(衛 生 化 学)
EISEI KAGAKU
31 (6) 421-425 (1985)

吸光度検出イオンクロマトグラフィーによる食品添加物の 分析 (第2報)¹⁾ 砂糖漬け食品中の亜塩素酸イオン²⁾

山本 敦, 松永明信, 牧野正雄

富山県衛生研究所

Analysis of Food Additives by Photometric Ion Chromatography. II. Chlorite in Candied Foods

ATSUSHI YAMAMOTO, AKINOBU MATSUNAGA
and MASAO MAKINO

*Toyama Institute of Health, 17-1 Nakataikoyama,
Kosugimachi, Toyama 939-03, Japan*

(Received July 29, 1985)

The determination method of chlorite in foods, which is permitted to be used as a bleaching agent, was established by photometric ion chromatography (PIC). The PIC was performed on a conventional high-performance liquid chromatographic system including an Ōyōbunkō ASA-4000 column and a UV detector set at 250 nm. The mobil phase was 5×10^{-4} M disodium phthalate-boric acid buffer solution at a flow rate of 0.8 ml/min. Sample solutions prepared by aqueous extraction were treated with BOND ELUT SAX cartridge, and directly subjected to chromatography. The detection limit of chlorite was at a concentration of 5 ppm.

The actual behavior of chlorite in a laboratory-prepared candied butterbur was monitored during the preparation process. It was found that chlorite was either completely removed or decomposed during the bathing and candying processes.

Keywords—photometric ion chromatography; chlorite; candied food; anion exchanger cartridge

緒 言

食品には発色剤や漂白剤として種々の無機化合物が使用されているが、きびしい使用規制の設定に伴い、これらの微量分析法の確立が必要となってきた。

亜塩素酸は我国において、砂糖漬け食品の漂白剤として使用許可されているが、最終食品完成前には分解、除去されていなければならない。³⁾ 従来亜塩素酸など塩素系化合物は、電位差滴定⁴⁾ やガスクロマトグラフィーによる分析⁵⁾ が行なわれていたが、これらの方法は食品への適用が困難、あるいは亜塩素酸と他の塩素化合物との分別定量ができない等の欠点がある。

近年、イオンクロマトグラフィー (IC) の出現⁶⁾ により、無機イオンの微量一斉分析が可能になり、種々の分野で応用されている。そして厚生省は食品中の亜塩素酸の分析法として、電気伝導度計を用いた IC 法を提示し

た。⁷⁾ しかしこの装置は、特殊で高価なものであり、汎用性が乏しいなど日常の検査業務には適していない。

これらの難点を解決するため、最近普及型の HPLC 装置と吸光度検出器を用いた吸光度検出イオンクロマトグラフィー (Photometric Ion Chromatography, PIC と略す) が開発され、無機イオン及び有機酸類の微量一斉分析が可能なが報告されている。⁸⁾ 著者らは、この PIC を用いて食品添加物の分析を試み、既に臭素酸カリウムの分析について報告した。¹⁾

今回、PIC による砂糖漬け食品中の亜塩素酸分析法を確立し、また本法を用いて製造工程中の亜塩素酸イオンの挙動を検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 試料 市販のふぎ、さくらんぼの砂糖漬け及び生ぶきを用いた。

2. 試薬 亜塩素酸ナトリウム標準液——亜塩素酸ナトリウム（和光試薬）約 0.5 g を水に溶解して 100 ml とし、ヨウ素滴定⁹⁾により亜塩素酸を定量する。この液を原液として、適宜水で希釈して用いた。

BOND ELUT SAX 用溶出液——フタル酸二ナトリウム（東京化成特級）を水に溶解し、 2×10^{-3} M 溶液とした。

その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

3. BOND ELUT カートリッジの調整 BOND ELUT SAX (Analytichem International, INC.) をあらかじめ 0.05% フタル酸二ナトリウム溶液 40 ml 及び 0.05% フタル酸溶液 20 ml で洗浄して用いた。

4. HPLC 装置 装置は島津製作所製 LC-5A ポンプ、同 SIL-1A サンプルインジェクター、応用分光機器製 ASA-4000 ポーラスポリマー型陰イオン交換樹脂カラム (4.6 mm i.d. $\times$ 250 mm), 同 UVILOG-8 型 UV 検出器及び島津製作所製クロマトパック C-R3A 型データ処理装置を用いて構成した。なお応用分光機器製 UVILOG-8 型は PIC モードで使用した。

5. HPLC 条件 溶離液： 5×10^{-4} M フタル酸二ナトリウム・ 5×10^{-4} M ホウ酸溶液 (pH 6.7), 流速：0.8 ml/min, 検出波長：250 nm, 検出レンジ：0.08 a.u.f.s., カラム温度：室温, 試料注入量：60 μ l.

6. 試験溶液の調製 試料 20 g を精秤し、水約 70 ml を加え、ホモジナイザー (ULTRA TURRAX: Janke & Kunkel KG 社製) を用いて 30 秒間ホモジナイズした。これを水で 100 ml とした後、3000 rpm, 5 分間遠心分離して得られた上清液 5 ml を、あらかじめ調製した BOND ELUT SAX カートリッジに毎分 2 ml の速度で注入した。次いで同じ速度で BOND ELUT 用溶出液を流し、溶出液の最初の 5—6 ml は捨て、次の 6 ml を集めて試験溶液とした。

7. 検量線の作成 亜塩素酸イオン濃度 1—20 μ g/ml の亜塩素酸ナトリウム標準液 5 ml について上記の操作を行なった。得られたクロマトグラムより、ピーク面積による絶対検量線法で検量線を作成した。

8. 実験用ふきの砂糖漬けの製造方法 文献^{9,10)}を参考に Chart 1 で示す工程で行なった。

結果と考察

1. 溶離液の検討

本法は、イオン交換クロマトグラフィーにおいて、解離した試料イオンが溶離液のフタル酸イオンに置き代ることに基づき、試料イオンの溶出をフタル酸イオンの濃度減少として UV 検出する方法である。したがって試料成分が全く光吸収を有しない場合、解離が進む程ピーク面積は大きくなり、完全解離するとイオン種に関係な

Chart 1. Preparation Process of Candied Butterbur

く、化学当量の等しいイオンは同じピーク面積を示すことになる。¹¹⁾ 亜塩素酸の酸解離定数 pK_a は 2.3 であり、溶離液の pH が 8 以上で他の強酸性無機陰イオン（例えば塩素イオンなど）とのピーク面積比が等しくなった。また溶離液の pH が 5 以下ではほとんどピークが現われなくなったが、これは解離が抑制されること以外に、亜塩素酸イオンが pH 7 以下では非常に還元されやすいため、⁴⁾ カラム中で分解が起こっていると思われる。しかし溶離液の pH を 7 以上にすると、炭酸イオンにより亜塩素酸イオンの分析が妨害される可能性があった。これらの点を考慮し、溶離液として pH 6.7 の 5×10^{-4} M フタル酸二ナトリウム・ホウ酸溶液を用いることとした。また溶離液の流速等他の分析条件は、前報¹⁾の条件を参考に実験方法の 5. HPLC 条件の通りに定めた。Fig. 1 は本条件下における無機陰イオンの標準クロマトグラムである。なお本溶離液では亜塩素酸イオンの塩素イオンに対する等モル当りのピーク面積比は約 0.8 であった。

2. シリカ系イオン交換体を用いた試料の前処理

アンジェリカ等の砂糖漬け食品には、陰イオン性物質として、塩素・硝酸等の無機イオンの他、酢酸・クエン酸等の有機酸が含まれている。亜塩素酸イオンは、これらの無機陰イオンに比べ分析カラムから早く溶出される

Fig. 1. Separation of Anions

Peaks: A=chlorite (11.0 ppm), B=chloride (4.2 ppm), C=nitrite (5.1 ppm), D=bromide (9.6 ppm), E=nitrate (7.4 ppm), F=chlorate (6.8 ppm).

HPLC conditions: column=Öyöbunkō ASA-4000 (4.6 mm i.d. × 250 mm); eluent= 5×10^{-4} M disodium phthalate-boric acid (pH 6.7); flow rate=0.8 ml/min; temperature=ambient; detection=250 nm (0.04 a.u.f.s.); sample volume=40 μ l.

が、その溶出は一価の有機酸と近接している。したがって分析に際しては、分析カラムの劣化を早めると考えられる多量の糖、分析を妨害する有機酸などをあらかじめ除去する必要がある。

一般に有機酸は、ポーラスポリマー担体のイオン交換樹脂上では、イオン交換の他に担体への吸着・分配により保持される。ところがシリカ系のイオン交換体では、吸着・分配がないため無機イオンに比べ有機酸は早く溶出される。一方糖はイオン性を持たないため保持されない。そこでこれら妨害物の除去に、シリカ系のイオン交換体が充填された BOND ELUT SAX カートリッジを用いることにした。

このカートリッジは塩素型で市販されているため、このまま亜塩素酸イオンを吸着・溶出させたのでは、多量の塩素イオンにより分析の妨害を受けるのでフタル酸型にして使用した。溶出液はフタル酸二ナトリウムを用いて吸脱着条件を検討した。溶出液のフタル酸二ナトリウムは、濃度を上げることで亜塩素酸の濃縮が可能であるが、有機酸との分離や分析カラムに注入した場合のベースラインの安定性を考慮し、 2×10^{-3} M の濃度で用いることにした。Fig. 2 は 亜塩素酸イオン及び一価の有機酸として酢酸イオンの溶出パターンを示したものである。したがって 2×10^{-3} M フタル酸二ナトリウム溶出液の最初の 5–6 ml は捨て、次の 6 ml を集めて試験溶

Fig. 2. Elution Patterns of Acetate and Chlorite from BOND ELUT SAX Cartridge

—□—: acetate (15 μ g), —●—: chlorite (40 μ g).

Fig. 3. Chromatogram of Cherry Drained Extract Previously Spiked with 20 ppm of Chlorite

HPLC conditions: sensitivity=0.08 a.u.f.s.; sample volume=60 μ l; others=as in Fig. 1.

液とした。

3. 検量線

ピーク面積による絶対検量線法では、亜塩素酸イオン 5–100 ppm の範囲で直線性が認められた。しかし亜塩素酸イオン 3 ppm 以下では、BOND ELUT カートリッジより回収されなかった。

4. 添加回収

亜塩素酸を含まないことを確認した市販のふき及びさくらんぼの砂糖漬けに、亜塩素酸イオンを添加して回収実験を行なった。Fig. 3 には、さくらんぼの砂糖漬けに亜塩素酸イオン 20 ppm を添加した場合のクロマトグラムを示した。5.5分のピークは有機酸によると推定され、

TABLE I. Recovery of Chlorite Added to Cherry Drained and Angelica

Sample	Chlorite		
	Added (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)
Cherry drained	10.0	8.6	86
		7.3	73
		8.2	82
	20.0	17.5	88
		18.6	93
		16.2	76
Angelica	10.0	9.3	93
		7.4	74
		7.2	72

BOND ELUT 処理でその大部分が除去されて亜塩素酸イオンの分析を妨害しなかった。また 8.2 分のピークは塩素イオンによるもので、14 分以降のベースラインは一定であった。

ふきとさくらんぼの砂糖漬け食品に対する亜塩素酸イオンの添加回収の結果を Table I に示した。回収率は種類や添加量の違いによらず、いずれも 70% 以上であった。したがって UV 検出器を用いた本法は、食品に添加された亜塩素酸イオンの分析法として実用的なものと考えられる。

5. ふきの砂糖漬け製造工程における亜塩素酸イオンの挙動

我国において食品添加物として使用された亜塩素酸は、最終食品より検出されてはならない。市販のふき及びさくらんぼの砂糖漬け 9 検体について本法で分析したところ、全検体から亜塩素酸イオンは検出されなかった。そこで著者らの研究室で亜塩素酸で漂白したふきを用いて砂糖漬けを行ない、その工程中での亜塩素酸イオンの残存量を調べた。

亜塩素酸で漂白した直後のふきには約 600 ppm の亜塩素酸が残存していた。そのふきについて水晒しを行ない、亜塩素酸の残存量を経時的に追跡すると、流水中では 5 時間後には亜塩素酸イオンが検出されなかった。一方、静水中では 6 時間後でも約 30 ppm の亜塩素酸イオンが検出された (Fig. 4)。

次に、ふきに亜塩素酸が 100 ppm 程度残存した状態 (静水中約 90 分後) で水晒しを止め、砂糖漬け工程での亜塩素酸イオンの残存量を調べた。砂糖漬けはふきの場合、糖濃度 55% の糖液に浸すことから始まり、1 日毎に糖液の濃度を 5% ずつ上げていく。Table II は、その工程でのふき及び糖液中の亜塩素酸イオンの経日変化を示したものである。砂糖漬け 3 日目には、亜塩素酸イオン

Fig. 4. Behavior of Chlorite during Water-Bathing

●: in running water (flow rate, 0.5 l/min/butterbur 10 g), □: in standing water (50 fold volume of water for butterbur).

TABLE II. Behavior of Chlorite during the Candyng Process

Day (sucrose conc.)		1 st (55 %)	2 nd (60 %)	3 rd (65 %)	4 th (70 %)
residual butterbur ^{a)}	chlorite (ppm)	31	4.7	nd	nd
sucrose soln. ^{b)}		29	3.8	tr	nd

Average of three determinations.

a) 100 ppm of chlorite detected at the start (nd<3 ppm).

b) solution diluted with water was directly subjected to PIC (nd<1 ppm).

はほとんど検出されなかった。

以上の結果から、通常の砂糖漬け製造工程が行なわれているならば、漂白に用いられた亜塩素酸は、製造工程中にすべてが除去あるいは分解されるものと推定された。

ま と め

砂糖漬け食品中の亜塩素酸イオンの分析について PIC による検討を行ない、検体を水で抽出後、シリカ系イオン交換体による処理を施すのみで 5 ppm 以上の亜塩素酸を定量できる方法を確立した。

また実験室規模でふきの砂糖漬けを製造し、その製造工程中の亜塩素酸イオンの挙動を本法を用いて調べた。その結果、漂白剤として用いられた亜塩素酸は、製造工程ですべて除去、分解されることが見出された。

謝辞 本研究を行なうにあたり、御指導を賜りました金沢大学薬学部宮崎元一教授、早川和一講師、砂糖漬け製造に有益な御助言を賜りました富山県食品研究所の川崎賢一主任研究員の各位に深謝いたします。

なお本研究の一部は田村科学技術振興財団の助成金によった。ここに感謝の意を表します。

引用文献及び注

- 1) 第1報：山本 敦，松永明信，関口久義，早川和一，宮崎元一，衛生化学，**31**，47 (1985).
- 2) 日本薬学会第105年々会，金沢，1985年4月において発表.
- 3) 昭和38年7月26日，環発第305号.
- 4) E.M. Aieta, P.V. Roberts, M. Hernandez, *J. Am. Water Works Assoc.*, **76**, 64 (1984).
- 5) 厚生省環境衛生局食品化学課，“食品中の食品添加物分析法指針 その1,” 1981, pp.32—36.
- 6) H. Small, T.S. Stevens, W.C. Bauman, *Anal. Chem.*, **47**, 1801 (1975).
- 7) 厚生省環境衛生局食品化学課，“食品中の添加物分析法指針 その3,” 1982, pp.1—4.
- 8) 早川和一，平木博美，宮崎元一，分析化学，**34**，T71 (1985)；M. Miyazaki, K. Hayakawa, S. Choi, *J. Chromatogr.*, **323**, 443 (1985)；吉田育世，早川和一，宮崎元一，衛生化学，**31**，317 (1985).
- 9) 石館守三監修，“第4版食品添加物公定書解説書,” 廣川書店，東京，1979, pp.B・1—B・2.
- 10) 松田兼一，“自分で作る製菓副材料,” 日本洋菓子協会連合会，東京，1982, pp.105—107.
- 11) D.R. Jenke, *Anal. Chem.*, **56**, 2468 (1984).