ポーラログラフィーによる乳飲料, 乳酸菌飲料中の サッカリンナトリウムの分析

(昭和 46 年 9 月 7 日受理)

高橋 強* 野田勝彦* 吉田 繁*

Polarographic Determination of Saccharin Sodium in Milk Beverages and Fermented Milk Beverages

Tsuyoshi TAKAHASHI, Katsuhiko NODA and Shigeru YOSHIDA

(Research Laboratory, Meiji Milk Products Co. Ltd.:
Sakae-cho, Higashi-Murayama, Tokyo)

The purpose of this investigation was to determine a small amount of saccharin sodium in milk beverages and fermented milk beverages by DC-polarography. The results obtained were as follows:

Saccharin sodium was reduced with the half-wave reduction potential of -1.03 V at pH 1.0, of -1.04 V at pH 2.0 in Sørensen's buffer. In several kinds of other buffer solutions, the same results were obtained. The height of each wave was proportional to the concentration of saccharin sodium.

It was revealed that this method was possible to apply to milk beverages and fermented milk beverages containing the interfering substances for other analytical methods of saccharin sodium such as precipitation test and colorimetry, being followed with good results.

(Received September 7, 1971)

食品中のサッカリンの検出試験法として一般に利用されているのは、エーテル抽出液の甘味試験¹⁾ および塩化第二鉄反応, 塩化バリウムによる沈殿法¹⁾, 呈色液の比色試験¹⁾²⁾, ペーパークロマトグラフィーによる試験³⁾, 薄層クロマトグラフィーによる試験⁴⁾⁵⁾, ガスクロマトグラフィーによる試験⁶⁾ など種々のものがある。これらの方法を乳飲料, 乳酸菌飲料中のサッカリンの検出ならびに定量に使用した場合に, 甘味試験や沈殿反応による方法では微量のサッカリンが使用されている場合には検出が不能となる場合が多く, 比色法ではサッカリン以外の物質による呈色や吸収のためサッカリンの呈色や吸収が妨害される場合があり, 薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーによる分析では試料の前処理と調製に時間を要し, かつカゼインの存在により検出精度が劣る⁷⁾ など, 問題が多い。

このため正確であり, かつ短時間に分析できる方法としてポーラログラフ法の利用を試みた。なお乳飲料, 乳酸菌飲料にはサッカリンナトリウムが用いられることが

多いと考えられるので, 実験はサッカリンナトリウムについて行ない, 良好な結果を得たのでここに報告する。

実験方法

試薬および装置

試薬類は関東化学製および和光純薬工業製の特級試薬を用いた。

サッカリンナトリウム標準液: 大東化学製サッカリンナトリウムを使用して 5 mg/ml の水溶液を調製した。

0.5 M 臭化テトラメチルアンモニウム: $(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$ 7.70 g を水に溶かして 100 ml とした。

緩衝液: Sørensen 緩衝液 (0.1 M クエン酸ナトリウム溶液-0.1 N 塩酸) および McIlvaine 緩衝液 (0.1 M クエン酸溶液-0.2 M リン酸水素二ナトリウム) を使用した。

ポーラログラフ: 柳本製作所製 P8-D 型を使用した。

実験操作

サッカリンナトリウム標準液 1 ml をとり, これに Sørensen または McIlvaine 緩衝液 4 ml を加え, さらに支持電解質として 0.5 M 臭化テトラメチルアンモニウム溶液 1 ml を加えて電解液として調製し, 以下常法

* 明治乳業株式会社研究所: 東京都東村山市栄町 1-21-3

に従ってポーラログラフイーを行なった。

乳飲料、乳酸菌飲料からの抽出はつぎのように行なった。すなわち試料 50 ml にリン酸 5 ml と塩化ナトリウム 20 g を加えて十分にかき混ぜ、さらにエーテル 50 ml、石油エーテル 50 ml を加えて混和した後、2000 rpm で 5 分間遠心分離する。エーテル・石油エーテル層 50 ml を分液漏斗に採取し、2%炭酸ナトリウム溶液 30 ml にて 3 回抽出し、抽出液を合わせてこれにリン酸 10 ml を加える。つぎにエーテル・石油エーテル等容混液 100 ml を加えて振り混ぜ、抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水した後、溶剤を留去する。完全に溶剤が除去されたら、水 1 ml、Sørensen 緩衝液 4 ml、0.5 M 臭化テトラメチルアンモニウム溶液 1 ml を加えて電解液を調製し、常法によりポーラログラフイーを行なった。ただし電解セルは内径 20、高さ 60 mm のものを使用した。

実験結果

1. サッカリンナトリウムの直流 (DC) ポーラログラフイー

pH の影響: Sørensen および McIlvaine 緩衝液によるサッカリンナトリウムの pH 1 から pH 3 までのポーラログラムはそれぞれ Fig. 1 および Fig. 2 に示すとおりであった。また pH の変化による半波電位の変動と波高の変化の関係を Fig. 3 および Fig. 4 に示した。Fig. 1~4 のとおり pH が高くなるにつれて半波電位は負側に移るが波高は pH 1~3 ではほとんど変わらないことがわかる。なお pH 1~3 では、同一 pH における半波電位および波高は緩衝液の種類による差は認められなかった。

水銀圧の影響: 滴下水銀電極の水銀圧の変化による影響は、Table 1 に示すとおりであって、ほとんど認められなかった。

濃度と波高の関係: pH 2 付近における溶液状のサッカリンナトリウムのポーラログラム波はかなり安定して

おり、この条件で得られた波の波高によりサッカリンナトリウムの定量は可能と考えられる。Fig. 5 に示すとおり濃度と波高の間には直線関係の存在することが認められた。

Fig. 2. Influence of pH on DC-polarograms of saccharin sodium in McIlvaine buffers

Fig. 3. Influence of pH on half-wave potentials of saccharin sodium

Fig. 1. Influence of pH on DC-polarograms of saccharin sodium in Sørensen's buffers

Fig. 4. Influence of pH on polarographic wave height of saccharin sodium

Table 1. Influence of Mercury Pressure from the Capillary Tube on the Polarogram

Height of mercury column (cm)	Half-wave potential (V)	Wave height (cm)
80	-1.03	58
70	-1.03	61
60	-1.03	57
Temperature		25°C
pH		1
Concentration		5 mg/6 ml

2. 乳飲料、乳酸菌飲料からの検出

検量線の作製: サッカリンナトリウム標準液を用いて、電解セルへサッカリンナトリウムとして 1, 2, 3, 4 および 5 mg を採取し、Sørensen 緩衝液 4 ml, 0.5 M 臭化テトラメチルアンモニウム溶液 1 ml を加え波高を求めて Fig. 5 に示すとおりの検量線を作製した。

回収実験: 市販の乳飲料および乳酸菌飲料の組成となるように原料を配合して作製した試料にサッカリンナトリウムを一定量ずつ添加し回収実験を行なった。実験

Fig. 5. Relation between saccharin sodium concentrations and polarographic wave height

結果を Table 2 に示した。回収率はやや低かったが、乳飲料、乳酸菌飲料中のサッカリンナトリウムの実用的検出試験法として十分使用可能と考えられる。

Table 2. Recovery of Saccharin Sodium from Milk Beverages and Fermented Milk Beverages

Sample (180 ml)		Saccharin sodium added (mg)	Saccharin sodium found (mg)	Recovery (%)
Milk Beverage	A	15	12	80
	B	15	11	74
	C	15	13.5	90
Fermented milk beverage	A	15	11.5	77
	B	15	11	74
	C	15	13	87

考 察

サッカリンナトリウムのポーログラムを観察すると、波高および波形の状態からみて pH 1~2 が定量にもっとも適当であると思われる。サッカリンナトリウムの還元機構⁹⁾から、pH 1~2 程度の強酸性では波高が高いのに対し、pH が高くなるほど、波高が低くなることは当然考えられる。しかし pH が 1~3 の間では波高にほとんど差がみられず、電位が負側に移行するのみであるので、濃度と波高とに直線関係が広い範囲にわたって認められる本法が定量試験法として十分使用できるものであると考えられる。ただし前述のとおり pH の変動によって半波電位が移動するので pH は十分安定させておく必要がある。そのために緩衝液を用いる必要があるが、緩衝液の種類が異なってもポーログラム上にはほとんど影響が認められなかった。したがって比較的

組成の簡単な Sørensen 緩衝液を用いることが便利と考えられる。

乳飲料、乳酸菌飲料中のサッカリンナトリウムの検出にこのポーログラフイーを利用したところやや回収率が低かったが、実用的には十分使用可能であると考えられる。

要 約

乳飲料、乳酸菌飲料中に含有される微量のサッカリンナトリウムの検出定量法としてポーログラフイーによる方法を検討した。サッカリンナトリウムのポーログラフイーは pH 1~3 において波形が安定しており、波高と濃度には広い範囲にわたり直線関係の存在することが認められた。乳飲料、乳酸菌飲料中のサッカリンナトリウムの定量に本法を適用したところ良好な結果が得られ、実的に十分使用できることがわかった。

終りに臨み本研究の発表をご許可された明治乳業株式会社, 浅沼隆男社長および種々ご教示頂きました同社舟木正直研究所長に深謝します。

文 献

- 1) 厚生省編纂: “衛生検査指針Ⅲ 食品衛生検査指針(Ⅱ)〔Ⅳ〕甘味料検査法”(1963).
- 2) 三橋 靖, 小林文子: 日本薬学会大会 第20回発表 33~18 (1965).
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法注解〔7〕人工甘味料試験法 (1965).
- 4) E. Schild Knecht, H. König: Z. Anal. Chem. **207**, 269 (1965).
- 5) 三橋 靖, 小林文子: 日本薬学会大会 第23回発表 8 M 1~4 (1967).
- 6) W. Groebel: Z. Lebensmittel-Untersuch. u. -Forsch. **129**, 153 (1966).
- 7) 川城 巖, 細貝祐太郎: 食衛誌, **6**, 44 (1965).
- 8) 館 勇, 塚本 務: 日農化誌, **25**, 335 (1951).