

3) LC/MS/MSによる食品中食品添加物の迅速一斉分析法の開発

西名武士 中原優子 富永純司
松本理世 山口奈穂 松村光紗

要旨

39成分の食品添加物の迅速一斉分析法を開発するため、70%アセトニトリル及び0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液で抽出後、LC/MS/MSを用いて定量する分析法の検討を行った。また、上記分析法について、7種の食品を用いて「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に準拠した妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られた。

キーワード：LC/MS/MS, 食品添加物, 一斉分析

はじめに

食品添加物は、食品の加工若しくは保存の目的で使用される物質であり、現在、指定添加物リストに455品目、既存添加物リストに365品目、天然香料基原物質リストに614品目、一般飲食物添加物リストに112品目が収載され、食品毎に使用基準が設定されている。

本県では、上記食品添加物のうち、使用実態及び過去の検査結果から違反の蓋然性の高いものを中心に定期的に収去検査を実施しており、当所において分析を行っている。

当所での食品添加物の分析は、保存料、酸化防止剤、着色料、甘味料、防かび剤等の食品添加物の種類毎又は個別に示された公定法¹⁾や、衛生試験法注解法²⁾などを用いているが、その多くは測定機器にHPLCやGCを用いるものであり、食品由来の成分による定量妨害が起きやすく、また、定性情報が不十分なため、複数の原理を用いた確認試験が必要など正確性・迅速性の面で問題が多かった。また、収去検査における行政からの検査依頼項目が、複数の食品添加物の種類に跨る(保存料と酸化防止剤等)ことも多く、1検体につき複数の分析法を用いる必要があるなど非常に煩雑であった。

なお、近年、HPLC・GC法より高感度、かつ、高選択性の質量分析計付きHPLC(LC/MS又はLC/MS/MS)による分析法が、公定法において保存料の確認試験に導入され、また、多くの研究機関により正確性・迅速性を向上させるための研究^{3~10)}がなされているが、複数の食品添加物の種類に適用できるものは少ない。

そこで、今回、複数の食品添加物の種類に適用できる迅速一斉分析法の開発を目的に、保存料、酸化防止剤、着色料、甘味料及び防かび剤の計38項目(39成分)を対象として、LC/MS/MSを用いた食品中食品添加物の迅速一斉分析法の検討を行った。また、本法について、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」¹¹⁾(以下「ガイドライン」という。)に基づく妥当性評価試験を行ったところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1 分析対象食品添加物

当所で分析を行っている食品添加物のうち、表1で示したLC/MS/MSで分析が可能な38項目(39成分)を分析対象とした。

2 試薬等

2.1 標準品

標準品は林純薬工業製、関東化学製、和光純薬工業製、Dr.Ehrenstorfer GmbH製及びsigma-aldrich製を用いた。

2.2 混合標準溶液

各標準品を秤量し、水又はメタノール若しくはアセトンに溶解後、感度、基準値及び分解性を考慮し、2系列(A及びB)に分けて表1に示す濃度(混合標準溶液中の各成分濃度は、本表に示す濃度の比率によるものとし、以下アセスルファミカリウム「AK」濃度

のみを示す。)となるように混合し、メタノール：水＝1：1で希釈した。

2.3 その他の試薬等

アセトニトリル：和光純薬工業製（HPLC用）
 メタノール：和光純薬工業製（HPLC用）
 アンモニア水：片山化学工業製，特級試薬
 水：精製水
 ギ酸：和光純薬工業製，LC/MS用
 酢酸アンモニウム：和光純薬工業製，試薬特級
 ろ過フィルター：Agilent製（Econofiltr PTFE，0.2μm）
 バイアル：GL Sciences製（ポリプロピレン製，1.5mL）

表1 分析対象食品添加物

NO	Name	添加物名	系列	濃度 (μg/mL)
1	AK	アセスルファムカリウム	A	25
2	Auramine	オーラミン	A	2.5
3	B1	青色1号	A	25
4	BHA	ブチルヒドロキシアニソール	A	25
5	Cyclamate	サイクラミン酸	A	25
6	Dehydro	デヒドロ酢酸	A	25
7	FLD	フルジオキソニル	A	25
8	G3	緑色3号	A	250
9	Green-S	グリーンS	A	25
10	IMZ	イマザリル	A	2.5
11	NDGA	ノルジヒドロクシアレチック酸	A	2.5
12	OG	没食子酸オキシル	A	2.5
13	Patent-Blue	パテントブルーV	A	25
14	PG	没食子酸プロピル	A	2.5
15	POBA_B	パラオキシ安息香酸ブチル	A	25
16	POBA_E	パラオキシ安息香酸エチル	A	25
17	POBA_IB	パラオキシ安息香酸イソブチル	A	25
18	POBA_IP	パラオキシ安息香酸イソプロピル	A	25
19	POBA_P	パラオキシ安息香酸プロピル	A	25
20	Q-Yellow(di)	キノリンイエロー(ジ体)	A	25
	Q-Yellow(mono)	キノリンイエロー(モノ体)	A	25
21	R102	赤色102号	A	250
22	R104	赤色104号	A	25
23	R105	赤色105号	A	25
24	R106	赤色106号	A	25
25	R3	赤色3号	A	25
26	R40	赤色40号	A	250
27	Rhodamine-B	ローダミンB	A	2.5
28	SA	サッカリン	A	25
29	TBZ	チアベンタゾール	A	2.5
30	Y5	黄色5号	A	25
31	Azorubine	アゾルビン	B	125
32	B2	青色2号	B	1,250
33	BA	安息香酸	B	125
34	BHT	ブチルヒドロキシトルエン	B	125
35	R2	赤色2号	B	1,250
36	SOA	ソルビン酸	B	1,250
37	TBHQ	tert-ブチルヒドロキノン	B	1,250
38	Y4	黄色4号	B	1,250

3 試料

3.1 検討用試料

検討用試料には、分析対象の食品添加物が含まれないことを確認した魚肉練り製品（竹輪）を、フードプロセッサーで細切したものをを用いた。

3.2 妥当性評価試験用試料

魚肉練り製品（竹輪），菓子類（飴及びウエハース）調味料（醤油及び味噌）及び瓶詰・缶詰食品（ホールトマト及び鯖缶）各1.0gを50mLPP遠沈管にとり、混合標準溶液をAK濃度として2.5μg/gとなるように添加し、30分間静置したものをを用いた。

4 LC/MS/MS測定条件

LC：Nexera X2(島津製作所社製)

・注入量：2μL

・分離カラム：GL Sciences社製 InertsustainC18 PEEK (2.1×150mm, 3μm)

・カラムオープン温度：30℃

・移動相：A液(0.001%ギ酸，12.5mM酢酸アンモニウム水)，B液(メタノール)

・グラジエント条件：表2のとおり

MS/MS：TRIPLE QUAD5500(AB SCIEX社製)

・イオン化法：ESI

・分析モード：sMRM(ポジティブ，ネガティブ同時取り込み)

表2 グラジエント条件

Min	A(%)	B(%)	Flow(mL/min)
0	100	0	0.4
5	100	0	0.4
5.1	90	10	0.4
15	0	100	0.4
22	0	100	0.4
22.1	100	0	0.4
35	100	0	0.4

結果及び考察

1 測定条件の検討

まず、MS部の測定条件を決定するため、各標準溶液1~100ng/mLをインフュージョンにより直接MS部に導入し、イオン化条件（各成分において定量用及び定性用イオンの2イオン）を検討した。その結果、表3に示す条件が各成分の最適条件となった。

また、分析カラム、移動相条件等は、ピーク形状や分離、感度を考慮しながら最適化した（表2）。

なお、一部の成分では、試験溶液中のアセトニトリル濃度によって、カラムへの保持が不十分なことによ

るピーク先端の割れや、感度の低下がみられた。このため、アセトニトリル濃度を段階的に変化させて混合標準をそれぞれ希釈し、測定結果を比較したところ、70%アセトニトリル溶液では全物質のピーク形状がシャープで、感度も良好であったため、試験溶液の組成はアセトニトリル:水 (7:3) とした。以上の条件で得られた食品添加物 39 成分(100ng/mL)のクロマトグラフ (TIC) を図 1 に示す。

表 3 各成分の最適測定条件

Name	+/-	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
AK 1	-	161.8	81.8	-55	-22
AK 2	-	161.8	77.9	-55	-42
Auramine 1	+	268.1	147.1	66	39
Auramine 2	+	268.1	131.1	66	63
Azorubine 1	-	456.9	169.9	-150	-54
Azorubine 2	-	456.9	220.9	-60	-30
B1 1	-	747.0	169.9	-15	-78
B1 2	-	747.0	561.0	-15	-60
B2 1	-	420.9	341.0	-185	-40
B2 2	-	420.9	261.0	-185	-52
BA 1	-	120.8	77.0	-25	-16
BA 2	-	120.8	120.8	-25	-5
BHA 1	-	178.9	163.9	-15	-20
BHA 2	-	178.9	149.0	-15	-34
BHT 1	-	219.0	219.0	-145	-25
BHT 2	-	219.0	203.0	-145	-34
Cyclamate 1	-	177.9	79.9	-80	-34
Cyclamate 2	-	177.9	80.9	-80	-28
Dehydro 1	+	169.0	84.9	31	25
Dehydro 2	+	169.0	127.0	31	17
FLZ 1	+	249.1	229.0	51	14
FLZ 2	+	249.1	158.0	51	39
G3 1	-	784.9	169.9	-20	-70
G3 2	-	784.9	170.4	-20	-64
Green-S 1	+	555.0	392.0	60	30
Green-S 2	+	555.0	473.2	60	30
IMZ 1	+	297.0	159.0	61	31
IMZ 2	+	297.0	255.0	61	21
NDGA 1	-	301.0	122.0	-25	-38
NDGA 2	-	301.0	109.0	-25	-36
OG 1	-	281.1	281.1	-45	-5
OG 2	-	281.1	124.0	-45	-36
Patent-Blue 1	-	543.0	419.0	-40	-62
Patent-Blue 2	-	543.0	375.1	-40	-82
PG 1	-	210.9	123.9	-100	-32
PG 2	-	210.9	124.4	-100	-30
POBA_B 1	-	193.0	120.9	-110	-30
POBA_B 2	-	193.0	118.8	-110	-26
POBA_E 1	+	167.1	95.0	26	23
POBA_E 2	+	167.1	77.0	26	37
POBA_IB 1	-	193.0	120.9	-110	-30
POBA_IB 2	-	193.0	118.8	-110	-26
POBA_IP 1	+	181.1	138.9	46	13
POBA_IP 2	+	181.1	77.0	46	39
POBA_P 1	+	181.1	139.0	46	13
POBA_P 2	+	181.1	77.0	46	37
Q-Yellow(di) 1	-	431.9	351.8	-255	-42
Q-Yellow(di) 2	-	431.9	287.9	-255	-52
Q-Yellow(mono) 1	-	351.9	287.9	-160	-42
Q-Yellow(mono) 2	-	351.9	259.0	-160	-60

表 3 各成分の最適測定条件 (つづき)

Name	+/-	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP (V)	CE (V)
R102 1	-	536.8	301.9	-40	-36
R102 2	-	536.8	536.8	-40	-5
R104 1	-	784.4	658.5	-15	-40
R104 2	-	784.4	660.4	-15	-40
R105 1	-	972.3	674.7	-30	-46
R105 2	-	972.3	127.0	-30	-128
R106 1	+	581.0	537.1	26	65
R106 2	+	581.0	581.0	26	5
R2 1	-	536.8	316.8	-200	-42
R2 2	-	536.8	237.0	-200	-58
R3 1	-	834.5	662.5	-25	-52
R3 2	-	834.5	126.8	-25	-124
R40 1	-	450.9	206.8	-170	-44
R40 2	-	450.9	206.3	-170	-60
Rhodamine-B 1	+	443.1	399.0	21	59
Rhodamine-B 2	+	443.1	355.1	21	85
SA 1	-	181.8	41.9	-95	-56
SA 2	-	181.8	105.8	-95	-26
SOA 1	+	112.9	66.9	101	19
SOA 2	+	112.9	95.1	101	13
TBHQ 1	-	164.8	121.0	-85	-38
TBHQ 2	-	164.8	149.0	-85	-34
TBZ 1	+	202.0	175.0	91	35
TBZ 2	+	202.0	131.0	91	43
Y4 1	-	466.9	197.9	-120	-24
Y4 2	-	466.9	79.9	-120	-98
Y5 1	-	406.9	206.9	-135	-42
Y5 2	-	406.9	79.8	-135	-110

※Q-Yellow は、ジ体とモノ体が検出されたため、両方の最適化を行った。

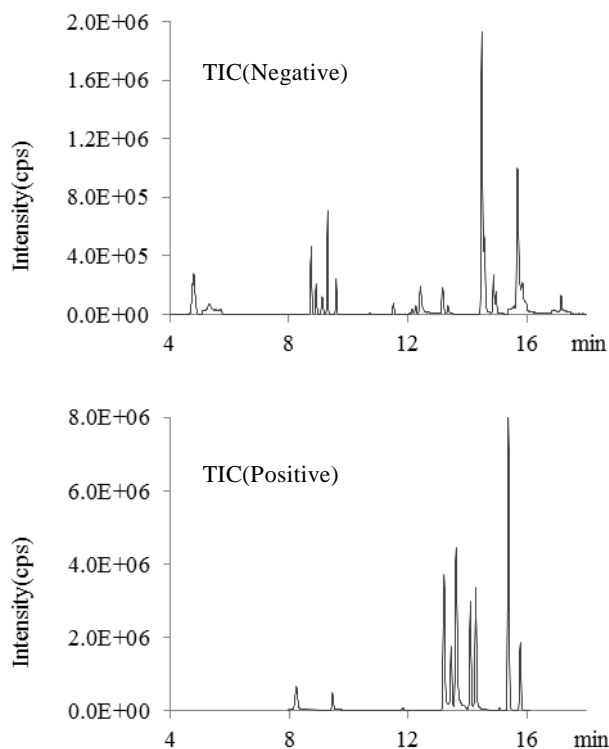


図 1 食品添加物 38 成分のクロマトグラフ (TIC)

2 定量範囲の確認

定量範囲を確認するため、混合標準液を AK 濃度として 4, 10, 20, 50, 75 及び 100ng/mL に調製したものを本条件で測定した。各成分の保持時間(Rt), 定量下限値(ng/mL, S/N \geq 10)と上限値(ng/mL)及び得られた検量線の相関係数(r)を表 4 に示す。表 3 に示すとおり、すべての成分で定量下限値から上限値までの範囲で概ね良好な相関 (r:0.9952~1.0000)が得られたため、この範囲で定量可能であると考えられた。

表 4 各成分の定量範囲

Component	RT	下限値	上限値	R
AK	4.83	5	100	0.9994
Auramine	13.68	0.5	10	0.9999
Azorubine	12.66	25	500	0.9999
B1	12.25	5	100	0.9998
B2	9.60	250	5000	0.9995
BA	5.44	25	500	0.9992
BHA	15.01	5	100	0.9998
BHT	17.14	25	500	0.9994
Cyclamate	9.13	5	100	0.9999
Dehydro	9.56	5	100	0.9998
FLD	15.08	5	100	0.9992
G3	12.13	50	1000	0.9991
Green-S	11.84	5	100	0.9990
IMZ	15.77	0.5	10	1.0000
NDGA	14.57	0.5	10	1.0000
OG	15.68	0.5	10	0.9998
Patent-Blue	13.16	5	100	0.9994
PG	12.43	0.5	10	0.9992
POBA_B	14.95	5	100	0.9997
POBA_E	13.45	5	100	0.9992
POBA_IB	14.87	5	100	0.9998
POBA_IP	14.10	5	100	0.9998
POBA_P	14.27	5	100	0.9996
Q-Yellow(di)	10.76	5	100	0.9952
Q-Yellow(mono)	13.34	5	100	0.9990
R102	9.94	50	1000	0.9997
R104	15.45	5	100	0.9990
R105	15.73	5	100	0.9995
R106	13.59	5	100	0.9993
R2	9.31	250	5000	0.9998
R3	14.43	5	100	0.9997
R40	11.51	50	1000	0.9992
Rhodamine-B	15.39	0.5	10	1.0000
SA	8.77	5	100	0.9996
SOA	8.39	250	5000	0.9997
TBHQ	13.17	250	5000	0.9993
TBZ	13.26	0.5	10	0.9999
Y4	8.93	250	5000	0.9994
Y5	10.71	5	100	0.9993

3 前処理法の検討

3.1 抽出溶媒の検討

食品添加物検査において対象となる食品は、魚肉練り製品、菓子類等多岐にわたり、また、対象となる成分も極性の範囲が広いため、できるだけ多くの食品に適用でき、かつ、抽出効率が優れた抽出法が必要となる。そこで、抽出法は、適用食品の実績が多く 300 種以上の農薬が抽出可能な、当所で実施している残留農薬の分析法^{12,13)}を参考に、含水アセトニトリルで 2 回抽出し、上澄みを分取・ろ過後 LC/MS/MS で測定する抽出法を検討することとし、含水アセトニトリルのアセトニトリル濃度（以下「ACN 濃度」という。）の最適値を検索した。図 2-1~2-5 に、検討用試料に AK 濃度として 2.5 μ g/g となるように混合標準液を添加し、ACN 濃度 0~100%の溶液で 2 回抽出（20mL+10mL）後、最終 AK 濃度として 50ng/ml となるように 70%アセトニトリルで希釈し LC/MS/MS で測定した場合の各成分の回収率（n=1, 添加物の種類毎）を示す。

図2-1~2-3に示した保存料、酸化防止剤及び防かび剤のすべての成分において、ACN濃度の増加に伴って回収率が上昇しACN濃度60%で回収率が100%程度に達する傾向を示したが、BHA及びTBHQではACN濃度100%で減少に転じ、また、BHTではACN濃度70%以上で回収率が100%を大きく超過した。また、図2-4に示した着色料では、多くの成分でACN濃度30%~70%で最も高い回収率を示したが、R3, R104及びR105ではACN濃度の増加に伴って回収率が上昇する傾向を示し、最高でも回収率が70%以下であった。なお、図2-5に示した甘味料では、ACN濃度に関係なく良好な回収率を示した。

以上の結果から、今回対象とした成分すべてにおいて、比較的良好的な回収率が得られた70%アセトニトリル溶液を抽出溶媒とすることにした。

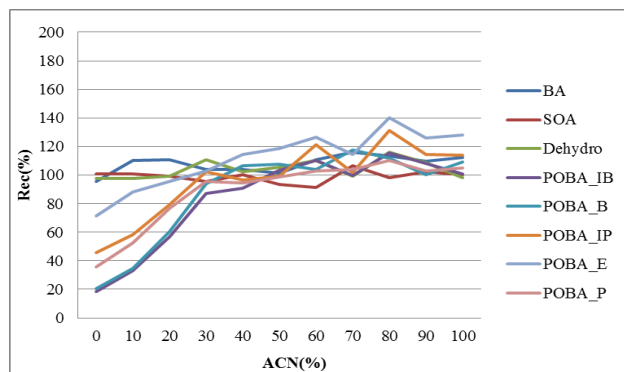


図 2-1 ACN 濃度と回収率の関係（保存料）

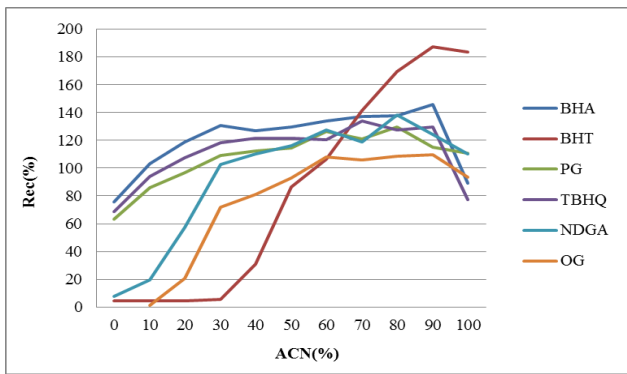


図 2-2 ACN 濃度と回収率の関係 (酸化防止剤)

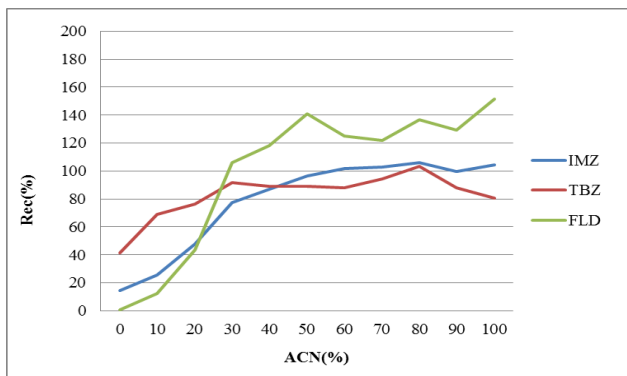


図 2-3 ACN 濃度と回収率の関係 (防かび剤)

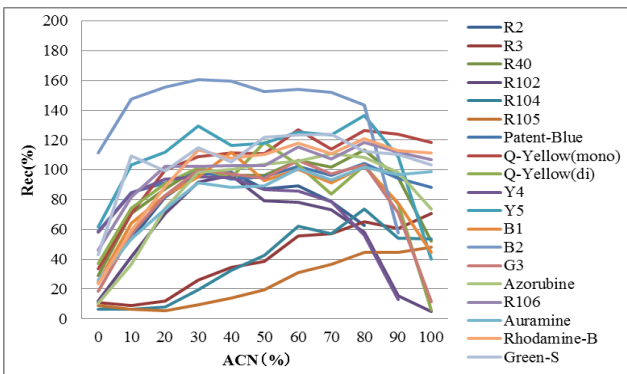


図 2-4 ACN 濃度と回収率の関係 (着色料)

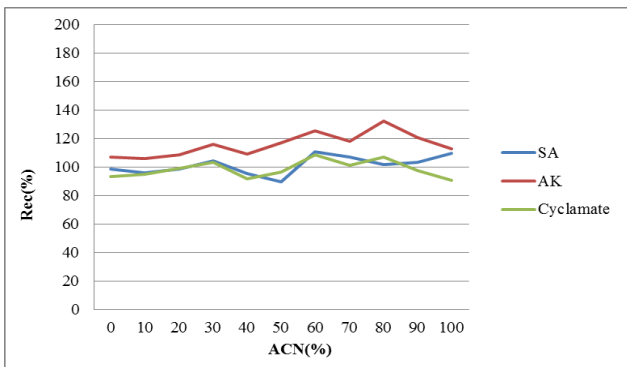


図 2-5 ACN 濃度と回収率の関係 (甘味料)

なお、前述のとおりR3等一部の着色料はACN濃度に関係なく十分な回収率が得られなかった。これは、着色料はタンパク質に結合しやすいため、含水アセトニトリルのみでは十分に抽出できなかったこと等が考えられた。そこで、これらの抽出効率改善を目的に、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出後に、公定法を参考に、残渣に0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液10mLを加え再抽出することとし、70%アセトニトリル溶液で2回抽出(20mL+10ml)したものと回収率の比較を行った(n=1, 表5)。

その結果、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液を用いて再抽出することで、R3, R104及びR105のすべてで回収率70~120%の範囲内に入る良好な結果が得られた。一方で、NDGA, OG及びPGは回収率が0%となり、これら一部の酸化防止剤はアルカリ条件下で分解するものと考えられた。

なお、NDGA等は先の検討で70%アセトニトリル溶液により効率よくに抽出できており、1回目の抽出でほとんど抽出できていると推察された。このことから、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液を用いた2回目の抽出液を中和処理した後に、1回目の抽出液と合わせることで分解による回収率低下を防ぐことが可能であると考えられたため、当該中和の条件を検討することとした。

表5 着色料及び酸化防止剤の回収率比較(単位:%)

Name	70%ACN×2	70%ACN+ 0.1%NH3-70%ACN
R3	45.5	77.0
R104	57.3	91.7
R105	39.5	91.7
NDGA	85.5	0.0
OG	95.5	0.0
PG	102.0	0.0

3.2 中和の検討

検討用試料にAK濃度として2.5µg/gとなるように混合標準液を添加し、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出(1回目)後、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル10mLで再抽出(2回目)し、この再抽出液に中和剤として0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液を添加した後に、1回目と2回目の抽出液を合わせ、最終AK濃度として50ng/mlとなるように70%アセトニトリルで希釈後LC/MS/MSで測定した場合の回収率を算出し、ここで用いる0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液の添加量の検討を行った(n=1)。その結果を図3に示す。

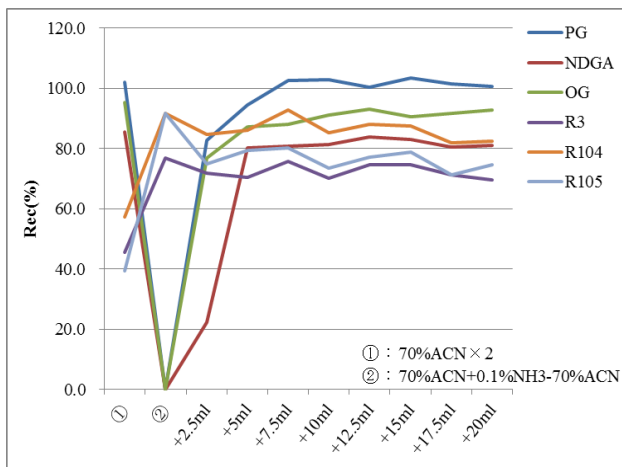


図3 0.2%ギ酸 70%ACN 添加量の検討

図3に示すように、0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液を添加することにより、NDGA等は大幅に回収率が向上し、添加量10mL以上で概ね良好な回収率が得られた。なお、R3等の着色料については、0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液の添加により、回収率の低下が認められたがその程度は低く、添加量10mL程度であれば問題ないと考えられた。

以上により、70%アセトニトリル溶液20mLで抽出後、0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル10mLで再抽出し、この再抽出液に0.2%ギ酸含有70%アセトニトリル溶液10mlを添加した後に、1回目と2回目の抽出液を合わせ、LC/MS/MSで測定する食品添加物の迅速一斉分析法（以下「本法」という。）を作成した（図4）。

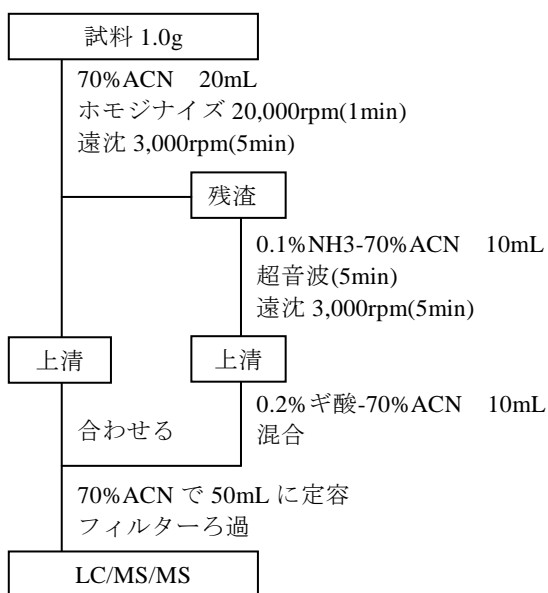


図4 本法の分析フロー

4 マトリックス効果の検証

LC/MS/MS を用いた分析では、試験溶液中の夾雑物の影響により、目的成分のイオン化抑制又はイオン化促進（以下「マトリックス効果」という。）が起こり、その測定強度が変動するため、精製操作を行わない前処理法においては定量分析の障害となり易い。したがって、今回用いる前処理法も、精製操作を行わない簡易なものであることから、マトリックス効果による定量障害が懸念された。

なお、食品添加物検査において対象となる食品は、多岐にわたるため、目的成分の濃度が既知のマトリックス用検体の確保は難しく、マトリックス検量線等のマトリックス効果を補正する手法は用いることができない。

また、一般的にマトリックス効果は、LC/MS/MS のイオン化部に導入されるマトリックス量が多いほど大きくなるため、注入量を一定量以下にすることにより試料由来のマトリックス効果を低減することができると考えられた。

そこで、「AK 濃度として 50ng/mL の混合標準溶液：X」と「検討用試料を用い、本法により前処理を行った試験溶液に、混合標準液を AK 濃度として 50ng/mL となるように添加したもの：Y」について、それぞれ注入量を 1~20μL に変化させ LC/MS/MS で測定し、測定強度の比較（Y/X(%)）を行い、マトリックス効果を無視できる最適な注入量の検索を行った。図5にマトリックス効果が認められた成分の結果を示す。

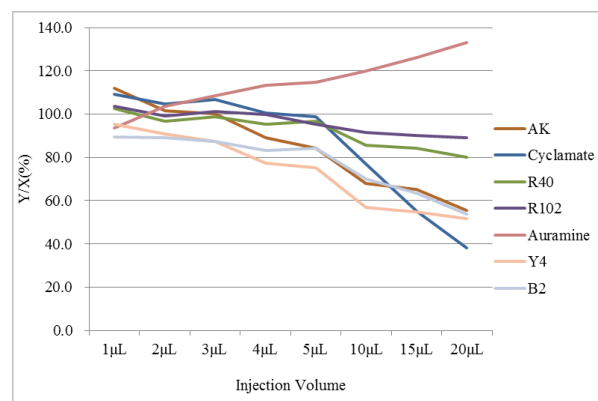


図5 マトリックス効果の検証

図5に示したとおり、AK, Cyclamate, R40, R102, Y4及びB2では注入量が増えると負のマトリックス効果が、Auramineでは正のマトリックス効果が確認された。なお、注入量が少なくなるとその影響は小さくなり、注入量が 3μL 以下ではほとんどすべての成分で Y/X が 90~110%の範囲内に入り、マトリックス効果

は無視できると考えられた。なお、先の検討では注入量を2 μ Lに設定しており、感度及び精度において特に問題がなかったため、注入量は2 μ Lとすることにした。

5 妥当性評価試験

食品添加物の分析法は、公定法の通則9により、公定法以上の精度がある場合には、公定法以外の分析法を用いることができるとされているが、精度の比較方法等妥当性評価の手法については示されていない。そこで、食品添加物と検査の目的や分析対象の性質も比較的近い農薬等の妥当性評価手法（ガイドライン）に準拠し、妥当性評価試験を行った。

本法について、3.2 妥当性評価試験用試料を用いて、分析者5名、2併行での添加回収試験を実施し、真度、併行精度及び室内精度を算出した。その結果を表6に示す。

表6に示すとおり、魚肉練り製品（竹輪）、菓子類（飴）及び瓶詰・缶詰食品（ホールトマト）では39成分中38成分で真度及び精度がガイドラインの目標値（添加濃度 $>0.1\mu\text{g/g}$ のとき：真度70~120%，併行精度 $<10\%$ ，室内精度 $<15\%$ ）を満たす良好な結果が得られた。また、その他の食品についても、菓子類（ウエハース）で37成分、調味料（醤油）で36成分、調味料（味噌）で35成分及び瓶詰・缶詰食品（鯖缶）で34成分が目標値を満たしており、食品によって若干の差異は認められるものの、概ね良好な結果が得られた。なお、先の検討で中和により回収率が改善したNDGA及びOGが、多くの食品で真度（回収率）の目標値を満たさなかった。この原因として食品の種類により最適中和条件が異なることなどが考えられ、今後中和条件については更なる検討が必要と思われる。

今回用いた食品の添加物使用基準（設定されているものに限る。）は100~2,500 $\mu\text{g/g}$ 、また、今回対象とした成分の公定法の定量下限値は0.1~10 $\mu\text{g/g}$ である。これに対して、本法の定量下限値は0.02~10 $\mu\text{g/g}$ であったため、検出感度は十分であり、妥当性評価試験の結果も良好であったことから、本法は広範囲の食品に適用できるものと考えられる。

ま と め

39成分の食品添加物の迅速一斉分析法を開発するため、70%アセトニトリル及び0.1%アンモニア含有70%アセトニトリル溶液で抽出後、LC/MS/MSを用いて定量する分析法の検討を行った。また、本法について、魚肉練り製品（竹輪）、菓子類（飴及びウエハース）調味料（醤油及び味噌）及び瓶詰・缶詰食品（ホ

ールトマト及び鯖缶）を用いた妥当性評価試験を行ったところ、34~38成分についてガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られた。

本法は、広範囲の食品への適用が可能であり、また、使用する溶媒等が少なく分析にかかる費用も安価で、かつ、操作が簡便なため、その前処理時間も4検体当たり1時間程度と短いことから、食品中食品添加物の迅速一斉分析法として非常に有効な手法であると考えられる。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成12年3月30日付け厚生省生活衛生局食品化学課長通知，衛化第15号。
- 2) 公益社団法人日本薬学会：衛生試験法・注解，329-406（2015）。
- 3) 鶴田小百合，坂本智徳，赤木浩一：食品衛生学雑誌，54，204-212（2013）。
- 4) 脇山ひとみ，赤木浩一：福岡市保環研報，39，83-85（2014）。
- 5) 関戸晴子，岸弘子：神奈川県衛生研究所研究報告，38，35-38（2008）。
- 6) 小木曾俊孝，中西加奈子，新谷依子，永島聡子，高橋浩司，平川博仙，堀就英，梶原淳睦：福岡県保健環境研究所年報，43，76-81（2016）。
- 7) 吉岡直樹，林幸子，川元達彦，吉田昌史：兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告，8，30-34（2017）。
- 8) 氏家あけみ，森香織，安永恵，石川順子，西岡千鶴：香川県環境保健研究センター所報，10，80-84（2011）。
- 9) 千葉美子，山口友美，平本都香，柳茂，齋藤善則，濱名徹：宮城県保健環境センター年報，28，50-54（2010）。
- 10) 佐藤環，宮本伊織，角谷直哉，山野哲夫：大阪市立環科研報告，77，31-35（2015）。
- 11) 厚生労働省：平成22年12月24日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発1224第1号。
- 12) 西名武士，村川弘，福島考兵，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，35，51-56（2005）。
- 13) 福島考兵，増永ミキ，宮原喜子，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，37，36-47（2007）。

表 6 妥当性評価試験結果（魚肉練り製品，菓子類，醤油）

NO		魚肉練り製品（竹輪）				菓子類（飴）				菓子類（ウエハース）				醤油			
		真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定
1	AK	94.1	1.9	2.3	◎	110.1	0.8	1.6	◎	105.4	3.3	3.7	◎	98.4	3.5	3.6	◎
2	Auramine	92.5	0.8	1.3	◎	86.7	2.9	2.9	◎	90.7	2.6	2.6	◎	99.2	1.9	1.9	◎
3	Azorubine	88.3	3.7	6.4	◎	83.8	4.2	4.2	◎	87.9	2.5	5.8	◎	94.0	1.5	2.4	◎
4	B1	88.2	2.4	2.4	◎	87.5	3.2	3.6	◎	87.8	1.4	1.4	◎	97.2	1.5	2.4	◎
5	B2	95.0	1.9	1.9	◎	89.7	1.6	1.6	◎	95.9	1.1	1.5	◎	98.1	0.8	1.1	◎
6	BA	92.4	6.6	6.9	◎	93.2	4.5	4.5	◎	110.0	1.9	3.2	◎	103.8	6.0	6.0	◎
7	BHA	84.7	1.6	1.6	◎	94.3	4.4	4.4	◎	84.8	3.2	3.2	◎	102.6	2.7	2.8	◎
8	BHT	103.2	4.1	4.1	◎	87.2	7.7	7.7	◎	97.1	4.5	4.5	◎	101.7	4.2	4.6	◎
9	Cyclamate	90.9	2.4	2.4	◎	86.2	2.1	3.7	◎	90.3	3.0	3.0	◎	100.9	1.0	2.1	◎
10	Dehydro	92.3	1.5	2.1	◎	91.1	6.1	6.1	◎	88.0	4.6	4.6	◎	88.5	9.0	9.0	◎
11	FLD	85.6	5.5	6.7	◎	91.8	4.5	4.5	◎	81.8	4.1	5.6	◎	108.1	4.3	6.9	◎
12	G3	86.0	1.7	1.7	◎	87.0	3.2	3.4	◎	84.8	3.3	3.5	◎	98.0	2.9	2.9	◎
13	Green-S	89.8	3.2	3.2	◎	84.1	6.8	6.8	◎	84.3	4.8	4.8	◎	89.1	3.8	3.8	◎
14	IMZ	90.6	1.2	1.2	◎	88.7	1.4	1.4	◎	87.8	1.9	2.5	◎	101.9	1.4	1.4	◎
15	NDGA	51.9	5.4	7.7	↓	133.6	2.6	2.6	↑	86.5	3.1	3.8	◎	120.1	3.7	3.7	↑
16	OG	76.5	4.3	8.1	◎	93.4	3.2	4.4	◎	118.9	1.9	2.2	◎	113.9	2.7	3.0	◎
17	Patent-Blue	86.5	0.8	3.1	◎	86.5	5.2	5.2	◎	83.8	4.0	4.0	◎	95.6	0.9	2.1	◎
18	PG	95.5	1.9	2.7	◎	96.2	4.5	5.6	◎	107.6	2.8	2.8	◎	116.8	0.7	0.9	◎
19	POBA_B	88.4	3.2	3.2	◎	94.6	9.6	10.5	◎	91.4	6.8	7.0	◎	100.2	3.8	4.0	◎
20	POBA_E	89.3	4.1	4.1	◎	87.0	6.8	6.8	◎	79.1	6.7	7.1	◎	97.3	4.7	4.7	◎
21	POBA_IB	91.8	2.7	3.2	◎	92.9	5.5	5.5	◎	94.2	3.8	3.8	◎	97.9	3.5	3.5	◎
22	POBA_IP	88.5	1.4	1.4	◎	87.7	2.1	2.1	◎	85.6	1.8	1.8	◎	100.7	2.3	2.3	◎
23	POBA_P	90.3	1.8	1.8	◎	84.8	2.2	2.2	◎	84.8	3.8	3.8	◎	98.7	1.7	2.9	◎
24	Q-Yellow(di)	85.1	8.5	12.2	◎	84.9	7.4	7.6	◎	80.0	16.0	16.0	—	99.6	8.9	8.9	◎
25	Q-Yellow(mono)	81.3	5.5	5.5	◎	90.3	8.1	8.1	◎	78.4	1.9	6.8	◎	88.9	3.3	3.3	◎
26	R102	84.0	1.9	2.8	◎	82.9	4.4	5.1	◎	76.7	3.3	3.3	◎	97.0	1.7	3.5	◎
27	R104	84.0	3.8	4.4	◎	89.1	9.1	9.1	◎	82.1	6.2	6.2	◎	97.4	1.8	3.1	◎
28	R105	75.4	1.2	1.3	◎	86.1	1.4	2.2	◎	72.4	1.8	2.7	◎	98.1	3.2	3.2	◎
29	R106	92.5	1.8	1.8	◎	89.3	0.5	1.7	◎	88.0	1.0	1.4	◎	97.5	1.2	1.5	◎
30	R2	90.7	1.9	1.9	◎	91.4	0.5	1.1	◎	85.9	1.0	1.1	◎	99.4	0.9	1.4	◎
31	R3	83.8	2.2	4.6	◎	80.9	2.8	2.8	◎	68.2	1.8	3.6	↓	99.3	2.2	3.6	◎
32	R40	86.5	3.7	3.7	◎	73.4	4.0	4.0	◎	85.8	1.3	1.4	◎	60.5	1.6	2.9	↓
33	Rhodamine-B	89.6	1.1	1.9	◎	87.7	1.6	1.6	◎	87.6	2.0	2.0	◎	102.3	2.0	2.0	◎
34	SA	88.9	5.8	7.6	◎	88.3	4.9	5.1	◎	92.3	6.8	6.8	◎	81.9	3.4	5.3	◎
35	SOA	97.0	2.2	3.2	◎	83.9	0.6	5.5	◎	101.1	3.5	3.9	◎	90.0	3.6	3.6	◎
36	TBHQ	93.7	7.8	8.6	◎	101.9	9.7	9.7	◎	86.9	6.3	6.3	◎	82.6	8.0	8.4	◎
37	TBZ	88.9	0.9	0.9	◎	87.9	1.1	1.4	◎	87.7	0.8	0.8	◎	100.5	0.5	0.6	◎
38	Y4	86.6	2.3	2.3	◎	85.7	1.8	1.8	◎	86.5	3.9	3.9	◎	92.6	2.2	2.2	◎
39	Y5	83.1	5.9	5.9	◎	73.0	2.8	3.0	◎	88.6	6.2	6.2	◎	22.5	16.8	19.1	↓
					38				38				37				36

◎：目標値を満たした成分 ↑：真度>120% ↓：真度<70% —：精度不良

表 6 妥当性評価試験結果 (味噌, 瓶詰・缶詰)

NO		味噌				瓶詰・缶詰 (ホールトマト)				瓶詰・缶詰 (鯖缶)			
		真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定	真度 %	併行 精度 RSD%	室内 精度 RSD%	判定
1	AK	106.3	2.3	3.4	◎	99.2	2.6	2.6	◎	125.0	1.9	2.9	↑
2	Auramine	100.6	1.4	1.4	◎	91.8	1.8	1.8	◎	102.5	2.2	2.2	◎
3	Azorubine	90.6	5.1	5.1	◎	87.7	3.2	3.2	◎	91.9	7.8	7.8	◎
4	B1	97.0	2.4	2.8	◎	93.0	2.8	2.8	◎	100.2	2.3	2.9	◎
5	B2	95.1	1.8	1.8	◎	93.2	1.7	1.7	◎	93.8	1.8	1.8	◎
6	BA	99.2	5.6	5.6	◎	97.2	3.9	4.7	◎	98.7	2.1	3.5	◎
7	BHA	101.1	2.8	3.2	◎	100.6	3.7	3.9	◎	99.8	1.5	2.7	◎
8	BHT	108.4	9.1	9.1	◎	94.8	2.5	9.5	◎	106.8	4.7	4.7	◎
9	Cyclamate	104.6	2.3	2.3	◎	93.9	2.7	4.2	◎	103.4	3.5	3.5	◎
10	Dehydro	87.3	7.2	8.6	◎	94.5	3.5	5.1	◎	100.0	2.6	2.9	◎
11	FLD	93.2	6.6	6.6	◎	95.9	5.4	5.4	◎	88.5	5.1	5.3	◎
12	G3	97.5	2.1	2.5	◎	92.8	2.7	3.2	◎	99.7	2.0	2.6	◎
13	Green-S	91.2	2.2	2.4	◎	89.2	3.4	3.7	◎	97.8	2.9	5.8	◎
14	IMZ	97.7	1.5	1.7	◎	93.2	2.4	2.4	◎	99.1	2.1	2.1	◎
15	NDGA	119.8	1.6	3.1	◎	142.8	3.8	4.0	↑	18.1	3.2	3.2	↓
16	OG	120.9	2.4	2.6	↑	113.0	4.2	4.7	◎	23.1	4.2	5.1	↓
17	Patent-Blue	93.1	3.8	4.3	◎	92.1	5.8	6.7	◎	99.8	3.2	3.2	◎
18	PG	113.8	3.0	3.0	◎	107.4	5.4	5.4	◎	105.3	1.5	2.8	◎
19	POBA_B	102.9	4.2	4.7	◎	97.1	5.4	5.4	◎	102.1	3.4	3.4	◎
20	POBA_E	102.0	1.8	1.9	◎	91.5	3.7	4.0	◎	95.1	4.7	4.7	◎
21	POBA_IB	95.5	5.3	5.3	◎	94.7	4.0	5.8	◎	104.9	2.9	3.1	◎
22	POBA_IP	88.2	2.1	2.1	◎	93.9	3.4	3.4	◎	96.0	4.1	4.1	◎
23	POBA_P	84.8	2.3	2.5	◎	89.7	2.9	2.9	◎	95.3	1.9	2.8	◎
24	Q-Yellow(di)	92.1	5.2	5.2	◎	86.0	9.7	9.7	◎	100.3	7.7	7.7	◎
25	Q-Yellow(mono)	75.1	2.9	3.9	◎	88.5	5.7	5.7	◎	88.8	4.3	5.3	◎
26	R102	92.0	2.5	2.8	◎	87.6	5.1	5.1	◎	92.2	2.4	2.7	◎
27	R104	88.9	4.7	4.7	◎	95.3	4.6	5.3	◎	96.5	3.6	5.7	◎
28	R105	85.0	4.2	4.2	◎	93.1	1.7	2.7	◎	80.7	4.4	4.4	◎
29	R106	88.7	2.3	2.3	◎	95.5	2.2	2.8	◎	95.1	1.1	1.4	◎
30	R2	97.2	2.0	2.0	◎	95.3	1.3	1.3	◎	94.4	1.5	1.5	◎
31	R3	56.7	2.1	2.7	↓	90.1	5.1	5.1	◎	72.3	2.7	7.6	◎
32	R40	69.1	1.0	2.2	↓	77.2	1.8	3.7	◎	69.5	2.6	4.1	↓
33	Rhodamine-B	99.4	1.2	2.0	◎	94.0	1.8	1.8	◎	103.8	2.5	2.5	◎
34	SA	88.5	1.5	4.3	◎	101.7	4.0	4.0	◎	117.0	5.7	5.7	◎
35	SOA	90.2	3.8	3.8	◎	99.6	4.4	4.4	◎	98.6	2.2	2.2	◎
36	TBHQ	92.4	8.9	8.9	◎	98.6	8.3	8.3	◎	92.2	8.2	8.2	◎
37	TBZ	97.1	1.3	1.5	◎	94.0	1.3	1.4	◎	91.8	1.3	1.4	◎
38	Y4	87.6	2.0	2.0	◎	91.3	1.9	2.3	◎	91.5	1.5	3.3	◎
39	Y5	29.2	6.8	6.8	↓	71.2	4.0	5.4	◎	59.0	10.1	10.1	↓
					35				38				34

◎ : 目標値を満たした成分 ↑ : 真度 > 120% ↓ : 真度 < 70% — : 精度不良