

シングル四重極質量分析計を用いた食品および飲料中の亜硫酸塩の分析

吉岡 紗穂、前島 希

ユーザーベネフィット

- ◆ 酸化防止剤としてさまざまな食品や飲料に添加される亜硫酸塩の高速分析が可能です。
- ◆ FDAが発行するメソッド (C-004.03) を参考にしており、良好な定量が可能です。
- ◆ 前処理において特別管理物質であるジクロロメタンを用いないため、安全な前処理が可能です。

はじめに

亜硫酸塩は、酸化防止剤および漂白剤として使用される最も一般的な食品添加物の一つであり、ドライフルーツや野菜、冷凍エビ、ジュース、ワインなどのさまざまな製品に添加されています。非常に有用な食品添加物ですが、亜硫酸塩を大量に含む製品の摂取によりアレルギーのような反応を引き起こすことが知られています¹⁾。そのため、米国食品医薬品局 (FDA) は亜硫酸塩を 10 mg/kg 以上含む食品には表示を求めており、亜硫酸塩の定量分析法も公表しています²⁾。アプリケーションニュース No. 01-00450A-JP では、FDA が提案する分析法を参考にした、トリプル四重極質量分析による食品および飲料中の亜硫酸塩の定量分析例をご紹介します。本稿では、特別管理物質であるジクロロメタンを用いない前処理方法と、LCMS-2050 を用いた亜硫酸塩の定量分析方法をご紹介します。

加圧式サンプル処理マニホールドPRESSURE+ (Biotage) を使用し、メタノール 3 mL および 0.2% ホルムアルデヒド抽出液 3 mL で SPE カートリッジをコンディショニングしました。コンディショニングでジクロロメタンを用いなかった場合と用いた場合の回収率を比較したところ、差は -7 から 5% だったため、ジクロロメタンを用いることなく精製を行いました。

次にドライフルーツまたはワインの抽出物を SPE カートリッジに通液し、最初の 2 mL は廃棄後、次の 2 mL を回収しました。回収した溶出液は 80℃ で 30 分間熱処理を加えたあと、室温まで冷却しました。

LC-MS 分析：溶出液を 100 µL とり、5 µg/mL の内部標準溶液 50 µL およびアセトニトリル 350 µL と混合し、フィルターを通した溶液を LC-MS にて分析しました。分析条件は表 1 に示します。



図 1 Nexera™ と LCMS™-2050

前処理および分析条件

亜硫酸塩は 0.2% ホルムアルデヒド抽出液と混合し、ヒドロキシメチルスルホネート (HMS) に変換して検出しました。検量線用標準試料には亜硫酸ナトリウム Na_2SO_3 を、内部標準には同位体標識した $\text{Na}_2^{34}\text{SO}_3$ を、それぞれホルムアルデヒド抽出液に溶解し HMS に変換して使用しました²⁾。

0.2% ホルムアルデヒド抽出液：2% ホルムアルデヒド抽出液として、50 mM 酢酸アンモニウムを含む 2% ホルムアルデヒド溶液 (酢酸で pH 4.5 に調整) を調製しました。これを水で 10 倍に希釈し、0.2% ホルムアルデヒド抽出液として使用しました。

ドライフルーツ抽出物の調製：ドライアイスを用いて凍結粉砕したドライフルーツ 5 g に 0.2% ホルムアルデヒド抽出液 40 mL を加え、超音波処理を 8 分間行いました。4000xg で 10 分間遠心後、デカンテーションで上清を回収し、抽出液を加えて 50 mL にしました。

ワイン抽出物の調製：ワイン 1 g を 0.2% ホルムアルデヒド抽出液で希釈し、10 mL にしました。

SPE カートリッジ精製および熱処理：SPE カートリッジ (InertSep C18, 500 mg/6 mL, GL Sciences) を用いてドライフルーツおよびワインの抽出物から脂質成分の除去を行いました。

表 1 LC-MS 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X3)	
Column	: InertSustain AX-C18 [†] (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm)
Mobile phase A	: 2 mM ammonium formate / 0.1% formic acid / water
Mobile phase B	: 0.1% formic acid / Acetonitrile
Flow rate	: 0.2 mL/min
Gradient program	: B conc. 30% (0-10 min) – 100% (10.01-15 min) – 30% (15.01-20 min)
Column temp.	: 30 °C
Injection volume	: 2 µL
[MS conditions] (LCMS-2050)	
Ionization	: ESI/APCI (DUIS™), Negative mode
Mode	: SIM (<i>m/z</i> 111, 113)
Interface voltage	: -0.5 kV
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 5.0 L/min
Heating gas flow	: 7.0 L/min
Desolvation temp.	: 250 °C
DL temp.	: 150 °C
Probe position	: +2 mm

*1 P/N : 5020-91038

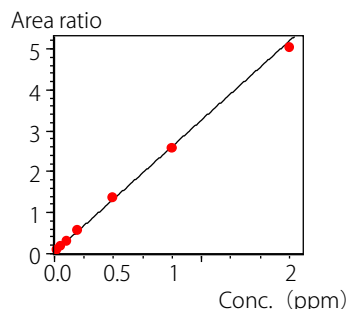


図 2 HMS の検量線

■ 検量線およびマスクロマトグラム

検量線を図2に示します。また、標準試料および添加回収試験におけるHMSのマスクロマトグラムを図3に示します。0.02~2 ppmまでの範囲で $R^2 > 0.999$ ($n = 3$) の良好な直線性を有する検量線を作成することができました。

■ 定量結果および添加回収試験

ドライフルーツであるレーズン、パイナップル、マンゴーと、赤ワインおよび白ワインについて亜硫酸塩の定量を行いました。結果を表2に示します。パイナップルとマンゴーはSPEカートリッジ溶出液を0.2%ホルムアルデヒド抽出液で10倍希釈後、内部標準およびアセトニトリルと混合した溶液をLC-MS分析しました。その他のサンプルについては追加の希釈をせず分析しました。

亜硫酸塩が未検出、または亜硫酸塩添加量が低かった4点のサンプル（レーズン、赤ワイン、白ワイン、水）について、添加回収試験を行いました。Na₂SO₃を添加後、抽出処理または希釈を行い、SPEカートリッジでクリーンアップを行いました。結果を表3に示します。すべてのサンプルにおいて、表示義務となる10 mg SO₂/kg foodの添加量で良好な回収率を得ました。

■ まとめ

ドライフルーツおよびワイン中の亜硫酸塩分析について紹介しました。表示義務のある10 mg/kg以下で良好な回収率を得ました。この分析法は、前処理がより安全で、かつ表示義務のある食品中亜硫酸塩のシングル四重極質量分析計による定量分析を可能にします。

表2 ドライフルーツおよびワイン中の亜硫酸塩定量結果

Food/Beverage	HMS濃度 (ppm)	SO ₂ 換算値 (mg/Kg food)
Raisin	ND	(0.00)
Pineapple	14.8*	376.4*
Mango	10.4*	264.7*
Red wine	ND	(0.00)
White wine	0.2	6.1

*希釈サンプルの結果から換算しています。

表3 添加回収試験における回収率 (%、n=3)

Food/Beverage	回収率 (%)
Raisin	103.5
Red wine	95.4
White wine	98.4
Water	96.0

<参考文献>

- 1) Carlos, K. S., & de Jager, L. S. (2017). Determination of sulfite in food by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 100(6), 1785–1794.
- 2) U.S. Food and Drug Administration (2021). Method number: C-004.03, Determination of Sulfites in Food using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

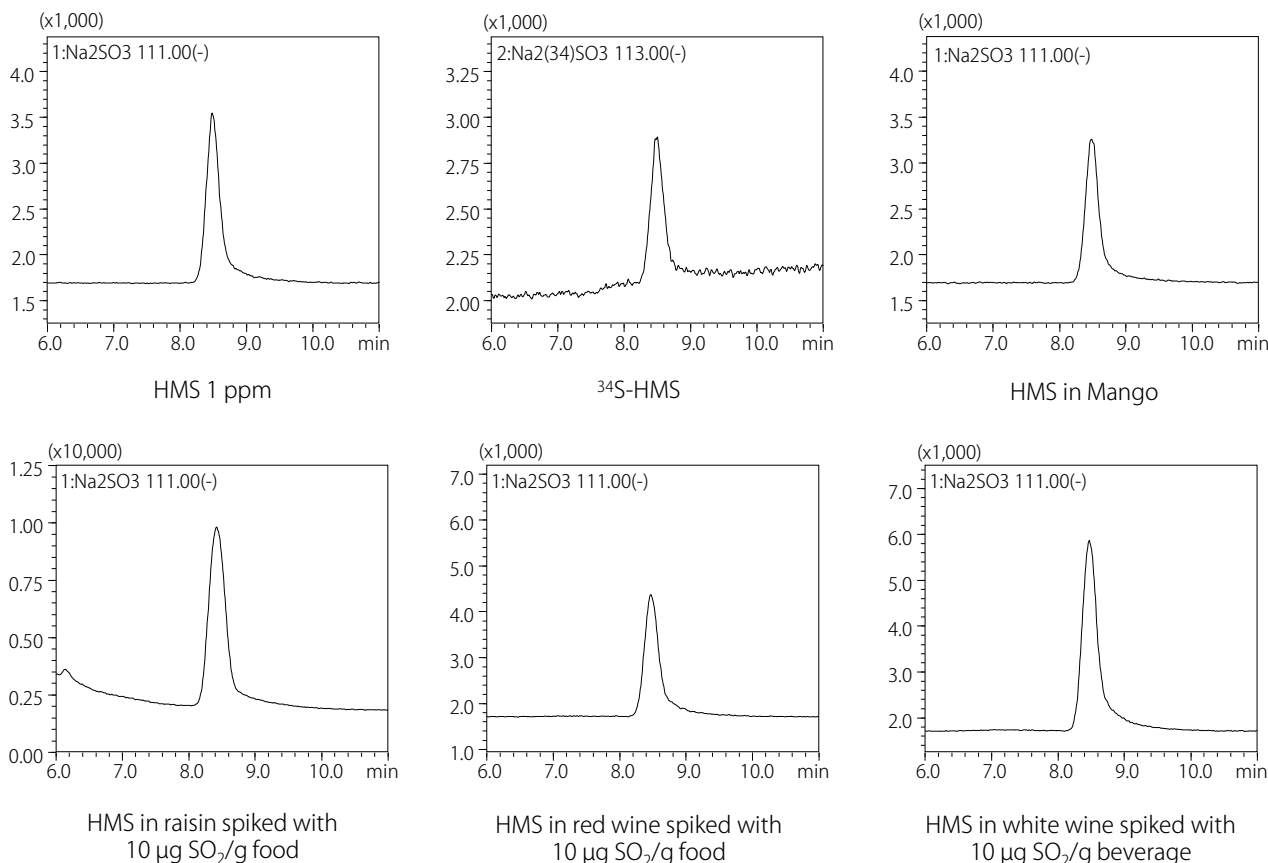


図3 HMSおよび内部標準³⁴S-HMSのマスクロマトグラム

LCMS、DUIS、Nexeraは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

[> アンケート](#)

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



[> LCMS-2050](#)
シングル四重極質量分析計

関連分野

[> 食品・飲料](#)

[> 食品添加物](#)

[> 価格お問い合わせ](#)

[> 製品お問い合わせ](#)

[> 技術お問い合わせ](#)

[> その他お問い合わせ](#)