

紫外部吸光法による食品中の合成保存料の定量

宮本 文夫 佐伯 政信

Determination of Preservatives in Foods by Ultraviolet Ray Spectrophotometry

Fumio MIYAMOTO and Masanobu SAEKI

I 緒言

ソルビン酸 (SoA), 安息香酸 (BA), パラオキシ安息香酸エステル (POBE), デヒドロ酢酸 (DHA) は保存料として種々の食品に許可され広く使用されており、その使用量の検査は行政上重要である。また、最近では消費者の添加物離れの傾向から、保存料無添加食品も製造されるようになってきており、これらに対する保存料使用の有無、混入などの検査も必要となってきた。保存料添加及び無添加食品に対する検査法は多量から微量まで分析可能であることが必要で、かつルーチンワークとして行うためには簡便であることが望ましい。保存料定量法としては紫外部吸光法^{1,2)} (UV法), ガスクロ法^{1,2)} (GC法), 液クロ法³⁾ などがあるが日常的にはその簡便性からUV法が良く用いられている。

著者やはこのUV法について衛生試験法¹⁾を基に操作の簡略化、ベースライン法の適用等を行い、簡易かつ微量まで分析可能な方法に改良したので報告する。

II 実験方法

1. 試料

市販食品29種を用いた。

2. 試薬及び試液

全ての試薬は特級品を用いた。

酒石酸溶液: 酒石酸200gを蒸留水(水)で溶解し1Lとした。

標準溶液: SoA, BA, DHAは各100mnを精秤し、各々を0.1N水酸化ナトリウム溶液10mlに溶解し、水で100mlとした。これを適時水で希釈して用いた。POBEはパラオキシ安息香酸100mgを0.7N水酸化ナトリウム溶液10mlに溶解し、水で100mlとした。これを適時水で希釈して用いた。

3. 装置

分光光度計: 日立EPS-3 T型

4. 定量方法

1) 水蒸気蒸留

試料5または25gを秤取し、これに酒石酸溶液15ml、塩化ナトリウム60g及び水80mlを加え、毎分10mlの速度で水蒸気蒸留を行い、留液250mlを採る。

2) SoA, DHA, BAの試験溶液の調整 (Fig.1)

留液の1~18mlを採り、10%塩酸溶液2mlを加え、水で20mlとしたものをSoA, DHA, BA用の試験溶液(I)とした。

別に留液100または200mlをとり、これに10%塩酸溶液5ml、塩化ナトリウム10g及びエチルエーテル60mlを加え振とう抽出した。エーテル層を少量の水で2回洗った後、1%炭酸水素ナトリウム溶液10mlで2回振とう抽出し、水層を分取した。水層を2分し、一方に10%塩酸溶液1ml及び水で20mlとしたものをSoA, DHA用の試験溶液(II)とした。2分した残りの水層に5%過マンガン酸カリウム溶液を赤紫色が残るまで滴加し、室温で40分間放置した。これに10%塩酸溶液5mlを加え、2%亜硫酸ナトリウム溶液を滴加して脱色し、エチルエーテル50mlを加えて振とう抽出し、エーテル層を分取した。

エーテル層を少量の水で2回洗った後、1%炭酸水素ナトリウム溶液8mlで2回振とう抽出し、水層を分取した。水層に10%塩酸溶液2ml及び水で20mlとしたものをBA用の試験溶液(II)とした。

3) POBEの試験溶液の調整 (Fig.1)

SoA, DHAの試験溶液(II)の調整操作で残存したエーテル層を0.1N水酸化ナトリウム溶液10mlで2回振とう抽出し水層を分取した。これに10%塩酸溶液2ml及び水を加え40mlとしたものをPOBE用の試験溶液(I)とした。試験溶液(I)に5N水酸化ナトリウム溶液10ml、沸石を数個加え、還流冷却しながら15分間煮沸した後冷却し、10%塩酸溶液で中和した。中和液にさらに10%塩酸溶液5ml及びエチルエーテル50mlを加え、

紫外部吸光法による食品中の合成保存料の定量

振とう抽出しエーテル層を分取、2回水洗の後、1%炭酸水素ナトリウム溶液10mlで2回振とう抽出し、水層を分取した。これに10%塩酸溶液2mlを加え、水で40mlとしたものをPOBE用の試験溶液(Ⅱ)とした。

4) 紫外部吸収スペクトルによる定量

留液の代わりに蒸留水を用いて得られた試験溶液を対照液として、各々の試験溶液について210~330nmの吸収

スペクトルを描き、各保存料の吸収極大波長の吸光度 E_1 及び極大吸収波長±10nmの吸光度 E_2 、 E_3 を測定し、 ΔE を下記の式により算出する。標準溶液から得た ΔE と比較し、試料中の保存料含量を算出した。

$$\Delta E = E_1 - \frac{E_2 + E_3}{2}$$

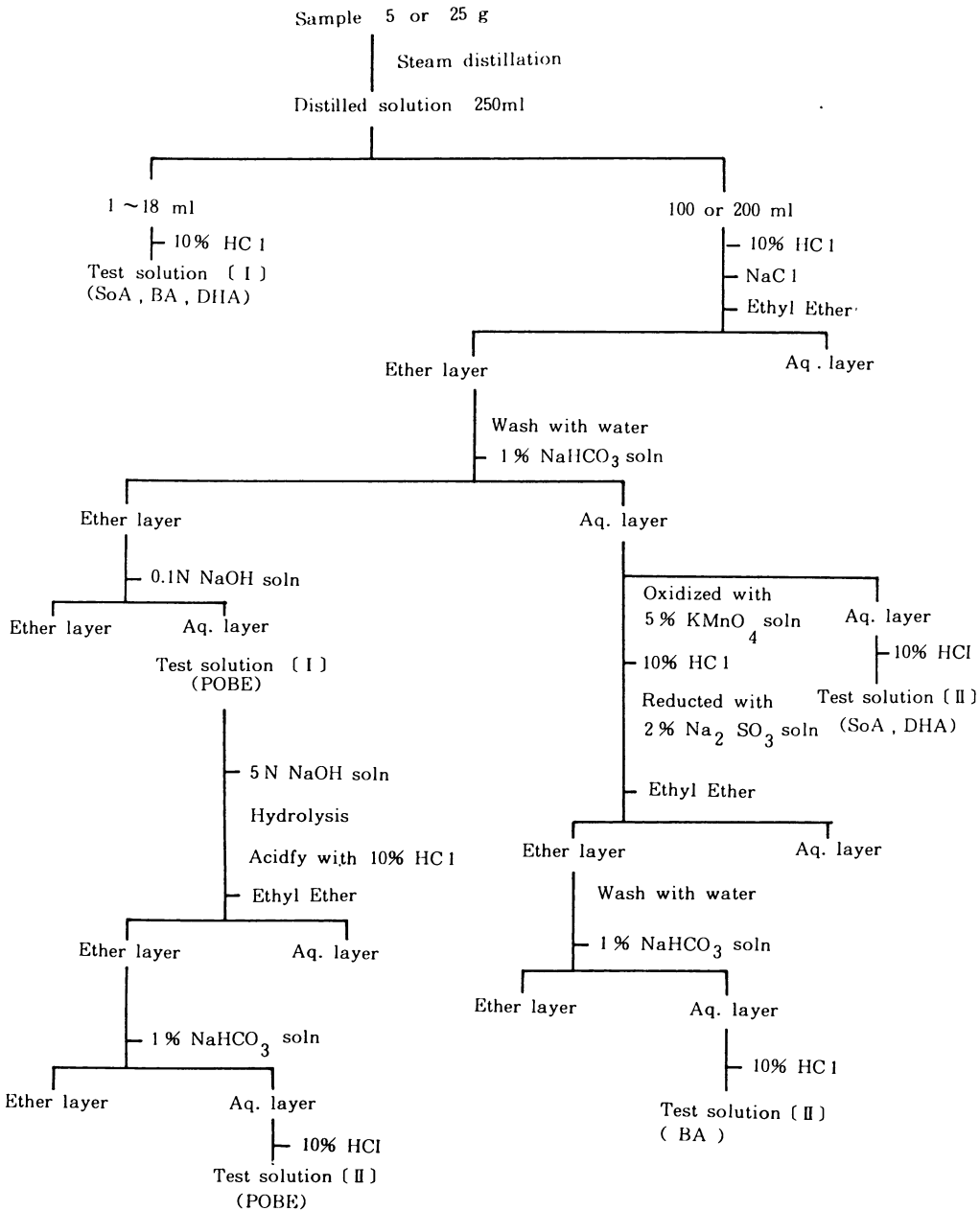


Fig. 1. Analytical Procedure of the Preservatives in Foods

III 結果及び考察

1. 試料量について

乾燥食品(煮干,小麦粉等)及び油脂食品(バター,マーガリン等)は試料量を25gで行うと蒸留操作でのSoA, DHAの回収率が70%付近であったが,試料量を5gとしたところ85%以上の回収率が得られたことから,これらの食品種は試料量を5gで行うこととした。

2. 食品由来の妨害物質の影響

保存料無添加の11種の食品を用いて,留液の直接希釈液及びエーテル精製後の調整液における食品由来の妨害物質の影響を調べた。結果をTable 1に示した。留液の直接希釈液ではBAは3~29ppmの正の妨害, POBEは-18~-78ppmの負の妨害, SoAは3~-7ppmの妨害が見られた。しかし, BAの食品への使用基準量は600または2500ppm, SoAは50~2000ppm, DHAは500ppmと多量の場合が多く, 食品由来の妨害は使用基準量に対しては影響が小さいと考えられる。そこで, BA, SoA, DHAの使用基準量付近の定量は留液を直接希釈した試験溶液(I)で行うこととした。POBEは使用基準量が12~250ppmと他の保存料に比べ少なく, また食品由来の妨害物質の影響も基準量に対して大きいことから, 留液での直接希釈液での定量は困難と推測された。実際に醤油や濃縮果汁に200, 100, 70, 10ppmのPOBEを添加し, 留液の希釈液で回収率を調べたところ, 添加量の減少に伴い回収率が低下し, 70ppm以下ではPOBEは検出されず, 希釈液での定量値は信頼できないことが確認された。そこで, 簡単なエーテル精製を行った試験溶液について検討したところ, ほとんど食品由来の妨害物質も除去でき, 基準量レベルの定量が可能と考えら

Table 1. Effect of Interfering Substance in Various Foods

Preservative	Sample	Found (ppm)	
		not Purification a)	Purification b)
B A	Soy sauce	3~ 12	0.9~-1.3
	Concentrated orange juice	8~ 29	-0.2~-2.8
P O B E	Soy sauce	-24~-47	0.0~-2.5
	Concentrated Orange juice	-18~-78	-0.6~-1.6
	Sauce	-48	0.8
	Lemon	-70	-0.8
S o A	Fermented milk	3~ -3	-1.6~-2.4
	Boiled beans	-0.3~ -3	0.0
	Boiled and dried anchovy	-0.4~ -7	0.0
D H A	Butter	0.0	0.0
	Margarin	0.0	0.0
	Cheese	0.0	0.0

a) Distilled solution was measured directly

b) Distilled solution was purified and measured

れたので, POBEの基準量の定量はFig. 1の試験溶液(I)(POBE)で行うこととした。

エーテル精製操作を行った試験溶液での食品由来の妨害はいずれの保存料でも0.9~2.8ppmと僅かであったので, 微量の保存料の測定にはFig. 1の試験溶液(II)を用いることとした。

3. エーテル抽出回数について

衛生試験法¹⁾、食品中の添加物分析法²⁾ではエーテル抽出回数を3回行っている。標準溶液ではエーテル抽出1回目に保存料がほとんど移行することから, 抽出を1回に省略することが可能と考えられたので, 試料留液を用いて3回抽出と1回抽出の比較を行った。結果はTable 2に示したように両者の差がないことからエーテル抽出は1回で行うこととした。

Table 2. Effect of Extracting Times

Preservative	Sample	Found (ppm)	
		1st time	3 times
B A	Soy sauce	8.7	8.6
	Conc juice	7.6	8.0
P O B E	Soy sauce	7.6	7.8
	Conc juice	6.8	7.8
	Sauce	5.7	5.9
	Vinegar	4.3	5.0
S o A	Lemon	3.5	3.0
	Fermented milk	7.8	8.0
	Amazake	9.0	7.8
	Boiled beans	8.4	8.0
	Flower paste	8.6	6.6
	Wine	8.6	10.3
	Takuanzuke	8.3	8.3
	Boiled and dried anchovy	8.0	8.0
D H A	Sausage	7.6	7.6
	Butter	10.0	9.0
	Cheese	8.2	8.2
	Margarin	7.7	7.7

4. 試験溶液のPHについて

試験溶液は通常中和後緩衝液を添加して調整^{1,2)}している。そこで標準溶液を用いて, 緩衝液を添加する方法と10%塩酸溶液を添加する方法の比較を行ったところ, 定量値は同一であり両者の差はなかった。次に各種の試料からの試験溶液について両者の方法でpH調整し, 検

Table 3. Comparison of Preparing Method of Test Solution

Preservative	Sample	Found (ppm)	
		Added 10% HCL	Added HCL + KCL buffer soln
B A	Soy sauce	466	490
	Conc juice	608	632
P O B E	Soy sauce	225	225
	Conc juice	53.8	50.6
S o A	Amazake	325	325
	Boiled beans	470	460
	Wine	203	203
D H A	Takuanzuke	504	474
	Boiled and dried anchovy	480	455
	Sausage	416	422
	Butter	420	420
	Cheese	500	500
	Margarin	357	367

紫外部吸光法による食品中の合成保存料の定量

出値を比較したところ、Table 3 に示したように両者の差は見られなかった。上記の結果から調整が簡易な10%塩酸溶液添加法を用いることとした。

5. 食品への保存料添加回収実験

保存料無添加の食品17種を用いて各保存料の添加回収実験を行った。50ppm以上の添加量に対しては試験溶液(I)、10ppmの添加量に対しては試験溶液(II)で測定を行った。結果はTable 4 に示したようにPOBEの10ppm添加で35~68%と低い回収率もあったが、その他は添加量による差、保存料の差も見られず、ほとんどが80%以上の回収率であった。以上の結果から、保存料の使用基準量付近の分析は試験溶液(I)で、微量の分析は試験溶液(II)で行えることを確認した。衛生試験法¹⁾、食品中の添加物分析法²⁾ではエーテル精製後にUVで定量しているが、含有量の多い食品についてはエーテル精製操作を省略または簡略化することが可能であり、含有量の少ない食品のみエーテル精製を行えば良いと考えられる。

6. GC法、薄層クロマト(TLC)法との比較

本法を用いて微量の保存料が検出された市販食品16品目についてGC法¹⁾及びTLC法¹⁾との比較を行った。

その結果、Table 5 に示したように糖蜜以外の食品ではGC法の検出値と近似し、またTLC法による定性も皆(+)で、本法での微量レベルの検出値は充分信頼できることを確認した。

Table 4. Recoveries of Preservatives in Foods by Presented Method

Preservative	Sample	Added (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)
B A	Soy sauce	600	466	78
		10	8.7	87
	Conc juice	600	608	101
		10	7.6	76
POBE	Soy sauce	250	223	89
		10	7.6	76
	Conc juice	100	113	113
		10	6.8	68
	Sance	200	238	119
		10	5.7	57
	Vinegar	100	95	95
		10	4.3	43
	Lemon	10	3.5	35
		10	3.5	35
SoA	Fermented milk	50	50	100
		10	7.8	78
	Amazake	300	325	108
		10	9.0	90
	Boiled beans	500	470	94
		10	8.4	84
	Flower paste	500	470	94
		10	8.6	86
	Cheese	500	440	88
		10	11.0	110
	Kamboko	500	400	80
		10	8.0	80
	Wine	200	203	102
		10	8.6	86
	Takuanzuke	500	504	101
		10	8.3	83
	Boiled and dried anchovy	500	480	96
		10	8.0	80
	Sausage	500	416	83
		10	7.6	76
DHA	Butter	500	420	84
		10	10.0	100
	Cheese	500	500	100
		10	8.2	82
	Margarin	500	357	71
		10	7.7	77

Table 5. Comparison of the Determination of Trace Preservatives in Foods by Three Methods

Preservative	Sample	Found (ppm)		
		Presented method	GC method	T L C method
BA	“Yakiniku-tare”	0.2	0.2	(+)
	Soup	0.3	0.4	(+)
	Soy sauce	1.6	2.0	(+)
	“Miso-tare”	1.3	1.6	(+)
POBE	Mollasses	1.2	N.D.	(-)
	Soy sauce	2.8	2.0	(+)
	Soy sauce	3.2	1.8	(+)
	“Yakitori-tare”	16.4	15.7	(+)
	“Unagi-tare”	12.4	13.1	(+)
	Smoke chicken	7.4	5.2	(+)
SoA	Bacon	0.6	0.3	(+)
	Soybean paste I	3.0	4.0	(+)
	Soybean paste II	3.8	4.0	(+)
	Soybean paste III	0.6	1.1	(+)
	“Goma-tare”	6.7	7.8	(+)
	DHA	“Kasutera”	18	20

IV 結論

食品中の4種の保存料の分析法として水蒸気蒸留、エーテル精製、ベースライン法を用いる紫外吸収法について検討した。

1) 試料量は乾燥食品、油脂食品では25gより5gの方が回収率が良かった。

2) 食品由来の妨害物質の影響は留液の直接希釈液では数10ppmの妨害が見られたが、安息香酸、ソルビン酸、デヒドロ酢酸の使用基準量に対しては影響が小さかった。

パラオキシ安息香酸エステルの場合には影響が大きかったので、簡単なエーテル精製を行い、妨害を除いた。

エーテル精製を行った溶液ではいずれの保存料に対しても数ppm以下の僅かな影響しかなかった。

3) エーテル抽出は1回でも3回でも検出値は同等であった。

4) 試験溶液の調整法は緩衝液添加法でも塩酸溶液添加法でも検出値は同等であった。

5) 各保存料の添加回収率はパラオキシ安息香酸エス

テルの10ppm添加を除いてほとんどが80%以上であった。

添加量の多い試料は試験溶液(I)で添加量の少ない試料は試験溶液(II)で定量を行うことができた。

6) 本法で微量の保存料を検出した食品についてガスクロ法、薄層クロマト法との比較を行ったところ、ほとんどの食品で近似した値が得られ、定性的にも(+)であった。

本研究を行うにあたり種々御協力いただいた昭和56~57年度食品化学研修生各位に深謝いたします。

V 文献

- 1) 日本薬学会編(1980): 衛生試験法注解、金原 版: 298~308
- 2) 厚生省環境衛生局食品化学課編(1976): 食品中の添加物分析法(第1集): 1~50
- 3) 上田雅彦、間崎真典(1977): 高速液体クロマトグラフィーによるソルビン酸、安息香酸、サッカリンの分析、食衛誌, 18: 278~281