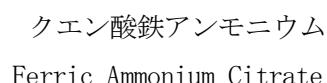
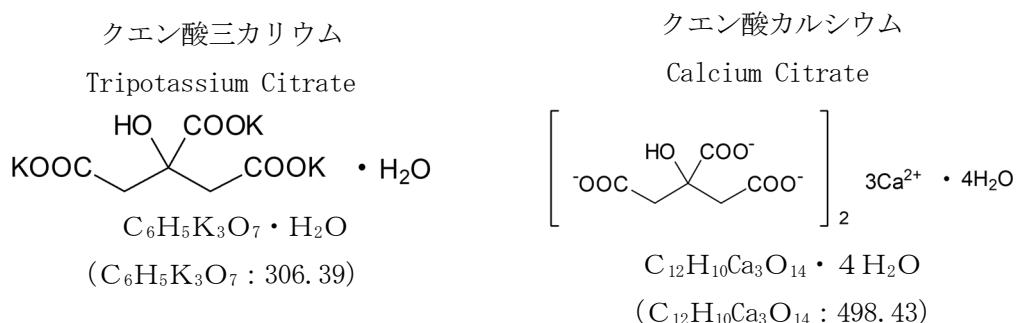
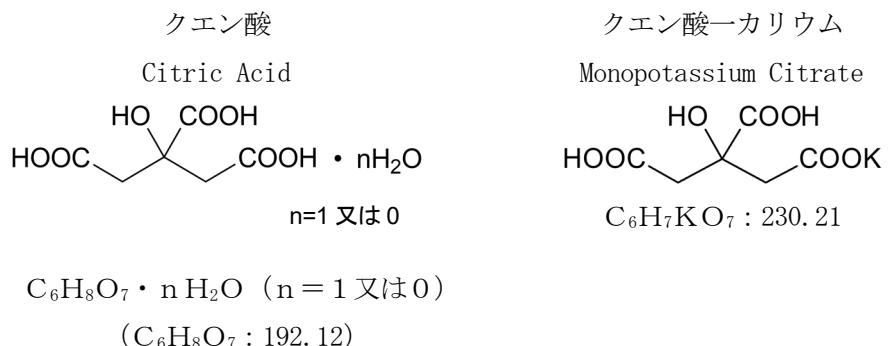


調味料等

クエン酸、コハク酸、酢酸、酒石酸、乳酸、フマル酸、リンゴ酸及び
それらの塩類

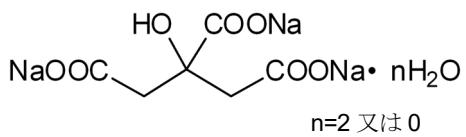
Citric Acid, Succinic Acid, Acetic Acid, Tartaric Acid, Lactic Acid,
Fumaric Acid, Malic Acid and Those Salts



クエン酸三ナトリウム

Trisodium Citrate

別名：クエン酸ナトリウム



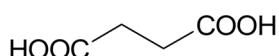
n=2 又は 0

C₆H₅Na₃O₇ • n H₂O (n = 2 又は 0)

(C₆H₅Na₃O₇ : 258.07)

コハク酸

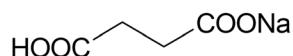
Succinic Acid



C₄H₆O₄ : 118.09

コハク酸一ナトリウム

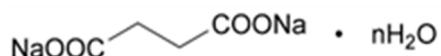
Monosodium Succinate



C₄H₅NaO₄ : 140.07

コハク酸二ナトリウム

Disodium Succinate



n=6 又は 0

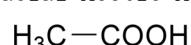
C₄H₄Na₂O₄ • n H₂O (n = 6 又は 0)

(C₄H₄Na₂O₄ : 162.05)

酢酸（水酢酸）

Acetic Acid

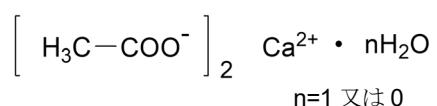
(Glacial Acetic Acid)



C₂H₄O₂ : 60.05

酢酸カルシウム

Calcium Acetate



n=1 又は 0

酢酸ナトリウム

Sodium Acetate



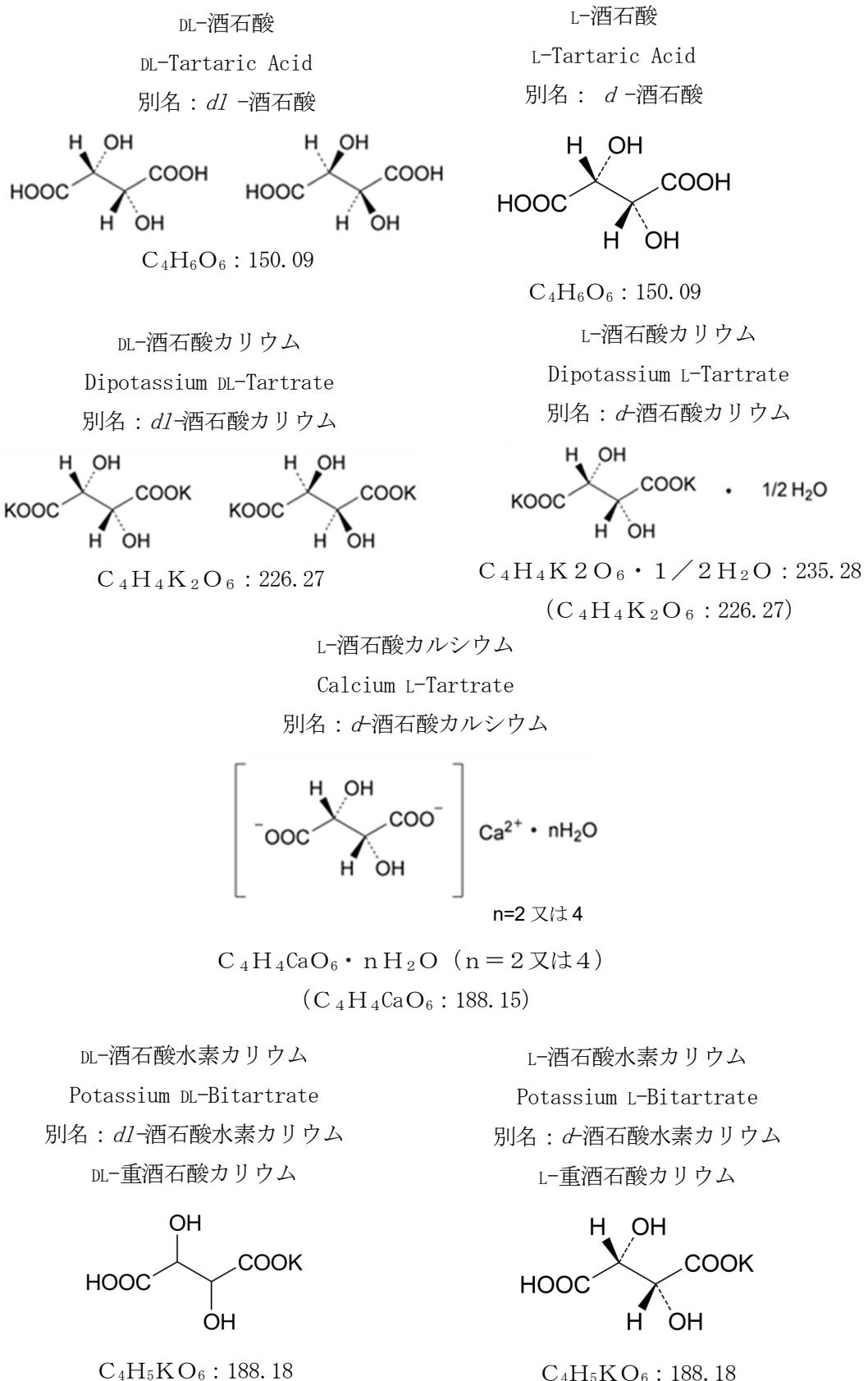
n=3 又は 0

C₂H₆CaO₄ • n H₂O (n = 1 又は 0)

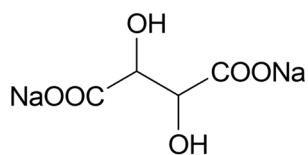
(C₂H₆CaO₄ : 158.17)

C₂H₃NaO₂ • n H₂O (n = 3 又は 0)

(C₂H₃NaO₂ : 82.03)

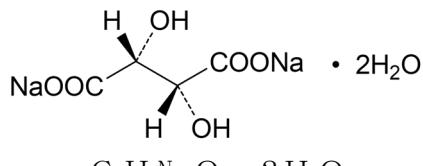


DL-酒石酸ナトリウム
Disodium DL-Tartrate
別名 : dl-酒石酸ナトリウム

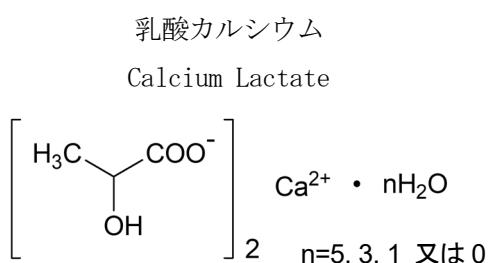
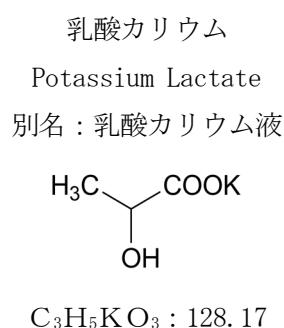


$\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6$: 194. 05

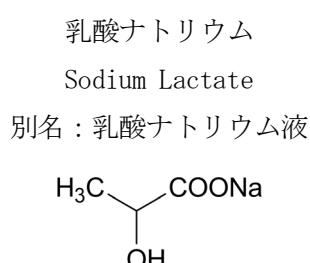
L-酒石酸ナトリウム
Disodium L-Tartrate
別名 : d-酒石酸ナトリウム



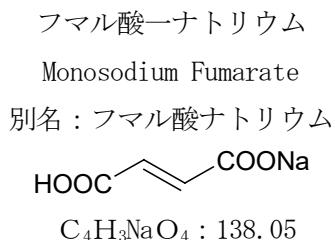
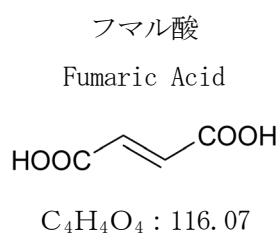
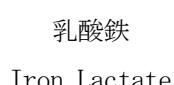
$\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6$: 194. 05
($\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6$: 194. 05)

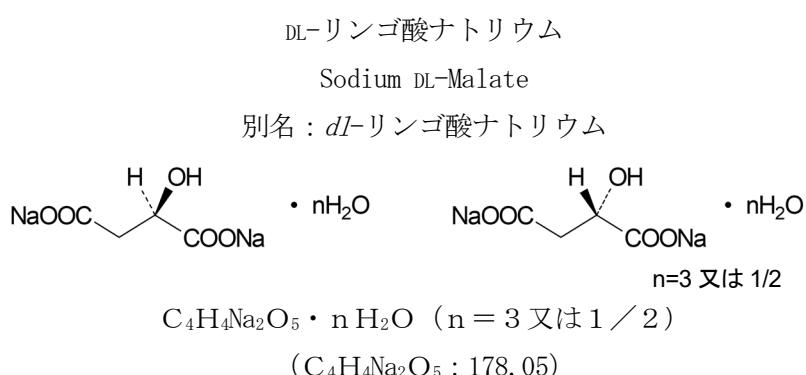
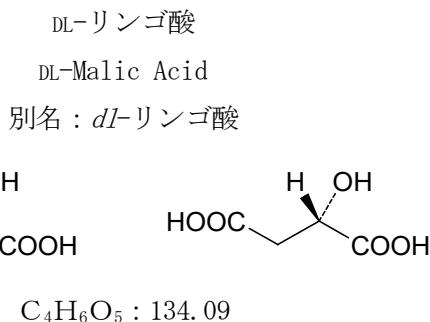


$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n = 5, 3, 1$ 又は 0)
($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{CaO}_6$: 218. 22)



$\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$: 112. 06





1. 分析法の概要

食品中の有機酸及びそれらの塩類（クエン酸及びその塩類¹⁾、コハク酸及びその塩類²⁾、酢酸（冰酢酸）及びその塩類³⁾、DL-酒石酸、L-酒石酸及びその塩類⁴⁾、乳酸及びその塩類⁵⁾、フマル酸及びフマル酸一ナトリウム⁶⁾並びにDL-リンゴ酸及びDL-リンゴ酸ナトリウム⁷⁾）は、過塩素酸で抽出し、液体クロマトグラフィーにより各有機酸として定量する。必要があれば分子量比を乗じてそれぞれの塩類の量として求める。食品中には、天然の有機酸が分布している。したがって、定量値は、食品由来のものと添加されたものとの合計値である。（2024 統合設定）

2. 分析法（液体クロマトグラフィー）

（1）検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

（2）試験溶液の調製

試料約5gを精密に量り、5%過塩素酸5mL及び水30mLを加え、10分間振とう抽出又はモジナイズ抽出⁸⁾した後、水を加えて正確に50mLとする。これをろ過⁹⁾し、ろ液を試験溶液とする。

（3）検量線用標準溶液の調製^{10)、11)}

クエン酸三ナトリウム・二水和物 0.1531 g、コハク酸 0.1000 g、酢酸ナトリウム（無水物）0.1366 g、酒石酸ナトリウム・二水和物 0.1533 g、乳酸リチウム（105°Cで4時間乾燥したもの）0.1066 g、マル酸 0.1000 g 及びリンゴ酸 0.1000 g を量り、それぞれ水に溶かして正確に 50mL とし、標準溶液とする（濃度 各有機酸として 2000μg/mL）。それぞれの標準溶液 1、5、10mL 及び 20mL を正確にとり、水を加えて正確に 200mL とし、検量線用標準溶液とする（濃度 各有機酸として 10～200μg/mL）。

（4）測定法¹²⁾

① 測定条件^{13)、14)}

紫外可視吸光光度検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：スルホン化スチレンジビニルベンゼン（有機酸分析専用カラム¹⁵⁾）

カラム管：内径 6.0～8.0mm、長さ 300～500mm

カラム温度：40°C

移動相：3 mmol/L 過塩素酸

流速：1.0mL/分

測定波長：220nm

注入量：10μL

② 検量線¹⁶⁾

検量線用標準溶液を液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積又はピーク高さから検量線を作成する。

③ 定量^{17～20)}

試験溶液を液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積又はピーク高さと検量線によって試験溶液中の各有机酸濃度（μg/mL）を求め、次式によって試料中の各有机酸含量（g/kg）を計算する。

$$\text{各有机酸含量 (g/kg)} = \frac{C \times 50}{W \times 1000}$$

C : 試験溶液中の各有机酸濃度（μg/mL）

W : 試料の採取量（g）

$$\text{クエン酸一カリウム含量 (g/kg)} = \text{クエン酸含量 (g/kg)} \times 1.198$$

$$\text{クエン酸三カリウム含量 (g/kg)} = \text{クエン酸含量 (g/kg)} \times 1.595$$

$$\text{クエン酸カルシウム含量 (g/kg)} = \text{クエン酸含量 (g/kg)} \times 1.297$$

$$\text{クエン酸三ナトリウム含量 (g/kg)} = \text{クエン酸含量 (g/kg)} \times 1.343$$

$$\text{コハク酸一ナトリウム含量 (g/kg)} = \text{コハク酸含量 (g/kg)} \times 1.186$$

$$\text{コハク酸二ナトリウム含量 (g/kg)} = \text{コハク酸含量 (g/kg)} \times 1.372$$

$$\text{酢酸ナトリウム含量 (g/kg)} = \text{酢酸含量 (g/kg)} \times 1.366$$

酢酸カルシウム含量 (g/kg) = 酢酸含量 (g/kg) × 1.316

酒石酸カリウム含量 (g/kg) = 酒石酸含量 (g/kg) × 1.508

酒石酸カルシウム含量 (g/kg) = 酒石酸含量 (g/kg) × 1.254

酒石酸水素カリウム含量 (g/kg) = 酒石酸含量 (g/kg) × 1.254

酒石酸ナトリウム含量 (g/kg) = 酒石酸含量 (g/kg) × 1.293

乳酸カリウム含量 (g/kg) = 乳酸含量 (g/kg) × 1.423

乳酸カルシウム含量 (g/kg) = 乳酸含量 (g/kg) × 1.211

乳酸ナトリウム含量 (g/kg) = 乳酸含量 (g/kg) × 1.244

フマル酸一ナトリウム含量 (g/kg) = フマル酸含量 (g/kg) × 1.189

リンゴ酸ナトリウム含量 (g/kg) = リンゴ酸含量 (g/kg) × 1.328

- ④ 定量限界 各有機酸として 0.1 g/kg²¹⁾

試薬・試液等

1. クエン酸三ナトリウム二水和物 : [特級]
2. コハク酸 : 市販の純度 99%以上のものを用いる。
3. 酒石酸ナトリウム・二水和物 : (+) - 酒石酸ナトリウム二水和物 [特級]
4. 乳酸リチウム : 市販の純度 95%以上のものを用いる²²⁾。
5. 酢酸ナトリウム (無水物) : [特級]
6. フマル酸 : 市販の純度 98%以上のものを用いる。
7. リンゴ酸 : 市販の純度 98%以上のものを用いる。(UV 波長 220nm 測定時に、DL-リンゴ酸からフマル酸と近似の溶出時間に不純物が検出されることがあるため、不純物が検出されないことを事前に確認する。)
8. 過塩素酸 (60%) : [特級、60%]
9. 5%過塩素酸 : 過塩素酸 (60%) 8.3mL をとり、水を加えて 100mL とする。
10. 3 mmol/L 過塩素酸 : 過塩素酸 (60%) 3.3mL をとり、水を加えて 1000mL とし、この溶液 100mL に水を加えて 1000mL とする。

[注]

- 1) クエン酸は、かんきつ類などをはじめとして多くの食品に存在する代表的な食用の有機酸で、さわやかな強い酸味がある。普通の酸味を付ける目的で使用される「酸味料」としては一番多く使われる酸である。工業的には、デンプン類を原料として発酵法によって作られたクエン酸を精製して作られる。食品添加物としては、菓子類や乳製品などにも酸味を付けたり、酸度を調整する目的で使用されるが、その使用の主体は、清涼飲料水をはじめとする飲料での酸味・酸度の調整目的になっている。また、酸化防止剤や保存料と併用すると、酸化防止の効果や保存性を強くする作用があるため、これらの食品添加物の補助剤 (シネルギスト) としても使われている。主に酸味料として使用されるクエン酸塩類に

は、クエン酸一カリウム、クエン酸三カリウム、クエン酸カルシウム、クエン酸三ナトリウムがあるが、クエン酸第一鉄ナトリウム、クエン酸鉄、クエン酸鉄アンモニウムも本法の測定対象に含まれる。

- 2) コハク酸は、貝類の旨味成分の酸としてよく知られている有機酸で、貝類をはじめとする動植物に広く存在しているものである。食品添加物のコハク酸は、通常、マレイン酸などを原料とする化学的な合成によって得られており、独特な酸味と旨味がある。清酒や合成酒、みそ、しょう油などの味（酸味・旨味）の調整に使われているが、独特な味のために、酸味料としての使用より、酸味を持つ調味料として使われることが多いことが特徴である。
- 3) 酢酸（冰酢酸）及び酢酸ナトリウムは、食品に対しては、酸味・酸度の調整の目的でソース類、マヨネーズなどの酸性調味料食品、酢漬け、水産ねり製品、パンなどに使用される。また、酢酸（冰酢酸）と酢酸ナトリウムは、併用して酢酸の味をまろやかにしたり、日持ちを向上させたりする目的などにも使用されている。日持ち向上の目的は、ねり製品やパンなどに使用されている。なお、酢酸カルシウムも本法の測定対象に含まれる。
- 4) 酒石酸は、代表的な食品用の有機酸の一つで、やや渋みを伴った酸味がある。自然界では、ぶどうなどの植物を中心に広く常駐している。食品では、ワインの中に多く含まれており、ときにはそのカリウム塩が酒石として沈殿を生じることがよく知られている。食品には、単独又はその塩類と併用されて酸味の付与や酸度・pHの調整の目的で使用され、また商品の風味の調整にも使用される。
- 5) 乳酸は、多くの動物、イネなどの植物の組織に存在する酸で、ヨーグルトや乳酸飲料などの乳の発酵物に多量に含まれるなど自然界に広く常駐する有機酸である。食品添加物としては、主に酸味を付けたり、酸度・pHを調整する目的で清涼飲料水や漬物をはじめ、さまざまな食品に使用されている。とくに清酒の製造では、主要な原材料の一つとして、明治時代から使われてきている。主に酸味料として使用される乳酸塩類には、乳酸カリウム、乳酸カルシウム、乳酸ナトリウムがあるが、乳酸鉄も本法の測定対象に含まれる。
- 6) フマル酸は、クエン酸などの他の有機酸類と併用して酸味の調整に使われることがほとんどであり、また、水溶性のナトリウム塩が使われることが一般的である。ジュース類や清涼飲料水などの飲料、冷菓やゼリー菓子、漬物などに酸味料として他の有機酸類との併用などで使用され、洋酒類での酸味・酸度の調整にも使用されている。
- 7) リンゴ酸は、リンゴをはじめとするいろいろな果実類を中心に、動植物に広く存在する有機酸の一つである。食品添加物のリンゴ酸は、マレイン酸を原料とする化学的な合成方法で作られている。通常は、特有の酸味がある白色の粉末又は結晶となっている。天然系と称するL-リンゴ酸は、発酵法や酵素法で作り得るが、既存添加物名簿に収載されておらず、食品添加物としては使用できない。リンゴ酸及びリンゴ酸ナトリウムは、いずれも水に溶けるため、求める効果を発揮しやすい方が選ばれて使われている。リンゴ酸は、いろいろなリンゴ加工食品をはじめとして清涼飲料水や飴菓子、マーガリン、マヨネーズな

どの酸味や酸度の調整の目的で使用されている。

- 8) 試料が肉、魚及び野菜などの場合は、ホモジナイザーを用いて粉碎抽出する。

波長 220nm での測定時は、固体試料の場合マトリックスの影響でベースラインが上がり、測定不能になることがある。また、波長 220nm での測定は、有機酸以外の物質も検出しやすく、液体試料や含まれる有機酸が分かっている場合は有用であるが、加工品や発酵食品等では有機酸以外の妨害ピークとの判別が困難である。後述するポストカラム誘導体化検出法¹²⁾を併用するとよい。

試験溶液の調製は、ほぼ過塩素酸水溶液での希釈のみであることから、試料採取量を少なくするか、定容量を大きくしたほうが良好な結果が得られる可能性が高い。ただし、この場合、定量限界濃度が高くなるため、結果の読み取り時は留意する。試料によっては後述する固相抽出カラムによる精製¹⁷⁾が有効な場合もある。

- 9) 例えれば、ろ紙として日本産業規格の 5 B 又は同等品が使用できる。

- 10) 3 濃度以上の検量線標準溶液を調製する。また、検量線用標準溶液の濃度及び数は、必要があれば、直線性が確保できる範囲で、適宜、変更してもよい。検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。

- 11) 分離状況に応じて、各有機酸を混合してもよいが、クエン酸及び酒石酸並びにコハク酸、乳酸及びフマル酸の溶出時間が近いため、二種類以上のグループに分けるとよい。

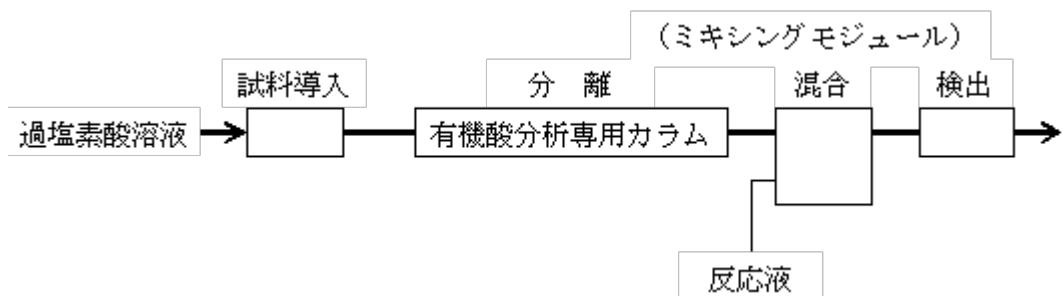
例) A グループ：クエン酸、コハク酸、フマル酸及び酢酸

B グループ：酒石酸、リンゴ酸及び乳酸

また、波長 220nm での測定時は、フマル酸は他の有機酸に比べ高感度なため、フマル酸標準溶液はさらに 1mL を正確にとり、水を加えて正確に 200mL とし、それぞれの標準溶液 1、5、10mL 及び 20mL を正確にとり、水を加えて正確に 200mL とし、検量線用標準溶液とする。濃度はフマル酸 0.05～1 μg/mL (各有機酸 10～200 μg/mL)。

- 12) 他の測定法としてカラム溶出液と反応液とをミキシングモジュールで混合し、有機酸(酸性物質)が溶出するときに示す発色を紫外可視吸光度検出器で検出するポストカラム誘導体化検出法がある。試料中の有機酸成分は、過塩素酸溶液を移動相とした有機酸専用分析カラムにより分離され溶出する。

一方、反応液中の pH 指示薬は塩基性の状態、すなわち解離状態 ($I^- + H^+$) に調整しておく。この反応液とカラム溶出液とをミキシングモジュールで混合させると酸性成分は、解離状態 ($AH \rightarrow A^- + H^+$) となる。このとき、溶液の pH は、酸性側にかたより、pH 指示薬は $I^- + H^+ \rightarrow IH$ の反応により発色する。



ポストカラム誘導体化検出法の測定条件を下記に示す^{文献1)}。

カラム：スルホン化スチレンジビニルベンゼンカラム（有機酸分析専用カラム¹⁵⁾）、内径8mm、長さ500mm

移動相：3mmol/L過塩素酸

反応液：0.2mmol/Lプロムチモールブルー含有15mmol/Lリン酸水素ナトリウム

流速 移動相 1.0mL/分、反応液 1.4mL/分；カラム温度 40°C；ミキシングモジュール

温度 室温；測定波長 445nm；注入量 10μL

13) 他の測定条件として下記の条件も使用できる。

①カラム スチレンポリマー系陽イオン交換カラム（有機酸分析専用カラム）、内径7.8mm、長さ300mm；カラム温度 40°C；移動相 0.75mmol/L硫酸；流速 0.8mL/分；測定波長 220nm；注入量 10μL

②カラム オクタデシルシリル化シリカゲルカラム、内径4.6mm、長さ250mm；カラム温度 40°C；移動相 0.1%リン酸；流速 0.7mL/分；測定波長 220nm；注入量 10μL

14) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量などを調整する。分析の際は、各有機酸のピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。

15) H⁺型の強陽イオン交換カラムであり、イオン排除、サイズ分離、分配・吸着の混合分離モードにより分離する。移動相には、過塩素酸のような酸性溶液を用いると、有機酸は解離が抑制され、相対的に親水性が低くなるため、逆相的にカラムに保持される。また、同じカラムを2本直列に連結して分析することにより、各有機酸のピーク分離を向上させることができる。

16) 必要に応じて、検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。

17) 有機酸以外の妨害ピークが多く有機酸の定量が困難な試料の場合、固相抽出カラムを用いた精製が有効な場合がある。以下に操作例を示す。ただし、フマル酸及び本法で同時に分析可能なアジピン酸²⁰⁾はこの操作によりピークが消失するため、固相抽出カラム処理の適用対象外である。また、添加回収率が乳酸では50～60%台、酢酸では30%前後となり、他の有機酸も対象食品によっては添加回収率の低下がみられる場合もあったことから、本体法で夾雑ピークの重なり等で定量が困難な有機酸に限り、対象食品での回収率を確認した上で補足的に固層抽出処理を行うとよい。

試料約5 gを精密に量り、水20mLを加えて10分間振とう抽出又はホモジナイズ抽出した後、水を加えて正確に50mLとする。これを遠心分離後ろ過し、ろ液500μLに2%アンモニア水1500μLを加え試料溶液とする。

強陰イオン交換-逆相ミックスモード固相抽出カラムをメタノール1mLと水1mLでコンディショニングした後、試料溶液2mLのうち1mLを負荷し、メタノール1mLと水1mLでカラムを洗浄した後、6%硫酸溶液1mLで溶出した溶出液を試験溶液とする。みそ等の発酵食品の場合は、強陰イオン交換-逆相ミックスモード固相抽出カラムをメタノール2mLと水2mLでコンディショニングした後、試料溶液2mLを負荷し、メタノール2mLと水2mLでカラムを洗浄した後、6%硫酸溶液5mLで溶出した溶出液を試験溶液とする。

18) 本法では、操作の煩雑さ軽減のため、試料体積を含めて定容し、その定容量を含量計算で乗じている。そのため、固体試料等では抽出液量を乗じた値より数%～10%程度高い定量値となる場合があり、添加回収率が100%を越えて高い場合には、この点が要因の一つとして考えられる。

19) 本法による添加回収率の結果の例を以下に示す。

緑茶	固層カラム処理 ¹⁷⁾ なし (n = 3)			固層カラム処理 ¹⁷⁾ あり (n = 5)		
	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)
クエン酸	1	106	0.6	0.8	114	1.7
コハク酸	1	131 ^{*1}	0.6	1.6	92.8	6.6
酢酸	1	104	0.6	1.6	37.7	2.2
酒石酸	1	108	0.6	0.8	108	1.1
乳酸	1	102	0.6	0.8	66.7	3.7
フマル酸	0.005	104	0.5			
リンゴ酸	1	103	0.6	0.8	104	0.8
アジピソン酸	1	104	2.6			

*1:夾雜ピークの重なりを含む、 斜線：対象外

ビスケット	固層カラム処理 ¹⁷⁾ なし (n = 3)			固層カラム処理 ¹⁷⁾ あり (n = 5)		
	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)
クエン酸	1	101	1.1	0.8	104	2.7
コハク酸	1	84.7	1.8	1.6	102	1.9
酢酸	1	80.3	0.4	1.6	32.9	1.9
酒石酸	1	107	0.8	0.8	116	1.6
乳酸	1	104	0.2	0.8	59.0	3.7

フマル酸 *1	0.005	85.1	25	斜線	斜線	斜線
リンゴ酸 *2	1	98.4	0.9	0.8	96.2	4.1
アジピン酸	1	82.8	0.9	斜線	斜線	斜線

*1: 10倍希釈して測定、 *2: 2倍希釈して測定、 斜線: 対象外

みそ	固層カラム処理 ¹⁷⁾ なし (n = 3)			固層カラム処理 ¹⁷⁾ あり (n = 5)		
	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)
クエン酸	1	73.1	7.4	0.1	70.1	12
コハク酸	1	-	-	0.2	47.4	30
酢酸	1	69.7	4.9	0.2	36.1	3.5
酒石酸	1	-	-	0.1	116	3.4
乳酸	1	84.9	1.5	0.1	51.6	4.5
フマル酸	0.005	77.3	4.4	斜線	斜線	斜線
リンゴ酸	1	-	-	0.1	58.5	9.4
アジピン酸	1	-	-	斜線	斜線	斜線

-:夾雜ピークの影響で有機酸の同定・定量困難、 斜線: 対象外

ドレッシング	固層カラム処理 ¹⁷⁾ なし (n = 3)			固層カラム処理 ¹⁷⁾ あり (n = 5)		
	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	R S D (%)
クエン酸	1	101	3.8	0.8	54.5 ^{*1}	46
コハク酸	1	-	-	1.6	21.0	6.4
酢酸	1	96.7	17	1.6	24.7	57
酒石酸	1	134	0.8	0.8	- ^{*1}	-
乳酸	1	94.4	2.2	0.8	56.0	13
フマル酸	0.005	92.9	2.5	斜線	斜線	斜線
リンゴ酸	1	-	-	0.8	83.0	1.0
アジピン酸	1	-	-	斜線	斜線	斜線

-:夾雜ピークの影響で有機酸の同定・定量困難、 *1: クエン酸と酒石酸のピーク不分離、 斜線: 対象外

20) アジピン酸も本法により同時分析が可能である。

- 21) クエン酸を多く含む試料において酒石酸を分析する場合など、保持時間の近い有機酸の濃度が高く、分離が困難な場合は、試料注入量を $1/10 \sim 1/20$ 等に減じることで、ピクトップが判別できるようになることが多いが、その場合、定量限界濃度は反比例して高くなるため、結果の読み取り時は留意する。
- 22) 次の精製法により得られたものを用いても良い。乳酸リチウム約 10 g に水 20mL を加え、注意して加熱、溶解し、熱ろ過する。冷後ろ液にアルコール及びエーテルの等容量の混液 200mL を加え、乳酸リチウムの白色の結晶あるいは粉末を析出させ減圧下でろ取する。これを 105°C で 4 時間乾燥し、冷後遮光した容器に密封して保存する。

[文献]

- 1) Wada, A., et al. : J. Chromatography, **291**, 111 (1984)