

Sep-pak C₁₈ カートリッジを用いた水溶性アナーの分析法について

山城興博

Determination of Annatto. Water-soluble in Foods

Okihiro YAMASIRO

Abstract In sample preparation for determination of Annatto. Water soluble, benzene-alkaline partition was used in official method after extraction using Ethernol-alkaline mixture solution. But in some food mixture samples emulsion occurred causing a loss of recovery. This time I applied Sep-pak C₁₈ cartridge in sample preparation and obtained a better result compared with official mehtod.

Key words : Annatto Water-soluble, Sep-pak C₁₈ Cartridge

I はじめに

水溶性アナーとは、ベニノキ [Bixa Orellana L. (Bixaceae)] の種子の赤色被覆の加水分解物で、天然由来の赤色着色料としてチーズ、バター、アイスクリーム、菓子等に用いられている。公定分析法 (食品衛生検査指針、1989) は試料をヘキサンで脱脂し、アルコール-アルカリ混液で抽出→硫酸酸性ベンゼン抽出→水洗→0.05 N NaOH抽出→HPLCへとになっている。今回この試験溶液の調製過程に Sep-Pak C₁₈ カートリッジを用いたところ良好な結果が得られたので報告する。

II 実験法

1. 試料

マーケットバスケット方式による厚生省の食品添加物一日摂取量調査法に従い購入した加工食品を7群に分け、各群を混合し粉碎し調製した試料を用いた。

1群: 調味嗜好飲料, 2群: 穀類, 3群: いも類・豆類, 4群: 魚介類・肉類, 5群: 油脂類・乳類, 6群: 砂糖・菓子類, 7群: 果実類・野菜類・海藻類

2. 試薬

Sep-pak C₁₈

3. 標準液 : 公定法に準じる 検量線は図1のとおり

4. 装置

高速液体クロマトグラフ: 島津製作所製 LC-6A, 検出器: 島津製作所 SPD-6AV,

5. 試験溶液の調製

試料10gを100mlの共栓試験管にとり、ヘキサン25mlを加え、テフロンスパークルで十分攪拌したのち遠心分離し、ヘキサン層を捨てる。この操作を3回繰り返す。残渣を水浴中 (60℃) に入れ攪拌しながらN₂ ガスを吹き付けながらヘキサンを揮散する。これに0.1N-NaO

H: EtOH (1:1) 30mlを加えテフロンスパークルで攪拌したのち栓をし、振とう (5分) したのち、遠心分離 (3000rpm×10分) し上澄液をメスフラスコへ移し更に25mlで2回この操作を繰り返し、水で全量を100mlにする。

この試験溶液5mlをとり水15mlを加え Sep-Pak C₁₈ カートリッジへ負荷する。水10mlで洗浄したのちメタノール:水:酢酸 (85:14:1) で溶出し最初の10滴は捨て5mlを採取する。

試料10g

ヘキサン25ml

攪拌、遠心分離 (3000rpm, 10分)

ヘキサンをすてる

この操作を3回繰り返す

残渣

水浴中加温しヘキサンを揮散

0.1N NaOH: EtOH (1:1) 30ml

攪拌、振とう抽出

遠心分離 (3000rpm, 10分)

さらに抽出液25mlで抽出する操作を

2回繰り返す

抽出液に水を加え全量を100mlにする (試料液)

試料液5mlをとる

水15ml

Sep-pakカートリッジへ負荷

水10mlで洗浄

MeOH: H₂O: CH₃COOH

(85: 14: 1) で溶出

最初の10滴は捨てる

溶出液5ml

HPLCへ

図1 水溶性アナーの分析法

6. HPLCの条件

カラム：Shim-pak L(ODS)4.6i, d × 150mm
 移動層：MeOH:H₂O:CH₃COOH(85:15:1)
 流速：1ml/Min
 注入量：10 μl

測定波長：453nm

7. 添加回収試験

試料1～7群各10gに50 μgの標準液を添加し、
 公定法及びカートリッジ法によって回収率を求めた。

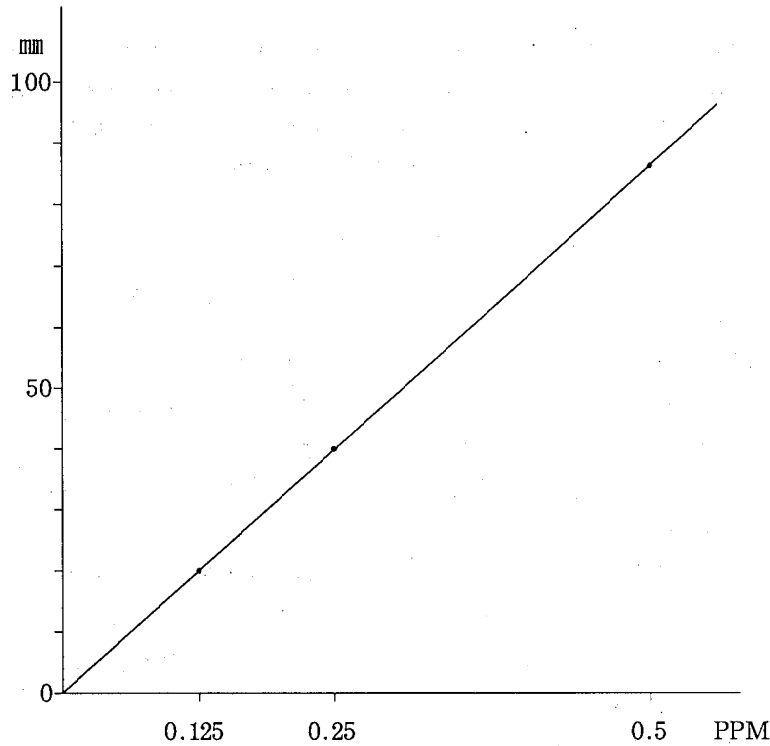


図2 水溶性アトナーの検量線

表1 水溶性アトナーの添加回収率 (%)

食品群 試験法	1群	2群	3群	4群	5群	6群	7群
公定法	87.8	63.2	56.9	31.4	66.5	70.9	59.1
カートリッジ法	92.6	79.9	79.6	75.8	85.5	89.5	96.2

※ 各種10gに標準液50 μg添加

III 結果及び考察

全国12地研の共同研究である厚生省依頼の添加物一日摂取量調査の一環として水溶性アトナーの分析を担当したところ公定法では、抽出の過程で、群により乳化し、回収率が低くなるものがあり、Sep-pakによる方法を検討した。無添加の試料は各群ともピークは認められなかった。添加回収試験の結果は図2のとおり群により2つのピーク(アトナーa, アトナーb)に分かれる。

この原因については究明できていないが今回は2つのピークの合計で定量したところ表2のとおり各群とも回収率はカートリッジ法の方が良好で操作も簡単で分析時間も短縮出来た。

□参考文献

厚生省生活衛生局監修(1987)食品中の食品添加物分析法. 食品衛生検査指針,
 日本食品衛生協会, pp167-170

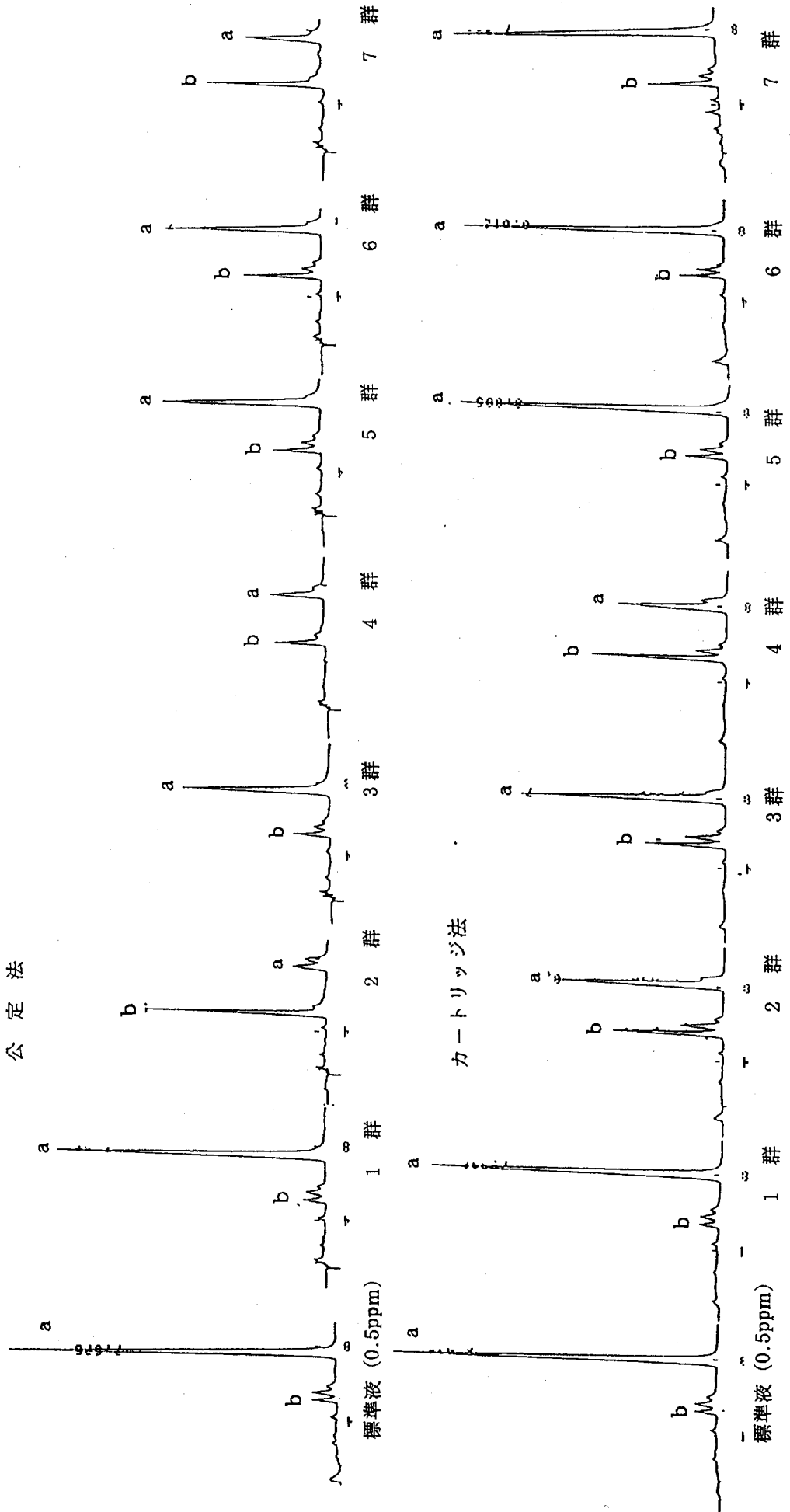


図3 水溶性アトナーのクロマトグラム (アトナー-a, アトナー-b)