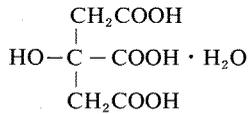


## 60 クエン酸及びその塩類

## Citric Acid and Its Salts

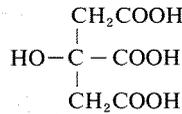
クエン酸 (結晶)

Citric Acid (crystal)

 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O} : 210.14$ 

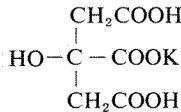
クエン酸 (無水)

Citric Acid (anhydride)

 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 : 192.13$ 

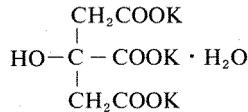
クエン酸一カリウム

Monopotassium Citrate

 $\text{C}_6\text{H}_7\text{KO}_7 : 230.22$ 

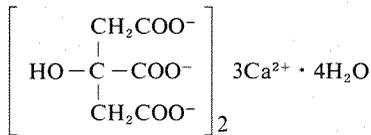
クエン酸三カリウム

Tripotassium Citrate

 $\text{C}_6\text{H}_5\text{K}_3\text{O}_7 : 324.41$ 

クエン酸カルシウム

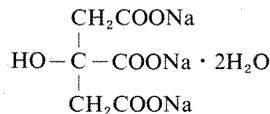
Calcium Citrate

 $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{Ca}_3\text{O}_{14} \cdot 4\text{H}_2\text{O} : 570.50$ 

クエン酸三ナトリウム (結晶)

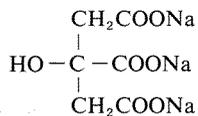
Trisodium Citrate (crystal)

別名：クエン酸ナトリウム

 $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O} : 294.10$ 

クエン酸三ナトリウム (無水)

Trisodium Citrate (anhydride)

 $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 : 258.07$ 

クエン酸第一鉄ナトリウム\*

Sodium Ferrous Citrate

別名：クエン酸鉄ナトリウム

クエン酸鉄\*

Ferric Citrate

クエン酸鉄アンモニウム\*

Ferric Ammonium Citrate

\*：化学構造が類似している他の用途の食品添加物も、本法の測定対象に含まれる。

## 1. 試験法の概要

食品中のクエン酸及びその塩類<sup>1)</sup>は、過塩素酸で抽出し、液体クロマトグラフィーによりクエン酸として定量する。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、天然のクエン酸が分布している。したがって、定量値は、食品由来のクエン酸と添加されたものとの合計値である。

## 2. 試験法 (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) 試料液の調製

試料約 5g を精密に量り、5%過塩素酸溶液 5ml 及び水 30ml を加え、10 分間振とう抽出又はホモジナイズ抽出<sup>2)</sup>した後、水を加えて正確に 50ml とする。これをろ過<sup>3)</sup>し、ろ液を試料液とする。

### (3) 検量線用標準液の調製

クエン酸三ナトリウム・二水和物 153.1mg を正確に量り、水を加えて溶かし、正確に 200ml とし、標準液とする (この液 1ml は、クエン酸 500 $\mu$ g を含む)。標準液 0, 1, 5, 10ml 及び 20ml をそれぞれ正確に量り、水を加えてそれぞれ正確に 50ml とし、検量線用標準液とする (これらの液 1ml は、それぞれクエン酸 0, 10, 50, 100 $\mu$ g 及び 200 $\mu$ g を含む)。

### (4) 測定法<sup>4)</sup>

#### ① 測定条件<sup>5)</sup>

紫外外部吸収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。

カラム充てん剤：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<sup>6)</sup>)

カラム管：内径 6.0~8.0mm, 長さ 300~500mm

カラム温度：40℃

移動相：3mmol/l 過塩素酸

流速：1.0ml/分

測定波長：220nm

注入量：10 $\mu$ l

#### ② 検量線<sup>7)</sup>

検量線用標準液それぞれ 10 $\mu$ l ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積からクエン酸の検量線を作成する。

### ③ 定量

試料液 10 $\mu$ l を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線によって試料液中のクエン酸濃度 ( $\mu$ g/ml) を求め、次式によって試料中のクエン酸含量 C (%) を計算する<sup>8),9)</sup>。

$$C (\%) = \frac{A}{W \times 200}$$

A : 試料液中のクエン酸濃度 ( $\mu$ g/ml)

W : 試料の採取量 (g)

クエン酸 (結晶) 含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.094

クエン酸一カリウム含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.198

クエン酸三カリウム含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.688

クエン酸カルシウム含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.485

クエン酸三ナトリウム (無水) 含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.343

クエン酸三ナトリウム (結晶) 含量 (%) = クエン酸含量 (%)  $\times$  1.531

### 試薬・試液

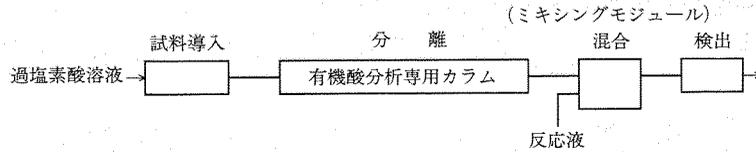
1. 過塩素酸 : [特級, 60 %]
2. クエン酸三ナトリウム・二水和物 : [特級]
3. ブロムチモールブルー : [特級]
4. リン酸水素二ナトリウム : [特級]
5. 5 % 過塩素酸溶液 : 過塩素酸 8.3ml を量り、水を加えて 100ml とする。

### [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。
- 2) 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。
- 3) 例えば、ろ紙 ADVANTEC No.5B などが使用できる。
- 4) 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可視部吸収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。

カラム管：Shodex Rspak C-811, 内径 8mm, 長さ 500mm 移動相：3mmol/l 過塩素酸

反応液：0.2mmol/l ブロムチモールブルー含有 15mmol/l リン酸水素二ナトリウム

流速：移動相 1.0ml/分, 反応液 1.4ml/分 カラム温度：40℃

ミキシングモジュール温度：室温 測定波長：445nm 注入量：10 $\mu$ l

5) 他の測定条件として下記の条件も使用できる。

①カラム管：TSKgel Oapak, 内径 7.8mm, 長さ 300mm カラム温度：40℃

移動相：0.75mmol/l 硫酸 流速：0.8ml/分 測定波長：220nm 注入量：10 $\mu$ l

②カラム管：Inertsil ODS-2, 内径 4.6mm, 長さ 250mm カラム温度：40℃

移動相：0.1%リン酸 流速：0.7ml/分 測定波長：220nm 注入量：10 $\mu$ l

6) 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。

7) クエン酸のほか、各種酸味料の標準液を用いれば、同時分析も可能である。

8) クエン酸のほか、各種酸味料の標準液の液体クロマトグラムを図に示す。

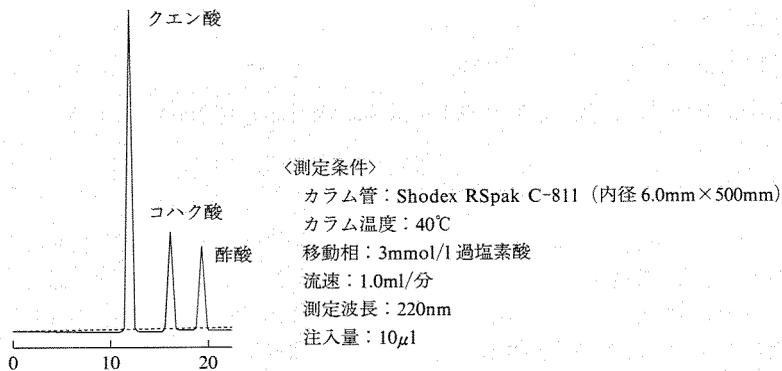


図 60-1 混合標準液 (クエン酸, コハク酸, 酢酸) の液体クロマトグラム

9) 本法によるクエン酸の定量限界は、0.01%である。