

<7> 添加物の測定法に関する研究 (第2報)

— ガスクロマトグラフィーによる食品中の
サツカリンナトリウムの定量について —

Studies on Analysis of Food Additives. (Part 2)

— Determination of Saccharin Sodium in Food by Gas
Chromatography. —

理化学課 大 森 茂 師 尾 寿 子
白 石 由 美 子 川 越 章 善
富 所 謙 吉

I 緒 言

サツカリンナトリウム(以下S.S.)は、我国のみならず、世界各国で広く用いられている人工甘味料である。またズルチン、サイクラミン酸ナトリウムの使用が禁止された現在、S.S.の重要性が増大してきた。そのうえ、昭和48年12月にS.S.の使用基準値が定められたが、その検査法(公定法)は、まだ決っていない。そこで我々は、定量法が種々発表されている中で、微量定量が可能なメチル化しガスクロマトグラフにかける方法¹⁾²⁾を検討し、若干の知見を得たので報告する。

II 実験方法

1) 装置

ガスクロマトグラフ: 日立073型

FID(FPD付)

2) 測定条件

カラム充填剤

① 5%OV-25/GaschromQ

② 5%OV-17/Chromosorb W
WAW DMCS

③ 5%DEGS-1% H_3PO_4 /Chromosorb
W (①②③共に60~80 mesh)

カラム温度: ①~180℃, ②③~200℃

試料注入部

温度: 220℃

検出部

感 度: RANGE~10

ATTENUATION~2

キャリアーガス: N_2 60ml/min

試料注入量: 2 μ l

3) 試 薬

S.S.: 食品添加物用S.S.をエチルアルコールで再結晶したもの³⁾。

ニトロソメチル尿素: 常法に従い合成したもの。

シアゾメタンエーテル溶液: ニトロソメチル尿素を用い常法に従い合成したもの³⁾。

(その他の試薬は、ウロコ特級を使用。)

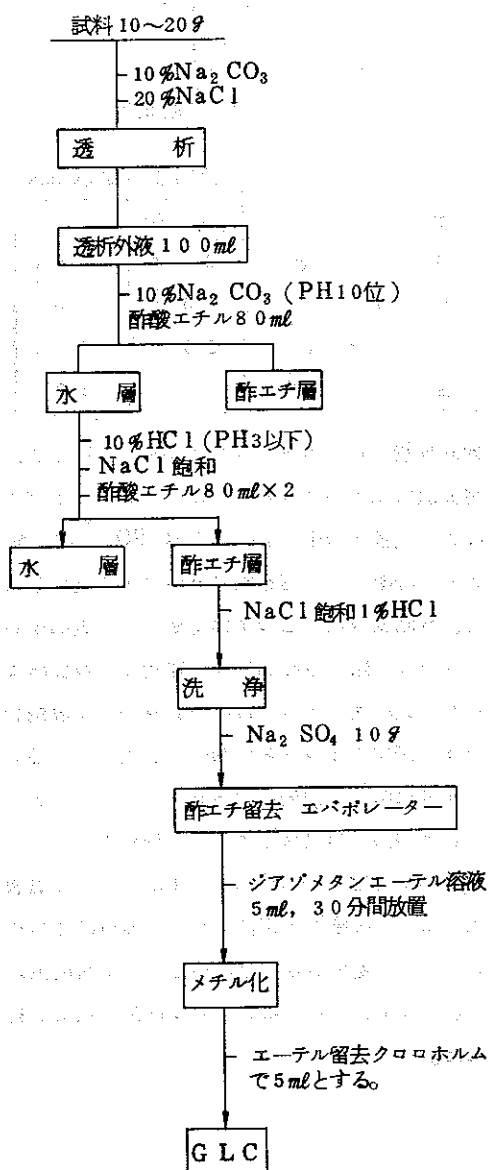
透析膜: Visking社製Cellulose Tubing

4) 試験溶液の調製 (図1)

試料10g~20gを取り、10%炭酸ナトリウムで弱アルカリ性とした後、補助液(20%食塩水)10mlを加え、あらかじめ蒸留水200mlを入れたメスシリンダー中に一昼夜放置して透析を行う。透析終了後、透析外液100mlをとり、10%炭酸ナトリウムで弱アルカリ性とし、酢酸エチル80mlで1回抽出、脂肪その他の妨害物を取り除き、次に水溶液を10%塩酸で強酸性とし

さらに食塩を飽和させた後、酢酸エチル 80 ml で 2 回抽出して抽出液を合せる。この抽出液を食塩飽和 1% 塩酸 1.0 ml で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後減圧で酢酸エチルを留去、次にジアゾメタンエーテル溶液 5 ml でメチル化し、終了後エーテルを減圧で留去⁴⁾、クロロホルムで一定量とする。

図 1 試験溶液の調製法



5) 検量線の作成

サッカリンナトリウム 40 mg を精秤、エチルアルコールで 200 ml とし、2.00 ppm の標準溶液を作る。この溶液から 40, 100, 200, 300, 400 ppm の標準系列になるようにホールピペットで一定量を取り、以下試験溶液の調整法と同様 1% 塩酸で強酸性とし、酢酸エチル抽出、メチル化してクロマトグラムを作る。なお内部標準物質 (以下 I.S.) を用いる場合は、I.S. を 100 ppm になるように調整した。

III 結果と考察

1. N-メチルサッカリンと O-メチルサッカリンの生成比

サッカリンのジアゾメタンによる反応は、N-メチルサッカリン (以下 N-Me S) と O-メチルサッカリン (以下 O-Me S) の 2 つの誘導体が生ずるのが特長で、定性にも便利であることで知られている。加藤¹⁾²⁾ は N-Me S と O-Me S の生成比は 10 : 1 でほぼ一定であり、又、Conacher⁵⁾⁶⁾ は、面積比が 17 : 3 で一定であるとのべている。

2. 内部標準物質の選択

ガスクロマトグラフィーの定量においては、注入誤差の補正及び定性をかねて、I.S. が用いられる。その保持時間を表 1 に示した。保持時間が、N-Me S より早いものは、妨害ピークと重なりやすいため用いにくい。OV-25 には、アントラセンとステアリン酸メチルが良好で、OV-17 にはアントラセンとア-BHC が可能であり DEG S には、ディルドリンが適当と思われる。なお、3 液相に共通な I.S. は、みい出せなかった。

(表 1)

3. 検量線、注入バラッキ、及び回収率 S.S. の検量線は、N-Me S と O-Me S の生成比が、

同一条件において一定であることがわかり、N-MeSの波高比の検量線を図2に示した。また、注入時のバラッキを表2に示し、表3に食品5種に添加した回収率を示した。

表1 内部標準物質の保持時間

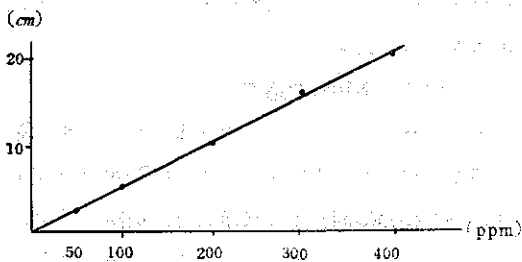
液相	5% ov-25	5% ov-17	5% DEGS-H ₃ PO ₄ 1%
c.t.	180℃	200℃	200℃
N ₂ ml/min	60	60	60
N-MeS	6.7	7.8	4.8
O-MeS	19.0	20.2	19.5
アントラセン	(9.2)	(11.0)	2.6
γ-BHC	7.2	(9.5)	3.3
ステアリン酸 メチル	(10.9)	18.1	1.1
ディルトリン	31.3	—	(7.3)

注1. ()内が使用可能なもの。(単位 min)

注2. I.S.の使用濃度はすべて100ppm

である。

図2 N-MeSの絶対検量線



繰返し標準偏差パーセントは2.4%であり、検量線は、直線性を示した。このことから、絶対検量線でも十分に実用にあたると思われる。又回収率も100%前後の値を常に示し、前述した実験方法は、十分満足出来るものと思われる。

4 クリーンナップ洗浄のサッカリンに与える影響

クリーンナップ洗浄(実験方法図1の㊸)は、

表2 注入バラッキ

No.	波高(cm)
1	5.90
2	6.10
3	6.30
4	6.20
5	6.15
平均	6.10
A	2.4%

注: Aは繰返し標準偏差パーセント。(300ppm濃度を2μl注入した場合)

表3 サッカリンナトリウムの回収率

	添加量	回収率(%)
醬油	0.5 mg	97
味噌	2.0 "	96
魚ねり	2.0 "	109
つくだに	2.0 "	106
漬物	2.0 "	106

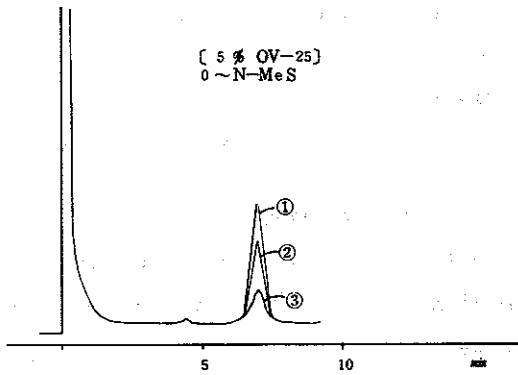
比較的軽視されている。Conacher^{5,6}ら)は、「清涼飲料水中のサッカリンのガスクロマトグラムによる定量」の中で、5N-H₂SO₄ 5mlで酸性とし、酢酸エチル層を水20mlで1回洗浄している。今回我々は、この洗浄方法と、「食品中のサイクラミン酸の定性試験」(暫定法)の洗浄に用いた、食塩飽和1%塩酸溶液、及び、食塩飽和水の3方法でサッカリンの回収率を調べた。図3に水10mlによる損失のガスクロマトグラムを、表4にその損失の割合を示した。飽和食塩水による損失の割合を表5に示した。食塩飽和1%塩酸を用いると、洗浄液中には、S.S.の移行は見られなかったが、飽和食塩水を用いると3%前後損失し、水10mlにおいては、30%前後の損失が見られた。

表4 水による洗浄のS.S.の損失

	A水洗 (g/Kg)	B食塩飽和1% 塩酸 (g/Kg)	A/B
1	0.22	0.35	0.63
2	0.31	0.42	0.74
3	0.33	0.48	0.69
4	0.18	0.30	0.60
5	0.33	0.43	0.77
平均	—	—	0.68

注：A B共に10 mlで1回洗浄した場合

図3 水洗浄によるガスクロマトグラム



- ① 食塩飽和1%塩酸10 mlによる洗浄
- ② 水10 mlによる洗浄
- ③ ②の洗浄液を食塩で飽和し、10%塩酸1 mlを加えて、酢エチ50 mlで抽出した。

表5 飽和食塩水による洗浄のS.S.の損失

標準2mg	A (mg)	pH	B (mg)	回収率%
1	1.96	4.0	0.04	98.0
2	1.94	3.5	0.06	97.0
3	1.94	3.5	0.06	97.0
平均	—	—	—	97.3

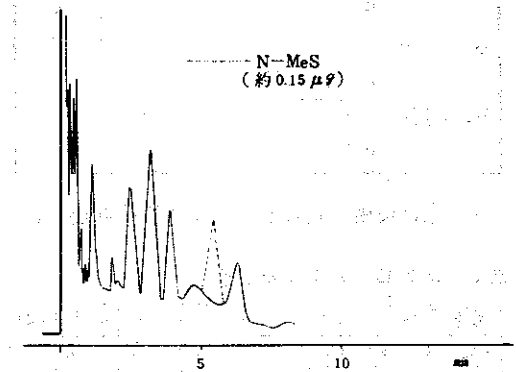
A：飽和食塩水10 mlで1回（pHはpH試験紙を用いた抽出後の数値）

B：Aの洗浄液を10%塩酸1 mlを加え、強酸とした後、酢酸エチル50 mlで1回抽出。

5. 妨害物質の為の充填剤の選択

食品の種類によりガスクロマトグラム上に多くのピークが現われるが、醤油と魚ねり製品には、N-MeSを妨害するピークが現れたので、充填剤を選択し、検討を行った。図4にDEGS-H₃PO₄による醤油のガスクロマトグラムを示した。前後に不明のピークがあるが定量は可能である。又、図5にOV-25による魚ねり製品のガスクロマトグラムを示した。N-MeSのピークが妨害ピークに完全にマスクされている。しかし、DEGS-H₃PO₄を用いると、前後にピークの少ないきれいなガスクロマトグラムが得られる。表6に醤油、味噌、魚ねり製品の充填剤の選択を示したが、すべての食品においてDEGS-H₃PO₄が可能である。又、図6にFPDによる醤油のガスクロマトグラムを示した。図4と比較してわかるように、前後に妨害ピークの無い、きれいなクロマトグラムが得られ、又感度も十数倍良くなる。

図4 醤油のガスクロマトグラム(FID)



液相～5% DEGS - 1% H₃PO₄

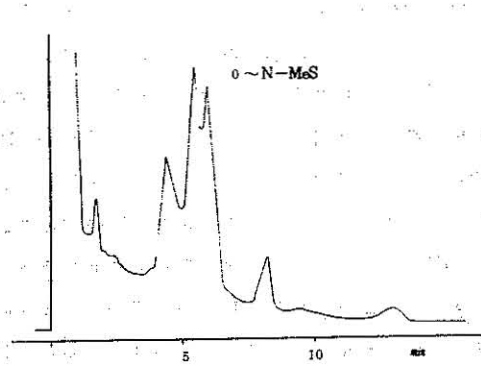
c. t ~ 200°C N₂ ~ 60 ml/min

l. t

D. t 220°C

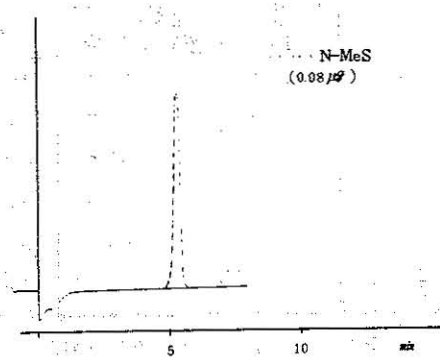
レンジ～10, アテニュエーション～2

図5 魚ねり製品のガスクロマトグラム



液相~5%OV-25
 C.t~180°C N₂~60ml/min
 I.t
 D.t 220°C
 レンジ~10, アテニュエーション~2

図6 醤油のガスクロマトグラム (FPD~Sフィルタ)



液相~5%DEGS-1%H₃PO₄
 c.t~200°C N₂~60ml/min
 I.t
 D.t 220°C
 レンジ~10², アテニュエーション~5.12

表6 醸酵食品及び魚ねり製品の充填剤の選択

	5% DEGS-H ₃ PO ₄	1% ov-17	5% ov-25
醤油 A	○	×	×
" B	○	×	×
味噌 A	○	○	○
" B	○	○	○
魚ねり製品 A	○	×	×
" B	○	×	×

注: ○は使用可能なもの。×は使用不可能なもの

6. 市販品の実態調査

昭和49年10月から収去検査, 一般依頼検査, 自主調査した, 184検体の調査結果を表7に示した。

IV 結 語

1) サッカリンナトリウムのガスクロマトグラフィによる分析は, ジアゾメタンによるメチル化により充分可能である。

表7 市販品の実態調査結果

品名	ppm	n	d	~100	~200	~300	~400	~500	~600	~700	700以上	違反/合計	基準違反%	
たくあん					1	2	5	2				0/10	0	
魚介類加工品	10	11		19	13	9	3	6	3	2	14	76	18	
酢				1								0/1	0	
その他の漬物	5	4		11	13	1	1	3	1	9	28	48	58	
つくだに	4	1										0/5	0	
魚ねり製品	7	12		5								5/24	21	
醤油・味噌	4											0/4	0	
菓子		1										0/1	0	
その他の食品	15											0/15	0	
計		45		29	37	28	15	6	9	4	11	47	184	26

2) N-MeSとO-MeSの生成比は、同一条件下において一定である。

3) 内部標準物質は、3種の充填剤に共通のものはいずれもなかったが、OV-25、OV-17には、アントラセンが共通であり、DEGS-H₃PO₄には、デイルドリンが適当である。

4) 酢酸エチルによる抽出後の洗浄には、水及び飽和食塩水を用いると、損失することがわかった。特に水による洗浄においては、30%前後回

収率が落ちた。洗浄する場合は、食塩飽和1%塩酸が適当である。

5) 醤油、魚ねり製品の充填剤は、OV-25、OV-17は、不適当であり、DEGS-H₃PO₄により定量が可能である。なお不安な時は、FPD(Sフィルター)を用いれば、一層良好なガスクロマトグラムが得られる。

本研究は、49年度札幌市研究費によるものである。

文 献

- 1) 加藤三郎、食品衛生研究、24、469、(1969)
- 2) 加藤三郎、食品衛生研究、24、543、(1969)
- 3) 日本化学会編、実験化学講座、Vol. 20、p.373(1963)丸善
- 4) 食品添加物公定書第三版解説書、B366(1973) 広川書店
- 5) Conacher, H. B. S. et al. J. Assoc. offic. Anal. chem. Vol. 53, 1117 (1970)
- 6) Conacher, H. B. S. et al. J. Assoc. offic. Anal. chem. Vol. 54, 1135 (1971)