

キャピラリーGCによる有機酸の分析法

毛利 孝明・藤田 久男・西岡 千鶴・三好 益美・黒田 弘之

Determination of Organic Acids by Capillary Gas Chromatography

Takaaki MOURI, Hisao FUJITA, Chizuru NISHIOKA, Masumi MIYOSHI and Hiroyuki KURODA

I 緒 言

「食品中の食品添加物分析法」の中には、有機酸の分析法としてGC法（TMS化法）、HPLC法等が採用されている。著者らは「食品添加物1日摂取量調査研究班」に参加し有機酸の調査を行ってきたが、この調査の試料は数十種類の食品を混合したものであり、これらの方法を適用するのは困難なことを経験した。そこで、有機酸をブチルエステル化し、キャピラリーGCを用いて分析する方法について検討を行ったのでその結果について報告する。

II 実験方法

1. 試 料

平成8年10月、マーケットバスケット方式により、全国12機関で購入した132種類の生鮮食品を表1に示す5食品群に分け、等量の水を加え均質磨砕したものを試料とした。

2. 対象有機酸

乳酸、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸の6種類の有機酸を対象とした。

3. 分析方法

図1に示すように、試料12.5g（実質試料として）をとり水を加えて50mlとし、80℃で5分間加熱する。冷後、水を加えて100mlとし、ろ紙でろ過または遠心分離を行う。ろ液60mlにn-ヘキサン50mlを加えて振とうし

脱脂する。水層50mlを陰イオン交換樹脂（Dowex 1-X4）に負荷し、水100mlで洗浄後、2N塩酸：アセトン（1：1）混液50mlで有機酸を溶出させ、80℃の水浴で減圧乾固する。さらに、アセトンを加え減圧乾固する操作を数回繰り返して塩酸を除去する。残留物をメタノール5mlに溶解し、そのうち4mlを試験管に分取し減圧乾固する。試験管に無水硫酸ナトリウム2g、n-ブタノール2ml及び硫酸0.2mlを加え、エアー冷却器をつけ、ブロックヒーターで130℃、30分間加熱し、ブチルエステル化を行う。冷後、水5ml及びn-ヘキサン10mlを加え、10分間振とうする。n-ヘキサン層に炭酸ナトリウム0.1gを加え振とう後、FID-GCによって定量を行った。表2にGCの条件を示す。

III 結果及び考察

1. 分析カラムの検討

表3に示す無極性から中極性の6種類のセミワイドポアークラムを用いて有機酸相互の分離状態、妨害ピークの有無について検討を行った。表4に検討結果を示す。CBP1では、酒石酸の位置に妨害ピークが見られた。CBP5では、リンゴ酸、酒石酸の位置に妨害ピークが見られた。SPB20では、妨害ピークは見られなかったが、コハク酸、フマル酸が少し接近していた。SPB35では、酒石酸の位置に妨害ピークが見られ、コハク酸、フマル酸が接近していた。SPB50では、妨害となるピークは見られず、有機酸相互の分離も良好であった。DB-1701

表1 試料群及び食品の分類

群名	大 分 類	総重量
2	穀類 202.9 g	202.9 g
3	いも類 48.6 g, 豆類 0.5 g, 種実類 1.3 g	50.4 g
4	魚介類 64.44 g, 肉類 63.6 g, 卵類 42.8 g	170.84 g
5	乳類 117.9 g	117.9 g
7	果実類 93.54 g, 野菜類 232.5 g, きのこと類 10.3 g, 海藻類 4.0 g, 別途購入品 10.8 g	351.14 g

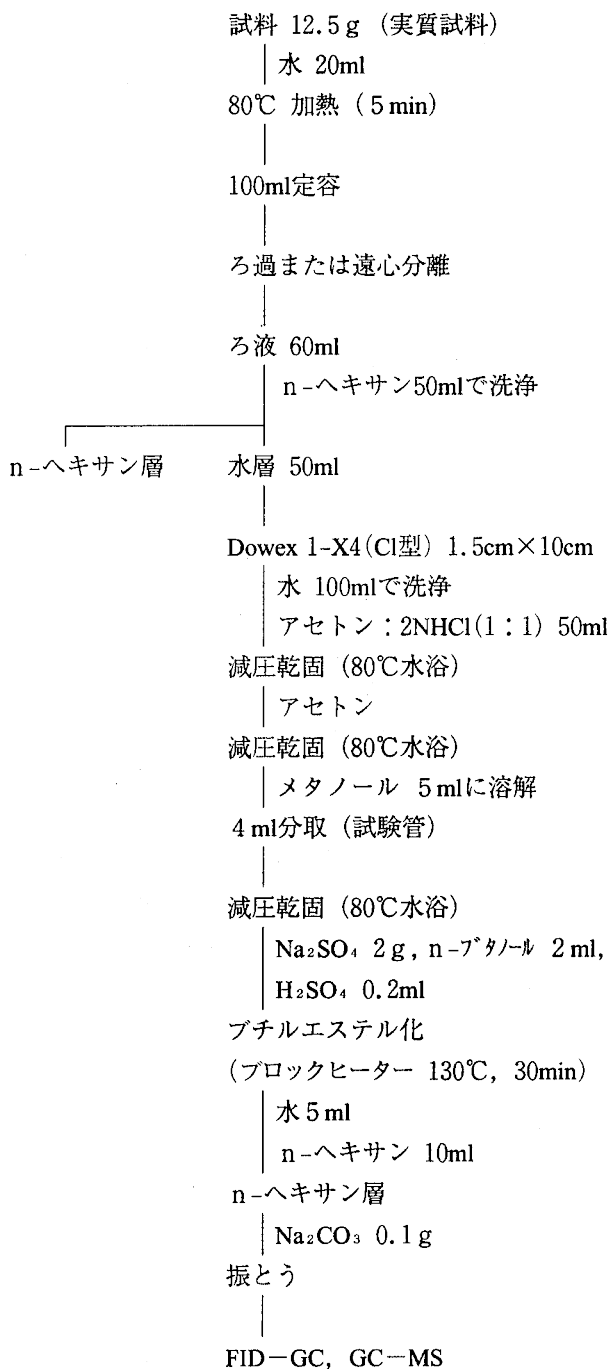


図1 有機酸の分析法

では、妨害となるピークはなかったが、酒石酸の位置に近接したピークが見られた。そのほか、DB-WAX, DB-FFAPなどの極性カラムについても検討してみたが、コハク酸、フマル酸が分離せず不適當であった。以上の結果から、SPB-20, SPB-50, DB-1701で分析が可能であり、中でもSPB-50が有機酸の分析には最適と思われた。図2に標準のクロマトグラムを、図3に検体のクロマトグラムを示す。

対象有機酸以外に5種類の有機酸(レブリン酸、シュウ酸、マロン酸、マレイン酸、cis-アコニット酸)を加

表2 GC条件

装置	島津GC-14B
COLUMN	表3のとおり
COLUMN温度	60°C(2min)-10°C/min-250°C(2min)
キャリアガス	N ₂
試料注入法	全量注入

表3 検討カラム

カラム	内径×長さ×膜厚
CBP 1	0.33mm×25m×0.50 μm
CBP 5	0.33mm×25m×0.50 μm
SPB20	0.32mm×30m×0.25 μm
SPB35	0.32mm×30m×0.25 μm
SPB50	0.32mm×30m×0.25 μm
DB1701	0.32mm×30m×0.25 μm

表4 カラムの検討結果

カラム	乳酸	コハク酸	フマル酸	リンゴ酸	酒石酸	クエン酸
CBP 1	○	○	○	○	×	○
CBP 5	○	○	○	×	×	○
SPB20	○	△	△	○	○	○
SPB35	○	△	△	○	×	○
SPB50	○	○	○	○	○	○
DB1701	○	○	○	○	△	○

えた11種類の有機酸の標準のクロマトグラムを図4に示す。11種類の有機酸はきれいに分離しており、これらについても分析が可能であると思われた。なお、このほかにグリコール酸、イタコン酸、シトラコン酸、メサコン酸、グルタル酸、イソクエン酸についても分析可能である。ピルビン酸、オキサリ酢酸、ケトグルタル酸等のケト酸についても検討してみたが、ケト酸はたいへん不安定でピークが出なかったり、複数のピークが出たりしてこの方法では分析はできなかった。

2. 添加回収実験

200 μg/g (実質試料として) 添加レベルで回収率を求め、その結果を表5に示す。回収率63.6~125.1%の良好な結果が得られた。第4群(魚介類・肉類)については、そのまま添加するとフマラーゼの影響でフマル酸の回収率が30~40%に低下するため、試料を80°Cに加熱した後に添加を行った。

3. 検量線

図5にコハク酸、リンゴ酸、酒石酸の検量線を、図6に乳酸、フマル酸、クエン酸の検量線を示す。0.1mg~1.5mgで良好な直線性があった。酒石酸については低濃

度側で感度が悪く、検出限界が100 $\mu\text{g/g}$ 以上となるため、
低濃度の試料については、GC-MSを使用しSIM測定

(M/Z 145, 117, 89, 57)で定量を行う必要があった。

表5 有機酸の回収率 (200 $\mu\text{g/g}$ 添加)

食品群	乳酸	フマル酸	コハク酸	リンゴ酸	酒石酸	クエン酸
2	92.3	104.4	121.3	122.1	119.3	125.1
3	77.9	88.1	90.0	98.7*	85.2	103.1*
4	104.0**	70.1	92.5	81.1	83.7	63.6
5	69.7	85.5	93.9	93.5	96.3	80.7*
7	84.5	94.9	92.5	109.4*	84.0	112.9*

*1000 $\mu\text{g/g}$ 添加 **2000 $\mu\text{g/g}$ 添加 n = 3

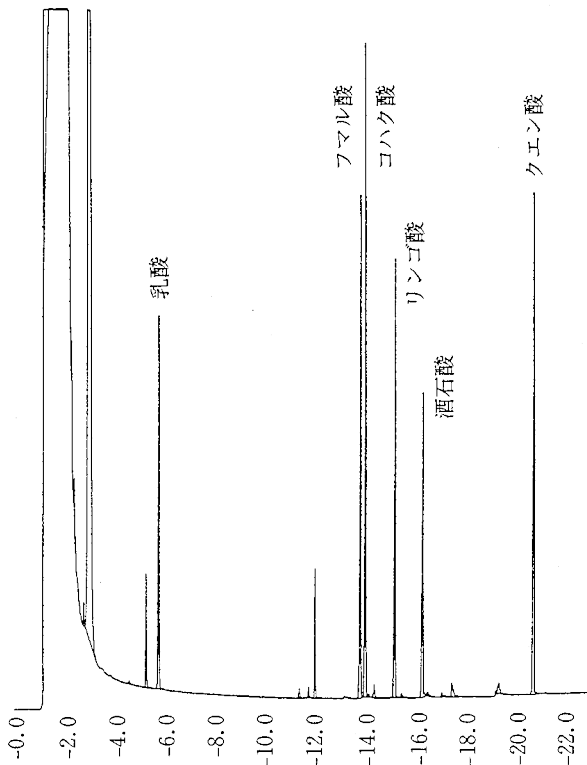


図2 有機酸 (6種) のクロマトグラム

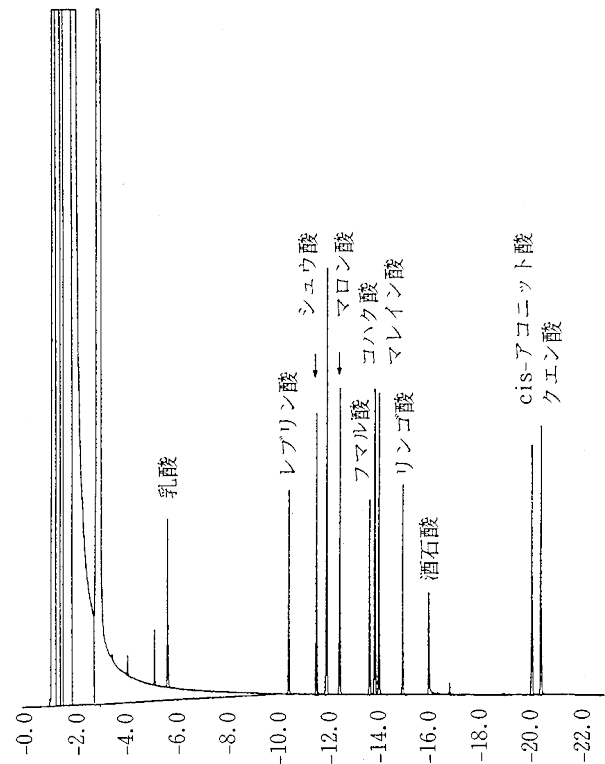


図4 有機酸 (11種) のクロマトグラム

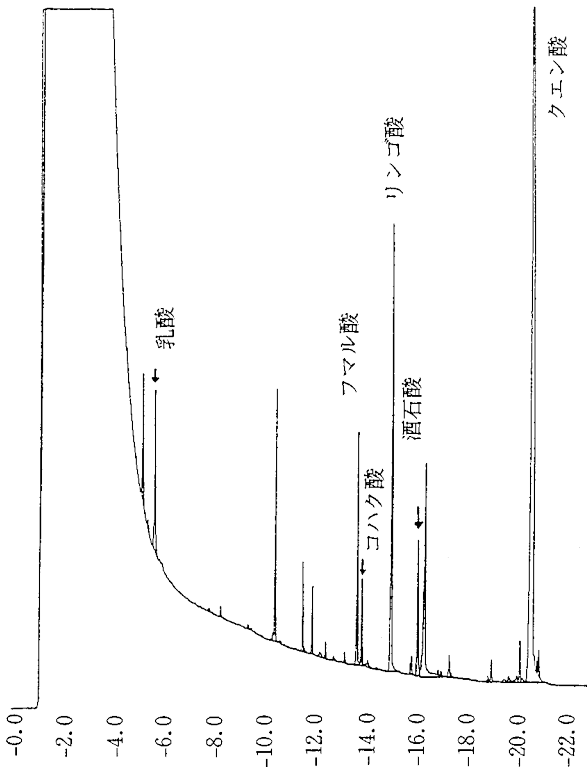


図3 検体のクロマトグラム

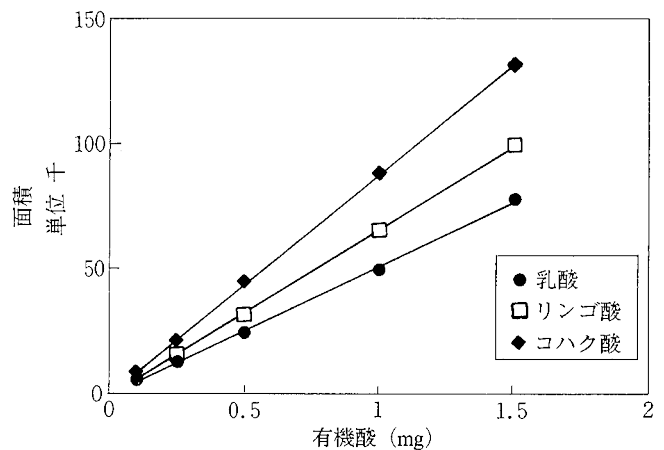


図5 有機酸の検量線

IV 結 論

有機酸をブチルエステル化し、キャピラリーカラムを用いて分析する方法について検討した結果、SPB-50が最も優れていた。

回収率は63.6~125.1%であった。

酒石酸については、感度が悪く低濃度の試料においてはGC-MSを使用しSIM測定で定量を行う必要があった。

文 献

- 1) 谷村顕雄ら：食品中の食品添加物分析法解説書，p447~461, 469~480, 495~509 (1992) 講談社
- 2) 山下市二，田村太郎，吉川誠次，鈴木重治：分析化学，22, p1334~1341 (1973)

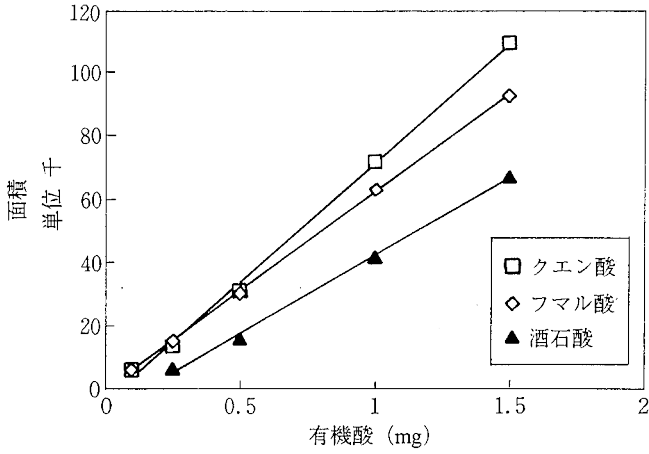


図6 有機酸の検量線