

# ソルビン酸・安息香酸・デヒドロ酢酸混合標準溶液の長期安定性

牟田朱美・浜崎志帆・宮崎悦子

福岡市保健環境研究所保健科学課

## Long-term stability of standard mixture of sorbic acid , benzoic acid and dehydroacetic acid

Akemi MUTA , Shiho HAMASAKI and Etsuko MIYAZAKI

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

### 要約

検査の信頼性確保を目的として、保存料（ソルビン酸（SOA）、安息香酸（BA）、デヒドロ酢酸（DHA））の一斉分析に使用する混合標準溶液の長期安定性について調査した。各標準原液を分取しエタノールで 1,000 $\mu$ g/mL に調製後 4 $^{\circ}$ C で 184 日間保存し、経時変化を記録した。その結果、SOA、BA、DHA の濃度はいずれも調製時と比較して $\pm 5\%$ を超える大幅な変化はなく、4 $^{\circ}$ C における 180 日間の保存は問題がないことを確認した。また、調製溶媒を水に変更した混合水溶液についても同様に保存試験を行った結果、SOA は 30 日経過後で調製時の 77%、90 日経過後で 30%、180 日経過後で 16%と経時的な減衰が認められ、DHA は 180 日経過後で調製時の 94%に減少し、溶媒の違いによる標準物質の安定性の差異が明らかとなった。

**Key Words** : ソルビン酸 sorbic acid, 安息香酸 benzoic acid, デヒドロ酢酸 dehydroacetic acid, 長期安定性 long-term stability, 高速液体クロマトグラフ HPLC

## 1 はじめに

保存料は、食品の保存性を高めることを目的として、使用が認められた多くの食品に使用されている。

当研究所では、食品の収去検査において、HPLC 法による保存料（ソルビン酸（SOA）、安息香酸（BA）、デヒドロ酢酸（DHA））の一斉分析を行っている。検査には、SOA、BA、DHA 各標準原液を分取し、エタノールで調製した 3 種混合標準溶液を用いており、この使用期限は経験的に調製日から 180 日間と規定していた。HPLC 測定の際、使用時点検として前回の検量線作成用標準溶液のピーク面積と比較して変化の割合が $\pm 5\%$ の規定範囲内であることを毎回確認しているものの、長期保存による成分の挙動を検証したデータはなかった。

当研究所が行う食品添加物の検査の中で、保存料は依頼数及び検出事例も多く、違反事例もあることから、今回、検査の信頼性確保を目的として、3 種混合標準溶液について、4 $^{\circ}$ C における 184 日間の保存試験を実施した。また、調製に用いる溶媒を、3 種混合標準溶液を元に検量線を作成する時の希釈溶媒である水とした 3 種混合水溶液についても同様に保存試験を行い、溶媒の違いによ

る長期保存性の差異について調査した。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

保存試験用 3 種混合標準溶液（以下、標準溶液 A と略す）：褐色メスフラスコ（50mL 容）に SOA、BA、DHA 各標準原液を混合し、エタノールで 1,000 $\mu$ g/mL に調製した。

3 種混合水溶液（以下、標準溶液 B と略す）：褐色メスフラスコ（50mL 容）に各標準原液を混合し、水で 1,000 $\mu$ g/mL に調製した。

いずれも 4 $^{\circ}$ C で 184 日間保存した。

### 2.2 試薬等

標準品：SOA は関東化学（株）製鹿特級、BA は和光純薬工業（株）製試薬特級、DHA は東京化成工業（株）製東京化成 1 級を使用した。

標準原液：各標準品 1,000mg を精秤し、エタノールで 10,000 $\mu$ g/mL に調製した。

3種混合標準溶液:各標準原液を混合し1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるようエタノールで希釈した。

検量線作成用混合標準溶液:3種混合標準溶液を0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるよう水で希釈した。

エタノール:和光純薬工業(株)製試薬特級を使用した。

アセトニトリル:和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフ用を使用した。

## 2.3 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ(HPLC)は、溶媒脱気装置:DGU-20A<sub>5R</sub>,送液ポンプ:LC-30AD,オートサンプラー:CBM-20A,フォトダイオードアレイ検出器:SPD-M30A,カラム恒温槽:CTO-20AC,システムコントローラー:CTO-20AC(以上,全て島津製作所製)を使用した。LC条件は表1に示した<sup>1)</sup>。

表1 LC条件

分析カラム	Inertsil Ph 2.1 $\times$ 150mm, 5 $\mu\text{m}$ (GLサイエンス社製)
カラム温度	25 $^{\circ}\text{C}$
移動相	A液:B液=9:1 A液:2mmol/Lリン酸緩衝液(pH3.0) B液:アセトニトリル
流量	0.2mL/min
注入量	4 $\mu\text{L}$
測定波長	230nm

## 2.4 分析方法

標準溶液A及び標準溶液Bを測定時に室温に戻し,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるよう水で希釈した試験溶液をHPLCに注入し,得られたクロマトグラムのピーク面積から絶対検量線法により各保存料の濃度を求めた。また,検量線の範囲外のものについては外挿して濃度を求めた。今回の試験では,検量線作成用混合標準溶液及び各保存料それぞれの希釈操作による誤差を考慮し,調製時の濃度 $\pm 5\%$ の変動を許容範囲とした。

測定時には,各標準原液から毎回新たに調製した検量線作成用混合標準溶液を同様に測定し,直線性( $r^2 \geq 0.99$ )及び前回の検量線作成用混合標準溶液とのピーク面積比が $\pm 5\%$ の範囲内であることを確認した。

## 3 実験結果及び考察

標準溶液Aを調製し,4 $^{\circ}\text{C}$ における184日間の保存試験を行った。各保存料の濃度推移を表2に示した。180日経過後の各保存料の濃度は,SOAが10.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,BA

が10.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,DHAが9.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また,調製時の濃度を100%とした時の184日間の濃度変化は,SOAが99~104%,BAが99~103%,DHAが98~102%であり,いずれも $\pm 5\%$ の範囲内の変動であった。このことから,一斉分析に使用する3種混合標準溶液の信頼性が確認された。

一方,溶媒を水とした標準溶液Bの保存試験では,180日経過後の各保存料の濃度は,SOAが1.58 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,BAが10.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,DHAが9.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。また,調製時の濃度を100%とした時の濃度変化としては,SOAは30日経過後が77%,90日経過後が30%,180日経過後が16%と経時的な減衰が認められた(図2)。BAの184日間の濃度変化は97~101%であり, $\pm 5\%$ の範囲内の変動であった。DHAの濃度変化は,15日経過後が96%であり,その後は180日経過後まで92~97%を維持しており,約5%の減少が認められた。このことより,溶媒の違いによる標準溶液の長期安定性の差異が明らかとなった。

また,HPLC法による測定では,標準溶液Aは,調製時のクロマトグラムと比較して,180日経過後のクロマトグラムに変化は認められなかった(図3,図4)。一方,標準溶液Bの180日経過後のクロマトグラム上には,保持時間3分,5分及び7.5分付近に,調製時のクロマトグラムには認められないSOAの分解物と考えられる未知ピークが確認された。

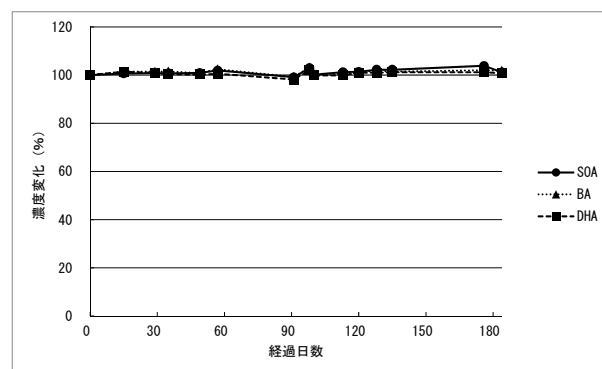


図1 標準溶液Aの濃度変化

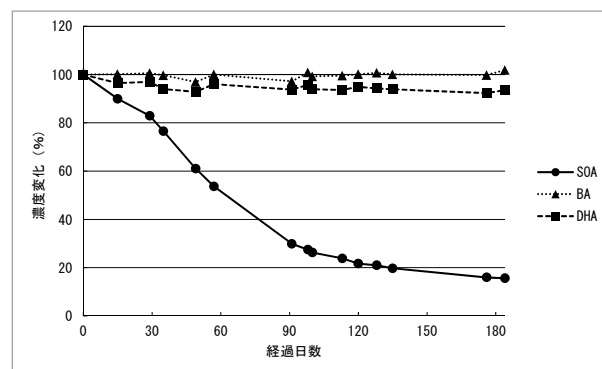


図2 標準溶液Bの濃度変化

表2 各保存料の濃度推移 単位 (µg/mL)

経過日数	標準溶液A			標準溶液B		
	SOA	BA	DHA	SOA	BA	DHA
0	9.96	9.82	9.80	10.10	9.97	9.98
15	10.02	9.97	9.94	9.08	9.99	9.63
29	10.04	9.97	9.89	8.37	10.03	9.68
35	10.03	9.97	9.85	7.73	9.94	9.38
49	10.05	9.91	9.82	6.17	9.66	9.27
57	10.15	10.06	9.86	5.42	9.97	9.58
91	9.87	9.75	9.62	3.02	9.69	9.36
98	10.25	10.14	10.01	2.78	10.06	9.55
100	9.97	9.87	9.79	2.66	9.90	9.37
113	10.08	9.88	9.80	2.41	9.93	9.34
120	10.10	9.93	9.90	2.19	9.98	9.47
128	10.18	10.02	9.90	2.12	10.04	9.41
135	10.18	9.97	9.92	1.99	9.98	9.37
176	10.34	10.02	9.92	1.61	9.95	9.21
184	10.07	10.01	9.88	1.58	10.16	9.34

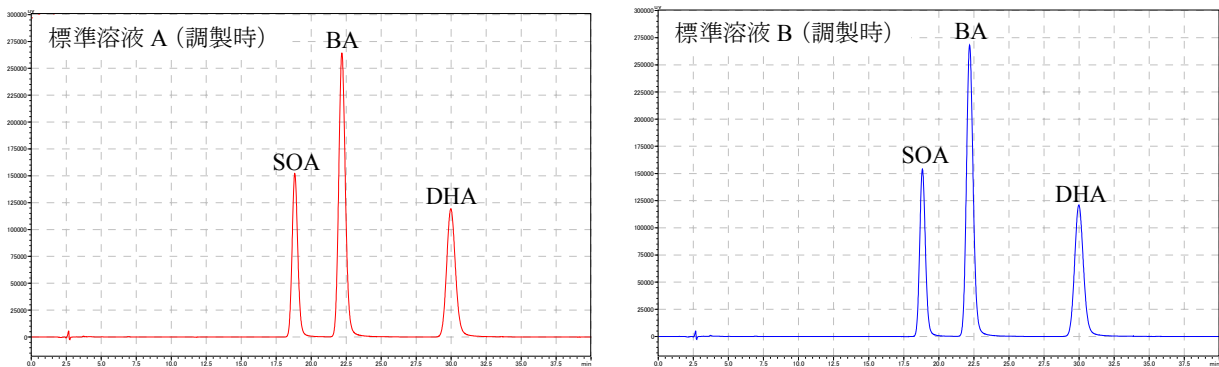


図3 左；標準溶液 A, 右；標準溶液 B (いずれも調製時) のクロマトグラム

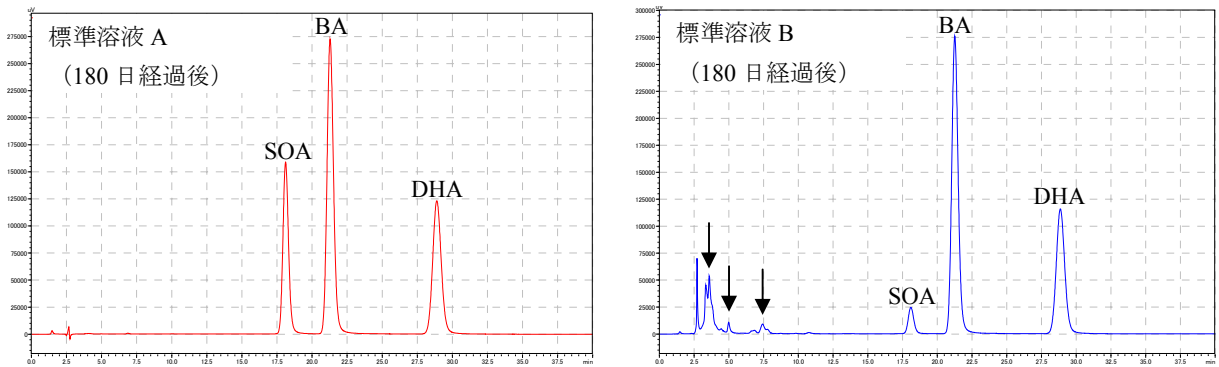


図4 左；標準溶液 A, 右；標準溶液 B (いずれも 180 日経過後) のクロマトグラム

#### 4 まとめ

検査の信頼性確保を目的として、保存料 (SOA, BA, DHA) の 3 種混合標準溶液の長期安定性を調べるため、4°C における 184 日間の保存試験を実施した。その結果、SOA, BA, DHA の濃度は、調製時と濃度と比較していずれも ±5% の範囲内であったことから、検査で用いる 3 種混合標準溶液の 4°C における 180 日間の保存は問題がないことを確認した。また、調製に用いる溶媒を水に変更した 3 種混合水溶液について同様に保存試験を実施したところ、SOA の経時的な減衰及び DHA の 5% 程度の減

少が認められ、180 日経過後の HPLC クロマトグラム上には SOA の分解物と考えられる未知ピークが確認された。標準溶液の安定性は調製に用いる溶媒によって異なるため、溶媒を選択、変更する際には、溶解性だけでなく安定性の確認も行うことが重要である。

#### 文献

- 1) 厚生労働省監修 日本食品衛生協会：食品衛生検査指針 食品添加物編 2003