

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：ロータリーエバポレーター
- (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、ロータリーエバポ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CG120H⁺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。

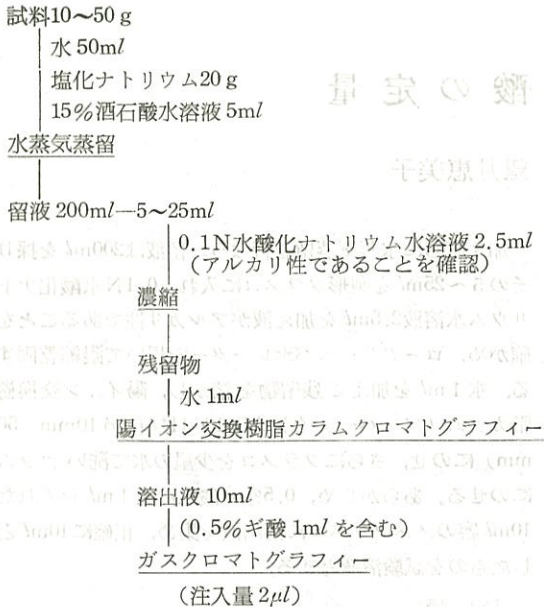


図1 食品中の酢酸定量法

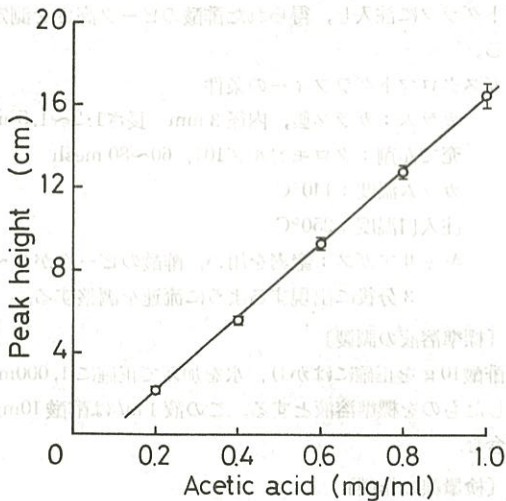


図2 酢酸の検量線

表1 水蒸気蒸留条件の検討

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

酢酸標準液: 10mg/ml

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%リンタンクステン酸水溶液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 \pm 1.7%と良好であった。

つぎ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

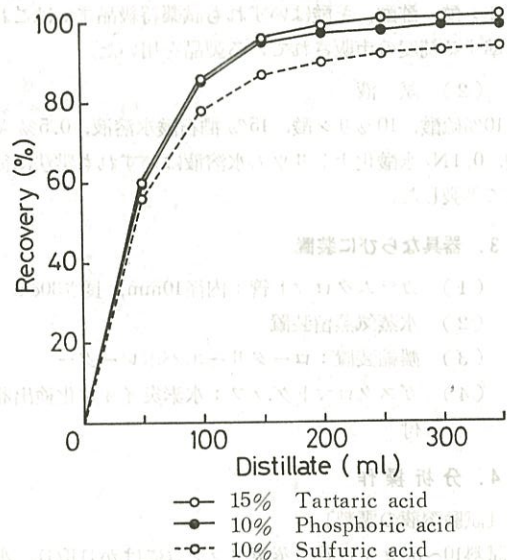


図3 酸の酢酸留出効果

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。

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 ジクロロ酢酸・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 CG120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 5 mg 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 ABS を担体として、液相はエチレンジクロールアジペート（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	$\bar{x} \pm S.D.$	n	$\bar{x} \pm S.D.$
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。

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⁶⁾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 (%)
		$\bar{x} \pm S.D.$
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	1	8.5
	2	4.8
ソース	1	14.6
	2	12.6
しょうゆ	1	0.69
	2	0.74
ブドウ酒	1	0.85
	2	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-減圧濃縮-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。

文 献

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

- 版(1980)
- 4) 庄野利之: 和光純薬時報 48, 3~11 (1980)
- 5) Ackman R. G.: J. Chromatogr. Sci. 10, 560 (1972)
- 6) 塩野香料商報 No. 200, 11~12 (1978)

2. 2 試料中の品名

試料中の品名は、分析結果から推定される。分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。

表 3 試料中の品名

品名 (試)	n	検出濃度 (ppm)
1	3	30
2	3	30
3	3	100
4	3	300

表 4 検出濃度 (ppm)

品名	検出濃度 (ppm)
1	0.8
2	4.2
3	14.1
4	15.6
5	0.6
6	0.34
7	0.8
8	0.28

考 察

試料中の品名は、分析結果から推定される。分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。

3. 3 カスタムロイヤルマール

カスタムロイヤルマールの分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。分析結果は、分析結果表に示す通りである。

表 5 カスタムロイヤルマールの分析結果

品名	n	検出濃度 (ppm)
1	4	35.9 ± 5.7
2	4	36.3 ± 0.3
3	4	31.2 ± 2.3
4	4	138.2 ± 18.2
5	4	107.1 ± 9.2