加えて、5分間振とう抽出した。抽出後、水層を捨て、エチルエーテル層に10%塩化ナトリウム含有1%硫酸溶液 5mLを加え、軽く振とう洗浄した。エチルエーテル層から直ちに30mLを正確に分取し、2%炭酸水素ナトリウム溶液0.1mLを加えて、35℃以下で減圧下濃縮をしてエチルエーテルを留去した。残留物にメタノール・クエン酸緩衝液 (55:45) 3mLを加えて十分に溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを SAC、BA、SOA、DHA、PHBA-Es 類測定用試験溶液とした。

2) Oasis MAX法

試料10gにメタノール-水 (1:1) 混液60mLまたはメタノール60mLを加え5分間ホモジナイズ抽出 (液体試料は混和して抽出) し、ホモジナイズした溶媒で100mLにメスアップした後、よく混合し、ろ紙 No.5A でろ過した。メタノール-水 (1:1) 混液による抽出の場合はろ液 5mLに水 5mLを加え、メタノールによる抽出液の場合はろ液 5mLに水15mLを加え混合した後、Oasis MAX カートリッジカラムに負荷し 2mL/min で流した。次いでカートリッジをメタノール-水 (1:3) 混液 5mL で洗浄し、メタノール 5mL、続いて0.01mol/L塩酸含有メタノール 5mLで 2mL/minで溶出した。

メタノール溶出液をメンブランフィルターでろ過したものを PHBA-Es 類、SOA、DHA 測定用試験溶液とした。また、0.01mol/L塩酸含有メタノール溶出液をメンブランフィルターでろ過したものを SAC、BA、SOA、DHA 測定用試験溶液とした。SOA と DHA は両試験溶液に分割して存在するため、両試験溶液の測定値を合算して試料の含有量を算出した。

結果および考察

1. PHBA-Es 類検出用移動相の検討

エチルエーテル法の試験溶液には10種の測定物質全てが共存し、また後述するように Oasis MAX 法の PHBA-Es 類、SOA、DHA 測定用試験溶液には6種の測定物質が、SAC、BA、SOA、DHA 測定用試験溶液には10種の測定物質全てが共存している。6種の PHBA-Es 類は一つの移動相により、最も良好な感度を示す254nmの測定波長で一括して測定できることが検査上望ましいが、既報⁴⁾で報告したメタノール-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH 4.0 (6:4) を移動相として用いると、PHBA-Me がBA、SOA、DHA のピークと重なり、PHBA-Me の正確な検出、定量は困難である。そのため、PHBA-Me はBA、SOA、DHA、ズルチン (DU) と共に移動相にメタノール-アセトニトリル-0.01mol/Lリン酸緩衝液 pH4.0 (1:2:7) を用いて、他の5種の PHBA-Es 類と別に測定を行っている。

岸ら⁶⁾は HPLC 測定における PHBA-Me に対する BA、SOA、DHA の影響を解消するために、食品試料の抽出液を Oasis HLB カートリッジカラムで精製し、更に精製液中の BA、SOA、DHA と PHBA-Es 類を Bond Elut PSA カートリッジカラムを用いて分別しているが、カートリッジカラムを2本使用することで操作が煩雑になり、また検査費用が増加する欠点がある。

そこで、BA、SOA、DHA の共存下でも PHBA-Es 類を正確に検出、定量可能な移動相について検索を行った。既報⁴⁾でステビオシド (STV)、レバウディオシド A (REB) の検出に移動相としてアセトニトリル-水 (3:7) を用いたが、この移動相では BA、SOA、DHA のピークは2.5~4.1分に、PHBA-Me のピークは8.7分に検出され、十分分離していた。アセトニトリル-水系の移動相を用いることで SAC、BA、SOA、DHA、DU と PHBA-Me を分離することができるものと考え、アセトニトリル-水 (35:65) について検討したところ、Table 1 に示

Table 1. Retention time of 14 substances in acetonitrile-water (35:65) as mobile phase

Substance	Retention time (min)
	acetonitrile-water (35:65)
SAC	1.9
BA	2.0
DU	2.9
SOA	2.1
DHA	2.9(×)
PHBA-Me	4.1
PHBA-Et	6.3
PHBA-isoPr	10.2
PHBA-Pr	11.1
PHBA-isoBu	19.6
PHBA-Bu	20.8
REB	3.3
STV	3.5
GA	2.0(×)

(×) : strong tailing peak

したように SAC、BA、SOA、DHA のピークは1.9~3.0分に、PHBA-Me のピークは4.1分に検出され、十分分離していた。そして、6種の PHBA-Es 類は21分以内で測定することが可能であった。また、STV、REB、GA も6種の PHBA-Es 類の測定を妨害しなかった。以上の結果から、アセトニトリル-水 (35:65) を PHBA-Es 類測定用の移動相として用いることとした。

2. Oasis MAX 法の溶出液と測定物質の選定

10種の測定物質の Oasis MAX カートリッジカラムからの溶出では、0.01mol/L塩酸含有メタノールのみで溶出させた場合、10物質全てが100%溶出する。しかしながら、PHBA-Et の保持時間付近に妨害ピークが出現し、PHBA-Es 類の測定が妨害された。Oasis MAX カートリッジカラムに保持された PHBA-Es 類はメタノールではほぼ100%溶出し、上記の妨害ピークはメタノール溶出液では検出されなかったことから、メタノール溶出液を PHBA-Es 類、SOA、DHA 測定用試験溶液として用いることとした。そして、カートリッジカラムに残存している SAC、BA、SOA、DHA を0.01mol/L塩酸含有メタノールで溶出させ、溶出液を SAC、BA、SOA、DHA 測定用試験溶液として用いることとした。なお、SOA と DHA は両溶出液に分割されて溶出するため、両試験溶液の測定値を合算して試料の含有量を算出した。

3. エチルエーテル法と Oasis MAX 法を用いたときの食品からの測定物質の回収率の比較

魚肉ソーセージに10物質を各0.10~1.0g/kg (魚肉ソーセージへの添加量は SAC 0.15g/kg、SOA 1.0g/kg、その他の物質 0.10g/kg) または各0.020g/kg添加し、またドレッシングには7物質を各0.10g/kg添加し、エチルエーテル法と Oasis MAX 法を用いて試験溶液を調製し、HPLC で測定して両方法での回収率を求めた。結果を Table 2 に示した。

魚肉ソーセージの0.10~1.0g/kg添加においては、比較した20例中Oasis MAX 法が高い回収率を示したのは17例であった。魚肉ソーセージの0.020g/kg添加においては、全ての比較例でOasis MAX 法が高い回収率を示した。ドレッシングの0.10g/kg添加においては、比較した28例中Oasis MAX 法が高い回収率を示したのは20例であった。魚肉ソーセージおよびドレッシングのいずれにおいても、Oasis MAX 法の方が高い回収率を示す場合が多く、エチルエーテル法よりも精製操作中の測定物質の損失が少ないものと考えられる。

4. エチルエーテル法と Oasis MAX 法を用いたときの食品中の測定物質の含有量の比較

市販の福神漬け、らっきょう甘酢漬け、清涼飲料水、平成18~19年度外部精度管理試料、平成18年度千葉県保健所等精度管理調査試料⁵⁾について、エチルエーテル法と Oasis MAX 法を用いて試験溶液を調製して HPLC で測定し、両方法での含有量を求め、その値を比較した。結果を Table 3 に示した。

Table 2. Recoveries of 10 or 7 substances from foods by use of clean-up methods using extraction with ethyl ether and Oasis MAX cartridge column

Recovery (%)								
Fish sausage								
Spiked at 0.10-1.0 g/kg ^{a)}					Spiked at 0.020 g/kg			
Substance	Extraction with methanol-water (1:1) mixture ^{b)}		Extraction with methanol-water (1:1) mixture ^{b)}		Extraction with methanol-water (1:1) mixture		Extraction with methanol-water (1:1) mixture	
	Ethyl ether ^{c)}	Oasis MAX ^{d)}	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX
S A C	108.7	102.9	100.1	96.1	105.0	105.1	94.0	96.3
B A	106.0	100.1	99.5	100.4	85.0	96.6	93.6	102.8
S O A	92.4	100.1	97.1	101.5	75.0	91.6	66.5	99.4
D H A	86.0	101.3	94.5	98.1	30.0	87.3	0.0	96.0
PHBA-M e	89.3	96.9	92.2	99.7	90.9	97.3	87.7	97.9
PHBA-Et	89.6	95.9	92.1	98.2	91.3	95.4	88.5	96.5
PHBA-isoPr	86.7	93.8	90.4	96.2	87.7	93.4	85.4	93.6
PHBA-Pr	85.5	92.3	89.9	95.1	87.1	92.3	84.7	92.4
PHBA-isoBu	81.2	87.1	85.5	89.9	83.7	88.2	82.2	90.0
PHBA-Bu	79.5	84.1	84.6	88.4	81.6	83.6	81.8	86.8

Recovery (%)								
Dressing								
Spiked at 0.10 g/kg								
Substance	Extraction with methanol-water (1:1) mixture		Extraction with methanol-water (3:1) mixture ^{b)}		Extraction with methanol ^{b)}		Extraction with methanol ^{b)}	
	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX
S A C	111.0	104.4	99.5	97.9	97.9	104.2	104.0	101.5
B A	98.6	99.7	98.6	101.5	96.0	109.9	94.5	99.8
S O A	86.7	101.2	96.3	98.8	86.1	106.8	91.2	100.0
D H A	66.2	77.8	92.1	87.4	0.0	98.4	75.7	83.7
PHBA-M e	73.4	98.5	97.6	95.0	100.1	104.1	102.1	99.6
PHBA-isoPr	60.8	90.3	94.0	86.9	96.6	103.3	100.9	107.8
PHBA-Bu	49.8	69.6	82.3	66.0	85.5	97.9	100.7	107.3

a) SAC, SOA and other substances were spiked at 0.15, 1.0 and 0.10 g/kg.

b) Extraction solvent for food sample

c) Clean-up method using extraction with ethyl ether

d) Clean-up method using Oasis MAX cartridge column

福神漬けとらっきょう甘酢漬けは SAC と SOA が検出され、いずれも Oasis MAX 法が有意に高い値を示した。清涼飲料水は BA と PHBA-Bu が検出され、Oasis MAX 法がわずかに高い値を示した。外部精度管理の18年度試料では PHBA-isoPr と PHBA-Bu が、19年度試料では BA と PHBA-Bu が検出されたが、いずれにおいても Oasis MAX 精製法がわずかに高い値を示した。千葉県保健所等精度管理調査試料（醤油入りドレッシング）は PHBA-Me、PHBA-Pr、PHBA-isoBu が検出され、Oasis MAX 法が高い値を示した。検討した全ての試料において、Oasis MAX 法の測定値はエチルエーテル法の測定値より高い値を示し、Oasis MAX による精製操作中の測定物質の損失が少ないことが確認された。

5. 脂肪含有食品からの PHBA-Es 類の回収率および添加食品の測定値に及ぼす抽出溶媒の影響

Table 2 のドレッシングの Oasis MAX 法において、メタノール水（1:1）混液抽出では PHBA-Bu と PHBA-isoPr の回収率は70%以下と90%以下であったが、メタノール水（3:1）混液抽出およびメタノール抽出ではほぼ100%の回収率が得られた。また、Table 3 の千葉県

保健所等精度管理調査試料（醤油入りドレッシング）の Oasis MAX 法において、メタノール水（1:1）混液抽出の PHBA-Pr と PHBA-isoBu 測定値はメタノール抽出の測定値に比べ低く、約90%および約80%の値であった。

試料として用いたドレッシングの脂肪含有量は42%、醤油入りドレッシングの脂肪含有量は22%で、通常の食品に比べ脂肪含量の高い食品である。脂肪含量の高い食品中の PHBA-Es 類を良好に抽出、回収するための抽出溶媒としては、100%メタノール^{1), 6)}、80%メタノール⁷⁾、80%エタノール⁸⁾等が報告されており、100%メタノール抽出による食品からの10物質の回収率は、50%メタノール（メタノール水（1:1）混液）抽出より高い回収率が得られている。しかしながら、市販の SOA 添加の魚肉練り製品や食肉製品および DHA 添加のチーズの100%メタノール抽出における測定値は、50%メタノール抽出より低い値を示し、100%メタノール抽出は市販の保存料、甘味料添加食品では適していない場合がある¹⁾。また、ピーナツバター等のタンパク含量の高い食品では80%エタノール抽出で食品が固まり、保存料の抽出が困難との報告⁸⁾もあり、高タンパク食品等からの10物質の

Table 3. Determination of 10 substances obtained from foods by use of clean-up methods using extraction with ethyl ether and Oasis MAX cartridge column

Substance	Contents of 10 substances (g/kg)												
	Fukujin-zuke		Scallion, sweetened pickles		Soft drink		Sample for proficiency testing of laboratories at 2006 (soft drink)		Sample for proficiency testing of laboratories at 2007 (soft drink)		Sample for inter-laboratories evaluation in Chiba pref. at 2006 (dressing containing soy sauce)		
	Extraction with methanol-water (1:1) mixture ^{a)}		Extraction with methanol-water (1:1) mixture ^{a)}		Extraction with methanol-water (1:1) mixture		Extraction with methanol-water (1:1) mixture		Extraction with methanol-water (1:1) mixture		Extraction with methanol ^{b)}		
Ethyl ether ^{b)}	Oasis MAX ^{c)}	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX	Ethyl ether	Oasis MAX
SAC	0.301	0.336	0.546	0.561	n.d. ^{d)}	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.165	0.169	n.d.	n.d.	0.182	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SOA	0.317	0.351	0.121	0.144	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DHA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PHBA-Me	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.020	0.020	0.018	0.021
PHBA-Et	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PHBA-isoPr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.019	0.020	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PHBA-Pr	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.045	0.047	0.042	0.052
PHBA-isoBu	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.260	0.262	0.236	0.317
PHBA-Bu	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.027	0.030	0.037	0.039	0.019	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

a) Extraction solvent for food sample

b) Clean-up method using extraction with ethyl ether

c) Clean-up method using Oasis MAX cartridge column

d) n.d.: not detected (below 0.010 g/kg)

抽出には100%メタノールは適していないと考えられることから、著者らは日常の検査では50%メタノール（メタノール-水（1:1）混液）を抽出溶媒として用いている。10物質の添加回収率が高く、かつ合成保存料や合成甘味料が使用されている高タンパク食品等からの10物質の抽出率も良好な抽出方法を見いだすことは、現行の10物質の分析だけでなく、今後数多くの保存料や甘味料を一斉分析していく上で必要かつ重要な課題と思われる。

まとめ

食品中の合成保存料9物質および合成甘味料1物質の一斉分析に固相抽出カートリッジカラムを用いるOasis MAX法を適用し、更に従来用いているエチルエーテル法と比較検討した。

試験溶液中に他の測定物質と共存しているPHBA-Es類を正確に検出、定量可能なHPLC移動相を検索したところ、アセトニトリル-水（35:65）が適していた。Oasis MAXカートリッジカラムからの溶出液は、0.01 mol/L塩酸含有メタノール溶出液は測定物質の全てが溶出するが、PHBA-Etの妨害ピークが出現する。そこで、PHBA-Etの妨害ピークが検出されずPHBA-Es類をほぼ100%溶出するメタノール溶出液をPHBA-Es類、SOA、DHA測定用試験溶液として用いることとし、続いて0.01 mol/L塩酸含有メタノールで溶出させ、その溶出液をSAC、BA、SOA、DHA測定用試験溶液として用いることとした。

魚肉ソーセージおよびドレッシングにおける各測定物質の回収率は比較した全48例中Oasis MAX法が高い場合が37例、エチルエーテル法が高い場合が11例で、Oasis MAX法の方が回収率が高い場合が多かった。市販の福神漬け、らっきょう甘酢漬け、清涼飲料水、平成18～19年度外部精度管理試料、平成18年度千葉県保健所等精度管理調査試料における測定値は全ての試料において、Oasis MAX法がエチルエーテル法より高かった。

高脂肪含有のドレッシングおよび千葉県保健所等精度管理調査試料（醤油入りドレッシング）のPHBA-Es類の回収率および測定値は100%メタノール抽出法が50%メタノール（メタノール-水（1:1）混液）抽出法より高かった。

謝辞

本研究を実施するにあたり、ご協力をいただいた健康福祉センター試験検査担当職員研修（食品化学コース）の平成18年度および19年度研修生各位に深謝いたします。

文献

- 1) 土田千鶴子、宮本文夫、小野悦子、佐伯政信（2000）：高速液体クロマトグラフィーによる食品中の合成甘味料および合成保存料の一斉分析法の改良、千葉県衛研報告、第24号、10-15.
- 2) 厚生省令第2号、平成9年1月16日、「食品衛生法施行規則の一部を改正する省令」.
- 3) 衛食第117号、平成9年4月1日、厚生省生活衛生

局食品保健課長通知「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」.

- 4) 長谷川康行、橋本博之、眞壁祐樹、佐二木順子、宮本文夫（2007）：HPLCによる食品中の保存料および甘味料の一斉分析法について—HPLC測定条件および固相抽出による精製操作の基礎検討—、千葉県衛研年報、第55号、49-53、2006年版.
- 5) 千葉県衛生研究所編（2007）：千葉県衛研年報、第55号、15-19、2006年版.
- 6) 岸弘子、山田利治（2007）：HPLCによる食品中の9種保存料の一斉分析、食衛誌、48、58-63.
- 7) 粕屋陽子、松田敏晴、中里光男、安田和男（2003）：透析法を応用した食品中の保存料の一斉分析、東京健安研七周年報、54、104-108.
- 8) 都田路子、山田洋子、天川映子、安田和男（2004）：直接抽出法による食品中の保存料の分析、東京健安七周年報、55、101-106.