硫黄化合物を含有する生鮮野菜及びその 乾燥物中の亜硫酸のバイオセンサ法と 改良ランキン法の比較†

松本隆志*・深谷正裕*・鐘ヶ江祐子*
秋田澄男*・川村吉也*・伊藤誉志男**

Comparison of the Microbial Biosensor Method with the Modified Rankine's Method for Determination of Sulfite in Fresh and Dried Vegetables Including Sulfur Compounds

Takashi MATSUMOTO*, Masahiro FUKAYA*,
Yuko KANEGAE*, Sumio AKITA*,
Yoshiya KAWAMURA* and Yoshio ITO**

* Nakano Research Institute : Nakano Vinegar Co.,
Ltd., 2-6, Nakamura-cho, Handa-shi, Aichi 475

** Faculty of Pharmaceutical Sciences : Mukogawa
Women's University, 11-68, Koshien, Kyuban-cho,
Nishinomiya-shi, Hyogo 663

The application to the determination of sulfite in dried vegetables by the microbial biosensor method was examined. The recovery of added sulfite from 4 samples was more than 86%. The total sulfite was not detected by the microbial biosensor method. On the other hand, the modified Rankine's titration method was difficult to apply to determine sulfite in dried vegetables because of influence by sulfur compounds in dried vegetables. These results indicated that the microbial biosensor method was applicable to the determination of sulfite in dried vegetables including sulfur compounds.

(Received Oct. 6, 1994)

亜硫酸及びその塩類は、食品の保存、漂白、酸化防止などの目的で広く使用されており、各食品毎に食品衛生法で食品添加物としての使用基準が設けられ、使用量が規制されている¹⁾。

亜硫酸の測定法としては、日本では改良ランキン法²⁾³⁾が広く採用されている⁴⁾⁵⁾。

著者らは、簡便かつ迅速で信頼性の高い亜硫酸分析法としてバイオセンサ法を開発し⁶⁾、これまで、ワイン^{7)~9)}、味噌⁹⁾¹⁰⁾や各種水産物¹¹⁾の残存亜硫酸の測定に適用できることを報告してきた。

硫黄化合物を含む各種乾燥野菜での残存亜硫酸を測定した報告は切り干し大根での例があるのみである³⁾。また、硫黄化合物を多く含む食品では定量妨害が起こることが記されている³⁾。そこで本報では、バイオセンサ法により、硫黄化合物を含む4種乾燥野菜の亜硫酸を硫黄化合物の影響を受けず、測定できることがわかったので報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

生鮮野菜については市販品を用いた。乾燥野菜は当社製品に使用する原料として入手したものを用いた。約3 mm角の大きさに細切したものを試料とした。

(2) 試薬及び装置

亜硫酸水素ナトリウムは関東化学薬品工業(株)製(特級)を用いた。

硫酸は片山化学工業(株)製(特級)を用いた。

亜硫酸標準溶液は亜硫酸水素ナトリウム 162.5 g を脱イオン水で 100 ml になるように溶解したものを用いた (SO_2 として 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。

ガラス製スクリーキャップ付バイアル瓶 (12 ml 容) は井内盛栄堂社製を用いた。

亜硫酸測定用バイオセンサは(株)中埜酢店製を使用した⁶⁾。

濾紙はアドバンテック東洋(株)製 (No. 2) を使用した。

(3) 前処理方法

ガラス製スクリーキャップ付バイアル瓶に脱イオン水 4.8 ml 及び 1 N 硫酸 6 ml を添加した。これに試料 1.2 g を加え、85℃ に保温したアルミブロックヒーターにて 15 分間加熱した。その後、水道水で室温まで冷却し、反応液を濾紙で濾過し、その濾液をバイオセンサにて測定した。

(4) 亜硫酸添加回収試験

試料中の亜硫酸濃度が SO_2 換算で 30 $\mu\text{g}/\text{g}$ になるよ

† バイオセンサ法による食品中の亜硫酸測定 (第5報)

* (株)中埜酢店研究所 (〒475 愛知県半田市市中村町 2-6)

** 武庫川女子大学薬学部 (〒663 兵庫県西宮市甲子園九番町 11-68)

うに亜硫酸標準溶液を加えたものを添加回収試験用の試料とした。(3)の前処理方法に示した方法で前処理を行い、バイオセンサ法で試料中の亜硫酸濃度を測定し、添加した亜硫酸の回収率を算出した。また、改良ランキン滴定法でも試料中の亜硫酸濃度を測定し、添加した亜硫酸の回収率を算出した。

(5) 試料中の亜硫酸の測定

I) バイオセンサ装置

硫黄酸化細菌 *Thiobacillus thiooxidans* NCI 11773 の菌体固定化膜を内蔵した亜硫酸測定用バイオセンサを使用した。測定条件は、既報¹¹⁾に準じた。測定時間は約5分であり、試料での検出限界は1 µg/g (1 ppm) であった。

II) 改良ランキン滴定法

食品衛生検査指針の方法に準じて測定した¹²⁾。

2. 実験結果及び考察

(1) 生鮮野菜の亜硫酸添加回収試験

生鮮野菜について、バイオセンサ法と改良ランキン滴定法による亜硫酸添加回収試験を行い、両法での回収率を比較した。表1に示すように、バイオセンサ法と改良ランキン滴定法の回収率は各91.7%、86.7%以上であり、いずれの方法でもほぼ良好な結果が得られた。また、残存亜硫酸はいずれの方法でも検出されなかった。

(2) 乾燥野菜の亜硫酸添加回収試験

乾燥野菜について、バイオセンサ法と改良ランキン滴定法による亜硫酸添加回収試験を行い、両法での回収率を比較した。表2に示すように、バイオセンサ法では、30 µg/g 及び 250 µg/g 添加群で、各86.3%及び91.2%

表1 バイオセンサ法による生鮮野菜の亜硫酸添加回収率

サンプル	亜硫酸 添加量 µg/g	バイオ センサ法 (%)	改良ランキン 滴 定 法 (%)
たまねぎ	0	—*	—
	30	91.7	93.7
ね ぎ	0	—	—
	30	96.7	86.7
に ら	0	—	—
	30	93.7	87.7
にんにく	0	—	—
	30	93.3	99.3

* Not detected

n=3

表2 バイオセンサ法による乾燥野菜の亜硫酸添加回収率

サンプル	亜硫酸 添加量 µg/g	バイオ センサ法 (%)	改良ランキン 滴 定 法 (%)
たまねぎ A	0	—*	(2.7 µg/g)
	30	92.0	92.7
	250	93.1	93.9
ね ぎ A	0	—	(5.1 µg/g)
	30	90.7	29.0
	250	91.2	78.5
に ら A	0	—	(2.3 µg/g)
	30	86.3	31.0
	250	94.7	75.1
にんにく A	0	—	(16.7 µg/g)
	30	93.3	62.0
	250	98.0	82.7

* Not detected

n=3

表3 各種乾燥野菜でのバイオセンサ法と改良ランキン滴定法の亜硫酸測定値の比較

サンプル	測定値 µg/g	
	バイオセンサ法	改良ランキン滴定法
たまねぎ B	N.D.*	3.2
たまねぎ C	N.D.	5.1
たまねぎ D	N.D.	5.6
ね ぎ B	N.D.	6.3
ね ぎ C	N.D.	6.9
ね ぎ D	N.D.	7.8
に ら B	N.D.	2.5
に ら C	N.D.	3.2
に ら D	N.D.	3.8
にんにく B	N.D.	10.6
にんにく C	N.D.	10.8
にんにく D	N.D.	12.9

*N.D.: Not detected

n=3

以上の回収率が得られた。また、残存亜硫酸は検出されなかった。一方、改良ランキン滴定法では、特にねぎ及びにらの30 µg/g 添加群において、各29.0%及び31.0%と、低い回収率しか得られなかった。

(1)の試験において、用いた生鮮野菜は、いずれも硫黄化合物が含まれているが、水分が90%以上であるため、その影響を受けにくかったのではないかと推測された。

一方、乾燥野菜では、乾燥により濃縮された硫黄化合物が原因で、改良ランキン滴定法の回収率が低くなったものと考えられた。また、亜硫酸無添加群では、残存亜硫酸として同じく硫黄化合物の影響と思われる測定値が検出された。

(3) 各種乾燥野菜でのバイオセンサ法と改良ランキン滴定法の亜硫酸測定値の比較

乾燥野菜について、両法による亜硫酸の測定値の比較を行い、表3に結果を示した。バイオセンサ法では、いずれの試料についても、残存亜硫酸は検出されなかった。しかし、改良ランキン滴定法では、たまねぎ、ねぎ、にら及びんにんにくにおいて、各3.2から5.6 $\mu\text{g/g}$ 、6.3から7.8 $\mu\text{g/g}$ 、2.5から3.8 $\mu\text{g/g}$ 、10.6から12.9 $\mu\text{g/g}$ と、硫黄化合物の影響と思われる測定値が検出された。

亜硫酸の定量妨害を起こすような硫黄化合物を含む食品では、改良ランキン比色法において妨害を受けないような測定法の検討がなされている^{3)~5)}。それに対し、本報では、バイオセンサ法によって、蒸留などの熟練技術を必要とせず、簡便かつ迅速に分析できることが明らかになった。

以上の結果から、バイオセンサ法は乾燥野菜中の硫黄化合物の影響を受けにくく、簡便かつ迅速で信頼性の高い簡易分析法として有効であることが明らかになった。

3. 要 約

バイオセンサ法による乾燥野菜中の亜硫酸分析への適用性について検討した。

生鮮野菜の亜硫酸添加回収試験において、バイオセンサ法と改良ランキン滴定法の回収率は、各91.7%、86.7%以上であった。また、残存亜硫酸は両法で検出されなかった。

乾燥野菜の亜硫酸添加回収試験において、バイオセンサ法では、30 $\mu\text{g/g}$ 及び 250 $\mu\text{g/g}$ 添加群で、各86.3%及び91.2%以上の回収率が得られた。それに対し、改良ランキン滴定法では、特にねぎ及びにらの30 $\mu\text{g/g}$ 添加群において、各29.0%及び31.0%と、低い回収率しか得られなかった。

各種乾燥野菜での両法の亜硫酸測定値の比較において、バイオセンサ法では、いずれの試料でも残存亜硫酸

が検出されなかった。一方、改良ランキン滴定法では、たまねぎ、ねぎ、にら及びんにんにくにおいて、各3.2から5.6 $\mu\text{g/g}$ 、6.3から7.8 $\mu\text{g/g}$ 、2.5から3.8 $\mu\text{g/g}$ 、10.6から12.9 $\mu\text{g/g}$ の測定値が得られた。

改良ランキン滴定法は硫黄化合物の影響により、乾燥野菜中の亜硫酸の測定は困難であった。

以上の結果から、バイオセンサ法は乾燥野菜中の硫黄化合物の影響を受けにくく、簡便かつ迅速で信頼性の高い簡易分析法として有効であることが明らかになった。

文 献

- 1) 食品、添加物などの基準：厚生省告示第370号(1959)。
- 2) OGAWA, S., SUZUKI, H., TOYODA, M., ITO, Y., IWAIDA, M., NONOGI, H., FUKE, T., OBARA, K., ADACHI, T., FUJITA, K., IKUZAWA, M., IZUMI, T., HAMANO, T., MITSUHASHI, Y. and MATSUKI, Y.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 206 (1979)。
- 3) 日本薬学会：衛生試験法・注解(金原出版、東京), p. 474 (1990)。
- 4) 柴田 正・辻 澄子・伊藤誉志男・三浦和生・小原一雄・足立忠夫・儀賀豊達・浜野 孝・三ツ橋幸正・青木伸実・山本 進・水野俊秋・慶田雅洋・手塚義博：食衛誌, **31**, 57 (1991)。
- 5) 辻 澄子・藤原香里・柿内 雅・柴田 正・内堀幸子・古山みゆき・兼田 登・尾田美子・藤原一也・鈴木 宏・伊藤誉志男：食衛誌, **34**, 303 (1993)。
- 6) 前田和宏・深谷正裕・川村吉也：食品機械装置, **28**, 105 (1991)。
- 7) 川村吉也・佐藤 猛・久保伸子・赤野裕文・黒澤 尋・中村和夫・天野義文・伊藤誉志男・藤巻正生：日食工誌, **39**, 233 (1992)。
- 8) 黒澤 尋・樋口直美・中村和夫・天野義文：醸協, **87**, 155 (1992)。
- 9) 荒田治彦・川村吉也：醸協, **88**, 671 (1993)。
- 10) 本藤 智・桜井令子・安平仁美：味噌の科学と技術, **40**, 351 (1992)。
- 11) 松本隆志・深谷正裕・秋田澄男・川村吉也・伊藤誉志男：日食工誌, **42**, 316 (1995)。
- 12) 日本食品衛生協会：食品衛生検査指針，厚生省生活衛生局監修(東京), p. 82 (1989)。

(平成6年10月6日受理)