

通気蒸留装置-アルカリ滴定法を用いた食品中の二酸化硫黄分析精度管理について

上田泰人、大西優伽、岸本由里子、佐藤徳子、向井健悟

神戸市健康科学研究所 生活科学部

1 はじめに

亜硫酸およびその塩類は食品の漂白、酸化防止、保存などの目的で広く使用されており、我が国への輸入食品の違反事例でも頻出している食品添加物である。食品中の亜硫酸の分析は測定対象として二酸化硫黄としており、厚生労働省通知法¹⁾では抽出は通気蒸留装置を用い、定量は高濃度ではアルカリ滴定法、低濃度では比色法を用いることとされている。食品の二酸化硫黄分析法としては、通気蒸留後に比色法²⁾、イオンクロマトグラフィー法^{3)~6)}、アルカリ滴定法⁷⁾を用いる報告がある。比色法に比べて操作が簡易であるアルカリ滴定法は微量分注器を用いると低濃度側でも適応可能なことから、精度管理を実施する上での分析操作における留意点について検討したので報告する。

2 方法

2.1 試料

たくあん、煮豆、蜂蜜、水飴、ワイン、乾燥マンゴーの6食品。6食品のうちワイン、乾燥マンゴーを除く4食品には二酸化硫黄が含まれていないことを事前に確認済みである。

2.2 試薬等及び試液

試薬等及び試液：厚生労働省通知法¹⁾に従った。亜硫酸水素ナトリウム(特級)、エタノール(高速液体クロマトグラフ用)、過酸化水素(特級)、0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液(容量分析用)、リン酸(一級)、メチルレッド(特級)及びメチレンブルー(特級)は富士フィルム和光純薬製、シリコーン樹脂(食品添加物)は信越化学工業製を用いた。

標準亜硫酸溶液：亜硫酸水素ナトリウム 200mg をミリQ水 100mL に溶かした。

2.3 装置

宮本理研工業製亜硫酸定量装置 AR-20 を用いた。ただし、丸底フラスコは三商 100mL 丸底フラスコ、ナンシ型フラスコはファルコン製 50mL 用ポリプロピレンコニカルチューブを用い、定量はニチヨー製可変式連続分注器 8100(シリンジ 0.6mL、1 滴=0.01mL)を用いた。

2.4 分析法

厚生労働省通知法¹⁾に準じ、50mL コニカルチューブに 0.3%過酸化水素溶液 10mL を入れ、メチルレッド・メチレンブルー試液 1 滴を加え、0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液 0.01mL を加え緑色とし装置捕集側に取り付けた。100mL 丸底フラスコに試料 2.0g、ミリQ水 20mL、エタノール 2mL、シリコーン樹脂 2 滴、25%リン酸 10mL を加え装置に取り付けた。窒素ガスを 0.55L/分で通気し、マイクロガスバーナーの炎の高さは 5cm とし 10 分間加熱後に、可変式連続分注器 8100 を用いて 0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液で液が緑色になるのを終点とし定量した。

3 結果および考察

3.1 標準溶液

標準品はミリQ水に溶解し、ヨウ素液で標定し用いた。冷蔵保存後に濃度の低下が確認されたので、用時調製とした。なお、亜硫酸水素ナトリウムは 1%トリエタノールアミン溶液中では 12 か月間経時的に標定したところ安定であるとの報告がある³⁾。

3.2 可変式連続分注器 8100 の精度

ミリQ水で 30 回繰返し 0.01mL 採取し、重量を測定したところ、平均で 0.00990mg、標準偏差 0.00025mg であり、精度は高かった。

3.3 試料添加後の経過時間

たくあん 2.0g(n=2)に二酸化硫黄を 0.10g/kg になるように添加し、静置なしで 10 分加熱したものと、静置 30 分後に加熱 10 分または 20 分に延長したものを実施した(表 1)。静置なしでは回収率は 97.9%及び 99.4%であったが、静置 30 分後では 10 分加熱で 91.7%及び 93.2%、加熱時間を 20 分に延長すると 96.3%及び 97.9%であった。30 分静置の間に亜硫酸水素ナトリウムが食品内部に浸透し、回収率を低下させ、加熱時間の 20 分延長で増加する現象が他の食品でも想定される。今回は使用状態に近づけるため、添加回収試験は試料添加後 30 分静置し、加熱時間は 10 分で実施した。

表 1. たくあんの添加後の静置時間および加熱時間と回収率の関係(n=2)

添加後の静置時間(分)	加熱時間(分)	回収率(%)		
		①	②	平均
0	10	97.9	99.4	98.7
30	10	91.7	93.2	92.5
	20	96.3	97.9	97.1

3.4 器具反復使用のための洗浄へのエタノール使用

通気蒸留装置は使用后、二酸化硫黄を含め食品中の揮発性成分が付着し、次の分析を妨害すると考えられるので、洗浄が必要である。使用した通気蒸留装置を図 1 に示す。

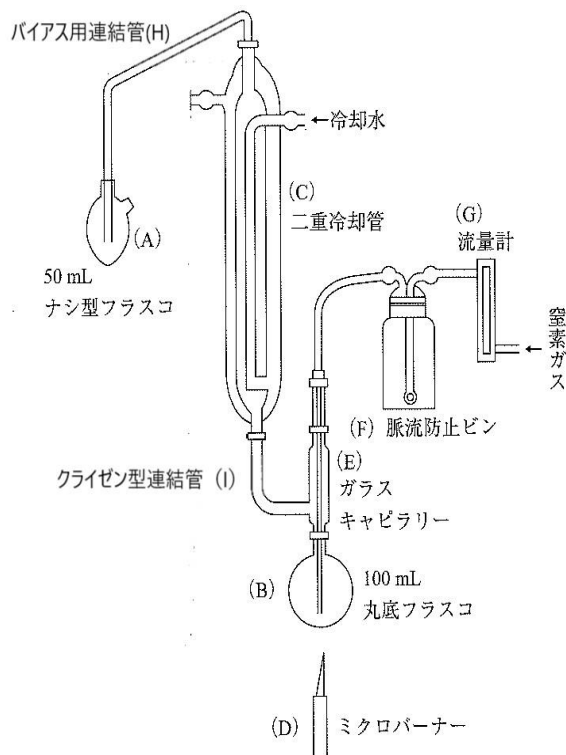


図 1. 通気蒸留装置

器具で洗浄が必要と考えられるのは丸底フラスコ(B)からコンカルチューブ(A)までの 6 点あり、そのうち丸底フラスコ(B)は通常の洗浄、コンカルチューブ(A)は交換した。装置から取り外しが困難なクライゼン型連結管(I)及び二重冷却管(C)は上からミ Q 水及びエタノールで洗浄した。装置からの取り外しは容易であるが連続分析する上で必要な本数が確保できていなかったガラスキャ

ピラリー(E)及びバイアス用連結管(H)は取り外し給湯の湯及びエタノールで洗浄した。

エタノール洗浄を行った経緯は次の通りである。過去に高濃度のピロ亜硫酸ナトリウムを含む食品の分析し、器具洗浄後も二酸化硫黄が検出され続けた経験があった。有機物を水より溶解し易いと考えられるエタノールで、二重冷却管を洗浄したところ有効であったことから、今回も二重冷却管及びクライゼン型連結管に当該洗浄を実施した。今回、煮豆などの添加回収試験で同一日に連続して実施したとき、一回目に比べ二回目では数値が低くなる傾向が認められた。その原因としてガラス器具に付着した洗浄水の残渣への亜硫酸の付着が考えられたため、他の器具にも当該洗浄を追加した。煮豆又は水 2.0g に二酸化硫黄として 0.1g/kg 添加して連続分析した際に、次の分析との間に洗浄時にエタノール洗浄を付け加えた場合と無い場合の結果を表 2 に示す。

表 2. 添加回収率と洗浄時のエタノール使用有無の関係

試料	回収率(%)	
	エタノール洗浄有	エタノール洗浄無
1 煮豆	83.1	83.1
2 煮豆	84.6	78.6
3 煮豆	86.0	86.0
4 煮豆	89.0	86.0
5 水	96.4	90.4
6 水	96.4	90.4

3.5 乾燥マンゴーにおける加熱時間

乾燥果実は加熱時間 10 分後も検出されるとの報告がある⁷⁾。ピロ亜硫酸ナトリウム使用の表示がある乾燥マンゴー片 17g をビーカー内でハサミで均一化し、パラツキを考慮し 2.0g(n=4)を 50 分間加熱し、10 分以後は 5 分間隔で 50 分まで分析した(表 3、図 2)。4 検体とも加熱時間 10 分以後も増加し、50 分加熱を基準として 10 分では 63.9~74.1%、20 分では 87.9~93.1%、30 分では 94.4~97.2%、40 分では 98.4~99.0%であった。今回の実験した区分の最後の部分に該当する 45 分間から 50 分間の 5 分間でも 4 検体とも 0.001mg/kg ~0.002mg/kg の間で増加していた。

表 3. 乾燥マンゴーの加熱時間および濃度の関係
(n=4)

加熱時間(分)	濃度(g/kg)				平均
	①	②	③	④	
10	0.204	0.193	0.161	0.170	0.182
15	0.250	0.228	0.206	0.204	0.222
20	0.267	0.241	0.223	0.218	0.237
25	0.277	0.248	0.236	0.229	0.248
30	0.280	0.251	0.239	0.234	0.251
35	0.283	0.254	0.245	0.239	0.255
40	0.285	0.256	0.249	0.244	0.259
45	0.287	0.257	0.250	0.247	0.260
50	0.288	0.259	0.252	0.248	0.262

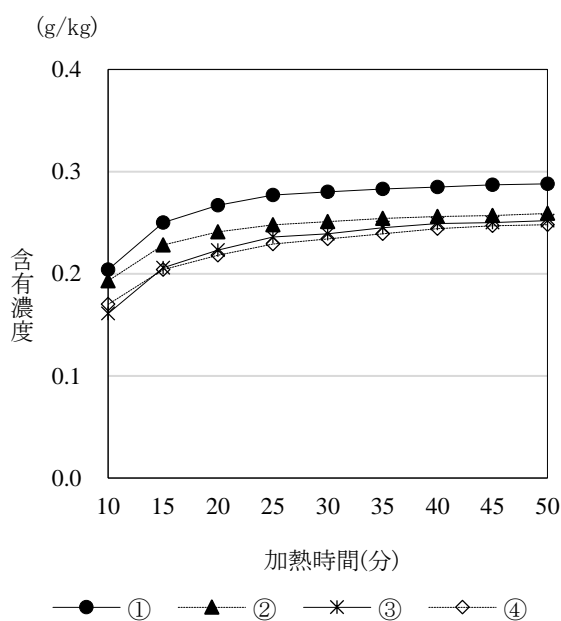


図 2. 乾燥マンゴー中の含量と加熱時間の関係(n=4)

3.6 乾燥マンゴーにおける添加回収試験

上記の乾燥マンゴー2.0gに二酸化硫黄として1.0g/kg添加し、30分間加熱の間に10分間隔で定量した結果(n=3)を表4に示す。回収率は同一加熱時間で得られた乾燥マンゴーの平均値を差し引いて算出した。回収率の各時間の平均は10分では95.4%、20分では95.8%、30分では96.0%とほぼ同一であり、加熱時間が10分あれば良好な結果が得られることが示唆された。

表 4. 乾燥マンゴーの添加回収率と加熱時間の関係
(n=3)

加熱時間(分)	回収率(%)			平均
	①	②	③	
10	94.5	96.0	95.6	95.4
20	95.4	96.9	95.0	95.8
30	95.7	97.1	95.2	96.0

3.7 添加回収試験

水、たくあん、煮豆、蜂蜜、水飴、ワイン、乾燥マンゴーにおける添加回収試験結果を示す(表5)。いずれも試料量2.0g、加熱時間10分でn=2で実施した。添加濃度は水、たくあん、蜂蜜、水飴及び煮豆は0.10g/kg、ワインは0.30g/kg、乾燥マンゴーは1.0g/kgとした。平均回収率(n=2)は水94.0%、たくあん85.3%、煮豆86.5%、蜂蜜88.8%、水飴92.5%、ワイン92.5%、乾燥マンゴーは95.3%であった。

表 5. 食品等の添加回収試験結果(n=2)

たくあん及び乾燥マンゴーは再掲

試料	添加前の試料中の濃度(g/kg)	添加濃度(g/kg)	回収率(%)		
			①	②	平均
			水	nd	0.10
たくあん	nd	0.10	84.6	86.0	85.3
煮豆	nd	0.10	89.5	83.5	86.5
蜂蜜	nd	0.10	91.0	86.5	88.8
水飴	nd	0.10	92.5	92.5	92.5
ワイン	0.12	0.30	92.0	93.0	92.5
乾燥マンゴー	0.182	1.00	94.5	96.0	95.3

4 まとめ

アルカリ滴定法で十分低濃度まで分析できた。標準の添加後30分静置は、静置しないものに比べて回収率の低下が認められたが、使用状態に近づけるため添加後30分静置して試験した。加熱時間も通知のとおり10分とした。通気蒸留装置の洗浄にエタノールを用いると、添加回収率の同一日の1回目と2回目の差が減少し、回収率増加と再現性の向上が示唆された。乾燥

マンゴーは加熱時間 10 分以後も徐々に増加し 50 分まで濃度の上昇が確認された。バックグラウンドより高濃度添加し、バックグラウンドを差し引くと加熱時間 10 分、20 分、30 分とほとんど差が認められなかった。6 食品での回収率は 85.3%～95.3%と良好であった。

参考文献

- 1) 「食品中の食品添加物分析法」の改正について(令和元年 6 月 28 日付、厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長通知、薬生食基発 0628 第 1 号)
- 2) 柴田正ら:食衛誌、31、57～66(1990)
- 3) 松本ひろ子ら:食衛誌、42、329-334(2001)
- 4) 下井俊子ら:食衛誌、45、332～338(2004)
- 5) 関戸晴子ら:神奈川県衛生研究所報告、41、24～27(2011)
- 6) 酒井康宏ら:神奈川県衛生研究所報告、50、28～30(2020)
- 7) 鈴木裕司ら:福島県衛生研究所年報、33、46-49(2015)