食品中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類試験法に関する検討

―試験品中の安定性について―

磯野 真彩a, 安井 明子a, 山嶋 裕季子a, 小林 千種a, 大塚 健治a

漂白剤,酸化防止剤,保存料として幅広い食品に使用される二酸化硫黄及び亜硫酸塩類は,不安定な物質であるため,検査する上で減少することを考慮しなければならない.しかし,保管試料中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の含有量の安定性についての知見は少ない.そこで,当センターで行っている厚生労働省通知に基づく液体クロマトグラフィーによる確認分析法で,冷蔵,冷凍保存した試料について経時的に定量を行った.その結果,食品の種類によって安定性が異なり,それぞれの再検査可能な保存条件,保存期間を確認した.

キーワード:二酸化硫黄, 亜硫酸塩, 漂白剤, 保存料, 酸化防止剤, 蒸留装置, HPLC, 乾燥果実, 果実酒, えび

はじめに

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類(以下, SO₂と略す)は漂白 剤や酸化防止剤,保存料として使用される食品添加物である.世界的にも古くから幅広い食品に使用されており,輸入時における輸入食品違反事例¹⁾においても使用基準違反で様々な食品があげられている.SO₂は反応性が高く不安定な物質であるため,食品中でも食品成分との結合や酸化によって,含有量が経時的に変化すると考えられる.そのため再検査を実施する場合,検査開始時と比べて,SO₂含有量が変化している可能性も考えられるが,食品における含有量の安定性や減衰についての報告は限られている²⁻⁴⁾.

当センターでは厚生労働省通知^{5,6)}に基づき、液体クロマトグラフィーによる確認分析法(以下、HPLC法と略す)を用いて検査を行っている。そこで、SO₂検査時における保管方法の違いと食品中SO₂含有量の経時変化についてHPLC法を用いて調査を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 試料

令和3年6月から4年5月までに東京都内で購入した.一覧

を表1に示した.

2. 試薬及び試液

1) 標準液

通知・HPLC法に従った。すなわち、 SO_2 としての力価を標定した亜硫酸水素ナトリウム(特級、富士フイルム和光純薬株式会社製)を1%トリエタノールアミン(以下、TEAと略す)溶液に溶解し、 $100~\mu g/m L$ の溶液を調製して標準原液とした。検量線用標準溶液は、標準原液を1%TEA溶液で適宜希釈して用いた。

2) 通気蒸留用試薬及び試液

使用した試薬及び試液の調製方法は通知・HPLC法に従った.なお、すべての試薬は富士フイルム和光純薬株式会社製を用いた.

3. 器具及び装置

1) 通気蒸留装置

通知法の通気蒸留装置を用いた. ただし, 加熱にはマントルヒーター(型番HF-100S, アズワン株式会社製)を用いた.

表1.	試料-	一覧

食品分類	試料	原産国	添加物表示		保存方法 及び 個数
乾燥果実	アプリコットA	トルコ	漂白剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
	アプリコットB	トルコ	漂白剤	(二酸化硫黄)	冷蔵 4袋 及び 冷凍 4袋
	マンゴーA	フィリピン	酸化防止剤	(ピロ亜硫酸ナトリウム)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
	マンゴーB	タイ	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
	パイナップルA	フィリピン	酸化防止剤	(ピロ亜硫酸ナトリウム)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
	パイナップルB	タイ	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
					冷蔵 ボトル 1本
果実酒	白ワイン	日本	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	スクリュー瓶 1本
					スクリュー瓶(窒素) 1本
	赤ワイン	日本	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 ボトル 1本
えび	冷凍むきえび	インド,パキスタン,その他	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 5袋 及び 冷凍 5袋
その他の食品	オレンジピール	オランダ	漂白剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋
	ビスケット	スペイン	酸化防止剤	(亜硫酸塩)	冷蔵 1袋 及び 冷凍 1袋

車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

2) 高速液体クロマトグラフ

Agilent 1260 (アジレント・テクノロジー株式会社製)

3) 試料の保存容器

アルミ袋(チャック付き、材質は外側からポリエチレンテレフタレート、塩化ポリエチレン、アルミニウム、塩化ポリエチレン),スクリュー管(50 mL容、本体は硼珪酸ガラス製、キャップのパッキンはポリエチレンに両面ポリプロピレン張り)を用いた、果実酒は購入時のボトルもそのまま使用した。

4. HPLC条件

分析カラム: DIONEX IonPac AS9-SC(4 mm i.d.×250 mm),ガードカラム: DIONEX IonPac AG9-SC(4 mm i.d.×50 mm),移動相: 1.8 mmol/L炭酸ナトリウム-1.2 mmol/L炭酸水素ナトリウム溶液,カラム温度: 40° C,流速: 1.2 mL/min,検出器: UV,検出波長: 210 nm,注入量: $50\,\mu$ L

5. 定量方法

1) 試料の均一化

乾燥果実及びオレンジピールは、包丁で2 mm以下の千切りにしたのちみじん切りにしたものを、全体が均一になるようキッチン鋏を用いてさらに細切しながら混合した. えびは冷凍むきえびを解凍後、ペーパータオルで水分を軽く拭き、フードプロセッサーでペースト状になるまで細切・均一化した. ビスケットは、フードプロセッサーで1 mm以下になるよう細切・均一化した.

2) 保存及び試料採取方法

均一化した試料はアルミ袋を使用し、表1に示すとおりに小分けした。それぞれ袋を押さえて空気を抜きチャックを閉めた。果実酒は、ボトルを開封前に振り混ぜたのち、スクリュー管に約40 mLずつ取り、そのまま、またはヘッドスペースを窒素で置換してスクリューキャップを閉めた。ボトルに残った分は商品のキャップで密栓した。小分けにした試料は、冷蔵庫(3~7°C)または冷凍庫(-22~-15°C)に保存した。アプリコットA、マンゴー、パイナップルの乾燥果実、果実酒及びその他の食品は、試料採取の度に小分けした試料を常温に戻し、採取後は冷蔵庫または冷凍庫に戻して保存した。窒素置換したスクリュー管は、採取後毎回窒素置換した。アプリコットB、えびは、常温に戻して採取し、残りは使用しなかった。

3) 試験溶液の調製

保存した試料は、常温に戻したのち、秤量し、通知・HPLC法に従い試験溶液を調製した。すなわち、通気蒸留装置を用いて二酸化硫黄を留出させ、25~mL共栓試験管に入れた約9~mLの1%TEA溶液に捕集し、捕集した液量を10~mLとしたのち、 $0.45~\text{\mu}$ mのフィルターでろ過したものを試験溶液とした。検量線の範囲を超えた場合は1%TEA溶液で試験溶液を希釈した。ただし、マントルヒーターはあらかじめ温めておき、フラスコをセットしてから20分間加熱

した.

4) 検量線

0.5~50 μg/mLの標準溶液を用いて,クロマトグラムのピーク面積から絶対検量線を作成し,定量を行った.定量限界は通知に記載されている0.003 g/kgとした.

結果及び考察

試料の細切・均一化及び小分けを行った日を「試験開始日(0日目)」とし、この時点でのSO₂含有量と、以後の含有量の経時的変化について保存条件を変えて比較、考察した。

1. 乾燥果実

結果を表2に示した.

アプリコット,マンゴー,パイナップルの乾燥果実を用 いて、保存期間、保存温度によるSO2含有量の変化を調査 した. 今回調査した期間(試験開始日から最長で28日後) では、いずれの乾燥果実においても冷蔵、冷凍保管による 違いは見られなかった. また乾燥果実の種類ごとに見ると, アプリコットは1か月程度、マンゴー、パイナップルは 3~4日程度減少が見られなかったことから、この期間は再 検査が可能であると考えられた. アプリコットBは試験開 始日以降, SO2含有量の軽微な増加が観察されたが, 経過 日数間の差について, 一元配置分散分析で比較したところ, 冷蔵,冷凍ともに有意差は認められなかった(冷蔵:F (4, 16) = 2.27, p>0.05 · 冷凍:F(4, 16) = 1.51,p>0.05). この結果から, 試料採取部位によるSO₂含有量 の偏りの影響が大きいことが示された. この原因の1つに 乾燥果実の性質・性状の特徴が考えられた. 食品の製造工 程でSO2を添加する方法として、浸漬、噴霧、燻蒸がある 7.8). 今回使用した乾燥果実にどの方法で添加されている かは不明であるものの, いずれの方法でも, 液体や流動状 のものと混合する場合と異なり、SO2は個々の果実の中心 部に比べて表面に多く存在すると考えられる. そのため SO2は個々の果実片内においても、製品の一包装単位の中 の果実片ごとにおいても含有量に偏りがあると考えられる 9). さらに、乾燥果実は水分含有量が低く糖濃度が高いこ とから極めて強い粘着性があり10,細切する際,使用する 包丁、鋏などの刃に乾燥果実が固着し、細切した試料同士 でも固着する. そのため, 均一化, 採取が容易ではなく, 採取試料の偏りを排除することは難しい.

これらのことから、今回観察されたSO2含有量の日数経 過後の軽微な増加は、乾燥果実の性質・性状による影響が 大きいと考えられた.

2. 果実酒

結果を表3に示した.まず,白ワインを用いて保存容器について検討を行ったところ,保存容器によらず,試験開始日から冷蔵して,1週間以内ならば再検査が可能であると考えられた.

白ワインで保存容器の違いによって経時変化に差が見ら

表2. 乾燥果実中SO2の含有量

	試験開始日				冷蔵	冷冽	冷凍保存			
試料名	平均値 (g/kg)	RSD (%)	試行数	経過日数	測定値 (g/kg)	RSD (%)	試行数	測定値 (g/kg)	RSD (%)	試行数
アプリコットA	1.41	2.2	3	1日後	1.43 , 1.45		2	1.44 , 1.41		2
				4日後	1.45, 1.39		2	1.44, 1.40		2
				7日後	1.32 , 1.32		2	1.36 , 1.34		2
アプリコットB	1.64	4.9	6	1日後	1.66*	4.7	6	1.66*	3.8	6
				3日後	1.66*	4.1	3	1.61*	5.5	3
				7日後	1.74*	4.9	3	1.64*	2.2	3
				28日後	1.77*	0.8	3	1.74*	2.8	3
マンゴーA	0.234	1.2	3	1日後	0.217, 0.217		2	0.223, 0.223		2
				4日後	0.212, 0.232		2	0.235, 0.243		2
マンゴーB	0.109	5.4	3	1日後	0.102, 0.104		2	0.111, 0.103		2
				3日後	0.110, 0.100		2	0.114, 0.108		2
パイナップルA	0.096	7.2	3	1日後	0.080, 0.088		2	0.095, 0.094		2
				4日後	0.083, 0.096		2	0.091, 0.079		2
パイナップルB	0.145	1.5	3	3日後	0.140, 0.137		2	0.144, 0.142		2

*: 平均值

表3. 果実酒中SO2の含有量

	試験	開始日			ボト	・ル保存		スクリュー	一管保存	スクリュー管	(窒素) 保存
試料名 平均値 (g/kg)	平均値		試行数	経過日数	過日数 測定値	RSD	試行数	測定値	試行数	測定値	試行数
	(g/kg)				(g/kg)	(g/kg) (%)	(g/kg)		(g/kg)		
白ワイン	0.048	1.0	3	1日後	0.048		1	0.046	1	0.047	1
				2日後	0.046		1	0.045	1	0.045	1
				3日後	0.047		1	0.027	1	0.046	1
				6日後	0.046		1	0.035	1	0.046	1
				7日後	0.047		1	0.045	1	0.047	1
赤ワイン	0.132	2.4	3	2日後	0.133*	0.5	3				
				3日後	0.131*	2.2	3				
				7日後	0.132*	1.6	3				
				28日後	0.120*	1.2	3				

*:平均值

表4. えび中SO2の含有量

計脈	試験開始日			冷原		冷凍保存			
平均値 (g/kg)	RSD (%)	試行数	経過日数	平均値 (g/kg)	RSD (%)	試行数	平均値 (g/kg)	RSD (%)	試行数
0.028	6.1	6	1日後	0.024	10.2	6	0.026	6.8	6
			2日後	0.026	0.6	3	0.028	2.6	3
			3目後	0.024	3.7	6	0.030	5.1	6
			8目後	0.021	8.8	3	0.027	2.2	3
			32日後	0.010	11.8	7	0.028	3.6	6

れなかったため、赤ワインはボトル保存でのみ経時変化の調査を行った。その結果、白ワイン同様、試験開始日から冷蔵して、1週間以内ならば再検査が可能であると考えられた。赤ワインはさらに28日後も試験を実施したところ、 SO_2 含有量は、試験開始日で0.132~g/kgであったのが0.120~g/kgとなった。この28日後の SO_2 含有量と試験開始日の SO_2 含有量の差について、t検定を行ったところ、28日後の SO_2 含有量は試験開始日と比較して有意で低かった

(t=5.55, df=4, p<0.05). 赤ワインは有機物が多く含まれており、約1か月の時間経過とともに、有機物と SO_2 の結合が緩やかに進行し、 SO_2 含有量が減少したと考えられた 11 .

3. えび

結果を表4と図1に示した. 冷蔵は試験開始日から経時的 に減少しており冷蔵保存は適さないことが示された. 冷凍 は32日後まで安定しており、試験開始日から1か月以内は 再検査が可能であると考えられた.

冷蔵保管品は日を追うごとに腐敗臭のようなにおいが強くなっていった。冷蔵において SO_2 含有量の減少率が大きかったのは、腐敗によって生成された新たな成分が SO_2 と結合したのではないかと考えられた 12).

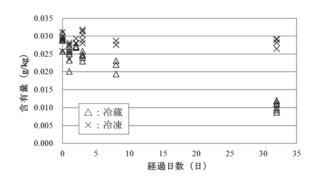


図1. えび中SO2測定値

4. その他の食品

ビスケット、オレンジピールは SO_2 使用表示があったものの、HPLC法の定量限界以下であった。しかし、クロマトグラムでピークが確認できたため、試験開始日、1、7、28日後まで測定を行ったが、いずれもピーク面積値は変動しなかった。ただし、このピークが SO_2 であるかは不明であるため、今後の検討課題とする。

まとめ

SO₂検査時における保管方法の違いと食品中SO₂含有量の経時変化についてHPLC法で調査した.

- 1. 乾燥果実中のSO₂含有量は、アプリコットで28日間調査した結果、試験開始日から1か月程度安定であり、再検査が可能であると考えられた.
- 2. 乾燥果実は試料中のSO₂含有量の偏りが、大きく結果に影響していると考えられた.
- 3. 果実酒中のSO₂含有量は、開封後にボトルに蓋をして 冷蔵保存した場合、試験開始日から1週間程度安定で あり、再検査が可能であると考えられた.
- 4. えび中のSO₂含有量は、冷凍保存で試験開始日から1 か月後も安定であり、1か月以内であれば再検査が可 能であると考えられた.
- 5. 表示があるものの定量限界以下の食品があった.

文 献

- 厚生労働省:輸入食品監視業務,違反事例, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_i ryou/shokuhin/yunyu_kanshi/ihan/index.html
 - (2022年9月21日現在. なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)
- 2) 田村 彩, 大門拓実, 丸山裕太, 他:全国衛生化学 技術協議会年会講演集, **58**, 76-77, 2021.

- 3) 田野貴仁, 山本直美, 池田耕介, 他: 堺市衛生研究所 年報, **35**, 62-67, 2019.
- 4) 天川映子,大石充男,荻原 勉,他:東京衛研年報, 48,194-200,1997.
- 5) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長,厚生 労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長:薬生食基 発0624第1号,薬生食監発0624第1号,「食品中の食品 添加物分析法」の改正について(通知),令和3年6月 24日.
- 6) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長,厚生 労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長:薬生食基 発0624第1号,薬生食監発0624第1号,「食品中の食品 添加物分析法」の改正について(別添3),令和3年6 月24日.
- 7) 福島県農業総合センター:農業総合センター技術マニュアル,あんぽ柿の加工,

https://www.pref.fukushima.lg.jp/uploaded/attachment/319 696.pdf

(2022年9月21日現在. なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)

8) 福島県農業総合センター:農業総合センター技術マニュアル,ドライフルーツの加工,

https://www.pref.fukushima.lg.jp/uploaded/attachment/319 702.pdf

(2022 年 9 月 21 日現在. なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)

- 9) 厚生労働省監修:食品衛生検査指針 食品添加物編,6-8,2003,社団法人日本食品衛生協会,東京.
- 10) 伊藤三郎:乾燥果実,伊藤三郎編,果実の科学, 199-201,1995,株式会社朝倉書店,東京.
- 11) 藤森正宏, 荒田治彦, 川村吉也, 他:日本調理科学会 誌, **28**,151-157,1995.
- 12) 山中英明, 菊池武昭, 天野慶之:日本水産学会誌, **43**, 115–120, 1977.

Studies on analysis of sulfur dioxide and sulfite in foods —Stability in samples—

Maaya ISONO^a, Akiko YASUI^a, Yukiko YAMAJIMA^a, Chigusa KOBAYASHI^a, and Kenji OTSUKA^a

Sulfur dioxide and sulfites are used in various foods as bleaching agents, antioxidants, and preservatives. They are unstable substances and may be decreased during test. However, there is little knowledge about the stability of sulfur dioxide and sulfite contents in stored samples. Therefore, we quantified their contents in frozen and refrigerated food samples over time by HPLC method. The results showed that the stability of these compounds differed depending on the type of food, storage conditions, and storage period.

Keywords: sulfur dioxide, sulfite, bleaching agent, antioxidant, preservative, the modified Rankine apparatus, HPLC, dried fruit, wine, shrimp

Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
 3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan