

ノート

細管式等速電気泳動法によるチーズ中の アニオン性化合物の分離について

宮 城 好 弘^{*}，中 込 昇^{**}

1 緒 言

関税率表第4類のチーズは、プロセスチーズと、その他のチーズ(ナチュラルチーズ)に区別されており、プロセスチーズは、輸入制限品目になっている。そのため、輸入制度上、ナチュラルチーズか、プロセスチーズかの判別が必要となる。

現在、税関分析室におけるナチュラルチーズか、プロセスチーズかの判定は、平面培養法による生菌数の測定(主として乳酸菌)、総窒素に対する総りんの比(P/N比)、乳糖料に対するクエン酸量の比(C/L比)の測定、さらに油分の分離及びチーズの目と言われるガス孔の有無等を確認することによって総合的に判断しているところである。

プロセスチーズの定義については、関税率表解説及びFAO, WHO, IDFなどに規定があるが、これらの定義を要約すると「一種類、または、それ以上の種類のチーズを粉碎し、混合し、加熱と乳化剤により熔融乳化してつくる」チーズとなっている。この場合、FAO/WHOに準拠すると、必要添加物として、モノ、ジ、ポリのりん酸塩及びクエン酸塩等の乳化剤が掲げられている。このことから、プロセスチーズの判定には、熔融乳化されたかどうかの確認、すなわち、乳化剤の添加の有無の確認がきわめて重要な要素になるものと考えられる。添加物を含まないチーズの総窒素と総りんの比が一定であることから、乳化剤として、りん酸塩、ポリりん酸塩が添加されたチーズでは、相対的に総りんの含有量が増加することから、P/N比が乳化剤添加の有無の判定に役立っている。また、C/L比につ

いては、チーズ中のクエン酸が乳糖量に対して相対的に多い場合には、クエン酸塩の添加が行われたものと判断している。しかし、これらの方法では、添加された乳化剤の種類は、判別できない欠点がある。したがって、乳化剤の種類を直接分離確認することは、チーズ乳化の有無の判定に有効な手段となることが考えられる。

ここでは、細管式等速電気泳動装置(以下CITPと略する)を用いて、チーズ中のリン酸塩とクエン酸塩の乳化剤を同時に分離することについて検討した。

CITPによるイオン性化合物の分離については、多くの報告があり、^{1), 2), 3), 4), 5)} 川端らも不揮発性有機酸の分離について報告している。⁶⁾これらの報告では、無機イオンと有機イオンを別々に、それぞれの電解液で分離しているが、ここでは、りん酸化合物とクエン酸の同時分離について検討した結果、2, 3の知見を得たので報告する。

2 実 験

2・1 試 薬

クエン酸ナトリウム、乳酸、りん酸ナトリウム、ピロりん酸ナトリウム、トリリん酸ナトリウム、-アラニン、L-ヒスチジン、カプロン酸は、和光純薬工業製の試薬特級を用いた。他にトリトンX-100、食品添加用のトリポリりん酸ナトリウム、輸入及び市販のチーズ10数種を用いた。

2・2 装 置

島津細管式等速電気泳動装置：ITP-IB型

電位こう配検出機：GPD-I型

* 大蔵省税關中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

** 横浜税關輸入部 273 横浜市中区海岸通 1-1

2・3 分析条件

泳動管: 内径 0.57mm×長さ 20cm (テフロン製)

泳動電流: 50~100 μ A

恒温そう温度は、室温で行った。

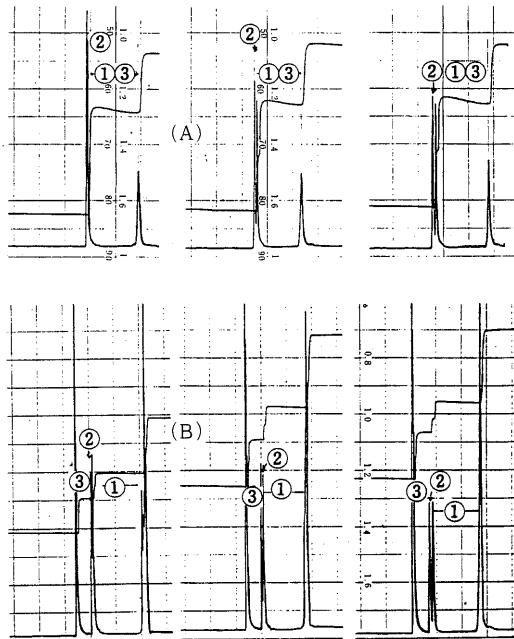


Fig. 1 Electropherograms of acids.

Leading electrolyte

(A): 0.01M HCl Lhistine pH5.1

(B): 0.01M HCl - alanine pH3.5

Terminal electrolyte:

(A), (B): 0.01M glutamic acid

Driving current 75 μ A 256PGD

Chart Speed 10mm/min

Injected volume 5 μ l

Table 1 Electrolyte used in this study

Leading electrolyte

0.01M HCl - alanine pH3.1, 3.5, 4.0

0.01M HCl L - histidine pH4.5, 5.1

Terminal electrolyte

0.01M glutamic acid

0.01M caproic acid

3 実験及び考察

3・1 電解液の選択

本実験で使用した電解液を Table 1 に示す。

リーディング液に 0.01M 塩酸, L - ヒスチジン (pH 5.1), ターミナル液に 0.01M グルタミン酸を用いた場合, クエン酸と乳酸は分離されるが, 乳酸とりん酸は分離されずに混合ゾーンを作ることがわかった。

リーディング液に 0.01M 塩酸 - アラニン (pH3.1), ターミナル液に 0.01M カプロン酸を用いるとクエン酸乳酸及びりん酸の各イオンは分離されるが, 電位こう配が大き過ぎること, ベースラインが不安定なことから, 実際上の分析には使用できなかった。

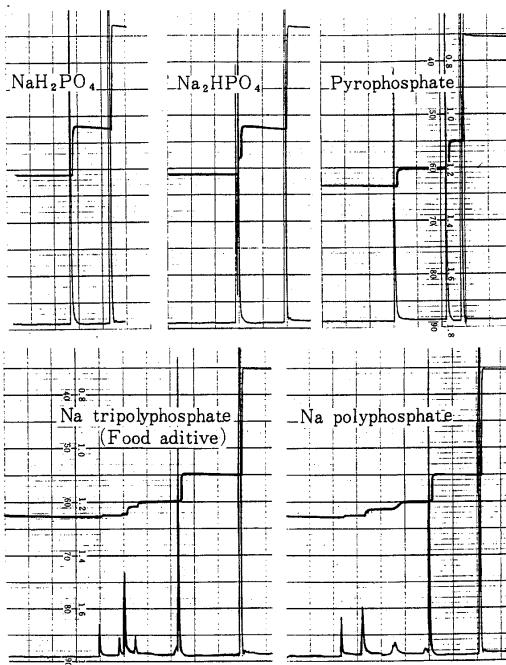


Fig. 2 Electropherograms of phosphates

Leading electrolyte

0.01M HCl - alanine (pH3.5)

Terminal electrolyte:

0.01M glutamic acid

Driving current 75 μ A 256PGD

Chart Speed 10mm/min

Injected Volume 5 μ l

ノート 細管式等速電気泳動法によるチーズ中のアニオン性化合物の分離について

リーディング液に 0.01M 塩酸, - アラニンを、ターミナル液に 0.01M グルタミン酸を用いたとき、最も分離が良かった。Fig. 1 の(A)及び(B)は、それぞれ同一のサンプルを用い、電解液を変えて分離した結果を示した。りん酸一ナトリウムとりん酸二ナトリウムは、同じ PU 値を示した。また、りん酸二ナトリウム及びピロりん酸は、単一成分ではなく、それぞれピロりん酸とりん酸の化合物である。トリポリりん酸は、数種の混合物であることが明らかである。Table 2 に各イオンの PU 値を示す。

Table 2 PU values of acids and emulsifiers

lactic acid	0.509
citrate	0.418
phosphate	0.315, 0.115
pyrophosphate	0.115, 0.315
polyphosphate	0.315, 0.115, 0.060, 0.040
tripolyphosphate	0.315, 0.115, 0.060, 0.040

混合イオンの分離結果を Fig. 3 に示した。ゾーンからまでは、食品添加物のトリポリりん酸ナトリウム中のりん酸塩であり、はクエン酸、は乳酸のゾーンである。この結果からわかるように、チーズに添加されるりん酸塩及びクエン酸塩の乳化剤は、この実

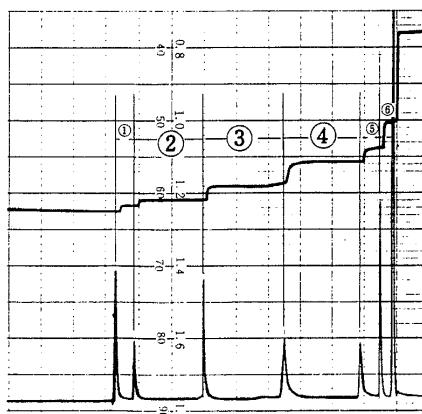


Fig. 3 Electropherogram of mixture Anionic compounds

Analytical conditions are same as cited
in fig. 2

験条件で良好な分離能を示した。また、いずれの電解液の場合も、クエン酸とその塩、乳酸とその塩のように、酸とその塩の分離は困難であった。

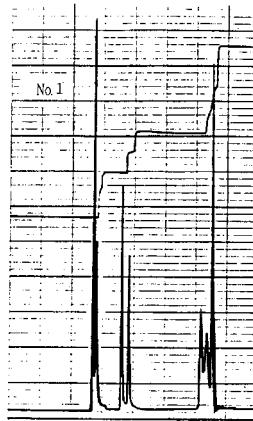
3・2 輸入試料の分離

輸入チーズ及び市販チーズの分離結果を Fig. 4 に示す。

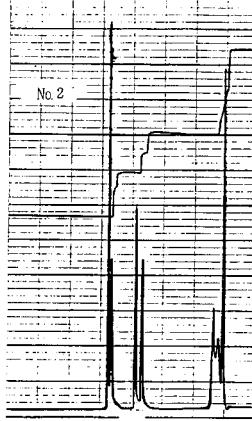
試料の調製は、チーズ 1g を秤取し、それに水 9ml を加えてガラスホモジナイザーで均質にしてろ過、又は、遠心分離によって清澄な溶液を得、その液を直接マイクロシリジによって 5.0 μ l ずつ注入した。それぞれの分離図の下欄には、FAO/WHO の方法で測定して得られた P/N 比及び C/L 比を示した。

分離図 No.1 ~ No.4 は、ナチュラルチーズとして市販されているチーズである。No.1, 2 及び 3 には、明瞭なクエン酸のゾーンが検出される。No.1 及び 2 については、C/L 比が比較的高い値を示しており、乳化剤として添加されたものと推定されるが、チーズ中のクエン酸含有量に幅があることを考慮する必要があるので、今後、チーズ中のクエン酸の含有量について、さらに検討していきたい。なお、試料 No.4 には、クエン酸は検出されなかった。No.5 ~ 11 は、プロセスチーズとして市販されている国産のチーズである。No.5 ~ 9 いずれの場合でも、PU 値の小さい (0.005) ゾーンが現われているが、これは、トリポリりん酸に含まれるテトラリん酸の PU 値に一致することから、これらのチーズには、乳化剤のトリポリりん酸ナトリウムが添加されているものと認められる。No.8, 9 については、クエン酸のゾーンも大きく、トリポリりん酸塩と同時にクエン酸塩乳化剤が添加されているものと確認した。

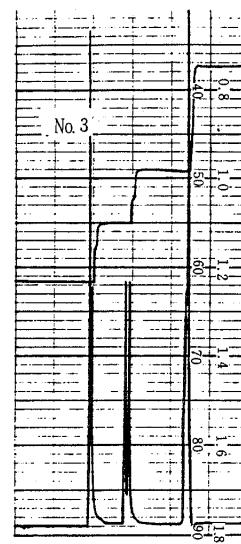
No.10, 11 では、トリポリりん酸塩のゾーンは認められないが、クエン酸のゾーンがきわめて大きく、乳化剤としてクエン酸塩が添加されていることが認められる。No.12 ~ 16 は、ナチュラルチーズとして輸入されたチーズである。No.13 及び No.14 は、クエン酸のゾーンが大きいこと、C/L 比がきわめて高いことからクエン酸塩乳化剤の添加が推定される。また、No.15 及び No.16 は、トリポリりん酸ナトリウム及びクエン酸のゾーンがはつきりと分離された典型的なチーズである。



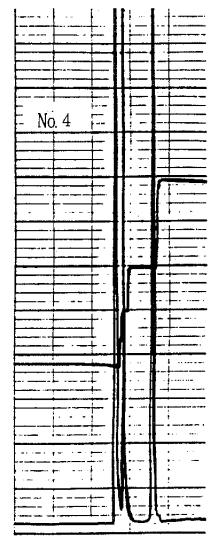
$P = 0.48$ $C = 0.076$
 $P/N = 0.07$ $C/L = 0.118$



$P = 0.50$ $C = 0.056$
 $P/N = 0.07$ $C/L = 0.099$



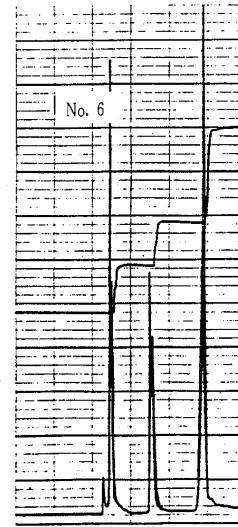
$P/N = 0.067$ $C/L = 0.06$
 $P = 0.27$ $C = 0.029$



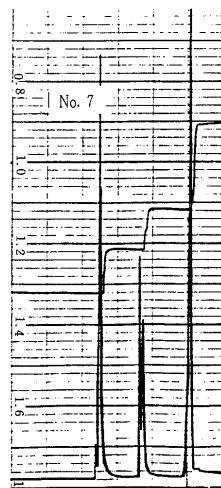
$P = 0.06$ $C = -$
 $P/N = 0.04$ $C/L = -$



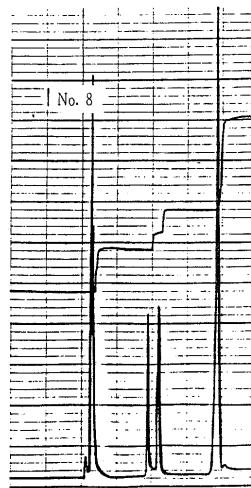
$P = 0.50$ $C = 0.019$
 $P/N = 0.14$ $C/L = 0.059$



$P = 0.48$ $C = 0.06$
 $P/N = 0.14$ $C/L = 0.017$

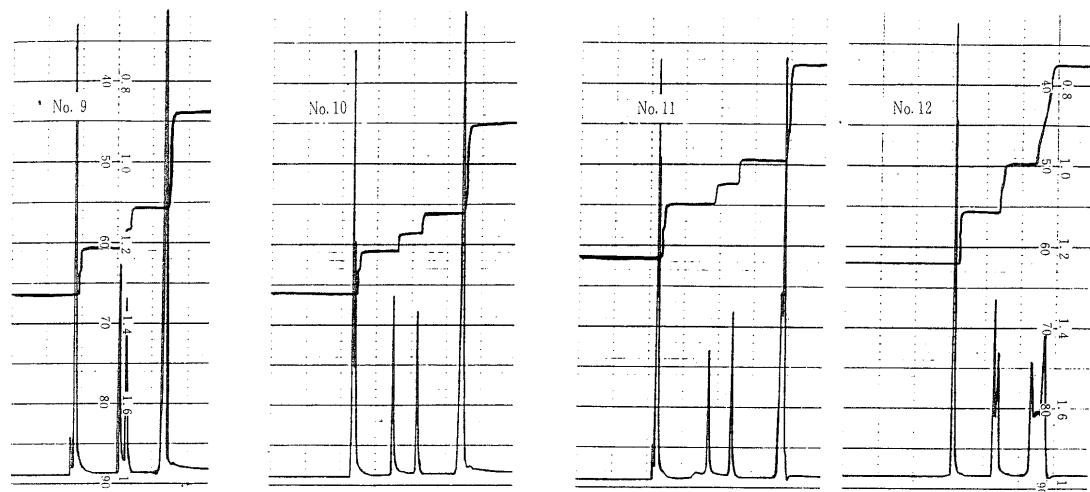


$P = 0.50$ $C = 0.022$
 $P/N = 0.15$ $C/L = 0.068$



$P = 0.47$ $C = 0.434$
 $P/N = 0.15$ $C/L = 1.44$

ノート 細管式等速電気泳動法によるチーズ中のアニオン性化合物の分離について



4 要 約

細管式等速電気泳動法を用いてチーズ中のアミオニ性化合物の分離条件の検討を行った。プロセスチーズ製造の際に、乳化剤として添加され

るトリポリリン酸塩、クエン酸塩の分離には、リーディング電解液として 0.01M 塩酸(- アラニンで pH3.5 に調製)、ターミナル電解液に 0.01M グルタミン酸を用いて良好な分離を行うことができた。これらの方法を実際試料の分析に応用した。

文 献

- 1) 宮崎浩、加藤和夫：第1回島津細管式等速電気泳動講座 - 応用編 - (1977)。
- 2) F. M. Everaerts, J. L. Beelers and Th. P. E. M. Verhagen : J. chromatogr. Library. **6**, (1976) .
- 3) J. S. Van der Hoeven, H. C. M. Franken, P. J. M. Canrp and C. W. Dellebarre : Appl. Environ Macrrobiol, **35**, 17 (1978) .
- 4) P. Bocek, S. Povelk, K. Grigeloua, M. Deml and J. Janek : J. chromatogr., **154**, 356 (1978) .
- 5) 塩見恭代、秋山純一：分析化学, **26**, 697 (1977) .
- 6) 川端省三、出来三男：本誌, **19**, 49, (1978) .

Separation of Anionic Compounds in Cheese by Capillary Tube Isotachophoresis.

Yoshihiro MIYAGI* and Noboru KAKAGOME**

* Central Customs Laboratory, Ministry of finance,
53 1, Iwase, Matsudo - shi, Chiba - ken, 271, Japan

** Yokohama Customs, Import Division,
1 - 1, Kaigandori, Naka - ku, Yokohama, 231 Japan

The separation of emulsifiers in cheese by CITP was investigated.

The apparatus used in this investigation was Shimadzu IP - 1B Isotachophoretic Analyzer equipped with PGD - 1 Potential Gradient Detector.

The analysis was performed in a 20cm Teflon tube with 0.57mm I.D.

The emulsifiers, sodium tripolyphosphate and sodium citrate, in cheese were separated under following conditions.

The leading electrolyte was Used 0.01MHCl (prepared at pH3.5 by - alanine) . and terminal electrolyte was 0.01M glutamic acid.

To sharpen boundaries, tritone X - 100 (0.01%) was added into the leading electrolyte.

This method was applied to the analysis of cheese imported.