ヘッドスペース法を用いる食品中の残留塩素の定量

(昭和 60 年 4 月 19 日受理)

日高利夫* 田中康夫* 中村香代子*
宝井辰紀* 桐ヶ谷忠司* 上條昌弥*
鈴木幸夫* 河村太郎*

Determination of Residual Chlorine in Foods by Head Space Gas Chromatography

Toshio HIDAKA, Yasuo TANAKA, Kayoko NAKAMURA, Tatsutoshi TAKARAI,
Tadashi KIRIGAYA, Masaya KAMIJO, Yukio SUZUKI and Taro KAWAMURA

(Yokohama City Institute of Health: 1-2-17, Takigashira,
Isogo-ku, Yokohama, Japan)

An analytical method was developed for quantitative determination of residual chlorine in foods using head space gas chromatography.

The principles of the proposed method are as follows. Phosphate buffer solution of pH 7.0 and potassium cyanide solution were placed in a vessel for head space analysis, a sample was added, and the resultant mixture was left standing in the vessel (covered with a lid) for 30 minutes. Cyanogen chloride formed therein was determined by ECD-GC. The values of residual chlorine in tap water measured by the present method were compared with those obtained by the *o*-tolidine colorimetric method. The respective values were quite consistent. The determination limit was 0.1 $\mu\text{g/g}$.

Analysis of 67 specimens of vegetables and processed fish and shellfish products available in the market revealed 14.0 $\mu\text{g/g}$ and 11.6 $\mu\text{g/g}$ of residual chlorine in two specimens of soybean sprouts.

(Received April 19, 1985)

Key words: ヘッドスペース法 head space method; ガスクロマトグラフィー (ECD) gas chromatography (ECD); 残留塩素 (食品中) residual chlorine (in foods); 塩化シアン cyanogen chloride

まえがき

次亜塩素酸, 次亜塩素酸ナトリウム, サラン粉及び高度サラン粉は魚介類加工品, 野菜類の漂白, 殺菌, さらには食品製造加工に使用する装置, 器具などの殺菌, 消毒に使用されている. ところが, これらに由来する食品中の残留塩素の定量法については報告が見当たらない.

従来より用いられている残留塩素の定量法として, ヨウ素滴定法¹⁾及び*o*-トリジンによる比色法²⁾があるが, これらの方法は検出感度並びに妨害物質による影響などの点で食品中の残留塩素の定量法として適当でない.

そこで, 著者らは残留塩素を密封容器内でシアンと反応させ, ここに生成する塩化シアンを電子捕獲型検出器付きガスクロクトグラフ (ECD-GC) により定量する方法について検討し, 市販食品に応用したところ, 良好な結果を得ることができたので報告する.

実験方法

1. 試料

昭和56年2月に横浜市内で市販された野菜類, 魚介類加工品, 魚肉ねり製品など Table 2 に示した 67 検体を用いた.

* 横浜市衛生研究所: 横浜市磯子区滝頭 1-2-17

Fig. 1. Head space analysis vessel
Sample size: 2.0 g of food
Vessel volume: 200 ml

2. 試 薬

- 1) 水: イオン交換水を用いた。
- 2) シアン化カリウム溶液: シアン化カリウム 0.10 g に水を加えて 1,000 ml として用いた。
- 3) pH 1.0 ~ 12.0 緩衝液: Merck 社製濃縮緩衝液 (Puffer-Titrisol®) pH 1.0 ~ 12.0 のそれぞれを水で 500 ml に希釈して用いた。

リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) の組成はリン酸一カリウム 3.522 g 及びリン酸二ナトリウム (2 水塩) 7.265 g を水に溶かして 1,000 ml としたものである。

- 4) 塩素標準液: あらかじめヨウ素滴定法¹⁾で定量した次亜塩素酸ナトリウム液 (2.65% 含有) 1.0 ml をメスフラスコにとり、水を加えて正確に 100 ml として標準原液とした。用時、標準原液 5.0 ml を正確にメスフラスコにとり、水を加えて全量を 50 ml として塩素標準液とした。本液 1 ml は有効塩素 26.5 μ g を含有する。

以上、シアン化カリウムは和光純薬工業(株)製、試薬特級を、また、次亜塩素酸ナトリウム液は同じく食品添加物用を用いた。

3. 装置及び測定条件

- 1) ヘッドスペース用フラスコ: 200 ml の共通摺合せ三角フラスコ及びこの栓として共通摺合せ連結管の上部を切断してシリコンゴム (ガスクロマトグラフの注入

口用のもの) を付したものをを用いた。 (Fig. 1)

- 2) ガスクロマトグラフ (GC): (株) 島津製作所製 GC-6 A (検出器 ECD ^{63}Ni 10 mCi)

充てん剤: TENAX-GC

カラム管: 3 mm ϕ $\times$ 1 m ガラス製

カラム温度: 80°

注入口温度: 150°

キャリアーガス: N_2 20 ml/min

- 3) ガスクロマト質量分析計 (GC-MS) 及びデータ処理装置: (株) 日立製作所製 M-80 型及び M-003 型

充てん剤: TENAX-GC

カラム管: 3 mm ϕ $\times$ 1 m ガラス製

カラム温度: 80°

注入口温度: 150°

セパレーター温度: 280°

イオン源温度: 180°

イオン化電圧: 20 eV

イオン電流: 100 μ A

キャリアーガス: He 20 ml/min

以上、ヘッドスペース用フラスコ及び GC 条件は衛生試験法のヘッドスペース法による塩化シアン³⁾に準じた。

なお、ガラス器具及びその他の器具類は水道水由来の残留塩素による影響を防ぐため、十分水で洗浄後、乾燥したものをを用いた。

4. 試料の調製及び定量操作

- 1) 試料の調製

検体より一部分を切りとり、細切あるいは粉碎することを極力させて試料とした。

- 2) 定量操作

あらかじめ、リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) 20 ml 及びシアン化カリウム溶液 1.0 ml を入れたヘッドスペース用フラスコに、切りとった試料 2.0 g を加えた後、ただちに栓をして30分間放置する。このヘッドスペース用フラスコ中のガス 10 μ l をガスタイトシリンジを用いて ECD-GC に注入し、同時に作成した検量線から食品中の残留塩素を定量した。

Scheme 1. Analytical procedure for residual chlorine in foods

Fig. 2. Gas chromatogram (ECD) of the reaction product

Conditions, column: TENAX-GC (60~80 mesh), 3 mm ϕ $\times$ 1 m; column temp.: 80°C; det. temp.: 150°C; inj. temp.: 150°C; carrier gas: N₂ 20 ml/min
Chlorine: 5.3 μ g/vessel

3) 検量線の作成

塩素標準液 0.5 ml, 1.0 ml, 2.0 ml 及び 3.0 ml を正確にメスフラスコにとり、それぞれに水を加えて全量を 20 ml とする。この 2.0 ml をそれぞれ試料の場合と同様に操作して、ピーク高さにより検量線を作成した。

試験操作の概略を Scheme 1 に示した。

実験結果及び考察

1. 反応生成物の GC と同定

塩素 5.3 μ g 相当量から得られた試験ガス中の反応生成物のガスクロマトグラムを Fig. 2 に示した。ガスクロマトグラム上には反応生成物の単一ピークが保持時間、約 2 分後に認められた。

また、この反応生成物を同定するため、試験ガスを GC-MS に供し、得られたピークのマスペクトルを測定したところ、Fig. 3 に示すような結果が得られた。マスペクトル上には塩化シアン分子イオン及びその同位体として m/z 61, m/z 63 のピーク、さらにフラグメントイオンとしてシアン分子の m/z 26, 塩素及びその同位体の m/z 35, m/z 37 のピークが認められ、反応生成物は塩化シアンと同定された。

2. 試料の調製方法の検討

食品中の残留塩素は試料調製の際、食品成分と反応する可能性がある。そこで試料の調製方法について検討を行った。

検討に当たっては、あらかじめ 20 ppm の次亜塩素酸ナトリウム液 3.5 L でキャベツ及びもやしを 10 分間浸漬し、次にこのキャベツ及びもやしより、それぞれ原形のままの試料、約 5 mm 幅に細切した試料、すりばちで潰した試料を調製した。そして、ここに得た 6 種類の試料のそれぞれについて、Scheme 1 に示した操作を 10 回ずつ行い残留塩素量を測定した。この結果は Table 1 に示すように、キャベツの平均残留塩素量は原形のままの試料で 0.8 ppm、細切した試料で 0.2 ppm の値を示し、潰した試料では定量限界以下であった。また、もやしの平均残留塩素量は原形のままの試料で、10.4 ppm、細切した試料で 3.1 ppm、潰した試料では 1.0 ppm の値を示した。

以上の結果は、食品を細切あるいは潰すほど残留塩素が分解することを示唆しており、試料の調製の際にはこの点を十分留意する必要がある。そこで、試料の調製方法としては、検体より一部分を切りとり、細切あるいは粉砕することを極力させて試料とした。

3. 定量操作の検討

塩化シアンを生成する操作手順として、ヘッドスペース用フラスコに残留塩素を含む試料及びリン酸塩緩衝液を入れ、これにシアン化カリウム溶液を加えた場合、塩

Fig. 3. Mass spectrum of the reaction product (cyanogen chloride)

Conditions, column: TENAX-GC (60~80 mesh), 3 mm ϕ $\times$ 1 m; column temp.: 80°C; inj. temp.: 150°C; separator temp.: 280°C; ion source temp.: 180°C; electron energy: 20 eV; ion current: 100 μ A; carrier gas: He 20 ml/min

Table 1. Results of Comparative Analyses of Residual Chlorine in Samples Prepared by Three Different Ways

Samples ^{a)}	Residual chlorine ^{b)} (ppm)
Cut cabbage leaves	0.8
Chopped cabbage leaves	0.2
Crushed cabbage leaves	ND
Cut soybean sprouts	10.4
Chopped soybean sprouts	3.1
Crushed soybean sprouts	1.0

^{a)} These samples were previously soaked in 3.5 L of NaClO 20 ppm solution for 10 minutes.

^{b)} These values were averages of 10 experiments.

ND: not detected

化シアンの生成が抑制された。これは試料にリン酸塩緩衝液を加える際、残留塩素が食品成分と反応するためと考えられた。そこで、ヘッドスペース用フラスコにリン酸塩緩衝液及びシアン化カリウム溶液を入れ、最後に試

料を加えることとした。

4. 塩化シアンの生成と pH の関係

pH 1.0~12.0 の緩衝液 20 ml を入れたそれぞれのヘッドスペース用フラスコに、シアン化カリウム溶液 1.0 ml 及び塩素 8 μ g 相当量を加え、0.5, 1.5, 4.5 及び 22.0 時間後に測定した結果を Fig. 4 に示した。30 分後には、pH 5.0~9.0 の範囲の緩衝液で塩化シアンが良好に生成した。また、経時変化についてみると、pH 7.0 及び pH 8.0 の緩衝液は 4 時間 30 分後まで塩化シアンの変化がほとんど認められず、安定であった。

5. 塩化シアンの生成とシアン化カリウム量

塩素とシアンはモル比 1:1 で反応し、塩素 8 μ g に対応するシアン化カリウム量は 15.1 μ g である。しかし、塩化シアンが短時間で十分生成するためには、過剰のシアン化カリウムを加えるほうがよい。そこで、30 分後に生成する塩化シアンとそれに要するシアン化カリウム量との関係を、塩素 8 μ g を用いて調べ、Fig. 5 に示した。その結果、シアン化カリウム量は pH 7.0 の緩衝液で 50 μ g 以上、pH 8.0 の緩衝液で 100 μ g 以上存在すれば、30 分後に塩化シアンが十分生成することがわかった。

Fig. 4. Formation and stability of cyanogen chloride at different pH values
●: 0.5 hr; ×: 1.5 hr; ○: 4.5 hr; ▲: 22.0 hr; chlorine: 8 μ g/vessel

Fig. 5. Effect of potassium cyanide concentration on cyanogen chloride formation
Chlorine: 8 μ g/vessel

Fig. 6. Calibration curve of chlorine

Fig. 7. Relationship of residual chlorine in tap water determined by colorimetric and proposed GC method

Table 2. Analytical Results of Residual Chlorine in Foods

Samples	Number of samples	Number of detected	Residual chlorine (µg/g)
Vegetables			
Lettuce	2	0	ND
Cabbage	3	0	ND
Soybean sprouts	10	2	14.0, 11.6
Other vegetables	8	0	ND
Fungi			
<i>Flammulina velutipes</i> (Enokidake)	2	0	ND
<i>Tricholoma shimeji</i> (Shimeji)	1	0	ND
<i>Pholiota nameko</i> (Nameko)	1	0	ND
Seaweeds			
<i>Nemacystus decipiens</i> (Mozuku)	1	0	ND
<i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame)	1	0	ND
Processed fishes and shellfishes			
Jellyfish	3	0	ND
Herring roe	3	0	ND
Squid	3	0	ND
Abalone	1	0	ND
Fish paste products			
Kamaboko	25	0	ND
Naruto	3	0	ND
Total	67	2	

ND: not detected

これらのことより、緩衝液にはシアン化カリウム量が少量でよい pH 7.0 のリン酸塩緩衝液を用いることとし、また、使用するシアン化カリウム量は試料中の残留塩素の多い場合を考慮して 100 μg とした。

6. 検量線

検量線は Fig. 6 に示したように、原点を通るがわずかに曲線となった。

7. 比色法との比較

食品中の残留塩素を比色法²⁾により測定したところ、比色法では抽出操作の際に残留塩素が食品成分と反応するため、正確な定量値を得ることが困難であった。そこで今回は、水道水18検体について本法と比色法により残留塩素を定量し、両方法を比較した。この結果は Fig. 7 に示すように、両方法による定量値は良く一致した。

なお、水道水 2 g を用いた場合の本法による残留塩素の定量限界は 0.1 $\mu\text{g/g}$ であった。

8. 市販食品中の残留塩素の定量

本法を用いて、市販の野菜類及び魚介類加工品など67検体について残留塩素を定量した。この結果は Table 2 に示すように、もやしの2検体より残留塩素がそれぞれ 14.0 $\mu\text{g/g}$ 及び 11.6 $\mu\text{g/g}$ 検出された。しかし、その他の製品から残留塩素は検出されなかった。特に、魚介類加工品及び魚肉ねり製品に合成殺菌剤（次亜塩素酸ナトリウム）使用という表示のなされていた製品が2、3みられたが、これらの製品からも残留塩素は検出されなかった。

なお、検査を行った市販品については、塩化シアンのピークを妨害する物質並びに類似ピークの出現する物質は認められなかった。

ま と め

次亜塩素酸、次亜塩素酸ナトリウム、サラン粉及び高

度サラン粉に由来する食品中の残留塩素を定量する目的で、ヘッドスペース法による分析法の検討を行った。

1) 残留塩素とシアン化カリウムから生成する物質は GC-MS により塩化シアンと同定された。

2) 試料の調製方法として、検体より一部分を切りとる方法を行った結果、調製の際の残留塩素の損失を少なくすることができた。

3) 定量操作及び条件を検討した結果、pH 7.0 のリン酸塩緩衝液 20 ml 及びシアン化カリウム溶液 1.0 ml をヘッドスペース用フラスコに入れ、最後に試料を加える方法が塩化シアン生成の最適条件であった。

4) 本法による水道水を試料とした定量値は、*o*-トリジンによる比色法の値と良く一致し、定量限界は 0.1 $\mu\text{g/g}$ であった。

5) 本法を用いて、市販の野菜類及び魚介類加工品など67検体について分析した結果、もやし2検体より 14.0 $\mu\text{g/g}$ 及び 11.6 $\mu\text{g/g}$ の残留塩素が検出された。

以上の結果、本法は食品中の残留塩素の定量法として十分適用できると思われる。

本調査研究の一部は、昭和55年度厚生省食品添加物標準分析法試験調査委託費により行った。

文 献

- 1) 食品添加物公定書注解編集委員会編：“第三版食品添加物公定書注解” p. 356~358 (1974) 金原出版。
- 2) 日本薬学会編：“衛生試験法・注解” p. 746~748 (1980) 金原出版。
- 3) 日本薬学会編：同上。p. 446 ~ 452 (1980) 金原出版。