

漂白剤

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類

Sulfur Dioxide and Sulfites

亜硫酸水素アンモニウム水 Ammonium Hydrogen Sulfite water (NH_4HSO_3 : 99.11)	亜硫酸ナトリウム Sodium Sulfite 別名：亜硫酸ソーダ (無水) Na_2SO_3 : 126.04 (結晶) $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 252.15
次亜硫酸ナトリウム Sodium Hydrosulfite 別名：ハイドロサルファイド $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$: 174.11	二酸化硫黄 Sulfur Dioxide 別名：無水亜硫酸 SO_2 : 64.06
ピロ亜硫酸カリウム Potassium Pyrosulfite 別名：メタ重亜硫酸カリウム $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$: 222.33	ピロ亜硫酸ナトリウム Sodium Pyrosulfite 別名：メタ重亜硫酸ナトリウム 酸性亜硫酸ソーダ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$: 190.11

1. 分析法の概要

食品中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類は、アルカリ滴定法（分析法A）又は比色法（分析法B）により二酸化硫黄として定量する¹⁾。必要があれば分子量比を乗じて、亜硫酸水素アンモニウム、亜硫酸ナトリウム（無水）、次亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム又はピロ亜硫酸ナトリウムの量として求める。通常、分析法Aは二酸化硫黄として約0.1 g/kg以上の食品（有機酸を多く含む食品は除く）に、分析法Bは約0.1 g/kg以下の食品及び酢酸等の有機酸を多く含む食品の分析に用いる。本試験において試験溶液並びに標準溶液の調製に用いる水は、用時、精製水を煮沸し、冷却したものを用いる²⁾。（2000年設定、2019年改正、2021年改正）

2. 分析法

分析法A（アルカリ滴定法）

（1）検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する³⁾。

（2）試験溶液の調製

あらかじめ図1の通気蒸留装置を組み立て、フラスコ(A)に0.3%過酸化水素溶液10mLを入れ、メチルレッド・メチレンブルー試液3滴を加える。次に0.01mol/L水酸化ナトリウム溶液1～2滴⁴⁾を加え、装置に取り付ける。フラスコ(B)には試料の一定量⁵⁾を精密に量って加え、エタノール2mL⁶⁾、液体食品以外の場合は水20mL⁷⁾、更にシリコーン樹脂⁸⁾2滴、及びリン酸試液10mL⁹⁾を加え、速やかに装置に取り付ける。窒素ガスを流量計(G)を通じて、0.5～0.6L/分¹⁰⁾の速度で通気しながら、マイクロバーナー(D)¹¹⁾の炎の高さを4～5cmとし、フラスコ(B)を約10分間加熱¹²⁾する。次にフラスコ(A)をはずし、試験溶液とする。

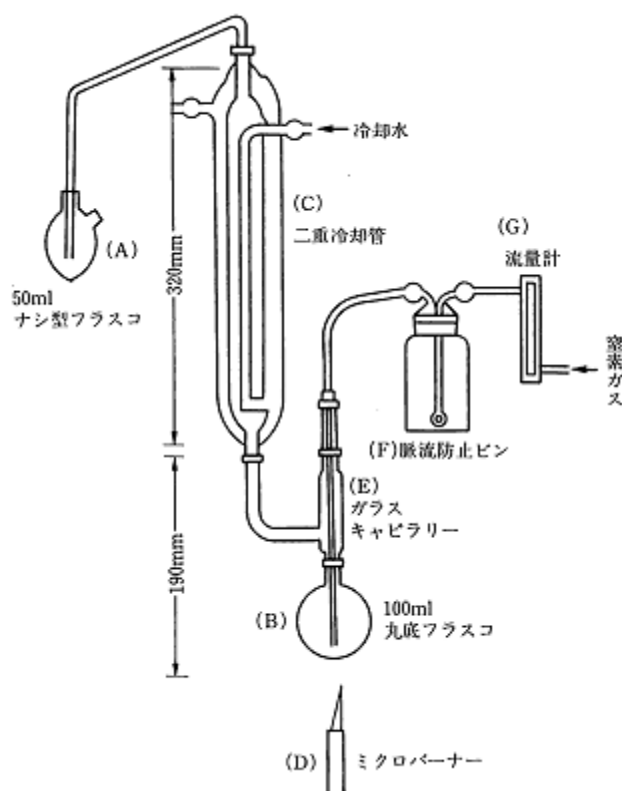


図1 通気蒸留装置

(3) 空試験溶液の調製

(2) 試験溶液の調製における試料の代わりに水20mLを用い、同様に操作して空試験溶液とする。

(4) 測定法

試験溶液及び空試験溶液を0.01mol/L水酸化ナトリウム溶液で液の色が青みの緑になるまで滴定し、次式によって試料中の二酸化硫黄含量(g/kg)又は亜硫酸水素アンモニウム含量(g/L)を計算する¹³⁾。

$$\text{二酸化硫黄含量 (g/kg)} = (a - b) \times F \times 0.32 \times \frac{1}{W_1}$$

亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合

$$\text{亜硫酸水素アンモニウム (g/L)} = (a - b) \times F \times 0.32 \times \frac{1}{W_2} \times 1.547$$

a : 試験溶液の滴定量 (mL)

b : 空試験溶液の滴定量 (mL)

W_1 : 試料の採取量 (g)

W_2 : 試料の採取量 (mL)

F : 0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター

0.32 : 0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL は二酸化硫黄 0.32mg に相当する。

亜硫酸ナトリウム (無水) 含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times$ 1.968

次亜硫酸ナトリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times$ 1.359

ピロ亜硫酸カリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times$ 1.735

ピロ亜硫酸ナトリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄 (g/kg) $\times$ 1.484

分析法B (比色法)

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試験溶液の調製

あらかじめ図1のフラスコ(A)を25mLの試験管(内径20mm前後)に変更し、通気蒸留装置を組み立て、試験管の中に0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液¹⁴⁾約10mLを入れ、装置に取り付ける。次にフラスコ(B)に蒸留水20mL、5%ジメドン・エタノール溶液1mL¹⁵⁾、アジ化ナトリウム溶液(1→100)1mL¹⁶⁾、エタノール2mL⁶⁾、シリコーン樹脂⁸⁾2滴及びリン酸試液10mL⁹⁾を入れ、直ちに装置に取り付ける。窒素ガスを流量計(G)を通じて、0.5~0.6L/分の速度で5分間通気する¹⁷⁾。次にフラスコ(B)をはずし、試料約2g¹⁸⁾を精密に量り、速やかに入れ、再び装置に取り付け、窒素ガスを0.5~0.6L/分の速度で流しながら、マイクロバーナー¹¹⁾(D)の炎の高さを4~5cmとし、フラスコ(B)を約10分間加熱する¹²⁾。試験管をはずし、捕集した液を0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液で20mLとし、試験溶液とする。

(3) 空試験溶液の調製

(2)試験溶液の調製における試料添加を行わず、同様に操作して空試験溶液とする¹⁹⁾。

(4) 検量線用標準溶液の調製

亜硫酸水素ナトリウム約 0.5 g を精密に量り、水に溶かして 100mL とする。その 10mL をとり、100mL の共栓フラスコに入れ、0.05mol/L ヨウ素溶液 15mL を正確に加え、5 分間暗所に放置した後、塩酸 2mL を加えて、0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液 1mL）。水 10mL を用いて同様に操作し、空試験溶液とする。次式により亜硫酸水素ナトリウムの純度（二酸化硫黄として、%）を求める。

$$\text{亜硫酸水素ナトリウム (SO}_2\text{として) の純度 (\%)} = 0.0032 \times F \times (b - a) \times \frac{1000}{W}$$

a : 滴定量 (mL)

b : 空試験溶液の滴定量 (mL)

W : 亜硫酸水素ナトリウム採取量 (g)

F : 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

0.0032 : 0.05mol/L ヨウ素溶液 1mL の二酸化硫黄 (SO₂) 相当量 (g)

二酸化硫黄 100mg に相当する量の亜硫酸水素ナトリウムを量り、0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液に溶解して 100mL とし、標準原液とする。標準原液 1mL を正確にとり 0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液に溶かして 100mL とし、この液 10mL を正確にとり 0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液に溶かして 50mL とし二酸化硫黄標準溶液とする（濃度 二酸化硫黄として 2μg/mL）。

二酸化硫黄標準溶液 0²⁰⁾、1、2、3、4mL 及び 5mL をそれぞれ正確に量り、0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えてそれぞれ正確に 5mL とし、検量線用標準溶液とする（濃度 二酸化硫黄として 0、0.4～2μg/mL）。

(5) 測定法

① 測定

試験溶液 5mL を正確に量り、水 0.1mL を加えたものを (A) とし、新しく試験溶液 5mL を正確に量り、0.3% 過酸化水素溶液 0.1mL を加えたものを (B) とする²¹⁾。(A) および (B) のそれぞれにパラローズアニリン・ホルムアルデヒド試液 1mL ずつを正確に加え、よく振り混ぜ、室温で 15 分間放置した後、それぞれの液につき試薬ブランク（検量線の「0」にあたる）を対照とし、波長 580nm における吸光度を測定する²²⁾。空試験溶液も同様の操作を行い、通気蒸留装置の汚染の有無を確認する。

② 検量線

検量線用標準溶液 5mL ずつに水 0.1mL を加え、①測定の (A) と同様に操作し、吸光度を測定した後、検量線を作成する。

③ 定量

試験溶液の呈色反応後の吸光度〔(A) の吸光度－(B) の吸光度〕を算出し、検量線

より、試験溶液中の二酸化硫黄濃度 ($\mu\text{g/mL}$) を求め、次式によって試料中の二酸化硫黄含量 (g/kg) 又は亜硫酸水素アンモニウム含量 (g/L) を計算する²³⁾。

$$\text{二酸化硫黄含量 (g/kg)} = \frac{C}{1000 \times W_1} \times 5 \times \frac{20}{5}$$

亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合

$$\text{亜硫酸水素アンモニウム (g/L)} = \frac{C}{1000 \times W_2} \times 5 \times \frac{20}{5} \times 1.547$$

C : 試験溶液中の二酸化硫黄濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

W_1 : 試料の採取量 (g)

W_2 : 試料の採取量 (mL)

亜硫酸ナトリウム (無水) 含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times 1.968$

次亜硫酸ナトリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times 1.359$

ピロ亜硫酸カリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times 1.735$

ピロ亜硫酸ナトリウム含量 (g/kg) = 二酸化硫黄含量 (g/kg) $\times 1.484$

試薬・試液

1. 亜硫酸水素ナトリウム : [特級]
2. 過酸化水素 : [30%、特級]
3. 0.3%過酸化水素溶液 : 過酸化水素 1mL に水を加えて 100mL とする。用時調製する。
4. メチルレッド : [特級]
5. メチレンブルー : [特級]
6. エタノール : エタノール (99.5) [高速液体クロマトグラフィー用]、遮光して保存する。
7. メチルレッド・メチレンブルー試液²⁴⁾ : メチルレッド 0.2 g 及びメチレンブルー 0.1 g にエタノールを加えて溶かして 100mL とする。
8. 0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液 : [容量分析用]
9. シリコーン樹脂 : [食添]
10. リン酸 : [特級]
11. リン酸試液 : リン酸 100mL に水 240mL を加える。
12. 水酸化ナトリウム : [特級]
13. ジメドン : 5, 5-ジメチル-1, 3-シクロヘキサジオン。市販品を用いる。
14. 5%ジメドン・エタノール溶液 : ジメドン 5 g を量り、エタノールを加えて溶かし 100mL とする。用時調製する。
15. アジ化ナトリウム : 市販品を用いる。
16. 塩酸 : [特級]

17. パラローズアニリン塩酸塩：[特級]
18. パラローズアニリン試液：パラローズアニリン塩酸塩 40mg に塩酸 20mL を加えて溶かし、水を加えて 100mL とする。
19. ホルムアルデヒド液：[特級]
20. 0.2%ホルムアルデヒド溶液：ホルムアルデヒド液 3 g を量り、水を加えて 500mL とする²⁵⁾。用時調製する。
21. パラローズアニリン・ホルムアルデヒド試液：パラローズアニリン試液と 0.2%ホルムアルデヒド溶液の等量を混和する。
22. 0.05mol/L ヨウ素溶液：[容量分析用]
23. 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液：[容量分析用]
24. デンプン：でんぷん（溶性）[1 級]
25. デンプン試液：水約 20mL にデンプン 1 g を懸濁させたものを、熱湯約 180mL にかくはんしながら少量ずつ加え、全体をにかくはんして液が半透明になるまで煮沸後、放冷し上澄液を用いる。用時調製する。

[注]

- 1) 亜硫酸水素アンモニウム水、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は指定添加物であり、亜硫酸水素カリウム液はピロ亜硫酸カリウムの、亜硫酸水素ナトリウム液はピロ亜硫酸ナトリウムの製剤である。なお、亜硫酸水素アンモニウム水は「食品、添加物等の規格基準」（昭和 34 年厚生省告示 370 号）の第 2 添加物の F 使用基準の添加物一般の 2. に掲げる表にいう「亜硫酸塩等」には該当しないが、食品中の亜硫酸水素アンモニウム水を分析する際には、本分析法を用いることができる。二酸化硫黄を特定する必要がある場合には、参考 1 に示す分析法を用いることができる。また、スクリーニング法として参考 2 に示す分析法がある。
- 2) 精製水中の溶存酸素によって微量の亜硫酸が硫酸に酸化されるので、本操作に用いる水は脱気したものを用いる。煮沸する代わりに、窒素ガス又はヘリウムガスを 5 分間通気して脱気してもよい。
- 3) 固体食品は、ばらつきが多く、とくに乾燥果実は個体差が大きいので均一化に注意する。
- 4) 溶液の色調は紫色から青みの緑に変わる。捕集液をあらかじめ中性とするための操作である。
- 5) 各試料の採取量は、ぶどう酒の製造に用いるぶどう果汁及びぶどう酒の亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合は 20mL、それ以外の場合は、ぶどう酒、天然果汁等の液体食品では 20 g、ねりわさび、糖蜜、水あめ、キャンデッドチェリー及び乾燥果実では 5 g、こんにゃく粉、切り干し大根、甘納豆、煮豆、みそ、チョコレート、にんにく、冷凍むきえび及びゼラチン等では 1 g、かんぴょうでは 0.1~0.2 g を参考に、二酸化硫黄含有量に応じて滴定量がビュレットの容量の範囲に収まるように調整する。試料の採取量が多すぎる

と膨潤や気泡を生じ、亜硫酸の測定値が低くなることや、測定不能になることがある。また、かんぴょう等では試料の採取量が少なく、二酸化硫黄の含有量が不均一である場合があるので、試行数を増し、同一検体について3試行の平均値を求めると比較的正確な値が得られる。

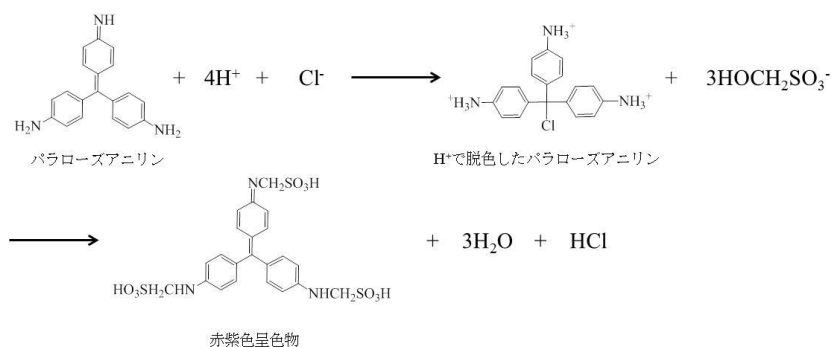
- 6) 膨潤し、流動性が失われるのを防ぐ目的で用いる。比色法（分析法B）では、エタノール中の不純物が定量の妨害となるので、高純度（高速液体クロマトグラフィー用）のものを使用する。
- 7) 液量調整の目的で加える。液体食品では加える必要はない。
- 8) 気泡止めの目的で用いる。多量のホルムアルデヒドが混在する市販品があり、これらを用いると定量妨害となる。
- 9) 二酸化硫黄として1 mg に対応する亜硫酸水素ナトリウムを水 20mL に添加し、これに5、10、15、20、25、30、40%及び50%のリン酸それぞれ 10mL ずつを加え、本操作による二酸化硫黄の回収率実験を行った結果では、5 %リン酸の場合は 65.2%と低いが、10%以上ではいずれも 99%以上であった。なお、リン酸の含量は 85.0%以上であり、リン酸試液はこの実験での 25%リン酸に相当する^{文献1)}。
- 10) 二酸化硫黄として1 mg に対応する亜硫酸水素ナトリウムを水 20mL に添加し、窒素ガス流量を 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、1、1.2、1.5 L 及び 2 L / 分として二酸化硫黄の回収率実験を行った結果では、窒素ガス流量が 0.1、0.2、0.3 L / 分での回収率は、それぞれ 15.2%、65.9%、92.5%と低いが、0.4～2 L / 分ではいずれも 99%以上の回収率であった。しかし、有機酸含量の多いぶどう酒等の場合、窒素ガス流量が 1.2 L / 分以上では有機酸の影響が大きくなり、二酸化硫黄の見かけ上の数値が高くなる。これらの実験より、窒素ガス流量を 0.5～0.6 L / 分とした^{文献1)}。
- 11) 熱源として電気バーナー、マントルヒーター又は水浴を用いて加熱してもよい。マイクロバーナーに比べてフラスコ（B）内の温度上昇速度が異なるため、10 分間の加熱では二酸化硫黄が完全に回収されない場合がある。予め回収に必要な加熱時間を確認する必要がある。
- 12) 炎が弱いと回収率が低下する場合があるが、試料が乾固したり、焦がしたりしないように注意する。

二酸化硫黄として1 mg に対応する亜硫酸水素ナトリウムを添加した試料を用いた場合、5 分間加熱で 97.3～98.7%の二酸化硫黄が回収され、10 分間加熱では 99.4～100%の二酸化硫黄が回収された。しかし、実験条件（炎の強さ、流速等）によっては、10～20 分間加熱部分に 1.5～3.5%程度の微量の二酸化硫黄が残存することがある。また、キクラゲ等では、0～10 分間加熱ではまったく二酸化硫黄は検出されず、10～20 分間加熱部分に検出されるものがある。これは二酸化硫黄ではなく、キクラゲ中の含硫成分によるものと考えられる。

- 13) 本法における定量限界は、0.1 g / kg（試料 2g 採取の場合）である。分析法Aにおいて、

砂糖 2 g に二酸化硫黄として 1 mg に対応する亜硫酸水素ナトリウムを添加した場合 (0.5 g/kg 相当) の 5 試行の平均回収率は 93.3% (相対標準偏差 (RSD) 2.09%) であった。試料採取量の増加、マイクロビュレットの使用、滴定に用いる 0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液の希釈により、定量限界を下げるができる。

- 14) 放置中に空気中の二酸化硫黄ガスを吸収するので、調製後密栓して保存する。0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液のかわりに、参考 1 二酸化硫黄及び亜硫酸塩類確認分析法で使用する 1% トリエタノールアミンを使用してもよい。
- 15) 検体中にホルムアルデヒド、アセトアルデヒド等が存在すると、パラローズアニリン・ホルムアルデヒド混液による亜硫酸の呈色が妨害されるので、これを防止する目的で用いる。アセトアルデヒド 2.5 g が存在してもその妨害は認められない。ジメドンは、必ず高速液体クロマトグラフィー用エタノールに溶かすこと。この溶液は放置すると、二酸化硫黄の回収率が低下するので、用時調製したものを用いる。
- 16) 亜硝酸による影響を防ぐ目的で用いる。亜硫酸 1 mg に対して亜硝酸 0.05mg では、ほとんど影響しないが、それ以上では妨害のおそれがある。アジ化ナトリウム溶液 (1→100) 1 mL の添加により、亜硝酸 1 mg までの影響を除くことができる。アルカリ滴定法は亜硫酸含量の高い検体に適用されるので、亜硝酸の影響はほとんど認められないが、アジ化ナトリウム溶液 (1→100) を加えてもよい。一方、ネギ、玉ねぎ、ニンニク等の硫黄化合物を含む食品ではアジ化ナトリウム溶液を添加することで二酸化硫黄が生成される。これを防ぐにはアジ化ナトリウム溶液を添加せずに通気蒸留操作を行うことが有効である^{文献 2)}。
- 17) アルカリ滴定法に比べて微量の亜硫酸を定量するため、試液及び装置中に酸素があると亜硫酸は硫酸に酸化されるので、置換の目的でこの操作を加える。二酸化硫黄として 0.01mg 添加の際、この操作を省略すると回収率は 10~20% 程度減少する。
- 18) ぶどう酒の製造に用いるぶどう果汁及びぶどう酒の亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合は試料採取量を 2 mL とする。
- 19) 装置内の汚染の有無を確認するために実施する。そのため、定量の補正には使用しない。
- 20) 試薬ブランクである。比色定量の際の対照として用いる。
- 21) 0.3% 過酸化水素溶液を加えることにより、亜硫酸は硫酸に酸化され、呈色しなくなる。この操作を行うことにより、亜硫酸以外の呈色物の影響を削除できる。
- 22) 本法の原理は次のとおりである。



- 23) 分析法B（比色法）における定量限界は0.004 g/kg（試料2 g採取の場合）である。
 分析法Bにおいて、砂糖2 gに二酸化硫黄0.01mgを添加した場合（0.005 g/kg相当）の5試行の平均回収率は85.6%（RSD8.60%）であった。試料によっては妨害成分の影響により、定量限界が高くなる場合がある。
- 24) 長期間保存して沈殿が生じる、あるいは色調が変化する場合は、メチルレッド0.2 gにエタノール50mLを加えて溶かしたもの及びメチレンブルー0.1 gにエタノール50mLを加えて溶かしたものをそれぞれ別々に保存し、用時等量混和するとよい。市販品を使用することもできる。
- 25) ホルムアルデヒド液は、新しいものはホルムアルデヒド36.0～38.0%を含むので、この調製法により、0.22～0.23%溶液が得られる。ホルムアルデヒド液は劣化が激しいので注意を要する。

[文献]

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2015、354（2015）、金原出版
- 2) 下井俊子ら：食衛誌 45、332（2004）

参考 1

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類確認分析法

1、分析法の概要

食品中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類は、液体クロマトグラフィー又はイオンクロマトグラフィーにより確認を行う。(2019 年設定、2021 年改正)

2. 分析法

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試験溶液の調製

図 1 の通気蒸留装置を用いる。

フラスコ (A) を 25mL 試験管 (内径 20mm) に変更し、その中に 1 % トリエタノールアミン (TEA) 溶液を約 9 mL¹⁾ 入れ、装置に取り付ける。フラスコ (B) には、水 20mL (液体食品の場合は入れない)、エタノール 1 mL、リン酸試液 10mL を加え、装置に取り付ける。窒素ガスを流量計 (G) を通して、0.8 L / 分の速度で 5 分間通気する。次にフラスコ (B) を外し、試料 2 g²⁾ を速やかに入れ、再び装置に取り付け、窒素ガスを 0.8 L / 分の速度で通気しながらマイクロバーナーの炎の高さを 4 ~ 5 cm とし、フラスコ (B) を約 15 分間加熱する。25mL 試験管をはずし、捕集した液を 1 % TEA 溶液で 10mL とし、メンブランフィルター (0.45µm) でろ過して試験溶液とする。

(3) 標準溶液の調製

亜硫酸水素ナトリウムの純度 (二酸化硫黄として、%) を、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類分析法の (4) 検量線用標準溶液の調製を準用して求める。二酸化硫黄 100mg に相当する量の亜硫酸水素ナトリウムを量り、1 % TEA 溶液に溶かして 100mL とし、さらに同溶液で速やかに 10 倍希釈したものを二酸化硫黄標準原液とする (濃度 二酸化硫黄として 100µg / mL)。標準原液を 1 % TEA 溶液で希釈し、0.5 ~ 100µg / mL の溶液を調製し、これを検量線用標準溶液とする (濃度 二酸化硫黄として 0.5 ~ 100µg / mL)。

(4) 測定法

① 測定条件³⁾

紫外可視吸光度検出器付液体クロマトグラフ又はイオンクロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤⁴⁾ : 強アニオン交換 (第 4 級アミン)

カラム管：内径 4mm、長さ 200mm

カラム温度：40℃

移動相：1.8mmol/L 炭酸ナトリウム・1.2mmol/L 炭酸水素ナトリウム溶液

流速：1.0～1.5mL/分

測定波長：210nm⁵⁾

注入量：50μL

② 定量

試験溶液 50μL を正確に量り、液体クロマトグラフ又はイオンクロマトグラフに注入し、得られたピーク高さ又はピーク面積と検量線によって試験溶液中の二酸化硫黄（SO₂）濃度を求め、次式によって試料中の二酸化硫黄含量（g/kg）又は亜硫酸水素アンモニウム含量（g/L）を求める^{6,7)}。

$$\text{二酸化硫黄含量 (g/kg)} = C \times V \times \frac{1}{1000 \times W_1}$$

亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合

$$\text{亜硫酸水素アンモニウム (g/L)} = C \times V \times \frac{1}{1000 \times W_2} \times 1.547$$

C：試験溶液中の二酸化硫黄濃度（μg/mL）

V：捕集液量（mL）

W₁：試料の採取量（g）

W₂：試料の採取量（mL）

亜硫酸ナトリウム（無水）含量（g/kg）＝二酸化硫黄含量（g/kg）×1.968

次亜硫酸ナトリウム含量（g/kg）＝二酸化硫黄含量（g/kg）×1.359

ピロ亜硫酸カリウム含量（g/kg）＝二酸化硫黄含量（g/kg）×1.735

ピロ亜硫酸ナトリウム含量（g/kg）＝二酸化硫黄含量（g/kg）×1.484

試薬・試液

1. 亜硫酸水素ナトリウム：[特級]
2. トリエタノールアミン：2, 2', 2''-ニトリロトリエタノール [特級]
3. 1% トリエタノールアミン（TEA）溶液：トリエタノールアミン 10 g を水に溶かして 1000mL としたのち、N₂ ガスを 5 分間通気して脱気する。
4. エタノール：[99.5 v/v % 高速液体クロマトグラフ用] 遮光して保存する。
5. リン酸：[特級]
6. リン酸試液：リン酸 100mL に水 240mL を加える。
7. 炭酸ナトリウム：[特級]

8. 炭酸水素ナトリウム：[特級]
9. 0.1mol/L 炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム 10.6 g を水に溶かして 1000mL とする。
10. 0.1mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液：炭酸水素ナトリウム 8.4 g を水に溶かして 1000mL とする。
11. 1.8mmol/L 炭酸ナトリウム・1.2mmol/L 炭酸水素ナトリウム溶液：0.1mol/L 炭酸ナトリウム 18mL と 0.1mol/L 炭酸水素ナトリウム溶液 12mL に水を加えて 1000mL とする。

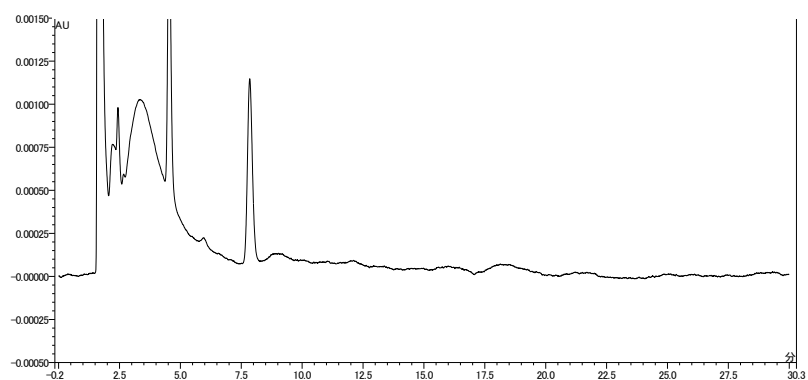
[注]

- 1) 蒸留操作中に液量が増えることがあるため、約 9mL とした。
- 2) ぶどう酒の製造に用いるぶどう果汁及びぶどう酒の亜硫酸水素アンモニウム含量を求める場合は試料採取量を 2 mL とする。装置の感度が不十分な場合は試料採取量を 10g 又は 10 mL まで増やしてもよい。
- 3) 測定条件は例示である。イオンクロマトグラフに紫外可視吸光光度検出器を接続していない場合、電気伝導度検出器でも高感度に測定できる。ただし、硫酸、リン酸等保持時間の近いピークとの分離の確認が必要である。
- 4) 分析の際は亜硫酸イオンのピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 5) 亜硫酸イオンの測定可能な波長領域は 200～240nm であり^{文献 1)}、食品由来の有機酸等の影響を避けるため松本らは 240nm での測定を推奨している^{文献 2)}。しかし検出感度が十分でなかったため、240nm よりも感度のよい 210nm を測定波長とした^{文献 3)}。
- 6) 本法における定量限界は、0.003 g/kg (2g 採取) である。
- 7) 本法による結果を注表 1 に、標準品と赤ワインのクロマトグラムを注図 1 に示す。

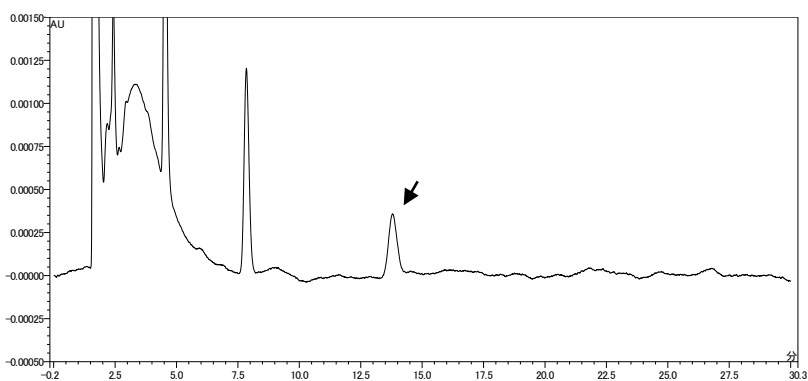
注表 1 各種食品中の二酸化硫黄測定値の比較結果

食品	亜硫酸塩 類使用の 表示	二酸化硫黄測定値(g/kg)		
		アルカリ 滴定法	比色法	HPLC法
赤ワイン1	有	0.044	0.034	0.034
赤ワイン2	有	0.062	0.056	0.058
白ワイン1	有	0.096	0.084	0.077
白ワイン2	有	0.12	0.075	0.12
バルサミコ酢	有	0.0082	0.0012	不検出
赤ワインビネガー	有	0.012	不検出	不検出
白ワインビネガー	有	0.0080	不検出	不検出
タピオカ	有	不検出	不検出	不検出
かんぴょう1	有	1.5	1.4	1.3
かんぴょう2	無	不検出	不検出	不検出
乾燥果実マンゴー	有	0.31	0.28	0.38
乾燥果実あんず [※]	有	0.83	0.84	0.88
真だこ	有	不検出	0.0039	0.0040
冷凍エビ	有	不検出	不検出	不検出
山菜水煮1	有	不検出	不検出	不検出
山菜水煮2	有	不検出	不検出	不検出
たけのこ水煮	無	不検出	不検出	不検出
白きくらげ1	無	不検出	不検出	不検出
白きくらげ2	無	不検出	不検出	不検出
塩漬くらげ	無	不検出	不検出	不検出
煮豆1	有	不検出	不検出	不検出
煮豆2	無	不検出	不検出	不検出

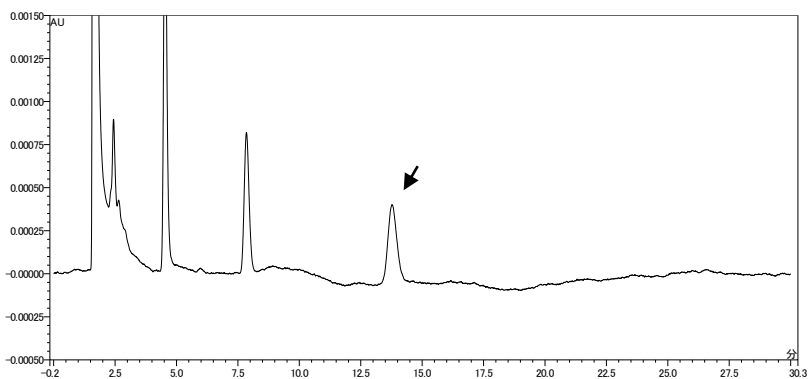
亜硫酸塩類使用の表示(有) の食品は3 試行の平均、(無) の食品は1 試行



(1) 亜硫酸塩未使用赤ワイン



(2) 亜硫酸塩未使用赤ワインに二酸化硫黄として $5\mu\text{g/g}$ 添加



(3) 標準溶液 (二酸化硫黄として $1\mu\text{g/mL}$)

注図1 亜硫酸イオン (SO_3^{2-}) のクロマトグラム

カラム：強アニオン交換カラム（内径 4mm、長さ 200mm）、ガードカラム（内径 4mm、長さ 50mm）

カラム温度：40℃

移動相：1.8mmol/L 炭酸ナトリウム・1.2mmol/L 炭酸水素ナトリウム溶液

流速：1.5mL/分

検出波長：210nm

注入量：50μL

[文献]

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 2015、357 (2015)、金原出版
- 2) 松本ひろ子ら：食衛誌、42、329 (2001)
- 3) 関戸晴子ら：神奈川衛研研究報告、41、24 (2011)

参考 2

ヨウ素酸カリウム・デンプン紙による定性分析法

1. 分析法の概要

ヨウ素酸カリウム・デンプン紙の変色による定性試験により、食品中の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の存在の有無を判定する。(2019 年設定、2021 年改正)

2. 分析法

(1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 標準溶液の調製

亜硫酸水素ナトリウムの純度（二酸化硫黄として、%）を、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類分析法の（4）検量線用標準溶液の調製を準用して求める。二酸化硫黄 100mg に相当する量の亜硫酸水素ナトリウムを量り、0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液に溶解して 100mL とし、標準原液とする。標準原液 1 mL を正確にとり 0.1mol/L 水酸化ナトリウム溶液に溶かして 10mL とし、二酸化硫黄標準溶液とする（濃度 二酸化硫黄として 100 μ g/mL）。

(3) 測定法

液体試料はそのまま、固体の試料は細切し 10 g を 100mL の三角フラスコ¹⁾にとり、水 10～20mL を加えて振り混ぜ 3～5 分間放置した後²⁾、リン酸 2mL を加え、ただちに下端約 1 cm を蒸留水でうるおしたヨウ素酸カリウム・デンプン試験紙³⁾を吊るしたコルク栓で溶液の面から約 1 cm 上方になるように軽く栓をする。室温で 60 分間放置して試験紙の変色を観察する⁴⁾。別に、試料の代わりに水 10mL に二酸化硫黄標準溶液 0.2mL（二酸化硫黄 20 μ g）を添加して試験溶液の調製を行い、試験紙の変色を確認する⁵⁾。

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類が存在するときは、試験紙の水でうるおした部分と乾いた部分の境界面の両脇から徐々に藍色を呈する^{6～8)}。

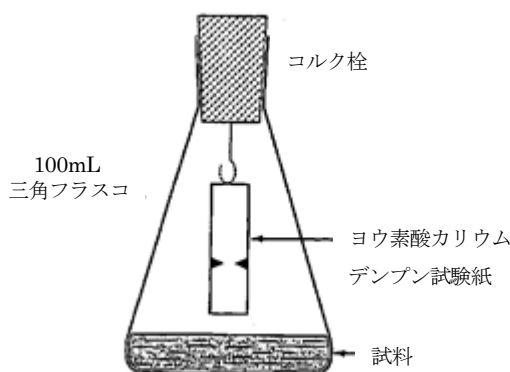


図1 ヨウ素酸カリウム・デンプン紙による定性法

試薬・試液

1. ヨウ素酸カリウム：[特級]
2. 0.2%ヨウ素酸カリウム溶液：ヨウ素酸カリウム 0.2 g を水に溶かして 100mL とする。
3. デンプン：でんぷん（溶性）[1 級]
4. デンプン試液：水約 20mL にデンプン 1 g を懸濁させたものを、熱湯約 180mL に攪拌しながら少量ずつ加え、全体をかくはんして液が半透明になるまで煮沸後、放冷し上澄液を用いる。用時調製する。
5. ヨウ素酸カリウム・デンプン試験紙：0.2%ヨウ素酸カリウム溶液およびデンプン試液の等量混合液にろ紙を十分に浸し、暗所で風乾する。遮光、密栓して保存する。使用期限 5 年
6. リン酸：[特級]

[注]

- 1) かさが大きい試料には、200mL の三角フラスコも使用できる。
- 2) 固体試料の場合、水となじませるために放置する。かんぴょう等は水 20mL では十分に試料と水がなじまないため、水の量を 50mL に増やすとよい。
- 3) 市販品も使用できる。
- 4) 室温で 10～20 分で試験紙が藍色に変色しないときは、少し栓をゆるめ、50℃の水浴又はホットプレート上等で数分間加温して観察する方法もある。加温しても、なお藍色を呈しないときは、再び密栓して放冷する。その際、通例、二酸化硫黄又は亜硫酸塩類が存在すれば 30 分以内に試験紙が藍色に変わるが、食品によっては、夾雑物等の影響により呈色困難な場合もある。
- 5) 感度の確認をする。本分析法は二酸化硫黄として 10μg まで確認可能である。二酸化硫黄は酸化しやすいため、感度の確認は 20μg で実施すると明瞭な試験紙の変色を確認できる。
- 6) しょう油、酢等を含む試料は、明瞭な呈色を示さない。
- 7) $2 \text{KIO}_3 + 5 \text{SO}_2 + 5 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{I}_2 + \text{K}_2\text{SO}_4 + 4 \text{H}_2\text{SO}_4$
発生したヨウ素がデンプンで藍色になる。過量の二酸化硫黄が存在するときは、一度発現した藍色は消失する。
 $\text{I}_2 + \text{SO}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{HI} + \text{H}_2\text{SO}_4$
従って、試験紙を吊るしてから数分間は、観察を継続する必要がある。
- 8) 本法における結果を注表 1 に示す。

注表 1. ヨウ素酸カリウム・デンプン紙法とアルカリ滴定法の比較

		よう素酸カリウム・でんぷん紙法			アルカリ滴定法*	
食品	亜硫酸塩類 使用の表示	試料採取量 (g)	加えた水の 量(mL)	結果	試料採取量 (g)	SO ₂ 定量値 (g/kg)
赤ワイン	有	10.0	10	+	20.0	0.067
かんぴょう	有	10.0	50	+	0.1	1.8
乾燥マンゴー	有	10.0	10	+	5.0	0.32
中華くらげ	有	10.0	10	-	2.0	0.008

3 試行の平均値

*アルカリ滴定法

(マイクロビュレット使用、0.01mol/L 水酸化ナトリウム溶液を 10 倍希釈して使用)

[文献]

日本薬学会編：衛生試験法・注解 2015、352 (2015)、金原出版