

## 食品中のソルビン酸の迅速定量法

深澤喜延 石川昭子

### はじめに

食品中のソルビン酸(以下SOAと記す)の分析法は既に数多く報告されている。定性・定量方法としては、2-チオバルビツール酸などを用いた比色法<sup>1-4)</sup>、紫外外部吸光度法(UV法)<sup>5-16)</sup>、赤外分光光度法<sup>5,17)</sup>、ガスクロマトグラフ法(GLC法)<sup>18-25)</sup>、液体クロマトグラフ法<sup>26-30)</sup>、ろ紙クロマトグラフ法<sup>31)</sup>、薄層クロマトグラフ法<sup>32-34)</sup>、ろ紙電気泳動法<sup>31,35)</sup>などがある。また試験溶液の調製は、水蒸気蒸留・有機溶媒抽出・透析・減圧水蒸気蒸留などを単独または組み合わせて行なっている。

厚生省環境衛生局食品化学課は、食品中の添加物分析法を統一するため1976年以降「食品中の添加物分析法」(以下「公定法」と略記する)を編集しているが、SOAについては試験溶液の調製に水蒸気蒸留-エーテル抽出を、定量法にUV法とGLC法を採用している<sup>36)</sup>。また国税庁はブドウ酒を分析対象として2-チオバルビツール酸法(TBA法)を採用している<sup>37)</sup>。

SOAは保存料として、その毒性が低いことから最も広範囲の食品に使用することが認められている<sup>38)</sup>。そのため、食品衛生監視にともない定量試験を行なう機会が多く、迅速に結果を提出することを要請される。しかし公定法をはじめ、これまでに報告された定性・定量法は比較的多くの操作と時間を要し、短時間に多数の試料を処理することはできない。

著者らは1978年にZiemelisらによって報告されたブドウ酒中のSOA迅速定量法(以下「原法」と略記する)<sup>39)</sup>に着目し、一般食品への応用の可否について検討して、迅速定量法を確立したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 試料

食品衛生法に基づいてSOAを使用することが認められている食品を甲府市内の小売販売店で購入した。

#### 2. 試薬

イソオクタンは同仁薬化学研究所製スペクトロゾール、和光純薬工業(株)製和光特級品、関東化学(株)製鹿野特級品を用い、その他の試薬は和光純薬工業(株)製日本工業規格試薬特級品を用いた。

#### 3. 装置

ホモジナイザー：(株)日本精機製作所製ユニバーサルホモジナイザーHB型

分光光度計：日製産業(株)124形日立ダブルビーム分光光度計

#### 4. 実験操作

##### (1) ブドウ酒中SOAの迅速定量法

Ziemelisらのブドウ酒中のSOAの迅速定量法の概要は図1に示したとおりである。

##### (2) 食品中のSOAの迅速定量法

##### 〔試験溶液の調製〕

固形食品は細切し、SOAを2~20mg含む量を正確にはかり50mlの水を加え最高回転数で3分間ホモジナイズする。水を加えて正確に100mlとし、乾燥ろ紙(東洋ろ紙No.5A)を用いてろ過しろ液を試験溶液とする。液状食品は、必要があればろ過・希釈を行ない試験溶液とする。

##### 〔定量操作〕

25ml容の共せん試験管に試験溶液0.25mlを正確にとり、15%酒石酸0.1ml、ガラスビーズ(直径2~3mm)3個、イソオクタン10.0mlを加えてせんをし、1分間手で振り混ぜる。暫時放置してイソオクタン層と水層を分離させる。

イソオクタンを対照として、層長10mmでイソオクタン層の紫外外部吸収スペクトルを描き、標準溶液から得られたスペクトルと相似していることを確認する(定性)。ついで極大吸収波長(250~256nm)における吸光度 $A_{max}$ と290nmにおける吸光度 $A_{290}$ を測定する。

##### 〔検量線の作製〕

SOAとして40, 80, 120, 160, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含有する標準溶液をそれぞれ0.25mlづつ試験管にとり、試料と同様に操作して $A_{max}-A_{290}$ の値から検量線を作製する。

##### 〔計算〕

固形食品中のSOA(g/kg) =  $Q \times 400 \times 1/S \times 1/1000$

Q：検量線から求めたSOA量( $\mu\text{g}/\text{test tube}$ )

S：試料採取量(g)

なお本迅速定量法の概要を図2に示した。

## 結果と考察

### 1. 抽出溶媒の検討

図1に示したように原法では抽出溶媒としてイソオクタン(2,2,4-トリメチルペンタン)を使用しているが、

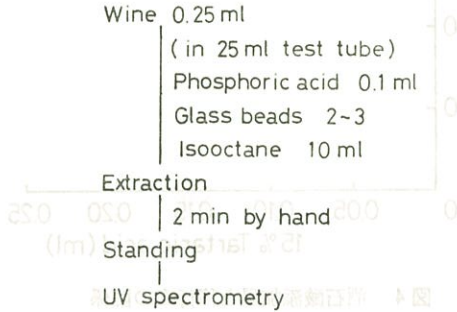


図1 ブドウ酒中のSOA迅速定量法(Ziemelisら)

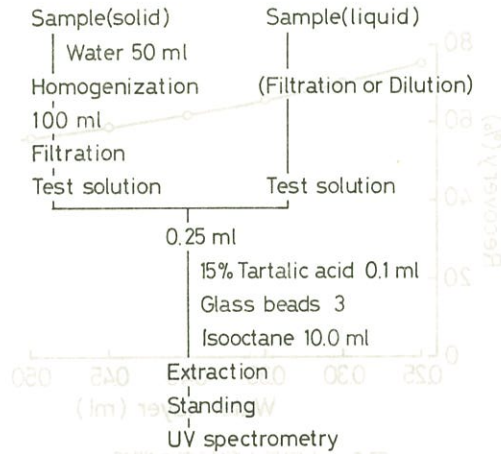


図2 食品中のSOAの迅速定量法

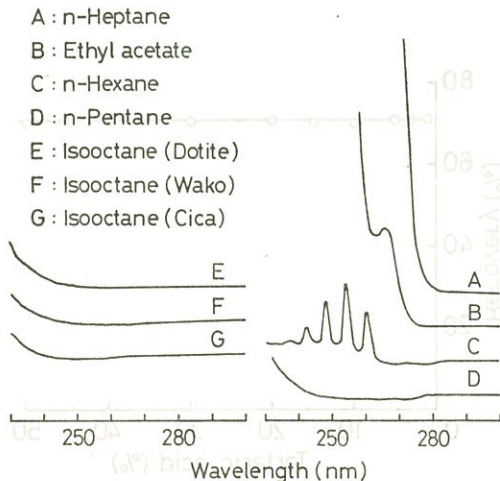


図3 抽出溶媒の紫外吸収スペクトル

わが国では工業規格未収載で試薬特級品は市販されていない。そこで類縁溶媒6種について検討した。n-ペンタン、n-ヘキサン、n-ヘプタン、n-オクタン、イソオクタン、酢酸エチルについて精製水を対照とした紫外外部吸収スペクトルを求めた。n-ペンタン、n-オクタンイソオクタンは良好なスペクトルが得られ、イソオクタン3製品に差はみられなかった(図3)。室温で処理する際の溶媒蒸散による誤差と比重を考慮して、原法と同様にイソオクタン(bp 99.3°, d<sub>4</sub><sup>20</sup> 0.692)を採用した。

### 2. 標準溶液の検討

原法では分析対象がブドウ酒であるので、標準溶液を酒石酸水素カリウム飽和12%エタノール溶液で作製している。一般食品にこの標準溶液を使用することは不相当と考えられたので数種の標準溶液を調製し、それらの特性を比較して表1に示した。その結果、エタノールまたは酒石酸水素カリウムを含有している場合は溶媒層へのSOAの移行率が高く、逆に公定法に準じて調製した場合はSOAが解離しており、酸無添加では全く溶媒層へ移行しなかった。

### 3. 添加する酸と移行率の検討

原法では、水層中のSOAを遊離させイソオクタン層への移行率を向上させ再現性をよくする目的でリン酸を用いている。現在わが国ではリン酸は河川湖沼水の富栄養化の一因として、その使用を規制する方向にあるのでリン酸に代わる酸を検索した。食品添加物の分析に用いられることの多い塩酸、硫酸、酒石酸について、15%溶液を0.1ml添加して移行率を比較した。表2に示したよ

表1 標準溶液作製方法による移行率の違い

溶媒	15% 酒石酸 添加	A <sub>max</sub> -A <sub>290</sub>			n
		$\bar{x}$	s	CV(%)	
精製水*	-	0	—	—	5
精製水	-	0.573	0.0347	6.05	4
精製水	+	0.701	0.0049	0.70	5
12%エタノール 溶液	-	0.652	0.0428	6.56	4
12%エタノール 溶液	+	0.764	0.0044	0.58	4
酒石酸水素カリ ウム飽和溶液	-	0.792	0.0020	0.26	4
酒石酸水素カリ ウム飽和12%エ タノール溶液	-	0.869	0.0056	0.65	4

— SOA : 50 µg/test tube

\* : 公定法に準じて調製した標準溶液

うに、いずれの酸でもほぼ一定の移行率が得られた。そこで調製の容易さなどを考慮し、有機酸である酒石酸を用いることとした。

#### 4. 15%酒石酸添加量と移行率の関係

15%酒石酸を0.05~0.25mlの範囲で段階的に添加し、SOAの移行率をみたところ、添加量の増大とともに移行率は低下した(図4)。また水層の酒石酸濃度を一定(3%)とし、液量を変化させたところ図5に示す結果が得られた。

図4、図5よりイソオクタン層へのSOAの移行率は、イソオクタン量と水層量(試験溶液と添加した酸の和)の比に基づくものと考えられる。そこで、添加量の正確さを確保し、あわせて移行率を低下させないために、15%酒石酸の添加量は0.1mlとした。

#### 5. 酒石酸濃度と移行率の関係

2.0~50.0%の酒石酸液を作製し、その0.1mlを添加し移行率を検討したが、図6に示したとおり移行率は、一定であった。

#### 6. 検量線の作製

原法の標準溶液と公定法に準じて調製した標準溶液を用いて $A_{max}-A_{290}$ の値から検量線を作製した。いずれの標準溶液を用いても5~50 $\mu\text{g}/\text{test tube}$ の範囲で吸光度とSOA濃度の間に直線関係が得られた(図7)ので、ブドウ酒については前者を、一般食品については後者を用いることとした。

#### 7. 試験溶液の調製について

迅速性を失わないことを考慮し、前処理は簡略化することに努めた。固形食品は細切した試料に適量の水を加えホモジナイズして一定量としたのち、ろ過してろ液を試験溶液とした。この試験溶液について公定法で回収率を検討したが、いずれの食品についても98%以上の回収率が得られた。

表2 酸の種類とソルビン酸の移行率

酸	n	$A_{max}-A_{290}$		
		$\bar{x}$	s	CV(%)
塩酸	5	0.436	0.0055	1.27
リン酸	5	0.419	0.0063	1.50
硫酸	5	0.435	0.0043	1.00
酒石酸	5	0.394	0.0047	1.20

SOA : 30  $\mu\text{g}/\text{test tube}$

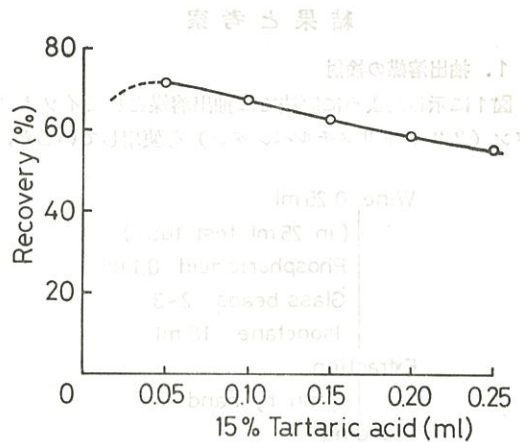


図4 酒石酸添加量と移行率の関係

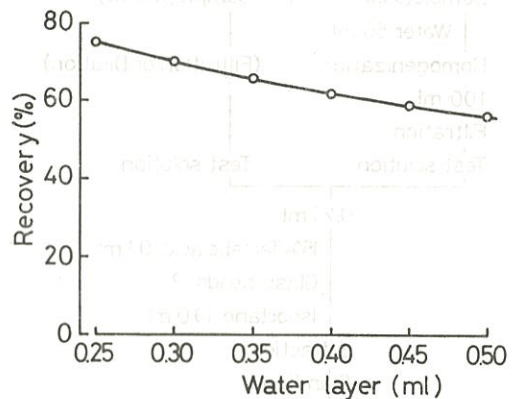


図5 水層量と移行率の関係

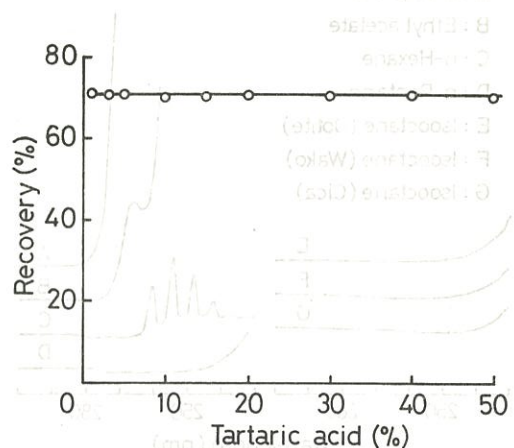


図6 酒石酸濃度と移行率の関係

### 8. 他の食品添加物の影響

酸性の添加物は本試験法の抽出過程でイソオクタン層への移行が考えられたので、SOA と同時に使用されることの多いサッカリンナトリウムについて検討した。その結果、試験液中 500 µg/ml の濃度まで全くイソオクタン層に移行せず、SOA の検出を妨害しなかった。

### 9. 食品の SOA の定量

SOA の使用が認められている 7 群 33 種の食品について本迅速定量法によって定量したところ、公定法 (UV 法) によって得られた結果とよく一致した (表 3)。

### ま と め

食品中の SOA の定量法は「公定法」の編集で全国的に統一された。最近出版された「衛生試験法・注解」でも UV 法と GLC 法による定性・定量法を採用している<sup>40)</sup>。

これらの定量法は水蒸気蒸留などに大きなエネルギーを必要とし、かつ抽出に多量のエーテルを使い分析時間も長い。また、酒石酸酸性で水蒸気蒸留を行なうと、糖質を含む食品では 5-メチルフルフラールなどが生成し、溶媒抽出の併用が不可欠である。

今回著者らは Ziemelis らの報告を基礎として食品中の SOA の迅速定量法を確立した。本定量法は経済性・迅速性において公定法を上まわり、さらに得られた定量値が公定法によるそれとよく一致することから、クリーンアナリシスの時代的要請にもこたえたルーチン試験のスクリーニング法として、十分に使えるものとする。

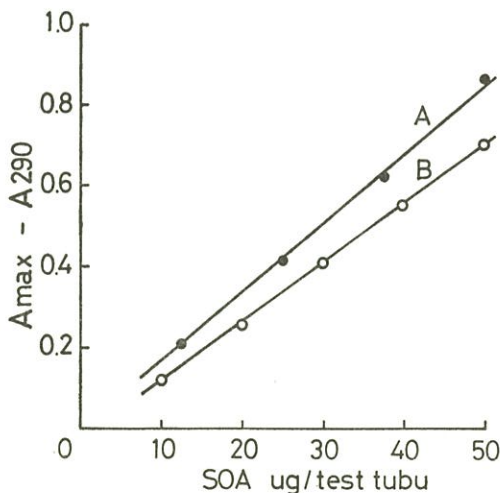


図 7 迅速定量法による SOA の検量線  
A: 原法の標準溶液  
B: 公定法の標準溶液

今後、比色法を組み合わせることにより、店頭や製造所内での現場指導に使えるよう検討していきたい。

なお、本報告の一部は第 8 回山梨県立衛生公害研究所集談会 (1979年12月) において発表した。

表 3 迅速定量法による食品中のソルビン酸定量結果

食品群	SOA (mg/kg)		A/B
	A	B	
ブドウ酒	130	125	1.04
	129	122	1.06
	125	115	1.08
	109	108	1.01
	108	98	1.10
	88	82	1.07
つけもの	807	781	1.03
	802	789	1.02
	538	512	1.05
	471	478	0.99
	373	318	1.17
	352	310	1.14
	334	295	1.13
198	186	1.06	
魚肉ねり製品	1,720	1,457	1.18
	1,360	1,325	1.03
	1,007	999	1.01
	665	639	1.04
	nd	nd	—
食肉製品	1,590	1,546	1.03
	1,197	1,160	1.03
	821	789	1.04
魚介乾製品	770	912	0.84
	660	689	0.96
	610	518	1.18
	500	494	1.01
	480	485	0.99
	nd	nd	—
	nd	nd	—
乳酸菌飲料	40	39	1.02
	37	39	0.94
	29	32	0.90
煮 豆	534	467	1.14

A: 迅速定量法

B: 「食品中の添加物分析法」記載紫外外部吸収による方法

A/B:  $\bar{x}=1.043$ ,  $s=0.078$ ,  $CV=7.47\%$

文 献

- 1) 松本 茂, 西垣 進, 三島太一郎: 食衛誌 7, 424~427 (1966)
- 2) Caputi A. Jr., Slinkard. K: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 58, 133~135 (1975)
- 3) 豊田正武ら: 食衛誌 17, 320~325 (1976)
- 4) Caputi A. Jr., Stafford. P. A: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 60, 1044~1047 (1977)
- 5) 井上哲男ら: 衛生化学 10, 47~51 (1964)
- 6) Amano R., Kawada K. and Kawashiro I.: J. Food Hyg. Soc. Japan 5, 330~332 (1964)
- 7) 中村幸男, 大崎靖彦, 大庭真沙子: 衛生化学 12, 21~24 (1966)
- 8) 菅野三郎ら: 食衛誌 7, 134~139 (1966)
- 9) 井上哲男ら: 同上 7, 204~210 (1966)
- 10) 藤原光雄ら: 同上 7, 538~542 (1966)
- 11) 浜口 彰, 松木幸夫, 田中喜作: 同上 8, 318~324 (1967)
- 12) 藤原光雄, 藤原邦達: 同上 9, 147~154 (1968)
- 13) 菅野三郎, 和田 裕, 中岡正吉: 同上 9, 50~57 (1968)
- 14) 木村俊博, 米田孟弘: 同上 9, 63~66 (1968)
- 15) 鈴木俊一ら: 札幌衛研報 5, 113~116 (1977)
- 16) 向後勝成ら: 静岡衛研報 21, 47~54 (1978)
- 17) 井上哲男ら: 食衛誌 5, 368~372 (1964)
- 18) 井上定男, 山本孫兵衛, 青山敏信: 衛生化学 10, 42~46 (1964)
- 19) 榎府直大, 早川順子, 山田益生: 食衛誌 5, 194~198 (1964)
- 20) 西本孝男, 上田雅彦: 同上 5, 287~293 (1964)

- 21) 西本孝男, 上田雅彦: 同上 6, 231~234 (1965)
- 22) 榎府直大ら: 同上 8, 351~357 (1967)
- 23) 榎府直大ら: 同上 10, 186~189 (1969)
- 24) 野田勝彦, 見城尚義, 高橋 強: 同上 14, 253~257 (1973)
- 25) 大島愛子: 同上 18, 44~47 (1977)
- 26) 藤原光雄, 松村郁治, 藤原邦達: 同上 12, 40~46 (1971)
- 27) 藤原光雄, 松村郁治, 糸川崇之: 同上 12, 47~55 (1971)
- 28) McCalla M. A., Mark F. G. and Kipp W.H.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 60, 71~72 (1977)
- 29) 上田雅彦, 間崎真典: 食衛誌 18, 278~282 (1977)
- 30) 高槻圭悟, 加藤玲子, 堺 敬一: 宮城衛研年報 昭和50年度, 94~104 (1976)
- 31) 菰田太郎, 竹下隆三: 食衛誌 3, 374~381 (1962)
- 32) 堺 敬一: 衛生化学 11, 98~100 (1965)
- 33) 竹下隆三, 坂上米次: 食衛誌 8, 131~134 (1967)
- 34) 寺田志保子, 木村庄治: 同上 15, 177~180 (1974)
- 35) 福田照夫, 三村和子, 三上敬二: 衛生化学 15, 317~319 (1969)
- 36) 厚生省環境衛生局食品化学課: 食品中の添加物分析法 (第1集), 27~32 (1976)
- 37) 国税庁: 第3版国税庁所定分析法, 237~239 (1974)
- 38) K. ラング: 食衛誌 6, 461~465 (1965)
- 39) Ziemelis G., Somers T. C.: Am. J. Enol. Viticc. 29, 217~219 (1978)
- 40) 日本薬学会: 衛生試験法・注解, 298~308 (1980) 金原出版

88.0	519	0.33
89.0	506	0.33
81.7	512	0.14
10.1	494	0.06
99.0	624	0.14
—	411	0.11
—	0.11	0.11
—	—	—
80.1	98	0.1
19.0	98	0.1
09.0	88	0.08
—	—	—
41.1	734	0.22

