

予想されるように、前処理操作によるバラツキが増加すると、精度プロファイル全体が上にシフトした。

#### E. 結論

標準添加法で得られる回帰直線の変動範囲を求め、精度プロファイルを得る方法を検討した。本方法により、試料中の分析対象物の濃度と精度の関係（精度プロファイル）が得られると共に、検出限界も求めることができる。

精度プロファイルに影響を与える条件として、添加濃度、イオン化率の変動、前処理による濃度の変動を検討した。

添加濃度範囲は、精度プロファイルに大きく影響した。添加する濃度の範囲が狭いと精度良く定量できる範囲も狭くなる。また、試料中に存在する濃度よりから離れた濃度を添加すると、多すぎる場合も、少なすぎる場合も精度が低下した。前処理操作のバラツキが大きいと標準添加法の精度プロファイル全体が、上にシフトした。一方、イオン化率の上昇は精度にほとんど影響しなかったが、低下は検出限界を上昇させた。

今後は検討した分析系において、実際に標準添加法を実施した際の分析値への、添加濃度デザイン等の影響を検討する予定である。

#### 参考文献

- 1) Y.Hayashi, R.Matsuda, R.B.Poe, *Analyst*, 121, 591-599 (1996)
- 2) ISO/CD 11843-5 : Capability of detection - Part 5: Methodology in the linear and nonlinear calibration cases

F. 健康危険情報  
特になし。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

H. 知的所有権の取得状況  
なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）  
分担研究年度終了報告書

食品マトリクスに応じた最適前処理技術の検討

主任研究者 松岡 英明 東京農工大学 大学院共生科学技術研究部 教授

研究要旨

食品試料の化学分析においては、目的物質以外の成分をできるだけ前処理で除去しておくことが、分析精度を向上させるうえで重要である。しかし、食品には、コロイド溶液、ペースト状、粘性流体、あるいは粉末、などで、前処理操作が煩雑で、低効率（所要時間と分離精度）な場合が多い。本研究は、簡便迅速な前処理法に関する技術動向の調査と具体的な有望技術の実験的評価を目的として実施した。調査の結果、超音波分離法が有望と判断されたので、生乳中の脂肪や微生物は濾過などの簡便法では分離が極めて困難な例である、との知見に基づき、超音波法の生乳への適用性を調査した。その結果、添加微生物（大腸菌）は中央部に濃縮できることが分かった。一方、脂肪粒（カゼインを含む）は側壁近傍へ蓄積する現象が認められた。そこで、ダブルノードモードでの分離を試みたところ、側壁部への脂肪の蓄積は生じることなく、菌の濃縮回収ができる見通しを得た。

A. 研究目的

食品試料中の化学成分の分析において、高い分析精度を得るためには、前処理によって、目的成分以外の成分をできるだけ分離除去しておくことが重要である。分析結果の不確かさを推定する方法について、国際的動向に対応するための方策を提示するとともに、前処理に関する技術の現状を調査し、今後、新たに分析プロトコールへの導入が想定される技術の予測・展望をしておくことは、本研究の意義を高めるうえで重要であると考えられる。

食品の前処理としての簡便迅速分離技術に関する国内外の研究状況を調査し他結果、ルント大学工学部のトーマス・ローレル(Thomas Laurell) 教授らが開発した「超音波分離法」が注目された。既に、

血液試料へ適用され、脂肪と細胞の分離に好成績を収めていること、分離対象の物性に適した専用デバイス設計の自由度があること、などにより、これまで分離困難であった食品群に対しても、それぞれ専用デバイスの開発によって、広く適用できるようになると期待された。そこで、本年は、この方法の食品への適用性について検討することとした。具体的には、生乳中の脂肪粒及び微生物（添加した大腸菌 *Escherichia coli*）を分離する場合について検討した。

B. 研究方法

ローレル教授グループの研究員を招聘し、別便にて到着した実験装置を組み立て、共同実験を実施した。食品試料としては、東京農工大学農場で搾乳した新鮮

な生乳に、所定菌数の *E. coli* を添加し手実験に用いた。

超音波分離の原理は次のようである。すなわち幅  $300\mu\text{m}$  の細い流路（以下分離チャンネル；Separation Channel; SC）を一定流速で試料液を流しつつ、SC の両側から超音波を照射すると、SC 内の流れ方向と垂直に定在波が形成される（図 1 A, B）。試料液中の微粒子（細胞や脂質の微粒子）には、その密度、圧縮率、などに応じて最小振幅の場所（node と称する）へ、あるいは逆に最大振幅の場所へ押しやられる力が働く。標準的な条件では、SC 中央部が最小振幅となる。したがって、SC を通過する間に、SC の中央部あるいは側壁近傍へ分離されることになる（図 1 B）。SC の入口、出口は分岐しており、試料を導入する場合は、中央部、側壁近傍の何れかへ別々に導入することができ、また、出口でも、中央（a）、側壁近傍（b）のそれぞれの画分を回収できるようにな

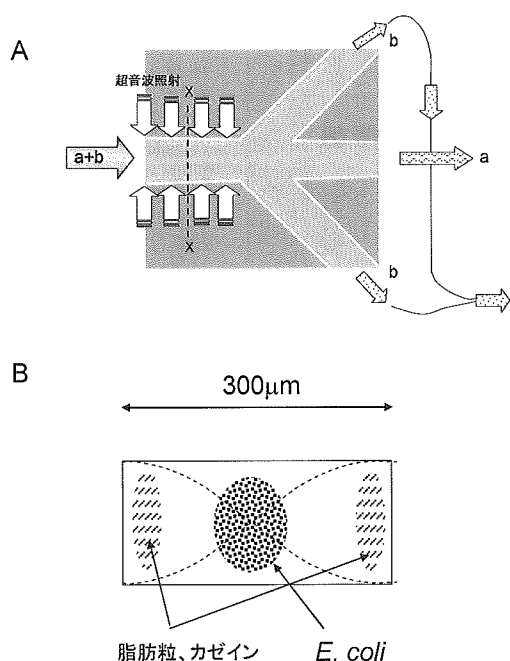


図1. SCでの*E. coli*と脂肪粒の分離. (A)模式図、(B)SC内の超音波節点と*E. coli*と脂肪粒・カゼインの分離. AのXX断面での想定図.

っている。

実験項目は (1) 水溶液に懸濁させた *E. coli* に及ぼす超音波の影響の調査、(2) 分離された分画中の *E. coli* の菌計数条件の検討、(3) 生乳中の脂質に及ぼす超音波の影響の調査、(4) *E. coli* を添加した生乳での菌体と脂質の分離実験、である。なお、メチレンブルーで染色して菌の挙動を可視化し、菌の分離条件の概略を求め、同一条件で染色していない菌を流し、回収後、①ヘマサイトメーターを用いた顕微計数、②二重蛍光染色法による自動顕微計数装置（松下エコシステムズ社のバイオプローラ）、③寒天プレートによるコロニー計数法、で菌計数を行った。

### C. 研究結果

(1) については、超音波強度（具体的には正弦波のピーク電圧）、超音波周波数、SC 内流速、試料導入場所（中央か側壁近傍か）、などについて検討し、正弦波  $5V_{PP}$ 、 $2\text{MHz}$ 、SC 内流速  $30\mu\text{m}/\text{min}$ 、で、菌体が中心部へ多く回収される傾向が認められた（図 2）。

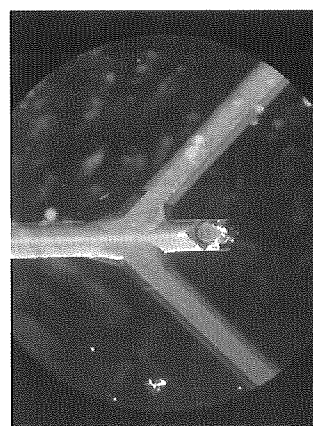


図2. SCでの*E. coli*分離画像. 中央の白く見える線が*E. coli*の流れ.

(2) では、当初、導入した菌の全量回収を試みた。しかし、SC 内を流れる間に、流れ方向に菌体が拡散し、出口において何 ml 回収すれば全量回収したことにな

るのか、定量的判断は難しかった。そこで、出口における各画分内の菌数を調べ、その菌数から、中央部から側壁近傍へ、あるいはその逆への移動によって、菌体がどのくらい分離濃縮されるか、について相対的濃度によって分離効率を示すことにした。

(3) では、生乳を導入して、脂質の分離が可能か調べてみることにした。その結果、脂質は側壁近傍画分へ分離濃縮されることが分かった。しかし、同時に SC 内の側壁に脂肪塊が蓄積してしまうことが明らかとなった。洗浄によって除去できるものの、その後の分離作業に大きな影響を及ぼすと予想された。そこで、脂肪を中央部画分へ分離できるような条件を考案した。すなわち、SC の幅の大きいもの (700 $\mu$ m) に変え、node が 2 箇所に

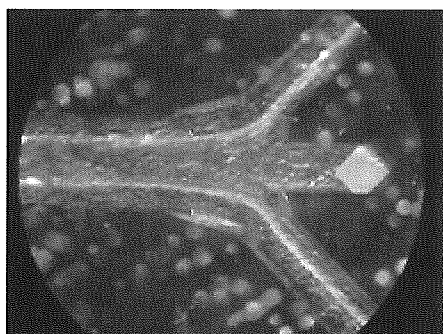


図3. ダブルノードモードでの分離. *E. coli*を添加した生乳を中央部から導入した. 白く見える2本の線は*E. coli*の流れ. 脂肪は大部分が中央部に残ったものと推定され、側壁部への蓄積は認められなくなった。

できるような超音波 (2MHz 正弦波 6V<sub>pp</sub>) 条件とした。この条件下で、中央部から生乳試料を導入し、SC 内流速 17.5 $\mu$ l/min で分離を試みたところ、脂肪の側壁部への蓄積は認められなくなった (図 3)。

以上の結果を踏まえ、(4) では 10 倍希釈生乳に *E. coli* 10<sup>8</sup> cell/ml を添加し、これを、SC 中央部から導入した。その結果、脂肪は中央の node に、*E. coli* は両脇の node に分離されることが分かった。前者は中央部画分として、後者は側壁近傍画分として回収された。各画分の菌数から、相対的分離効率は、100% $\times$ (側壁近傍画分内の菌数) / {(側壁近傍画分内の菌数) + (中央部画分内の菌数)} = 約 60% であった。すなわち、中央部から SC へ導入した *E. coli* の 60% が側壁近傍画分内に回収されることが分かった。この結果に基づけば、今回用いた SC を高々 3 段組み合わせるだけで 90% (0.6+0.4 $\times$ 0.6+0.4 $\times$ 0.4 $\times$ 0.6) の回収率が得られることになる。すなわち、実用的見地からも十分適用できる分離法であるとの結論を得ることができた。

#### D. 健康危険情報

特になし。

#### E. 研究発表

なし

#### F. 知的所有権の取得状況

なし