

平成22年5月厚生労働省から食安基発0528第4号通知され、「食品中の食品添加物分析法」が改訂されました。新規添加物としてソルビン酸カリウムが追加され、それに伴い別添2に一斉分析例が新規掲載されました。

今回その一斉分析法に準じ、Inertsil ODS-4を用いた分析例をご紹介します。

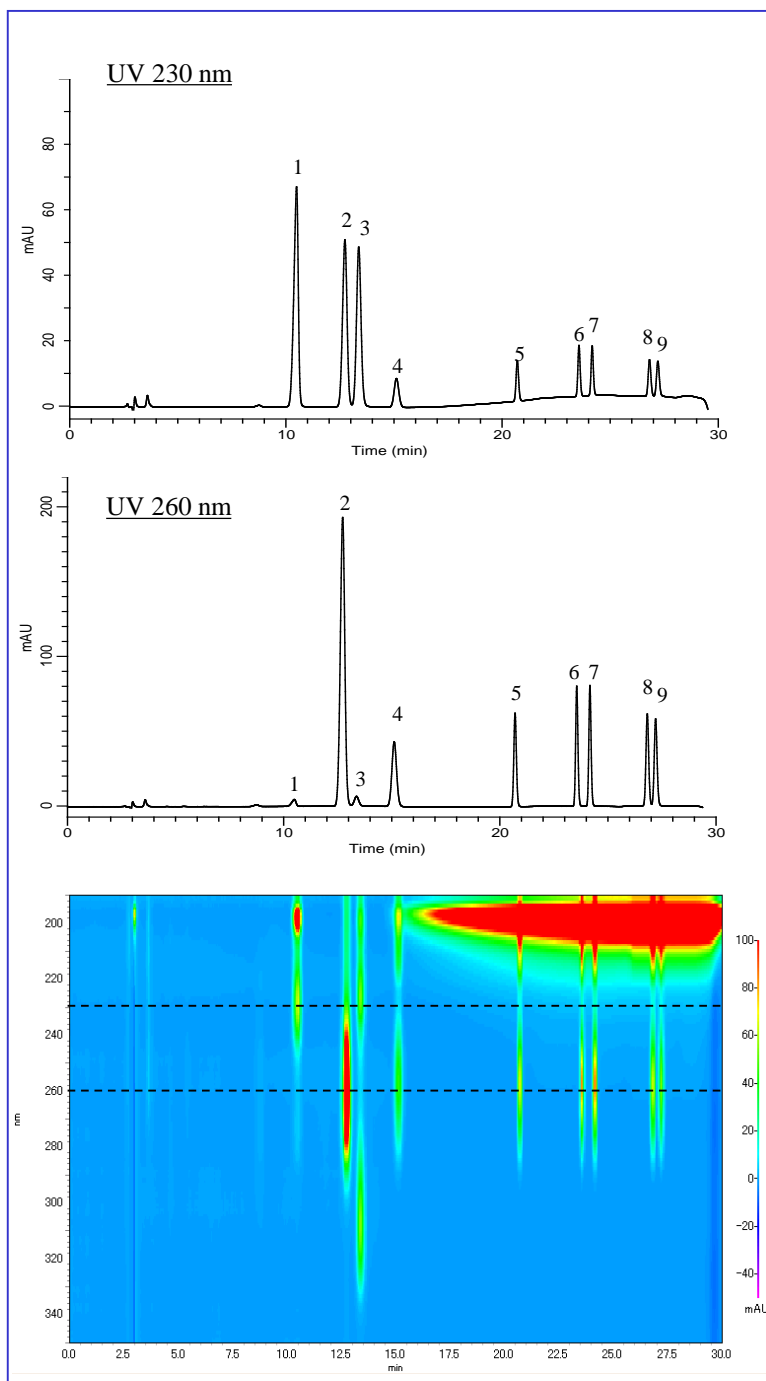
さらに、高速化(8分サイクル)、LC/MS/MS(8分サイクル)による一斉分析も良好でしたので合わせてご紹介いたします。(Y.Tanaka)

<関連アプリケーション>

No.75 HPLCによる食品中の保存料の分析

No.76 HPLCによる食品中の保存料の分析-第2報-

標準液測定例



Inertsil ODS-4を使用することにより、目的の保存料の分離が全て分離度1.5以上と良好です。

また、ソルビン酸や安息香酸エステル類の極大吸収波長はUV 260 nmに、デヒドロ酢酸は230, 310 nm付近にあります。

夾雑と分離が困難な場合や感度が必要なときは適宜波長を設定してください。

HPLC条件

システム : GL-7400 HPLC system

ガードカラム : カートリッジガードカラムE

Inertsil ODS-4 (5 μ m, 10 x 4.0 mm I.D.)

カラム : Inertsil ODS-4 (5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.)

溶離液 : A) CH₃OH/H₂O/リン酸緩衝液* (pH 4.0)
= 2/17/1, v/v/v

B) CH₃OH / H₂O / リン酸緩衝液 (pH 4.0)

= 14/5/1, v/v/v

A/B = 50/50 - 10 min - 50/50 - 10 min - 0/100

- 5 min - 0/100 - 0.1 min - 50/50 - 10 min - 50/50
,v/v

流量 : 1.0 mL/min

カラム温度 : 40 °C

検出 : UV 230 nm, 260 nm

(GL-7452A PDA Detector)

注入量 : 20 μ L

* 0.2 mol/L リン酸緩衝液:KH₂PO₄ 27.0 gを水に加えて
溶かし 1000 mLとし、リン酸を加えてpH 4.0としました。

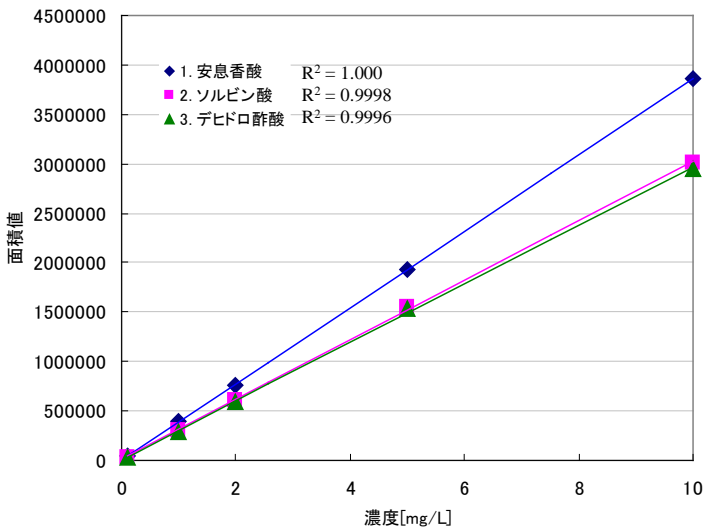
- | | |
|--------------------|-----------|
| 1. 安息香酸 | (10 mg/L) |
| 2. ソルビン酸 | (10 mg/L) |
| 3. デヒドロ酢酸 | (10 mg/L) |
| 4. パラオキシ安息香酸メチル | (10 mg/L) |
| 5. パラオキシ安息香酸エチル | (10 mg/L) |
| 6. パラオキシ安息香酸イソプロピル | (10 mg/L) |
| 7. パラオキシ安息香酸プロピル | (10 mg/L) |
| 8. パラオキシ安息香酸イソブチル | (10 mg/L) |
| 9. パラオキシ安息香酸ブチル | (10 mg/L) |

分析カラム : Inertsil ODS-4 5 μ m, 250 x 4.6 mm I.D.
Cat.No. 5020-03946

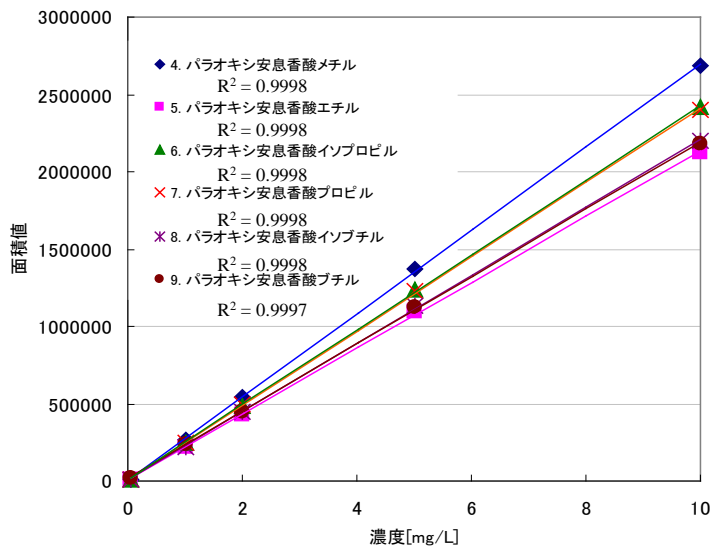
カートリッジガードカラムE

: Inertsil ODS-4 5 μ m, 10 x 4.0 mm I.D.
Cat.No. 5020-08520

検量線



UV 230 nmでの測定結果



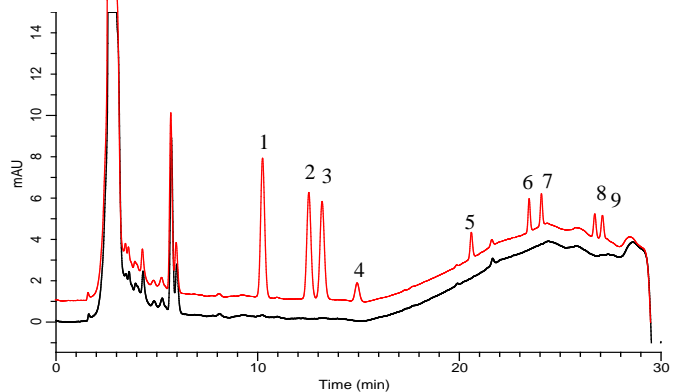
UV 260 nmでの測定結果

食品分析例

前処理例

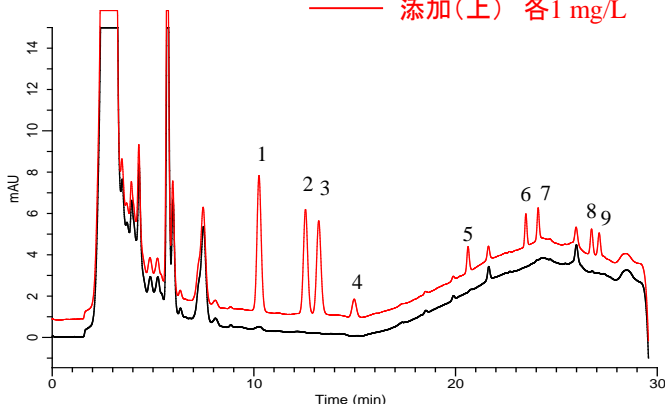
前処理については、試験法では水蒸気蒸留をすることが記載されておりますが、今回は、サンプルを希釈し0.45 μm フィルターでろ過したものを測定試料としました。

めんつゆ

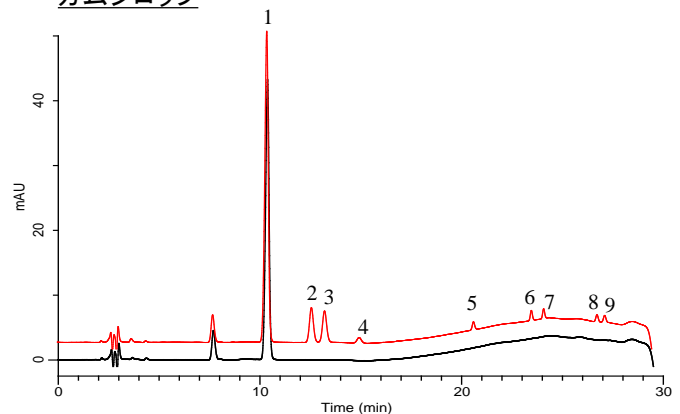


しょうゆ

— 未添加(下)
— 添加(上) 各1 mg/L

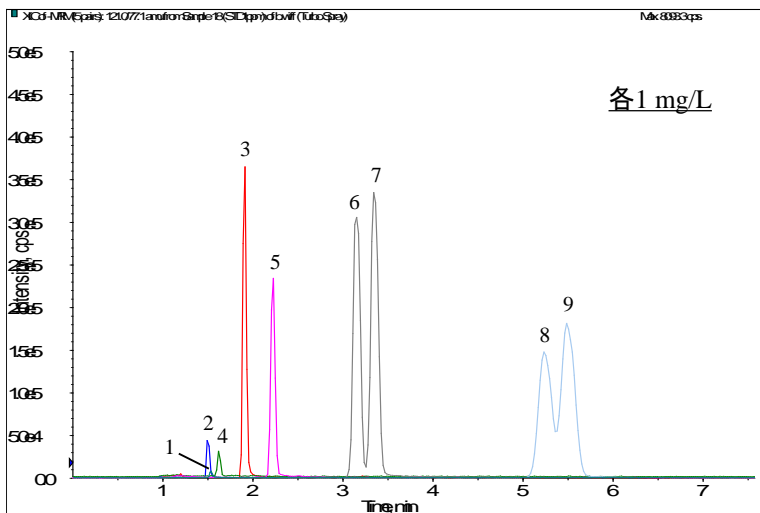


ガムシロップ



LC/MS/MSにおける高速分析例

確認試験法としてLC/MS、LC/MS/MS又はGCが採用されています。
ここではLC/MS/MSにおける8分サイクルの高速分析例を示しています。
MSを用いることで、選択的に目的の保存料の有無が確認できます。



- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. 安息香酸 | (Q1:121, Q3:77, Nega) |
| 2. ソルビン酸 | (Q1:113, Q3:67, Posi) |
| 3. デヒドロ酢酸 | (Q1:169, Q3:85, Posi) |
| 4. パラオキシ安息香酸メチル | (Q1:153, Q3:109, Posi) |
| 5. パラオキシ安息香酸エチル | (Q1:167, Q3:139, Posi) |
| 6. パラオキシ安息香酸イソプロピル | (Q1:181, Q3:139, Posi) |
| 7. パラオキシ安息香酸プロピル | (Q1:181, Q3:139, Posi) |
| 8. パラオキシ安息香酸イソブチル | (Q1:195, Q3:139, Posi) |
| 9. パラオキシ安息香酸ブチル | (Q1:195, Q3:139, Posi) |

HPLC条件

システム : LC800 HPLC system

4000 Q TRAP[®]

カラム : Inertsil ODS-4 (2 μm, 75 x 2.1 mm I.D.)

溶離液 : A) 0.05 % HCOOH in (H₂O/CH₃CN = 5/95)

B) 0.05 % HCOOH in (H₂O/CH₃CN = 95/5)

A/B = 95/5 - 0.2 min - 63/37 - 5.3 min - 63/37

- 0.01 min - 95/5 - 2.5 min - 95/5, v/v

流量 : 0.5 mL/min

カラム温度 : 40 °C

検出 : LC/MS/MS (4000 Q TRAP[®] : ESI, Positive, MRM)

CUR CAD IS TEM GS1 GS2

50 3 5500 700 60 50

: LC/MS/MS (4000 Q TRAP[®] : ESI, Negative, MRM)

CUR CAD IS TEM GS1 GS2

40 2 -4500 700 80 60

注入量 : 2 μL

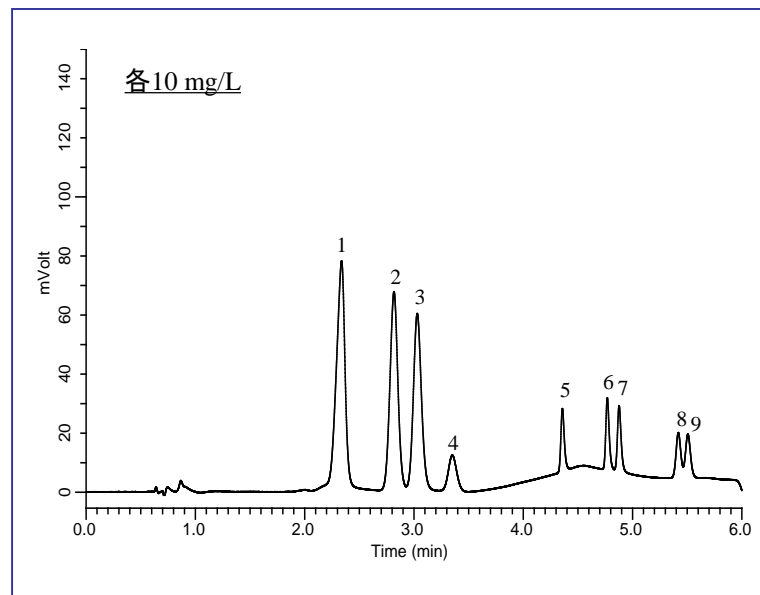
分析カラム : Inertsil ODS-4 2 μm, 75 x 2.1 mm I.D.

Cat.No. 5020-81203

* 8, 9番の完全分離が必要な場合は有機溶媒濃度を
下げてください。

高速分析例

Inertsil ODS-4を用いて8分サイクルに高速化しても良好に分離可能です。安息香酸エステル類は260 nm付近に極大吸収波長を持ちます。検出が困難な場合はUV 260 nmに設定してください。



HPLC条件

システム : LC800 HPLC system

カラム : Inertsil ODS-4 HP (3 μm, 150 x 2.1 mm I.D.)

溶離液 : A) CH₃OH/H₂O/リン酸緩衝液* (pH 4.0)

= 2/17/1, v/v/v

B) CH₃OH/H₂O/リン酸緩衝液 (pH 4.0)

= 14/5/1, v/v/v

A/B = 50/50 - 2.3 min - 50/50 - 1.2 min - 0/100

- 1.5 min - 0/100 - 0.1 min - 50/50 - 3 min - 50/50
, v/v

流量 : 0.5 mL/min

カラム温度 : 40 °C

検出 : UV 230 nm (10 mm UV flow cell)

注入量 : 5 μL

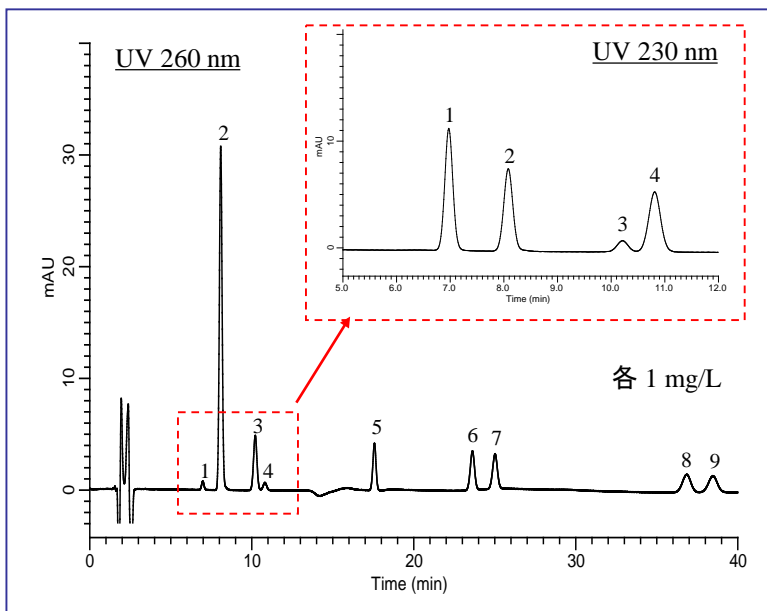
* 0.2 mol/L リン酸緩衝液: KH₂PO₄ 27.0 gを水に加えて
溶かし1000 mLとし、リン酸を加えてpH 4.0としました。

分析カラム : Inertsil ODS-4 HP 3 μm, 150 x 2.1 mm I.D.

Cat.No. 5020-14002

クエン酸緩衝液による分析例

一斉分析例にクエン酸緩衝液を用いた例も掲載されています。時間はかかりますがこちらの条件でも分析可能です。



分析カラム : Inertsil ODS-4 5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.
Cat.No. 5020-03945

カートリッジガードカラムE
: Inertsil ODS-4 5 μ m, 10 x 4.0 mm I.D.
Cat.No. 5020-08520

HPLC条件

システム : GL-7400 HPLC system

ガードカラム : カートリッジガードカラムE

Inertsil ODS-4 (5 μ m, 10 x 4.0 mm I.D.)

カラム : Inertsil ODS-4 (5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)

溶離液 : A) CH₃OH/CH₃CN/5 mM クエン酸緩衝液 *
= 1/2/7, v/v/v

B) CH₃OH/CH₃CN/5 mM クエン酸緩衝液
= 5/4/11, v/v/v

A/B = 100/0 -10 min- 100/0 -5 min- 0/100
-22 min- 0/100, v/v

流量 : 1.0 mL/min

カラム温度 : 40 °C

検出 : UV 230 nm, 260 nm

注入量 : 20 μ L

* 5 mM クエン酸緩衝液: クエン酸一水和物7.0 g、及び
クエン酸三ナトリウム二水和物 6.0 gに水を加えて1 Lとし、
用事10倍希釈して用いる。

分析装置 : LC800



分析装置 : GL-7400 シリーズ

