

は大きな値となった。この二酸化硫黄含有量のばらつきは、目視で相対的に白い割りばしほど二酸化硫黄検出量が高い値となったことから裏付けられた。したがって、分析操作は1試料につき3回以上行う必要があると考える。

二つの測定方法を比較すると、得られた値はほぼ一致し、アルカリ滴定法の値をX軸、HPLC法の値をY軸にとった場合の相関は、95℃の溶出試験では傾きが $Y=1.04X-0.05$ 、相関係数(R2乗)=0.993であり、60℃では傾きが $Y=1.01X-0.02$ 、相関係数(R2乗)=0.994であった。したがって、 $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上の測定値であれば、どちらの測定法を用いても、ほぼ同じ測定結果の得られることが確認された。

同一試料について95℃溶出及び60℃溶出の値を比較すると95℃では60℃のほぼ2倍の二酸化硫黄が溶出した。

4. 亜硫酸類の規格基準

亜硫酸類のJECFA評価に基づくWHO/FAOのランクはA1、ADIは体重1 kgにつき0.7 mg(二酸化硫黄として)である。我が国では表3に示したように、食品添加物として漂白、防腐、酸化防止の目的で広く、多くの食品に使用が許可されており、かんぴょう、乾燥果実などでは使用基準値は高いが、その他の一般食品では30 mg/kgである。また、EUもほぼ同様で、その他の一般食品に対する基準値は10 mg/kgとなっている。一方米国では、一般に安全と認識されている物質「GRAS」として認証されており使用基準は無い。

厚生労働省から提示された「割りばしに係る監視指導について」の通知では、溶出試験の結果、1膳当たりの二酸化硫黄としての値が12 mgを超える割りばしについては、自主規制等必要な措置を指導するとしている。この値は、体重50 kg換算のADI(35 mg)を一日の食事回数3で割ったものであるが、食事で摂取される亜硫酸類は、割りばしに由来するものと食品に由来するものの合計となることから、多量に摂取される可能性もある。そのため12mgという現在の目安値

を、食品からの摂取量を考慮して1/2以下に設定する必要がある。

また、通知においては1膳当たりの量に換算して示されているが、食事や調理時に割りばしから食品に移行、若しくは直接口に触れて人体に摂取される亜硫酸類の量は、接触するはしの表面積に比例するものと思われる。また、竹串などでも亜硫酸類が使用される可能性があるが、1膳当たりという表示はできない。そのため、亜硫酸類の規制値は1膳当たりでは無く、試料表面積当たりの濃度で規制する方が理にかなうものとする。事実、昨年度の実態調査において、溶出試験で1膳当たり10 mgの二酸化硫黄が検出された竹製菜ばし(1膳の表面積、258 cm^2)の溶出試験での値は78 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、1膳当たり3 mgの二酸化硫黄が検出された竹製割りばし(1膳の表面積84 cm^2)の溶出試験値72 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ とほぼ同じ値であった。さらに、通知では溶出試験の他に材質試験も示されたが、溶出試験の値で指導することにより、材質試験は必要ないものとする。

厚生労働省からの通知が出された後も、亜硫酸類を検出する割りばしは依然として多い一方で、「無漂白」と表示された割りばしも増えてきた。これらの中には、より安全なシリカゲルやわさび抽出物を直接割りばしに接触しないように包装内に封入することで亜硫酸類の使用を控えようとしている製品もある。反面、亜硫酸類の代替品として、今までに器具・容器包装に使われたことのない漂白、抗菌または防かび作用を有する物質が使用される懸念もある。竹・木製品に亜硫酸類の基準を設定する場合は、必要のない化学物質をむやみに使用すべきではないという考えを大前提に、なるべく少ない量で規制すべきであるとする。

D. 結論

平成15年1月に厚生労働省より通知された「割りばしに係る監視指導について」で示された「割りばしにおける亜硫酸試験法」について、亜硫酸類の測定方法及び溶出試験の条件等を検討した。

その結果、溶出試験は、浸出用液として

水を使用して95℃で30分間行う通知法をそのまま使用するのが適当であった。また、得られた溶出液中の二酸化硫黄濃度は、溶出液を直接HPLC法で測定するのが適当であった。また、微量定量を必要としない場合は、アルカリ滴定法も適当であった。なお、二酸化硫黄としての定量限界は、HPLC法では試料表面積1 cm²当たり1.2 μg(溶出液中の濃度として0.6 μg/mL)、アルカリ滴定法では4 μg/cm²(同 2 μg/mL)であった。

本法により、市販の竹製割りばし12試料を検査した結果、9試料より二酸化硫黄として3.98~25.8 μg/cm²の亜硫酸類が検出された。なお、同一製品であっても、亜硫酸類の含有量に大きな差があることから、一つの製品につき3回以上の検査を行うことが望ましい。

通知法では、溶出試験の他に材質試験も示されたが、溶出試験の値で指導することにより、材質試験は必要ないものとする。また、指導の基準値は割りばし1膳当たりの量ではなく、表面積当たりの値とすることが望ましく、その値も食品からの摂取量を加味して見直す必要がある。

以下に「割りばしにおける亜硫酸試験法」修正案を記載する。

溶出試験 (HPLC法)

1. 装置

紫外外部吸収検出器付HPLCを用いる。

2. 試薬・試液

水 超純水(比抵抗値: 18 MΩ·cm以上、0.22 μmの最終フィルターで濾過したもの)に窒素ガスを5分間通気させたものを用いる。

トリエタノールアミン(以後TEAと略す) 特級を用いる。

1%TEA溶液 TEA 10 gを水に溶かして1,000 mLとした後、窒素ガスを5分間通気して脱気したものを用いる。

マイクロフィルター 膜材質はPTFE製、孔径0.45 μm、直径13 mmを用いる。

3. 標準品・標準溶液

亜硫酸水素ナトリウム 特級を用いる。亜硫酸水素ナトリウムは、亜硫酸水素ナト

リウム(NaHSO₃)とピロ亜硫酸ナトリウム(Na₂S₂O₅)の混合物であり、標定した試薬を使用する。なお、この標定によって得られた力価は1年間有効である。

標定 亜硫酸水素ナトリウム約0.5 gを精秤し(w g)、水に溶かして100 mLとする。その10 mLを採り0.05 mol/Lヨウ素溶液(容量分析用)15 mLを加え、次いで塩酸2 mLを加えて直ちに0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウム(容量分析用)で滴定する。滴定に用いた0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウムのファクターをf、滴定量をa mL、空試験の滴定量をb mLとしたとき、このNaHSO₃の二酸化硫黄としての力価は、

$$[3.2 \times f \times (b - a) \times 10 / w / 1,000]$$

である。すなわちこのNaHSO₃ 1 mgは〔力価〕mgの二酸化硫黄を含む。

二酸化硫黄標準原液 二酸化硫黄として100 mgに相当する標定した亜硫酸水素ナトリウムを正確に量り、1%TEA溶液に溶解し100 mLに定容する。さらに1%TEA溶液で10倍希釈したものを二酸化硫黄標準原液とする。この溶液1 mLは100 μgの二酸化硫黄を含有し、冷蔵遮光で3ヶ月間保存可能である。

4. 試験溶液の調製

試料表面積1 cm²当たり2 mLの水を浸出溶液として、95℃で30分間溶出試験を行い、得られた溶出液をマイクロフィルターで濾過したものを試験溶液とする。

5. 測定法

(1)測定

測定条件(一例を次に示すが、適宜変更する)

分離カラム ポリマー系陰イオン交換樹脂(内径4 mm、長さ200 mm、IonPac AS12A(日本ダイオネックス(株)製)または同等のもの)を用いる。

ガードカラム ポリマー系陰イオン交換樹脂(内径4 mm、長さ50 mm、IonPac AG12A(日本ダイオネックス(株)製)または同等のもの)を用いる。

カラム温度 35℃

測定波長 210 nm

溶離液 2.1 mmol/L 炭酸ナトリウム-0.8

mmol/L 炭酸水素ナトリウム

流速 1.5 mL/分

注入量 25 μ L

オートサンプリングのラック温度 4~5 $^{\circ}$ C

(2) 検量線

二酸化硫黄標準原液(100 μ g/mL)を1% TEA溶液で適宜希釈し、0.5~100 μ g/mLの二酸化硫黄標準溶液を作成する。この標準溶液25 μ LずつをHPLCに注入し、得られたピーク面積または高さから、二酸化硫黄の検量線を作成する。

(3) 定量

試験溶液25 μ LをHPLCに注入し、得られたピーク面積または高さを測定し、検量線から二酸化硫黄濃度を求め、試験溶液中の二酸化硫黄濃度を算出する。

溶出試験(アルカリ滴定法)

1. 装置

食品中の亜硫酸測定に用いる通気蒸留装置を用いる。

2. 試薬・試液

水 蒸留水に窒素ガスを5分間通気して脱気したものを用いる。

0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液(以下、規定液と略す) 容量分析用を用いる。

過酸化水素、リン酸 特級を用いる。

メチルレッド・メチレンブルー試薬(以下、指示薬と略す) 滴定用を用いる。

エタノール 99.5 v/v%高速液体クロマトグラフ用を用いる(遮光保存)。

消泡用シリコーン油 食品添加物規格品を用いる。

0.3%過酸化水素溶液 過酸化水素1 mLに水を加えて100 mLとしたものを用いる。

リン酸溶液 リン酸100 mLに水240 mLを加えたものを用いる。

3. 試験溶液の調製

(1) 溶出液の調製

試料表面積1 cm²当たり2 mLの水を浸出溶液として、95 $^{\circ}$ Cで30分間溶出し、濾過(No. 5A)する。

(2) 試験溶液の調製

通気用丸底フラスコに溶出液25 mLを採り、エタノール2 mL、消泡用シリコーン2滴

及びリン酸溶液 10 mLを加え、通気蒸留装置に取り付ける。捕集用フラスコには、0.3%過酸化水素溶液10 mLを採り、指示薬3滴を加えた後、1/10濃度の規定液1~2滴を加えて溶液の色調を緑色とし、通気蒸留装置に取り付ける。次に、窒素ガスを0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、通気用フラスコを20分間ガスバーナーで加熱し、亜硫酸類を二酸化硫黄として留出させ、捕集用フラスコに硫酸として捕集した溶液をアルカリ滴定法用試験溶液とする。なお、溶出液の代わりに、同量の水を用いて同様の操作を行って得た溶液を空試験溶液とする。

4. 滴定

試験溶液及び空試験溶液を規定液で液の色が紫色から灰色を経て緑色になるまで滴定し、次式により溶出液中の二酸化硫黄濃度を求める。

二酸化硫黄濃度(μ g/mL)

$$= (a-b) \times F \times 320 \times 1/c$$

a: 試験溶液の滴定量(mL)

b: 空試験溶液の滴定量(mL)

F: 規定液のファクター

320: 規定液1 mLは二酸化硫黄320 μ gに相当する。

c: 蒸留に用いた溶出液量(mL)

F. 文献

- 1) 山嶋裕季子、田口信夫、斉藤和夫、他: 東京衛研年報、48、174-177、1997。
- 2) 厚生労働省通知食監発第0121001号: 平成15年1月21日。
- 3) 厚生労働省監修: 食品衛生検査指針 食品添加物編 2003、100-109、2003、(社)日本食品衛生協会、東京。
- 4) 松本ひろこ、小川仁志、鈴木敬子、他: 食衛誌、329-334、2001。
- 5) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000、304-308、2000、金原出版(株)、東京。
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2000、1054-1058、2000、金原出版(株)、東京。
- 7) 河村葉子、船越かやの、杉田たき子、他: 食衛誌、36、731-737、1995。

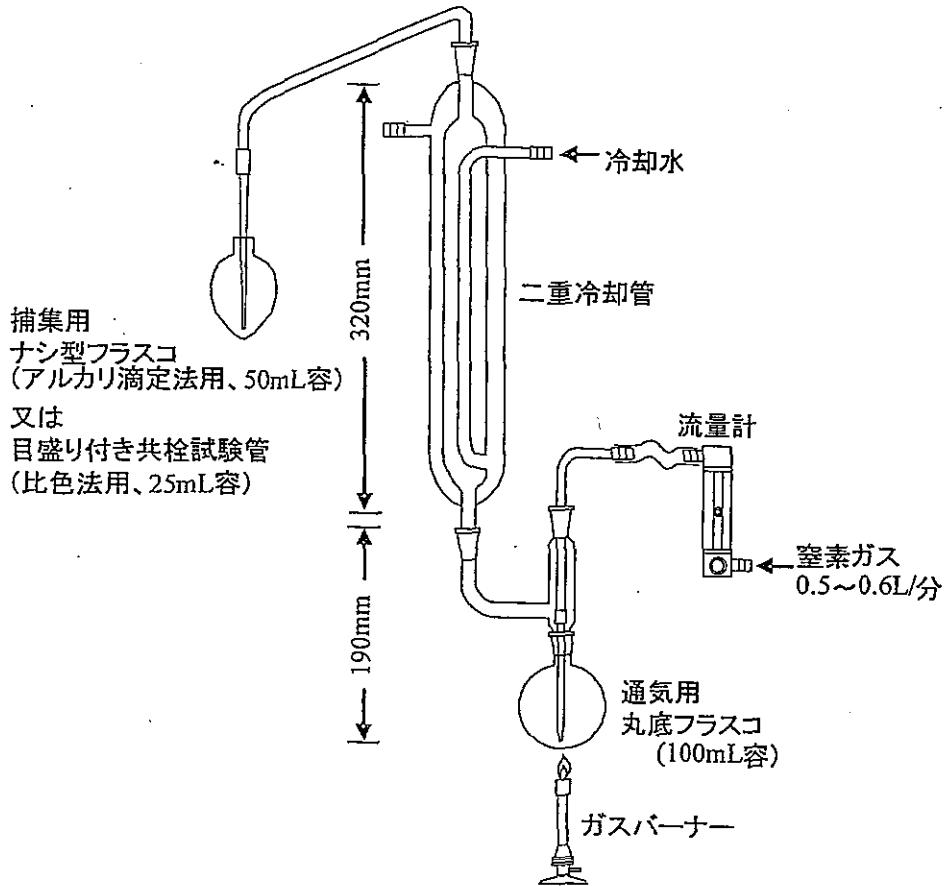


図1. 通気蒸留装置

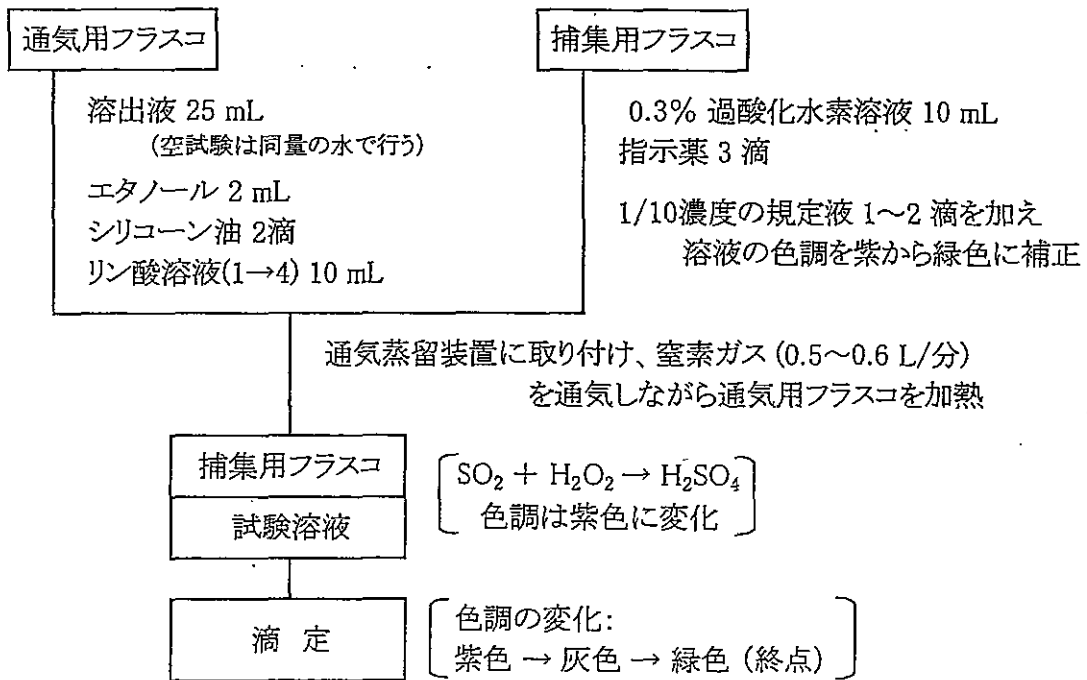


図2. アルカリ滴定法のフローチャート

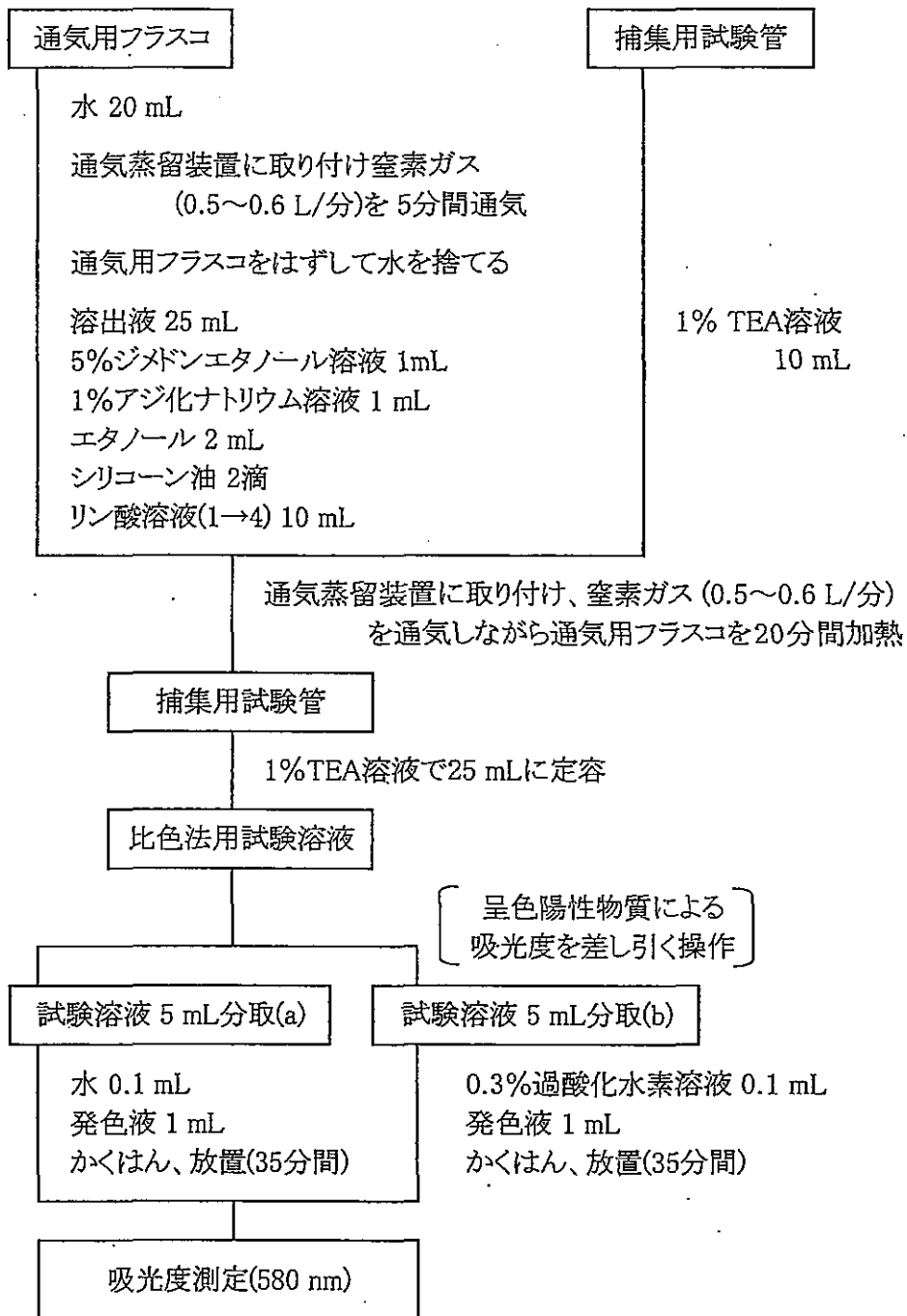


図3. 比色法のフローチャート

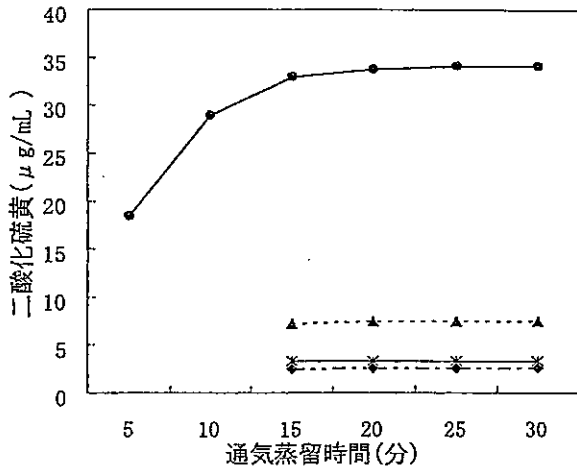


図4. 通気蒸留時間と二酸化硫黄留出量との関係

竹製割りばし4試料について、表面積1 cm² 当たり2 mLの水を用い、95°C、30分間の溶出試験で得られた溶出液を通気蒸留に付し、5分毎に捕集液中の二酸化硫黄濃度を測定した。

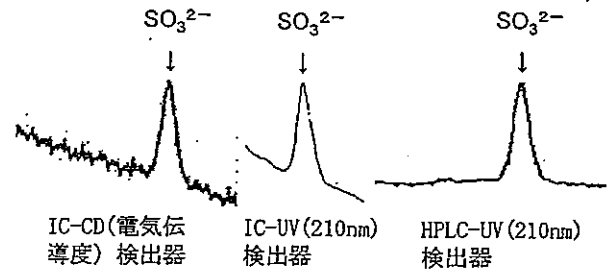


図5. IC-CD(電気伝導度) 検出器、IC-UV (210nm) 検出器及びHPLC-UV (210nm) 検出器による二酸化硫黄標準溶液 (0.25 μg/mL) のクロマトグラム

亜硫酸イオンのピーク部分のみを拡大表示した。

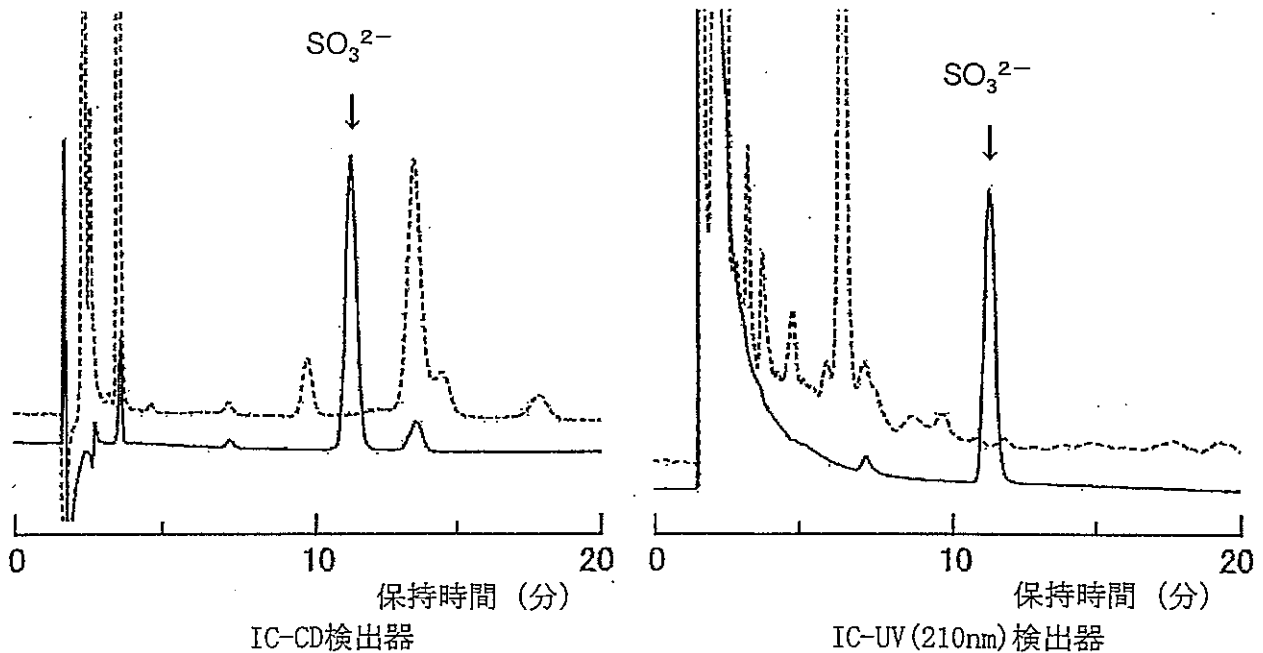


図6. ブランク溶出液及び二酸化硫黄標準溶液のイオンクロマトグラム
 ブランク溶出液、 ——— 二酸化硫黄標準溶液 (10 μg/mL)

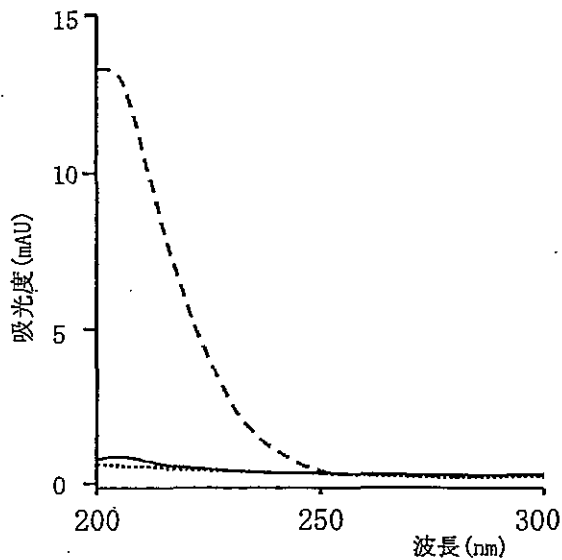


図7. HPLCにおける亜硫酸イオン及びブランク溶出液中不純物のUVスペクトル
 --- 亜硫酸イオン (二酸化硫黄として10 μ g/mL、保持時間10.4分)
 ——— ブランク溶出液中の不純物 (保持時間10.2分)
 ブランク溶出液中の不純物 (保持時間10.4分)

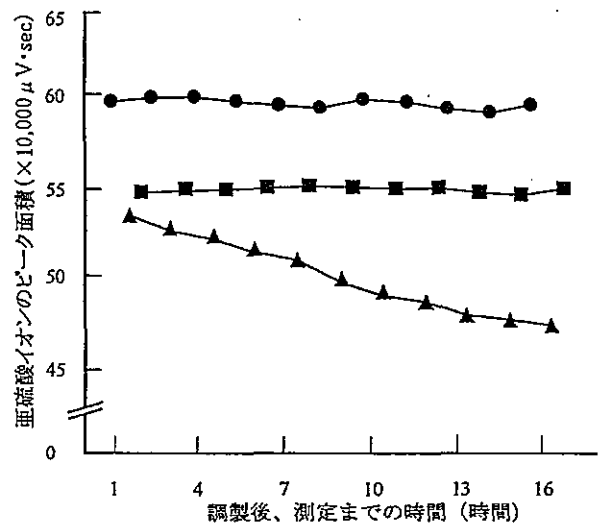


図9. 標準溶液及びHPLC用試験用液中亜硫酸の安定性

- 二酸化硫黄標準溶液 (10 μ g/mL、1%TEA含有)
- HPLC用試験溶液 (TEA無添加)
- ▲—▲ HPLC用試験溶液 (1%TEA含有)

HPLC用試験溶液は、竹製割りばしを95°Cの水で30分間溶出して得られた溶出液をろ過しただけのもの及び1%濃度となるようTEAを添加した後ろ過したものについて測定した。

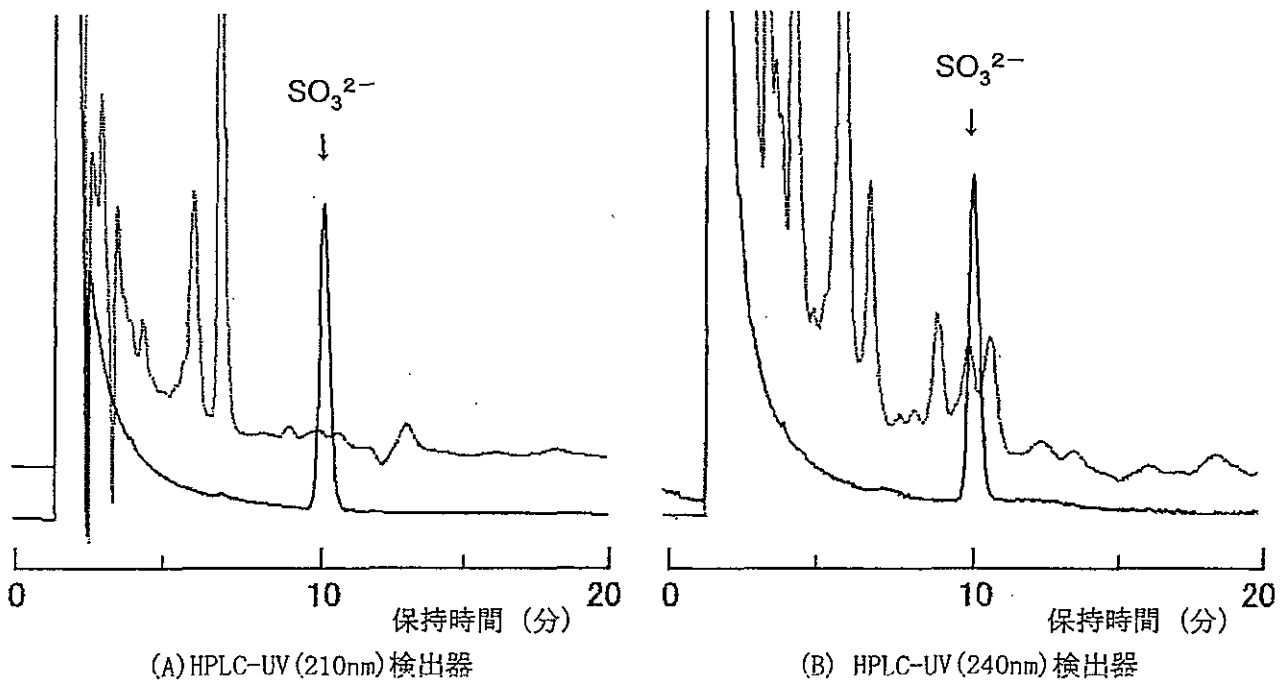


図8. ブランク溶出液及び二酸化硫黄標準溶液の高速液体クロマトグラム
 ブランク溶出液、 ——— 二酸化硫黄標準溶液 (10 μ g/mL)

表1. 浸出用液の違いによる二酸化硫黄溶出量の比較

浸出用液	二酸化硫黄溶出量
水	8.80 ± 0.45 *
20%エタノール	8.62 ± 0.82
4%酢酸	9.40 ± 0.38

* 平均値±標準偏差(μg/mL)、n=3

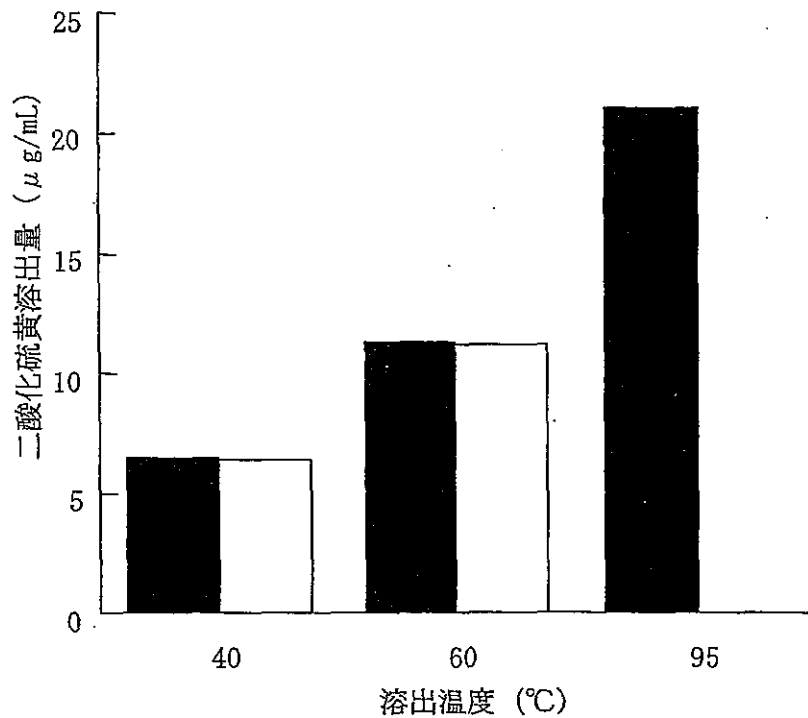


図10. 溶出温度と二酸化硫黄溶出量との関係

浸出用液: ■ 水、□ 20%エタノール

竹製割りばしの表面積1 cm²当たり2 mLの浸出用液を用い、95°Cで30分間の溶出試験を行い、溶出液中の二酸化硫黄量をIC (UV検出器) により測定した。95°C、20%エタノールは沸騰により溶出試験不能。

表2. 市販竹製割りばしの二酸化硫黄分析結果

試料番号	割りばしの形態	溶出温度(°C)	HPLC法	アルカリ滴定法
1.	利休	95	25.8 ± 6.26 *	23.5 ± 3.91
2	天削	95	24.0 ± 12.3	23.2 ± 13.4
3	双生	95	23.7 ± 4.20	24.6 ± 3.36
4	双生	95	16.6 ± 6.33	15.7 ± 6.15
5	元禄	95	15.5 ± 6.62	14.9 ± 7.31
6	双生	95	12.2 ± 2.98	11.0 ± 3.10
7	双生	95	8.61 ± 3.98	9.13 ± 2.21
8	双生	95	6.04 ± 4.46	6.74 ± 3.83
9	双生	95	3.98 ± 0.98	4.03 ± 2.02
10	双生	95	ND	ND **
11	双生	95	ND	ND
12	利休	95	ND	ND

1	利休	60	10.7 ± 2.96	11.2 ± 2.61
2	天削	60	10.5 ± 6.22	10.3 ± 6.68
3	双生	60	11.3 ± 4.11	10.4 ± 4.00
4	双生	60	9.85 ± 3.21	9.98 ± 3.15
5	元禄	60	6.71 ± 4.31	7.25 ± 4.81
6	双生	60	5.36 ± 1.51	5.21 ± 1.41
7	双生	60	4.12 ± 2.51	4.44 ± 2.08
8	双生	60	1.95 ± 1.05	ND
9	双生	60	1.49 ± 1.04	ND
10	双生	60	ND	ND
11	双生	60	ND	ND
12	利休	60	ND	ND

* 二酸化硫黄としての検出量、平均値±標準偏差 (μg/cm²)、n=3

** ND : HPLC法は 1.2 μg/cm²未満、アルカリ滴定法は 4 μg/cm²未満

表3. 亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、二酸化硫黄、
ピロ亜硫酸カリウム及びピロ亜硫酸ナトリウムの使用基準

対象食品	二酸化硫黄としての 残存量	対象食品	二酸化硫黄としての 残存量
ごま、豆類 及び 野菜	使用しては ならない	キャンデッドチェリー 及び 糖蜜	0.30g/kg未満
かんぴょう	5.0g/kg未満	糖化用タピオカでんぷん	0.25g/kg未満
乾燥果実(干しぶどうを除く)	2.0g/kg未満	水あめ	0.20g/kg未満
干しぶどう	1.5g/kg未満	天然果汁(5倍以上に希釈 して飲用に供するもの)	0.15g/kg未満
こんにやく粉	0.90g/kg未満	甘納豆 及び 煮豆	0.10g/kg未満
乾燥じゃがいも、ゼラチン 及び デイジヨンマスタード	0.50g/kg未満	えび 及び 冷凍生かに	0.10g/kg未満**
果実酒* 及び 雑酒	0.35g/kg未満	その他の食品	0.030g/kg未満***

* 果実酒の製造に用いる酒精分1容量パーセント以上を含有する果実搾汁およびこれを濃縮したものを除く

** むき身について

***キャンデッドチェリーの製造に用いるさくらんぼ、ビール製造に用いるホップ並びに果実酒に用いる果汁、
及び酒精分1容量パーセント以上を含有する果実搾汁およびこれを濃縮したものを除く

G. 健康危険情報

なし

2. 学会発表

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

1) 船山恵市、金子令子、羽石奈穂子、荻野周三、東京都健康安全研究センター年報、55、(2004) 投稿中

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし