

HPLC による食品中の保存料の一斉分析法の検討

新矢将尚、山口之彦、山野哲夫

Study on simultaneous analysis of preservatives in foods using HPLC

Masanao SHINYA, Yukihiro YAMAGUCHI and Tetsuo YAMANO

Abstract

A method of simultaneous analysis of preservatives, intended for benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid and propionic acid, was developed. Various conditions were examined with respect to steam distillation, solid-phase extraction and high performance liquid chromatography (HPLC). Steam distillation examination confirmed that target preservatives were recovered in the distillate within 300mL, thus reduction of the volume of distillate efficiently shortened distillation time. After steam distillation, target preservatives were effectively purified and concentrated with solid-phase extraction cartridges in which strong anion exchange (SAX) function was introduced. In the case of a silica-gel based SAX cartridge, fluoride substitution and pH adjustment were found to be important to maximize the retention ability of the cartridge to these preservatives. When propionic acid alone is analyzed, polymer based SAX cartridges seemed to be useful, because their retention ability were not affected by the change of pH conditions. With HPLC mobile phase gradient method using phosphate buffer (pH 4.0) and acetonitrile, satisfactory peak separation was obtained, and the analysis of all preservatives was completed within 25 minutes. The recovery rates of four preservatives added to cheese were 89-101% with the simultaneous analysis method using a silica-gel based SAX cartridge.

Key words: preservatives, steam distillation, solid-phase extraction, anion exchange, HPLC

I はじめに

食品添加物の中で、保存料は微生物の増殖を抑え、静菌状態にすることで食品を長く保つために使用されている[1]。わが国で許可されている保存料は、安息香酸(ナトリウム塩を含む)、ソルビン酸(カリウム塩またはカルシウム塩を含む)、デヒドロ酢酸ナトリウム、プロピオン酸(カルシウム塩またはナトリウム塩を含む)および安息香酸エステル類であり、それぞれ食品ごとに使用基準が定められている。安息香酸エステル類を除く保存料は酸型であり pH の低い食品で効果が高く、乳製品や漬物などに使用されることが多い。

Fig.1 に示すように、乳製品のわが国における年間 1 人あたり消費量(マーガリンは年間生産量)は、チーズおよびはっ酵乳で増加傾向を示している (Fig.1 では 1990 年の値[2]を 100%として推移を示した) / 1990 年の年間 1 人あたり消費量: チーズ 1.13kg、バター 0.69kg、牛乳 34.6L、はっ酵乳 3.8L、年間生産量: マーガリン 176kt)。発酵食品は栄養学的に優れているほか、さまざまな機能性も明らかにされてきており[3]、市民の健康意識の高まりもあって、この傾向は今後も続くことが予想される。こ

のため、チーズ等の乳製品における保存料の検査体制の整備や摂取状況の正しい把握は、食生活の安全と市民の健康維持に不可欠な要素の一つと考えられる。

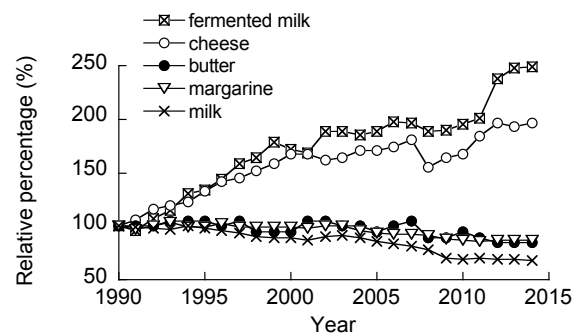


Fig.1 Trends of annual per capita consumption of cheese, butter, milk and fermented milk, and annual production of margarine. Each sequential line indicates the relative changes taking the level in 1990 as a base of 100. All of the raw data are downloaded from the homepages of Japan Dairy Association[2] and recalculated by the authors.

一方、食品中の保存料の検査方法は、いずれも水蒸気蒸留—高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法が通知法[4] で定められているが、安息香酸、ソルビン酸およびデヒドロ酢酸とプロピオン酸とでは、試料量や水蒸気蒸留運転時および HPLC 測定時の条件が全く異なっているため、同時に分析することはできない。

このため、本研究ではこれら 4 成分を同時に分析できる方法を開発し、保存料分析の迅速化およびコストの削減をはかることで、市民の食生活の安全と健康増進に寄与することを目的とする。

II 実験方法

1) 試料

平成 27 年 6 月に大阪市内で市販されたナチュラルチーズ(クリームチーズ)を用いた。

2) 試薬・資材

(1) 標準溶液

プロピオン酸(以下 PA) 標準溶液には、プロピオン酸ナトリウム(関東化学(株)製、カルボン酸分析計用) 325mg を蒸留水に溶解して 25mL としたものを標準原液(プロピオン酸として 10,000 μ g/mL)とし、適宜希釈して用いた。また、安息香酸(以下 BA)、ソルビン酸(同 SoA)、デヒドロ酢酸(同 DhA)(いずれも関東化学(株)製、食品分析用)については、各 500mg をメタノールに溶解してそれぞれ 50mL に定容したものを標準原液(各 10,000 μ g/mL)とし、適宜蒸留水で希釈して用いた。

(2) 水蒸気蒸留添加液

15%酒石酸溶液:L(+)-酒石酸(試薬特級) 150g を蒸留水に溶解して 1,000mL とした。10%リン酸溶液:リン酸(85%、試薬特級) 11.8mL を量り取り蒸留水を加えて 100g とした。

(3) 緩衝液

0.2M トリス-塩酸緩衝液:トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(Sigma-Aldrich 社製、Trizma base) 12.1g を蒸留水 300mL に溶解し、塩酸(35%、試薬特級)で目的 pH に調整した後、蒸留水を加えて 500mL とした。調整した pH は 7.0、7.5、8.0、8.5、9.0 である。

(4) 前処理用カートリッジカラム

3 種の強陰イオン交換型(SAX)カートリッジを適用した。MEGA Bond Elut SAX(充填量 1,000mg、基材:シリカゲル、Agilent 社製)、Maxi-Clean SAX(充填量 600mg、基材:スチレンジビニルベンゼン、Alltech 社製)、InertSep MA-1(充填量 500mg、基材:メタクリレート、ジーエルサイエンス(株)製)のそれぞれにおいて、あらかじめメタノール 5mL および蒸留水 10mL で順次洗浄し、0.8M NaF 溶液(フッ化ナトリウム 3.36g を蒸留水に溶かして 100mL にしたもの)10mL を通液して F⁻置換したものをを用いた。

(5) HPLC 用移動相

100mM リン酸緩衝液(pH4.0):リン酸(85%、試薬特級)0.089mL とリン酸二水素カリウム(試薬特級)13.432g を蒸留水に溶かして 1,000mL とした。用時蒸留水で 5 倍に希釈して用いた。蒸留水、アセトニトリル(ACN)およびメタノール(MeOH)は高速液体クロマトグラフ用を用いた。

(6) その他

検討時に用いた有機酸は臭気分析用、その他については試薬特級を用いた。

3) 装置

(1) 水蒸気蒸留装置

宮本理研工業(株)製 STC-3D を用いた。

(2) 固相抽出用アクセサリ

SUPELCO 社製 Visiprep 標準型 SPE バキュームマニホールドを用いた。

(3) HPLC

Waters 社製 e2695 Alliance システムおよび e2998(フोटダイオードアレイ検出器)を用いた。

4) HPLC 条件

カラム:Inertsil ODS-3(5 μ m、4.6 \times 250mm、ジーエルサイエンス(株)製)

カラム温度:40 $^{\circ}$ C

移動相:A 液および B 液について下記濃度勾配で送液

A 液 20mM リン酸緩衝液(pH4.0)

B 液 ACN

時間(min)	A 液(%)	B 液(%)
0	94	6
5	74	26
25	74	26
25.01	94	6
35	94	6

流速:1.0mL/min

注入量:40 μ L

測定波長:PA 210nm、BA、SoA、DhA 230nm

5) 試験溶液の調製

分析方法のフローチャートを Fig.2 に示す。試料 6g を蒸留フラスコに秤り取り、蒸留水 100mL、15%酒石酸溶液 10mL、塩化ナトリウム 60g およびシリコーン樹脂数滴を加え、毎分 10mL の留出速度で水蒸気蒸留を行った。留液はあらかじめ蒸留水 15mL を加えたメスシリンダー中に捕集し、300mL になるまで蒸留した。

次に留液の 25mL を分取して SAX カートリッジに負荷した後、5%塩化ナトリウム含有 0.01mol/L 塩酸 5mL で溶出し、さらに孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルタに通したものを HPLC 用試験溶液とした。

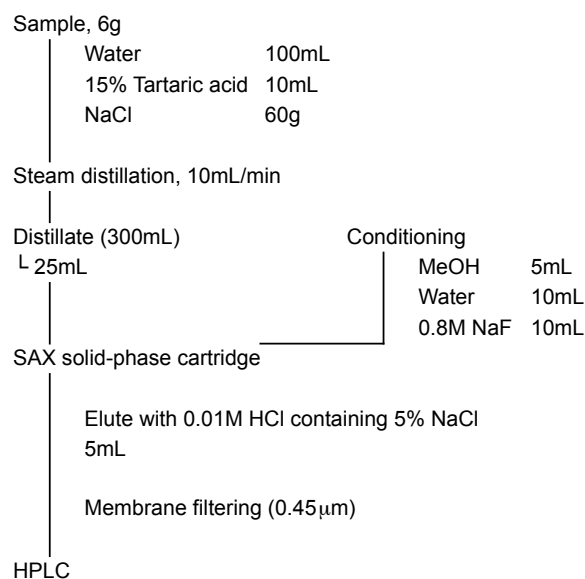


Fig.2 Analytical procedure of preservatives in foods.

III 結果および考察

1) HPLC 条件

(1) 移動相の検討

通知法[4]において、保存料の HPLC 測定時のカラムの条件は同一であるが、移動相については、BA、SoA および DhA の測定には MeOH・水・0.2M リン酸緩衝液 (pH4.0) (36:59:5)、ACN・水・0.2M リン酸緩衝液 (pH4.0) (28:67:5)、MeOH・ACN・5mM クエン酸緩衝液 (pH4.0) などが使用でき、また PA の測定には水・ACN 混液 (94:6)をリン酸で pH2.5 に調整したものを使用すると記載されている。これらの条件を統一するために、緩衝液の種類と pH、および混和させる溶媒について比較検討を行った。

まずリン酸濃度を 10mM とし、リン酸とリン酸二水素カリウムの混合比を変えて pH を 2.5、3.0、3.5、4.0 になるよう調製し、それぞれの pH において MeOH が 36%または ACN が 28%の比率になるよう混合した移動相を用いて、保存料 4 種混合溶液 (PA:100 μ g/mL, BA, SoA, DhA 各 10 μ g/mL)を HPLC に 20 μ L 注入し、分離状況を確認した。pH3.0 以下ではいずれの溶媒でも BA と SoA が分離されなかった。ACN を用いた場合は、pH3.5 および 4.0 で全成分の分離は良かったが、SoA が高濃度の場合は pH3.5 ではソルビン酸の異性体[5]が BA のピークに重なったため、移動相の pH は 4.0 が最適と判断した。ただし、pH4.0 では pH3.5 に比べて緩衝能が小さいため、濃度を 2 倍の 20mM とした。MeOH を用いた場合は、pH4.0 では SoA と DhA の分離が悪く、SoA が高濃度の場合は DhA の定性は困難という通知法[4]どおりの結果であったため、溶媒には ACN を用いることとした。なお、クエン酸緩衝液を移動相に用いると、クエン

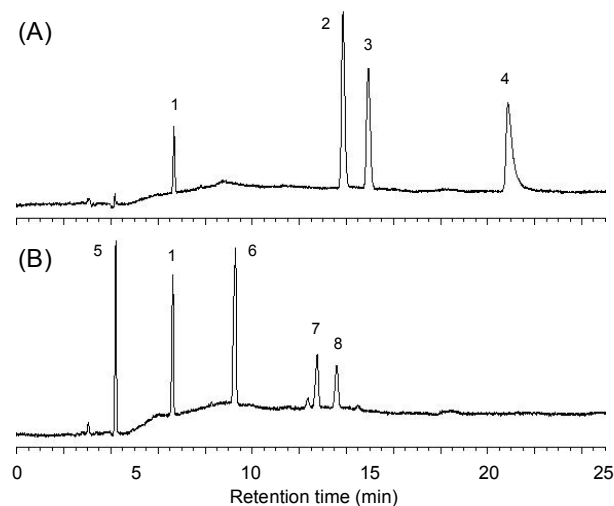


Fig.3 Chromatograms of (A) preservatives and (B) organic acids. 1:propionic acid (PA), 2:benzoic acid (BA), 3:sorbic acid (SoA), 4:dehydroacetic acid (DhA), 5:acetic acid, 6:*n*-butyric acid + isobutyric acid, 7:isovaleric acid, 8:*n*-valeric acid. HPLC conditions are described in the text.

酸自体の紫外外部吸収によりベースラインの変動が大きくなり PA の測定に影響したため、移動相にはリン酸緩衝液を用いることとした。

リン酸緩衝液 (pH4.0)と溶媒の混合比については、ACN が 28%を超えると BA と SoA の分離が悪くなり、比率が小さいほど DhA の保持時間が長くなることから、26%を選択した。

(2) グラジエント条件の検討

ACN・20mM リン酸緩衝液 (pH4.0) (26:74)のイソクラティック条件では、PA のピークはホールドアップ時間の直後に現れ、夾雑ピークとの分離が困難になることが予想された。一方、ACN の比率を下げると PA と夾雑ピークとの分離は良くなるが、BA の保持時間が非常に長くなる[6]ことから、グラジエント条件の検討を行った。

ACN を PA 通知法の比率である 6%から始めて 26%まで上昇させると、PA と夾雑ピーク、および BA、SoA、DhA は良く分離され、分析開始から濃度勾配をつけることで、全成分は 25 分以内に分析可能であった。この条件でのクロマトグラムを Fig.3(A)に示す。また、食品によっては PA 以外の有機酸が共存する場合がある[6]ため、酢酸、*n*-酪酸、イソ酪酸、*n*-吉草酸、イソ吉草酸をこの条件で測定したところ、Fig.3(B)に示す通り、保存料の分析に影響しないことを確認した。

(3) 定量下限の設定

一般に、検出限界は測定機器から得られる応答値の S/N 比から求められるが、検量線の切片の標準偏差からブランク値のとりうる範囲を求め、検出限界を推定する方法[7]がある。本研究ではその標準偏差の 10 倍を

HPLC 測定上の定量下限値とした。これより、定量下限は PA で $4\mu\text{g/mL}$ 、BA、SoA および DhA で $0.05\mu\text{g/mL}$ と算出され(40 μL 注入時)、検量線は PA について 10 ~ 200 $\mu\text{g/mL}$ 、BA、SoA、DhA については 0.1 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性が確認された。

2) 水蒸気蒸留条件

(1) 採取留出量の検討

通知法[4]において、水蒸気蒸留時の採取留出量は、PA の 300mL に対し、BA、SoA、DhA では 500mL と多くなっている。そこで、BA、SoA および DhA について 100mL ごとの留出面分を確認した。

水蒸気蒸留の空試験時に BA、SoA、DhA を各 1000 μg 添加して積算回収率を求めたところ、Fig.4 に示すように 300mL でいずれも全量回収できていると考えられたことから、PA に合わせて採取留出量を 300mL とすることにした。したがって、1 回あたりの蒸留時間が 3/5 に短くなり、多検体を前処理する場合には相当の時間短縮が期待できる。

(2) 蒸留フラスコ添加酸の比較

通知法[4]において、試料を入れる蒸留フラスコには、BA、SoA、DhA では 15%酒石酸を、PA では 10%リン酸をそれぞれ添加して pH を調整し蒸留する。また、前者では受器に何も入れないが、後者では 0.2M トリス-塩酸緩衝液 (pH8.5) を受器に入れ冷却器の先端を浸すと記載されている。そこで、これらの条件の違いについて検討した。

蒸留フラスコ添加酸の違いについてはほとんど差が見られなかったが、後述するように固相抽出との相性で 15%酒石酸を用いる方が回収率は若干高かった。受器は空よりも液に浸す方が、PA の回収率は若干高かった。

3) 固相抽出条件

(1) 固相カートリッジの種類と使用時 pH の関係

通知法[4]において、BA、SoA、DhA の分析法では固相抽出を行う必要はないが、PA では SAX 固相抽出カートリッジを使用して精製と濃縮を行うと記載されている。それにはポリマー基材のカートリッジである Maxi-Clean SAX (Alltech 社製) が例示されているが、一般にシリカゲル基材の固相カートリッジの方が安価であり、耐圧性にも優れており安定して通液できるため、本研究ではシリカゲル基材の MEGA Bond Elut SAX (Agilent 社製) を用いて検討し、あわせてポリマー基材のカートリッジと比較した。なお、Bond Elut Jr.でも同等の結果が得られたが、通液性など使いやすさの観点から、MEGA Bond Elut を使用することにした。

① シリカゲル基材カートリッジ

各保存料の pKa 値を考慮して完全に解離させるため、通知法では SAX カートリッジへの通液 pH は 8.5 と弱ア

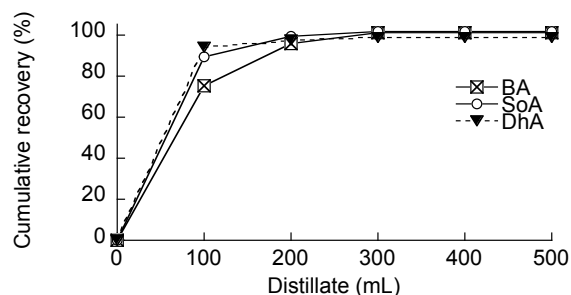


Fig.4 Cumulative recoveries of benzoic acid (BA), sorbic acid (SoA) and dehydroacetic acid (DhA) during steam distillation.

ルカリ性となっているが、シリカゲル基材カラムはアルカリ性下で加水分解するため、使用時 pH の確認を行った。

PA の通知法では 0.2M トリス-塩酸緩衝液 (pH8.5) を吸収液として受器に加え、最終的に約 0.01M になった留液を SAX カートリッジへ通液している。これにならって、pH をそれぞれ 7.0、7.5、8.0、8.5、9.0 に調整した 0.2M トリス-塩酸緩衝液を 0.01M に希釈する際に、保存料 4 成分をそれぞれ 10 $\mu\text{g/mL}$ になるよう添加した液を調製し、その 25mL をコンディショニングした SAX カートリッジに通液した。当初は MeOH と蒸留水だけでコンディショニングしたところ PA の回収率は著しく低かったが、その理由は、Bond Elut SAX は対イオンが Cl 型であり、プロピオン酸イオンの方が SAX 官能基への相対的吸着特性が低い[8]ため、イオン交換相互作用が起こりにくかったためだと考えられた。そこでプロピオン酸イオンより吸着特性の低い F 型へ置換するために、コンディショニングの最後にフッ化ナトリウム溶液を通液した[9, 10]。ただし、文献では 1M となっているが、20 $^{\circ}\text{C}$ の水ではフッ化ナトリウムが 1M ではわずかに溶解しなかったため、0.8M とした。固相の容量を考慮すると、0.8M でも十分置換される。

通液後のカートリッジを水で洗浄すると保存料が一部脱離したため、洗浄せずにそのまま 5mL の 5%NaCl 含有 0.01M 塩酸で溶出し、回収率を計算した。さらに 5mL を流しても成分が確認されなかったため、最初の 5mL で全量回収できていると考えられた。

各 pH における保存料の保持特性を Fig.5 に示す。MEGA Bond Elut を使用した場合、pH が 7.5 以下では保存料 4 成分とも 90%以上の回収率が得られた。蒸留水(DW)で調製した試験液の回収率が最も高かったが、その理由については次項(2)で詳述する。一方、pH が 8.0 を超えると保存料の保持能は低下し、特に PA でその傾向が顕著であった。なお、pH7.0 および 7.5 の緩衝液にはリン酸緩衝液も検討してみたが、回収率は 50% に満たず H_2PO_4^- や HPO_4^{2-} がイオン交換相互作用に影響を及ぼすと考えられた。

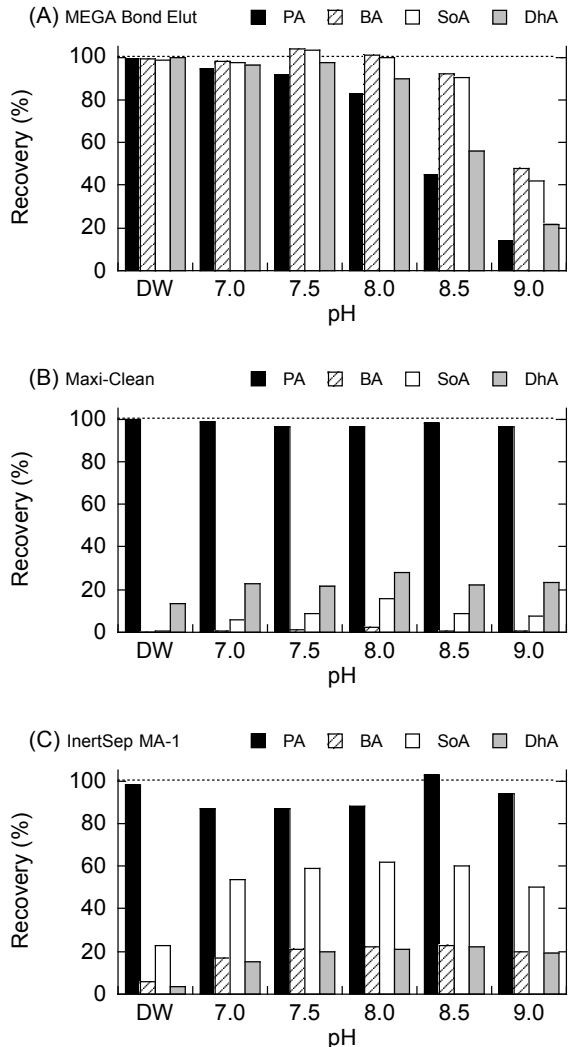


Fig.5 Effects of pH on retention characteristics of preservatives in solid phase extraction cartridges; (A) MEGA Bond Elut SAX, (B) Maxi-Clean SAX, (C) InertSep MA-1. DW: distilled water. Other abbreviations are as in Fig.3.

② ポリマー基材カートリッジ

Fig.5 には Maxi-Clean を使用した場合も図示してあるが、PA についてはいずれの pH においても 95%以上の良好な回収率が得られた。一方、BA、SoA、DhA はいずれの pH においても回収率は低く、これらは分子構造上、ポリマーとの二次的相互作用が強く、一旦保持されると溶離しにくいと考えられた。InertSep MA-1 はメタクリレート基材のため Maxi-Clean よりは親水性が高く溶離しやすかったものの、いずれの pH においても回収率が 70%を超えた成分は PA のみであり、4 成分全ての捕集・濃縮には不向きであった。しかし、これらのポリマー基材カートリッジは試験液の pH に対する安定性がシリカゲル基材カートリッジよりも高いため、PA のみの捕集・濃縮にはきわめて有効であると考えられた。

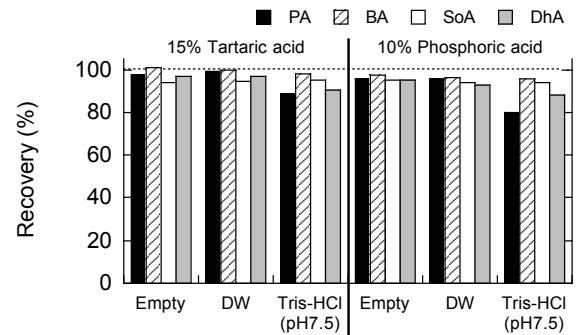


Fig.6 Recoveries of preservatives due to differences of added acids in distillation and absorbing reagents in distillate receivers, after solid phase extraction with MEGA Bond Elut SAX. Abbreviations are as in Fig.5.

(2) 水蒸気蒸留試料との組み合わせ

水蒸気蒸留の空試験時に保存料 4 成分をそれぞれ 3000 μ g 添加し、300mL 留出した。その際、蒸留フラスコには 15%酒石酸または 10%リン酸を加えて蒸留し、受器にはあらかじめ吸収液として何も加えない場合、蒸留水 15mL を加えた場合、0.2M トリス-塩酸緩衝液 (pH7.5) 15mL を加えた場合で、それぞれ試験した。各成分が完全に留出すれば、留出液中濃度は前項同様にそれぞれ 10 μ g/mL になり、これを MEGA Bond Elut SAX で 5 倍濃縮した場合の回収率を示すと、**Fig.6** のようになった。

15%酒石酸を用い、受器に蒸留水 (DW) を入れた場合の回収率が最も高かったが、それには緩衝能がなく、フラスコ内の酒石酸の影響を受けて留出液の pH は 3 程度になっていた。しかし、0.8M NaF 溶液でコンディショニングしたカートリッジを通液した後の pH は 6~7 に上昇しており、カートリッジに残存する高濃度の NaF により中和されて保存料の解離が起こり、保持されたと考えられた。

受器が空の場合は PA の回収率が若干低かったが、冷却器の先が液に浸るまでの間に、わずかに揮散したと考えられた。また、トリス-塩酸緩衝液 (pH7.5) を入れた場合は PA と DhA で回収率がやや低下していた。これを説明するために、上記の留出液を想定した保存料 4 成分各 10 μ g/mL 水溶液に食塩を添加し、固相抽出時の塩化物イオン量と各保存料の回収率の関係を調べた。その結果を **Fig.7** に示す。トリス-塩酸緩衝液では pH が低いほど塩酸の添加量が多くなり、**Fig.7** に示すように塩化物イオン量が多いほど特に PA と DhA の回収率が低下していたことから、SAX 官能基への相対的吸着特性の強い塩化物イオンが共存すると、保存料の保持に影響を及ぼすことが示唆された。

10%リン酸を用いた場合は、傾向は同様であったが 15%酒石酸と比較して、全般に回収率は若干低かった。

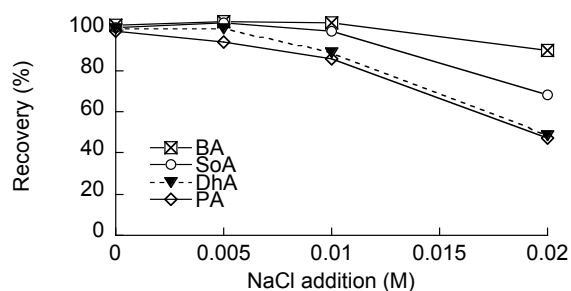


Fig.7 Effect of concentration of NaCl on the recoveries of preservatives from MEGA Bond Elut SAX cartridge. Abbreviations are as in Fig.3.

留出液の pH は、フラスコ内のリン酸の影響を受けて 2 ~3 になっており、リン酸に起因するイオンは III 3) (1) ①で示したように、塩化物イオンに加えて SAX 官能基への保存料の保持に影響を及ぼすと考えられた。

以上より、MEGA Bond Elut を使用すれば保存料 4 成分の捕集・濃縮が可能であるが、共存するイオンの影響を受けやすいため、受器には蒸留水を入れて水蒸気蒸留を行い、固相抽出時には十分量の NaF 溶液を通してコンディショニングを行っておく必要があり、本条件では通液量を 25mL としても目的成分を十分回収できた。

4) 添加回収試験

通知法では、BA、SoA、DhA については 5g、PA については 30g の試料を採取するとあるが、検量線最低濃度、留出量 300mL、固相抽出で 5 倍濃縮を考慮すると、PA の定量下限(0.1g/kg)に必要な試料量は 6g と算出される。この場合の BA、SoA、DhA の定量下限は 0.001g/kg となるが、固相抽出を行わない場合でも 0.005g/kg となり、通知法の下限(0.01g/kg)を担保しているため、試料量 6g で試験を行った。

ナチュラルチーズ 6g を Fig.2 に示した方法で分析し、いずれの成分も定量下限値未満と確認された試料に、あらためて標準を添加して分析し回収率を求めた。添加量は食品衛生検査における精度管理の一般ガイドライン[11]に準じて、チーズの使用基準(PA および SoA: 3.0g/kg、DhA: 0.5g/kg、BA: 1.0g/kg (チーズの基準はないのでマーガリンの基準で代替))の 1/2 濃度になるよう、それぞれ添加したものを、高濃度試料とした。また、不検出基準により定量下限値の 2 倍濃度になるよう、それぞれ添加したものを、低濃度試料とした。固相カートリッジには MEGA Bond Elut SAX を使用し、添加回収試験は高濃度試料、低濃度試料とも 3 回ずつ行った。さらに、高濃度試料においては SAX カートリッジで濃縮せずに留出液そのままの測定も行った。

Table 1 Recoveries of preservatives added to cheese with or without concentration using MEGA Bond Elut SAX cartridge. (n=3 on each condition) CV: coefficient of variation. Other abbreviations are as in Fig.3.

	Added g/kg	Recovery %	CV %
with concentration using SAX cartridge			
PA	0.2	99.7	2.8
	1.5	100	0.7
BA	0.002	96.0	2.5
	0.50	98.0	3.0
SoA	0.002	88.7	2.4
	1.5	96.8	0.6
DhA	0.002	101	2.0
	0.25	96.0	1.2
without concentration			
PA	1.5	97.9	2.0
BA	0.50	96.7	1.0
SoA	1.5	96.7	0.6
DhA	0.25	97.0	0.4

添加回収試験の結果を Table 1 に示す。高濃度試料の回収率はいずれの成分も 96~100%と良好であり、変動係数も 0.6~3.0%とばらつきが小さかった。低濃度試料では SoA のみ 89%とやや低かったものの、それ以外の成分は 96~101%の良好な回収率が得られ、また変動係数も 2.0~2.8%であった。BA、SoA、DhA については、通知法の定量下限値の 1/10 まで精度良く分析できることが示された。

一方、高濃度試料で SAX カートリッジを使用しない場合も、良好な回収率(97~98%)と変動係数(0.4~2.0%)が得られ、高濃度に含まれる食品の検査では固相抽出による濃縮操作を行わなくても、十分な精度で分析可能であった。

IV まとめ

保存料 4 成分(安息香酸、ソルビン酸、デヒドロ酢酸、プロピオン酸)の一斉分析法として、水蒸気蒸留—固相抽出—HPLC における最適条件について検討し、チーズの分析に適用した。

固相抽出において 4 成分全て保持できたのはシリカゲル基材の SAX カートリッジであり、試料通液直前に 0.8M NaF 溶液を流すことで各成分が良好に保持された。HPLC 測定においては、移動相に pH4.0 のリン酸緩衝液を用い、アセトニトリルとの比率が 94:6 から 74:26 まで濃度勾配をつけたグラジエント分析により、個々の成分および妨害成分が分離され、25 分以内で一斉分析が可能であった。チーズへの添加回収試験では、いずれ

の成分も良好な回収率が得られ、精度良く分析できることが示された。

参考文献

- 1) 細貝祐太郎, 松本昌雄監修. 食品安全セミナー2 食品添加物. 中央法規出版; 2001. 181-188.
- 2) 一般社団法人Jミルク. 酪農乳業情報データベース. <http://www.j-milk.jp/gyokai/database/index.html>
- 3) 河野一世, 柴田英之. 日本食からみる発酵食品の多様性と日本人の健康—肥満を中心に—. *日本調理科学会誌* 2010; **43**: 131-135.
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長. 「食品中の食品添加物分析法」の改正について(別添2). 食安基発 0528 第3号; 2010.
- 5) 西山良子, 田村行弘, 井部明広, 上原真一, 上村尚, 田端節子, 飯田真実, 二島太郎. 食品中で生成するソルビン酸の異性体について. *衛生化学* 1991; **37**: 89-96.
- 6) 立石恭也, 中里光男, 牛山博文, 小林千種, 川合由華, 守安貴子, 安田和男. 高速液体クロマトグラフィーによる食品中のプロピオン酸の分析法. *東京衛研年報* 1998; **49**: 77-83.
- 7) J. N. Miller, J. C. Miller(宗森信, 佐藤寿邦 訳). データのとり方とまとめ方(第2版). 共立出版; 2004. 144-148
- 8) ジーエルサイエンス編. 固相抽出ガイドブック. ジーエルサイエンス株式会社; 2012. 44-47
- 9) M. L. Shih, J. R. Smith, J. D. McMonagle, T. W. Dolzine and V. C. Gresham. Detection of metabolites of toxic alkylmethylphosphonates in biological samples. *Biol. Mass Spectrom.* 1991; **20**: 717-723.
- 10) 片岡美江子, 瀬戸康雄. 神経ガス分解物の固相抽出前処理法. *鑑識科学* 2002; **6**: 117-127.
- 11) 厚生省生活衛生局食品保健課長. 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. 衛食第 117 号; 1997.

(WEB サイトの内容は 2016 年 6 月 15 日に確認した)