

保存料ソルビン酸の定量

兵庫県立神戸高等学校 自然科学研究会化学班
2年 延本美優, 不老美月

1. 動機

日本では、多くの加工食品に保存料ソルビン酸やソルビン酸カリウムが添加されている。それらは、カビや酵母、細菌の増殖を抑えて腐敗を防ぐ。生物の生育を阻害する物質を食べると私たちの体にも影響があるかもしれない。また、ソルビン酸は亜硝酸塩と結合すると発がん性物質に変化するとも言われている。これらのことから1日にどれだけ摂取しているのかを調べるため、身近な食品で、扱いやすいかまぼこに含まれるソルビン酸の定量を行うことにした。

2. 食品からの抽出法 1)

- ① 5ミリ角に刻んだかまぼこ 10 g に 25 mL の水を加え、60 °C で 20 分間湯煎した。
- ② ①の上澄みを取り、検液とした。

3. 試料

かまぼこ (S 社)

4. 紫外線の吸光度で定量できるか

仮説 1 文献 2) にソルビン酸は、紫外線を吸収するとあったので、吸光度法で濃度を調べ、食品に含まれているソルビン酸の質量を調べられるのではないかと考えた。

4-1. 実験方法

吸収ピーク波長を調べるため、分光光度計で紫外領域のスペクトラムを調べた。

4-2. 結果

図 1 は 1.0 mg/mL ソルビン酸カリウムのスペクトラム、図 2 は、かまぼこの検液のスペクトラムである。

ソルビン酸カリウムは波長 254 nm に吸収極大がある。それに対してかまぼこ抽出液は、波長 252 nm と 190 nm 以下の波長を吸収していた。

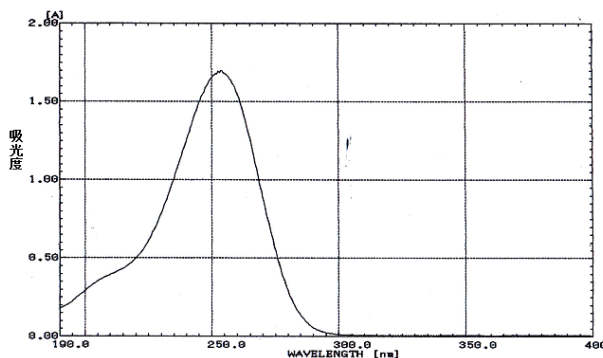


図 1 ソルビン酸カリウムのスペクトラム

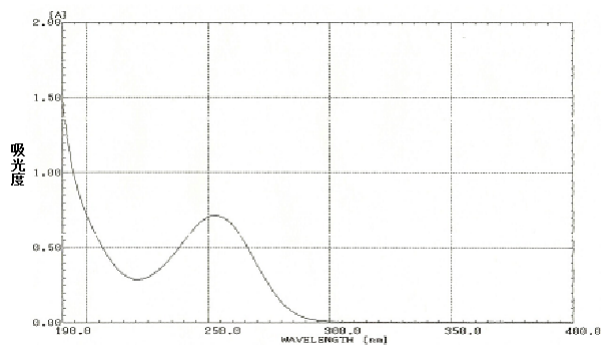


図 2 かまぼこ抽出液のスペクトラム

4-3. 考察

190 nm 以下に吸収があることから、食品を煮出した液の中にはソルビン酸以外の物質も溶け込んでいると考えられる。そのため、現段階では 252 nm の波長を吸収している物質がソルビン酸かどうかは分からない。

また、他の物質の吸収が影響して波長 252 nm の吸光度を増大させている可能性がある。これらのことから、2 の方法で抽出した検液を紫外線で測定するのは困難であると考えられる。

5. 呈色反応を利用し比色定量する

検証 2 文献 1), 2) 記載の方法により、2-チオバルビツール酸で発色させ、比色定量をすることができないのではないかと考えた。

5-1. 試薬

- ・試薬 A...0.0017 mol/L のニクロム酸カリウム水溶液と、0.15 mol/L の硫酸の 1 : 1 混合水溶液
- ・試薬 B...2-チオバルビツール酸 0.50 g と水 20 mL の混合溶液に、1.0 mol/L の水酸化ナトリウム 10 mL を加え、2-チオバルビツール酸が溶解したのち、1.0 mol/L の塩酸を 11 mL 加え、最後に水を加えて 100 mL にした溶液

5-2. 実験方法

- ① 検液 2.0 mL を試験管にとり、試薬 A を 2.0 mL 加え 5 分間 60 °C で湯煎した。
- ② 試薬 B を加えてさらに 10 分間湯煎した。
- ③ 5 分間水で冷却し、分光光度計で波長 532 nm の吸光度を調べた。

5-3. 検量線の制作

ソルビン酸の使用基準が魚肉ねり製品の場合、最大 2.0 g/kg であることから 10 g の食品には最大 20 mg 含まれる。もし、この食品中に含まれるソルビン酸すべてが水 25 mL に溶け出したとすると、 $20 \text{ mg} \times \frac{2.0 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} = 1.6 \text{ mg} \approx 2.0 \text{ mg}$ となるため、ソルビン酸カリウム水溶液 2.0 mg/2.0 mL の濃度を標準液として吸光度を調べた。

これでは濃すぎたので濃度を 1/100 にして再び吸光度を測った。(図 3)

5-4. 結果①

吸光度 (ABS) と濃度が比例関係を示す検量線が描けた。(図 3)

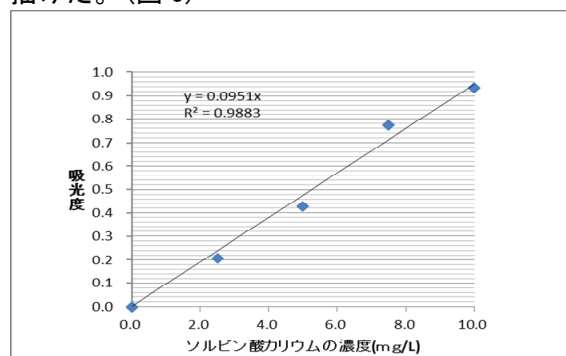


図 3 ソルビン酸カリウムの検量線

検証 3 検量線を利用すれば食品中のソルビン酸量を測定できるのではないかな。

5-5. 結果②

抽出液を調べた結果、表 2 のようになった。

表 2 波長 532 nm の吸光度とソルビン酸量

	吸光度 (ABS)	かまぼこ 10 g 中のソルビン酸量 (mg)
純水	0.00	0.00
かまぼこ	2.95	0.78

5-6. 考察

532 nm で 2.95 ABS の吸光度だった。ソルビン酸がかまぼこ 10 g あたり 0.78 mg 含まれていると考えられる。

ただ、どれだけ実際に添加されているのか分からないため、正確に定量できているのか気になり、製造会社に尋ねた。すると、以下のように大きな差があるとわかった。

[10 g 中に含まれるソルビン酸量]

実験で得られた値 実験に添加されている値

0.78 mg 7 ~14 mg

実験方法を見直し、抽出に原因があると考えた。そこで仮説 6~10 を立て、実験をした。

6. 抽出中の揮発が起こっていないか確かめる

仮説 4 文献にソルビン酸は、揮発性があるとあるが、抽出中にソルビン酸が減っているのではないかな。

6-1. 実験方法

純水と 0.01 g/L のソルビン酸カリウム水溶液を用意し、60 °C で 20 分加熱して、加熱前後の 252 nm における吸光度を調べた。

6-2. 結果

以下、表 5 のようになった。

表 3 加熱前後の 254 nm における吸光度 (ABS)

	純水	ソルビン酸カリウム水溶液
加熱前	0.00	1.72
加熱後	0.01	1.74

6-3. 考察

加熱前後の吸光度の差はほぼなかった。わずかに加熱後の値が大きくなっているのは、水が蒸発して濃度が上がったためだと考えられる。抽出中に揮発はしていないとわかった。

7. かまぼこの大きさを変える

仮説 5 かまぼこの切る大きさが抽出に影響があるのではないかな。

7-1. 実験方法

かまぼこの大きさを、すりつぶして細かくしたもの (1 mm 程度)、5 mm 角に切ったもの、10 mm 角に切ったもの、の 3 種類用意して、2 の方法で抽出した後、4 の方法で比色定量した。

7-2. 結果

以下、表 4 のようになった。

表 4 大きさを変えたときの 532 nm の吸光度

	吸光度 (ABS)
純水	0.00
すりつぶし	5.23
5 mm 角	5.87
10 mm 角	5.66

7-3. 考察

表面積を比較するとすりつぶしが大きく、10 mm 角が小さい。1 かけらあたりの体積を比較すると 10 mm 角が大きく、すりつぶしが小さい。この関係から、体積が大きすぎるとさいころ型なので中心部分のソルビン酸が抽出できず、ソルビン酸がかまぼこの表面に付着すると仮定すると、すりつぶしは表面積が大きいので抽出量が小さくなる、と考えた。

5 mm 角が最適だと分かったので、引き続き 5 mm 角のかまぼこを使うことにした。

8. 繰り返し抽出する

仮説 6 文献 1) に記載の抽出法を繰り返して行えば、食品中のソルビン酸量を正確に測定できるのではないかな。

8-1. 実験方法

①2 で記載の通りに抽出した。

②5-2 に記載の通りに比色定量を行った。

③①で使用したかまぼこを取り出し、再度 2 の通

りに抽出を行った。

②③を繰り返した。予備実験の結果から7回の抽出でほぼ吸光度が0となったため、7回抽出を行うことにした。

8-2. 結果

表5は6回実験を行い、その平均をとったものである。

表5 波長532 nmの吸光度とソルビン酸量

抽出	吸光度 (ABS)	かまぼこ 10 g 中のソルビン酸量 (mg)
1回目	6.12	1.61
2回目	5.25	1.38
3回目	3.85	1.01
4回目	2.08	0.548
5回目	1.09	0.285
6回目	0.539	0.142
7回目	0.217	0.0571
合計		5.03

2回目以降の抽出液でも、呈色が見られた。繰り返し抽出を行うことで、吸光度が次第に低くなっていった。

表6は1回の抽出で得られたかまぼこ10 g中のソルビン酸量…①、抽出を7回繰り返して得られたかまぼこ10 g中のソルビン酸量…②として、②／①を行った6回の実験それぞれにおいて求めたものである。a、b、cはそれぞれ、同一日に製造されたかまぼこである。

表6 ②／①の値

実験	②／①
1(a)	3.47
2(a)	3.31
3(b)	2.99
4(b)	2.84
5(c)	3.22
6(c)	3.21

8-3. 考察

実験結果から、食品中のソルビン酸をすべて抽出するためには、抽出作業を繰り返さなければいけないことがわかった。同一日のかまぼこにおいては、特に(c)で②／①の値がほぼ等しいことから、かまぼこに含まれるソルビン酸量が等しいとき、②／①は一定の値となると考えられる。

9. かまぼこ製作

仮説7 ソルビン酸を加えたかまぼこを製作し、比色定量すれば加工後のソルビン酸量が測定できるのではないかと考えた。

9-1. かまぼこの製作方法

- ① 鯛の切り身を小さく切り(1×3 cm)、氷水に入れた。それを40回かき混ぜて、水を捨てた。これを5回繰り返した。
- ② 鯛を布に取り、絞って水気を取った。
- ③ フードプロセッサに②の鯛と塩、みりん、卵白を入れて、1分間すりつぶした。
- ④ ③をすり鉢でペースト状になるまですりつぶした。
- ⑤ 鯛100 gに対し140 mgのソルビン酸カリウムを入れて練った。
- ⑥ ソルビン酸カリウムを入れたものと入れていないものを用意して、100 gをラップでくるみ、蒸し器で15分蒸した。

9-2. 実験方法

8-1と同様の方法で抽出し、比色定量を行った。

9-3. 結果

表7はソルビン酸を加えずに製作したかまぼこを繰り返し抽出し、比色定量したものである。

表7 波長532 nmの吸光度とソルビン酸カリウム量

抽出	吸光度 (ABS)	かまぼこ 10 g 中のソルビン酸カリウム量 (mg)
1回目	0.328	0.0861
2回目	0.181	0.0476
3回目	0.120	0.0314
4回目	0.0950	0.0250
5回目	0.0690	0.0181
6回目	0.0680	0.0179
7回目	0.0885	0.0233
合計		0.249

比色定量した際に、わずかではあったが、発色していた。そこで、ソルビン酸を加えたかまぼこの抽出液で定量を行うとき、ソルビン酸を加えずに製作したかまぼこの値を基準とした。

表8はソルビン酸を加えて製作したかまぼこの抽出液で数回実験を行いその平均をとったものである。

表8 波長532 nmの吸光度とソルビン酸カリウム量

抽出	吸光度 (ABS)	かまぼこ 10 g 中のソルビン酸カリウム量 (mg)
1回目	4.86	1.28
2回目	4.48	1.18
3回目	3.12	0.819
4回目	0.966	0.254
5回目	0.446	0.117
6回目	0.154	0.0405
7回目	0.0340	0.00893
合計		3.69

9-4. 考察

ソルビン酸を加えていないかまぼこが比色定量時に呈色したようにみえたのは、鯛の身の色素であると考えられる。

市販のかまぼこと比べておよそ 1.33 mg 抽出ができていなかったのは、かまぼこの作り方が異なるので正確には分からないが、蒸し時間の差、すり身の大きさの違いが由来しているのではないかと考えられる。

10. 今後の課題

- ・ かまぼこを蒸す過程でどのくらいのソルビン酸が揮発しているのかを、水蒸気蒸留を利用して調べ、正確な定量ができているか検証する。
- ・ 1度の抽出で得られたソルビン酸量と、かまぼこに含まれる全ソルビン酸量の関係性を見つけ、短時間で定量を行えるようにする。

[参考文献]

- 1) 増尾清著, 消費者にできる食品簡易テスト, 誠文堂新光社(1980) (P. 30, 31)
- 2) 伊達洋司・堺敬一著, 食品衛生学実験訂正版, アイ・ケイコーポレーション(2003) (P. 14, 16, 17)
- 3) 増田邦義 他, 食品衛生学食べ物と健康第3版, 講談社(2011) (P. 114)
- 4) 野本正雄 他, “ソルビン酸の抗菌力に及ぼす培地 pH の影響に就て”, 日本農芸化学会誌, Vol. 29 No. 10, P. 805~809 (1955)
- 5) 白石淳・小林秀光著, 食品衛生学第2版, 化学同人(2007) (P. 126)