

キャピラリー電気泳動による異臭苦情飲料中の残留次亜塩素酸の分析

木村圭介*, 田端節子*, 岩崎由美子*,
飯田憲司*, 鎌田国広**, 広門雅子*

Analysis of hypo chlorite in stinker drink by capillary electrophoresis

Keisuke KIMURA*, Setsuko TABATA*, Yumiko IWASAKI*,
Kenji IIDA*, Kunihiko KAMATA** and Masako HIROKADO*

Keywords : 食品 food, 苦情 complaint, 異臭 stink, 次亜塩素酸 hypo chlorite, 塩素 chlorine, キャピラリー電気泳動 capillary electrophoresis, 清涼飲料水 cooling drink

緒言

食品異臭苦情は比較的多く、これまでに取り扱った事例においても、石油臭や塩素臭を感じたという苦情があった。特に、牛乳やリンゴジュース等の飲料で塩素臭がするという苦情が数例よせられた。飲料の製造工程では、ラインの殺菌洗浄等に次亜塩素酸等の塩素剤が用いられていることからその混入が疑われ、官能試験や次亜塩素酸の有無について検査を行った。

塩素等の陰イオンの分析法としてはイオンクロマトグラフィーが有用であるが、次亜塩素酸についてはカラム内で分解する等の理由で分析が困難である。また、一般的によく用いられている、水道水中の残留次亜塩素酸分析法(N,N'-ジエチル-p-フェニレンジアミン(DPD)による吸光度法等)を飲料に適用してみたが、飲料中に含まれる夾雑成分の影響により混入の有無が判別できなかった。

そこで、キャピラリー電気泳動装置(以下CEと略す)を用いた次亜塩素酸イオンの検出法について検討し、市販清涼飲料水に適用したところ若干の知見を得たので報告する。

実験の部

1. 試料

市販清涼飲料水、牛乳を用いた。

2. 試薬

1) 次亜塩素酸標準原液: 次亜塩素酸ナトリウム溶液(和光純薬製, 化学用)を上水試験法に従って標定し、標準原液とした。検量線用標準溶液は、この標準原液を水で適宜希釈し調製した(用時調製)。

2) 塩化ナトリウム標準原液: 塩化ナトリウム(和光純薬製, 特級) 0.1 gを水100 mLに溶解し、これを標準原液とした。検量線用標準溶液は、この標準原液を水で適宜希釈し

調製した。

3) 泳動液: Agilent社製有害イオン分析キットを用いた。

4) 水は超純水を、その他の試薬は特級を用いた。

3. 装置

HP社製キャピラリー電気泳動システム, ³D CE G1600Aを用いた。

4. 試験溶液の調製

緑茶等の清涼飲料水の場合はそのまま、あるいは必要に応じてろ過しそのろ液を試験溶液とした。また、牛乳やミルクコーヒー等の脂肪や蛋白を含む飲料では5°Cで冷却遠心分離(10000 rpm, 20分)を行い、その上澄液をろ過し、そのろ液を試験溶液とした。

5. 次亜塩素酸のCE分析法

野島の方法¹⁾に準じて行った。泳動液にはUV吸収を持つ物質を添加した電解液を用い、測定波長とリファレンス波長の差を取りフェログラムを反転させる間接吸光法で行った。試験溶液の注入は圧力法により、50 mb, 20秒間行った後、泳動液を15秒間注入した。泳動はネガティブモードで行い、電圧30 kV, 電力量1 Wとし、その許容範囲内で最大となる電流が流れるようにした。検出器にはフォトダイオードアレイを用い、測定波長は350 nm, リファレンス波長は275 nm(バンド幅はいずれも8 nm)とした。カラムにはフューズドシリカカラム(φ50 μm×121.5 cm)を用い、カラム温度は25°Cとした。試験溶液注入前に泳動液でプレコンディショニングを7分間行い、分析終了後には0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液と水でポストコンディショニングを行った。

* 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター精度管理室

結果及び考察

1. 試験溶液の調製法

清涼飲料水のうち、茶飲料や炭酸飲料についてはそのまま、あるいは必要に応じてろ過しただけで、CE分析が可能であった。ミルクティーやコーヒー飲料、牛乳など脂肪を含む飲料ではそのまま分析した場合、カラム内面に脂肪やタンパクが付着し泳動がうまく行われなくなり、フェログラムの異常が起きた。また、カラムの詰まりが起き、分析不能となることがあった。そこで、脂肪などを含む飲料の場合には冷却下、遠心分離をし、上澄液を試験溶液とすることとした。また、分析終了後に0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液と水によるポストコンディショニングを行うことで良好となった。

2. 次亜塩素酸イオンのCE分析法の検討

次亜塩素酸類は強いUV吸収を持たないため、測定波長とリファレンス波長の差をとる間接吸光法を採用し、検出感度を向上させるため下記の検討を行った。

測定波長とリファレンス波長の差がフェログラムとしてプロットされることから、測定波長として吸収を持たない波長域を設定し、リファレンス波長は泳動液の極大吸収波長域から設定した。図1に示すように、泳動液は310 nm以上には吸収を持たないことから、測定波長は350 nmとした。次に、リファレンス波長として、泳動液の極大吸収波長域である200 nmと275 nm (図1) を設定し、両者の検出感度を比較したところ、200 nmの方が、275 nmよりも高かった。しかし、200 nmの波長域には吸収を持つ物質が多いことから、分析上妨害となる可能性が考えられた。そこで通常の測定には、感度は200 nmよりも若干落ちるが、妨害の少ない275 nmを用いることとした。また、妨害の無い試料の場合には、高感度で分析できることから、200 nmもあわせて測定することとした。次に、測定波長とリファレンス波長のバンド幅について検討を行った。バンド幅を2 nmから20 nmの間で検討したところ、8 nmが検出感度、ピーク形状とももつとも良好であった。そこで、バンド幅は8 nmとした。次に、CE法では、検出感度は試料注入量に大きく依存しているため、試験溶液の注入量について検討を行った。

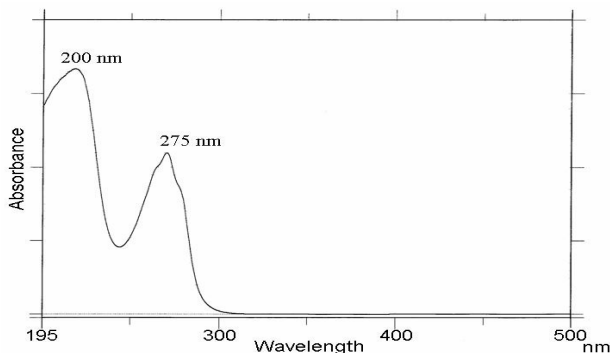


図1. 泳動液のUV吸収スペクトル

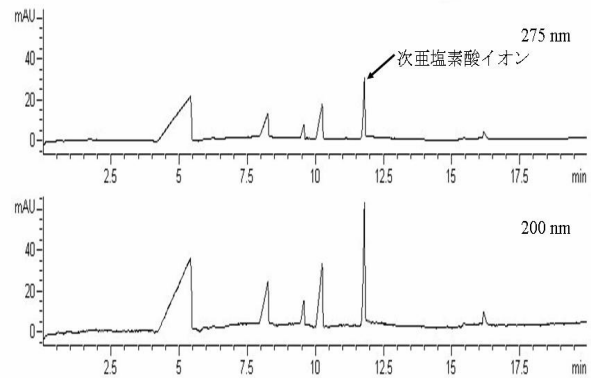


図2. リファレンス波長の違いによる感度変化

カラム：フューズドシリカカラム (φ 50 μm × 121.5 cm)

測定波長：350 nm, 試料注入：50 mb, 6 秒

泳動条件：ネガティブモード, 30 kV, 1 w

注入量は溶液にかかる圧力と注入時間で決まる。本法では粘度の高い飲料でも注入できるよう圧力は50 mb (最大値) に設定し、注入時間について検討を行った。注入時間が長くなるほど、カラムには多量の試料を注入できる。6秒から始め、5秒刻みで変化させたところ、注入時間の増加に比例しピーク面積が増加した。そこで、フェログラムのバランスからピーク形状が最も良好であった20秒間を注入時間とした (図3)。

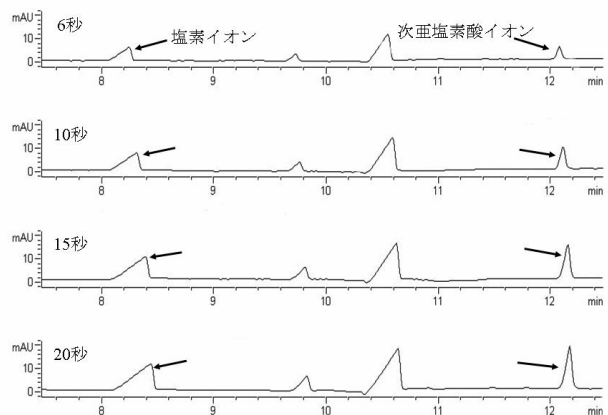


図3. 試料注入時間の比較

試料注入時間以外の分析条件：図2と同じ

3. 次亜塩素酸のエレクトロフェログラム

図4に確立した条件で測定した時の次亜塩素酸標準溶液 (100 μg/mL) のエレクトロフェログラムを示した。次亜塩素酸イオンの他、塩素イオン及び3種類の塩素酸類も同時に分析したところ、塩素イオン、塩素酸イオン、亜塩素酸イオン、次亜塩素酸イオン、過塩素酸イオンの順に溶出され、次亜塩素酸イオンは他のイオンと重なることはなかった。また、次亜塩素酸イオンは分解しやすいため、時間が経過するに従って次亜塩素酸イオンは減少し、塩素イオンが増加していた。そこで、苦情として次亜塩素酸混入が疑われた飲料を分析する場合には、残留次亜塩素酸イオンと

その分解物の一部である塩素イオンについても測定を行うこととした。

4. 次亜塩素酸イオン及び塩素イオンの検量線

次亜塩素酸イオン及び塩素イオンの検量線を作成し、その結果を図5に示した。前報²⁾では塩素イオンの検量線は直線であったが、次亜塩素酸イオンの検量線は2次曲線となった。そこで、本法による分析とあわせて滴定法により、残留次亜塩素酸量の確認を行った。その結果、本法と滴定法⁴⁾とは定量値は一致し、検量線も直線となった。

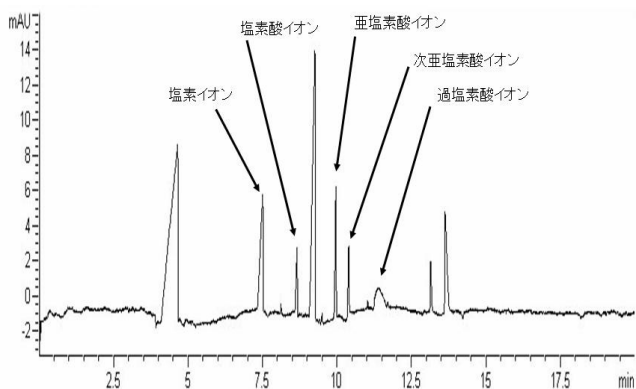


図4. 次亜塩素酸標準溶液 (100 µg/mL) のフェログラム

分析条件：図2と同じ

前報で複数回試行し、いずれも2次曲線となった理由については不明であった。なお、本法における定量下限値は、次亜塩素酸イオンとして35 µg/mLであり、750 µg/mLまでの間で直線性が得られた。また、塩素イオンの定量下限値は6 µg/mLであり、500 µg/mLまでの間で直線性が得られた。

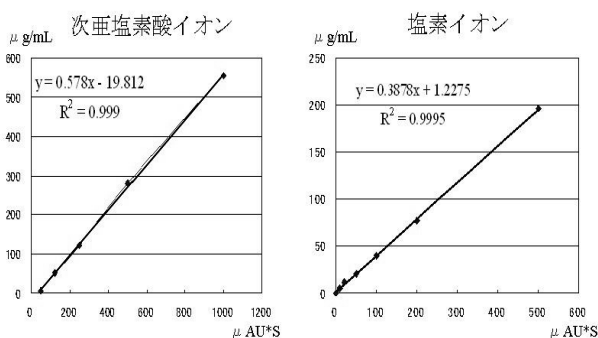


図5. 次亜塩素酸イオン及び塩素イオンの検量線

5. 各種飲料成分のCE分析に及ぼす影響

市販の緑茶、紅茶（レモンティー、ミルクティー）、ウーロン茶、コーヒー、ミルクコーヒー、牛乳についてCE分析を行った。図6にウーロン茶の電クロフェログラムを示した。ウーロン茶の場合、次亜塩素酸イオンの妨害となるピークは見られなかった。また、微量の塩素イオンを検出した。レモンティーでは次亜塩素酸イオンの溶出直前にUV吸収を持つ物質が溶出してきており、フェログラム上に負のピークが認められたが、塩素イオン、次亜塩素酸イオンの分析に影響は見られなかった。ミルクティーやリン

ゴジュースでもレモンティーと同様に負のピークが認められたが、次亜塩素酸イオンと重なることはなく、塩素イオン、次亜塩素酸イオンの分析には問題はなかった。これらの飲料においても微量の塩素イオンが検出された。牛乳では脂肪やタンパクの影響により、泳動がうまく行われなかった場合があったことから、タンパク除去フィルター等による前処理が必要と思われた。

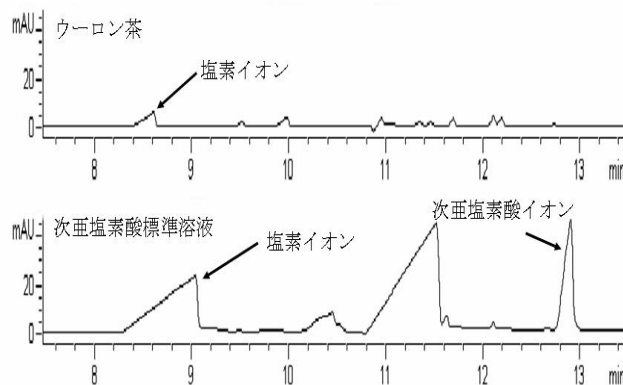


図6. ウーロン茶の電クロフェログラム

6. 添加試験

各種飲料に次亜塩素酸標準原液を添加した場合の結果を表1に示した。緑茶の場合、350 µg/mLになるように添加した時、次亜塩素酸イオンは検出されなかった。このとき、添加した次亜塩素酸イオンのほぼ100%（分子量換算）が塩素イオンとして検出された。レモンティーでは、次亜塩素酸イオンとして70 µg/mLおよび210 µg/mLになるように添加した場合、次亜塩素酸イオンは検出されず、塩素イオン量はそれぞれ58 µg/mL、175 µg/mLであった。他の飲料においても低濃度では次亜塩素酸イオンは検出されず、塩素イオンのみが検出された。しかし、飲料によっては次亜塩素酸イオン添加量よりも多くの塩素イオンが検出される場合もあったことから、原料由来の塩素についても考慮する必要があった。

表1. 各種飲料における次亜塩素酸添加結果

飲料	次亜塩素酸イオンとして		塩素イオンとして 検出量
	添加量	検出量	
緑茶	350	ND	235
緑茶	700	510	411
レモンティー	70	ND	58
レモンティー	210	ND	175
レモンティー	700	169	400
ミルクティー	70	ND	60
ミルクティー	700	279	464
リンゴジュース (クリアー)	175	ND	25
リンゴジュース (クリアー)	350	ND	45
リンゴジュース	70	ND	73
リンゴジュース	700	595	471

単位：µg/mL, ND: 100µg/mL以下

7. 清涼飲料水中の次亜塩素酸濃度と臭いの関係

異臭苦情食品のモデルとして、各種飲料に濃度の異なる

次亜塩素酸標準原液を加え、臭に異常を認める濃度について官能試験を行った。ミルクティーでは250 µg/mLになるように添加した場合には、10人中8人が臭に異常を認めたが、100 µg/mL添加では半数以下であった。また、リンゴジュースでは100 µg/mL添加で10人中8人が臭に異常を認めたが、50 µg/mL添加では半数以下であった。このように、飲料の種類により臭に異常を認める次亜塩素酸濃度は異なっていた。しかし、本法では半数が異常を認めた濃度では次亜塩素酸イオンを検出することはできず、塩素イオンのみ定量が可能であった。

8. 緑茶苦情事例への適応

店頭でサンプル用として塩素系漂白剤を添加したペットボトル入り緑茶を置いていたが、従業員が誤ってこれを販売してしまった。これを購入者が飲み、味がおかしかったため保健所に苦情として届け出られたものであった。

苦情品、未開封正常品について、上記の方法によりそれぞれ分析を行った。図7に示したとおり、苦情品、未開封正常品、いずれの試料からも次亜塩素酸イオンは検出されなかった。塩素イオンについては、未開封正常品からは微量検出された。これに比べ、苦情品の塩素イオン量が多いことが分かった。未開封正常品に次亜塩素酸標準原液を添

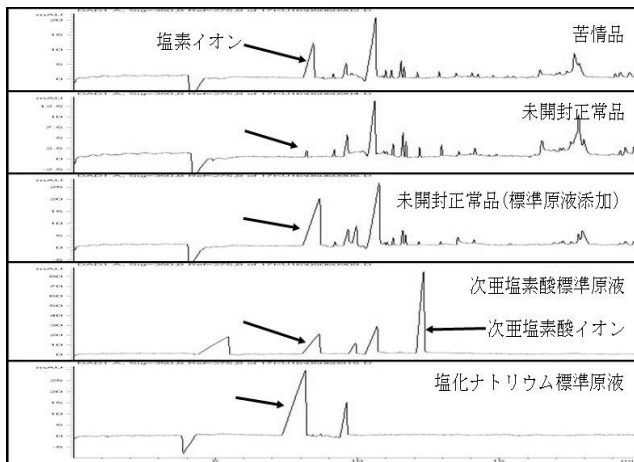


図7. 緑茶苦情事例におけるフェログラムの比較

加しCE分析を行ったところ、次亜塩素酸イオンは検出されず、塩素イオンが検出された。次亜塩素酸標準原液の添加量を増やしていくに従い、塩素イオン量も増え、そのフェログラムは苦情品のもものとよく類似していた。この苦情品は、塩素系漂白剤を添加したサンプル用の緑茶である可能性が高かったことから、苦情品から検出された多くの塩素イオンは次亜塩素酸由来のものと推察された。以上の結果より、苦情で持ち込まれた緑茶には次亜塩素酸溶液が混入したことが示唆された。

ま と め

塩素臭のする食品異臭苦情事例を対象としたCEによる次亜塩素酸の分析法について検討を行い、試料の前処理にかかる手間も少なく、簡便かつ迅速に行える方法を作成した。本法における次亜塩素酸イオンの検量線は35~750 µg/mLの間で直線性を示し、塩素イオンでは6~500 µg/mLの間で直線性を示した。次亜塩素酸は食品成分の影響で速やかに分解し、塩素イオンに変化することから、残留次亜塩素酸に加え、塩素イオンも同時分析の対象とした。本法を緑茶飲料における苦情事例に適応したところ、次亜塩素酸イオンは検出されず、塩素イオンのみ検出された。未開封正常品に次亜塩素酸標準原液を添加した実験では、苦情品と同様のフェログラムが得られたことから、次亜塩素酸の混入が示唆された。

次亜塩素酸イオンの混入が疑われる場合には、あらかじめ正常品について塩素イオン量を測定しておき、次に添加試験を行って、正常品と混入品とのフェログラムの比較や塩素イオン量の増加を確認することで、混入の裏付けをとることが可能と考える。

文 献

- 1) 野島裕香: キャピラリー電気泳動による次亜塩素酸の測定, 日本鑑識科学技術学会誌, 6, 別冊, 44, 2002
- 2) 木村圭介: 平成16年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部第17回理化学研究部会, 講演要旨集, 54-57, 2005.
- 3) 木村圭介: 第42回全国衛生化学技術協議会年会, 講演集, 140-141, 2005.