乾しいたけ中の亜硫酸含有量の実態調査

(昭和62年8月24日受理)

津村 明宏* 平松 絹子*
大西 ミヤ子* 高橋 鼎*

Content of Sulfur Dioxide in Dried Shiitake (*Lentinus edodes*)

Akihiro TSUMURA, Kinuko HIRAMATSU, Miyako OHNISHI and Kanae TAKAHASHI

(Kobe Agricultural and Forestry Products Inspection Institute:
1-4, Onohama-cho, Chuo-ku, Kobe, Japan)

Key words: 亜硫酸 sulfur dioxide; レンチオニン lenthionine; 改良ランキン法 modified Ran-kine method; 乾しいたけ dried shiitake

はじめに

亜硫酸及びその塩類は食品の漂白、保存、酸化防止などの目的で広く食品に使用され、その使用基準は 0.03 g/kg から 5 g/kg 以下まで9段階に分けて規制されている。

最近、米国で亜硫酸がぜん息発作のイニシエーターとして作用していることが判明し、昭和61年7月、FDAは二酸化イオウ(SO₂)として10 ppm以上含有する食品についてその表示を義務付けた¹⁾。この措置がとられた後、日本の輸出乾しいたけから高濃度の亜硫酸が検出され問題となった。そのため国内に流通する乾しいたけ(*Lentinus edodes*)についても、亜硫酸の存在を調査し実態を把握しておくことが急務と思われる。

亜硫酸の定量法としてFDAではMonier-Williams法²⁾を採用しているが、分析に長時間を要し検出限界も10 µg程度である。このほか蒸留比色法³⁾、微量拡散法³⁾、改良ランキン法⁴⁾などがあるが、これらの方法の中では迅速性、再現性の点で改良ランキン法が優れていると考えられる。

そこで著者らは改良ランキン法により乾しいたけ中の亜硫酸のバックグラウンド調査を行い、併せて定量時における妨害物質の検討も行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

国内及び中国産の乾しいたけを対象としたが、それぞれの産地、銘柄のはっきりしたものを求めるため神戸市内のしいたけ問屋より購入した。

2. 試薬

1%アジ化ナトリウム溶液: アジ化ナトリウム(米山薬品工業(株)製)1gをとり水を加えて溶かし100 mlとした。

5%ジメドン-エタノール溶液: ジメドン(試薬特級、和光純薬工業(株)製)5gをとり、エタノールを加えて溶かし100 mlとした。

25%リン酸溶液: リン酸(試薬特級)100 mlに水240 mlを加えた。

シリコン樹脂: 食品添加物用シリコン樹脂KM-72(信越化学(株)製)を用いた。

発色液: 塩酸パラロザニン(試薬特級)40 mgを塩酸(試薬特級)20 mlに溶解し水を加え100 mlとし、0.2%ホルムアルデヒド溶液100 mlを混和した。

亜硫酸標準溶液: 亜硫酸水素ナトリウム(試薬特級)0.5 gをとり、水で溶解し100 mlとした。その10 mlをとり、常法⁵⁾に従って標定し、SO₂として300 µg/mlとなるように0.1N水酸化ナトリウムで希釈し用時調製した。

その他の試薬はすべて試薬特級を用い、水は用時蒸留水を煮沸し脱気したものを用いた。

3. 器具及び装置

亜硫酸定量装置: 改良ランキン法装置

分光光度計: (株)日立製作所製200-10型

4. 分析方法

1) 試験溶液の調製

ナシ型フラスコに0.1N水酸化ナトリウム溶液10 mlをとり定量装置に取り付ける。別に丸底フラスコに5%ジメドン-エタノール溶液1 ml、1%アジ化ナトリウム1 ml、水20 ml、エタノール2 ml及び25%リン酸10 ml

* 農林水産省神戸農林規格検査所: 神戸市中央区小野浜町1-4

をとりシリコン樹脂 2 滴を加え、装置に取り付け窒素を 500 ml/min の速度で 5 分間通気する。その後細切した試料 1 g を丸底フラスコに加え、窒素を通気しながら 20 分間マイクロバーナーで加熱し、発生した SO_2 を 0.1N 水酸化ナトリウム溶液に捕集し試験溶液とした。

2) 比色定量

試験溶液 5 ml をとり、発色液 1 ml を加えよく振り混ぜた後、室温で 35 分間放置したものについて波長 580 nm における吸光度を測定した。

また、亜硫酸標準溶液を 0.5~2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう 0.1N 水酸化ナトリウム溶液でそれぞれ希釈し、その各 5

Fig. 1. Effect of bubbling time and determination of sulfur dioxide in dried shiitake

●—● : Japanese dried shiitake (whole)
○—○ : Japanese dried shiitake (powder)
▲—▲ : Chinese dried shiitake (whole)

ml をとり、同様に発色させ検量線を作成し、試料中の亜硫酸含量を算出した。

なお、本法の検出限界は 2.5 ppm 以上の場合に信頼性があると報告されていること⁴⁾から 2.5 ppm 以下の測定値は検出しないこととした。

結果及び考察

1. 通気時間による測定値の影響

通気時間が測定値に与える影響を調べるため、3 種類の乾しいたけを用い通気時間を変え亜硫酸を測定した結果は Fig. 1 のとおりである。

各種乾しいたけ中の亜硫酸量は通気時間の経過と共に増加する傾向が見られ、特に中国産のものがその増加量は大きかった。従来の文献^{5), 6)}では食品からの亜硫酸の留出は 10~20 分でほぼ完了すると報告されていることから、少なくとも通気時間が 20 分以降に測定された亜硫酸は通気中に生成した亜硫酸もしくは妨害物質の影響と推測された。

2. 添加回収実験

次に亜硫酸の留出傾向を調べるために日本産乾しいたけに標準亜硫酸溶液を添加し、窒素の通気時間を変えたときの回収率を Table 1 に示した。標準溶液では通気時間 10 分でほぼ留出したが、試料では 30 分間通気しても回収率は低かった。

亜硫酸塩類を食品に添加した場合、食品中のアルデヒド、ケトン及び糖と結合し、結合型亜硫酸として食品中に存在することが知られている⁵⁾。このような結合型亜硫酸であっても通気時間 20 分までに亜硫酸の留出は完了することが報告されている⁶⁾。しかし本実験では 30 分通気しても十分な回収率が得られなかったことから、アルデヒドなどより結合力の強い成分が乾しいたけ中に存

Table 1. Recovery Test of Sulfur Dioxide

Sample	Added SO_2 (μg)	5*		10*	
		Found	Recovery	Found	Recovery
Standard	500	434	86.8 ± 2.5	494	98.8 ± 1.1
Dried shiitake	500	120	24.0 ± 3.1	226	45.2 ± 4.9
	20	2.4	12.0 ± 4.9	12.1	51.6 ± 7.6
	0	0	—	1.8	—

Sample	Added SO_2 (μg)	20*		30*	
		Found	Recovery	Found	Recovery
Standard	500	520	104.0 ± 2.7	519	103.9 ± 3.1
Dried shiitake	500	226	45.2 ± 4.9	316	63.2 ± 1.8
	20	17.6	61.5 ± 10.0	18.3	61.7 ± 6.5
	0	5.3	—	6.0	—

Each value was the mean of three trials.

* Bubbling time (min)

Table 2. Effect of Volatile Sulfur Compounds

Sulfur compound	Added (mg)	Found SO ₂ (ppm)
Hydrogen sulfide*	2.0	11.0
Hydrogen sulfide*	20.0	26.6
Carbon disulfide	0.5	0.0
Lenthionine	0.4	4.1
Lenthionine	2.0	6.9

* Iron(II) sulfide was used.

Table 3. Change of Sulfur Dioxide by Soaking in Water or Heating

Method of treating	Found SO ₂ (ppm)
Control	8.0
Soaking 0.3 hr	14.2
Soaking 3 hr	34.4
Soaking 24 hr	34.2
Heating 10 min*	15.2
Heating 30 min*	8.1
Heating 60 min*	7.3

* Refluxed in water bath at 100°C

在し、加熱・通気によっても添加した亜硫酸が留出されないことが原因と考えられた。

3. 揮発性イオウ化合物の影響

改良ランキン法はイオウ化合物の影響が少ないとされているが⁷⁾、揮発性イオウ化合物の影響について調べた結果は Table 2 に示したように硫化水素はプラスに妨害していた。

また乾しいたけ特有香氣成分の一つにイオウ化合物であるレンチオニン⁸⁾があるが、レンチオニンもプラスに妨害していることが分かった。すなわちレンチオニンそのものに発色液を加えても発色しなかったことから、レンチオニン自体は発色には関与しないことが明らかになった。しかしレンチオニンは加熱分解して硫化水素が発生する⁹⁾ことと、硫化水素そのものはプラスに妨害することから亜硫酸測定中にレンチオニンの熱分解によって硫化水素が発生し、測定値に影響を及ぼしているものと考えられた。

すなわち測定中に乾しいたけが水を吸収し、それに含まれるレンチニン酸の酵素分解によって生成したレンチオニン¹¹⁾由来の硫化水素が妨害しているものと考えられた。

他に乾しいたけ中に天然に存在すると言われている二硫化炭素¹⁰⁾について妨害を調べたが影響はなかった。

4. 加熱、水浸による亜硫酸含量の変化

乾しいたけを加熱あるいは水に浸すことに伴う亜硫酸

Table 4. Contents of Sulfur Dioxide in Each Kind of Dried Shiitake

District of product	Kind of dried shiitake	Found SO ₂ (ppm)
China	Donko	8.0 ± 0.9
China	Donko	14.8 ± 3.3
China	Donko	19.8 ± 1.5
China	Donko	17.0 ± 4.5
Mie	Donko	13.0 ± 2.0
Mie	Koko	9.3 ± 1.3
Mie	Koshin	5.4 ± 0.7
Ehime	Donko	7.6 ± 3.4
Ohita	Donko	5.9 ± 0.6
Ohita	Koko	8.7 ± 0.3
Fukushima	Donko	8.3 ± 1.0
Fukushima	Donko	10.0 ± 1.0
Shiga	Donko	4.8 ± 1.6
Tottori	Donko	10.4 ± 0.4
Nara	Donko	13.1 ± 2.8
Okayama	Donko	6.8 ± 4.0
Shimane	Donko	7.9 ± 2.9
Yamaguchi	Donko	3.6 ± 1.6
Tsushima	Donko	N.D.
Hyogo	Koko	N.D.

N.D.: Not detected (detection limit 2.5 ppm)

Each value was the mean of three trials.

の変化を調べ、この結果を Table 3 に示した。試料の調製方法は加熱については試料 1 g をとり水 20 ml を加え、沸とう水浴中に加熱を行った。水浸の場合は試料 1 g に水 20 ml を加え密栓し、室温放置した。後加熱、水浸ともナシ型フラスコに試料をとり、試薬を加え 20 分間通気、加熱を行った。

水浸の場合 20 分程度の放置では亜硫酸量の増加は少ないが、3 時間経過すると急激に増加し 24 時間放置後もほぼ一定の値を保った。安木ら¹¹⁾は乾しいたけを水に浸すことにより、L- γ -glutamyl-L-cysteine sulfoxide の S 置換体誘導体であるレンチニン酸から酵素的にレンチオニンが生成することを報告していることから水浸による亜硫酸量の増加は乾しいたけを水に浸すことにより酵素分解によってレンチオニンが生成したものと考えられた。

一方加熱時間 10 分では亜硫酸量は増加するが、30 分以上加熱したものは対照と同レベルの値となった。この加熱による増減の原因は水を加えることにより生成したレンチオニンが加熱することによって揮散したこと、及びレンチオニン生成酵素の加熱による失活が考えられた。

5. 各種乾しいたけ中の亜硫酸のバックグラウンド調査

産地・銘柄のはっきりしている乾しいたけ 20 検体について亜硫酸含有量を測定した結果を Table 4 に示す。

中国産は 8.0~19.8 ppm (平均 14.9 ppm)、日本産は検出限界以下 ~13.1 ppm (平均 6.5 ppm) と中国産の方がやや高い値を示し、サンプル間のばらつきは大きかった。中国産乾しいたけが高い値を示す原因については今後検討してゆく予定である。

要 約

1. 乾しいたけ中亜硫酸のバックグラウンド調査を行った結果、検出限界以下 ~19.8 ppm であった。特に中

国産が日本産に比べ高い値を示した。

2. 揮発性イオウ化合物では硫化水素が測定をプラスに妨害すること、また乾しいたけの香氣成分であるレンチオニンも測定を妨害することが分かった。

3. 亜硫酸測定値は通気時間 45 分までの範囲で増加する傾向があり、特に中国産が日本産に比べ顕著であった。

4. 乾しいたけを水に浸すことで亜硫酸は増加し、加熱によって減少した。

文 献

- 1) 農政調査委員会編：“食の科学” **109**, 96~99 (1987), 光琳。
- 2) William, H.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **30**, 339~340 (1980).
- 3) 日本薬学会編：“衛生試験法注解” p. 187 (1973), 金原出版。
- 4) 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., Matsuki, Y.: Z. Lebensm. Unters. Forsch., **168**, 293~298 (1979).
- 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” p. 74~84 (1982), 講談社。
- 6) 宮本文夫, 佐伯政信：日食工誌, **31**, 739~745 (1984).
- 7) Mitsuhashi, Y., Hamano, T., Hasegawa, A., Tanaka, K., Matsuki, Y., Adachi, T., Obara, K., Nonogi, H., Fuke, T., Ikuzawa, M., Fujita, K., Izumi, T., Ogawa, S., Toyoda, M., Ito, Y., Iwaida, M.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **168**, 299~304 (1979).
- 8) 安木教傳：化学と生物 **16**, 361~362 (1978).
- 9) 和田正三, 中谷弘美, 富士縄昭平, 木村 博, 芳谷道男：栄養と食糧 **20**, 355~359 (1967).
- 10) 豊田正武：化学と生物 **15**, 707~709 (1977).
- 11) Yasumoto, K., Iwami, K., Mitsuda, H.: Agric. Biol. Chem. **35**, 2070~2080 (1971).