

短報

精度管理における保存料検査の問題点

関戸晴子¹, 山崎直美², 藤本玲子³
市川晴貴⁴, 須賀顕子⁵

Problem of preservation fee inspection in accuracy control

Haruko SEKIDO, Naomi YAMAZAKI
Reiko FUJIMOTO, Haruki ICHIKAWA
and Noriko SUGA

はじめに

平成9年の食品衛生検査施設への業務管理 (GLP) の導入以来, 神奈川県 (横浜市, 川崎市を除く) では検査の信頼性を確保するために内部精度管理を実施している。ところが食品の理化学検査における精度管理 (添加回収試験) において, 添加回収率 (真度) が食品GLPで規定する70~120%の範囲¹⁾に入らないことがある。そこで著者らは, 最も検査依頼件数が多い保存料検査において, 回収率の低下が高い頻度で見られる魚肉練り製品及び食肉製品について, 共通試料を用いた保存料3種 (安息香酸, ソルビン酸, デヒドロ酢酸) の添加回収試験を行い, 内部精度管理における保存料検査の問題点の検証を実施し, 若干の知見を得たので報告する。

方法

今回の添加回収試験を実施するに当たり, 試料採取量, 標準液添加量, 食塩添加量, 検量線の作成方法, 液体クロマトグラフの測定波長及びカラム温度, 注入回数条件を統一し, その他は各参加機関の検査実施標準作業書 (SOP) に従うこととした。

1. 参加機関

理化学部食品成分グループ, 地域調査部小田原分室, 厚木分室, 相模原市衛生試験所, 藤沢市保健所の5機関

1 神奈川県衛生研究所 理化学部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1
2 神奈川県衛生研究所 地域調査部小田原分室
3 神奈川県衛生研究所 地域調査部厚木分室
4 相模原市衛生試験所
5 藤沢市保健所

が参加した。機関によって複数回試験を実施しており, その全ての結果を集計に採用したため, 総回答数は11となった。

2. 試料

食品添加物が無添加であることが確認されている市販の魚肉練り製品 (かまぼこ) 480 g, 食肉製品 (ロースハム) 500 g の2試料を各検査機関に配布した。

3. 試薬

標準溶液として, 安息香酸, ソルビン酸, デヒドロ酢酸各々400 μg/mlに調製したものを各50mlずつスタンダードベッセルに入れ各検査機関に配布した。

4. 試験溶液の調製

試料50 gに各標準溶液を2.5mlずつ添加したものの (0.02g/kg相当: 定量下限値の2倍) を添加回収試料とし, 各機関のSOPに従い水蒸気蒸留法による試験溶液の調製を実施することとした。ただし, 食塩添加量は80 g, 蒸留速度は約19ml/min (25分で470ml蒸留し水で500mlにメスアップする) か各検査機関のSOPの条件のどちらかを選ぶ形とした。操作フローを図1に示した。

かまぼこ, ロースハムともそれぞれ5回ずつ水蒸気蒸留による試験溶液の調製を行うこととした。試験操作ブランクとして試料の代わりに水50 gでも同様の条件で1回添加回収を実施することとした。

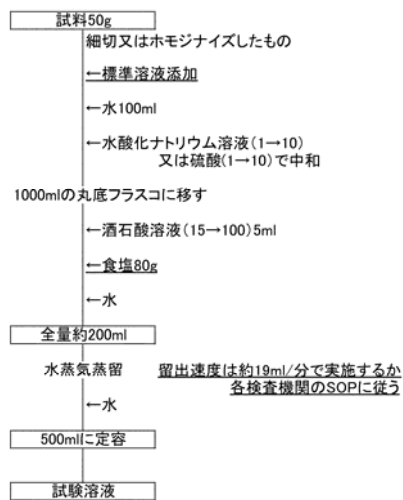


図1 試料溶液の調製法

5. 測定条件

液体クロマトグラフ装置 (HPLC) を用いて, 波長230nm, カラム温度40度とし, その他は各検査機関におけるSOP条件で実施することとした。検量線は, 配布した標準溶液をもとに安息香酸, ソルビン酸, デヒドロ酢酸の3種混合標準液 (20 μg/ml) を作製し, この標準液を正確に希釈して1, 2, 4 μg/mlに調製したものをを用いて, 原点を含まない3点検量線を作成することとした。注入回数は標準溶液, 試験溶液ともに3回繰り返した。

注入とし、3回の測定値の平均を測定結果として採用することとした。

結果及び考察

1. HPLCにおける注入精度

測定機種はA社、W社の2社に分かれたが、検出器はDAD（フォトダイオードアレイ）、使用カラムはODS系4.6×150mm、粒径5μm、移動相はメタノール：アセトニトリル：5mmolクエン酸緩衝液（1:2:7）、注入量20μlとほぼ同じ条件であった。

使用機種による注入精度の違いを見るため3濃度の標準溶液の測定結果について相対標準偏差（%）で表したものを表1に示した。日本薬局方（第15改正）では、HPLCにおける試験の再現性は通常、標準溶液を6回繰り返し注入し、相対標準偏差1.0%以下であることが望まれる²⁾と示されているが、今回は3回繰り返しのデータで再現性を確認した。

安息香酸とデヒドロ酢酸において相対標準偏差が1.0%をこえたものが各1データあったが、それ以外は各機関とも1.0%未満で平均すると0.2%となり、使用したHPLCの20μlにおける注入精度は各機関ともほぼ良好であると思われた。測定機種別における注入精度の顕著な差も

表1 使用機種の違いによる標準溶液測定結果（相対標準偏差%）

安息香酸					
No.	機種	標準液			平均
		1μg/ml	2μg/ml	4μg/ml	
1	W社	0.324	0.081	0.105	0.170
2	W社	0.246	0.199	0.099	0.181
3	W社	0.211	0.051	0.112	0.125
4	W社	1.138	0.497	0.122	0.586
5	W社	0.435	0.106	0.059	0.200
6	A社	0.199	0.204	0.162	0.188
7	A社	0.284	0.222	0.251	0.252
8	A社	0.284	0.222	0.251	0.252
9	A社	0.234	0.246	0.126	0.202
10	A社	0.223	0.232	0.678	0.378
11	A社	0.192	0.120	0.127	0.146

ソルビン酸					
No.	機種	標準液			平均
		1μg/ml	2μg/ml	4μg/ml	
1	W社	0.334	0.326	0.027	0.229
2	W社	0.372	0.505	0.058	0.312
3	W社	0.265	0.209	0.079	0.184
4	W社	0.116	0.610	0.186	0.304
5	W社	0.280	0.231	0.010	0.174
6	A社	0.016	0.071	0.083	0.057
7	A社	0.241	0.158	0.110	0.170
8	A社	0.241	0.158	0.110	0.170
9	A社	0.256	0.179	0.161	0.199
10	A社	0.035	0.032	0.070	0.046
11	A社	0.247	0.064	0.178	0.163

デヒドロ酢酸					
No.	機種	標準液			平均
		1μg/ml	2μg/ml	4μg/ml	
1	W社	0.280	1.090	0.042	0.471
2	W社	0.917	0.203	0.039	0.386
3	W社	0.857	0.483	0.141	0.494
4	W社	0.661	0.490	0.034	0.395
5	W社	0.710	0.201	0.227	0.379
6	A社	0.074	0.358	0.130	0.187
7	A社	0.228	0.067	0.031	0.109
8	A社	0.228	0.067	0.031	0.109
9	A社	0.219	0.095	0.105	0.140
10	A社	0.119	0.028	0.087	0.078
11	A社	0.182	0.006	0.171	0.120

認められなかった。以上のことから各機関では、使用しているHPLCにおいて十分な保守管理がなされていることが伺われた。

2. 試料調製

5機関とも水蒸気蒸留法による試験溶液の調製をSOPに採用していた。各機関とも公定法³⁾に準じた操作を実施しており、ほとんどの操作に相違は見られなかったが、蒸留中フラスコ内の液量に変化しないよう補助加熱をしていた機関が2カ所あった。また、蒸留速度は10.4~19.6ml/minの間で実施されていた。蒸留速度と回収率の関係を図2に示した。補助加熱の有無や蒸留速度の違いによる添加回収率の顕著な差は認められなかった。

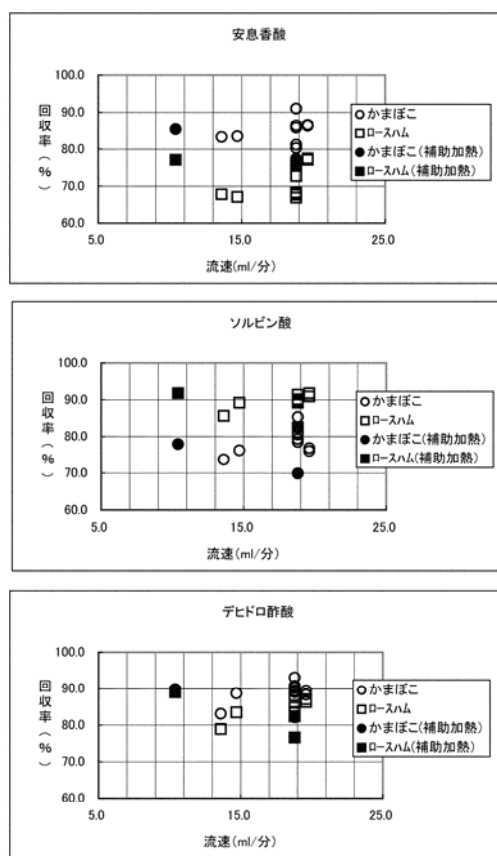


図2 蒸留速度と回収率

3. 添加回収

各機関における検量線の相関係数はすべて0.9995以上（0.99981~1.00000）と良好であった。また、水50gに同様の条件で添加、水蒸気蒸留をした試験操作ブランクは、安息香酸平均93.97%（90.07~100.09）、ソルビン酸平均90.34%（85.91~98.97）、デヒドロ酢酸平均96.51%（93.72~99.61）と高い回収率を示した。以上のことから、各機関とも標準溶液の希釈操作、試験溶液の調製等の過程において技術的に安定した操作が行われていることが推測された。

得られたデータ数はかまぼこ53件（1機関で2件欠損

表2-1 かまぼこを用いた場合の保存料3種の回収率 (%)

	安息香酸	ソルビン酸	デヒドロ酢酸
データ数	53	53	53
平均値	84.35	77.87	88.80
最小値	71.31	66.99	80.73
最大値	92.56	86.37	93.57
標準偏差	4.350	4.090	3.090
変動係数	5.157	5.252	3.480

表2-2 ロースハムを用いた場合の保存料3種の回収率 (%)

	安息香酸	ソルビン酸	デヒドロ酢酸
データ数	55	55	55
平均値	71.40	89.25	83.42
最小値	59.98	80.49	73.83
最大値	80.03	92.64	90.58
標準偏差	5.260	3.140	3.660
変動係数	7.367	3.518	4.387

値を生じた), ロースハム55件で回収率の平均値, 標準偏差, 変動係数は表2-1~表2-2のとおりである. ロースハムでは安息香酸の回収率が70%未満となったデータは53件中25件で47%, かまぼこではソルビン酸の回収率が70%未満となったデータは53件中3件で6%認められ, その他は回収率が70%未満となったものはなく, GLPで規定する70~120%の範囲内であった. デヒドロ酢酸は, どちらの検体においても差は見られず良好な回収率(80%以上)が得られた. かまぼことロースハムの回収率の分布を図3に示した. かまぼこではソルビン酸が,

(0.02g/kg相当: 定量下限値の2倍)に食塩添加量を100gとしたものについて, 添加回収試験を実施した. その結果を表3に示した.

実施回数は各機関n=1であるのでマトリックスの有無の傾向を見る形となったが, 試料を50gから20gに減少し食塩添加量を100gとしたものについて, 実施した全ての機関において回収率が上昇する傾向が見られた. 食塩添加量を80gから100gに増量しただけのものは回収率にあまり変化が見られなかった. この結果から, 試料採取量を減少し食塩添加量を増量することによって, 70%を下回らない回収率が得られる可能性が示唆された.

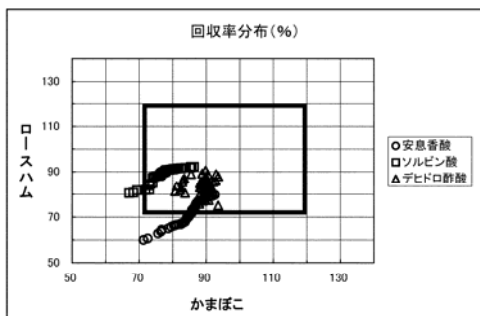


図3 回収率分布

まとめ

今回の結果から, 魚肉練り製品や食肉製品では現在SOPに採用している試験溶液の調製方法では保存料の項目によっては添加回収率が70%を下回ることが明らかとなった. しかしながら試料採取量や添加する食塩の量等の条件を見直すことにより回収率が改善される傾向が見られたことから, 今後試験溶液の調製方法を十分に検討することにより安定した回収率が得られるものと考えられた.

表3 添加回収結果 (回収率%)

試料	採取量(g)	食塩添加量(g)	データ数	安息香酸		ソルビン酸		デヒドロ酢酸	
				平均値	変動係数	平均値	変動係数	平均値	変動係数
かまぼこ	50	80	53	84.35	5.157	77.87	5.252	88.80	3.480
		100	9	86.50	4.871	78.24	5.627	88.97	3.655
		20	7	93.86	3.389	86.31	2.851	94.08	2.971
ロースハム	50	80	55	71.40	7.367	89.25	3.518	83.42	4.387
		100	8	76.30	4.919	90.54	4.684	84.92	5.531
		20	8	90.67	1.237	94.05	2.184	93.32	3.540

ロースハムでは安息香酸が回収率70%を下回る傾向が顕著に見られた. 120%を超えるものは両検体とも安息香酸, ソルビン酸, デヒドロ酢酸の3項目において1件も認められなかった.

以上のことから現在各機関で採用している保存料3種の試験溶液の調製方法は, 検体によって添加回収率にばらつきがでることが認められ, 項目によっては回収率が70%を下回る可能性が高いことも示唆された.

試験溶液調製におけるマトリックスの影響を見るため, 配布した試料が残っている機関において, 食塩添加量を80gから100gに増量したものと試料採取量を50gから20gに減少させ各標準溶液を1mlずつ添加したもの

本研究は, 平成18年度食品GLP精度管理理化学部会の事業の一環として実施したものである.

(平成19年7月20日受理)

参考文献

- 1) 「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」: 厚生省生活衛生局食品保健課長通知, 衛食第117号, (平成9年4月1日)
- 2) 第15改正日本薬局方解説書, pp.B-101-B-130, 廣川書店, 東京(2006)
- 3) 厚生労働省監修, 食品衛生検査指針, 食品添加物編, pp.12-20, 社団法人日本食品衛生協会, 東京(2003)