

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、山口亮、小林まなみ

株式会社島津製作所 分析計測事業部 Solutions COE ヘルスケアソリューションユニット

◆背景・目的

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、ドライフルーツやワインなどのさまざまな製品に添加されている。非常に有用な食品添加物だが、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る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る²⁾。

本研究では、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 (島津製作所) を用いた亜硫酸塩の定量分析方法を報告する。

◆方法

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) に変換して検出した。検量線用標準試料には亜硫酸ナトリウムNa₂SO₃を、内部標準には同位体標識したNa₂³⁴SO₃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碎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分間行った。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った。加圧式サンプル処理 マニホールド PRESSURE+ (Biotage) を使用し、ジクロロメタン3 mL、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った。

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を回収した。回収した溶出液は、80℃で30分間熱処理を加えて遊離の亜硫酸塩をHMSに変換したあと、室温まで冷却した。

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、フィルターろ過した溶液をLC-MSにて分析した。分析条件は表1に示す。

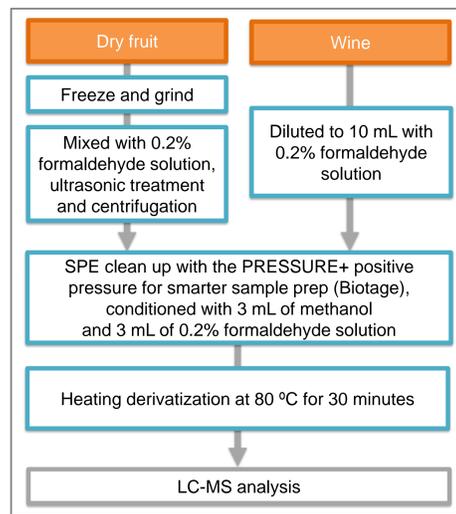


図1 前処理ワークフロー



図2 LCMS™-2050

表1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera™ X3)

Column	: InertSustain AX-C18 [†] (100 mm x 2.1 mm I.D., 3.0 μm)
Mobile phase A	: 2 mM Ammonium formate-0.1% Formic acid-Water
Mobile phase B	: 0.1% Formic acid-Acetonitrile
Gradient program	: B conc. 30% (0-10 min) - 100% (10.01-15 min) - 30% (15.01-20 min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column temp.	: 30 °C
Injection volume	: 2 μL

[MS conditions] (LCMS-2050)

Ionization	: ESI/APCI (DUIS™), Negative mode
Mode	: SIM (m/z 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

◆検量線およびマスクロマトグラム

検量線と、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に示す。0.02~2 ppmまでの範囲で決定係数R² > 0.999 (n = 3) の良好な直線性が得られた。

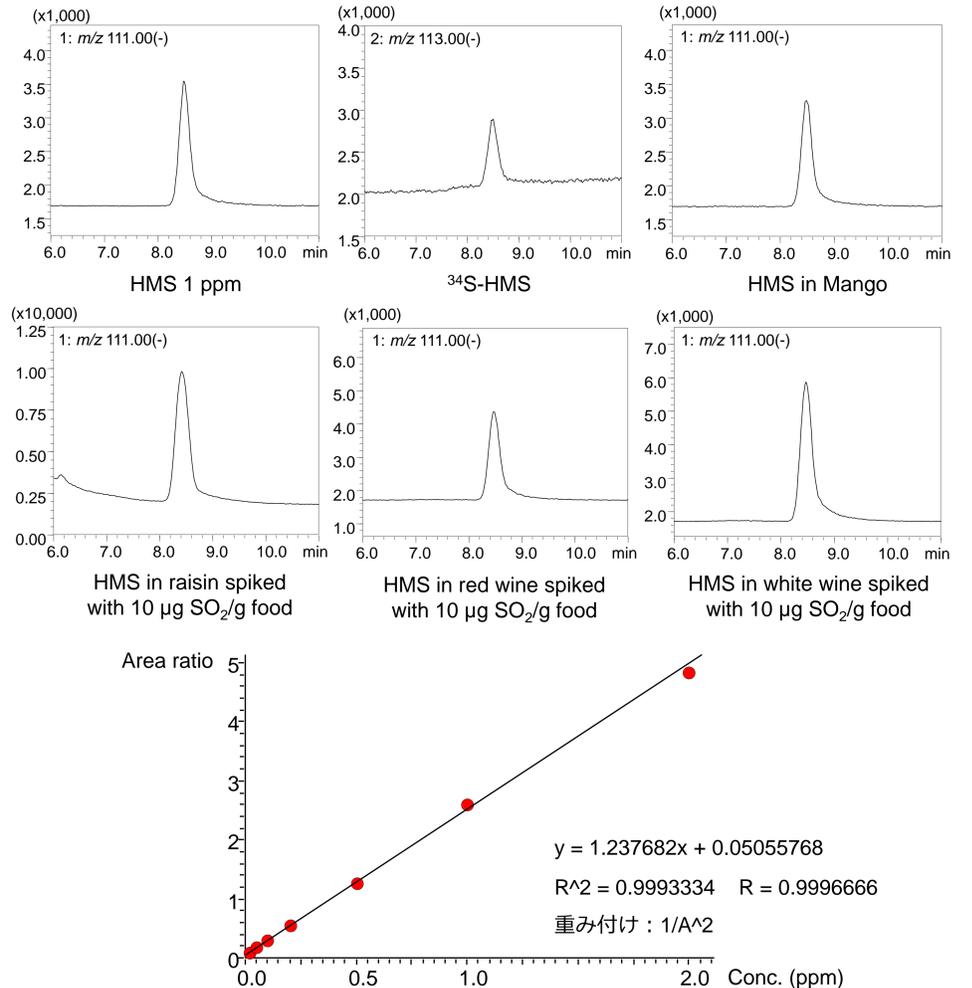


図3 各HMSおよび内部標準³⁴S-HMSのマスクロマトグラム (上) およびHMSの検量線 (下)

◆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った。結果を表2に示す。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分析に供した。その他のサンプルについては追加の希釈をせず分析を行った。

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) について、添加回収試験を実施した。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った。結果を表3に示す。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られた。

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	(0.0)
Pineapple	14.8*	376.4*
Mango	10.4*	264.7*
Red wine	ND	(0.0)
White wine	0.2	6.1

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

◆結論

ドライフルーツおよびワイン中の亜硫酸塩を分析し、表示義務のある10 mg/kg以下で良好な回収率を得た。本分析法では、特別管理物質であるジクロロメタンを使用しない安全な前処理を実現した。また、取り扱いが簡易なシングル四重極質量分析計を用いて食品中の亜硫酸塩を正確に定量可能であり、従来の滴定法や比色定量法よりも簡便かつ精度の高い手法である。

<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)