

食品中の酢酸の定量

深澤喜延

望月恵美子

食品中の低級脂肪酸の定量は、従来滴定法¹⁾によって行なわれてきたが、近年機器分析技術の進歩に伴いガスクロマトグラフィーでの定量分析が一般化してきた。

AOACは海産物中の揮発性有機酸の分析にガスクロマトグラフ法(GLC法)²⁾を採用し、一方衛生試験法・注解ではパン、洋菓子を対象としてプロピオノン酸の分析にGLC法をとり入れている³⁾。

酢酸は食品の調理には不可欠な調味料であり、かつ幅広い食品の常成分として存在する。今回、一般的の食品が含有する酢酸を迅速に定量することを目的にAOAC法と日本薬学会協定法(薬学会法)を土台に、GLCを用いた酢酸の分析法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試料

主として酢酸を添加した食品を甲府市内のマーケットから購入して試料とした。

2. 試薬ならびに試液

(1) 試薬

塩化ナトリウム、リンタングステン酸、硫酸マグネシウム、酒石酸、リン酸、硫酸、水酸化ナトリウム、プロピオノン酸、酢酸、ギ酸はいずれも試薬特級品またはこれに準ずる純度の市販されている製品を用いた。

(2) 試液

10%硫酸、10%リン酸、15%酒石酸水溶液、0.5%ギ酸、0.1N水酸化ナトリウム水溶液はいずれも常法に従って調製した。

3. 器具ならびに装置

(1) カラムクロマト管：内径10mm、長さ30cm

(2) 水蒸気蒸留装置

(3) 濃縮装置：ロータリーエバボレーター

(4) ガスクロマトグラフ：水素炎イオン化検出器付

4. 分析操作

〔試験溶液の調製〕

試料10~50gを正確に蒸留フラスコにはかり取り、水50ml、塩化ナトリウム20g、15%酒石酸水溶液5mlを

加え直ちに水蒸気蒸留を行なう。留液は200mlを採りその5~25mlを梨形フラスコに入れ、0.1N水酸化ナトリウム水溶液2.5mlを加え液がアルカリ性であることを確かめ、ロータリーエバボレーターを用いて濃縮乾固する。水1mlを加えて残留物を溶かし、陽イオン交換樹脂カラム(アンバーライト CG 120 H⁺型、φ10mm×50mm)にのせ、さらにフラスコを少量の水で洗いカラムにのせる。あらかじめ、0.5%ギ酸水溶液1mlを入れた10ml容のメスフラスコに溶出液を集め、正確に10mlとしたものを試験溶液とする。

〔定量〕

試験溶液2μlを水素炎イオン化検出器つきガスクロマトグラフに注入し、得られた酢酸のピーク高さを測定する。

ガスクロマトグラフィーの条件

カラム：ガラス製、内径3mm 長さ1.2~1.5m

充てん剤：クロモソルブ101、60~80 mesh

カラム温度：140°C

注入口温度：250°C

キャリアガス：窒素を用い、酢酸のピークが2~3分後に出現するように流速を調整する。

〔標準溶液の調製〕

酢酸10gを正確にはかり、水を加えて正確に1,000mlとしたものを標準溶液とする。この液1mlは酢酸10mgを含む。

〔検量線の作製〕

標準溶液の2, 4, 6, 8ならびに10mlをとり0.5%ギ酸水溶液10mlを加え、さらに水を加えて100mlとし検量線用標準液とする。この液1mlはそれぞれ酢酸を0.2, 0.4, 0.6, 0.8、ならびに1.0mg含む。検量線用標準液各2μlをガスクロマトグラフに注入し、得られた酢酸のピーク高さから検量線を作製する。検量線の1例を図2に示した。

〔計算〕

$$\text{食品中の酢酸 (mg/g)} = A \times 10 \times \frac{200}{B} \times \frac{1}{S}$$

A : 検量線から得られた試験溶液中の酢酸(mg/ml)

B : 濃縮に供した留液量 (ml)

S : 試料採取量 (g)

なお、本定量法の概要を図1に示した。

試料10~50 g
水 50ml
塩化ナトリウム20 g
15%酒石酸水溶液5ml

水蒸気蒸留

留液 200ml—5~25ml

0.1N水酸化ナトリウム水溶液2.5ml
(アルカリ性であることを確認)
濃縮
残留物
水 1ml
陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー¹
溶出液 10ml (0.5%ギ酸1mlを含む)、
ガスクロマトグラフィー²
(注入量2μl)

図1 食品中の酢酸定量法

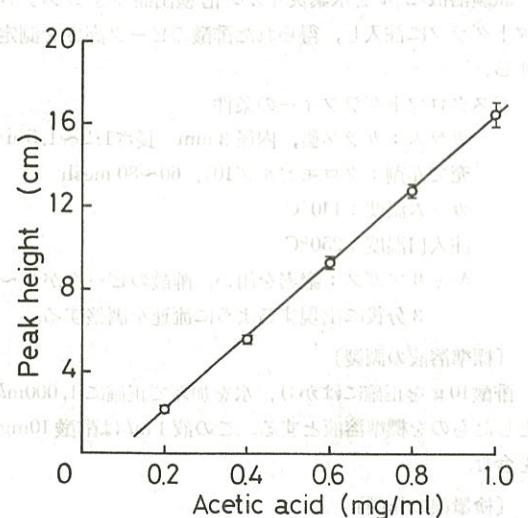


図2 酢酸の検量線

表1 水蒸気蒸留条件の検討

A法		B法	
酢酸標準液 10ml	酢酸標準液 10ml	酢酸標準液 10ml	酢酸標準液 10ml
水 50ml	水 50ml	水 50ml	水 50ml
蒸留条件 10%硫酸 5 ml	蒸留条件 10%リン酸 5 ml	20%リンタングステン酸液 10ml	硫酸マグネシウム40g 塩化ナトリウム20g
留液採取量 200ml	留液採取量 200ml	留液採取量 200ml	留液採取量 200ml
回収率(%) 85.0±2.2(n=5)	回収率(%) 95.8±1.7(n=5)	回収率(%) 85.0±2.2(n=5)	回収率(%) 95.8±1.7(n=5)

酢酸標準液: 10mg/ml

結果と考察

1. 水蒸気蒸留条件の検討

一般に試料液を酸性にして水蒸気蒸留を行なうと、揮発性の酸性ならびに中性の物質が留出する。水蒸気蒸留の方法は各種考案されているが、今回、AOAC法と薬学会法の蒸留条件を酢酸について検討した。AOAC法では試料10~15gに水50ml, 1N硫酸10ml, 20%リンタングステン酸水溶液10ml, 硫酸マグネシウム40gを加えて水蒸気蒸留を行ない、留液200mlを採取している。一方、薬学会法では試料30~50gに水200ml, 塩化ナトリウム80g, 10%リン酸10mlを加えて蒸留し、留液を水酸化ナトリウム水溶液に捕集し500ml採取している。

そこで両水蒸気蒸留条件を比較するために、表1に示した条件を設定し、標準液による回収試験を行なった。その結果、B条件での回収率が95.8±1.7%と良好であった。³そこで次にこの条件を用いて、次に蒸留時に添加する酸について検討した。硫酸、リン酸、酒石酸について比較したところ、図3に示したように15%酒石酸を用いて蒸留したとき、留液200mlまでにはほぼ完全に留出した。

以上の結果から、本定量法では図1に示したように、15%酒石酸5mlを用いることとした。

2. 濃縮方法の検討

食品から留出した中性物質の除去と、酢酸の濃度を上昇させるために濃縮操作は不可欠である。AOAC法、薬学会法いずれも水酸化ナトリウムを用いて留液の液性をアルカリ性として濃縮している。その方法としてAOAC法では常圧濃縮法を、薬学会法では減圧濃縮法

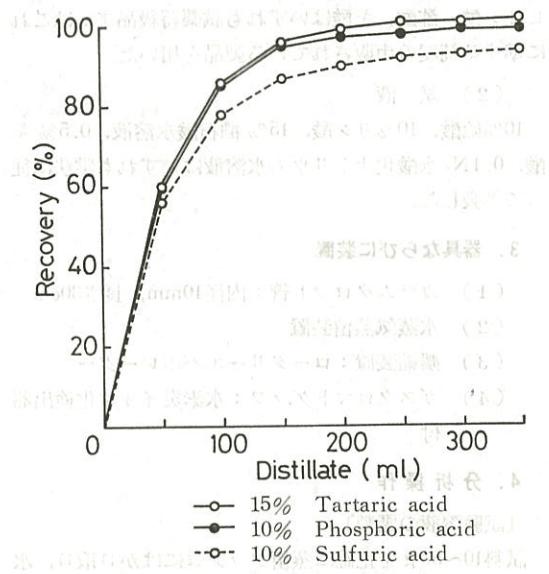


図3 酢酸の酢酸留出効果

を採用している。今回は、迅速に処理することを目的としてロータリーエバポレーターによる減圧濃縮を行なうこととした。²⁾

また、アルカリ処理により解離した酢酸イオンから、遊離の酢酸を得るためにAOAC法では0.5Nジクロル酢酸・アセトン溶液を用い、薬学会法では陽イオン交換樹脂を用いている。操作の簡便性から陽イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィーを採用することとし、標準液による回収試験を行なった。標準液(酢酸10mg/ml)を0.5, 1.0mlとり水を加えて25mlとして、0.1N水酸化ナトリウム水溶液2.5mlを加えて減圧濃縮乾固し、H⁺型としたアンバーライト CG 120カラム(Φ10mm×50mm)を用いて、10mlの溶出液について回収率を求めた。その結果、酢酸5mgの場合103.7±2.8(n=3), 10mgの場合99.4±3.4(n=3)と良好な回収率が得られた。ただし0.1N水酸化ナトリウム水溶液2.5mlは0.25mmolであり、それを上回る酸性物質が留液に存在するときは濃縮の過程で酢酸の損失をまねくので、濃縮前に液性がアルカリ性であることを確認し、十分にアルカリ性になっていない場合は、留液量を減ずる必要がある。

3. ガスクロマトグラフィー条件の検討

低級脂肪酸は強く会合しており通常の条件ではテーリングやゴースティングが認められる⁴⁾といわれている。そのため流路系の吸着活性点を失活させることが必要であり、ガラスカラムを用いて液相および担体はリン酸等を添加して、強い酸性状態とすることが要求されている⁴⁾。

AOAC法ではカラム充てん剤にアナクロムAB Sを担体として、液相はエチレングリコールアジペート(10%)にリン酸を2%添加している。薬学会法はポーラスポリマービーズの1種であるクロモソルブ101を用いている。

クロモソルブ101は水溶液を注入することのできる特性をもっているが、この場合キャリアガス中か試料中にギ酸を添加することが必要である⁵⁾といわれている。

表2 ギ酸添加による酢酸ピークの安定性の向上
(mm)

酢酸 mg/ml	ギ酸無添加		ギ酸添加	
	n	̄ ± S.D.	n	̄ ± S.D.
0.2	4	22.9±2.7	6	22.4±0.3
0.4	4	59.4±4.2	6	56.3±0.7
0.6	4	91.5±2.5	6	94.0±2.2
0.8	4	128.5±16.5	6	127.9±1.4
1.0	4	169.1±19.2	6	166.2±5.2

そこで、酢酸標準液についてガスクロマトグラフィーを行ない、ギ酸添加の効果を検討した。表2にその成績を示したが、0.5mg/mlの濃度になるようにギ酸を添加することによって、クロマトグラム上の酢酸のピーク高さの再現性が著しく向上した。⁶⁾

4. 添加回収試験

酢酸濃度既知の赤ブドウ酒50mlに、酢酸を20, 50, 100, 200mg添加して回収試験を行なったところ、表3に示す結果が得られた。赤ブドウ酒には揮発性低分子物質が多数存在する⁷⁾ことが知られているが、本定量法でのクロマトグラム上に何ら妨害ピークを認めなかった。

5. 食品中の酢酸

酢酸が添加してある食品としてマヨネーズとソースを、また無添加の食品としてしょうゆとブドウ酒を、各々2検体ずつ本定量法により分析した。分析結果は表4に示した。

表3 赤ブドウ酒による添加回収試験

酢酸添加量 (mg/50ml)	n	回収率 (%)	
		̄ ± S.D.	
20	3	87.4 ± 6.2	
50	3	96.5 ± 4.6	
100	3	99.9 ± 3.8	
200	3	97.9 ± 6.3	

表4 食品中の酢酸 (mg/g)

食 品 名	酢 酸
マヨネーズ	8.5
	4.8
ソース	14.6
	12.6
しょうゆ	0.69
	0.74
ブドウ酒	0.85
	0.28

ま と め

AOAC法と薬学会法をもとに、食品中の酢酸のガスクロマトグラフィーによる定量法を確立した。食品中の酢酸は酒石酸と塩化ナトリウムの添加で容易に水蒸気蒸留され、留液200mlを採取することにより完全に回収された。また、水酸化ナトリウム添加一減圧濃縮一イオン交換樹脂カラム処理によって、ガスクロマトグラム上に妨害ピークを見ない試験溶液が得られた。ガスクロマトグラフィーの際、ギ酸を添加することにより再現性よく検出された。

- 参考文献
- 第三回改正国税庁所定分析法注解, 60~61, 日本醸造協会 (1974)。
 - Official Methods of Analysis of the AOAC, 13th, 300~302 (1980)。
 - 日本薬学会:衛生試験法・注解, 323~325, 金原出版 (1965)。

本研究では、主として市販の醸造酒類を用いて、その中で最も多く含まれるアミノ酸の種類と量を測定する方法を確立した。また、その他のアミノ酸の存在を確認するため、アミノ酸の標準溶液を用いて、アミノ酸の種類と量を測定する方法を確立した。この結果、アミノ酸の種類と量を測定する方法を確立した。

測定結果の概要 (表 2 参照)

(%) 測定値	標準誤差 (mmol/L)
1.2 ± 0.1	± 0.05
9.5 ± 1.58	± 0.15
8.5 ± 0.89	± 0.08
6.8 ± 0.99	± 0.09
6.3 ± 0.79	± 0.07

品目	醸造食品	本数
1	清酒	1
2	日本酒	1
3	焼酎	1
4	威士忌	1
5	ウイスキー	1
6	ビール	1
7	カクテル	1
8	ソーラー	1
9	カクテル	1
10	カクテル	1
11	カクテル	1
12	カクテル	1
13	カクテル	1
14	カクテル	1
15	カクテル	1
16	カクテル	1
17	カクテル	1
18	カクテル	1
19	カクテル	1
20	カクテル	1
21	カクテル	1
22	カクテル	1
23	カクテル	1
24	カクテル	1
25	カクテル	1
26	カクテル	1
27	カクテル	1
28	カクテル	1
29	カクテル	1
30	カクテル	1
31	カクテル	1
32	カクテル	1
33	カクテル	1
34	カクテル	1
35	カクテル	1
36	カクテル	1
37	カクテル	1
38	カクテル	1
39	カクテル	1
40	カクテル	1
41	カクテル	1
42	カクテル	1
43	カクテル	1
44	カクテル	1
45	カクテル	1
46	カクテル	1
47	カクテル	1
48	カクテル	1
49	カクテル	1
50	カクテル	1
51	カクテル	1
52	カクテル	1
53	カクテル	1
54	カクテル	1
55	カクテル	1
56	カクテル	1
57	カクテル	1
58	カクテル	1
59	カクテル	1
60	カクテル	1
61	カクテル	1
62	カクテル	1
63	カクテル	1
64	カクテル	1
65	カクテル	1
66	カクテル	1
67	カクテル	1
68	カクテル	1
69	カクテル	1
70	カクテル	1
71	カクテル	1
72	カクテル	1
73	カクテル	1
74	カクテル	1
75	カクテル	1
76	カクテル	1
77	カクテル	1
78	カクテル	1
79	カクテル	1
80	カクテル	1
81	カクテル	1
82	カクテル	1
83	カクテル	1
84	カクテル	1
85	カクテル	1
86	カクテル	1
87	カクテル	1
88	カクテル	1
89	カクテル	1
90	カクテル	1
91	カクテル	1
92	カクテル	1
93	カクテル	1
94	カクテル	1
95	カクテル	1
96	カクテル	1
97	カクテル	1
98	カクテル	1
99	カクテル	1
100	カクテル	1
101	カクテル	1
102	カクテル	1
103	カクテル	1
104	カクテル	1
105	カクテル	1
106	カクテル	1
107	カクテル	1
108	カクテル	1
109	カクテル	1
110	カクテル	1
111	カクテル	1
112	カクテル	1
113	カクテル	1
114	カクテル	1
115	カクテル	1
116	カクテル	1
117	カクテル	1
118	カクテル	1
119	カクテル	1
120	カクテル	1
121	カクテル	1
122	カクテル	1
123	カクテル	1
124	カクテル	1
125	カクテル	1
126	カクテル	1
127	カクテル	1
128	カクテル	1
129	カクテル	1
130	カクテル	1
131	カクテル	1
132	カクテル	1
133	カクテル	1
134	カクテル	1
135	カクテル	1
136	カクテル	1
137	カクテル	1
138	カクテル	1
139	カクテル	1
140	カクテル	1
141	カクテル	1
142	カクテル	1
143	カクテル	1
144	カクテル	1
145	カクテル	1
146	カクテル	1
147	カクテル	1
148	カクテル	1
149	カクテル	1
150	カクテル	1
151	カクテル	1
152	カクテル	1
153	カクテル	1
154	カクテル	1
155	カクテル	1
156	カクテル	1
157	カクテル	1
158	カクテル	1
159	カクテル	1
160	カクテル	1
161	カクテル	1
162	カクテル	1
163	カクテル	1
164	カクテル	1
165	カクテル	1
166	カクテル	1
167	カクテル	1
168	カクテル	1
169	カクテル	1
170	カクテル	1
171	カクテル	1
172	カクテル	1
173	カクテル	1
174	カクテル	1
175	カクテル	1
176	カクテル	1
177	カクテル	1
178	カクテル	1
179	カクテル	1
180	カクテル	1
181	カクテル	1
182	カクテル	1
183	カクテル	1
184	カクテル	1
185	カクテル	1
186	カクテル	1
187	カクテル	1
188	カクテル	1
189	カクテル	1
190	カクテル	1
191	カクテル	1
192	カクテル	1
193	カクテル	1
194	カクテル	1
195	カクテル	1
196	カクテル	1
197	カクテル	1
198	カクテル	1
199	カクテル	1
200	カクテル	1
201	カクテル	1
202	カクテル	1
203	カクテル	1
204	カクテル	1
205	カクテル	1
206	カクテル	1
207	カクテル	1
208	カクテル	1
209	カクテル	1
210	カクテル	1
211	カクテル	1
212	カクテル	1
213	カクテル	1
214	カクテル	1
215	カクテル	1
216	カクテル	1
217	カクテル	1
218	カクテル	1
219	カクテル	1
220	カクテル	1
221	カクテル	1
222	カクテル	1
223	カクテル	1
224	カクテル	1
225	カクテル	1
226	カクテル	1
227	カクテル	1
228	カクテル	1
229	カクテル	1
230	カクテル	1
231	カクテル	1
232	カクテル	1
233	カクテル	1
234	カクテル	1
235	カクテル	1
236	カクテル	1
237	カクテル	1
238	カクテル	1
239	カクテル	1
240	カクテル	1
241	カクテル	1
242	カクテル	1
243	カクテル	1
244	カクテル	1
245	カクテル	1
246	カクテル	1
247	カクテル	1
248	カクテル	1
249	カクテル	1
250	カクテル	1
251	カクテル	1
252	カクテル	1
253	カクテル	1
254	カクテル	1
255	カクテル	1
256	カクテル	1
257	カクテル	1
258	カクテル	1
259	カクテル	1
260	カクテル	1
261	カクテル	1
262	カクテル	1
263	カクテル	1
264	カクテル	1
265	カクテル	1
266	カクテル	1
267	カクテル	1
268	カクテル	1
269	カクテル	1
270	カクテル	1
271	カクテル	1
272	カクテル	1
273	カクテル	1
274	カクテル	1
275	カクテル	1
276	カクテル	1
277	カクテル	1
278	カクテル	1
279	カクテル	1
280	カクテル	1
281	カクテル	1
282	カクテル	1
283	カクテル	1
284	カクテル	1
285	カクテル	1
286	カクテル	1
287	カクテル	1
288	カクテル	1
289	カクテル	1
290	カクテル	1
291	カクテル	1
292	カクテル	1
293	カクテル	1
294	カクテル	1
295	カクテル	1
296	カクテル	1
297	カクテル	1
298	カクテル	1
299	カクテル	1
300	カクテル	1
301	カクテル	1
302	カクテル	1
303	カクテル	1
304	カクテル	1
305	カクテル	1
306	カクテル	1
307	カクテル	1
308	カクテル	1
309	カクテル	1
310	カクテル	1
311	カクテル	1
312	カクテル	1
313	カクテル	1
314	カクテル	1
315	カクテル	1
316	カクテル	1
317	カクテル	1
318	カクテル	1
319	カクテル	1
320	カクテル	1
321	カクテル	1
322	カクテル	1
323	カクテル	1
324	カクテル	1
325	カクテル	1
326	カクテル	1
327	カクテル	1
328	カクテル	1
329	カクテル	1
330	カクテル	1
331	カクテル	1
332	カクテル	1
333	カクテル	1
334	カクテル	1
335	カクテル	1
336	カクテル	1
337	カクテル	1
338	カクテル	1
339	カクテル	1
340	カクテル	1
341	カクテル	1
342	カクテル	1
343	カクテル	1
344	カクテル	1
345	カクテル	1
346	カクテル	1
347	カクテル	1
348	カクテル	1
349	カクテル	1
350	カクテル	1
351	カクテル	1
352	カクテル	1
353	カクテル	1
354	カクテル	1
355	カクテル	1
356	カクテル	1
357	カクテル	1
358	カクテル	1
359	カクテル	1
360	カクテル	1
361	カクテル	1
362	カクテル	1
363	カクテル	1
364	カクテル	1
365	カクテル	1
366	カクテル	1
367	カクテル	1
368	カクテル	1
369	カクテル	1
370	カクテル	1
371	カクテル	1
372	カクテル	1
373	カクテル	1
374	カクテル	1
375	カクテル	1
376	カクテル	1
377	カクテル	1
378	カクテル	1
379	カクテル	1
380	カクテル	1
381	カクテル	1
382	カクテル	1
383	カクテル	1
384	カクテル	1
385	カクテル	1
386	カクテル	1
387	カクテル	1
388	カクテル	1
389	カクテル	1
390	カクテル	1
391	カクテル	1
392	カクテル	1
393	カクテル	1
394	カクテル	1
395	カクテル	1
396	カクテル	1
397	カクテル	1
398	カクテル	1
399	カクテル	1
400	カクテル	1
401	カクテル	1
402	カクテル	1
403	カクテル	1
404	カクテル	1
405	カクテル	1
406	カクテル	1
407	カクテル	1
408	カクテル	1
409	カクテル	1
410	カクテル	1
411	カクテル	1
412	カクテル	1
413	カクテル	1
414	カクテル	1
415	カクテル	1
416	カクテル	1
417	カクテル	1
418	カクテル	1
419	カクテル	1
420	カクテル	1
421	カクテル	1
422	カクテル	1
423	カクテル	1
424	カクテ	