ノート

通気蒸留装置及び HPLC を用いた食品中の残留亜硫酸の分析

(平成 13 年 5 月 28 日受理)

松本ひろ子^{*1,†} 小川仁志^{*2} 鈴木敬子^{*2}
鈴木 仁^{*2} 斉藤和夫^{*2}

Determination of Sulfite Residues in Foods by Using the Modified Rankine Apparatus and HPLC

Hiroko MATSUMOTO^{*1,†}, Hitoshi OGAWA^{*2}, Keiko SUZUKI^{*2}, Jin SUZUKI^{*2} and Kazuo SAITO^{*2}(*¹Tama Branch Laboratory, The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health: 3-16-25, Shibazaki-cho, Tachikawa, Tokyo 190-0023, Japan; *²The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health: 3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan; † Corresponding author)

A method for measuring sulfite residues in foods by using the modified Rankine apparatus and HPLC was developed. Sulfites released from foods by bubbling of nitrogen gas and heating for 15 minutes with an electric burner were absorbed in 1% triethanolamine solution and detected as sulfite ion by HPLC with a UV detector at 240 nm, using an anion exchange column, IonPac AS9-SC, with 1.8 mmol/L sodium carbonate–1.7 mmol/L sodium hydrogen carbonate solution as the mobile phase. The recoveries of sulfites added to 3 kinds of foods were 98~102%, and the determination limit was 0.001 g/kg. The sulfite values in various kinds of foods determined by the proposed HPLC method were consistent with those obtained by the alkaline titration method and the colorimetric method.

(Received May 28, 2001)

Key words: 亜硫酸 sulfite; 高速液体クロマトグラフィー HPLC; 紫外検出器 UV detector; 改良ランキン装置 modified Rankine apparatus; 陰イオン交換カラム anion exchange column; トリエタノールアミン triethanolamine

緒言

亜硫酸及びその塩類は食品の漂白，酸化防止，保存などの目的で広く使用されている。米国では，野菜サラダに使用された亜硫酸塩によるアレルギー事故が発生したことから，生鮮果実や野菜への使用が禁止されるなど，食品衛生上の問題となった¹⁾。

我が国における食品中の亜硫酸及びその塩類は，おおむね高濃度に含有されている食品は通気蒸留-アルカリ滴定法，低濃度に含有されている食品は通気蒸留-比色法により^{2)~4)}，亜硫酸(SO₂)の残存量として食品ごとに規制されている。アルカリ滴定法は操作時間が短く簡便であるが，酢酸などの揮発性の酸を多く含む食品には適用することができない^{2), 3), 5)}。一方，比色法は操作が煩雑で検量線の範囲が狭いことから，前述のようなアルカリ滴定法では測定できない食品やSO₂含有量が低い食品に限って使用され

ている。また，比色法は食品の成分による発色の妨害を除くために，近年毒物に指定されたアジ化ナトリウムが使用されている^{2)~4)}。このように食品中の残留亜硫酸の分析法は，食品の種類によって方法を選択しなければならないことなど，考慮すべき問題点がある。

そこで，今回亜硫酸イオンが紫外部(UV)に吸収を有することに着目し，これまで使用していた通気蒸留装置を用い，得られた捕集液中の亜硫酸イオンをUV検出器付高速液体クロマトグラフィーで測定することができ，しかも多種類の食品に適用できる分析法を作成した。また，各種食品を用いて本法とアルカリ滴定法，比色法との定量値を比較したところ良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料

1998年1月～1999年3月に東京都内で市販されていた食品20種類35検体を試料として用いた。

2. 試薬及び試液

1) 通気蒸留用試薬及び試液：衛生試験法・注解²⁾に従った。

† 連絡先

*¹ 東京都立衛生研究所多摩支所：〒190-0023 東京都立川市柴崎町3-16-25*² 東京都立衛生研究所：〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

2) 捕集液: トリエタノールアミン (以下 TEA と略す) 10 g を水に溶かして 1,000 mL とした後, 窒素ガスを 5 分間通気して脱気した (1% TEA 溶液). 本液は SO₂ 標準溶液の溶媒としても使用した.

3. 亜硫酸水素ナトリウムの標定及び SO₂ 標準溶液の調製

亜硫酸水素ナトリウム (NaHSO₃, 和光純薬工業(株)製, 特級) 0.5 g (wg) を量り, 水に溶かして 100 mL とした. その 10 mL を採り, 0.05 mol/L ヨウ素溶液 (和光純薬工業(株)製, 容量分析用) 15 mL を加え, 次いで塩酸 2 mL を加えて, 直ちに 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 (和光純薬工業(株)製, 容量分析用) で滴定した²⁾. 滴定に用いた 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクターを f , 滴定数を a mL, 空試験の滴定数を b mL としたとき, この NaHSO₃ の SO₂ としての力価は, $[3.2 \times f \times (b - a) \times 10 / w / 1,000]$ である. すなわちこの NaHSO₃ 1 mg は (力価) mg の SO₂ を含んでいる.

次にこの標定した NaHSO₃ (100/力価) mg (SO₂ として 100 mg) を正確に量り, 1% TEA 溶液に溶かして 100 mL とし, 更に, 同溶液で速やかに 10 倍希釈したもの (SO₂ 標準原液) とした. この溶液 1 mL は 100 μ g の SO₂ を含み, 冷蔵遮光で 3 か月間保存可能であった. また, NaHSO₃ の力価は, 1 年間有効である. 標準溶液は, 用時 SO₂ 標準原液を 1% TEA 溶液で適宜希釈して用いた.

4. 装置

高速液体クロマトグラフ: (1) 日本分光(株)製ガリバー 900 型シリーズ (紫外吸収検出器 -UV970) 及び(株)島津製作所製データ処理装置 C-R5A により構成, (2) 日本分光(株)製ガリバー 1500 型シリーズ (フォトダイオードアレイ検出器 -MD1515) 及びデータ処理システム JASCO-BORWIN により構成する 2 システムを使用した.

イオンクロマトグラフ: DIONEX 社製 DX-500 シリーズ

通気蒸留装置: 衛生試験法・注解²⁾ の二重冷却管付通気蒸留装置を用いた. SO₂ の捕集には 25 mL 試験管 (内径 20 mm), 通気には窒素ガス, 加熱には電気バーナーを用いた (ドイツ Hofmann 社製, BurnerS). 電気バーナーと蒸留フラスコの距離は 6 cm とした. なお, 蒸留ガス吹出し管の内径は, 柴田ら⁵⁾ に従い 1.0 mm 以内のものを用いた.

5. HPLC 条件

分析カラム: IonPac AS9-SC (4 mm i.d. $\times$ 250 mm), ガードカラム: IonPac AG9-SC (4 mm i.d. $\times$ 50 mm) (以上 DIONEX 社製), 移動相: 1.8 mmol/L 炭酸ナトリウム-1.7 mmol/L 炭酸水素ナトリウム水溶液, カラム温度: 40°C, 流速: 1.0~1.5 mL/min, 検出波長: 240 nm, 注入力: 50 μ L

6. 試験溶液の調製

通気蒸留装置を用い, あらかじめ窒素ガスを 5 分間通

気した後, 捕集液 10 mL を捕集用試験管に入れ, 装置に取り付けた. 次に液体試料はそのまま, 固形試料は細切し, その 1~10 g を通気用フラスコに量り採り, エタノール 1 mL, シリコン樹脂 2 滴を加え, 液量を適宜水で調整し, 25% リン酸 10 mL を加えて直ちに通気装置にセットし, 窒素ガスを 800 mL/min の流速で通気しながら, 電気バーナーで 15 分間加熱した. 捕集用試験管を装置から取り外し, 捕集液量を一定量とし HPLC 用試験溶液とした. なお, SO₂ を高濃度 (1.0 g/kg 以上) に含む食品の場合は捕集液を 20 mL としたが, なおも高濃度の場合は速やかに 1% TEA 溶液で希釈した.

7. 定 量

SO₂ 標準溶液及び HPLC 用試験溶液を 0.45 μ m のフィルターでろ過し, その 50 μ L を HPLC 装置に注入し, あらかじめ作成した 1~100 μ g/mL の SO₂ 標準溶液の検量線から試験溶液中の SO₂ 濃度を求めた.

8. 通気蒸留-アルカリ滴定法及び比色法

HPLC と同様の通気蒸留装置を用いて, 衛生試験法・注解²⁾ に準じた. なお, 比色法の捕集液には, 1% TEA 溶液を用いた.

結果及び考察

1. SO₂ 標準溶液の調製

試薬特級の NaHSO₃ はピロ亜硫酸ナトリウムを含む場合があることから, 正確に SO₂ としての含量を試薬瓶ごとに求める必要がある. 衛生試験法の SO₂ 標準溶液は, 用時 NaHSO₃ をヨウ素滴定で標定するか²⁾, NaHSO₃ の純度を 100% として計算し, SO₂ としての含量を求めて調製している^{3), 4)}. 前者は用時煩雑な標定を行わなければならない, 後者は前述したように NaHSO₃ の純度により定量誤差が生じるおそれがある. そこで, ヨウ素滴定による NaHSO₃ の標定を従来どおり行い, NaHSO₃ の SO₂ としての含量を求め, 力価として数値化しその安定性を調べた. 12 か月間経時的に標定を行ったところ, その含量誤差は $\pm 0.25\%$ 以内とほぼ滴定の誤差範囲内であり, 力価は安定であることが分かった. したがって, NaHSO₃ 購入時に SO₂ としての力価を求め, 1 年間はその力価を用いることにした. また, 標準溶液は力価の明らかな NaHSO₃ を正確に量り採り, 1% TEA 溶液で調製することにした.

2. TEA 溶液中の亜硫酸イオンの安定性

徳田ら⁶⁾ は, 空気試験法の二酸化硫黄の吸収液として TEA 溶液を用い, その安定性は TEA が二酸化硫黄の捕集能力を持つ塩基性の基と, 生成した亜硫酸イオンの安定化に役立つアルコール性水酸基の両方を 1 分子中に有することに基因すると推定している. 宮本ら⁷⁾, 天川ら⁸⁾ は, 食品中の微量の SO₂ を定量する比色法の捕集液として 1% TEA 溶液を用いている. そこで, 著者らも本法及び比色法の捕集液並びに標準溶液の溶媒には 1% TEA 溶液を使用することとし, 本溶液中における亜硫酸イオンの安

定性について検討した。

SO₂ 1,000 µg/mL を含む 1% TEA 溶液は pH 8.8, これを同溶液で 10 倍希釈した溶液の pH は 9.5 であった。亜硫酸イオンはアルカリ溶液中の方が安定であることから, NaHSO₃ から SO₂ 1,000 µg/mL の 1% TEA 溶液を調製し, 速やかに同溶液で 10 倍希釈し, これを SO₂ 標準原液として用いることにした (この溶液 1 mL は SO₂ 100 µg を含む)。

次に, この SO₂ 標準原液を遮光瓶中で 5℃ の冷蔵庫に保存した際の経時変化を調べた。調製直後の標準原液と経時的に保存したものについて HPLC で測定し, ピーク面積を比較したところ, 110 日間でも ±1.7% 以内の変動であった。この結果から, SO₂ 標準原液は, 3 か月間保存可能であることが分かった。捕集液については, SO₂ を低濃度に含む食品の代表としてワインビネガー, 高濃度に含む食品の代表として乾燥あんずを用い, それぞれ通気蒸留して得た捕集液を HPLC 用試料瓶に分注し, 5℃ に冷蔵保存して 1 時間ごとに HPLC により測定を行い, ピーク面積を比較して経時変化を調べた。ワインビネガー (38 µg/mL) では 5 時間後でも安定であったのに対し, 乾燥あんず (捕集直後 1% TEA で希釈, 60 µg/mL として測定) では 3 時間以後で若干の減少が見られたが, それ以内では 3% 程度の減少であった。HPLC の測定は 15 分程度の時間を要することから, 通気蒸留後速やかに 1% TEA 溶液で希釈し直ちに測定を行えば, 高濃度の SO₂ を含有する食品でも定量できるものと考えられる。

3. 通気蒸留条件の検討

通気蒸留の加熱には, これまでマイクロバーナー^{2)~4)} か水浴^{7), 8)} が用いられていたが, ミクロバーナーは火力の調整の難しさや, 実験室内でのガスの使用は引火などの危険を伴う。また, 水浴では加熱に時間を要することや, 試料の加熱状態が観察にくいなどの欠点がある。そこで, 著者らはこれらの欠点を補う火力が安定で安全な電気バーナーを用いることにして, これを使用した際の窒素ガスの通気量, 通気 (加熱) 時間について再検討を行った。

SO₂ 1,000 µg を含む標準溶液及びワインビネガーに窒素ガスを毎分 500~1,000 mL まで 15 分間流したときの回収量を調べた。標準溶液は, 通気量 600~1,000 mL/min でほぼ 100% 回収することができた。一方, ワインビネガーは 700~1,000 mL/min の通気で, HPLC のピーク面積がほぼ一定値であったことから, 窒素ガス通気量を 800 mL/min とした。

次に, 標準溶液とワインビネガー及び乾燥あんずを用い, 毎分 800 mL の窒素ガスを通気して, 5~20 分までの通気時間による回収量を調べた。Fig. 1 に示したように標準溶液は 5 分, ワインビネガーは 10 分, 乾燥あんずは 15 分間の通気で一定となり, 20 分後も変化がなかったことから, 15 分ではほぼすべて回収できたものと考えられ, 通気時間は 15 分とした。

Fig. 1. Effect of bubbling time on the recovery of sulfite (N₂ flow rate: 800 mL/min)
 —○— sulfite standard solution
 —▲— sample solution: dried apricot
 —■— sample solution: wine vinegar

Fig. 2. UV absorption spectra of sulfite ion in 3 kinds of solutions (100 µg/mL as SO₂)
 A: water; B: mobile phase of HPLC
 C: 1% triethanolamine solution

4. HPLC 条件及び妨害イオンの検討

無機陰イオンの多くは, 電気伝導度検出器を備えたイオンクロマトグラフ (IC) により分析されているが, 亜硫酸イオンは紫外外部領域に吸収があることから, UV 検出器で測定できるものと考えられた。そこで, IC で用いているカラム及び移動相を, 測定機器として汎用性の高い UV 検出器付 HPLC 装置に適用することにし, 測定波長について検討した。

水, HPLC 移動相, 1% TEA 溶液中の亜硫酸イオンの各 UV 吸収スペクトルを Fig. 2 に示した。これら 3 溶液中の亜硫酸イオンを電気伝導度検出器を備えた IC で分析したところ, 保持時間, ピーク形状, 検出感度ともほぼ同じであった。この結果から, いずれの溶液中であっても, カラムには亜硫酸イオンとして保持されていると考えられる。また, IC と同様の条件で, フォトダイオードアレイ検出器を備えた HPLC 装置で亜硫酸イオンピークを確認したところ, Fig. 2 の HPLC 移動相中の UV 吸収スペクトルと一致した。したがって, 測定可能な波長域は 200~240 nm である。

一方, 使用したカラムが陰イオン交換カラムであることから, 食品に含まれる有機酸や硝酸, 亜硝酸イオンなどの UV 吸収を持つ陰イオンが分析の妨害となる可能性が考えられた。そこで, 食品に含まれる可能性のある有機酸の UV 吸収スペクトル (Fig. 3) を調べるとともに, これらの

Fig. 3. UV spectra of 7 kinds of organic acids

A: acetic acid; B: succinic acid; C: malic acid; D: citric acid; E: lactic acid; F: tartaric acid; G: oxalic acid (each 1,000 $\mu\text{g/mL}$ in water)

Fig. 4. HPLC chromatograms of sulfite (20 $\mu\text{g/mL}$ as SO_2), nitrite ion (2.5 $\mu\text{g/mL}$), nitrate ion (10 $\mu\text{g/mL}$) and 7 kinds of organic acids (shown in the legend of Fig. 3, each 100 $\mu\text{g/mL}$) detected at UV 210 nm (A) and 240 nm (B)
M: malic acid; T: tartaric acid; O: oxalic acid

有機酸及び硝酸、亜硝酸をHPLCにより測定波長 210 nm 及び 240 nm で分析した。その結果は、Fig. 4 に示したように硝酸、亜硝酸イオンは亜硫酸イオンと良く分離し、また、いずれの波長においても酢酸、クエン酸、乳酸は検出されず、これらが分析の妨害とはならないことが確認された。しかし、Fig. 4A に示したように、測定波長 210 nm では、リンゴ酸、酒石酸が亜硫酸イオンのピーク前後に近接し、シュウ酸が 16 分、コハク酸が 24 分と遅れて溶出され、特にリンゴ酸、酒石酸のピークが亜硫酸イオンの妨害となることが分かった。これらは移動相を変更しても亜硫酸イオンと挙動が同じで、完全に分離することができなかった。

多くの有機酸は、Fig. 3 に示したように 210 nm 付近に極大吸収を持つことから、HPLC の測定波長を 240 nm として分析したところ、Fig. 4B に示したようにリンゴ酸、酒石酸は検出されず、シュウ酸、コハク酸がわずかに検出された。これら 4 種の有機酸各 1 g ずつを通気蒸留し、それぞれの捕集液を HPLC により測定波長 240 nm で分析したところ、すべて検出されなかった。また、240 nm においても SO_2 は 1 $\mu\text{g/mL}$ まで検出可能であった。

Fig. 5. HPLC chromatogram of sulfite standard solution (20 $\mu\text{g/mL}$ as SO_2)

Table 1. Recoveries of Sulfite Added to 3 Kinds of Foods

Sample	Sampling weight	Added	Found	Recovery	CV
	Absorbent volume	SO_2 (μg)	SO_2 (μg)	(%)	(%)
Wine	10 g	0	78		4.9
vinegar	10 mL	300	377	99.6	0.9
		1,000	1,060	98.2	0.2
White	5 g	0	1,092		1.6
wine	10 mL	2,500	3,562	98.8	1.0
		5,000	6,072	99.6	1.5
Dried	2 g	0	4,234		3.4
apricot	20 mL	4,000	8,265	100	2.6
		8,000	12,426	102	0.1

$n=3$

Values are average of 3 determinations.

以上の結果から、妨害となる有機酸は前処理の蒸留操作で捕集液に移行する可能性は低いと考えられるが、食品が大量の有機酸を含む場合、捕集液に混入することが懸念されるため、これらによる影響を完全に除去するために、測定波長は 240 nm で分析を行うことにした。

なお、比色法では、亜硝酸が発色の妨害となるが、本法では妨害とはならないことから、アジ化ナトリウムを使用する必要がなかった。また、比色法では低級アルデヒドも通気蒸留で蒸留されやすく、定量の妨害となっている。そこで、本法における妨害の有無を調べるためにホルムアルデヒド、アセトアルデヒド各 3.5 mg をあらかじめ捕集液に加えておき SO_2 の添加回収実験を行ったが、HPLC 上でこれらのアルデヒドのピークは検出されず、回収率も良好であった。したがって、比色法で用いるジメドンも、本法では使用する必要がなかった。

作成した条件で分析した SO_2 標準溶液の HPLC クロマトグラムを Fig. 5 に示した。なお本条件における検量線は、1~100 $\mu\text{g/mL}$ の広い範囲で直線性を示した。

5. 添加回収率

ワインビネガー、白ワイン、乾燥あんずの 3 種類の食品を用い、添加量を 2 段階にして本法に従い回収実験を行った。Table 1 に示したように、回収率は 98~102%、変動係数 (CV) は 0.1~4.9% といずれも良好であった。食品衛生法における SO_2 の残存量は、食品の種類により

Table 2. Comparison of Sulfite Values in Foods Determined by HPLC Method, Alkaline Titration Method and Colorimetric Method

Food	Determined SO ₂ (g/kg)		
	HPLC method	Alkaline titration method	Colorimetric method
Kanpyo	1.230	1.340	
Dried fruit			
Apricot 1	2.100	2.130	
Apricot 2	1.950	1.900	
Mango	0.120	0.110	
Pineapple	0.098	0.087	
Chinese matrimony vine	9.340	10.600	
Fruit liquor			
White wine 1	0.070	0.075	
White wine 2	0.116	0.120	
White wine 3	0.096	0.096	
Red wine 1	0.088	0.091	
Red wine 2	0.038	0.038	
Cooked beans			
Cooked beans 1	0.075	0.075	
Cooked beans 2	0.017	0.020	
Other foods			
Candy	0.013	0.014	
Biscuit	0.015	0.018	
Boiled lotus root 1	0.036	0.035	
Boiled lotus root 2	0.025	0.024	
Boiled bamboo shoot	0.027	0.026	
Chestnut boiled with sugar	0.049	0.051	
Apricot boiled with sugar	0.610	0.610	
Cornstarch	0.019	0.019	
Takana-zuke 1	0.011	0.011	
Takana-zuke 2	0.050	0.053	
Cooked Japanese butterbur	0.050	0.050	
Harusame	0.031	0.033	
Wine vinegar 1	0.056		0.056
Wine vinegar 2	0.051		0.051
Wine vinegar 3	0.073		0.073
Wine vinegar 4	0.035		0.035
Wine vinegar 5	0.012		0.011
Balsamic vinegar 1	0.015		0.014
Balsamic vinegar 2	0.013		0.013
Balsamic vinegar 3	0.024		0.023
Balsamic vinegar 4	0.028		0.027
Balsamic vinegar 5	0.010		0.010

0.030~5.0 g/kg と広く設定されている。本法の HPLC による検量線は直線性を示す範囲が広く、更に、試料の採取量及び捕集液量を適宜調整することにより、ほぼすべての食品中の残留亜硫酸の定量が可能であった。なお、本法による定量限界は、0.001 g/kg (SO₂ として) であった。

6. アルカリ滴定法及び比色法との比較

各種市販食品 20 種類 35 検体を用いて、本法とアルカリ滴定法、比色法との比較を行った。Table 2 に示したように、かんぴょうと乾燥果実の一部は、検体そのもののばらつきが原因と考えられる若干の差が見られたが、他の食品の測定値はアルカリ滴定法、比色法とも良く一致した。

ま と め

通気蒸留装置を用いて捕集した亜硫酸イオンを UV 検出器付 HPLC 装置により測定する食品中の残留亜硫酸の

分析法について検討した。電気バーナーによる 15 分間の通気蒸留を行い、捕集液に 1% TEA 溶液を用い、捕集した亜硫酸イオンを HPLC で測定した。HPLC のカラムには、陰イオン交換カラムの IonPac AS9-SC、移動相には 1.8 mmol/L 炭酸ナトリウム-1.7 mmol/L 炭酸水素ナトリウム水溶液を用いて、測定波長 240 nm で定量した。酢酸などの有機酸は、分析の妨害とはならなかった。SO₂ 標準溶液は、1% TEA 溶液を用いて調製することで、冷蔵遮光で 3 か月間保存することが可能となった。本法による添加回収試験の結果は、回収率 98~102% と良好であった。また、20 種類 35 検体の食品に適用し、アルカリ滴定法、比色法と比較検討したところ、ほぼ類似の結果が得られ、ほとんどすべての食品に適用することができた。なお、本法の定量限界は 0.001 g/kg (SO₂ として) であった。

本法は、比色法で用いる毒物のアジ化ナトリウムを使用する必要がなく、ジメドンも不要である。また、SO₂ 標準溶液の保存期間も長くなり、毎回標定する必要がないことから、試薬の調製が簡便である。機器も汎用性の高いUV 検出器付 HPLC 装置を用いることから実用性が高く、行政試験にも十分使用できる方法であると考えられる。

文 献

- 1) Federal Register 51 (131) (1986).
- 2) Pharmaceutical Society of Japan ed., "Eisei Shikenhouchukai (Methods of analysis in health science) 1990", Tokyo, Kanehara Shuppan, 1995, p. 75-77, p. 474-478, p. 1,355-1,357. (ISBN 4-307-47031-1)
- 3) Pharmaceutical Society of Japan ed., "Eisei Shikenhouchukai (Methods of analysis in health science) 2000", Tokyo, Kanehara Shuppan, 2000, p. 304-308. (ISBN 4-307-47033-8)
- 4) Environmental Health Bureau, Ministry of Health and Welfare, "Shokuhin Eisei Kensa Shishin", Japan Food Hygiene Association, 1989, p. 82-88.
- 5) Shibata, T., Tsuji, S., Ito, Y., Miura, K., Obara, K., Adachi, T., Giga, T., Hamano, T., Mitsunashi, Y., Aoki, N., Yamamoto, S., Mizuno, T., Iwaida, M., Tezuka, Y., Improvement of colorimetric microdetermination of sulfites in various foods by using the modified Rankine apparatus. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **31**, 57-66 (1990).
- 6) Tokuda, M., Hirai, K., Fukui, S., Kanno, S., Hygienic chemical studies on the air pollutants. I. Determination of sulfur dioxide in air by the use of triethanolamine solution as an absorbent. *Eisei Kagaku (J. Toxicol. Environ. Health)*, **24**, 213-218 (1978).
- 7) Miyamoto, F., Saeki, M., Microdetermination of sulfur dioxide in foods by colorimetry after separation with bubbling. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **31**, 739-745 (1984).
- 8) Amakawa, E., Ohishi, M., Ogiwara, T., Saito, K., Fujii, T., Tamura, Y., Maki, T., Analysis of sulfite residues in frozen prawns and shrimps. Tokyo Eiken Nenpo (Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P. H.), **48**, 194-200 (1997).