

空気通気を用いた食品中の亜硫酸の比色定量法

宮本 文夫 永田 知子 佐伯 政信

Colorimetric Determination of Sulfur Dioxide in Foods by use of Aeration

Fumio MIYAMOTO, Tomoko NAGATA and Masanobu SAEKI

Summary

A microcolorimetric method for the determination of sulfur dioxide in foods was studied. 10 ml of 85% phosphoric acid and 35ml of distilled water were added to 2~5 g of a sample, from which sulfur dioxide was separated by aeration apparatus (flow rate 800 ml/min; bath 70°C). The amount of sulfur dioxide was determined by pararosaniline colorimetric method after it was absorbed for 40min.

Mercuric tetra-chloride solution, acetone-alkaline buffer solution and triethanolamine solution were compared as an absorbent. The amount of sulfur dioxide in foods were determined by use of each absorbent, and the results were in good agreement with each other. Recoveries of sulfur dioxide added to foods at levels of 4 ppm and 16 ppm were from and were near to each other in the three absorbents mentioned above.

From this result, accuracy of the colorimetric method using each absorbent and the viewpoint of clean analysis, we can conclude that triethanolamine solution as absorbent is suitable for the determination of traces of sulfur dioxide in foods.

I 緒言

食品中の亜硫酸の分析は現在、主として改良ランキン滴定法^{1,2)}あるいは比色法^{1,3)}により行われている。改良ランキン滴定法は簡便ではあるが、微量の亜硫酸には適用できず、逆に比色法は微量亜硫酸分析に適しているが、窒素を用いなければならず、ルチン分析にはやや複雑である。そこで、著者らはスクリーニング法として加温水浴中で空気通気により食品から亜硫酸を分離し、パラロザニン比色法で定量する方法について検討を行った。吸収液としては、亜硫酸の空気酸化に対し安定とされている四塩化第二水銀溶液⁴⁾(以下MTC溶液と略す)、著者らが検討改良したアセトン・アルカリ緩衝液(以下A・A溶液と略す)及び空気中の亜硫酸の分析に用いられているトリエタノールアミン溶液⁵⁾(以下TEA溶液と略す)を用い、いずれも食品中の亜硫酸の分析に充分使用が可能であることを確認したので、これらの結果について報告する。

II 実験方法

1. 試料

糖密、赤ぶどう酒、濃縮果汁、甘納豆、キャンデット、チェリー、干しすもも、干しあんず、むきえびなどの市販品を用いた。残存亜硫酸が不検出の食品には亜硫酸溶液を添加し、よく攪拌した後、1~2日間室温で放置し、残存亜硫酸を検出できたものを試料とした。

2. 試薬及び試液

85%リン酸、アセトン、水酸化ナトリウムなどの実験に供した試薬はいずれも特級試薬を用いた。

MTC溶液：衛生試験法⁴⁾の調製法に準じた。

TEA溶液：徳田⁵⁾らの調製法に準じた。

A・A溶液：0.05M六ホウ砂ナトリウム400mlに0.1N水酸化ナトリウム600mlを加え、さらにアジ化ナトリウム0.03gを加えアルカリ緩衝液を調製する。用時、アセトン5mlをアルカリ緩衝液で100mlとする。

酢酸緩衝液：4M酢酸ナトリウム200mlを3N塩酸と水でpH1にしながらいととする。

パラロザニン・ホルムアルデヒド溶液：パラロザニン塩酸塩0.1gを温水100mlに溶解し、不溶物があれば

ろ過を行う。その40mlをとり、塩酸6mlを加え、水で100mlとし、これに0.2%濃度のホルムアルデヒド溶液100mlを混和する。但し、TEA溶液用のパラロザニン・ホルムアルデヒド溶液は塩酸20mlを加えたものを用いる。

遊離型亜硫酸標準溶液：亜硫酸水素ナトリウム0.5gを水100mlに溶解させ、その10mlをとり、標定を行った後、各吸収液にて希釈し、0.3~1.2 μ g SO₂/ml(MTC溶液, TEA溶液), 0.6~3 μ g SO₂/ml(A・A溶液)の標準溶液を作成する。

蒸留水：煮沸脱気を行った後、冷却した蒸留水を用いる。

3. 器具及び装置

通気装置：通気装置をFig.1に示した。

分光光度計：(株)日立製作所製181型

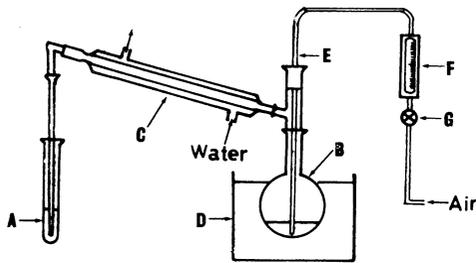


Fig. 1. Aeration apparatus under bath warming.

- A : Absorption tube.
- B : 300ml Flask.
- C : Liebig condenser.
- D : Water bath.
- E : Glass tube.
- F : Flow meter.
- G : Flow control valve.

4. 定量方法

1) 試験溶液の調製

細切して、できるだけ均一化した固型試料及び液体試料をそれぞれ2~5g秤取り通気フラスコに入れる。それに蒸留水35mlと85%リン酸10mlを加え、直ちに図1の装置を接続し、70℃の水浴中で800ml/分の通気速度で40分間空気による通気を行う。25ml比色管には吸収液10mlを入れ、通気吸収させた後、装置からはずし、蒸発減量した場合、吸収液を用いてもとの量に補正し、試験溶液を調製する。

2) 亜硫酸の定量

MTC溶液及びTEA溶液が試験溶液の場合、試験溶液10mlにパラロザニン・ホルムアルデヒド溶液2mlを加え、よく振とうした後、室温に35分間放置する。得られ

た呈色液についてMTC溶液では560nm, TEA溶液では580nmにおける吸光度を測定する。

A・A溶液が試験溶液の場合、試験溶液5mlをとり、これに酢酸緩衝液5ml及びパラロザニン・ホルムアルデヒド溶液2mlを加え、よく振とうした後、40℃, 30分間加温した後、直ちに冷却し、得られた呈色液について560nmで吸光度を測定する。

別に各吸収液にて調製された標準溶液より亜硫酸の検量線を作成し、試料中の亜硫酸濃度を算出する。

III 実験結果及び考察

1. 加温通気条件の検討

加温通気条件の設定は、MTC溶液を吸収液として用い、検討した。食品からの亜硫酸の分離に際して、加温通気を用いた例は少く、松本⁶⁾らが55℃の条件下で行った以外の報告はない。55℃の条件下では、通気時間が90分と長時間を要している。

そこで、著者らは温和な条件と通気時間の短縮を考慮し、70℃で通気条件を設定した。リン酸濃度4%溶液50mlに亜硫酸18 μ gを添加し、200~1200ml/分の通気速度で40分通気を行った結果をFig.2に示す。回収率は800~1000ml/分の速度で最高となったことから、通気速度は800ml/分とした。亜硫酸ガスの気化率は温度及びリン酸濃度⁷⁾によって変化することから、リン酸濃度の影響を調べたところ、Table 1のような結果が得られた。亜硫酸の回収率は16%以上のリン酸濃度で一定化したことに基づいて、リン酸濃度は16%とした。上記の条件で亜硫酸18 μ g, 300 μ g, 1mgについて留出傾向を調べたところ、いずれも20分以内に98%以上留出し、40分までに完全に留出した。

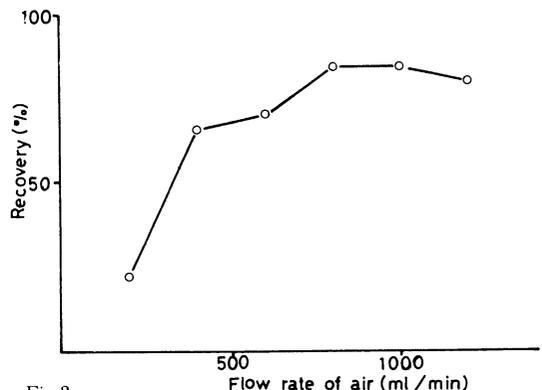


Fig. 2.

Effect of air flow rate on the recovery of sulfur dioxide 18 μ g of sulfur dioxide was added in 50ml of 4% phosphoric acid at bath 70℃.

Mercuric tetra-chloride solution was used as adsorbent.

Table 1. Relationship between concentration of phosphoric acid and the recovery of sulfur dioxide.

Concentration of phosphoric acid	Recovery of SO ₂
4 (%)	78.6 (%)
8	78.9
16	89.8
24	91.6
32	87.1
40	90.6

18μg sulfur dioxide (2ml) was added to 50ml phosphoric acid solution. Mercuric tetra-chloride solution was used as absorbent.

2. 吸収液の比較検討

1) アセトン・アルカリ緩衝溶液

アルカリ緩衝溶液[®]は、蒸留比色法や直接比色法でMTC溶液の代わりに用いられたことはあるが、空気通気の場合空気による酸化で、亜硫酸の回収率が低下し、そのままでは使用が困難であった。そこで、亜硫酸を捕捉安定化する能力を有するアルデヒド類、ケトン類、グリセリン等について添加効果を調べた。その結果、アセトンの添加が良好な結果を示し、添加量は5%が適切であった。

なお、アセトン添加のために、Fig.3 に示したように発色時間が室温では長時間を要するために、40°C、30分間加温の条件下で発色を行った。

また他の吸収液と同様、A・A溶液を用いた場合も亜硝酸の影響を受けやすく、発色が妨害されるので、アジ化ナトリウムを添加することにより影響を除いた。

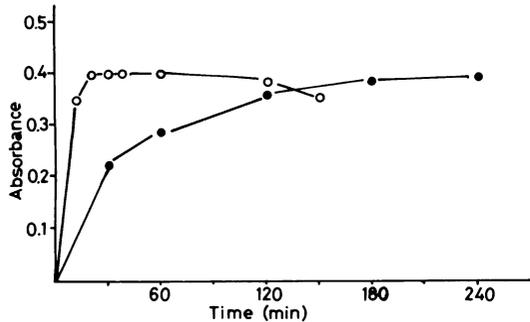


Fig.3. Effect of time and temperature on the color development in 5% acetone-alkaline buffer solution.

- Stand for 40°C.
- Room temperature 20°C.

2) 亜硫酸の検量線

各吸収液における亜硫酸の検量線をFig.4 に示す。MTC溶液とTEA溶液はほぼ同一の精度であり、A・A溶液はやや精度が低い。

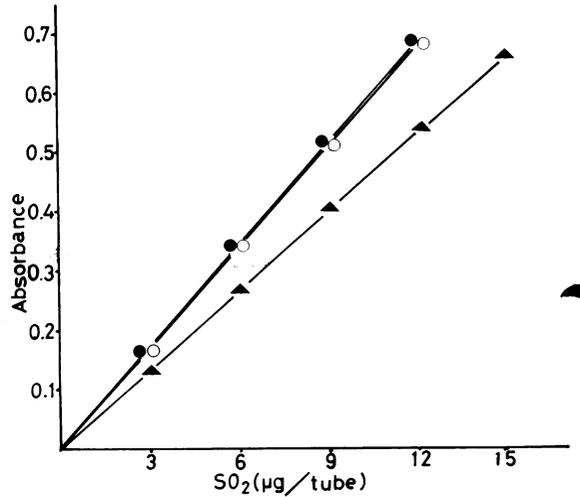


Fig.4. Calibration curve of sulfur dioxide.

- — Mercuric tetra-chloride solution
- — Triethanolamine solution
- ▲ — Aceton-alkaline buffer solution

3) 標準亜硫酸の回収率

設定された加温通気条件下で、9μg~1mgの亜硫酸の回収率を求めた。結果をTable 2 に示す。いずれの吸収液の場合も類似した回収率が得られた。添加亜硫酸量の減少に伴ない、回収率がやや低下する傾向が見られた。

Table 2. Recovery of each amount of sulfur dioxide.

Added SO ₂ (μg)	Recovery (%)		
	MTC solution	A.A solution	TEA solution
9	77.5	74.3	85.6
18	89.8	87.9	88.0
40	101.9	96.5	97.8
100	101.1	96.0	95.8
1,000	95.2	100.0	98.0

4) 揮発性妨害物質の影響

加温通気法では、食品中の揮発性妨害物質が留出する

可能性があるため、留出しやすい食品成分について発色への影響を調べた。Table 3 に示したようにアルデヒド類がいずれの吸収液においても影響が見られた。

また実際の食品からの揮発性妨害成分の影響がどの程度であるかを調べるために、吸収液にあらかじめ一定量の亜硫酸を添加しておき、これに残存亜硫酸を検出しな

かった食品を試料として通気処理を行い、亜硫酸を定量した。結果はTable 4 に示したように、濃縮果汁、干しすもも、糖蜜などで影響が見られた。

Table 3 及び Table 4 によればMTC溶液が最も妨害物質の影響が小さく、次がTEA溶液、A・A溶液の順であった。

Table 3. Effect of volatile interfering substance on colorimetric method.

Added interfering substance	Found SO ₂ (μg)		
	MTC solution	TEA solution	A.A solution
None	9.0	9.0	9.0
Formic acid 100 μg	9.2	8.9	8.3
Formaldehyde 100 μg	8.1	4.4	3.7
Acetoaldehyde 100 μg	8.8	7.5	6.2
Ethanol 1,000 μg	9.2	9.0	11.0
Aceton 100 μg	9.2	9.1	9.0

Each interfering substance was added to absorbent dioxide.

Table 4. Effect of volatile interfering substance in foods on colorimetric method.

Sample	Found SO ₂ (ppm)		
	MTC solution	TEA solution	A.A solution
None	1.80	1.80	1.80
Sugar beans	1.77	1.71	1.78
Dried plum	1.73	1.45	1.01
Concentrated orange juice	1.83	1.45	0.93
Molasses	1.77	1.62	0.79
Frozem peeled shrimp	1.77	1.54	1.72

5g of sample (not detected SO₂) was used.

Using absorbent content to sulfur dioxide 9 μg.

5) 食品中の亜硫酸の測定値の比較

8種類の食品を用い、各吸収液での測定値の比較を行った。干しあんず、キャンデットチェリー、干しすももなど固型食品は部位の差が影響することを考慮し、試料を細切後ホジナイズしたものを用いた。

また、亜硫酸含有量の多い干しあんず、ワインについ

ては試料量を0.5gにして定量を行った。

結果はTable 5 に示したように、いずれの吸収液の場合も近似した定量値が得られた。濃縮果汁では吸収液間で差が観察されたが、定量値が微量であることから、揮発性妨害成分の影響が現われたものと思われる。

Table 5. Determination of sulfur dioxide in several foods.

Sample	Found SO ₂ (ppm)		
	MTC solution	TEA solution	A.A solution
Concentrated orange juice	1.3 ± 0.0	0.5 ± 0.0	0.4 ± 0.0
Red wine	174 ± 6	166 ± 9	166 ± 9
Molasses	138 ± 0	131 ± 2	122 ± 2
Sugar beans	20.3 ± 1.7	17.8 ± 0.4	18.0 ± 0.0
Frozen peeled shrimp	53.7 ± 0.4	50.7 ± 0.9	56.4 ± 6.3
Dried plum	60.8 ± 0.7	60.9 ± 5.2	66.4 ± 1.4
Candiet cherry (H)	32.8 ± 1.7	31.2 ± 2.5	36.8 ± 3.8
Dried apricot (H)	1,300 ± 15	1,284 ± 4	1,455 ± 15

Value is the mean of two trials.
(H) : Homogenated sample.

6) 食品への亜硫酸の添加回収実験

4種類の食品を用いて4ppm,16ppmの亜硫酸の添加回収実験を行い、回収率を求めた。試料はどれも50ppm以下の残存亜硫酸を検出したものを用い、干しすもについては部位による差を少なくすることを目的とし、ホモジナイズ処理したものを用いた。結果はTable 6に示したようにMTC溶液が74.7~97.1%, TEA溶液が80.0~103.0%, A・A溶液が83.8~104.0%といずれも同等

な回収率を示し、実用上満足できる値が得られた。なお検出限界はMTC溶液及びTEA溶液は0.2ppm, A・A溶液では0.4ppmである。

以上、吸収液を比較検討した結果、大きな差は見られず、いずれの吸収液も充分使用可能と考えられるが、ルチーンで用いる場合、MTC溶液は多量の水銀を用いるため廃棄に問題があり、発色操作が簡便で、かつ感度の高いTEA溶液が最も適しているものと思われる。

Table 6. Recovery of added sulfur dioxide from four foods.

Sample	Added SO ₂ (ppm)	Recovery (%)		
		MTC solution	TEA solution	A.A solution
Molasses	4	74.7	80.0	90.0
	16	91.2	100.0	104.0
Sugar beans	4	78.0	87.2	84.0
	16	77.6	103.0	85.0
Concentrated orange juice	4	81.9	86.0	97.0
	16	97.1	87.7	101.0
Dried plum (H)	4	78.8	81.9	83.8
	16	86.1	93.5	91.8

(H) : Homogenated sample.

IV 結論

食品中の亜硫酸の微量定量法として空気による通気比色法を検討した。

1) 通気条件は70°C水浴中で通気速度800ml/分,リ

ン酸濃度16%, 通気時間40分で標準亜硫酸18μg~1mgが完全に留出した。

2) 吸収液は四塩化第二水銀溶液, アセトン・アルカ

リ緩衝溶液，トリエタノールアミン溶液を用い，比較検討を行った。揮発性妨害物質の影響の点で差が見られた他は標準亜硫酸の回収率，食品中の亜硫酸の測定値，食品での亜硫酸の添加回収率では三者ともほぼ同等の値で差は見られなかった。

なお食品への添加回収率は四塩化第二水銀溶液が74.7～97.1%，トリエタノールアミン溶液が80.0～103.0%，アセトン・アルカリ緩衝溶液が83.8～104.0%であった。

以上の結果及び四塩化第二水銀溶液の廃棄の問題から，吸収液としてはトリエタノールアミン溶液が適当と考えられる。

V 文献

- 1) 日本薬学会編(1980)：衛生試験法注解，金原出版：313-316
- 2) FUGITA, K., IKUZAWA, M., IZUMI, T., HAMANO, T., MITSUHASHI, Y., MATSUKI, Y., ADACHI, H., NONOGI, T., FUKE, T., SUZUKI, H., TOYODA, M., ITO, Y., and IWAIDA, M. (1979): Establishment of a Modified Rankine Method for the Separate Determination of Free and Combined Sulphites in Foods, *Z. Lebensm. Unters. Forsh.*, 168, : 206-211.
- 3) OGAWA, S., SUZUKI, H., TOYODA, M., ITO, Y., IWAIDA, M., NONOGI, H., FUKE, T., OBATA, K., ADACHI, T., FUJITA, K., IKUZAWA, M., IZUMI, T., HAMANO, T., MITSUHASHI, Y., and MATSUKI, (1979) : Colorimetric Microdetermination of Sulphites in Foods by use of the Modified Rankine Apparatus, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 168 : 293-298.
- 4) 日本薬学会編(1973)：衛生試験法注解，金原出版：187-189
- 5) 徳田光男，平井邦夫，福井昭三，菅野三郎(1978)：トリエタノールアミンを吸収液とする空気中の二酸化イオウ定量法，*衛生化学*，24：213-218
- 6) 松本茂，中山京子，奥沢昌子，遠藤美佐子(1976)：窒素通気法による亜硫酸の定量について，*東京都衛研年報*，27-1：80-84
- 7) 浜野孝，三ツ橋幸正，松木幸夫(1978)：ガスクロマトグラフによる食品中の残存亜硫酸の定量，*食衛誌*，19：56-61
- 8) 鈴木英世，豊田正武，伊藤誉志男，慶田雅洋(1977)：塩化第二水銀を用いない亜硫酸の比色定量法，第33回日本食品衛生学会講演要旨(東京)：P. 1