市販ソルビン酸カリウム中のメチルケトン反応陽性物質

山田 正三，馬場 二夫*

市販ソルビン酸カリウム中のサリチルアルデヒドによるメチルケトン反応陽性物質の単離，確認を試みた。

同品中のカルボニル化合物を 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンとして分離し，これを中性部と酸性部に分け，両者からシリカゲルのカラムクロマトグラフィーでおのおの 1 種のヒドラゾン単離した。それらの可視および赤外吸収スペクトルとシリカゲルの薄層クロマトグラフィーの結果から，アセトアルデヒドとフマルアルデヒド酸を同定した。両物質はソルビン酸カリウムの分解によって生成することが推定される物質であり，アセトアルデヒドはサリチルアルデヒドの反応陽性物質の一つであることがわかった。

1 緒 言

ソルビン酸およびその塩(ナトリウムおよびカリウム)は低毒性かつ有効な食品保存料として食品の広範囲にわたって用いられている食品添加物であるが，それらは空气中に長く放置すると酸化分解や重合のため着色することが知られている。公定試験法にもこの着色状態を試験する項目が設けられてその品質が規制されている¹⁾。

ソルビン酸塩の，保存時の安定性や各種溶媒中あるいは食品中における太陽光線に対する安定性については若干の報告がある^{2)~5)}。それらの報告によると，ソルビン酸ナトリウムあるいはソルビン酸カリウムの結晶を開放容器に保存したものは，密封容器のものに比べて経時変化が大きく，また太陽光線もソルビン酸の分解に促進的に働くことがみられている。しかし，いずれの場合にも，その分解生成物についての記載はみられない。

数年前，当所にデヒドロ酢酸含有の疑いがあるソルビン酸カリウムの分析依頼があったが，このものはデヒドロ酢酸を含有していないにもかかわらずサリチルアルデヒドによる反応(以下 SA 反応と略記)が陽性であった^{**}。また，やや黄灰色に着色したソルビン酸カリウム試料についての SA 反応も陽性であった。SA 反応はメチルケトン基に基づく反応であるから，上記の品が SA 反応陽性を示すのはソルビン酸カリウムの分解生成物によるのではないかと推定し，同品中の SA 反応陽性物質を調べ若干の知見を得たので報告する。

2 実験および結果

2.1 試料および標準物質

2.1.1 試 料

A：製造後数年を経てかつ黄色に着色したソルビン酸カリウムの結晶(やや刺激臭があり，SA 反応陽性)。

B：製造数日後の無色のソルビン酸カリウムの結晶(SA 反応陰性)。

2.1.2 標準物質 アセトアルデヒド，クロトンアルデヒド，グリオキザールおよびグリオキシル酸の 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン(以下 DNPH と略記)は 2*N* 塩酸溶液中でカルボニル化合物と 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(以下 DNP と略記)とを反応させ，得られた沈殿ないし結晶を文献値と同じ融点を示すまで適当な溶媒から再結晶した。

アセトアルドール-DNPH は山田の方法⁶⁾によってつくった。

フマルアルデヒド酸-DNPH は Milas⁷⁾ および Schroeter ら⁸⁾の方法を参照してつくった。黄色針晶(ジオキサン-水)。融点：251~252°C(分解)。分析値：C, 42.80; H, 3.11; N, 19.73%。C₁₀H₅N₄O₆としての計算値：C, 42.86; H, 2.88; N, 20.00%。 $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 375 m μ (ϵ 64,400)， $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOH}-\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ 495 m μ (ϵ 67,500)。赤外吸収スペクトル：Fig. 4。

2.2 試薬，試験法および装置

DNP 試液：0.2% DNP-2*N* 塩酸溶液。

炭酸ナトリウム溶液：0.1*N*。

アルコール製水酸化ナトリウム溶液：0.25*N*。

* 大阪市立衛生研究所：大阪市北区北扇町

** サリチルアルデヒドによる反応はデヒドロ酢酸の確認試験法の一つとして規定されている(2.2 参照)。

次に、試料A 40 g から得た 中性部ヒドラゼン混合物 16.3 mg をシリカゲル 5 g のカラム (10×120 mm) で各成分の分離を試みた。展開溶媒として *n*-ヘキサン-酢酸エチル (7:3) を用い、着色帯を目やすとして溶出液

を分別した. 各溶出液から溶媒を留去し, その残留物を TLC でチェックし, アセトアルデヒド-DNPH と同じ R_f 値を示す成分を含むフラクションを合し, これから得られた 7.0 mg をふたたびシリカゲル 5 g のカラムで精製を試み, 赤とう色樹枝状結晶を得た. 融点: $161 \sim 164^\circ\text{C}$ (エタノール), アセトアルデヒド-DNPH (融点: $164 \sim 165^\circ\text{C}$) と混融すると約 150°C からやや湿潤し 164°C で融解する. TLC で Fig. 1 の N_A -6 のスポットが混在していることがわかり, これは再結晶によっても除去できなかった. しかし, 赤外吸収スペクトルは

Fig. 1 Thin-layer chromatogram of neutral DNPHs and DNP

N_A : Neutral fraction from sample A; N_B : Neutral fraction from sample B; A: Acetaldehyde-DNPH; Al: Acetaldehyde-DNPH; C: Croton aldehyde-DNPH; G: Glyoxal-DNPH(bis); DNP: 2,4-Dinitrophenyl hydrazine; Plate: Silica-gel G(Merck); Solvent: Benzene-tetrahydrofuran-acetic acid (45:3:2)

Fig. 2 Infrared spectra of the neutral DNPH isolated from sample A (upper) and acetaldehyde-DNPH (lower) (nujol mull)

Fig. 2 に示すようにアセトアルデヒド-DNPH のものとよく一致した.

その他の成分の単離はできなかった.

2.4.2 フマルアルデヒド酸の同定 2.3 で分離した酸性部ヒドラゾンが多量のソルビン酸が混入していた. その TLC の結果を Fig. 3 および Table I に示す.

試料 A からのもの (S_A) には 3 個の, 試料 B からのもの (S_B) にはただ 1 個のスポットが認められた. ソルビン酸は TLC のプレートを 2, 3 日放置しておくとも R_f 0.50 を中心としたかなり大きなスポットとして黄かっ色を呈して現われる.

S_A -3 および S_B のスポットを 2.4.1 と同様にして溶出し, 吸収スペクトルの $\lambda_{\max}$ を測定した結果は Table II のとおりで, 標品のフマルアルデヒド-DNPH のものとよく一致した.

Fig. 3 Thin-layer chromatogram of acidic DNPHs

S_A : Acidic fraction from sample A; S_B : Acidic fraction from sample B; F: Fumaraldehydic acid-DNPH; Gl: Glyoxylic acid-DNPH; Plate and solvent: The same as those in Fig. 1

Fig. 4 Infrared spectra of the acidic DNPH isolated from sample A (upper) and fumaraldehydic acid-DNPH (lower) (KBr disk)

次に、試料 A 140 g から得た酸性部 DNPH 混合物 1.2 g をシリカゲル 45 g のカラムで、ベンゼン-テトラヒドロフラン-酢酸 (45:3:2) を展開溶媒として分離を試みた。2・4・1 同様、着色帯をめやすとして溶出液をとり、TLC でその成分を調べた。フマルアルデヒド酸-DNPH の R_f 値と一致する成分を含む溶出液を合し、これから 11.5 mg のエーテルに不溶の赤とう色粉末を得た。融点: 220~225°C で黒変しはじめ 230°C (分解)。試料少量のためそれ以上の精製はしなかった。赤外吸収スペクトルは Fig. 4 に示すようにフマルアルデヒド酸 DNPH のものとよく一致した。

その他の成分の単離には成功しなかった。

ほかに市販ソルビン酸カリウム 6 種 (いずれもほとんど無色の結晶; SA 反応陰性) について、同様にカルボニル化合物を分離し、TLC の結果はそのすべてにアセトアルデヒドとフマルアルデヒド酸を検出した。

3 考 察

今回の実験で、市販のソルビン酸カリウム試料からアセトアルデヒドとフマルアルデヒド酸が確認され、また、さらに分解が進んだと考えられる試料からは、上記の 2 物質のほか数種のカルボニル化合物が検出された。しかし、クロトンアルデヒド、グリオキシル酸およびグリオキサールは確認されなかった (Fig. 1 の N_A-5 はグリオキサール-bis-DNPH の R_f 値とほとんど一致するが確認するに至らなかった)。

SA 反応陽性物質としてはアセトアルデヒドだけしか確認できなかったが、TLC で DNPH をつくるカルボニル化合物が若干認められたので、これらの化合物もその原因物質となっている可能性もある。

ソルビン酸は *trans, trans* 2,4-hexadienoic acid で、共役二重結合を持つ不飽和脂肪酸であり、空気中の酸素に対して安定な化合物であるとはいえない。ソルビン酸およびソルビン酸メチルエステルは酸素、過酸化水素、有機過酸あるいはオゾンで酸化すると、常にソルビン酸分子の二重結合のうち $\gamma-\delta$ 位の二重結合が酸化を受けている^{9)~11)}。さらにソルビン酸メチルエステルの自動酸化では $\gamma-\delta$ パーオキシサイド ($C_7H_{10}O_4$) とそのポリマー ($C_7H_{10}O_4$)_n、アセトアルデヒド、フマルアルデヒド酸メチルエステル、酢酸およびフマル酸メチルエステルができることが報告されている¹²⁾。

製造直後のソルビン酸カリウムからアセトアルデヒドとフマルアルデヒド酸が認められ、また、他の試料についても、クロトンアルデヒドもグリオキシル酸も認められなかった事実は、ソルビン酸カリウムの酸化分解も上

記の諸反応と軌を同じくする次のような反応過程をとるものと推定される。

また、アセトアルドールも検出されなかったので、酸化分解で生成したアセトアルデヒドが次のように 2 分子重合しさらに脱水する反応も起こっていないと推定される。

SA 反応陰性の試料 B および前記の市販ソルビン酸カリウム 6 種のすべてに、常にアセトアルデヒドとフマルアルデヒド酸を認めたが、アセトアルデヒドの SA 反応に対する感度はあまり鋭敏でないもので、これらの試料はいずれも陰性を示したと推定され、着色状態の進行とともに SA 反応は陽性となった。

元素分析は大阪市立大学理学部有機分析室の、また赤外吸収スペクトルの測定は大阪市立工業研究所小松原勤、四辻 晃両氏のお世話になった。厚く感謝いたします。

なお、試料を提供された日本合成工業株式会社および桐屋化学株式会社に厚くお礼申し上げます。

(昭和 41 年 10 月, 第 23 回日)
本公衆衛生学会において発表)

文 献

- 1) 厚生省編: “食品添加物公定書”, p. 249 (1966), (丸善)。
- 2) 樋口亮一: 食品工誌, **13**, 249 (1966)。
- 3) 若井英男, 上田 修: *New Food Industry*, **7**(10), 48 (1965)。
- 4) 霜 三雄, 福住栄一: “食品防腐剤の知識と使い方”, p. 118 (1965), (信貴書院)。
- 5) 前重静彦, 岡田規行, 戸谷哲雄: 食品工誌, **13**, 225 (1966)。
- 6) S. Yamada: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **40**, 1990 (1967)。
- 7) N. A. Milas: *J. Am. Chem. Soc.*, **49**, 2006 (1927)。
- 8) S. H. Schroeter, R. Appel, R. Brammer, G. O. Schenck: *Ann.*, **697**, 42 (1966)。
- 9) P. Heinänen: *Suomen Kemistilehti*, **11B**, 2 (1938); *Chem. Abstr.*, **32**, 2903 (1938); *Ann. Acad. Sci. Fennicae*, **A49**, No. 4, p. 112; *Chem. Abstr.*, **32**, 7893 (1938)。
- 10) I. M. Heilbron, E. R. H. Jones, D. G. O'Sullivan: *J. Chem. Soc.*, **1946**, 866。
- 11) Y. Suhara, T. Minami: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **39**, 1968 (1966)。
- 12) P. Heinänen: *Acta Chem. Fennica*, **8B**, 5 (1935); *Chem. Abstr.*, **29**, 3304 (1935)。

Methyl keton-test-positive substances in commercial potassium sorbate. Shozo YAMADA and Tsugio BABA (Osaka City Institute of Hygiene, Kita-ku, Osaka-shi)

Separation and identification of salicylaldehyde-test-positive substances from commercial samples of potassium sorbate are described. Carbonyl compounds in the sample were separated as 2,4-dinitrophenyl-

hydrazones, which were divided into acidic and neutral components. Identification was performed by thin-layer chromatography and by visible and infrared spectroscopy. Acetaldehyde, one of the test-positive substances, was identified. Fumaraldehydic acid, being considered to be another moiety of oxidative degradation products of potassium sorbate, was also identified.

(Received Oct. 23, 1967)

モリブデン青-メチルイソブチルケトン抽出法 による純鉄中の微量リン吸光光度法

前川 静弥，加藤 清敏*

モリブデン青-メチルイソブチルケトン (MIBK) 抽出法を用いて純鉄中のごく微量リンを正確かつ迅速に定量する目的で検討した。鉄 (III) は塩酸酸性溶液 (7*N*) 中から MIBK 抽出法で除去したのち、硫酸ヒドラジンを還元剤としてモリブデン青とし、これを MIBK を用いて抽出した。吸収極大は 740 m μ であり、10 μ g まではベールの法則に従い検量線は直線を示す。感度は吸光度 0.01 において 0.01 μ g/ml である。抽出時に鉄 (III) 50 mg, ニッケル 100 mg, クロム (III) 30 mg, モリブデン 5 mg, チタン 5 mg, バナジウム 3 mg およびコバルト 10 mg 単独に共存しても影響しない。分析所要時間は約 50 分間である。

1 緒 言

リンの吸光光度法はリンモリブデン青をそのまま測定する方法が最も推奨され、鉄鋼の規格法¹⁾もこのように定められている。このほか、ヘテロポリ酸^{2)~4)}やリンモリブデン青^{5)~7)}を有機溶媒で抽出する方法も知られている。著者らは硫酸ヒドラジン還元法⁸⁾⁹⁾をニオブ鋼¹⁰⁾や銅地金¹¹⁾中のリン分析に適用するための諸条件を検討し、その結果を発表した。これらの方法は定量下限が 0.001% であり、ごく微量のリン分析に関する報文は少なく¹²⁾、あまり研究されていないようである。そこで硫酸ヒドラジン還元法を用いて純鉄中の ppm 単位のリンを正確に、しかも迅速に分析する目的で研究した。その結果、多量の鉄は MIBK 抽出法¹³⁾を用いて除去し、有機相のリンを回収したのち発色させ、リンモリブデン青を MIBK を用いて抽出する方法を確立した。本法によれば純鉄中の 0.00001~ 約 0.005% 範囲のリンを $\pm 0.00002\%$ 以内の誤差で定量できる。なお、本法は鉄

鋼中の微量リン定量にも適用可能である。以下分析方法確立までの実験経過ならびに分析例について記述する。

2 試薬および装置

2.1 試 薬

リン標準溶液：110°C で恒量にした特級リン酸二水素ナトリウム 0.3871 g を水で溶解し、正確に 1 l に希釈して原液 (100 μ g/ml) とした。この一定量を水で希釈して 1 ml に 1 μ g および 5 μ g のリンを含む溶液にした。

亜硫酸水素ナトリウム溶液 (10 w/v%)：特級試薬 50 g を水に溶解して 500 ml に希釈した。

発色試薬：モリブデン酸アンモニウム溶液 (特級試薬 20 g を水 700 ml に溶解し、特級硫酸 300 ml を加える) 25 ml に硫酸ヒドラジン溶液 (0.15 w/v%) 10 ml と水 65 ml を使用のつど混合した。

その他の試薬はすべて特級品を用いた。

2.2 装 置

ベックマン DU 型分光光光度計：セル 10 mm。

平間製 II B 型ろ光板式光度計：750 m μ フィルター、20 mm セル。

* 株式会社日本製鋼所室蘭製作所：室蘭市茶津町