

キャピラリー電気泳動による食品中のニコチン酸アミド 及びニコチン酸の分析法について

中嶋昌徳¹・江頭 勝¹

Determination of Nicotinamide and Nicotinic Acid in Foods by Capillary Electrophoresis

Masanori NAKASHIMA, Masaru EGASHIRAARO

要 旨

食品中のニコチン酸アミド(NAA)及びニコチン酸(NA)の迅速分析をキャピラリー電気泳動(CE)を用いて行った。検出はフォトダイオードアレイ検出器により 260nm で行い、吸収スペクトルで同定した。CE の泳動液は、NAA の分析には pH2.5 の 50mM リン酸緩衝液を使用し、NA の分析には pH9.5 の 20mM 四ホウ酸緩衝液を使用した。本法では NAA,NA とともに 2ppm ~ 100ppm の間で相関係数 0.999 以上の直線性を示し、また、移動時間、ピーク面積の相対標準偏差はそれぞれ 1%以下であった。抽出はメタノールを使用し、ろ過後、メタノールを濃縮除去して、CE で分析した。

食肉等の NAA,NA の回収率は 92 ~ 100 % と良好であった。本法は妨害除去のためのカラム処理が必要ないので、従来法(HPLC)に比べ、分析時間が半分になった。HPLC を補完する新しい分析法として有望であると思われた。

Key Words : ニコチン酸 Nicotin acid, ニコチン酸アミド Nicotinamid, 食肉 Meat
辛子明太子 Karashimentaiko, キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis

I はじめに

ニコチン酸アミド (NAA) およびニコチン酸 (NA) は栄養強化の目的で様々な食品に使われており、また、食肉製品や辛子明太子にも発色を良くする目的で使用されている。最近ではほとんど違反事例はないが、精肉の鮮度をごまかすための不正使用が過去にあり、今日でも定期的に監視しておく必要がある検査項目でもある¹⁾。

この NAA,NA の分析法は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析法^{2~4)}が主流である。

当研究所でも HPLC で検査をしているが、メタノール抽出後、妨害除去のためアルミナカラムで精製し、NAA と NA の 2 つに分画しなければならないので、操作は煩雑である。近年、キャピラリー電気泳動 (CE) による医薬品や食品分析が簡易な検査法⁵⁾として注目されているが、食品の行政検査における実績はほとんどない。

そこで、今回、迅速で簡易に分析することを目的とし

て、CE による分析法を検討したので報告する。

II 材料および方法

1. 試料

市販の辛子明太子および牛挽肉、豚挽肉、鶏挽肉

2. 試薬、試液

NAA,NA 標準試薬 (和光 特級)

50mM リン酸緩衝液 (pH2.5)

20mM ホウ酸緩衝液 (pH9.5)

3. 装置および分析条件

CE : ヒューレットパッカード社製キャピラリー電気泳動システム G1600 (PDA 検出器)

キャピラリー : フェーズドシリカ 内径 75 μ m 有効長 56.5cm 全長 64.5cm

分析条件1 : 泳動液 50mM リン酸緩衝液 (pH2.5)

電圧 30KV, キャピラリー温度 20.0 $^{\circ}$ C, 注入量 (加圧量) 200mbar \cdot s, 検出波長 260nm

分析条件2 : 泳動液 20mM 四ホウ酸緩衝液 (pH9.5)

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

以下分析条件1と同じ

なお、分析毎にプレコンディショニングを泳動液で5分間おこなった。

4. 試験溶液の調製

試料5gにメタノール30mlを加え、ホモジナイズ後、メタノールで50mlにメスアップし、10分間超音波抽出させ、ろ過(TOYO 5A)し、ろ液を試験溶液とした。

この溶液を2mlとり、エバポレーターでメタノールを濃縮除去し、蒸留水で2mlにメスアップ後、メンブランフィルター(孔径0.20 μm)でろ過してCEで測定した。

5. 定性および定量

定性は試験溶液の移動時間および吸収スペクトルから判断し、定量は標準溶液のピーク面積から検量線を作成し、NAA, NA濃度を求めた。

III 結果及び考察

1. 泳動液の検討

NAAはアミノ基があり、酸性条件ではプラスに荷電するので、pH2.5の50mMリン酸緩衝液を泳動液として測定したところ、図1(A)に示すように良好な分離が得られた。しかしながら、NAはカルボキシル基をもつ酸であり、この条件では分析できなかった。そこでpH9.5の20mM四ホウ酸緩衝液を泳動液として測定したところ、図2(A)に示すとおりNAの良好な分離が得られた。

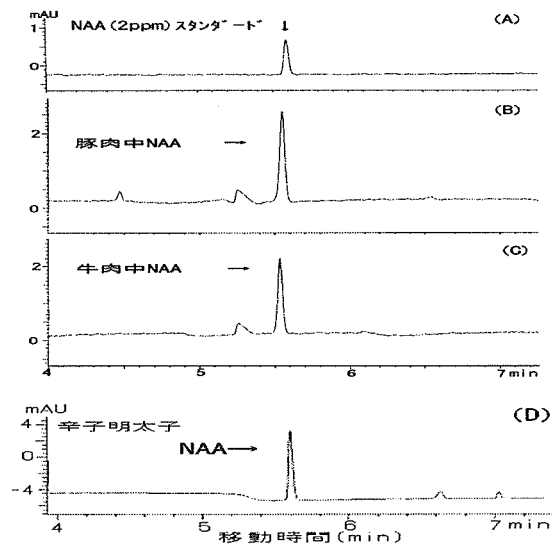


図1 NAAの電気泳動グラム(分析条件1)

次に豚肉及び牛肉を本法に従い処理して、分析条件1で泳動させたところ、図1(B),(C)に示すとおり、食肉中に含まれるNAAが良好に分離した。また、辛子明太子も同様に分析したところ、図1(D)に示すとおり良好

に分離した。次に、分析条件2で泳動させたところ、図2(B),(C),(D)に示すとおり、NAのピークの位置に妨害がないことが確認できた。

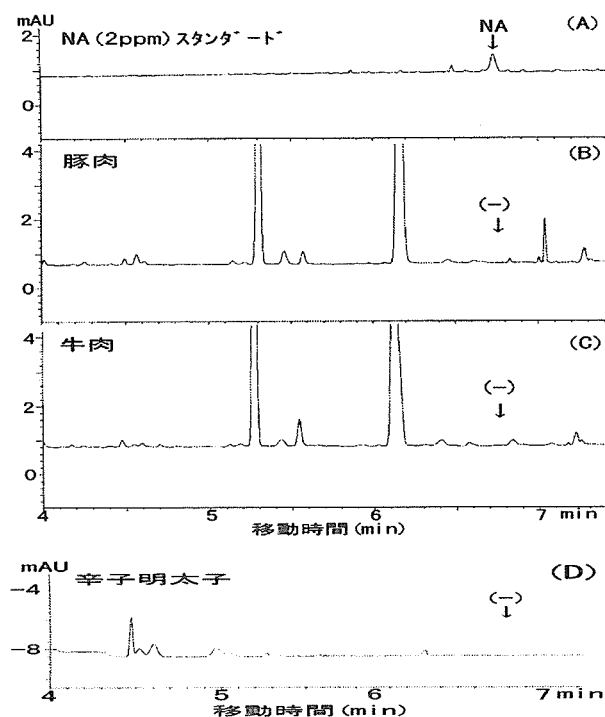


図2 NAの電気泳動グラム(分析条件2)

2. ピーク再現性および検量線

(1) 移動時間及びピーク面積の再現性

分析条件1によるNAAおよび分析条件2によるNAの標準溶液(10ppm)の移動時間とピーク面積の相対標準偏差(RSD, n=5)は表1に示すとおり、どちらも1%以下で、再現性は良好であった。

表1 移動時間及びピーク面積のRSD(%)

	移動時間	ピーク面積
NAA	0.4	0.7
NA	0.2	0.9

(2) 直線性, 測定範囲, 定量下限

NAA, NAそれぞれ2, 5, 10, 20, 50, 100ppmの濃度で検量線を作成したところ、図3に示すとおり、それぞれ相関係数0.999以上の直線性を示した。また、NAA, NAともに2ppmまで吸収スペクトルで定性確認ができるので、定量下限値を2ppm(試料濃度20ppm)とした。図4にNAA, NA(各2ppm)の吸収スペクトルを示す。

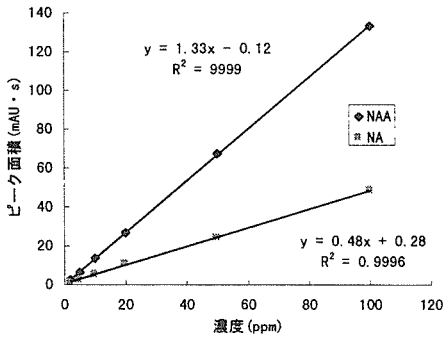


図3 NAA,NAの検量線(濃度とピーク面積の関係)
NAA: 分析条件1, NA 分析条件2

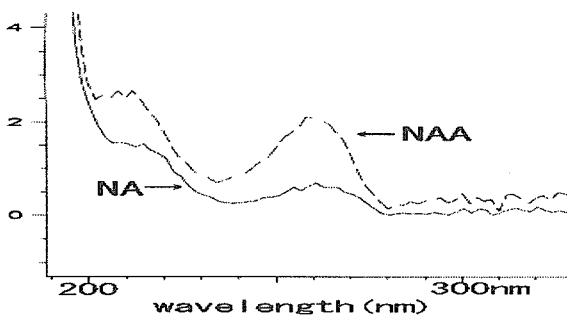


図4 NAA, NAの吸収スペクトル
NAA(2ppm):分析条件1, NA(2ppm):分析条件2

3. 添加回収実験

食肉および NAA,NA が検出されなかった辛子明太子に NAA 及び NA のスタンダードを添加して本法に従い処理し回収率を求めた。表2に示すとおり、回収率は NAA は 99 ~ 100 % , NA は 92 ~ 97%であった

表2 試料(5g)にNAA,NA標準溶液を添加した回収実験

	NAA	回収率	RSD	NA	回収率	RSD
	(mg)	(%)	(%)	(mg)	(%)	(%)
豚肉 (n=3)	2.0	100	4.9	2.0	92	0.9
牛肉 (n=3)	2.0	100	4.7	2.0	97	6.2
辛子明太子 (n=4)	0.5	99	3.4	0.5	94	3.7

4. HPLC法との比較

食肉と辛子明太子の NAA の分析値について、CE と HPLC との比較を行った。

分析値の相関係数は、食肉(n=8)は 0.991, 辛子明太子(n=6)は 0.997であった。なお、NA についてはいずれの検体からも検出されなかった。

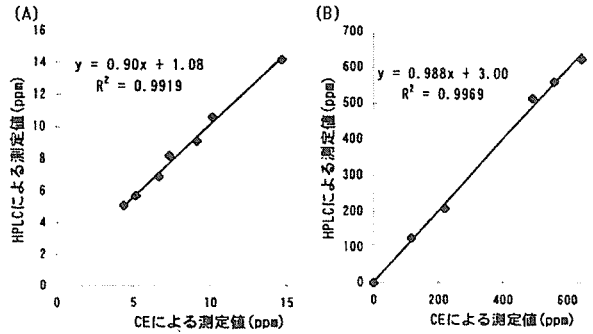


図5 CE と HPLC の NAA 分析値の相関
A:食肉 B:辛子明太子

IV まとめ

食品中の NAA と NA の分析法を HPLC と全く異なる原理で分離する CE を用いて検討した。泳動液として、NAA は pH2.5 の 50mM リン酸緩衝液, NA は pH9.5 の四ホウ酸緩衝液を用いることで分析が可能であった。CE は分離能に優れているため、HPLC で必要であったアルミナカラムによる妨害除去を省略することができ、さらに、NAA と NA の分画も必要なかったため、HPLC に比べて、迅速で簡易に分析できるようになった。また、HPLC との整合性もあり、新しい分析法として非常に有用であると考えられた。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課:衛乳第 32 号 昭和 61 年 7 月 17 日付 食肉販売業及び食肉処理業の監視指導の強化について。
- 2) 厚生省生活衛生局食品化学課:食品中の食品添加物分析法解説書 p695(1992)講談社。
- 3) 藤本喬ら:福岡市衛生試験所報 12,60 ~ 62,1987。
- 4) 大石充男ら: 食衛誌 29,32 ~ 34,1988。
- 5) 西 博行: ぶんせき 559,1997。