

キャピラリー電気泳動による食品中の 有機酸分析法の検討について

中嶋昌徳¹・西田政司¹

Analysis of Volatile Organic Acids in Foods by Capillary Electrophoresis

Masanori NAKASHIMA, Seiji NISHIDA

要 旨

食品の異臭の原因となる揮発性物質のうち、揮発性有機酸(酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸)の迅速検査法を水蒸気蒸留-キャピラリー電気泳動(CE)法で間接吸光法により検討した。

- (1)各揮発性有機酸(VOA)の留出画分から水蒸気蒸留は留液が200mlになるまで行うこととした。
- (2)各VOAとも5~1,000ppmの範囲でピーク面積と濃度の間に良好な直線性が得られた。
- (3)定量下限はピーク面積の再現性から5ppmとした。
- (4)移動時間の再現性は各VOAともに相対標準偏差(RSD)が1%以下であり、良好であった。
- (5)ご飯とマーガリン20gに各揮発性有機酸(VOA)を4, 20, 100mg添加したときの回収率は91~101%で、RSDは0.6~7.4%であり、良好な回収率と再現性を得ることができた。
- (6)5種類の発酵食品と10種類の非発酵食品で各有機酸含量を測定したところ、検査に供した食品からは各VOAのピークの測定を妨害するマトリックスの影響はみられなかった。
- (7)GCやHPLC法に比べ再現性よく、分析時間を著しく短縮することが出来た。

Key Words: 揮発性有機酸 Volatile organic acid, 酢酸 Acetic acid, プロピオン酸 Propionic acid, 酪酸 n-Butyric acid, 吉草酸 n-Valeric acid, 水蒸気蒸留 Steam distillation, キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis

I はじめに

食品が腐敗・変敗したのを察知する上で、最も鋭敏な検出器の一つに異臭をかぎわける臭覚がある。

平成10年度に保健所から当保健環境研究所に依頼があった苦情検査49件のうち、異臭味に関する苦情は17件であり、そのうち腐敗に関わるものは10件であった。

臭いを感じるということは、とりもなおさず何らかの揮発性物質が存在するということである。

食品が腐敗する際に生成する揮発性物質の代表的なものには揮発性の塩基、酸、カルボニル化合物、アルコール、含硫化合物などが知られている。¹⁾

今回は、異臭による苦情が発生した際、食品中のVOAの迅速検査を行うための基礎資料とすることを目的として、水蒸気蒸留-キャピラリー電気泳動(CE)法による簡易分析法を検討したので報告する。

II 材料および方法

1. 試薬

吉草酸：和光純薬一級、
酢酸、プロピオン酸、酪酸、リン酸、塩化ナトリウム、
水酸化ナトリウム、エタノール：和光純薬特級
吉草酸標準原液：吉草酸2gを50%エタノール溶液で
10mlに定容し、標準原液とした。
酢酸、プロピオン酸、酪酸標準原液：各2gを水で10ml

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

に定容し、標準原液とした。

2. CE測定条件

1) 装置

CE:ヒューレット・パッカード社 HP3DCE システム G1600(フォトダイオード検出器)

2) 測定条件

カラム:フューズドシリカ, 1125mm × 50 μ m I.D.,
 泳動液:HP 社毒物用泳動液(pH12.1),
 電圧:25KV,
 泳動温度:30℃,
 注入方法:300mbar・sec.(加圧)
 分離モード:キャピラリーゾーン電気泳動,
 波長:Sig.350/20 Ref.275/10nm

3. 検査方法

試料を細切・粉碎し, 20g を 300ml 容蒸留フラスコに分取し, 精製水 80ml, 30%クエン酸 10ml を加え, 水蒸気蒸留し, 1N 水酸化ナトリウム溶液 20ml に捕集する。

留液が 190 ~ 200ml になるまで蒸留し, 水で 200ml に定容後 0.20 μ m クロマトディスクでろ過し, ろ液を CE 用試料とした。測定については, 有機酸は UV 吸収が弱いので, 強い UV 吸収をもつ泳動液を使用する間接吸光法で行った。

III 結果と考察

1. 水蒸気蒸留量とVOAの関係

最適蒸留量を求めるためにご飯 20g に酢酸, プロピオン酸, 酪酸, 吉草酸各 5mg を添加した試料を水蒸気蒸留し, その留液を 40ml ごとに分画し, 画分ごとの VOA の留出率を求めた。結果を図 1 に示す。最も留出が速かったのは吉草酸で最初の 40ml で全て留出した。酪酸は 80ml, プロピオン酸は 120ml, 酢酸は 200ml まで留出した。このため蒸留は留液が 200ml になるまで行った。

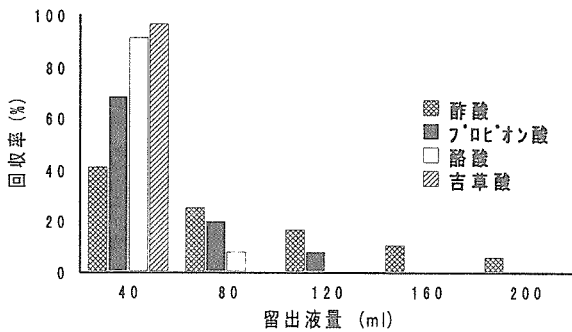


図 1 水蒸気蒸留したときの留出画分ごとの VOA の回収率

2. CEでのVOAのピーク面積の直線性

VOA の 5ppm 標準液の CE チャートを図 2 に示す。

移動時間(MT)は酢酸が 11.08 分, プロピオン酸が 12.20 分, 酪酸が 13.14 分, 吉草酸が 13.79 分であった。

VOA の濃度とピーク面積の間には図 3 に示すように 5 ~ 1000ppm で良好な直線性がみられた。

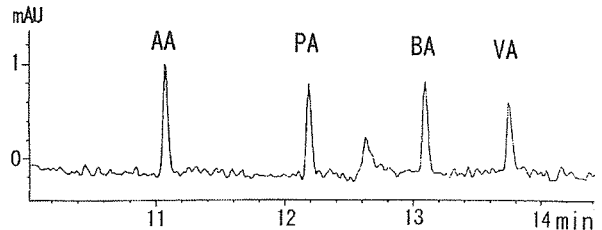


図 2 VOA の 5ppm 標準液の CE チャート (AA:酢酸, PA:プロピオン酸, BA:酪酸, VA:吉草酸)

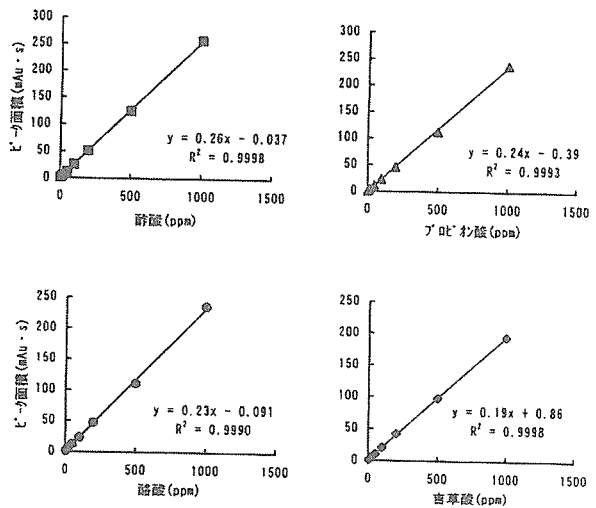


図 3 VOA 濃度と CE で測定したピーク面積の関係

3. ピーク面積と移動時間の再現性

50ppm と 5ppm の濃度の VOA 標準液を CE で測定したときのピーク面積と移動時間の再現性を相対標準偏差 (RSD) で評価した。表 1 にピーク面積と移動時間の RSD を示す。

各 VOA のピーク面積の RSD は 50ppm では 1.0 ~ 3.0%であったが, 5ppm では 9.4 ~ 15.7%となり, 再現性が悪くなった。このため, 本法による定量下限値は 5ppm とした。

つぎに移動時間の RSD は全て 1%以下であり, 再現性は非常に良好であった。

表1 VOAのピーク面積と移動時間の再現性(n=5)

VOA 濃度 (ppm)	RSD (%)							
	酢酸		プロピオン酸		酪酸		吉草酸	
	ピーク面積	移動時間	ピーク面積	移動時間	ピーク面積	移動時間	ピーク面積	移動時間
50	1.0	<1.0	1.3	<1.0	3.0	<1.0	2.4	<1.0
5	16	<1.0	9.4	<1.0	13	<1.0	9.6	<1.0

4. VOAの濃度別の回収率と相対標準偏差

一般に水蒸気蒸留では対象食品の油脂量が回収率に及ぼす影響が大きいと考えられたので、ご飯とマーガリンでVOAの回収率を求めた。酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸各4, 20, 100mgをご飯、マーガリン20gに添加したときのそれらの平均回収率とRSDを表2,3に示す。

各VOAはご飯、マーガリンともに90%以上回収し、RSDは全て10%以下であり、良好に回収された。したがって食品中油脂量がこれらのVOAの回収に及ぼす影響はないと判断された。

4種のVOAのうち酢酸の回収がやや低かったが、これは図1に示したように酢酸の留出速度が遅いためである。また、添加濃度が低いものほど回収率が低くなる傾向がみられた。

5. 食品中の揮発性有機酸

食品の腐敗や、発酵と食品中に含まれるVOAの関係を求める資料とするために発酵食品と非発酵食品のVOAの含量実態を調査した。

1) 発酵食品

図4にカマンベールチーズ、納豆、醤油、味噌、ヨーグルトのCEチャートを示す。また、各発酵食品のVOA濃度を表4に示す。全ての発酵食品から酢酸が57~1,600ppmの範囲で検出された。また、カマンベールチーズからはプロピオン酸と酪酸、納豆からは酪酸と吉草酸が検出され、発酵によるVOAの生産が確認された。

特にカマンベールチーズと納豆は酢酸の濃度も高く、その他のVOAも同時に検出されることから、発酵がかなり進行した状態であると推測された。

表2 ご飯からのVOAの平均回収率とRSD(n=3)

添加した VOA量 (mg)	酢酸		プロピオン酸		酪酸		吉草酸	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
4	92	7.4	92	3.5	96	2.0	101	1.0
20	91	4.6	99	1.7	97	1.0	98	3.7
100	94	2.1	101	1.5	97	0.6	96	4.7

表3 マーガリンからのVOAの平均回収率とRSD(n=3)

添加した VOA量 (mg)	酢酸		プロピオン酸		酪酸		吉草酸	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
4	92	2.3	97	7.2	95	6.4	98	2.6
20	97	2.5	96	1.6	94	1.7	95	2.8
100	96	1.8	99	1.2	99	1.0	98	2.2

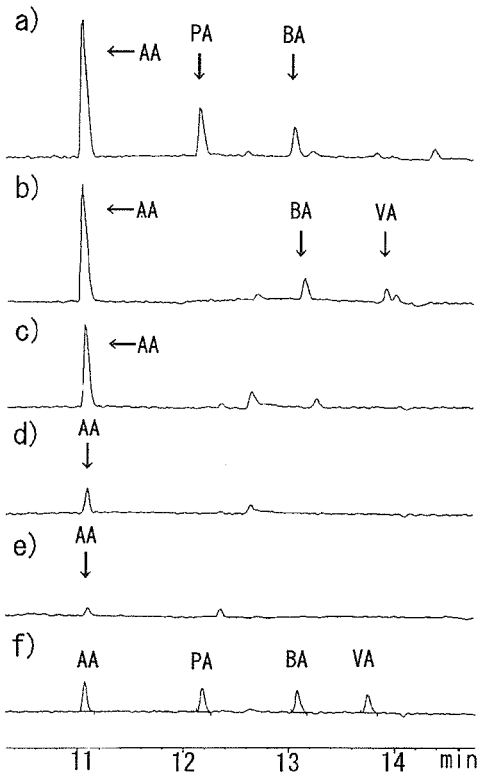


図4 発酵食品とVOA20ppm標準液のCEチャート
 a) : カンパネチーズ, b) : 納豆, c) : 醤油, d) : 味噌, e) : ヨーグルト, f) : VOA20ppm標準液
 AA : 酢酸, PA : プロピオン酸, BA : 酪酸, VA : 吉草酸

表4 発酵食品のVOA濃度

食品名	VOA (ppm)			
	酢酸	プロピオン酸	酪酸	吉草酸
カンパネチーズ	1600	530	340	—
納豆	1300	—	210	130
醤油	770	—	—	—
味噌	200	—	—	—
ヨーグルト	57	—	—	—

— : <50ppm

2) 非発酵食品

図5にウスターソース, しば漬, 辛子明太子, チャーハン, 牛乳, ご飯, シュークリーム, 抹茶ケーキ, マーガリン, ジャム, のCEチャートを示す。

また, 各非発酵食品のVOA濃度を表5に示す。

しば漬け, チャーハン, 辛子明太子, ウスターソースから酢酸が検出された。

ウスターソースとしば漬けの酢酸は表示から原材料に使用した酢由来であり, 辛子明太子は漬け液の調味料, チャーハンは調味料由来であると推定された。

これら4食品からは他のVOAは検出されず, その他の6食品からはVOAは検出されなかった。

このように本検査法ではこれらの食品でマトリックス由来の妨害ピークはみられなかった。

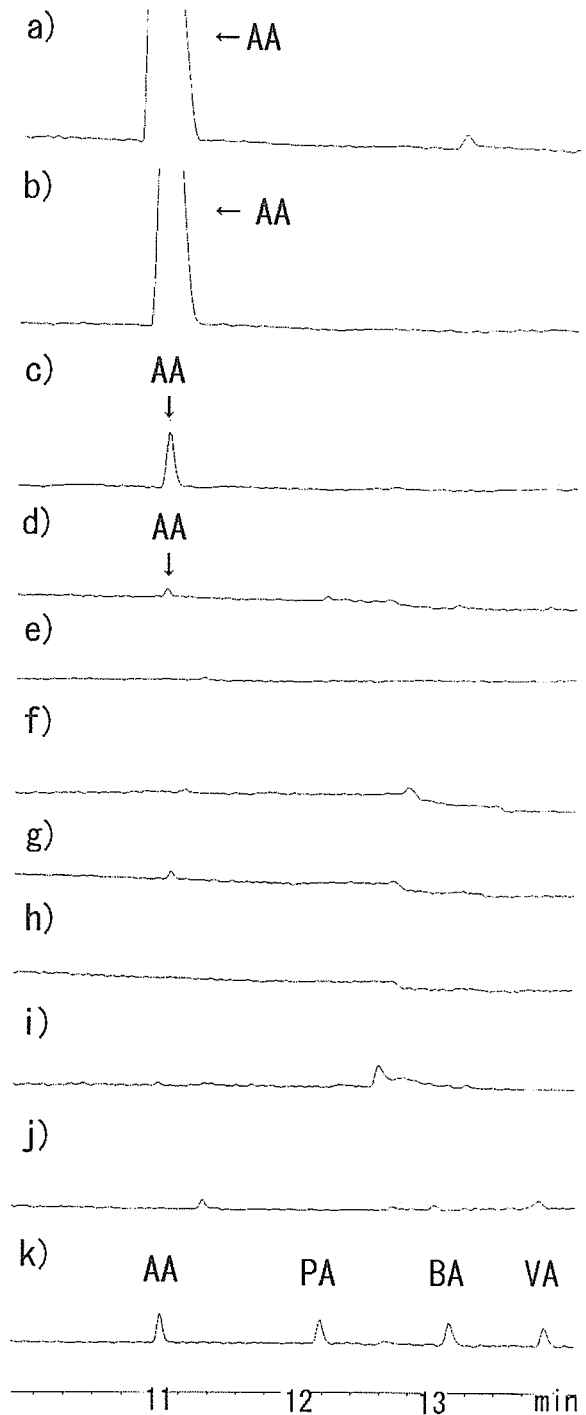


図5 発酵食品とVOA20ppm標準液のCEチャート
 a) : ウスターソース, b) : しば漬け, c) : 辛子明太子, d) : チャーハン, e) : 牛乳, f) : ご飯, g) : シュークリーム, h) : 抹茶ケーキ, i) : マーガリン, j) : ジャム, k) : VOA20ppm標準液
 AA : 酢酸, PA : プロピオン酸, BA : 酪酸, VA : 吉草酸

表5 非発酵食品のVOA濃度

食品名	VOA (ppm)			
	酢酸	プロピオン酸	酪酸	吉草酸
ウスターソース	11000	—	—	—
しば漬け	6500	—	—	—
辛子明太子	400	—	—	—
チャーハン	63	—	—	—
牛乳	—	—	—	—
ご飯	—	—	—	—
シュークリーム	—	—	—	—
抹茶ケーキ	—	—	—	—
マーガリン	—	—	—	—
ジャム	—	—	—	—

— : <50ppm

IV まとめ

食品の腐敗、変敗の指標と考えられるVOAは一般に水蒸気蒸留後、GCで測定する方法^{2~3)}やHPLCで測定する方法が用いられている。⁴⁾

しかし、GC法の場合、留液をイオン交換カラムで精製した後、蟻酸を加えてGCに負荷するため、前処理操

作が煩雑であることと、GCの注入口や検出器に悪影響を及ぼすという欠点がある。HPLC法は誘導体化する操作を行うため、やはり前処理操作が煩雑である。

これに対しCEで測定する本法は、GCやHPLCに比べ理論段数が非常に高いため、水蒸気蒸留で捕集した留液を直接CEに負荷するだけで測定が可能である。このため従来の方法に比べ前処理に要する時間を著しく短縮することができた。また本文で述べたように測定レンジも広く回収率や分析精度も良好であることから、水蒸気蒸留で抽出を行う食品添加物や食品中の他の有機酸類の迅速分析にも応用できると考えている。

文 献

- 1) 食品産業戦略研究所 編：食品の腐敗変敗防止対策ハンドブック, 56～57, サイエンスフォーラム, 東京, 1996
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法注解 1995, 455～458, 金原出版, 東京, 1995
- 3) 高橋まゆみ, 他：食衛誌, 27, 1, 87～90, 1986
- 4) 矢部芳枝, 他：食衛誌, 24, 3, 324～328, 1983