

キャピラリー電気泳動によるアスコルビン酸及び エリソルビン酸の検査法の検討

佐野由紀子¹・西田政司¹

Analysis of Ascorbic Acid and Erythorbic Acid by Capillary Electrophoresis

Yukiko SANO and Seiji NISHIDA

要 旨

アスコルビン酸, エリソルビン酸は, 水溶性の酸化防止剤として食品の品質保持を目的として多くの食品に使用されている¹⁾.

しかし酸化分解が速いため定量分析が困難であり, 迅速分析が必要である. 従来行っている高速液体クロマトグラフ法に代えて, キャピラリー電気泳動を用いてアスコルビン酸, エリソルビン酸の迅速分析の検討を行ったところ, 移動時間及びピーク面積の再現性が良好であった.

また 250 ~ 2500ppm の範囲で濃度とピーク面積との間に良好な直線性がみられた.

Key Words : キャピラリー電気泳動 Capillary electrophoresis, アスコルビン酸 Ascorbic acid, エリソルビン酸 Erythorbic acid, 酸化防止剤 Antioxidant

I はじめに

アスコルビン酸(AsA)とエリソルビン酸(ErA)は, 一般に高速液体クロマトグラフ(HPLC)で同時分析されている²⁾. 抽出溶媒にメタリン酸を使用するが, その pH が低いため, 測定時にカラムコンディションが変わり分離時間やピーク面積の再現性が悪くなるので, 試験溶液の pH を中性付近に調整して測定する必要がある³⁾. そこで今回は, 試験溶液の pH を調整することなくキャピラリー電気泳動(CE)で測定する方法を検討したので結果を報告する.

- ・2%メタリン酸: メタリン酸 20g を蒸留水に溶解し, 1000ml とした.
- ・AsA, ErA 標準原液: AsA, ErA 各 100mg を 2%メタリン酸で溶解し 20ml に定容して 5000ppm 標準原液とした.
- ・AsA, ErA 標準溶液: 標準原液を適宜 2%メタリン酸で希釈し, 0.2 μ m ディスポーザブルフィルターでろ過し標準溶液とした.
- ・0.02mol/l 四ホウ酸 Na 緩衝液(pH9.5): 四ホウ酸 Na0.763g を純水に溶解し, 0.1N NaOH で pH9.5 に調整し 100ml とした後 0.2 μ m ディスポーザブルフィルターでろ過した.

II 方法

1 試薬

- ・AsA 標準試薬: 和光純薬工業(株) 特級
- ・ErA 標準試薬: 東京化成工業(株)

2 装置

- ・CE: ヒューレッド・パッカード社製, HP-3DCE システム G1600 (フォトダイオードアレイ検出器付)

3 測定条件

- ・Capillary: フェーズドシリカバブルセル(75 μ m i.d.)

1. 福岡市保健環境研究所 理化学課

×有効長 56cm,全長 64.5cm)

- ・泳動液：0.02mol/l 四ホウ酸 Na 緩衝液 pH9.5
- ・電圧：30KV (Positive)
- ・Capillary 温度：25℃
- ・試料注入量：150mbar・s
- ・分離モード：キャピラリーゾーン電気泳動(CZE)
- ・検出波長：265nm

4 検査方法

試料 5g に 2%メタリン酸を加えホモジナイズし、50ml に定容後ろ紙(No.5A)でろ過した。更に MILLIPORE UFCL3LCC00 で遠心ろ過し、ろ液を試験溶液とした。

III 結果及び考察

1 検量線の直線性

AsA 及び ErA 5 ~ 2500ppm で標準溶液の直線性の検討を行った。

図 1,2 に示すように 250 ~ 2500ppm では直線性が見られた。5 ~ 250ppm では直線性は見られなかった。

これは、酸化防止剤である AsA,ErA は酸化され易く低濃度では分解率が高いためである。

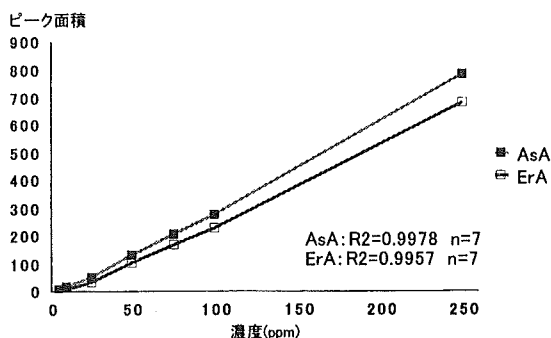


図1 5~250ppm範囲のAsA及びErAの濃度とピーク面積との関係

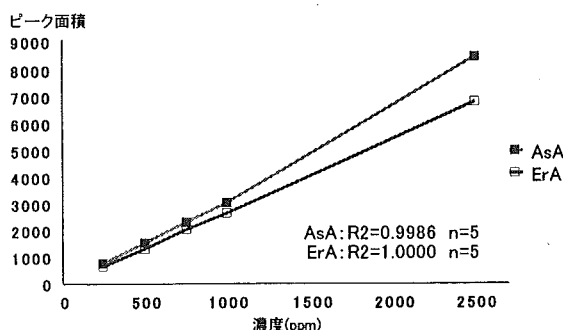


図2 250~2500ppm範囲のAsA及びErAの濃度とピーク面積との関係

2 繰り返し測定したときの移動時間とピーク面積の再現性

250ppm の標準溶液を 10 回繰り返して測定したときの RSD を表 1 に示す。

移動時間の RSD は AsA0.61%, ErA0.66%であり、ピーク面積のそれは AsA3.40%, ErA3.82%となり精度は良好であった。

表1 AsA及びErA各250ppm標準溶液を10回繰り返して測定したときのRSD(n=10)

	RSD(%)	
	移動時間	ピーク面積
AsA	0.61	3.40
ErA	0.66	3.82

3 抽出液の前処理方法の検討

標準液 250ppm と明太子 5g に AsA 及び ErA 各 12.5mg を添加し、0.2 μ m ディスポーザブルフィルター (DF) でろ過した試験溶液を CE で測定したところ、標準溶液の AsA 及び ErA の移動時間と試験溶液の AsA 及び ErA のそれとが一致せず、また試験溶液の AsA 及び ErA の移動時間に再現性が見られなかった。これは試料中に含まれるタンパク質や脂質などの影響ではないかと考えられたので、ろ紙(No.5A)ろ過後 MILLIPORE UFCL3LCC00 (MU) で遠心ろ過したものを測定したところ標準溶液と試験溶液の AsA 及び ErA の移動時間が一致し、その再現性も良くなった (図 3)。

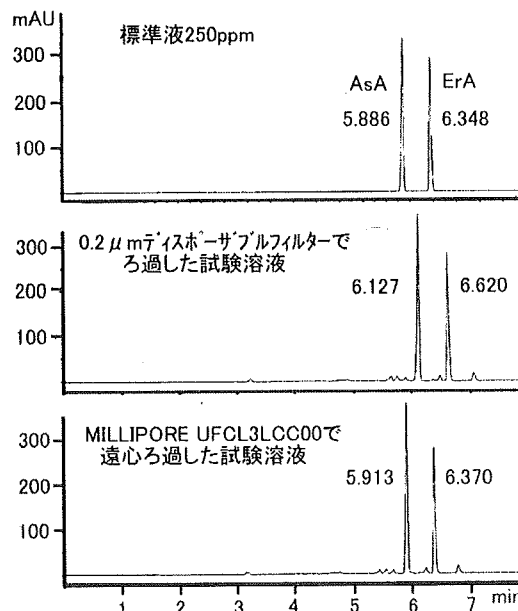


図3 AsA, ErA各250ppm標準溶液と明太子5gにAsA, ErA各12.5mgを添加したときの試験溶液を0.2 μ mDFでろ過したときとMUで遠心ろ過したときのHPLCプロファイル

4 添加回収試験

明太子, ソーセージ及びジャム 5g に AsA 及び ErA 各 12.5mg を添加したときの回収率と RSD を求めた. 回収率は 100 ~ 115% と食品間での差はなく, RSD は 7.54% 以下であり良好な結果が得られた (表 2).

表 2 明太子, ソーセージ及びジャム 5g に AsA 及び ErA 各 12.5mg を添加したときの回収率と RSD (n=5)

食品名	AsA		ErA	
	回収率	RSD	回収率	RSD
	(%)	(%)	(%)	(%)
明太子	110	2.59	107	2.30
ソーセージ	109	3.86	100	7.54
ジャム	115	1.63	108	1.70

IV ま と め

今回 酸化防止剤 AsA と ErA の CE による測定法を検討した. 食品を測定した場合移動時間に再現性がなかったが, MILLIPORE UFCL3LCC00 で遠心ろ過をすること

により移動時間の再現性がよくなり, 試験溶液の pH の調整をせずに定性することができた.

また, 酸化防止剤という特性から酸化分解が速いため特に低濃度での直線性が悪かったが, 250 ~ 2500ppm では比較的良好な直線性が得られた. 250ppm を 10 回繰り返し測定したときの RSD は, AsA 3.40%, ErA 3.82% であり定量も可能であった.

一般に CE 法は HPLC 法よりも高分解能が得られる⁴⁾ため, 前処理を省略することができ迅速分析が可能であるので, 酸化防止剤のように分解の速い物質の検査には有効である. オートインジェクターの温度を下げ, 酸化防止剤の分解速度を減少させることで, より正確な測定が可能になるとと思われる.

文 献

- 1) 第 7 版食品添加物公定書解説書, D20 ~ D21, D187, 1999
- 2) 食品中の食品添加物分析法解説書, 77, 666, 1992
- 3) 福岡市保健環境研究所理化学課検査実施標準作業書, 2000
- 4) 本田進, 寺部茂編: キャピラリー電気泳動基礎と実際, 89-91, 講談社, 1995