終りに実験に協力された江田紘子氏に感謝する。なお研究費の一部は文部省科学研究費によった。ここに感謝する。

文 献

- 1) J.E. Meinhard, N.F. Hall: *Anal. Chem.* **21**, 185 (1949).
- 2) R.H. Reitsema: *ibid.* **29**, 960 (1954).
- 3) E. Stahl: *Pharmazie* **11**, 633 (1956).
- 4) J. Bäumlér, S. Rippstein: *Helv. chim. Acta* **44**, 1162 (1961).
- 5) 山村, 丹羽口: 科学警察研. **13**, 450 (1960); **14**, 77, 214 (1961); *Proc. Japan Academy* **38**, 129 (1962); 科学警察研. **14**, 419 (1961).
- 6) C. Desaga G.m.b.H., Heidelberg, Germany.
- 7) H. Wagner, L. Hörhammer, P. Wolff: *Biochem. Z.* **334**, 175 (1961).
- 8) L.C. Mitchell: *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* **43**, 810 (1960).
- 9) J.P. Vigne, et al.: *Bull. Soc. Pharm. Marseille* **5**, 49 (1956); *C.A.* **51**, 5350 (1957).
- 10) D. M. Coulson, et al.: *J. Agr. Food Chem.* **7**, 250 (1957).
- 11) 奥井, 他: 法医学の実際と研究 **8**, (1962) 印刷中.

食品に含まれるホルムアルデヒドの定量法(第1報)

(昭和37年8月1日受理)

沢村 良二* 小山 隆* 松沢 孝昌*

Determination of Formaldehyde in Food (I)

Ryoji SAWAMURA, Takashi KOYAMA, and Takayoshi MATSUZAWA

(Pharmaceutical Institute, College of Science and Engineering,

Nihon University: Kanda-surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo)

The conventional method for determining formaldehyde in food can not afford a satisfactory result, because only a part of contained formaldehyde is able to be distilled.

We could determine 96~100% of formaldehyde contained in foods full of sugar or starch in such a way as to frequently add water into the distillation flask under operation.

By using this distillate as the test solution, it was possible to determine more than 2.5 mg of formaldehyde in 100 g of the sample by means of the chromotropic acid reaction.

The results of determination showed 90~105% of the theoretical value in the case of more than 40 mg of formaldehyde in 100 g of the sample.

In this distillation operation the distillate obtained from soluble starch which was used for the blank test did not show the positive chromotropic acid reaction.

The procedure could be simplified by using rongalit as the colorimetric standard.

The rongalit solution can be stored without any change for more than a week and gives reasonable accuracy for practical use as a standard.

(Received August 1, 1962)

* 日本大学理工学部薬学科: 東京都千代田区神田駿河台1の8

まえがき

ホルムアルデヒド (以下 HCHO と記す) またはその誘導体を食品に添加することは食品衛生上禁止されているが、水産食品などのうちには微量の HCHO を天然に含む場合がある。またアメ製品では製造工程において HCHO と同様の反応を呈する物質が生ずることがあるので、ロンガリットなどの有害漂白剤を加えたものと区別することが必要である。そのような目的で HCHO を試験する一つの手段として、 HCHO の定量をあげることができる。 HCHO を定量するためには、検体に含まれる HCHO を完全に回収して検液を調製することと、その操作に際して検体から HCHO と同様の反応を呈する物質が生成しないことの、二点を注意しなければならない。

従来、食品中の HCHO の検出に際しては、酸性で HCHO を水とともに蒸留し、その初留液について定性試験を行なっている。この際 HCHO の留出は、初留に顕著であるが、水の留出がほとんど終る時期にも残留液中に相当量の HCHO が残存するから、食品などの検体では他の溶存成分の共存のため、完全な留出をさせることはできない。著者らはこの残留液に水を加えて再び蒸留し、この操作を繰返すことによって、残留液中の HCHO をほとんどすべて留出させることができることを知った。このことを応用して、糖質食品中の HCHO の定量法を検討したので報告する。

実験方法

1. 蒸留操作

Fig. 1 に示した蒸留装置の、受器 (c) に 5% NaHSO_3 液 10 または 20 ml を加えて、冷却管 (b) の先端が受器内の液中に達するように装置しておく。蒸留フラスコ (a) に HCHO 300~1,000 μg を含む溶液 20

- a. distilling flask
- b. condenser
- c. receiving flask
- d. cooling bath
- e. water supplying tube
- f. stopcock

Fig. 1. The distillation apparatus for Formaldehyde in food

ml を加え、これに溶性デンブレン 1~4 g をとかし、20% リン酸 1 ml を加え、沸石を入れて石綿つき金網上で加熱し蒸留する。蒸留フラスコ内の液がほぼ留出し終わったら、内容物が加熱により変色する前に注水管 (e) から水 20 ml を加え、再び蒸留する。この操作を 2~3 回繰返して行ない、得られた留出液に水を加えて一定量とし、これについて HCHO を定量する。

蒸留フラスコ内の残留 HCHO を測定するには、蒸留が終ったのち、蒸留フラスコの内容物を水で洗い、洗液に水を加えて一定量とし、これについて HCHO を定量する。

2. クロモトロブ酸比色法

本実験の目的に適するように検討して、つぎの条件で行なった。

検量線の作成: HCHO を 0.2~20 μg ずつ含む標準液を、それぞれ 1 ml ずつ試験管にとり、2% NaHSO_3 液 1 ml ずつを各管に加え、さらに 0.5% クロモトロブ酸ナトリウム液 1 ml ずつを加えてのち、10 分間沸とう水浴中で加熱し、冷後光電比色計で 570 $\text{m}\mu$ における吸光度を測定して、検量線を作成する。

HCHO の定量: 留出液 (水を加えて一定量とし、 NaHSO_3 の濃度が 1% になるように調製してあるもの) 2 ml を試験管にとり、これに濃硫酸 3 ml および 0.5% クロモトロブ酸ナトリウム液 1 ml ずつを加え、検量線の作成の場合と同様に操作して、得られた吸光度から HCHO 含量を求める。

蒸留フラスコ内の残留 HCHO は、検量線の作成の項と同様に操作して、得られた吸光度から HCHO 含量を求める。

3. ヨウ素滴定法

蒸留の際、受器に NaHSO_3 液を加えず、冷却管および受器を水冷して留出液をとり、これに水を加えて一定量とし、この 10 ml に 0.01 N I_2 液 10 ml を加え、これに 1N KOH 溶液 10 ml を加え、密栓して暗所に 60 分間放置後、希硫酸 5 ml を加えて酸性とし、デンブレン試液を指示薬として 0.1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 液で滴定する。別に対照試験として、水について同様の操作を行ない、両滴定量の差から HCHO 量を算出する。

蒸留フラスコ内の残留 HCHO の定量の場合には、0.01 N I_2 液の量を 2 ml とした。

実験結果

1. 蒸留回数の検討

ロンガリット溶液に溶性デンブレンを加えたものを蒸留し、蒸留フラスコ内の水分がほぼ留出し終わったら、新しい受器を装て、蒸留フラスコに水を加えて、再び蒸留し、この操作を繰返して行なって、蒸留 1 回ごとの留出液中の HCHO 量をクロモトロブ酸比色法で測定した (Table 1)。ロンガリット溶液 20 ml に対して溶性デンブレン 1 g を加えたもの (Table 1 A) では、2 回目の加

Table 1. Formaldehyde (HCHO) in each Distillate to be Distilled after Repeated Addition of Water

	Distillate					HCHO
	I μg	II μg	III μg	IV μg	sum μg	added μg
A	355	115	trace	-	470	490
	650	20	trace	-	670	750
	670	30	trace	-	700	670
B	460	55	16	0	531	-
	750	135	20	trace	905	-
	370	103	55	trace	528	-

A : dissolved 1 g of soluble starch in 20 ml HCHO solution

B : dissolved 4 g of soluble starch in 20 ml HCHO solution

水後に再び蒸留して得られる留出液(Ⅲ)には HCHO がほとんど検出されず、留出した HCHO 量の総和 (Ⅰ + Ⅱ)は加えた HCHO 量の 86~105 %を示した。溶性デンプンを 4 g/20 ml 加えたもの (Table 1 B)では、(Ⅲ)にも多少の HCHO が検出されたが、以後の留出液 (Ⅳ)には HCHO が検出されなかった。

2. HCHO 回収率の検討

ロンガリット溶液 20 ml に溶性デンプン 1 g を加えて、受器をかえずに繰返し 3 回加水して蒸留を行なったところ、ここに得られた全留出液中の HCHO のクロモトロブ酸比色法による定量値は、加えた HCHO 量の 90~105 %に相当する値を示した (Table 2)。この実験では定量値に変動があるので、HCHO の留出量と残留液中の残存量との関係を知るために、つぎの実験を行なった。

Table 2. Total Formaldehyde (HCHO) in the Distillate

HCHO added μg	HCHO recovered in the distillate	
	μg	recovery %
800	720	90.0
840	760	90.5
840	800	95.2
430	430	100.0
430	450	104.7

溶性デンプンを加えた検体の残留液中の HCHO は測定不可能であるから、溶性デンプンを加えない HCHO 溶液を蒸留し、留出液および残留液中の HCHO を定量した。Table 3 A はロンガリット溶液を蒸留し、クロモトロブ酸比色法により定量した結果を示したもので、留出量は加えた量の 95~105%，残留液は定量限度以下

である。Table 3 B はホルマリン希釈液を蒸留し、ヨウ素滴定法により定量した結果を示したもので、留出量は加えた量の 96~100%，残留液は滴定限度以下である。

Table 3. Formaldehyde (HCHO) in the Distillate and the Residue

HCHO added μg	HCHO recovered	
	in the distillate μg	in the residue μg

A. Colorimetric method with chromotropic acid

760	730	96.1	< 3.0
760	760	100.0	< 3.0
760	780	102.6	< 3.0
760	800	105.3	< 3.0
300			< 3.0
600			< 3.0
1,500			< 3.0

B. Jodometric method

651.4	649.9	99.8	<10.0
615.4	589.9	95.8	<10.0
577.9	568.9	98.4	<10.0

3. HCHO の定量法について

Table 4 に示したのは、ロンガリット溶液 (a)、ホルマリン希釈液 (b)、溶性デンプン溶液 (c) およびホルマリン希釈液に溶性デンプンを加えたもの (d) のそれぞれについて蒸留を行ない、留出液についてクロモトロブ酸比色法とヨウ素滴定法による測定を行なった結果である。(b)のみは両定量法の値が一致するが、(a)、(c)、(d)はいずれも過大の滴定値を与えている。

Table 4. Iodine Consumption of Distillate from Various Samples

Samples	HCHO added μg	Iodine consumption calculated as HCHO μg
	μg	μg
a. Rongalit solution	570	1,023.7
	760	1,134.7
	970	2,626.8
b. technical HCHO solution	740	749.0
c. soluble starch solution 2g/20ml	0	318.2
d. b. + c.	740	1,088.2

また各種濃度のホルマリン希釈液とロンガリット溶液とについて、本報の条件でクロモトロブ酸反応を行なって検量線を描いたところ、Fig. 2 に示すごとく両者の吸光度はよく一致した。なおロンガリット溶液は1週間以上保存しても発色の低下が認められない。

Fig. 2. Calibration curve of formaldehyde (HCHO) solution and ronalit solution (colorimetric method with chromotropic acid)

考察および結論

検体水溶液中の HCHO を完全に留出させる目的で、蒸留フラスコ内の残留物に加水して繰返し蒸留を行なった結果、Table 1 に示すごとく 3～4 回の蒸留で HCHO の留出が認められなくなる。この際加えた溶性デンプンの量が多いと留出しにくいのは、残留液が着色しない程度の蒸留にとどめたために、溶存物質が多ければ 1 回ごとの留出量が少なくなることによるものと考えられる。

このようにして得られた全留出液中の HCHO の回収率は、溶性デンプンを加えない場合には、クロモトロブ酸比色法で 95～105%，ヨウ素滴定法で 96～100% を与え、残留液中の HCHO 量はいずれも検出限度以下である (Table 3)。溶性デンプンを加えた場合の回収率は、クロモトロブ酸比色法で 90～105% (Table 2) を与え、残留液中の HCHO は定量できなかったが、以上の結果を総合すると、この場合もほとんど残留していなかったものと判断することができる。なお受器からの HCHO の散逸は認められなかった。

ヨウ素滴定法で測定する場合には Table 4 に示すごとく過大な値を与えることがある。検体にロンガリットを用いた場合には、留出液がイオウの反応を与えることから、ロンガリットの成分であるイオウ低級酸化物が留出して、これがヨウ素を消費したものと考えられ、溶性デンプンの場合には有機性被酸化物が留出したものと思われる。しかしこれらのヨウ素消費物質はクロモトロブ

酸反応を与えず、しかも他にヨウ素消費物質のない場合には両定量値がよく一致するから、留出液中の HCHO の定量はクロモトロブ酸のような呈色試薬によるべきである。クロモトロブ酸による呈色は NaHSO_3 の添加によって変化するから、検量線の作成の場合にも留出液と同じ濃度の NaHSO_3 を加えた HCHO 標準液を用いなければならない。

前述したごとく、他に溶存物質のない場合の蒸留による HCHO 回収率は、96～100% と考えられるが、溶性デンプンを加え、クロモトロブ酸比色法で定量する場合には数値の変動が大きくなる。この条件で測定を行なうと、検体 1～2 g 中に含まれる 50～1,000 μg (検体 100 g 中 2.5～100 mg) の HCHO を定量することができ、本実験の濃度の範囲内では定量値が理論量の 90～105% である。糖質の検体を酸性で蒸留すると、HCHO と同様の呈色をする物質が生成することが知られているが、蒸留フラスコの内容物が変色しない範囲で留出液をとれば、Table 4 に示すごとく糖質分解物による呈色は無視することができる。

従来、HCHO 標準液は市販ホルマリンを希釈し、標定して使用しているが、HCHO は不安定で標準液を保存することができない。Fig. 2 に示すごとくロンガリット水溶液は、本報の発色条件で HCHO 標準液と同じ値を与え、しかもこの水溶液は 1 週間以上安定であるから、ロンガリット (formaldehyde sodium sulfoxylate) $\text{CH}_2\text{OHSO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (HCHO 含量理論値 19.48%) の結晶を用いれば、標準溶液はきわめて容易に調製することができ、しかも保存が可能である。ロンガリットの品質は必ずしも一定ではないが、その他に免れることのできない定量誤差があるから、あらかじめ HCHO 含量を検定しておけば実用上十分に標準物質として用いることができる。

要 約

1. 糖質食品に含有される HCHO を定量するために蒸留法を改良し、クロモトロブ酸比色法によって、固体検体 100 g 中 HCHO 2.5 mg 以上の定量が可能であることを知った。この際 100 g 中 HCHO 40 mg 以上の検体では、定量値は理論量の 90～105% を与えた。

2. クロモトロブ酸による比色定量の際に、あらかじめ HCHO 含量を測定したロンガリットの結晶を標準物質として用いれば操作が簡易であり、実用上十分な正確度を与える。

謝 辞

本報告について御助言をいただいた国立衛生試験所川城 巖部長、御意見をお寄せ下さった国立公衆衛生院孤田太郎部長に感謝いたします。また実験に協力された日本大学理工学部薬学科小熊登志子、待井啓子、山田良子の諸氏に感謝します。