

## 資料

### 食品中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類分析法の検討及び適用試験結果

酒井康宏, 西みゆき, 粟野由梨佳\*, 上原基浩,  
佐藤久美子, 脇ますみ, 相川勝弘

### Verification study of analytical method for sulfur dioxide and sulfites in foods

Yasuhiro SAKAI, Miyuki NISHI, Yurika AWANO,  
Motohiro UEHARA, Kumiko SATO,  
Masumi WAKI, Katsuhiro AIKAWA

令和元年6月に改正された「第2版食品中の食品添加物分析法」にて二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の試験法が一部変更され、液体クロマトグラフィー(以下HPLC)による二酸化硫黄及び亜硫酸塩類確認分析法が参考として(以下参考法)追加された<sup>1)</sup>。参考法では試料調製に使用する蒸留捕集液に1%トリエタノールアミン溶液(以下1%TEA), 二酸化硫黄及び亜硫酸塩類試験法の比色法(以下比色法)では蒸留捕集液に0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いるとされている等、参考法と比色法の試料調製において異なる操作がある。そのため、比色法において二酸化硫黄を定量し、参考法による確認を行う場合、再度試料調製が必要となる。しかし、比色法の試料調製で得られた試験溶液を、ピークの保持時間の確認や夾雑成分の分離が可能なHPLC測定に用いることができれば、再度試料調製をせずに特異性の高い確認をすることが可能となり、より迅速な検査につながる。そこで、HPLC測定にも使用できる試験溶液を比色法の試料調製で得ることを目的として、蒸留捕集液の種類について検討を行い、更に適用試験を実施した。

比色法の蒸留捕集液は0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液であるため、強塩基性の試験溶液をHPLC測定に用いることで、装置部材の劣化、塩の析出等の影響が生じると懸念された。そこで、比色法の注に参考法で使用する

1%TEAを使用してもよいと示されている<sup>1)</sup>ことから、比色法の蒸留捕集液に1%TEAを用いて試験を行い、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いた場合と結果を比較した。試料にはグラニュー糖を用い、試料調製は図1、比色による定量操作は図2に従って実施した。添加回収は、グラニュー糖2 gに二酸化硫黄標準溶液(100 μg/mL)を0.3 mL添加して実施した(試料中濃度として0.015 g/kg)。使用した標準溶液及び試液は、比色法及び参考法に従い調製した。比色法の蒸留捕集液に0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いた時の添加回収率は85.4%, 1%TEAを用いた時の添加回収率は84.2%であった。次に、比色法の蒸留捕集液に1%TEAを用いた時の試験溶液を、参考法のHPLC条件で測定できるかを確認した。試料調製を図1に従って改めて実施し、得られた試験溶液について比色による定量操作を図2、

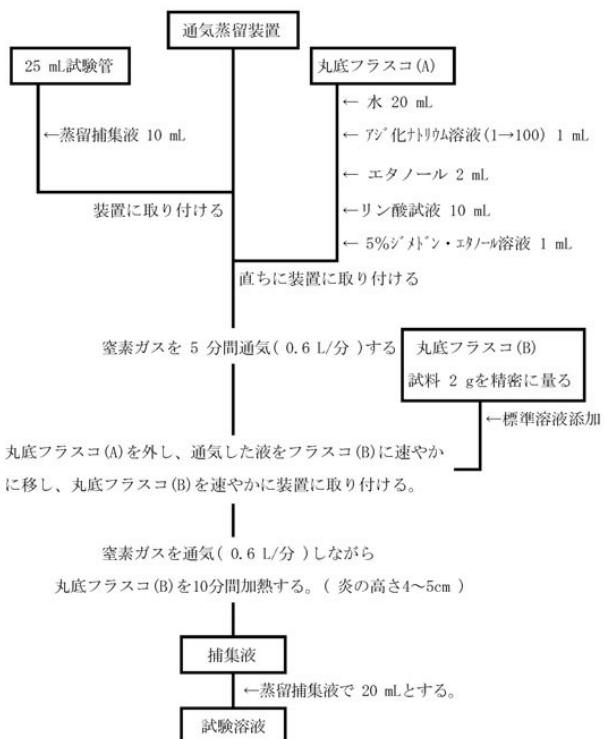


図1 試料調製



図2 比色による定量

表1 HPLC測定条件

カラム : Dionex IonPac AS12A (5 $\mu\text{m}$ , 4.0×200 mm, Thermo Fisher Scientific製)
ガードカラム : Dionex IonPac AG12A (5 $\mu\text{m}$ , 4.0×50 mm, Thermo Fisher Scientific製)
カラム温度 : 40 °C
移動相 : 1.8 mmol/L 炭酸ナトリウム・1.2 mmol/L炭酸水素ナトリウム溶液
流速 : 1.5 mL/分
検出器 : フォトダイオードアレイ検出器
測定波長 : 210 nm
注入量 : 50 $\mu\text{L}$

表2 今回適用したSOP作成ガイドラインの判定基準

真度 (基準値添加)	精度濃度(0.1 $\mu\text{g/g}$ ) <sup>*1</sup>		定量限界	その他 (特異性等)
	併行精度	室内精度		
70~120%	RSD%<10	RSD%<15	マトリックスの影響を 受けずに定量できる	分析対象物質を正確に 識別できる

\*1 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価実施マニュアルを参考に実施した

表3 適用試験の結果

真度 (%)	精度		定量限界 <sup>*1</sup>		特異性
	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	(B/A) または SN比	添加濃度に 対する割合 (%)	
定量法	89.3	3.31	3.84	17	妨害する発色無
確認法	89.3	1.66	1.96	44	妨害ピーク無

\*1 定量法は0.004 g/kg(2 g採取)、確認法は0.003 g/kg(2 g採取)

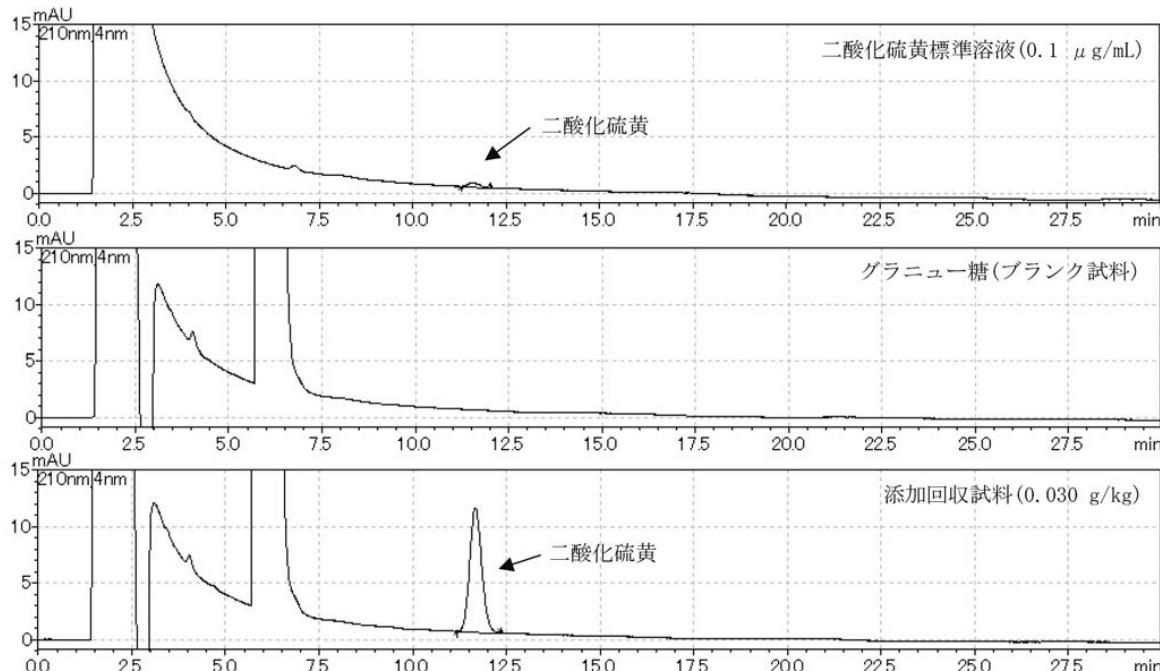


図3 クロマトグラム

HPLC測定を表1の条件に従い実施した。蒸留捕集液に1%TEAを用いた時、比色による定量の添加回収率は87.0%，HPLC測定の添加回収率は84.0%であった。これら検討の結果より、蒸留捕集液に1%TEAを用いて得られた試験溶液は、比色による定量及びHPLC測定による確認のいずれにも用いることが可能と考えられた。

そこで、図1に従い1%TEAを用いて試験溶液を調製した後、図2に従い比色する方法を定量法、表1の条件でHPLC測定する方法を確認法とし、適用試験を行った。適用試験は当所の検査実施標準作業書(SOP)作成ガイドライン理化学編に基づき実施し、表2に示した基準により適否を判断した。分析者3名がそれぞれ試料2検体を2日間分析する計画とした。その他食品の基準値濃度(0.030 g/kg)となるよう、グラニュー糖2 gに二酸化硫黄標準溶液(600 μg/mL)を0.1 mL添加して実施し(以下添加回収試料)、真度、併行精度及び室内精度を確認した。また、定量限界の確認には、蒸留操作後の捕集液に、試験溶液で定量下限値相当(定量法：比色法に準じ0.004 g/kg、確認法：参考法に準じ0.003 g/kg、共に2 g採取<sup>1)</sup>の二酸化硫黄濃度となるよう、標準溶液を添加したもの(以下スパイク試料)を用いた。試験の結果、真度、精度、定量限界及び特異性は表3のとおりであった。真度について確認したところ、平均回収率は定量法

と確認法共に89.3%であり、いずれも判定基準の70～120%の範囲内であった。精度を確認したところ、定量法は併行精度(RSD)が3.31%，室内精度(RSD)が3.84%であり、確認法は併行精度(RSD)が1.66%，室内精度(RSD)が1.96%であった。いずれも併行精度(RSD%)<10，室内精度(RSD%)<15であった。定量限界の確認としてスパイク試料を測定した結果、定量法はグラニュー糖の吸光度(A)に対するスパイク試料の吸光度(B)の比(B/A)が17、定量値の添加濃度に対する割合が95.5%，確認法はSN比が44、定量値の添加濃度に対する割合が98.6%であり、どちらも定量下限値濃度をマトリックスの影響を受けずに定量できた。その他、定量法において定量を妨害するような発色は見られず、確認法において二酸化硫黄標準溶液(0.1 μg/mL)、グラニュー糖(プランク試料)及び添加回収試料(0.030 g/kg)に検出及び定量を妨害するピークは見られなかった(図3)。

今回の適用試験の結果から、蒸留捕集液に1%TEA溶液を用いた試験溶液は比色による定量及びHPLC測定による確認に適用可能であることが確認された。

#### 文献

- 1) 「食品中の食品添加物分析法」の改正について、薬生食基発0628第1号、薬生食監発0628第1号、令和元年6月28日。