

電気伝導度検出器付イオンクロマトグラフィーによるかすのこ 加工品中の残留亜塩素酸ナトリウムの定量分析法

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者	川崎, 洋子 久保田, 浩樹 四方田, 千佳子 棚元, 憲一
巻/号	46巻4号
掲載ページ	p. 161-164
発行年月	2005年8月

電気伝導度検出器付イオンクロマトグラフィーによる かずのこ加工品中の残留亜塩素酸ナトリウムの定量分析法

(平成 17 年 2 月 24 日受理)

川崎 洋子*[†] 久保田 浩樹* 四方田 千佳子* 棚元 憲一*

Determination of Sodium Chlorite in Processed Herring Roe
by Ion Chromatography with a Conductivity Detector

Yoko KAWASAKI[†], Hiroki KUBOTA, Chikako YOMOTA and Kenichi TANAMOTO

(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan; [†] Corresponding author)

An analytical method for residual sodium chlorite in several kinds of processed herring roe treated with sodium chlorite was studied.

Sodium chlorite was extracted with 9 mmol/L sodium carbonate. After centrifugation, the supernatant was filtered through a 0.2 μm nylon filter. The filtrate was deproteinized by ultrafiltration and chloride ion was removed with an On-Guard Ag cartridge column. The eluate was subjected to conductivity detector-ion chromatography.

Recoveries of sodium chlorite from herring roe spiked at the level of 5 mg/kg were 88±3.7% (n=5, CV 4.2%).

The method had a quantitation limit of 5 mg/kg for processed herring roes.

(Received February 24, 2005)

Key words: 亜塩素酸ナトリウム sodium chlorite; 電気伝導度検出器 conductivity detector; イオンクロマトグラフィー ion chromatography; かずのこ加工品 processed herring roe; 限外ろ過 ultrafiltration

はじめに

亜塩素酸ナトリウムはわが国の指定添加物の1つで菓子製造に用いられるかんきつ類果皮、さくらんぼ、生食用の野菜、卵類(殻部分に限る)、ふき、ぶどう、桃に限り使用が許可されている漂白、殺菌剤であり、最終食品の完成前に分解、除去することが定められている。

したがって、現在、かずのこ加工品に亜塩素酸ナトリウムを殺菌剤として使用することはできない。一方、かずのこは生で喫食されることが多いため、加熱などの殺菌処理を行うことなく加工されている。食中毒の予防などの観点から、かずのこの調味加工品に亜塩素酸ナトリウムを殺菌剤として使用するための、使用基準の改正が申請され、審議が進められている^{*1,2}。しかし、かずのこ加工品を対象とした亜塩素酸ナトリウムの分析法の報告はなく、生野菜などを対象とした、「食品中の食品添加物分析法」¹⁾によ

る分析法もかずのこ加工品中に由来するきょう雑物の影響で分析は困難であった。そこで、かずのこに亜塩素酸ナトリウムを添加し、残存亜塩素酸ナトリウムの分析法を検討した。

実験方法

1. 試料

かずのこ(5%食塩水に浸漬した加工原料)およびしょう油漬けかずのこは山田水産(株)より、供与された試料を用いた。山海漬けおよび松前漬けかずのこは市販品を用いた。山海漬けについては、かずのこその他の部分を別個に試料とした。

山海漬けは原材料として、かずのこ、大根、きゅうり、わさび茎、漬け原材料として酒かす、砂糖、みりん、食塩、甘味料、酸味料、増粘多糖類および香辛料などが使われていた。松前漬けでは原材料としてかずのこ、昆布、スルメおよびにんじん、漬け原材料としてしょう油、糖類、アミノ酸液、食塩、みりん、酒精、増粘多糖類、酸味料、保存料および甘味料が使われていた。

[†] 連絡先

* 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

^{*1,2} <http://www.fsc.go.jp/senmon/tenkabutu/t-dai12/index.html>

<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2004/10/dl/s1007-5c.pdf>

2. 試 薬

水: 水道水をMilli-RX Plus Milli-Q SP Reagent Water System (ミリポア社製) で処理した。

9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液: 1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液 (イオンクロマトグラフィー用関東化学(株)) 9 mL を水で 1 L とした。

亜塩素酸ナトリウム: 和光純薬工業(株)製をヨウ素法²⁾により、亜塩素酸ナトリウム含量を定量した。

亜塩素酸ナトリウム標準液: 約 80% 亜塩素酸ナトリウム約 125 mg を精密に量り、9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液を加え 100 mL とした。この液 1 mL を正確に量り、9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液を加え 100 mL とし、亜塩素酸ナトリウム標準液とした (この液 1 mL は亜塩素酸ナトリウム約 10 μ g を含む)。

グリシン溶液: 10 w/v% 溶液

DPD 錠: 残留塩素測定用活性塩素-DPD (ジエチル-カフェニレンジアミン) テストワコー, DPD 一錠中に DPD 0.002g および硫酸ナトリウム 0.048g を含む。

25 mmol/L 硫酸: 10 mol/L 硫酸 (イオンクロマトグラフィー用 (関東化学(株))) 5 mL を水で 2 L にした。

その他の試薬は市販特級品を用いた。

3. 器具および装置

冷却遠心機: himac CF 15R (株) 日立製作所製

脱塩素用銀カラム: On-Guard Ag カートリッジ 1 cc Dionex 社製

陽イオン交換樹脂: Bond Elut PRS 100 mg/1 mL Varian 社製

限外ろ過カートリッジ: Vivaspin 6 mL, MW 10,000 VIVASIENGE 社製

0.2 μ m フィルター: マイショリデスク W-25-2 水系東ソー(株)製

4. イオンクロマトグラフィー測定条件

装置: IP 25, AS 50 Dionex 社製

検出器: 電気伝導度計 CD 25 Dionex 社製

カラム: IonPac AS 9-HC 4 mm \times 250 mm, ガードカラム AG 9-HC 4 mm \times 50 mm Dionex 社製

カラム温度: 30 $^{\circ}$ C

サブレッサー: AMMS III Dionex 社製

溶離液: 9.0 mmol/L 炭酸ナトリウム, 流速: 1.0 mL/min

再生液: 25 mmol/L 硫酸, 流速: 1.0 mL/min

注入量: 50 μ L

5. 試験溶液の調製

試料を約 3 mm 角程度に細切し、100 mL ビーカーに 5.0 g を正確に量り、9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液 45 mL を加えた。長さ 2 cm のかくはん子を入れ、ラボフィルムでふたをし、室温下 5 分間スターラー上でおよそ 300 rpm 程度の速さでかくはん後、15,000 rpm, 5 $^{\circ}$ C で 15 分間遠心分離した。上清を 0.2 μ m のフィルターに通した後、ろ液を Vivaspin 限外ろ過カートリッジに入れ、

10,000 rpm, 5 $^{\circ}$ C で 30 分間遠心した。ろ液 2.5 mL に 9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液を加え、正確に 25 mL とした。この液 10 mL を水で平衡化した On-Guard Ag カートリッジにおよそ毎分 1 mL の速さで負荷し、はじめの 3 mL を捨て、全量を採取した。流出液を 15,000 rpm, 5 $^{\circ}$ C で 15 分間遠心分離し、上清をあらかじめメタノール 1 mL および水 1 mL で平衡化した Bond Elut PRS に負荷し、流出液をイオンクロマトグラフィー用試験溶液とした。

6. イオンクロマトグラフィーによる定量

亜塩素酸ナトリウム標準液および試験溶液をイオンクロマトグラフに付し、標準液を用いて作成した検量線から試験溶液中の亜塩素酸ナトリウムの濃度を求めた。

7. 確認試験

試験溶液調製時の限外ろ過のろ液 1 mL にグリシン溶液 0.1 mL を加えよく混和した。残留塩素測定用の DPD 錠を 1 錠および硫酸 (1+99) 0.1 mL を加え激しくかくはん後、水で 2 mL とした。10 分間放置後、付属の色調表により比色した。

結果および考察

1. 電気伝導度検出器付イオンクロマトグラフィーによる亜塩素酸イオンの分析

野菜、卵殻および鶏肉、魚浸漬液中に残存する亜塩素酸イオンの定量に UV または電気伝導度検出器付イオンクロマトグラフィーによる方法が報告されている^{1),3)-6)}。そこで、今回かずのこ加工品中の残存亜塩素酸ナトリウムの分析法を汎用性のある電気伝導度検出器によるイオンクロマトグラフィーを用いて検討することとした。試料が魚卵の調味加工品であるため亜塩素酸イオンを測定する際、試料由来の妨害物として、食塩からの塩素をはじめとし、亜硝酸、リン酸イオンなどの存在が考えられた。このため、分析カラムは臭素酸、亜塩素酸、塩素酸などの酸化ハロゲンを一般の陰イオンと同時に分離でき、交換容量の大きい、Dionex 社製の IonPac AS9-HC を用いることとした。亜塩素酸ナトリウム標準液においては亜塩素酸イオンの分離は良く、検量線は 0.05~0.50 μ g/mL の範囲で良好な直線性が得られた。しかし、かずのこに由来するきょう雑物の影響が大きいと亜塩素酸イオンの検出に十分な感度、分離が得られないことが考えられ、抽出法、除タンパクおよび脱塩素イオンなどの前処理法を検討した。

2. 亜塩素酸ナトリウムの抽出および前処理法の検討

亜塩素酸ナトリウムは水溶液中では ClO_2^- に解離している。中性以上では、比較的安定であるが、酸性溶液中では二酸化塩素となり、消失しやすい⁷⁾。そこで、亜塩素酸ナトリウムを試料から安定に効率よく抽出し、さらにイオンクロマトグラム上の陰イオンの影響を極力減らすために、抽出溶媒には溶離液の 9 mmol/L 炭酸ナトリウム溶液を用いることにした。試料の採取について、山海漬けの場合は酒粕等漬け材料の上にかずのこが存在しており、か

ずのことその他の部分の分離が容易であったため、かずのことその他の部分を別個に採取した。しょう油漬けおよび山海漬けの大きいかずのこはおよそ3 mm角程度に細切した。山海漬けのかずのこ以外の部分および松前漬けは食材が細かく均一の状態であったため、そのまま100 mLのビーカーに採取した。9 mmol/L炭酸ナトリウム溶液45 mLを加えて、室温でおよそ300 rpmの速さで5分間かくはんした。かくはん後、かずのこの場合は多少液に濁りとわずかな卵粒が見られたが、細切した試料はほぼそのままの状態であった。

かずのこ加工品は、野菜、卵殻などに比べると、食品に由来するきょう雑物が多く、また、電気伝導度検出によるイオンクロマトグラフィーで定量するためには、十分な前処理が必要であると思われた。抽出液を遠心分離後、除タンパクを検討した。酸性の除タンパク剤あるいは有機溶媒による方法は不安定な亜塩素酸ナトリウムには不向きであり、高い塩濃度を必要とする塩類による除蛋白も電気伝導度計を検出器とする上では避けたい。さらに、松前漬けや山海漬けなどのかずのこに粘性のある昆布、酒かす、野菜などが入っている加工品にも応用できるように比較的緩和な条件で迅速に行える限外ろ過法を検討した。限外ろ過膜の分子量サイズは小さい方が除タンパク効果は高いが、分子量3,000では限外ろ過カートリッジ最大耐用の10,000 rpmで30分間の遠心操作でも、十分なる液の採取はできなかった。分子量10,000では10,000 rpm、30分間ではほぼ全量のろ過ができたので、限外ろ過は分子量10,000を用い、10,000 rpm、30分間の遠心分離を行うことにした。

かずのこ加工品中には約5%程度の食塩が使用されているため、塩素イオンがクロマトグラム上の大きな妨害となる。この塩素イオンを除去するために、限外ろ過のろ液を9 mmol/L炭酸ナトリウム溶液で10倍希釈後、10 mLを銀カラムに負荷した。銀カラムはスチレン系銀型の強陽イオン交換樹脂であり、亜塩素酸ナトリウムの溶出は均一ではないため、ベッドボリュームを含むはじめの3 mLを除いた後、全量を採取した。

限外ろ過を行う前に抽出液の10倍希釈を行った場合でも、添加回収率に差は見られなかったが、DPD試薬による確認試験を行う際に、亜塩素酸ナトリウムの濃度が低くなると感度が不足し、確認試験用の試料溶液として用いることができないため、分析操作上の簡便性および迅速性を考慮し、限外ろ過後に希釈を行った。

試料中の塩素イオンを除くために、試料溶液調製に銀カラムを使用することは不可欠であるが、銀カラムで処理すると銀イオンが溶出する。試料中の成分などによっては溶出する銀が多い場合が推定される。イオンクロマトグラフィー用試料溶液中に銀イオンが残存すると亜塩素酸ナトリウムの回収率が低下する傾向が見られたため、遠心分離で銀を除いた後、陽イオン交換カートリッジに負荷した。

プロピルベンゼンスルホニル基を官能基とする強陽イオン交換樹脂では溶出液がpH 4付近であり、亜塩素酸ナ

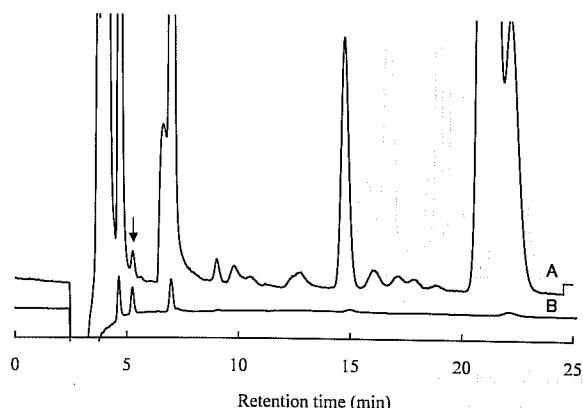


Fig. 1. Ion chromatograms of sample solution and a standard solution detected with conductivity detector

A: Sample solution of a herring roe spiked at the level of 5 mg/kg
B: Sodium chlorite standard solution (0.05 $\mu\text{g/mL}$)
The arrow indicates the retention time of chlorite.

トリウムの回収率が低下したため、スルホニルプロピル基の陽イオン交換樹脂で銀イオンを除去した。

「食品中の食品添加物分析法」¹⁾では野菜、卵殻類の残留亜塩素酸ナトリウムの分析において検出限界を1 mg/kgとしている。そこで、かずのこを用い1 mg/kg濃度の添加回収実験を検討した。その結果、亜塩素酸イオンの保持時間は直前にある試料由来の大きなピークのテーリング上に重なり、亜塩素酸イオンのピークは検出されなかった。また、試験溶液を限外ろ過後の希釈を行わず、通常より10倍高い濃度で調製した場合でも、きょう雑物との分離は不十分で添加回収率は50%以下であり、CV値も高かった。そこで、添加量を5 mg/kgにして検討した。その結果、かずのこ (Fig. 1) ならびに加工品のしょう油漬け、山海漬けのかずのこ (Fig. 2) ならびにかずのこ以外の部分および松前漬けにおいても亜塩素酸ナトリウムの検出が可能であった。

3. 添加回収率

かずのこおよびかずのこ加工品のしょう油漬け、山海漬け、松前漬けの添加回収実験を行った。かずのこおよびしょう油漬けかずのこは山田水産からの提供品を用い、山海漬け、松前漬けは市販品を用いた。試料への亜塩素酸ナトリウムの添加量5 mg/kg、 $n=5$ での回収率は、かずのこで $88 \pm 3.7\%$ (変動係数 (CV値) 4.2%)、しょう油漬け $85 \pm 2.4\%$ (2.8%)、山海漬けではかずのこ部分 $80 \pm 4.5\%$ (5.6%)、その他の部分 $78 \pm 4.1\%$ (5.3%)、松前漬け $75 \pm 4.6\%$ (6.1%)であった。かずのこ以外のしょう油漬けなどの加工品においても、良好な添加回収率が得られた。

また、かずのこの加工品はいろいろな商品が市販されているが、調味料などに多少の違いはあるものの、その多くはかずのこ、大根、昆布、スルメ、しょう油、酒粕などの原材料を用いて製造されており、今回試料としたもの以外

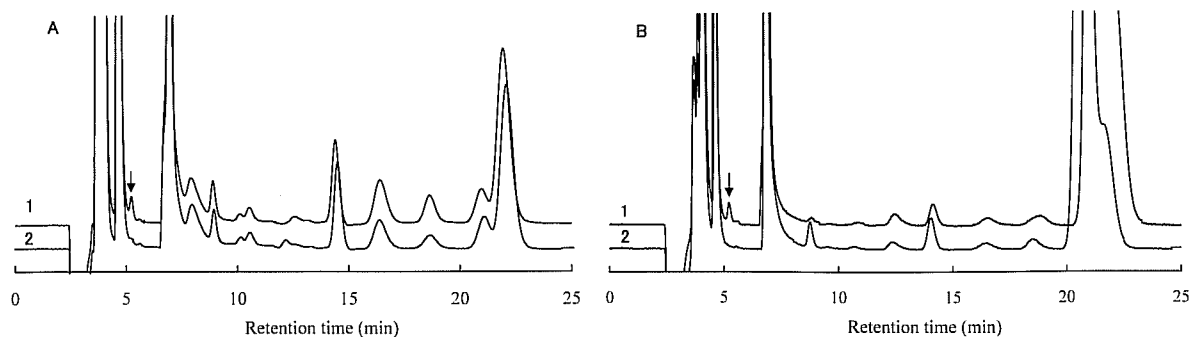


Fig. 2. Ion chromatograms for sodium chlorite-spiked and unspiked processed herring roes

Results for processed herring roes, Sankai-tuke (A) and Shouyu-tuke (B), spiked at the level of 5 mg/kg (1) and unspiked (2).

Arrows indicate the retention time of chlorite.

のかずのこ加工品においても本法が適用できるものと思われる。

4. 確認試験

亜塩素酸ナトリウムはその物性上、機器分析による同定が困難である。そこで、上水試験法⁸⁾で用いられている、DPD法を確認試験として検討した。DPD法は上水試験法中で、亜塩素酸イオンおよび二酸化塩素の定量法として用いられており、簡便なキットも市販されている。亜塩素酸ナトリウムを含まないかずのこを試料とし、亜塩素酸ナトリウム無添加、5 mg/kg 添加の試験溶液調製時の限外ろ過ろ液および標準液 0.5 mg/L の各 1 mL にグリシン溶液 0.1 mL を加え、各溶液中の遊離塩素を除去した後、DPD 錠および硫酸を加え、桃赤色の発色を目視で観察した。標準液および添加限外ろ過ろ液では添付の色調表による 0.2 (塩素 Cl mg/L) の呈色が見られ、無添加のろ液では呈色は見られなかった。

まとめ

かずのこ加工品中の残留亜塩素酸ナトリウムの分析法を検討した。試料から亜塩素酸ナトリウムを炭酸ナトリウム溶液で抽出し、限外ろ過法による除タンパク、銀カラムでの脱塩素イオンを行い、汎用性のある電気伝導度検出イオンクロマトグラフィーで測定した。検出限界の 5 mg/kg でのかずのこ加工品の添加回収実験において、いずれの試料でも良好な検出および回収率が得られた。以上、本法により、かずのこ加工品中の残留亜塩素酸ナトリウムは検出限界 5 mg/kg とし、定量および確認が可能であった。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品化学課“第2版 食品中の食品添加物分析法”2000, p. 68-70.
- 2) 厚生省“第7版食品添加物公定書”1999, p. 131.
- 3) Suzuki, J., Okumoto, C., Katsuki, Y., Tomomatsu, T., Tamura, Y., Ito, Y., Ishiwata, H., Yamada, T., Nishijima, M., Determination of residual chlorite in vegetables and eggs treated with sodium chlorite by UV-ion chromatography and effect of soaking water. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **38**, 22-26 (1997).
- 4) Saita, K., Miyazaki, H., Sakurai, Y., Ikeno, E., Kirigaya, T., Sasao, T. and Usui, S., Analysis and behavior of chlorite ion soaking fish water. *Ann. Rep. Yokohama Inst. Health*, **41**, 67-72 (2002).
- 5) Yoshikawa, N., Koh, T., Semma, M., Nishijima, M. and Ito, Y., Studies on remainder of sodium chlorite on several vegetables and egg shells, and on the effect of washing on removal of the agent. *Jpn. J. Food Chem.*, **2**, 102-105 (1995).
- 6) Yamamoto, Y., Kosaka, T., Ono, K. and Takeda, O., Determination of residual chlorite in chicken. *Annual Report of Miyazaki Prefectural Institute for Public Health and Environment*, **8**, 69-72 (1996).
- 7) Aieta, E. M., Roberts, P. V., Hernandez, M., Determination of chlorine dioxide, chlorine, chlorite, and chlorate in water. *J. Am. Water Works Assoc.*, **76**, 64-70 (1984).
- 8) 日本水道協会“上水試験方法”2001, p. 268-270.