報 文

光化学反応を利用した HPLC による食品中の酢酸 *dl*- α -トコフェロール
および *dl*- α -トコフェロールの定量

(平成 16 年 6 月 29 日受理)

寺田久屋^{*,†} 田村征男^{*}Determination of *dl*- α -Tocopherol Acetate and *dl*- α -Tocopherol in Foods by
HPLC Using Post-column Photochemical ReactionHisaya TERADA[†] and Yukio TAMURA(Nagoya City Public Health Research Institute: 1-11, Hagiya-cho,
Mizuho-ku, Nagoya 467-8615, Japan, [†]Corresponding author)

A reliable analytical method for the simultaneous determination of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol in foods was established by HPLC using post-column photochemical reaction with UV and fluorescence detection. For low-fat food such as fruit juice and vegetable sauce, the tocopherols were extracted with methanol containing 0.1% ascorbic acid and the extract solution was injected into the HPLC. For fatty foods such as butter and margarine, the tocopherols were extracted with a mixed solvent of acetonitrile-2-propanol (9:1) containing ascorbic acid. The extract was cleaned up using a Sep Pak plus C₁₈ cartridge and the eluent from the cartridge was injected into the HPLC. The peaks corresponding to tocopherols on the chromatogram were confirmed by comparing their UV spectra with those of the standard mixture at lamp-on and lamp-off of the photochemical reactor.

The recoveries of tocopherols from low-fat foods (orange juice and barbecue sauce) fortified at levels of 10 and 100 μ g/kg each were 88.3 to 105.8% (RSD 0.5 to 6.0%) and those from the fatty foods (peanut butter and margarine) fortified at 100 μ g/kg each were 57.1 to 88.3% (RSD 3.0 to 6.4%). The determination limits corresponded to 10 μ g/kg of the tocopherols in the low-fat foods and 20 μ g/kg in the fatty foods.

(Received June 29, 2004)

Key words: 酢酸 *dl*- α -トコフェロール *dl*- α -tocopherol acetate; *dl*- α -トコフェロール *dl*- α -tocopherol; 食品 foods; 高速液体クロマトグラフィー HPLC; 光化学反応 photochemical reaction

緒 言

日本では、*dl*- α -トコフェロールは酸化防止の目的に使用を限定して食品添加物に指定されているが、酢酸 *dl*- α -トコフェロールの使用は認められていない。近年、酢酸 *dl*- α -トコフェロールを栄養強化あるいは酸化防止の目的で使用した食品が輸入されており^{*1}、その含有検査を求められることがある。酢酸トコフェロールの分析法としては、比色法¹⁾、GC 法^{2), 3)}、HPLC 法^{4)~9)}などが報告されているが、その多くは分析対象が化粧品^{4), 9)}、栄養補助食品^{5)~8)}などに限定された方法であり、一般の食品を対象とした分析法はほとんどない。ところで、光化学反応を利用した HPLC は、分析カラムと検出器をつなぐ配管の途

中に紫外線照射装置(フォトケミカルリアクター)を挿入し、分析カラムで分離された分析目的物質にオンラインで紫外線照射して光化学反応を発生させ、その反応生成物を検出する手法である。光化学反応により吸光度や蛍光強度が増大することを利用して医薬品^{10), 11)}やアフラトキシン¹²⁾の分析に応用されている。そこで、トコフェロール類が紫外線で分解する¹³⁾ことに注目して、食品中の酢酸 *dl*- α -トコフェロールと *dl*- α -トコフェロールの定量法の開発に、光化学反応を利用した HPLC を適用する方法を検討したので報告する。

実験方法

1. 試 料

名古屋市内で購入したオレンジジュース、バーベキューソース、ピーナッツバターおよびマーガリンを用いた。

[†] 連絡先^{*} 名古屋市衛生研究所: 〒467-8615 名古屋市瑞穂区萩山町 1-11^{*1} <http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>

2. 試薬および標準品

酢酸 *dl*- α -トコフェロール: 和光純薬工業(株)製試薬特級, *dl*- α -トコフェロール: 和光純薬工業(株)製試薬一級.

0.1% アスコルビン酸溶液: L(+)-アスコルビン酸 100 mg に水を加えて 100 mL とした.

アスコルビン酸含有メタノール: L(+)-アスコルビン酸 100 mg にメタノールを加えて 100 mL とした.

アスコルビン酸含有アセトニトリル-2-プロパノール混液 (9:1): L(+)-アスコルビン酸 100 mg にアセトニトリル 90 mL および 2-プロパノール 10 mL を加え振とう放置後, 上澄みを使用した.

アスコルビン酸含有 70% メタノール溶液: L(+)-アスコルビン酸 100 mg にメタノール 70 mL および水を加えて 100 mL とした.

標準液: 酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロール各 100 mg を正確にひょう量し, エタノールを加えて溶解し全量 20 mL とした. この溶液を保存用標準原液とし, 各保存用標準原液 10 mL を混合したものを保存用標準混液とした (この液 1 mL は, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロール各 2500 μ g を含む). 保存用標準混液 2 mL にアスコルビン酸含有メタノールを加え正確に 25 mL とし (希釈標準混液), さらにこの液 5 mL にアスコルビン酸含有メタノールを加え正確に 50 mL としたものを標準混液とした (この液 1 mL は, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロール各 20 μ g を含む).

水: Milli-Q 純水製造装置 (Millipore 社製) により精製した超純水

固相抽出カートリッジ: Sep Pak Plus C₁₈, Waters 社製

前処理用フィルター: 25 mm Millex LH (親水性 PTFE 0.45 μ m), Millipore 社製

3. 装置

高速液体クロマトグラフ: LC-10AD ポンプ, SPD-M 10A フォトダイオードアレー検出器 (PDA 検出器), RF-10A 蛍光検出器 (FL 検出器) および CLASS LC-10 ワークステーション, 以上 (株)島津製作所製

フォトケミカルリアクター: 自作 (波長 254 nm の 6 W 殺菌灯に内径 0.25 mm $\times$ 6 m のテフロンチューブを巻いたもの)

超音波洗浄器: B-42, BRANSON 社製

4. HPLC 測定条件

カラム: YMC-PAK ODS-AM12S 05-1546 WT (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm), 移動相: アセトニトリル-2-プロパノール (93:7), 流速: 1.0 mL/min, 検出: PDA 検出器 (検出波長 210~450 nm, 定量波長 285 nm), FL 検出器 (励起波長 285 nm, 蛍光波長 330 nm, 感度 LOW $\times$ 4).

5. 試験液の調製

低脂肪食品: 試料約 2.5 g を精密にひょう量し, 50 mL のメスフラスコに入れ, アスコルビン酸含有メタノール 40 mL を加え, 超音波を用いて 10 分間抽出を行った後, アスコルビン酸含有メタノールを加えて 50 mL に定容した. 次に, 前処理フィルターでろ過し, ろ液を試験液とした.

油脂性食品: 試料約 1g を精密にひょう量し, 50 mL の遠沈管に入れ, アスコルビン酸含有アセトニトリル-2-プロパノール混液 (9:1) 10 mL を加え, 超音波を用いて 10 分間抽出を行った後, 遠心分離して上澄液を分取した. 残留物にアスコルビン酸含有アセトニトリル-2-プロパノール混液 (9:1) 10 mL を加え, 同様の操作を繰り返し, 上澄液を先の上澄液に合わせ, 0.1% アスコルビン酸溶液 10 mL を加え, 振とうし, 使用前にメタノール 10 mL, 水 10 mL および 0.1% アスコルビン酸溶液 2 mL の順で洗浄した Sep Pak Plus C₁₈ に注入した. 次いでアスコルビン酸含有 70% メタノール溶液 10 mL を通して洗浄し, アスコルビン酸含有メタノールで溶出して全量を正確に 10 mL としたものを試験液とした.

6. 検量線の作成

標準混液 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 および 15 mL にアスコルビン酸含有メタノールを加えて 20 mL とし, 検量線用標準液とした. 検量線用標準液および標準混液の各 100 μ L を HPLC に注入し, フォトケミカルリアクターのランプを点灯 (ON) および消灯 (OFF) して測定した. 各検出器により得られたクロマトグラムのピーク面積から絶対検量線法により各測定条件における検量線を作成した.

7. 定量および確認

試験液 100 μ L を HPLC に注入し, フォトケミカルリアクター ON および OFF で測定し, 得られたクロマトグラムのピーク面積から各検量線を用いて定量した. 各測定条件による定量値がすべて一致し, ピークの UV 吸収スペクトルがフォトケミカルリアクター ON, OFF によって標準品のピークと同様に変化することを確認した.

結果および考察

1. HPLC 分析条件の検討

分析カラムには, 「衛生試験法・注解 2000」⁹⁾ で採用されている ODS 系の逆相分配カラムを用い, メタノール-水系およびアセトニトリル-2-プロパノール系の移動相を用いて酢酸 *dl*- α -トコフェロールの分離条件を検討した. メタノール-水系の移動相は, アセトニトリル-2-プロパノール系に比較して, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールと *dl*- α -トコフェロールとの分離が良好であった. しかし, 油脂性食品に適用したところ UV 検出において共存成分のピークが酢酸 *dl*- α -トコフェロールのピークと重なり, メタノールと水の比率を変えても分離が困難であった. 一方, アセトニトリル-2-プロパノール系の移動相では, 妨害ピークを回避して定量可能であった. そこで, *dl*- α -トコフェ

Fig. 1. HPLC system using a photochemical reactor for the determination of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol

Fig. 2. UV absorption spectra of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol at lamp-on and lamp-off of the photochemical reactor
—: lamp OFF,: lamp ON

ロールが 11.1 分, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールが 12.1 分に溶出するアセトニトリル-2-プロパノール (93:7) を移動相として採用した。

2. 検出条件の検討

dl- α -トコフェロールの検出は一般に FL 検出器が用いられている¹⁴⁾。一方, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールは FL 検出器では十分な感度が得られないため, 専ら UV 検出器が用いられている⁹⁾。そこで, PDA 検出器と FL 検出器を直列に接続し, 2 台の検出器で同時定量する方法を検討した。さらにトコフェロール類が紫外線で分解することに注目して Fig. 1 に示すようなフォトケミカルリアクターを利用したポストカラム反応システムを試みた。

フォトケミカルリアクターは, 波長 254 nm の殺菌灯 (6 W) に内径 0.25 mm のテフロンチューブ 6 m を巻いたものを自作した。分析カラムで分離された酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロールは, フォトケミカルリアクター ON の場合, 殺菌灯に巻いたテフロンチューブを通過する間に紫外線に曝露されて光化学反応を起こし, その反応生成物を各検出器で定量する。一方, OFF の場合は光化学反応を起こすことなくフォトケミカルリアクターを通過し, 各検出器では未反応物を定量する。フォトケミカルリアクター ON および OFF での移動相中における *dl*- α -トコフェロールおよび酢酸 *dl*- α -トコフェロールの UV 吸収スペクトルを Fig. 2 に, 蛍光スペクトルを Fig. 3 に示した。

このシステムを利用することにより, 次のような利点を得られた。①分析カラムと検出器の間の流路にフォトケミカルリアクターを挿入するだけで HPLC 装置を改造する必要がなく操作が簡便である。②フォトケミカルリアク

Fig. 3. Fluorescence spectra of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol at lamp-on and lamp-off of the photochemical reactor
Excitation: 285 nm, Emission: 300–450 nm
—: lamp OFF,: lamp ON

ター ON および OFF によって光反応生成物および未反応物質を定量することができるため定性的にも信頼性の高い結果が得られる。③FL 検出器を使用する場合, フォトケミカルリアクター ON で酢酸 *dl*- α -トコフェロールの蛍光強度が増加し, 約 3 倍の検出感度が得られる。一方, *dl*- α -トコフェロールの感度は 1/3 に減少して両物質の感度が同程度となり同時定量におけるピークの重複による妨害を軽減できる。

Fig. 4 にフォトケミカルリアクター ON および OFF における標準品のクロマトグラムを示した。

3. 検量線

UV 検出では, フォトケミカルリアクター ON および OFF のいずれにおいても, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロールともに 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で原点を通る直線性が得られた。蛍光検出では, *dl*- α -トコフェロールが 0.05~20 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で, 酢酸 *dl*- α -トコフェロールはフォトケミカルリアクター ON の場合 0.05~20 $\mu\text{g/mL}$, OFF の場合 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ で原点を通る

直線性が得られた (Fig. 5).

4. 抽出条件の検討

試料からの酢酸 *dl*- α -トコフェロールの抽出溶媒として「衛生試験法・注解 2000」⁹⁾では、試料によりメタノールのほか、アセトニトリル-2-プロパノール混液およびヘキサン-2-プロパノール混液を使い分けている。果汁 100% のオレンジジュースに酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロールの標準品を添加した試料を、メタノールおよびアセトニトリル-2-プロパノール (9:1) で抽出し、回収率およびクロマトグラムを比較した。その結果、メタノールを用いた場合は回収率、クロマトグラムともに良好な結果が得られたが、アセトニトリル-2-プロパノール (9:1) では、回収率が 60% に低下し、蛍光検出のクロマトグラム上に大きな妨害ピークが出現した。そこで、ジュース類のような低脂肪食品に対しては、抽出溶媒としてメタノールを採用した。一方、マーガリンのような油脂性食品は、メタノールでは十分な回収率が得られなかった。そこで、アセトニトリル-2-プロパノール混液お

よびヘキサン-2-プロパノール混液を用いて検討した。ヘキサン-2-プロパノール (1:1) で抽出し、抽出液を直接 HPLC に注入する方法では、試験液を 100 μ L 注入すると試験液中の溶媒により分離が阻害されてピーク形状が著しく劣化し、定量が困難であった。10 μ L の注入では良好なピークが得られたが、十分な検出感度を得ることができなかった。さらに、注入後 2 時間以上にわたり多数のピークが出現して 2 回目以降の注入が妨げられた。アセトニトリル-2-プロパノール混液を用いた場合は、100 μ L 注入でもピーク形状の劣化は認められなかったが、酢酸 *dl*- α -トコフェロールが溶出した後に多数のピークが出現し、ヘキサン-2-プロパノール混液抽出と同様に 2 回目以降の注入が妨げられた。そこで、固相抽出カートリッジによる精製法を検討した。なお、使用する溶媒類には操作中における酢酸 *dl*- α -トコフェロールおよび *dl*- α -トコフェロールの酸化を防止する目的でアスコルビン酸を添加した。

5. 固相抽出カートリッジによる精製法の検討

試料として標準品を添加したピーナッツバターを用い、固相抽出カートリッジの充填剤として順相分配系の Sep Pak シリカ, BAKERBOND spe NH₂ および逆相分配系の Sep Pak Plus C₁₈ を用いて検討した。順相分配系の Sep Pak シリカおよび BAKERBOND spe NH₂ では、妨害成分が十分に除去できなかった。一方、Sep Pak Plus C₁₈ は、30 分以降に溶出する妨害成分が効率よく除去できた。そこで、固相抽出カートリッジとして Sep Pak Plus C₁₈ を選択した。抽出溶媒として水に可溶なアセトニトリル-2-プロパノール混液を用い、Sep Pak Plus C₁₈ に注入時に 0.1% アスコルビン酸溶液を加えて溶媒濃度を低下して *dl*- α -トコフェロールおよび酢酸 *dl*- α -トコフェロールをカートリッジ内に強く保持させ、アスコルビン酸含有 70% メタノール溶液で洗浄して妨害物質を除去した後、アスコルビン酸含有メタノールで溶出して試験液とした。

6. 添加回収試験

低脂肪食品としてオレンジジュースおよびバーベキューソース、油脂性食品としてピーナッツバターおよびマーガ

Fig. 4. Liquid chromatogram of standard mixture at lamp-on and lamp-off of the photochemical reactor

Operating conditions: column, YMC-PAK ODS-AM12S05-1546WT (4.6 mm i.d.×50 mm); mobile phase, acetonitrile-2-propanol (93:7); column temperature, 40°C; flow rate, 1.0 mL/min

(A): UV detection (285 nm), (B): Fluorescence detection (ex 285 nm, em 330 nm)

Peaks: 1; *dl*- α -tocopherol (10 μ g/mL), 2; *dl*- α -tocopherol acetate (10 μ g/mL)

Fig. 5. Calibration curves of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol by UV detection and fluorescence detection

(A): UV detection (285 nm), (B): fluorescence detection (ex 285 nm, em 330 nm)

●: *dl*- α -tocopherol, ▲: *dl*- α -tocopherol acetate

—: photochemical reactor lamp OFF,: photochemical reactor lamp ON

Table 1. Recoveries of *dl*- α -Tocopherol Acetate in Foods

	Added ($\mu\text{g/g}$)	Blank ($\mu\text{g/g}$)				Found* ¹ ($\mu\text{g/g}$)				Recovery* ¹ (%)				RSD (%)			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Orange juice	10	nd	nd	nd	nd	9.74	9.54	9.81	9.93	97.4	95.4	98.1	99.3	2.7	1.6	2.2	2.3
	100	nd	nd	nd	nd	98.2	97.2	98.7	98.6	98.2	97.2	98.7	98.6	2.7	3.1	2.5	1.4
Barbecue sauce	10	nd	nd	nd	nd	8.83	9.37	8.94	9.36	88.3	93.7	89.4	93.6	6.0	2.8	2.4	3.5
	100	nd	nd	nd	nd	101.9	101.5	99.9	98.1	101.9	101.5	99.9	98.1	2.0	1.4	1.2	1.4
Peanut butter	100	nd	nd	nd	nd	86.5	87.5	88.1	88.3	86.5	87.5	88.1	88.3	6.4	6.0	6.0	5.5
Margarine	100	nd	nd	nd	nd	57.1	56.7	63.3	61.2	57.1	56.7	63.3	61.2	3.5	3.8	3.2	3.3

A: UV detection (285 nm), photochemical reactor lamp OFF.

B: UV detection (285 nm), photochemical reactor lamp ON

C: Fluorescence detection (ex 285 nm, em 330 nm), photochemical reactor lamp OFF.

D: Fluorescence detection (ex 285 nm, em 330 nm), photochemical reactor lamp ON.

*¹: Average of five determinations.**Table 2.** Recoveries of *dl*- α -Tocopherol in Foods

	Added ($\mu\text{g/g}$)	Blank ($\mu\text{g/g}$)				Found* ¹ ($\mu\text{g/g}$)				Recovery* ¹ (%)				RSD (%)			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Orange juice	10	3.70	3.90	2.87	2.90	13.70	13.87	12.64	12.40	100.0	99.8	97.7	95.0	3.1	1.9	0.5	2.1
	100	3.70	3.90	2.87	2.90	99.6	98.3	101.1	100.6	95.9	94.4	98.2	97.7	1.2	1.8	0.8	2.5
Barbecue sauce	10	2.98	3.16	3.31	3.29	12.88	12.61	13.16	12.63	97.3	94.6	98.5	93.4	4.1	1.6	1.0	1.8
	100	2.98	3.16	3.31	3.29	108.5	109.0	102.7	99.1	105.5	105.8	99.4	95.8	1.1	1.3	0.6	1.5
Peanut butter	100	nd	nd	nd	nd	85.6	86.9	87.4	85.7	85.6	86.9	88.1	85.7	3.8	4.1	3.9	5.1
Margarine	100	43.2	43.1	47.0	49.6	111.7	102.9	106.7	107.1	68.5	59.8	59.7	57.5	3.9	4.9	3.0	4.6

A, B, C, D: see Table 1.

*¹: Average of five determinations.

リンを用いて添加回収試験を行った。各測定条件で定量した結果を Table 1 および 2 に示した。

フォトケミカルリアクター ON および OFF において PDA 検出器, FL 検出器による各定量値は, いずれの食品についても一致した値を示した。オレンジジュースおよびバーベキューソースでは回収率 88.3~105.8% (RSD 0.5~6.0%) と良好な結果が得られた。一方, 固相抽出カートリッジによる前処理を加えた油脂性食品では, 回収率 57.1~88.3% (RSD 3.0~6.4%) であり, マーガリンの回収率が 60% 前後と若干低い結果しか得られなかった。マーガリンは不飽和脂肪酸を大量に含むため過酸化物を生じやすく, 添加した標準品の一部が抽出操作中に酸化されることが回収率低下の原因と考えられた。添加回収試験におけるオレンジジュースおよびマーガリンのクロマトグラムを Fig. 6 および Fig. 7 に示した。オレンジジュースは, UV 検出および蛍光検出とも, 妨害ピークのないクロマトグラムが得られた。一方, マーガリンは酸化防止剤として *dl*- α -トコフェロールの添加を表示した製品であり, さらに原料由来の天然ビタミン E を含有しているため *dl*- α -トコフェロールの保持時間にこれらに由来したピークが認められた。 β , γ および δ -トコフェロールは *dl*- α -トコフェロールよりも短い保持時間に溶出し, 定量の妨害に

Fig. 6. Liquid chromatogram of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol in orange juice
Operating conditions: see Fig. 4

(A): UV detection (285 nm), (B): Fluorescence detection (ex 285 nm, em 330 nm)

①: blank at photochemical reactor lamp OFF, ②: spiked with 100 $\mu\text{g/g}$ each of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol at photochemical reactor lamp ON, ③: spiked with 100 $\mu\text{g/g}$ each of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol at photochemical reactor lamp OFFPeaks: 1; *dl*- α -tocopherol, 2; *dl*- α -tocopherol acetate

ならなかった。なお, UV 吸収スペクトルによる確認が可能な定量下限は, 低脂肪食品では 10 $\mu\text{g/g}$, 油脂性食品は共存物質の妨害のため 20 $\mu\text{g/g}$ であった。本法はマーガ

Fig. 7. Liquid chromatogram of *dl*- α -tocopherol acetate and *dl*- α -tocopherol in margarine
Operating conditions: see Fig. 4.
Figure captions: see Fig. 6.

リンのような油脂性食品において回収率に若干の問題はあるが、分析操作が簡便であるうえ、定性的にも信頼性の高い方法であり、食品中の添加物検査法として有用な分析法と考える。

まとめ

トコフェロール類が紫外線で分解することに注目して、光化学反応を利用した酢酸 *dl*- α -トコフェロールと *dl*- α -トコフェロールの同時定量法を検討した。測定には分析カラムの出口に紫外線照射用のフォトケミカルリアクターを接続して光化学反応をオンラインで行うシステムを利用した。その結果、フォトケミカルリアクター ON, OFF での各検出器による定量値の一致およびピークの UV 吸収スペクトルの変化を確認することにより定性的にも信頼性の高い結果を得ることができた。一方、蛍光検出ではフォトケミカルリアクター OFF の場合、酢酸 *dl*- α -トコフェロールが *dl*- α -トコフェロールの 1/10 の検出感度であったものが、ON では酢酸 *dl*- α -トコフェロールは 3 倍、*dl*- α -トコフェロールは 1/3 倍となって両物質は同レベルの検出感度を示して同時定量が容易となった。低脂肪食品としてオレンジジュース、バーベキューソース、油脂性食品としてピーナッツバター、マーガリンについて実施した添加回収実験の結果、低脂肪食品では回収率 88.3~105.8% (RSD 0.5~6.0%)、油溶性食品では回収率 57.1~88.3% (同 3.0~6.4%) であった。UV 吸収スペクトルによる確認が可能な定量下限は低脂肪食品で 10 $\mu\text{g/g}$ 、油脂性食品で 20 $\mu\text{g/g}$ であった。

なお、本研究の要旨は日本食品衛生学会第 86 回学術講演会において発表した。

文献

- Ames, S. R., Determination of vitamin E in foods and feeds—A collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., **54**, 1-12 (1971).
- Labadie, P. M., Boufford, C. E., Gas chromatographic

assay of supplemental vitamin E acetate concentrates: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., **71**, 1,168-1,171 (1988).

- Ballesteros, E., Gallego, M., Valcarcel, M., Gas chromatographic determination of cholesterol and tocopherols in edible oils and fats with automatic removal of interfering triglycerides. J. Chromatogr. A, **719**, 221-227 (1996).
- Doi, K., Ohmori, K., Horiguchi, Y., Watanabe, S., A quantitative method of *dl*- α -tocopherol acetate on cosmetics. Kanagawaeiken Houkoku (Bull. Kanagawa P. H. Lab.), **19**, 27-30 (1989).
- Chase, G. W., Long, A. R., Eitenmiller, R. R., Liquid chromatographic method for analysis of all-*rac*- α -tocopherol acetate and retinyl palmitate in soy-based infant formula using a zero-control reference material (ZRM) as a method development tool. J. AOAC Int., **81**, 577-581 (1998).
- Chase, G. W., Long, A. R., Liquid chromatographic method for analysis of all-*rac*- α -tocopherol acetate and retinyl palmitate in milk-based infant formula using matrix solid-phase dispersion. J. AOAC Int., **81**, 582-586 (1998).
- Lee, J., Suknark, K., Phillips, R. D., Eitenmiller, R. R., Rapid liquid chromatographic assay of vitamin E and retinyl palmitate in extruded weaning foods. J. Food Sci., **64**, 968-972 (1999).
- Iwase, H., Determination of tocopherol acetate in emulsified nutritional supplements by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J. Chromatogr. A, **881**, 243-249 (2000).
- 日本薬学会編 “衛生試験法・注解 2000” 東京, 金原出版, 2000, p. 675-676. (ISBN 4-307-47033-8)
- Scholten, A. H., Welling, P. L., Brinkman, U. A., Frei, R. W., Use of PEFE coils in post-column photochemical reactors for liquid chromatography—application to pharmaceuticals. J. Chromatogr., **199**, 239-248 (1980).
- Taguchi, S., Yoshida, S., Tanaka, Y., Hori, S., Simple and rapid analysis of penicillins in milk by HPLC using multidimensional on-line clean-up and post-column photolysis with UV detection. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **40**, 375-381 (1999).
- Taguchi, S., Yoshida, S., Tanaka, Y., Hori, S., Rapid analysis of aflatoxins in raw peanuts, corn, buckwheat and HPLC using post-column photochemical derivatization system. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 202-207 (2002).
- 鈴木郁生, 野島庄七, 谷村顕雄 監修 “第 7 版 食品添加物公定書解説書” 東京, 廣川書店, 1999, p. D969-D975. (ISBN 4-567-01852-4)
- 厚生労働省監修 “食品衛生検査指針 食品添加物編” 東京, 日本食品衛生協会, 2003, p. 71-78.