

# ソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸標準溶液の調製溶媒 による安定性の比較

近藤芳和子・宮崎悦子\*・大木望・江副サハラ・坂本智徳

福岡市保健環境研究所保健科学課

\*福岡市保健環境研究所環境科学課

## Stability of Sorbic acid, Benzoic acid and Dehydroacetic acid in Methanol and Ethanol as the Solvent

Kanako KONDO, Etsuko MIYAZAKI\*, Nozomi OOKI, Sahara EZOE  
and Tomonori SAKAMOTO

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

\*Environmental Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

### 要約

福岡市保健環境研究所では、食品中の保存料(ソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸)について、主な食品はカレーズ抽出、一部の食品は水蒸気蒸留により抽出後、フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフを用いて測定し、一斉分析を行っている。二種類の抽出法それぞれで添加回収試験を行ったところ、水蒸気蒸留にて抽出する方法の結果にばらつきを認めた事例があった。カレーズ抽出による一斉分析では、エタノールで調製した標準溶液を用いているが、水蒸気蒸留による一斉分析では、「第2版 食品中の食品添加物分析法」に従いメタノールで調製した標準溶液を用いている。そのため、調製溶媒の違いを評価した。2016年の牟田らの報告からエタノールを用いて1000 µg/mLに調製した混合標準溶液は180日間安定していたため、調製溶媒の違いによる経時的な安定性は低濃度の方が評価しやすいと考え、10 µg/mLに調製した標準溶液の経時的な安定性を評価した。10 µg/mLに調製後4°Cで保存し、調製から0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36及び48週後にフォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフで測定した。その結果、メタノールで調製した標準溶液及びエタノールで調製した標準溶液の間で大きな差は認められなかった。

**Key Words** : ソルビン酸 sorbic acid, 安息香酸 benzoic acid, デヒドロ酢酸 dehydroacetic acid, 溶媒 solvent, 高速液体クロマトグラフ high performance liquid chromatograph (HPLC)

### 1 はじめに

ソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸は、微生物の増殖を抑制し、保存性を高めることを目的に広く使用されている食品添加物である。福岡市保健環境研究所では、食品中のソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸について、主な食品についてはカレーズ抽出<sup>1)</sup>にて、一部の食品については水蒸気蒸留にて抽出後、フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフ(以下、「HPLC-PDA」とする。)を用いて測定し、一斉分析を

行っている。二種類の抽出法それぞれで添加回収試験を行ったところ、水蒸気蒸留にて抽出する方法の結果にばらつきを認めた事例があった。カレーズ抽出による一斉分析では、エタノールで調製した標準溶液を用いているが、水蒸気蒸留による一斉分析では、「第2版 食品中の食品添加物分析法」<sup>2)</sup>に従いメタノールで調製した標準溶液を用いている。そのため、調製溶媒の違いを評価した。エタノールを用いて1000 µg/mLに調製した混合標準溶液は180日間安定していた<sup>3)</sup>ため、調製溶媒の違いによる経時的な安定性は低濃度の方が評価しやすいと考

え, 10 µg/mL に調製した標準溶液の経時的な安定性を評価した。

## 2 方法

### 2.1 標準品及び試薬等

ソルビン酸標準品：関東化学（株）鹿特級を用いた。

安息香酸標準品：富士フィルム和光純薬（株）和光特級を用いた。

デヒドロ酢酸標準品：富士フィルム和光純薬（株）和光特級を用いた。

メタノール：富士フィルム和光純薬（株）高速液体クロマトグラフ用を用いた。

エタノール：富士フィルム和光純薬（株）高速液体クロマトグラフ用を用いた。

アセトニトリル：富士フィルム和光純薬（株）高速液体クロマトグラフ用を用いた。

各メタノール調製標準原液：ソルビン酸，安息香酸又はデヒドロ酢酸それぞれの標準品を 100 mg 精秤し，メタノールで溶解後正確に 100 mL とした。

(1000 µg/mL)

各エタノール調製標準原液：ソルビン酸，安息香酸又はデヒドロ酢酸それぞれの標準品を 100 mg 精秤し，エタノールで溶解後正確に 100 mL とした。

(1000 µg/mL)

### 2.2 試験溶液の調製

試験溶液の調製溶媒及び標準品を表 1 に示す。

表 1 試験溶液中の調製溶媒及び標準品

試験溶液 No.	調製溶媒	標準品
(1)	メタノール	ソルビン酸
(2)	メタノール	安息香酸
(3)	メタノール	デヒドロ酢酸
(4)	エタノール	ソルビン酸
(5)	エタノール	安息香酸
(6)	エタノール	デヒドロ酢酸
(7)	メタノール	ソルビン酸, 安息香酸 及びデヒドロ酢酸
(8)	エタノール	ソルビン酸, 安息香酸 及びデヒドロ酢酸

試験溶液 No. (1) ~ (3) : 各メタノール調製標準原液を正確に 1 mL とり, メタノールで 100 mL に定容した。  
(各 10 µg/mL)

試験溶液 No. (4) ~ (6) : 各エタノール調製標準原液を正確に 1 mL とり, エタノールで 100 mL に定容した。  
(各 10 µg/mL)

試験溶液 No. (7) : ソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸のメタノール調製標準原液をそれぞれ正確に 1 mL ずつ混合し, メタノールで 100 mL に定容した。(各 10 µg/mL)

試験溶液 No. (8) : ソルビン酸, 安息香酸及びデヒドロ酢酸のエタノール調製標準原液をそれぞれ正確に 1 mL ずつ混合し, エタノールで 100 mL に定容した。(各 10 µg/mL)

### 2.3 装置及び測定条件

HPLC-PDA は, 溶媒脱気装置 : DGU-20A<sub>SR</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, カラム恒温槽及び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。HPLC-PDA の測定条件を表 2 に示す。

表 2 HPLC-PDA の測定条件

カラム	Inertsil Ph 2.1 × 150 mm, 5 µm
カラム温度	25°C
移動相 A	2 mmol/L リン酸緩衝液 (pH3.0)
移動相 B	アセトニトリル
移動相混合比率	A液 : B液 = 9 : 1 (Isocratic)
流速	0.2 mL/min
注入量	4 µL
サンプル温度	4°C
測定波長	230 nm

### 2.4 安定性の評価方法

#### 2.4.1 保存条件

2.2 のとおり調製した各試験溶液を 4°C (冷蔵庫) で保存した。試験期間中に複数回開閉及び採取を繰り返すことによる温度の影響を排除するため, 各試験溶液は 1.5 mL ずつ 2 mL 容褐色ガラス製バイアルに予め採取した上で, バイアルラックに立て保存した。なお, 冷蔵庫は当所の機器保守標準作業書に基づいて管理しているものを用いた。

#### 2.4.2 保存期間及び測定時期

各試験溶液の保存期間は 48 週間とした。測定時期は, 調製日, 調製日から約 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36 及び 48 週間とし, 試験溶液 No. (1) ~ (8) (以下, 「(1) ~ (8)」とする。) の各試験溶液について 3 バイアルずつを冷蔵庫から取り出し測定した。

### 2.4.3 保存安定性評価

各試験溶液中のピーク面積値を測定日毎に、調製日のピーク面積値で除し面積比を求めた。調製日の面積比を100%とし、過去の報告<sup>2, 4)</sup>を参考に調製日から5%の減少を許容誤差として設定し、安定性を評価した。

### 3 実験結果及び考察

各標準品の単一溶液である(1)～(6)におけるソルビン酸、安息香酸及びデヒドロ酢酸の面積比を調製溶媒ごとに比較した。メタノールで調製した(1)～(3)の面積比を表3に、エタノールで調製した(4)～(6)の面積比を表4に示す。1つずつメタノールで調製した(1)～(3)は、ソルビン酸の面積比は20週後まで、安息香酸の面積比は48週後まで、デヒドロ酢酸の面積比は12週後まで95%以上であった。1つずつエタノールで調製した(4)～(6)は、ソルビン酸の面積比は36週まで、安息香酸の面積比は48週後まで、デヒドロ酢酸の面積比は12週後まで95%以上であった。ソルビン酸及び安息香酸標準溶液の面積比はメタノール及びエタノールで2%を超える大きな差はなかった。

次に、標準品の混合溶液である(7)及び(8)におけるソルビン酸、安息香酸及びデヒドロ酢酸の面積比を調

製溶媒ごとに比較した。メタノールで調製した(7)の面積比を表5に、エタノールで調製した(8)の面積比を表6に示す。3つを混合してメタノールで調製した(7)は、ソルビン酸及び安息香酸の面積比は48週後まで、デヒドロ酢酸の面積比は12週後まで95%以上であった。3つを混合してエタノールで調製した(8)は、ソルビン酸の面積比は36週後まで、安息香酸の面積比は48週後まで、デヒドロ酢酸の面積比は16週後まで95%以上であった。

(7)及び(8)の混合溶液の場合、36週後までソルビン酸及び安息香酸の面積比はメタノール及びエタノールで大きな差はなかったが、48週後ではメタノールで調製した方が面積比は大きかった。48週後のデヒドロ酢酸の面積比は、メタノールで調製した方が面積比は10%高かった。

以上の結果から、ソルビン酸、安息香酸及びデヒドロ酢酸標準溶液を調製する際の溶媒として、メタノール及びエタノールの36週後までの面積比は3%以内の差であった。また、今回の条件下ではメタノール及びエタノールのどちらにおいても、デヒドロ酢酸は単一溶液よりも混合溶液として保存した方が、安定性が高かった。

表3 メタノールを用いて調製した試験溶液 No. (1)～(3) の面積比

試験溶液 No.	測定ピーク	経過週数毎の面積比 (%)											
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	36	48
(1)	ソルビン酸	100	97	96	95	97	95	96	95	95	94	96	94
(2)	安息香酸	100	98	98	97	98	97	98	97	97	96	97	96
(3)	デヒドロ酢酸	100	98	98	97	96	96	95	92	93	89	85	84

■ 95%未満の面積比

表4 エタノールを用いて調製した試験溶液 No. (4)～(6) の面積比

試験溶液 No.	測定ピーク	経過週数毎の面積比 (%)											
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	36	48
(4)	ソルビン酸	100	97	97	97	97	96	96	96	96	95	96	94
(5)	安息香酸	100	99	98	99	99	98	98	98	97	97	97	95
(6)	デヒドロ酢酸	100	98	97	97	97	96	95	94	91	89	86	80

■ 95%未満の面積比

表5 メタノールを用いて調製した試験溶液 No. (7) の面積比

試験溶液 No.	測定ピーク	経過週数毎の面積比 (%)											
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	36	48
(7)	ソルビン酸	100	97	97	97	98	97	96	96	96	95	97	95
	安息香酸	100	99	98	99	100	99	98	98	97	97	98	97
	デヒドロ酢酸	100	99	98	98	99	96	96	94	93	94	92	91

95%未満の面積比

表6 エタノールを用いて調製した試験溶液 No. (8) の面積比

試験溶液 No.	測定ピーク	経過週数毎の面積比 (%)											
		0	1	2	3	4	8	12	16	20	24	36	48
(8)	ソルビン酸	100	97	97	97	97	96	96	96	96	95	96	92
	安息香酸	100	99	98	99	98	99	98	97	98	98	98	95
	デヒドロ酢酸	100	99	98	99	98	98	97	95	93	91	89	82

95%未満の面積比

#### 4 まとめ

ソルビン酸、安息香酸及びデヒドロ酢酸の一斉分析で用いているメタノール及びエタノールで調製した標準溶液の安定性を比較した。10 µg/mL の標準溶液をメタノール及びエタノールを用いて調製した後、4°Cにて保存し、調製から0, 1, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 36及び48週後にHPLC-PDAにて測定した。また、混合溶液も同様に測定した。

その結果、調製溶媒としてメタノール及びエタノールのどちらを用いても、36週後までは安定性に大きな差は認められなかった。また、今回の条件下では、メタノール及びエタノールのどちらの溶媒を用いても、混合溶液の方が単一溶液よりも安定性が高かった。

#### 文献

- 1) 牟田朱美, 他: Carrez 抽出を用いた加工食品中の保存料・甘味料一斉分析に伴う不確かさの推定 日本食品化学学会誌 25 巻 3 号 167~173, 2018
- 2) 厚生省生活衛生局食品化学課長通知衛化第15号: 食品中の食品添加物分析法について 別添「第2版 食品中の食品添加物分析法」, 平成12年(2000年)3月30日
- 3) 牟田朱美, 他: 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, 福岡市保健環境研究所報, 42, 178-180, 2016
- 4) 小出石千明, 他: フェノール系酸化防止剤混合標準溶液の長期安定性, 福岡市保健環境研究所報, 47, 121-128, 2022