

漂白剤比色試験法に関する検討 ―漂白剤使用食品の検出事例より―

田野 貴仁、山本 直美、池田 耕介、田畑 佳世、神藤 正則

要旨

2016（平成28）年度の収去検査において、漂白剤使用食品がその使用基準を超えたため、複数回の試験検査を行ったが、安定した検査結果を得にくいことが分かった。そこで、通気蒸留比色試験法の不安定な結果になる原因について検証した結果、試験操作における発色時間や発色温度、通気蒸留での火力や窒素流入量等の条件を厳守することが重要であることが明らかとなった。また、標準品の純度の標定、及び均質化した後の試料の保存・取り扱い方法によって、大きく定量値に影響を及ぼすことも判明した。

キーワード：漂白剤、比色試験法、二酸化硫黄（SO₂）

1. はじめに

2016（平成28）年度の収去検査において、漂白剤使用食品（れんこん水煮）から使用基準を超える漂白剤（二酸化硫黄：SO₂）を検出した。行政処分を伴う違反事例であることから、複数回の試験検査を行った結果、いくつかの課題が見出された。

一つ目は、検量線の吸光度が一定しないことである。原因として、標準品の純度や、発色操作における混和方法、及び発色反応時間が影響しているかの検討を行った。

二つ目は、再検査等で複数回の試験検査を行う場合に、試料の確保が困難であるという点である。SO₂は不安定な化合物であるため、試料開封後できるだけ迅速に分析する必要がある。現状では、未開封の試料を複数個収去することで対応しているが、これができない場合も想定される。そこで、試料を開封し均一化した後に、安定に保存できる条件の探索を行った。

これらの検討の結果、いくつかの知見が得られたため、それらの結果について、以下に報告する。

2. 材料及び方法

(1) 試料

漂白剤が検出された事例と製造日の異なる同一食品（れんこん水煮）を用いた。

(2) 試薬

0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液（容量分析用）、アジ化ナトリウム（特級）、エタノール（高速液体クロマトグラフ用）、塩酸パラロザニン（特級）、塩酸（有害金属測定用）、過酸化水素（30% 特級）、ジメドン（特級）、ホルマリン（特級）、リン酸（特級）、0.05 mol/L ヨウ素溶液（容量分析用）、0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液（容量分析用）については和光純薬製を使用した。食品添加剤用シリコーン KM-72F については信越化学工業製を使用した。

(3) 標準溶液

標準品は、和光純薬の亜硫酸水素ナトリウム（試薬特級、SO₂としての純度：64.0-67.4%）を使用し、食品衛生検査指針¹⁾（以下検査指針）に従い 162.5 mg（SO₂ 100 mg

に相当)を 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いて調製した。

(4) 装置

分光光度計 (HITACHI 製 UV-3300)

測定吸光度 580 nm セル長 10 mm

(5) 分析法

検査指針に従い操作した。操作のフローチャートを図 1 に示す。

特に記載のない場合は本条件によるものとする。

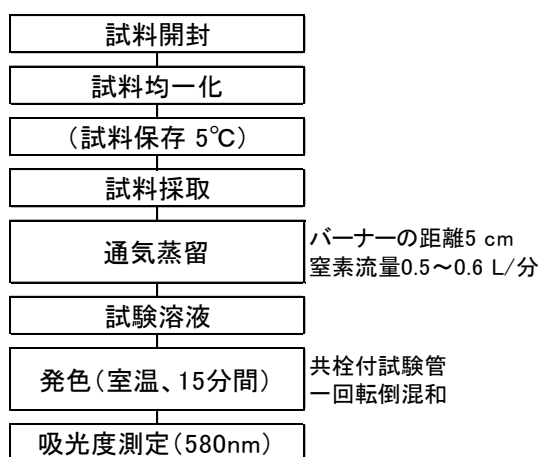


図 1 操作のフローチャート

3. 検討方法

(1) 標準品の純度の確認

標準品の SO_2 としての純度を確認するため、ロットの異なる標準品 A (2015 年 2 月製造) と標準品 B (2016 年 8 月製造) の純度を文献²⁾の方法で測定した。亜硫酸水素ナトリウム (NaHSO_3) 0.5 g を量り、水に溶かして 100 mL とする。その 10 mL をとり、0.05 mol/L ヨウ素溶液 15 mL を加え、次いで塩酸 2 mL を加えて、0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定した。

(2) 発色操作における混和方法の検討

混和器具や混和方式によって、発色時ににおいて揮散などの影響がないかを確かめるため、

標準液 (1.5 $\mu\text{g/mL}$) を共栓付試験管及びネジ式試験管に 5 mL ずつ分取して発色試薬 (パラロザニリン・ホルムアルデヒド混液) を加えた。また、それぞれの試験管を穏やかに一回転倒混和もしくは 5 秒間ボルテックスミキサーを用いて激しく混和し 15 分間反応させ、吸光度を測定した。

(3) 発色操作における反応時間の検討

発色後の試験液の安定性の確認するため、標準液 (1.6 $\mu\text{g/mL}$) を共栓付試験管に 5 mL 分取して、発色反応開始後からの時間経過 (5 分毎) に伴う吸光度を測定した。

(4) 発色操作における発色温度の検討

発色時における温度の違いによって吸光度に差が生じるのかを確かめるために、標準液 (1.6 $\mu\text{g/mL}$) を共栓付試験管に 5 mL 分取して、0、10、20、30、40、50°C の温度で反応させたときの吸光度を測定した。

(5) 通気蒸留操作の検討

通気蒸留操作において、火力と通気 (窒素流入) 量の影響を比較した。火力ではバーナーを使用しない場合、バーナーから蒸留フラスコとの距離が 5 cm (検査指針に記載されている値)、及び 10 cm の場合を比較した。通気量は、0.5~0.6 L/分 (検査指針に記載されている値)、及び 1.0~1.2 L/分の場合で回収率が変動するかを比較した。比較試料は、 SO_2 が含まれている試料、もしくは精製水に標準液 (100 $\mu\text{g/mL}$) を 0.2 mL 添加したものを蒸留し発色操作を行いそれぞれ比較した。

(6) 試料の保存性についての検討①

試料を開封均一化した後、通気蒸留を開始するまでの保存性について検討した。試料を密閉しない状態で放置した場合、試料中 SO_2 含有量はどのように変化するかを測定した。均一化した試料を 10 g ずつビーカーに蓋を

せず入れ、冷所（5℃）保存し、均一化直後を 0 時間（残存率 100%）とし、以後 3、6、24、27 時間後に測定し SO₂ 残存率を求めた。

(7) 試料の保存性についての検討②

再検査等を行う場合の試料の安定した保存方法を確立するため、開封試料を容器に移し一定期間保存したあとの試料中の SO₂ の残存率を求めた。密閉形態の異なるジッパー付ポリ袋とタッパー容器を用いて、均一化した試料を 10 g ずつジッパー付ポリ袋に入れてできるだけ空気を抜いたものと、227 mL 容タッパー容器（気接触が多い状態）入れたものを、それぞれ冷所（5℃）保存した。開封日を 0 日（残存率 100%）とし、以後冷所保存した後、5、9、19 日後に測定し SO₂ 残存率を求め比較した。

4. 結果および考察

(1) 標準品の純度の測定

標準品の純度を 3 併行で求めた平均値を表 1 に示した。標準品 A は 64.0%、標準品 B は 64.3%となり、A と B のロットの間に有意差は認められず、ともに試薬に表記されている純度の範囲内であった。しかし、SO₂100 mg に相当する量はそれぞれ 156.1 mg、155.5 mg となり、検査指針に示されている 162.5 mg と相違していた。検査指針どおりに標準液を調製すると実際より高い濃度となるため定量値に影響を及ぼすと推察される。よって、試薬の純度を標定し、SO₂ 相当量を算出し標準液を調製することが望ましいと考えられた。

表 1 標準品の純度試験結果（n=3）

	SO ₂ としての純度 (%)	SO ₂ 100 mg 相当量 (mg)
標準品 A	64.0	156.1
標準品 B	64.3	155.5
検査指針値	—	162.5

(2) 発色操作における混和方法の検討

混和方法を変更して測定した吸光度を図 2 に示した。混和器具や混和方式によるそれぞれの吸光度に有意差は認められなかった。よって、混和方法によって成分の揮散等は発生せず、吸光度の変動にあまり影響を与えていないと考えられた。

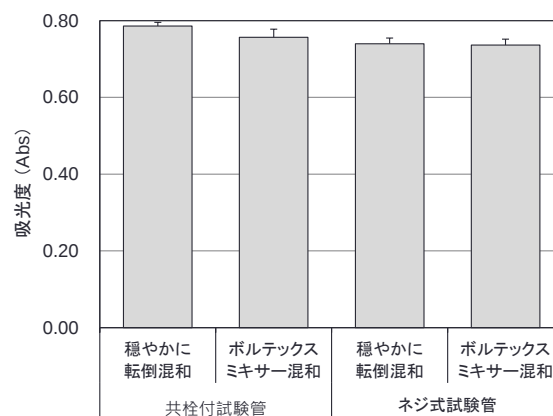


図 2 混和器具及び混和方式別吸光度（n=5）

(3) 発色反応時間の検討

発色反応開始後から 5 分毎の吸光度を図 3 に示した。吸光度は 10 分後にピークを迎え、その後緩やかに減少していった。検査指針値の発色時間 15 分の吸光度とそれ以外の時間の有意差検定を行ったところ、10 分から 20 分までは有意差が認められなかった。しかし 20 分を超えると有意差が認められたため、発色反応時間が長くなると吸光度が低下し、定量に影響を及ぼす可能性があると考えられた。

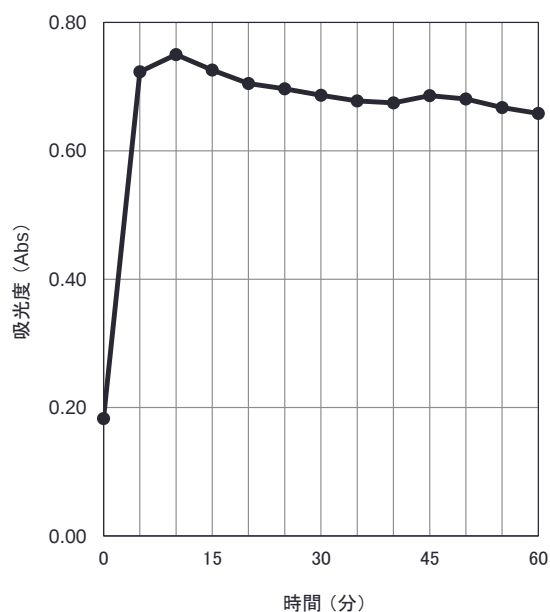


図3 発色反応後の吸光度の時間経過 (n=5)

(4) 発色反応温度の検討

0～50℃の温度で発色させた時の吸光度を図4に示した。20℃が一番高く40℃、50℃では大幅に吸光度が低くなることが判明した。温度による吸光度変化を防ぐため、発色時の温度を一定にする必要があると思われた。

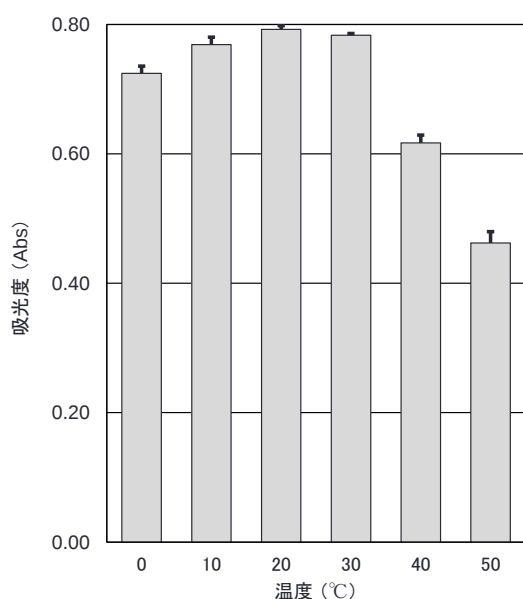


図4 発色反応温度と吸光度 (n=3)

(5) 通気蒸留操作の検討

火力（バーナーの位置）の違いによる回収比（率）を表2に示した。回収比は、検査指針値の5 cmを1として、他の割合を算出した。

試料の場合も標準液添加の場合もSO₂の添加回収比は、バーナーから蒸留フラスコの距離が5 cmの時が一番高かった。標準液添加の場合は、バーナーを使用しない場合や距離が10 cmの時でも窒素通気だけで70%以上が回収できていたが、試料の場合は、バーナーの使用の有無や距離など火力の影響を大きく受けていた。これらは、標準液の添加回収試験では、試験操作が良好であったか検証しにくく、試料を用いて検証することで、今回明確に確認することができた。

通気量の違いによる回収比（率）を表3に示した。回収比は、検査指針値の0.5～0.6 L/分を1として割合を算出した。

試料の場合は、回収比に違いが認められなかったが、標準液添加の場合は、通気量を多くすると回収比が低下した。これは、標準液の場合は、蒸留フラスコの中で試薬添加後直ちに気化しやすい状態にあるため、接続の過程で損失したのではないかと推察した。

よって、通気蒸留の際、これらの条件を一定に保つことが、安定した結果を得る要点の一つと考えられた。

表2 火力（バーナーの位置）の違いによる回収比の比較 (n=3)

バーナーから蒸留フラスコの距離	試料中のSO ₂ の回収比	標準液添加のSO ₂ 回収比 (添加回収率)
使用せず	0.01	0.96 (71%)
5 cm (検査指針値)	1.00	1.00 (75%)
10 cm	0.72	0.94 (70%)

表 3 通気（窒素流入）量の違いによる
回収比の比較（n=2）

窒素流入量 (L/分)	試料中の SO ₂ の 回収比	標準液添加の SO ₂ 回収比 (添加回収率)
0.5~0.6 (検査指針値)	1.00	1.00 (70%)
1.0~1.2 (2 倍量)	0.98	0.88 (62%)

(6) 試料の保存性についての検討①

試料均一化後の密閉しない状態での SO₂ 残存率を図 5 に示した。均一化後、密閉しなければ経時的に減少し、27 時間後には約 30% となった。3 時間後でも約 75% まで減少するので、正確な含有量を測定するためには、短時間であっても開放状態のまま放置せず可及的・速やかに試験することが重要と考えられた。

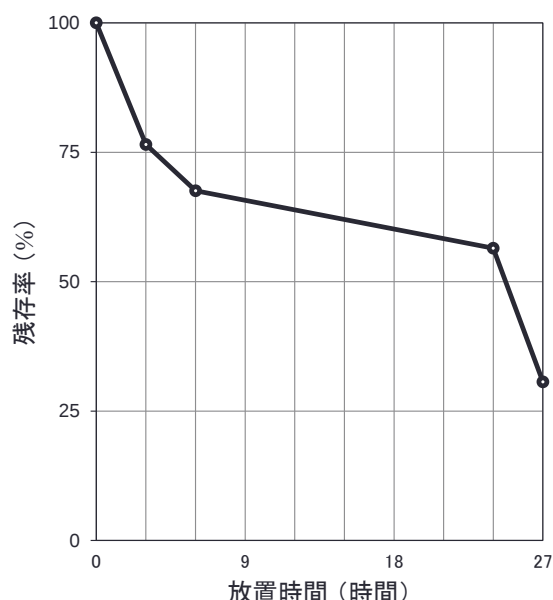


図 5 密閉しない状態で放置した時の
試料中の SO₂ 残存率 (%) (n=3)

(7) 試料の保存性についての検討②

試料均一化後、容器別に密閉保存した試料中の SO₂ 残存率を図 6 に示した。9 日後でも 80% 以上が残存し、一定の保存性があることが確認できた。しかし、ジッパー付ポリ袋では 19 日後でも 80% 以上が残存していたのに対し、タッパー容器は約 50% に減少したことから、タッパー容器などの空気接触の多い容器では長期間の保存になれば試料中の SO₂ は減少することが推察された。よって、やむを得ず保存する場合は、ジッパー付ポリ袋などの密閉容器に保存し、速やかに試験することが望ましいと思われる。

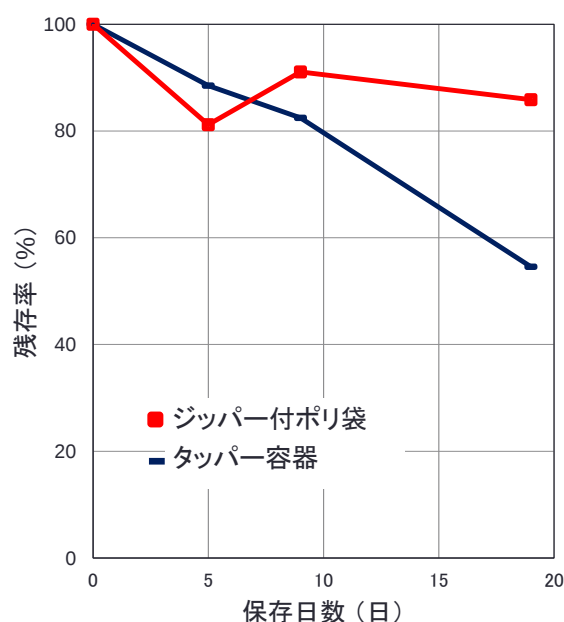


図 6 密閉保存容器別、
試料中の SO₂ 残存率 (%) (n=3)

5. まとめ

今回の結果から、漂白剤比色試験において、標準品の純度には幅があり、標定によってその純度を正確に求めておくことが重要であった。また、発色操作での混和方法は器具や方式による差は認められなかったが、発色反応時間は時間の経過と共に吸光度の低下が認められたため、10~20 分の反応時間を守って測定することが重要であった。そして、発色

温度についても一定に保つことが、吸光度の変動を抑えるには必要な条件であった。

試料を容器に密閉せずに放置した場合、短時間であっても SO_2 は時間の経過と共に減少するため、注意が必要である。翌日以降に再検査する際は、できるだけ空気接触のない密閉容器に保存することで開封均一化した試料であっても一定の保存状態を保てること示された。

[参考文献]

- 1) 食品衛生検査指針（食品添加物編）． 社団法人日本食品衛生協会． 2003；100-109
- 2) 衛生試験法・注解 2015． 公益社団法人日本薬学会． 2015；351-358

本報告は、第 54 回全国衛生化学技術協議会年会において発表した内容を加筆修正したものである。