清涼飲料水の衛生学的研究 (第3報)

II 合成保存料について (2)

清涼飲料水中における経時変化

(昭和44年7月1日受理)

佐々木 清司*

Studies on Soft Drinks (III)

Part II Preservatives in Soft Drinks (2)

Decrease in Recoveries of Preservatives on Storage

Kiyoshi SASAKI

(Osaka City Institute of Hygiene: 38, Kitaogi-machi, Kita-ku, Osaka)

In the case of determination of preservatives in soft drinks, some differences were often observed between the dosage of preservatives and their recoveries from soft drinks.

In such cases, these differences are generally considered to have resulted from errors of determination or misdosing of preservatives.

In order to clarify this problem, the soft drinks containing preservatives were stored at 25°C and 37°C for 7 months, and changes in recoveries of the preservatives were measured during the storage periods.

The results after 7 months, the recoveries of butyl *p*-hydroxybenzoate and benzoic acid were 80% and 61%, respectively regardless of their storing temperatures.

But the recoveries of dehydroacetic acid were strongly depending on the storing time and temperature; thus after 7 months' storage at 25 and at 37°C, 30 and 23% of dehydroacetic acid were recovered, respectively and furthermore, after 8 months at 37°C only 10% was recovered.

(Received July 1, 1969)

緒 言

現在、食品添加物として、清涼飲料水について使用が許可されている合成保存料は、安息香酸 (BA) とそのナトリウム塩 (Na-BA)、パラオキシ安息香酸 (PHBA) のエチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、セカンダリブチルの各エステル類 (Et-, Pr-, *iso*-Pr-, Bu-, *iso*-Bu-, *sec*-Bu-PHBA), およびデヒドロ酢酸 (DHA) とそのナトリウム塩 (Na-DHA) であり、それぞれその使用基準量も定められている。

これらの保存料を添加した食品について、その使用量を試験する場合、その使用量、あるいは推定使用量と実際の検出量の間に、差が生じることがある。これは一般に保存料を使用するさいのはかりちがいや、試験のときの測定誤差によるものとされて、従来、そのまま見のがされていた。

われわれはさきに、市販清涼飲料水について合成保存料の使用状態を調査した結果を報告した¹⁾。この報告における市販複合製剤を使用した清涼飲料水の測定結果について、さらに検討したところ、保存料の使用量と検出

* 大阪市立衛生研究所：大阪市北区北扇町38

Table 1. Preparation of Mixed Preservatives

Preservatives	Butyl <i>p</i> -hydroxybenzoate	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate
Contents PHBA ratio*	2 % 1.0 (as PHBA)	10 % 6.0 (as BA)	5 % 2.9 (as DHA)

* The percentage of each preservative, expressed as free acid, was divided by the percentage of *p*-hydroxybenzoic acid

Table 2. Recoveries of Preservatives from Soft Drinks Using the Mixed Preservatives Shown in Table 1

Soft drinks No.	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid		Benzoic acid			Dehydroacetic acid		
	found (ppm)	PHBA ratio	found (ppm)	PHBA ratio	Recovery* (%)	found (ppm)	PHBA ratio	Recovery* (%)
1	24	1.0	130	5.4	90	30	1.3	45
2	31	1.0	170	5.5	92	29	0.9	31
3	35	1.0	160	4.6	77	17	0.5	17
4	33	1.0	140	4.3	72	28	0.8	28
5	47	1.0	190	4.1	68	49	1.1	38

* Recovery (%) = $\frac{\text{PHBA ratio}}{\text{PHBA ratio in Table 1}} \times 100$

量の相違が、一概に前記原因によるものとばかりは考えられない結果が得られたため、関連実験の結果とあわせて報告する。

実験材料および方法

各保存料の定量は、日本薬学会編、衛生試験法注解(第1版)^{2)~4)}にしたがって測定を行なった。

試料として複合保存料製剤を使用している市販清涼飲料水を用いた。また市販のまったく保存料を使用していない清涼飲料水に、Bu-PHBA を PHBA に換算して 0.1 g/kg, BA を 0.6 g/kg, DHA を 0.05 g/kg の割合にそれぞれ加え、これを内容 500 ml のポリエチレン製容器に、滅菌後、分注し、密閉して、25°, 37° のフラスコ中に保存し、7~8 か月間における各保存料の回収率の変化を試料数各 3 本について測定し平均値を求めた。

実験結果および考察

1. 市販清涼飲料水について

Table 1 に市販されている複合製剤の組成の 1 例を示した。PHBA ratio の項には、各保存料を定量のときに検出される形である、PHBA, BA, DHA の百分率に換算し、PHBA に対するそれぞれの割合を示した。

Table 2 に Table 1 の製剤を使用して市販清涼飲料水 5 例の測定結果を示した。

これらの清涼飲料水は、Table 1 に示した製剤を使用しているものであるから、各保存料の検出量の PHBA ratio は当然 Table 1 の PHBA ratio に近似的な数値でなければならない。しかしながら PHBA の回収率を

100% と仮定したときの他の保存料の回収率 (Table 1 の PHBA ratio に対する割合) は Table 2 に示したようになり、とくに DHA において 45~17% という低い数値を示した。この現象は、はかりちがいや、測定誤差によるものとは考えられず、他の原因として、たとえば、定量方法の欠陥などが考えられる。しかし測定に用いた定量方法の再検討の結果、定量法には異常のないことが判明したため、保存料自体に問題があると考えられるにいたった。

2. 放置実験について

1) 前項から保存料自体の変化が考えられたため、清涼飲料水 (soft drink: orange juice type) に各保存料を添加した放置実験を行なった。その結果を Fig. 1~3 に示した。また保存料添加直後の試料と 8 か月経過

Fig. 1. Relations between storage time and recoveries of butyl *p*-hydroxybenzoate
The figures in parentheses refer to the recoveries

Fig. 2. Relations between storage time and recoveries of benzoic acid

The figures in parentheses refer to the recoveries

Fig. 3. Relations between storage time and recoveries of dehydroacetic acid

The figures in parentheses refer to the recoveries

Table 3. Changes in Properties of the Soft Drink by Storage

	pH	Specific gravity (at 15°C)	Acidity (as citric acid)	Color	Flavor	Micro organisms
before storage	2.95	1.010	0.23%	normal	normal	nil
after 8 months' at 25°C	2.94	1.010	0.23%	normal	somewhat decreased	nil
storage at 37°C	2.96	1.010	0.21%	normal	somewhat decreased	nil

後の最終測定試料の性状を比較して、Table 3 に示した。

すなわち、Bu-PHBA の回収率 (Fig. 1) は、保存日数の経過とともにわずかに減少の傾向を示しているが、著しい変化は認められず、保存温度による変化の相違も認められなかった。BA (Fig. 2) は日数の経過とともに幾分減少の傾向を示しているが、7か月経過後でもなお60%ほど回収され、このものも保存温度による回収率の差異は認められなかった。DHA (Fig. 3) は相当急激な減少を示し、37° 保存の場合、8か月後には10%の回収にとどまった。また25° 保存および37° 保存の回収率の変化が明白な差をもって平行していることから、この減少傾向は保存温度によっても相違することが認められた。

なお、Table 3 に示したように、調製時に加熱殺菌を行ない、最終試料において、細菌、かび、酵母などの発生、繁殖が見られないということは、この減少の原因は微生物に由来するのではなく、化学的要因などによるものと考えられる。

2) チーズ、バターなどの乳製品中において、DHA の検出量が経時的に変化することも、すでに知られており^{5)~7)}、この場合は乳製品中の成分と結合し、そのため回収率が低くなるともいわれている。さらに DHA とアンモニア⁹⁾¹⁰⁾、アミン類¹¹⁾¹²⁾、アミノ化合物⁸⁾ などの反応も知られている。

清涼飲料水中においても、この種の反応の可能性が考

Table 4. The Contents of the Soft Drink (in 180 L)

Glucose	1.5 kg
Sucrose	2.4 kg
Artificial sweeteners	
Sodium cyclamate	70 g
Saccharin sodium	20 g
Dulcin	10 g
Citric acid	400 g
Orange base	200 ml
Orange essence	200 ml

えられるため、実験に使用した清涼飲料水の組成を調べた。(Table 4)

Table 4 の各成分のうち、内容の不明確なベース、エッセンスを除いた、他の各成分、すなわち、ブドウ糖、しょ糖、サイクラミン酸ナトリウム、サッカリン、ズルチン、クエン酸を、それぞれ清涼飲料水中の各成分濃度と同一濃度の単味溶液に調製し、これに DHA を混合したのち、酢酸で pH 値を2.7に調整して試料とした。また、対照としては、DHA のみの水溶液を酢酸で pH 2.7とし、対照液および各試料液を室内に放置し、回収率の変化を測定した。その結果を Fig. 4 に示した。

Fig. 4 より、それぞれ減少曲線の形には相違があるが、いずれも一様に減少しており、3.5か月経過後では、対照以下の回収率を示したものはクエン酸溶液だけであ

Fig. 4. Influence of several compounds on recoveries of dehydroacetic acid during the storage

- (1) 0.006% Dulcin solution
- (2) 0.04% Na-cyclamate solution
- (3) 0.01% Saccharin-Na solution
- (4) 1.3% Sucrose solution
- (5) 0.83% Glucose solution
- (6) DHA solution (control)
- (7) 0.22% Citric acid solution

Each solution containing 50 ppm DHA, pH of each solution adjusted to 2.7 with acetic acid

った。クエン酸溶液の場合も、3.5か月後の測定では、対照の30%に比較して、回収率は約15%と低いが、その間の減少経過から有意差はないようにも考えられる。

総 括

清涼飲料水中の保存量を定量するとき、その使用量と検出量の間に差を生じることがあり、これは使用のさいのはかりちがい、定量のときの測定誤差によるものと

されていた。しかし複合保存料を使用した場合の各保存料の検出量の割合からは、はかりちがいや測定誤差によるものとは考えられず、測定法の欠陥、あるいは保存料自体が変化するためと推定された。

しかし、使用した測定法について、ジュースに Bu-PHBA, BA, DHA を添加して検討したが、これら各保存料の回収率は、いずれも95%前後を示し問題はなかった。

他方、前記の各保存料を組成の明らかな清涼飲料水に添加し、25°および37°で7か月間保存しその間の変化を測定した。その結果、7か月後のそれぞれの回収率は、Bu-PHBA は保存温度に関係なく80%、BA も保存温度に関係なく61%、DHA は25°保存で30%、37°保存であり、DHA がとくに経時的に変化することが判明した。

この DHA の回収率の減少に関係する因子を究明するため、清涼飲料水中の各添加物の単味溶液に DHA を加えて放置し、回収率の変化を測定した。その結果、いずれも減少傾向を示し、とくにクエン酸溶液のみが対照より低い回収率を示した。

終わりに臨み本研究にご指導、ご激励を賜った大阪市立衛生研究所食品栄養課長川北兵蔵博士、同じく研究主幹岡村一弘博士に深く感謝いたします。

本報の要旨は、日本食品衛生学会第7回学術講演会(昭和39年5月15日、名古屋)で発表。

文 献

- 1) 佐々木清司: 食衛誌. 4, 368 (1963).
- 2) 日本薬学会編: “衛生試験法注解”(第1版)p. 97 (1956) 金原出版.
- 3) 日本薬学会編: 同上. p. 65 (1956) 金原出版.
- 4) 日本薬学会編: 同上. p. 69 (1956) 金原出版.
- 5) 日本薬学会編: 同上. p. 103 (1956) 金原出版.
- 6) 永松淳男, 中川 眸: 栄養と食糧 15, 40 (1962).
- 7) 永松淳男, 中川 眸: 同上. 16, 213 (1962).
- 8) S. Iguchi: Chem. pharm. Bull. 7, 323 (1959).
- 9) S. Iguchi: ibid. 8, 1 (1960).
- 10) 井口定男, 後藤 茂, 児玉康志: 薬誌. 79, 1100 (1959).
- 11) 井口定男, 後藤 茂: 薬誌. 77, 94 (1957).
- 12) 井口定雄, 後藤 茂: 同上. 77, 98 (1957).