

亜硫酸検査におけるアジ化ナトリウム添加の検討

山嶋 裕季子*, 田口 信夫*, 小林 千種, 石川 ふさ子*,
伊藤 弘一*

Study on Addition of Sodium Azide for Determination of Sulfite in Foods

Yukiko YAMAJIMA*, Nobuo TAGUCHI*, Chigusa KOBAYASHI*, Husako ISHIKAWA*
and Kouichi ITO*

Keywords : 亜硫酸 sulfite, 亜硝酸 nitrate, アジ化ナトリウム sodium azide, イオンクロマトグラフィー ion chromatography, 改良ランキン蒸留装置 modified Rankine apparatus

はじめに

食品中の食品添加物の分析を行う場合、食品衛生検査指針(2003)¹⁾(以下、指針と略す)または衛生試験法・注解2005²⁾(以下、衛生試験法と略す)に掲載されている試験法が基準となり、多くの検査施設では検査実施標準作業書のもとになっている。食品の漂白や酸化防止の目的で使用される二酸化硫黄及び亜硫酸塩類(SO₂)の分析にも、これらの試験法が広く採用されている。指針にはアルカリ滴定法と比色法が、衛生試験法にはこれに加えHPLC法が記載されている。

しかし硫黄化合物を含有する食品を比色法で分析するとSO₂が添加されていない食品でもSO₂が検出される事例が報告されており、下井ら³⁾は蒸留の際に添加するアジ化ナトリウム(NaN₃)を加えないことで正確なSO₂含有量が得られることを報告している。

NaN₃は、比色法においてSO₂の定量を妨害する亜硝酸(NO₂)を除く目的で使用されている。しかし用いるNaN₃溶液は用時調製である上、NaN₃が1999年に毒物に指定されたため、試薬の調製及び取扱が煩雑であり、注意を払わなければならない。

今回は、SO₂試験においてNaN₃添加の必要性を再検討するために、SO₂を添加した加工食品及び硫黄化合物を含むことが知られているクロレラを試料とし、NaN₃添加の有無によるSO₂検出量をイオンクロマトグラフィー(IC)により測定、比較するとともに、試料中のNO₂の含有量を測定してNaN₃の影響を検証した。

実験方法

1. 試料 市販のワイン、はす水煮、乾燥果実(あんず及びマンゴー)、かんぴょう、総菜(きのこの炒め物)及びクロレラを用いた。クロレラを除く全ての試料にSO₂添加の表示があった。試料は粉碎して均一にして実験に用いた。乾燥果実は細切し、試料と同量の水を加えて膨潤させ

た後ブレンダーで粉碎した。

2. 試薬及び標準溶液

1) 水 MILLI-Q グラジェント A10 により精製した超純水に窒素ガスを5分間通気させたものを用いた。

2) 1%トリエタノールアミン(以下 TEA と略す)溶液 TEA(試薬特級, 和光純薬(株)製)10 g を水に溶かして1,000 mL とした後、窒素ガスを5分間通気して脱気した。

3) 亜硫酸水素ナトリウムの標定及びSO₂標準溶液の調製 松本らの方法⁴⁾に従った。すなわち、SO₂としての力価を標定した亜硫酸水素ナトリウムを量って1%TEA溶液に溶解し、1 mL に100 µg のSO₂を含む溶液を調製して標準原液とした。標準溶液は、用時標準原液を1%TEA溶液で希釈して用いた。

4) NO₂標準溶液 亜硝酸ナトリウム75 mg を水に溶かして全量50 mL としたものを標準原液(NO₂⁻として1,000 µg/mL)とし、これを段階的に水で希釈して標準溶液とした。

5) ホウ酸ナトリウム溶液 ホウ酸ナトリウム(Na₂B₄O₇·10H₂O)19.2 g を水に溶かして全量1,000 mL とした(ホウ酸濃度200 mmol/L)。

6) NaN₃溶液(1→100)及び5%ジメドンエタノール溶液(以下ジメドン溶液と略す) 指針¹⁾に従って調製した。なお、調製後は容器をアルミ箔で覆って遮光し、6時間以内に使用した。

試薬はすべて市販特級品を使用し、その他の試液は指針^{1), 5)}または衛生試験法²⁾に従って調製した。

3. 器具及び装置

1) 通気蒸留装置 指針¹⁾の二重冷却管付通気蒸留装置を用いた。ただし加熱にはマイクロバーナーを使用し、蒸留ガス吹き出し管の内径は1.0 mm以内のものを用いた。

2) IC 日本DIONEX(株)製DXc-500シリーズ、溶離液

* 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科 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

ジェネレーターEG50, 電気伝導度検出器 ED50, 日本分光(株) 製紫外外部吸収検出器 UV-2075 Plus 付.

3) IC用メンブランフィルター 日本ミリポア(株) 製マイレックス-LH, 膜材質: PTFE, 直径 13 mm, 孔径 0.45 μm .

4) プレフィルター内蔵シリンジフィルター ワットマン ジャパン(株) 製 GD/X シリンジフィルター, 膜材質: PVDF, 直径 25 mm, 孔径 0.45 μm , グラスファイバー製プレフィルター付.

4. 試験溶液の調製

1) SO_2 測定用試験溶液 下井らの方法³⁾に準じた(図1). 捕集液は TEA 8 mL とし, 試料は 0.5~10 g とした. 蒸留装置に予め窒素ガスを通気した後, 毎分 0.8 L の速度で通気しながら加熱蒸留し, 捕集液を TEA 溶液で 10 または 20 mL に定容後, IC 用メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした.



図1. SO_2 試験溶液の調製

2) NO_2 試験溶液の調製 辻らの方法⁶⁾に準じた. 試料 2.5 g (かんぴょうのみ 1.0 g) に 80°C に加温したホウ酸ナトリウム溶液 30 mL を加えて混和し, 80°C に加熱した超音波洗浄器で 15 分間超音波処理した. 水で室温まで冷却後, ホウ酸ナトリウム溶液で全量 50 mL とし, 遠心分離 (3,000 rpm \times 10 分間) した上澄をプレフィルター内蔵シリンジフィルターでろ過したものを試験溶液とした.

5. 測定

1) SO_2 試験溶液を IC に注入して SO_3^{2-} のピークを測定し, 予め SO_2 標準溶液より作成した検量線より SO_2 含有量を求めた. なお本法での検出下限値は, 試料 10 g を通気蒸留して捕集液を 10 mL に定容した場合, 0.5 $\mu\text{g/g}$ であった.

IC 条件 分析カラム: IonPac AS17 (4 mm i.d. \times 250 mm),

ガードカラム: IonPac AG17 (4 mm i.d. \times 50 mm), 溶離液: 6 mmol/L KOH (溶離液ジェネレーターにより自動調製), カラム温度: 35°C , 流速: 1.5 mL/min, 検出器: 電気伝導度及び紫外外部検出器 (検出波長 210 nm), サプレッサー: ASRS-ULTRA II (電流値 25 mA), 注入量: 25 μL .

2) NO_2 指針⁵⁾に従った.

結果及び考察

1. NaN_3 添加の SO_2 検出量に対する効果

指針¹⁾の SO_2 試験法における NaN_3 添加の効果調べた. 試料に NO_2 を添加したものと添加しないもの各々に, 下井らの報告³⁾ にならない NaN_3 溶液, ジメドン溶液を各々単独または両者合わせて添加後蒸留し, 捕集液中の SO_2 量を IC で測定し, 非添加で操作したものと比較した. なお IC による測定は電気伝導度検出器による測定値で定量し, 紫外外部検出器は SO_3^{2-} の確認に用いた. 試験溶液及び標準溶液のクロマトグラムを図2に示した.

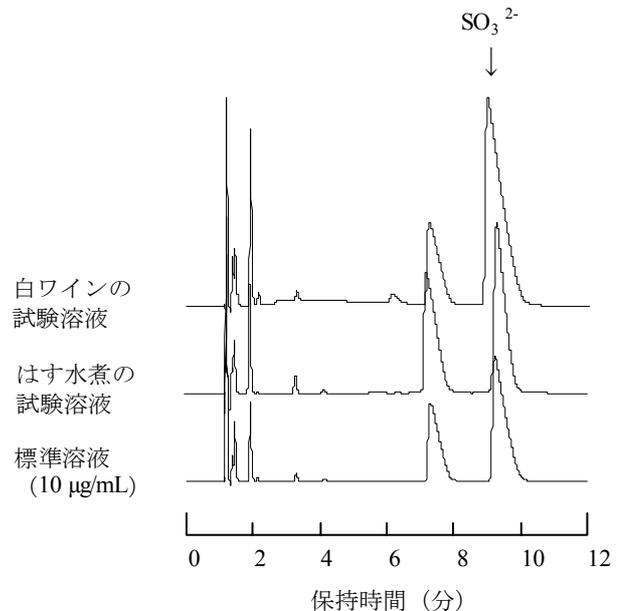


図2. 試験溶液及び SO_2 標準溶液のイオンクロマトグラム (電気伝導度検出器)

1) NO_2 無添加試料での NaN_3 溶液及びジメドン溶液添加による比較 結果を表1に示した. SO_2 無添加のクロレラから SO_2 が検出されたが, SO_2 は NaN_3 , ジメドン, NaN_3 とジメドンを添加したものからも同様に検出され, いずれの添加においても SO_2 の検出量が増加する傾向が見られた. その他の試料は SO_2 が添加されたものであったが, NaN_3 , ジメドン, NaN_3 とジメドンを添加したものと無添加のブランクの間に SO_2 の検出量に大きな差は認められなかった.

NaN_3 の比色法での使用は, 空気試験法⁷⁾における微量の SO_2 を定量する際に共存すると妨害となる NO_2 を NaN_3 と反応させて N_2 として除去する方法を応用したものと考えられる. 空気試験法では吸収液に NaN_3 を添加し, この吸収液に常温で試料空気を通じて SO_2 ガスを捕集している.

表1. NO₂無添加試料からの亜硫酸検出量
($\mu\text{g/g}$, SO₂として)

試料	フラスコに添加した溶液			
	ブランク	NaN ₃	ジメドン	NaN ₃ + ジメドン
赤ワイン	65	62	61	62
白ワイン	84	78	76	75
はす水煮	13	12	11	10
かんぴょう	2,400	2,600	2,400	2,600
乾燥果実 (あんず)	350	320	300	300
乾燥果実 (マンゴー)	2,100	2,000	2,100	2,100
総菜	22	23	22	21
クロレラ*	16	18	18	19

* : SO₂無添加試料, 無印 : SO₂添加表示のある試料

一方, 食品の試験 (比色法) では試料, 水, リン酸等とともに NaN₃ をフラスコに添加し, このフラスコを加熱しながら通気蒸留を行うことで試料中に遊離または試料成分と結合している SO₂ をガス化させて水酸化ナトリウム溶液に捕集する. 通気蒸留中の酸性・加熱という条件は過酷であり, 反応性の高い NaN₃ と食品中の硫黄化合物等の反応を促進し, SO₂ を分解生成するのではないかと考えられる. 生鮮食品に NaN₃ を添加することで SO₂ が検出された下井らの事例³⁾ や微量ながら今回のクロレラでの結果も, このようにして起こったものと考えられた.

2) NO₂ 添加試料での NaN₃ 溶液及びジメドン溶液添加による比較 指針では NaN₃ 溶液 1 mL の添加で 1 mg までの NO₂ の影響を除去できるとしている. しかし食品中の NO₂ 含有量は一部の漬物等を除き 10 $\mu\text{g/g}$ 以下であると報告されており⁸⁾, SO₂ 試験において通常の試料採取量で NO₂ の総量が 1 mg を超えることはないと考えられる. そこで試料に NO₂ 1 mg を添加し, 先と同様に NaN₃ 溶液, ジメドン溶液を添加して蒸留し, 測定値を比較した. 結果を表 2 に示した.

NaN₃ やジメドンを添加した場合は, 無添加のブランクよりも SO₂ の検出量が多く, その値は表 1 のそれらと大差ないものとなり, NaN₃ とジメドンの効果が確認された.

さらに, NO₂ を添加したもののブランクと表 1 の無添加のものとのブランクを比較すると NO₂ 添加のものの方で, 49~79% に減少しており, また SO₂ 含有量の多いものほど減少率が大きかった. これは, かんぴょうや乾燥果実等, SO₂ 添加量の多い試料では他の試料と比べ, 結合型よりも還元力のある遊離型 SO₂ の割合が多く, これが NO₂ と反応した結果, 含有量の多い試料での減少率が大きかったものと思われる. したがって NaN₃ やジメドンの添加はこの NO₂ と遊離型 SO₂ の反応を阻害する効果があるものと考えられる.

Ogawa ら⁹⁾ は, SO₂ 1 mg をフラスコに採り, ここに NO₂ を 0.05~1.0 mg 添加した後, 通気蒸留を行って SO₂ を測定したところ, NO₂ 量が増加するに従って SO₂ の回収量は減少したが, NaN₃ 10 mg を添加することで NO₂ 1 mg が共存しても 92% の SO₂ を回収できたと報告している. これらのことから, 試料中に SO₂ と NO₂ が共存する場合は, 両者の

反応により SO₂ 検出量が減少するが, NaN₃ の添加により NO₂ と NaN₃ が反応することで NO₂ の影響が除かれて SO₂ の検出量が増加したのと考えられた.

またジメドンのみ添加したのものでも NaN₃ と同様に SO₂ の検出量の増加が認められた. ジメドン溶液は比色法においてホルムアルデヒド, アセトアルデヒド等による呈色妨害を防止する目的で添加されるが, ジメドンの作用については今後さらに検討する必要があると考えられる.

表2. NO₂添加試料からの亜硫酸検出量
($\mu\text{g/g}$, SO₂として)

試料	フラスコに添加した溶液			
	ブランク	NaN ₃	ジメドン	NaN ₃ + ジメドン
赤ワイン	46	53	44	53
白ワイン	67	72	65	65
はす水煮	6.2	11	9.7	11
かんぴょう	1,100	2,400	2,300	2,500
乾燥果実 (あんず)	170	280	300	340
乾燥果実 (マンゴー)	1,500	2,000	2,000	2,100
総菜	13	19	17	17
クロレラ*	11	17	18	17

NO₂添加量 : 1 mg* : SO₂無添加試料, 無印 : SO₂添加表示のある試料

2. 試料中の NO₂ 含有量

試料中の NO₂ 検出量を表 3 に示した. クロレラの試験溶液は懸濁して測定不能, その他の試料からは NO₂ は検出されなかった. また NO₂ を試料 1 g あたり 2 または 5 μg 添加した場合の回収率は, 21.8~89.1% であった.

NO₂ 試験において指針⁵⁾ では, 試料中にアスコルビン酸等の還元物質が含まれている場合は定量妨害となり, NO₂ の測定値が低くなることが示されている. 今回, SO₂ 検出量が少ない惣菜での NO₂ 回収率がもっとも大きかったこと

表3. 試料からの亜硝酸検出量 (NO₂として)

試料	NO ₂ 添加量 ($\mu\text{g/g}$)	検出量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)
赤ワイン	0	ND	25.0
	2	0.50	
白ワイン	0	ND	60.7
	2	1.21	
はす水煮	0	ND	61.2
	2	1.22	
かんぴょう	0	ND	39.2
	5	1.96	
乾燥果実 (あんず)	0	ND	21.8
	2	0.44	
乾燥果実 (マンゴー)	0	ND	49.2
	2	0.98	
総菜	0	ND	89.1
	2	1.78	
クロレラ	0	—	—
	2	—	

ND : かんぴょう 0.25 $\mu\text{g/g}$ 未満, その他 0.10 $\mu\text{g/g}$ 未満
— : 測定不能

から、SO₂がNO₂の定量を妨害したものと考えられた。経験上または食品添加物の使用基準の観点から、発色剤のNO₂と漂白剤のSO₂が同時に使用される加工食品は少ないと考えられるが、NO₂試験において、試料中にSO₂が含まれている場合は定量妨害を起こす可能性を考慮する必要があると考えられる。

以上からSO₂試験において、NO₂の影響があるような試料では比色法だけでなくHPLC法やIC法でもNaN₃の添加が必要と思われるが、NO₂含有量の少ない一般の加工食品等ではNaN₃を添加する必要性はないものと考えられた。

ま と め

食品衛生検査指針や衛生試験法・注解に記載されている二酸化硫黄及び亜硫酸塩類(SO₂)の試験法では定量の妨害となる亜硝酸(NO₂)を除く目的でアジ化ナトリウム(NaN₃)が添加されるが、硫黄化合物を含む食品の中にはNaN₃と反応して本来添加されていないはずのSO₂が検出される場合がある。またNaN₃は毒物であるため取扱に注意を要する。そこでNaN₃添加の必要性を再検討するため、NaN₃添加の有無によるSO₂検出量を比較した。その結果クロレラではNaN₃とジメドンの添加によりSO₂検出量がやや増加したが、SO₂が添加されていた試料ではNaN₃の有無によるSO₂検出量に変化はなかった。またこれらの試料にNO₂ 1 mgを加えた場合、SO₂検出量は

79~45%まで減少した。NO₂を添加した試料においては、NaN₃の添加によりSO₂回収量が増加した。さらに試料中のNO₂を測定したところ測定不能のクロレラを除き、何れの試料からも検出されなかった。したがって、SO₂とNO₂が共存する場合はNaN₃の添加が有効であるが、今回調査した食品においてはNaN₃添加の必要性がないことが判明した。

文 献

- 1) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針食品添加物編 2003, 100-109, 2003, (社)日本食品衛生協会, 東京.
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2005, 320-327, 2005, 金原出版(株), 東京.
- 3) 下井俊子, 井部明広, 田端節子, 他：食衛試, **45**, 322-338, 2004.
- 4) 松本ひろ子, 小川仁志, 鈴木敬子, 他, **42**, 329-334, 2001.
- 5) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針食品添加物編 2003, 142-148, 2003, (社)日本食品衛生協会, 東京.
- 6) 辻澄子, 藤原香里, 柴田正, 他：食衛試, **34**, 303-313, 1993.
- 7) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2005, 975-977, 1068-1069, 2005, 金原出版(株), 東京.
- 8) 柴田正, 辻澄子：食品衛生研究, **47**, 29-67, 1997.
- 9) Ogawa S., Suzuki H., Toyoda M., et al.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **168**, 293-298, 1979.