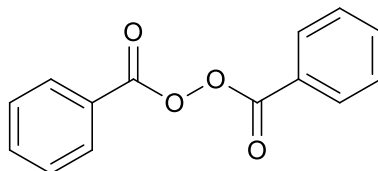


小麦粉改良剤

過酸化ベンゾイル

Benzoyl Peroxide



$C_{14}H_{10}O_4$: 242.23

1. 分析法の概要

小麦粉、小麦粉製品及びはるさめ中の過酸化ベンゾイルは、アセトニトリルで抽出後、液体クロマトグラフィーで定量する¹⁾。(2004年改正、2021年改正)

2. 分析法（液体クロマトグラフィー）

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試験溶液の調製²⁾

粉末試料はそのまま、固形試料は粉碎後、約 10 g を精密に量り、アセトニトリル 50 mL を正確に加え、マグネチックスターラーで 15 分間かくはんする。この液をメンブランフィルター（0.45 μm）に通し、試験溶液とする。

(3) 検量線用標準溶液の調製³⁾

過酸化ベンゾイルとして 約 0.25 g に相当する水添加過酸化ベンゾイル^{4,5)}を精密に量り、アセトニトリルを加えて溶かして正確に 50 mL とする。その 1 mL を正確に量り、アセトニトリルを加えて正確に 200 mL としたものを標準溶液とする（濃度 25 μg/mL）。標準溶液 1、4、40 及び 100 mL を正確に量り、アセトニトリルを加えてそれぞれ正確に 100 mL とし、0.25、1、10 及び 25 μg/mL の検量線用標準溶液とする。1 μg/mL の検量線用標準溶液 1 mL を正確に量り、アセトニトリルで正確に 25 mL とし、0.04 μg/mL の検量線用標準溶液とする。（濃度 0.04~25 μg/mL）。

(4) 測定法

① 測定条件⁶⁾

紫外可視吸光度検出器付高速液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 4.6mm、長さ 250mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル／水混液（55：45）

流速：1.0mL／分

測定波長：235nm

注入量：20μL

② 検量線⁷⁾

検量線用標準溶液それぞれ 20μL ずつを高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量⁸⁾

試験溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線から試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度（μg/mL）を求め、次式によって試料中の過酸化ベンゾイル含量（g/kg）を計算する。

$$\text{過酸化ベンゾイル含量 (g/kg)} = \frac{C \times 50}{W \times 1000}$$

C：試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度（μg/mL）

W：試料の採取量（g）

④ 定量限界 0.0002 g/kg

試薬・試液等

1. 水添加過酸化ベンゾイル：市販品を用いる。以下の方法に従って、あらかじめ滴定により過酸化ベンゾイル含量を求めておく⁵⁾。

水添加過酸化ベンゾイル約0.25 gを精密に量り、共栓フラスコに入れ、アセトン 15mLを加えて振り混ぜる。この液にヨウ化カリウム溶液（1→2）3mLを加え、直ちに密栓し、1分間振り混ぜる。遊離したヨウ素を 0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬：デンプン溶液）。別に空試験を行い補正する。

$$\text{過酸化ベンゾイル含量 (\%)} = (V \times 12.11 \times F \times 100) / (W \times 1000)$$

V：0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量（mL）

F：0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

W：水添加過酸化ベンゾイルの採取量（g）

2. アセトン：[特級]

3. ヨウ化カリウム：[特級]

4. 0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液：市販品を用いる。

5. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフィー用]

[注]

- 1) 過酸化ベンゾイルは、小麦粉以外の食品には使用が認められていないが、2004年（平成16年）にはるさめに使用違反があったことから、はるさめも対象食品とした。
- 2) 試料によっては、アセトニトリルを加えた後、かくはんする代わりにホモジナイズし、ろ過又は遠心した後、そのろ液又は上清をメンブランフィルター（0.45 μ m）に通したものを試験溶液とする。
- 3) 試料中の濃度に合わせ、用いる検量線用標準溶液の濃度範囲を、直線性が確認できるよう、適宜調整する。
- 4) 過酸化ベンゾイルは爆発の危険性があるため、食品添加物としては、過酸化ベンゾイルをミョウバン、リン酸カルシウム塩類、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム及びデンプンのうち的一种以上で約20%に希釈した希釈過酸化ベンゾイルを用いることとされている。そこで、標準品は市販の試薬として入手可能な水添加過酸化ベンゾイルを使用する。過酸化ベンゾイルは60 $^{\circ}$ C以上、あるいは還元性物質の共存で爆発する危険性があるので、もとの容器内に保存し、状態が変化しないように取り扱うように注意する。
- 5) 水添加過酸化ベンゾイルは、25%程度の水を含んでいるため、過酸化ベンゾイル含量をあらかじめ滴定により定める必要がある。

0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液1mL=12.11mg 過酸化ベンゾイル（C₁₄H₁₀O₄）
- 6) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。
- 7) 必要に応じて、検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。
- 8) 本法による小麦粉及び乾製品における添加回収率は97.1~99.4%^{文献1)}であった。また、小麦粉、パン粉、はるさめ、うどん（乾麺）及びたこ焼き粉に、水添加過酸化ベンゾイルのアセトニトリル溶液を、過酸化ベンゾイルとして0.0002g/kg、0.002g/kg又は0.066g/kg添加した時の回収率は89~107%（相対標準偏差0.3~6.0%）（n=5の平均）であった。

[文献]

- 1) Abe-Ohnishi, Y., *et al.* : J. Chromatogr. A, **1040**, 209 (2004)

参考

過酸化ベンゾイル確認分析法

1. 分析法の概要

食品中の過酸化ベンゾイルは、液体クロマトグラフィー質量分析により確認を行う。(2021年設定)

2. 分析法 (液体クロマトグラフィー質量分析)

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試験溶液の調製

過酸化ベンゾイル (2) 試験溶液の調製を準用する。

(3) 定性用標準溶液及び検量線用標準溶液の調製

過酸化ベンゾイル分析法 (3) 検量線用標準溶液の調製を準用し、定性に適した濃度の定性用標準溶液 (1 µg/mL 等) 及び検量線用標準溶液 (濃度 0.04~1 µg/mL) を調製する¹⁾。

(4) 測定法

① 測定条件^{2, 3)}

液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) を用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 2.0mm、長さ 150mm

カラム温度：40°C

移動相：5 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 75vol%メタノール

流速：0.3mL/分

イオン化モード：ESI (+)

検出法：スキャン (m/z 50~300)、

選択イオン検出 (SIM) (モニターイオン： m/z 260⁴⁾)

注入量：3 µL

② 定性^{5, 6)}

試験溶液及び定性用標準溶液を LC-MS に注入し、試験溶液のクロマトグラム上で、定性用標準溶液で検出されたピークと同じ保持時間にピークが検出されること、このピークのスキャン検出で得られるマススペクトルの主なイオンの m/z が定性用標準溶液の主ピークのそれと一致することを確認する。

③ 定量^{7, 8)}

過酸化ベンゾイル分析法により試料から検出された場合、その定量値の確認のため、必要に応じて定量を行う。試験溶液をLC-MSに注入し、SIMで得られたピーク面積と検量線から試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) を求め、過酸化ベンゾイル分析法の2. (4)

③定量の項の式によって試料中の過酸化ベンゾイル含量 (g/kg) を計算する。

試薬・試液等

1. 過酸化ベンゾイル分析法の試薬・試液等を準用する。
2. メタノール：[高速液体クロマトグラフィー用]
3. ギ酸アンモニウム：[特級]
4. 5 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 75 vol%メタノール: ギ酸アンモニウム 0.16 g を量り、水 125mL 及びメタノール 375mL を加えて溶解する。

[注]

- 1) 必要な場合は、検量線用標準溶液を適宜希釈し、定量に適した濃度の検量線用標準液を調製し、直線性が確認できる範囲で、適宜、検量線用標準溶液の濃度及び数を調製してもよい。
- 2) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。分析の際は、過酸化ベンゾイルのピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 3) その他の測定条件は各測定機器に従い、定性用標準溶液の強度が最大になるように、あらかじめ最適化を行う。
- 4) 測定により適した過酸化ベンゾイル由来のイオンが検出された場合は、そのイオン (m/z) をモニターイオンとしてもよい。移動相に 75vol%メタノールを用いた場合には、過酸化ベンゾイルのナトリウム付加イオン m/z 265 が確認されている。
- 5) LC-MSを用いて確認を行う場合、食品中の夾雑物の影響により確認を見誤るおそれがあるため、別途、対象試料の試験溶液に標準溶液を添加し、ピークの検出感度やマススペクトルの変化について確認する。
- 6) スキャン測定により、過酸化ベンゾイルのアンモニウム付加イオン m/z 260 を確認することができる。バックグラウンドが高い場合は補正する。
- 7) 小麦粉、はるさめ、うどん（乾麺）及びたこ焼き粉に、水添加過酸化ベンゾイルのアセトニトリル溶液を、過酸化ベンゾイルとして 0.0002 g/kg 又は 0.002 g/kg 添加した時の回収率は 89~102%（相対標準偏差 0.8~3.3%）（ $n=5$ の平均）であった。
- 8) 液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いる確認分析法が報告されている^{文献1)}。

[文献]

- 1) 米田正樹ら：平成16年度奈良県保健環境センター年報、**39**、81（2005）