衛生化学
EISEI KAGAKU
29(5) 329-332 (1983)

ガスクロマトグラフィーによる乳製品中の第三級
ブチルヒドロキノン (TBHQ) の分析法

竹葉和江, 松本昌雄
東京都立衛生研究所

Gas Chromatographic Determination of *Tertiary-*
Butylhydroquinone (TBHQ) in Dairy Products

KAZUE TAKEBA and MASAO MATSUMOTO
Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health,
24-1, Hyakunincho 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

(Received May 19, 1983)

We studied whether gas chromatographic method reported by Toyoda *et al.* for the analysis of general foods was also applicable to the analysis of *tertiary*-butylhydroquinone (TBHQ) in dairy products. That this method was revealed to be applicable to the analysis of dairy products, except for the use of OV-210 column instead of DEGS column, which required about 1/3 less time for the analysis. The recovery rates of TBHQ from various dairy products under the above conditions was 77—95%, and the limit of detection was about 0.01 g/kg. The method also extracted portions of BHT, BHA, SoA and DHA used as food additives in dairy products, separately from TBHQ and therefore they were quite distinguishable.

We also applied this method to 160 samples of dairy products available in the market (14 samples of processed cheese, 116 of natural cheese, 13 of butter and 17 of products containing milk and dairy products as their main ingredients), but TBHQ was not detected in any of the samples.

Keywords — *tertiary*-butylhydroquinone (TBHQ); dairy product; OV-210 column; processed cheese; natural cheese; butter

はじめに

第三級ブチルヒドロキノン (TBHQ) は、高度不飽和脂肪酸を多く含有する植物性油脂に効果的な酸化防止剤として、アメリカで開発された食品添加物である。現在、アメリカなどの植物性油脂生産国で、食用油脂の酸化防止剤として、その使用が許可されている¹⁾が、我国で消費される植物油脂の大半が、輸入に依存していることから、²⁾ TBHQ を含んだ植物性油脂およびそれを使用した乳製品が市場に出廻ることが懸念される。

食品中の TBHQ の分析方法として、豊田らは一般食品、中里らは食用油脂を対象に、いずれもガスクロマトグラフィー (GC) による分析法を報告しているが、^{3,4)} 乳製品を対象とした分析法は、まだ知られていない。そこ

で、豊田らの方法が乳製品にも適用できるかどうかを検討し、併せて市販乳製品中の TBHQ の調査を試みたので、これらの結果を報告する。

実験方法

1. 試薬 TBHQ 標準溶液: TBHQ 100 mg をはかり、酢酸エチルで 100 ml とした。この溶液を適宜希釈して用いた。

その他試薬は、すべて和光純薬工業㈱の特級を使用した。

2. 装置および測定条件——1) ホモゲナイザー——ULTRA TURRAX® TP 18—10 (Janke & Kunkel KG IKA-WERK 西ドイツ)。

2) GC——島津 GC-5A, 水素炎イオン検出器付。

3) GC用カラム—a) 5% DEGS+0.5% H_3PO_4 , Gaschrom Q, 80—100 メッシュ, 3 mm×2 m ガラスカラム, カラム温度196—210°C, 注入口温度230—250°C, 検出器温度230—250°C, 窒素ガス流量 35—120 ml/min. b) 5% OV-210, Gaschrom Q, 80—100 メッシュ, 3 mm×1.5 m ガラスカラム. カラム温度 150°C, 注入口温度250°C, 検出器温度250°C, 窒素ガス流量 50 ml/min.

3. 試験溶液の調製 1) 粉乳, ナチュラルチーズ, プロセスチーズおよび乳を主原料とする食品(乳主原)——試料5gを200 ml 容量の遠沈管にとり, 塩化ナトリウム 3g および酢酸エチル 100 ml を加え, ULTRA TURRAX® で均質化した後, 2000 rpm, 5 分間遠心分離して酢酸エチル層を分取した. 更に下層に酢酸エチル 100 ml 加え, 上記操作を繰り返し, 酢酸エチル層を合わせてろ過し, ろ液を60°C水浴上で減圧乾固した. 残渣を *n*-ヘキサン:酢酸エチル (99:1) 混液 25 ml に溶解し, 200 ml 容量分液ロートに移し, これに2%塩化ナトリウム 100 ml 加えて5分間振とう抽出し, 水層 500 ml を容量分液ロートに分取した. 更に2回この操作を繰り返して, 全水層を合わせた. この水層に *n*-ヘキサン:酢酸エチル (1:1) 混液 150 ml を加え, 5分間振とう抽出後, 有機溶媒層を分取した. この操作を更に1回行ない, 有機溶媒層を合わせて無水硫酸ナトリウムで脱水した後, 40°C水浴上で減圧乾固した. この残渣を酢酸エチル 5 ml に溶解し, これをGC試験溶液とした.

2) バターおよびマーガリン——試料5gを100ml 容量ビーカーにはかり, *n*-ヘキサン:酢酸エチル (99:1) 混液 25 ml に溶解した. これを200 ml 容量分液ロートに移し, 以後の操作は, 前項 1) と同様に行なった.

結果および考察

1. 測定条件の検討

豊田らの報告と同一条件で TBHQ の GC 分析を行なったところ, その保持時間 (t_R) は60分以上であった. そこで, 分析時間を短縮する目的で, カラム温度210°C, 窒素流量を 120 ml/min に設定して測定したところ, t_R は20分に短縮された. しかし, 210°C は DEGS カラムの使用限界温度に近いので, DEGS カラムの代りに OV-210 カラムを用いて (カラム温度150°C, 窒素流量 50 ml/min) 測定を試みた. その結果, t_R は6分で, DEGS カラムの場合の約1/3に短縮され, かつ, ピークもシャープになった. したがって, 以後は OV-210 カラムを使用して測定することにした.

2. 検量線

TBHQ 標準溶液を希釈し, 新しく設定した GC 測定条件 (カラム温度 150°C, 窒素流量 50 ml/min) で検量

Fig. 1. Calibration Curve of TBHQ

線を作成した. Fig. 1 に示すように, TBHQ の注入量 0.5—2.5 μ g の範囲で原点を通る直線であった.

3. 添加回収試験

それぞれ5検体のバター, マーガリン, 全粉乳, ナチュラルチーズ, プロセスチーズ, および乳主原(脂肪分約10%のもの, および約40%のもの)について, TBHQ を 0.1 g/kg および 1.0 g/kg の濃度に添加し, 回収試験を行なった. その結果を Table I に示した.

各種乳製品およびマーガリンの添加回収率は, 添加量 0.1 g/kg の場合, 77—92% の範囲で, 平均値は 86% であった. 添加量 1.0 g/kg の場合は, 83—95% の範囲で, 平均値は 90% であった. バターおよびマーガリンの回収率は, 豊田らの報告とほぼ同様の値であった. また, 変動係数は, 添加量 0.1 g/kg の場合, 1—6% の範囲で, 平均値は 4%, 添加量 1.0 g/kg の場合は, 2—6% の範囲で, 平均値は 5% であった.

なお, 乳製品中の TBHQ の検出限界は, 約 0.01 g/kg であった.

4. その他の食品添加物の影響

現在, 乳製品に使用が許可されているジブチルヒドロキソトルエン (BHT), ブチルヒドロキシアニソール (BHA) などの酸化防止剤およびソルビン酸 (SoA), デヒドロ酢酸 (DHA) などの保存料は, 本方法でいずれも一部抽出される. Fig. 2 は, OV-210 カラムを使用した場合の TBHQ, BHT, BHA, SoA および DHA のクロマトグラムを示したものである.

いずれも約10分以内で分離しており, それぞれの区別

TABLE I. Recovery Rate and Reproducibility of TBHQ Experimentally Added to Dairy Products and Margarine

Sample	TBHQ added (g/kg)	Recovery ^{a)} (%)	SD ^{b)}	CV ^{c)} (%)
Butter	0.1	92.1	4.1	4.5
	1.0	92.2	4.0	4.3
Margarine	0.1	83.8	2.0	2.4
	1.0	95.2	1.8	1.9
Whole milk powder	0.1	83.5	3.8	4.6
	1.0	88.5	5.7	6.4
Natural cheese	0.1	87.5	1.0	1.1
	1.0	91.4	2.3	2.5
Processed cheese	0.1	87.6	5.0	5.7
	1.0	90.5	5.1	5.6
Products containing milk & dairy products as their main ingredients (fat 10%)	0.1	76.5	4.0	5.2
	1.0	87.5	5.0	5.7
Products containing milk & dairy products as their main ingredients (fat 40%)	0.1	88.5	2.8	3.2
	1.0	82.8	4.5	5.4

a) Average of 5 samples.

b) Standard deviation.

c) Coefficient of variation.

Fig. 2. Gas Chromatogram of SoA, BHT, BHA, TBHQ and DHA

TABLE II. Recovery Rate and Relative Retention Times of SoA, BHT, BHA, TBHQ and DHA

Food additives	Recovery (%)	RRT ^{a)}	
		OV-210 column	DEGS column
SoA	36.7	0.15	0.05
BHT	3.5	0.44	0.02
BHA	18.0	0.62	0.13
TBHQ	-	1.00	1.00
DHA	84.2	1.39	0.08

a) Retention times relative to TBHQ.

が容易であった。これらの食品添加物の抽出率およびTBHQに対する相対保持時間(RRT)は、Table IIに示したとおりである。

なお、参考のため、これらの食品添加物の DEGS カラムによるクロマトグラムを Fig. 3 に示した。

5. 市販乳製品の試験結果

この方法の応用試験として、市販の乳製品 160 検体について、TBHQ の検出を試みた。これらの乳製品は、1981—1982 年に都内で販売されていたもので、内訳は Table III に示したようにバター 13 検体、輸入ナチュラルチーズ 116 検体、プロセスチーズ 14 検体および乳主原

Fig. 3. Gas Chromatogram of SoA, BHT, BHA, TBHQ and DHA

TABLE III. List of the Dairy Product Tested

Dairy product	Number of Sample	TBHQ
Processed cheese	14	nd ^{a)}
Natural cheese	116	nd
Butter	13	nd
Products containig milk & dairy products as their main ingredients	17	nd

a) nd : not detected.

17検体であった。

その結果、いずれの乳製品からも TBHQ が検出されなかったことから、現在のところ TBHQ の混入したものは、市場にほとんど出廻っていないと考えられる。

ま と め

乳製品中の TBHQ の分析方法として、一般食品について豊田らが報告した方法が、適用できるかどうか検討した。その結果、抽出方法については、豊田らの方法が十分乳製品にも適用できることがわかったが、GC による測定では、豊田らの使用した DEGS カラムより、OV-210 カラムを使用した方が、分析時間が約 1/3 で済むことがわかった。この条件による各種乳製品からの添加回収率は、77—95% の範囲で、検出限界は約 0.01 g/kg であった。

また、BHT, BHA, SoA および DHA などの食品添加物が含まれている場合、本分析法では、それぞれの一部が抽出されるが、TBHQ とは分離し、明確に区別できた。

本分析法の応用例として、市販の乳製品 160 検体について、TBHQ の検出を試みたが、いずれからも検出されなかった。

引 用 文 献

- 1) E.R. Sherwin, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **53**, 430 (1976).
- 2) 佐藤充彦, 油化学, **27**, 704 (1978).
- 3) M. Toyoda, S. Ogawa, Y. Tonogai, Y. Ito, M. Iwaida, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1135 (1980).
- 4) 中里光男, 冠 政光, 有賀孝成, 藤沼賢司, 直井家寿太, 食衛試, **21**, 64 (1980); 中里光男, 冠 政光, 有賀孝成, 藤沼賢司, 直井家寿太, 食衛試, **22**, 239 (1981).