

## キャピラリーゾーン電気泳動法による食品中の合成着色料の分析

## Simultaneous analysis of synthetic dyes in food samples by capillary zone electrophoresis

○曾村岳郁<sup>1</sup>, 吉川賢治<sup>2</sup>, 櫻川昭雄<sup>2</sup>\*Takafumi Somura<sup>1</sup>, Kenji Yoshikawa<sup>2</sup>, Akio Sakuragawa<sup>2</sup>

Abstract: Capillary zone electrophoresis with UV detection was developed for the simultaneous analysis of synthetic dyes in food samples. When a solution of sodium tetraborate, sodium bicarbonate and poly (vinyl alcohol) was used as the background electrolyte, the twelve synthetic dyes listed in the Japanese Food Sanitation Law were detected within 18 min.

## 1. 緒言

1995 年の PL 法施行以降の数年間で、食中毒事件や牛海綿状脳症、食品偽装事件など食品の安全に関わるかつてない大事件が相次いで発生し、食品への不安や食品産業に対する不信感が募った。食品安全委員会が平成 20 年度に 2000 人に対し調査を行ったところ、不安を感じる事柄として最多の残留農薬に次いで挙げているのが食品添加物である<sup>1)</sup>。その食品添加物の中には合成着色料が含まれており、食品の嗜好性や魅力を増す目的で使用されている。しかし、過剰摂取による染色体異常などが懸念されるため、食品衛生法により基準値が設けられ、使用許容範囲が定められている。

食品添加物試験法において、食品中の合成着色料の分析法として薄層クロマトグラフィーが用いられている<sup>2)</sup>が、定量が不可能である。また、最近では高速液体クロマトグラフィーも用いられている。しかし、光路長が狭いキャピラリー電気泳動法 (CE) と比較し高感度検出は可能であるが、多価成分や迅速な多成分同時分析が困難である。これらを改善するため、分離能が著しく高く、迅速な分析が可能であり、従来のキャピラリーと比較して光路長が広い、バブルセルフェーズドシリカキャピラリーを用いたキャピラリーゾーン電気泳動法 (CZE) を用いた。

本研究では、食品衛生法により指定されている 12 種類 (アマランス, エリスロシン, アルラレッド AC, ニューコクシン, フロキシシン, ローズベンガル, アシッドレッド, タートラジン, サンセットイエロー FCF, ファストグリーン FCF, ブリリアントブルー FCF, インジゴカルミン) の同時分析法の確立を目指した。

## 2. 装置・操作

装置はダイオードアレイ検出器, オートサンプラーおよび 30 kV まで印加可能な電圧印加部が搭載されたアジレントテクノロジー製 HP<sup>3D</sup>型を使用した。また, CE の制御, データ取得およびデータ解析には同社製 HP<sup>3D</sup> Chemstation を用いた。さらに, キャピラリーは同社製バブルセルフェーズドシリカキャピラリー (内径 50 μm, 全長 64.5 cm, 有効長 56 cm) を用いた。Table 1 に測定条件を示す。各測定の前に 0.1 M 水酸化カリウムで 7 分, 超純水で 2 分, 使用する泳動溶液で 3 分間キャピラリーをプレコンディショニングした。

Table 1 Operating conditions for CZE

Background electrolyte	: 7 mM Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> –4 mM NaHCO <sub>3</sub> –0.05 (w/w)% PVA
pH of background electrolyte	: 10.0
Capillary	: Bubble cell fused-silica capillary (50 μm i.d. × 64.5 cm, effective length: 56 cm)
Temperature	: 30 °C
Applied voltage	: 25 kV
Injection volume	: Pressurized injection (50 mbar × 5 sec)
Detection	: Diode-array detection
	: 215/50 nm (UV), 520/60 nm (red), 410/60 nm (yellow), 598/4 nm (blue)

1: 日大理工・院 (前)・応化, 2: 日大理工・教員・応化

### 3. 結果および考察

#### 3.1 泳動溶液の pH および濃度の検討

泳動溶液中の四ホウ酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ) 濃度を 10 mM および炭酸水素ナトリウム ( $\text{NaHCO}_3$ ) 濃度を 5 mM と一定にし、pH を変化させたときの移動時間の関係を調べた。その結果、pH 10.8 より高い場合はベースラインが不安定になる傾向が見られた。また、pH 9.5 以下ではピークが近接するため、pH を分離が良好な 10.2 とした。次に濃度組成の検討を行った。一方の濃度を一定とし、もう一方の濃度を変化させたときの移動時間の関係を調べた。その結果、 $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  濃度を 3 mM、 $\text{NaHCO}_3$  濃度を 4 mM とした。

しかしながら、近接するピークの分離が十分とはいえないため、pH と  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  濃度の再検討を行った。 $\text{NaHCO}_3$  濃度を 4 mM と一定にし、pH 10.2 に次いで分離が良好であった pH 10.0 および 10.2 における  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  濃度を変化させた。その結果、pH 10.0 および 7 mM  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  に決定した。

#### 3.2 泳動溶液への PVA 添加による分離度への効果

ローズベンガルおよびフロキシンの分離を向上させるため、泳動溶液にポリビニルアルコール (PVA) を添加した場合の検討を行った。添加量は 0.05~0.15 (w/w)% の範囲で検討し、ベースラインの安定性および試薬使用量の観点から、添加量は 0.05 (w/w)% とした。

#### 3.3 印加電圧

印加電圧の影響について、10~30 kV まで 5 kV 刻みに増加させ、移動時間との関係を調べた。その結果、電圧の増加に伴い、移動時間が減少する傾向がみられた。以上より、印加電圧を 25 kV とした。

#### 3.4 その他の条件

その他の条件として、キャピラリー温度の検討や分析精度の確認を行った。Fig. 1 に確立した分離条件におけるエレクトロフェログラムを示す。

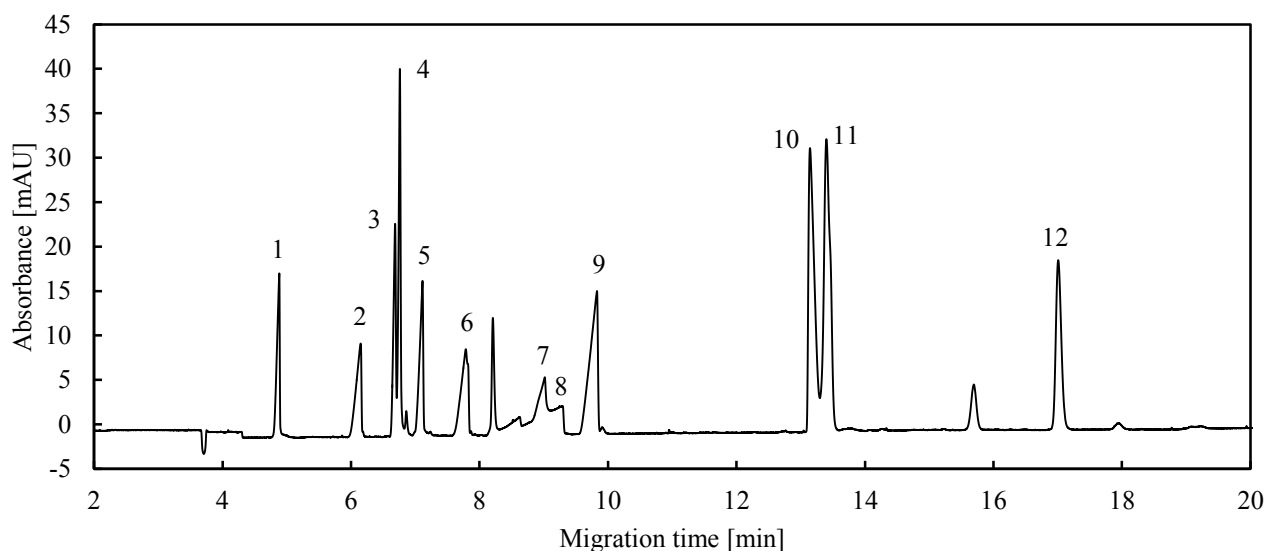


Fig. 1 Electropherogram of synthetic dyes

Analytes (each 50 mg/L): 1. Acid red, 2. Brilliant blue FCF, 3. Rose bengal, 4. Phloxine, 5. Erythrosine, 6. Fast green FCF, 7. Indigo carmine, 8. Allura red AC, 9. Sunset yellow FCF, 10. New coccine, 11. Amaranth, 12. Tartrazine

### 5. 参考文献

- 1) 小泉直子：日本食品化学会第 19 回総会・学術大会講演要旨集，p. 26 (2013)。
- 2) 安田和夫：“衛生試験法・注解”，2010 年版，日本薬学会編，p. 370 (2010)，(金原出版)。