

8. 清涼飲料水中のリン酸塩について

Studies on Phosphates in Soft Drinks

白石由美子 鈴木 俊一 山口 敏幸
小林 義明* 岸 信夫 川越 章善
富所 謙吉

Yumiko Shiroishi, Shunichi Suzuki, Toshiyuki Yamaguchi,
Yoshiaki Kobayashi, Nobuo Kishi, Fumiyoshi Kawagoe
and Kenkichi Tomidokoro.

1 緒 言

最近、多くの食品に品質改良剤として、種々のリン酸塩、縮合リン酸塩が使用されている。添加量については未だ規制はないが、リン酸塩の過度の摂取については、カルシウム代謝への影響が問題とされている。

従来、食品中のリンの試験法としては試料を分解し、リンモリブデンブルーとして発色させて測定する比色法¹⁾が一般的であった。

今回、衛生試験法²⁾に採用となった清涼飲料水中のリン酸塩の試験法は、試料を陰イオン交換樹脂に通してリン酸を分離し、これをモリブデンと反応させ、酢酸-n-ブチルで抽出して、モリブデンを原子吸光法で測定する。

しかし、従来からの比色法が簡便でもあり、また原子吸光法での使用溶媒の不快臭の問題もある為、両法について比較検討した。

また、陰イオン交換樹脂による試験溶液の調製法を若干改良し、併せて市販品の実態調査を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 試 薬

正リン酸標準原液：リン酸-n-ナトリウム ($\text{NaH}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 特級) 2.198 g を水に溶か

して 1,000 ml とした (P_2O_5 として 1,000 ppm)。

これを随時希釈した。

縮合リン酸標準原液：ピロリン酸カリウム ($\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$) 2.324 g, トリポリリン酸ナトリウム ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) 1.727 g をそれぞれ水に溶かして 1,000 ml とした。これを 1:1 に混合した (P_2O_5 として 1,000 ppm)。

アンモニア緩衝液：0.01M アンモニア水と 0.01M 塩化アンモニウム溶液を混合した後、pH 9.3 に調製した。

塩化カリウム・アンモニア緩衝液：アンモニア緩衝液に 0.2M となるよう塩化カリウムを溶解した。

モリブデン試薬：モリブデン酸アンモニウム 25 g を水 300 ml に溶かし、硫酸 75 ml を水で 200 ml に希釈した液を加えた。

ハイドロキノン溶液：ハイドロキノン 0.5 g を水 100 ml に溶かし、硫酸 1 滴を加えた。

亜硫酸ナトリウム溶液：10% 溶液とした。

陰イオン交換樹脂：DOWEX 1×4 (100~200 メッシュ)、Dow Chemicals 社製。アセトン、1N 水酸化ナトリウム溶液で洗い、1N 塩酸で活性化して使用。

活性炭：Darco G-60

酢酸-n-ブチル：原子吸光用 (ウロコ印)

*札幌市西保健所

ピロリン酸カリウムは一級，トリポリリン酸ナトリウムは規格なし，その他の試薬は特級を使用した。

2.2 装 置

原子吸光装置：日立 518 型原子吸光光度計

比色装置：日立 124 型自記分光光度計

2.3 試験溶液の調製

2.3.1 陰イオン交換樹脂法

試料 20 g をビーカにとり，少量の活性炭を加え，かくはん後ろ過し，アンモニア水で pH 9.3 とする。この溶液をあらかじめアンモニア緩衝液を流した陰イオン交換樹脂カラム（1.5 × 6 cm）に流した後，アンモニア緩衝液 100 ml でカラムを洗浄する。つぎに 0.2 M 塩化カリウム・アンモニア緩衝液 200 ml を流して正リン酸を溶出させ，試験溶液 A とする。

つづいて 6 N 塩酸 100 ml を流して各種の縮合リン酸を溶出させ，水浴上加熱して水解した後，蒸発乾固し，水で溶解，ガラス棒でこすつてろ過後，一定量とし，これを試験溶液 B とした。流速は 2 ~ 3 ml/min とした。

2.3.2 湿式分解法

試料 20 g を 100 ml の分解フラスコにとり，硝酸と過塩素酸で分解する。水を数回加えて，加熱をくり返し硝酸を完全に除去する。分解液に水を加え 200 ml として試験溶液 C とした。

2.4 測定法

2.4.1 原子吸光法

試験溶液 A，B，C とも 10 ml を 100 ml の分液ロートにとり，5 N 過塩素酸 2.5 ml，5% モリブデン酸アンモニウム溶液 2 ml，および酢酸-n-ブチル 10 ml を加えてふりまぜる。

上層を分取し，この中のモリブデン量を原子吸光法で測定した。

別に正リン酸塩標準溶液 20 μg ~ 120 μg をとり，水を加え同様に操作して，検量線を作成し，この検量線より試料中のリン酸塩を P₂O₅ として

求めた。

原子吸光条件

光源：モリブデンカソードランプ

波長：313.4 nm

電流：10 mA

圧量：空気 1.8 kg/cm² 13 L/min

アセチレン 0.1 kg/cm² 0.15 L/min

2.4.2 比色法

試験溶液 A，B，C とも 10 ml ずつ 25 ml のメスフラスコにとり，モリブデン試薬，ヒドロキノン溶液，亜硫酸ソーダ溶液を各 2 ml ずつ加え，水で一定量とし，30 分後 650 mμ で比色した。

正リン酸塩標準溶液 50 ~ 250 μg を同様に操作して，検量線を作成し，この検量線から試料中のリン酸量を求めた。

3 結 果

3.1 カラム交換容量の検討

1.5 × 6 cm のカラムでリン酸の吸収容量が不足かどうか検討した。5 mg，20 mg，50 mg，100 mg のリン酸塩水溶液を添加し，比色法で回収率を測定した（表 1）。

表 1 カラム交換容量検定

添 加 量	回収率
リン酸 (P ₂ O ₅ として) 5 mg	101 %
〃 20 mg	110 %
〃 50 mg	105 %
〃 100 mg	102 %

3.2 試験方法の比較

正リン酸として比べる目的で，固形物がなく，縮合リン酸塩の検出されない清涼飲料水を用いて，湿式分解法，陰イオン交換樹脂法の両方で試験溶液を調製し，それぞれについて比色法と原子吸光法で測定して比較した。

いずれの組合せについても有意の差があるとはいえなかった（t 検定）（表 2）。

表2 試験溶液の調製法, 測定法の比較

試験溶液の調製法	比 色 法			原 子 吸 光 法		
イオン交換樹脂法	97 ppm, 97, 97, 114			85 ppm, 92, 88, 104		
	\bar{x}	σ	C	\bar{x}	σ	C
	101.2	8.5	0.084	92.3	8.3	0.090
湿式分解法	90 ppm, 105, 105, 105, 102			88 ppm, 100, 96, 104, 100		
	\bar{x}	σ	C	\bar{x}	σ	C
	101.4	6.5	0.064	97.6	6.1	0.063

\bar{x} →平均値 σ →分散 C→変動係数

検量線は、原子吸光法では $12 \mu\text{g}/\text{ml}$ 程度迄は直線性を示したが、それ以上の部分ではねる傾向にあった。一方、比色法では直線を示す範囲が広く、 $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上まで直線性を示した(図1)。

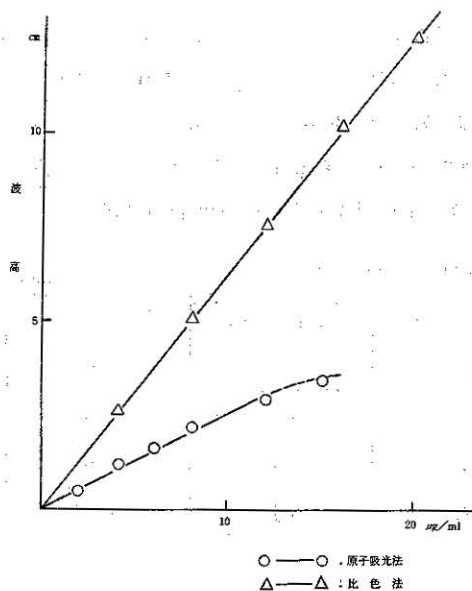


図1 リン酸検量線

3.3 回収率

正リン酸塩標準溶液(10mg), 縮合リン酸塩標準溶液(10mg)陰イオン交換樹脂カラムにのせ、各溶出画分における回収率を比較検討した。0.2 M塩化カリウム・アンモニア緩衝液画分に、加水分解された縮合リン酸が一部検出されたが、回収率は正リン酸、縮合リン酸とも平均99%と良好であった(表3)。

表3 回収試験(P_2O_5 として)

	正リン酸		縮合リン酸	
	0.2 M KCℓ 画分	6 N HCℓ 画分	0.2 M KCℓ 画分	6 N HCℓ 画分
1	101 %	nd	19 %	101 %
2	100 %	nd	30 %	99 %
3	97 %	nd	30 %	98 %
平均	99 %		26 %	99 %

つづいて検体での回収率をみるため、試験法の検討に用いた清涼飲料水に1,000 ppmとなるように正リン酸塩標準溶液(20mg)を添加し、無添加の時の測定値を差引いて回収率を求めた。これについても平均94%と、良好な回収率であった(表4)。

表4 添加試験

	検出量	回収率
1	954 ppm	95 %
2	927 ppm	93 %
3	954 ppm	95 %
平均	945 ppm	94 %

3.4 市販清涼飲料水の実態調査

市販の清涼飲料水29件について陰イオン交換樹脂法、比色法の組合せで、実態調査を行った。正リン酸については24件(82%)から検出され、最高300 ppm程度であった(表5)。

表5 市販清涼飲料実態調査 (P₂O₅として)

ppm

清飲種類	検体数	正リン酸		縮合リン酸	
		検出範囲	平均	検出範囲	平均
コーラ	2	270～290	280	nd	
ガラナ	1	nd		nd	
甘酒	2	40～90	70	nd	
サイダー	3	nd		nd	
果汁入飲料	16	nd～260	90	nd～110	10
トマト・野菜飲料	3	130～180	150	nd～10	
果汁入酵素飲料	2	20～100	60	10～430	220
計	29	検出件数	24	検出件数	7

縮合リン酸は微量のものも含めて7件(24%)から検出され、一件のみ400 ppm以上の数値を示した。

また、固形物入りで比較的リン酸塩の多いもの4件について湿式分解を行って総リン量から正

リン酸を換算し、陰イオン交換樹脂法で調製した試験溶液から検出したリン酸量を差引いたものを、天然換算のリン酸量として算出した(表6)。この差は固形物からの天然由来のリン化合物と思われるが、P₂O₅換算として100～200 ppm前後であった。

表6 市販清涼飲料分別定量例 (P₂O₅として)

ppm

	総リン酸	正リン酸	縮合リン酸	差(天然)
野菜ジュース(100%)	420	180	nd	240
プルーンジュース(100%)	490	260	110	120
バナナジュース(100%)	260	140	nd	120
あまざけ	200	90	nd	120

4 考 察

外海ら⁸⁾は15×60cmの樹脂カラムを使用して。今回、われわれは15×6cmの短い樹脂カラムを使用し、その交換容量を検討したが、リン酸塩100mgを添加した場合でも十分に回収された。この量は清涼飲料水ではリン酸塩濃度5,000 ppmに相当し、普通市販品では500 ppm以下であることから、15×6cmのカラム樹脂量で十分であろうと考えられる。

リンの比色法において、酸濃度、種類が呈色に大きく影響するのは通説⁴⁾であるが、原報²⁾では試験溶液の調製過程で、縮合リン酸塩を含む6N塩酸溶出液を4分の1に加熱濃縮して試験溶液としている。その為、この溶液はかなり酸濃度が高く、標準溶液の酸濃度と異り、正確な測定値が出ないのではないかと考えられた。

われわれは100 μgのリン酸標準溶液2つをとり、片方には別に全体溶液量の3分の1の6N塩

酸を加え、原報通りに操作を行い、原子吸光法で測定したところ、波高は対照の約3倍となった。

また、6分の1の6N塩酸を加えて、比色法で測定したところ、発色は対照の7分の1以下となった。

このように、原子吸光法、比色法ともやはり塩酸濃度が測定値に影響をおよぼすので、われわれは6N塩酸溶出液を水浴上で完全に乾固し、水で溶解して試験溶液とし、標準溶液と酸濃度を一致させて測定した。

試験溶液の調製法については、陰イオン交換樹脂法が、同時に数多くの検体を処理することができるという利点がある。

また、正リン酸と縮合リン酸とを分別定量でき、かつ正リン酸がバックグラウンド量に比して明らかに多い場合、および縮合リン酸が検出された場合は添加されたものと判定出来る。

一方、湿式分解法では、天然のリン化合物、添加された正リン酸塩、縮合リン酸塩の総リン量が検出される。

したがって、両法を組合せることにより、ある程度の天然のリン化合物、正リン酸塩縮合リン酸の分別定量ができる。

測定法については、亜酸化窒素ガスが一般的でないこともあり、外海⁸⁾らのように亜酸化窒素ガスを使用しなかったが、空気、アセチレンガス使用の原子吸光法では測定範囲がせまかった。

一方、比色法は簡便であり、清涼飲料水においては妨害物も少く、再現性も良いことから、清涼飲料水中のリン酸塩測定においては実用的な測定法と考えられる。

5 結 語

1) 清涼飲料水中のリン酸塩の試験法を検討した結果、試験溶液の調製は陰イオン交換樹脂法、測定は比色法の組合せが良かった。

2) 測定時の酸濃度の影響をさけるために、試験溶液調製の為の縮合リン酸塩溶出6N塩酸溶液を水浴上加熱乾固して、酸を完全にとばし、水に溶解して試験溶液を調製するように改良した。

3) 清涼飲料水29件中、正リン酸は24件(82%)から、縮合リン酸は7件(24%)から検出された。

4) 4件の清涼飲料水について、湿式分解法、陰イオン交換樹脂法の両方の試験溶液調製を行ってリン酸量を測定し、差をとることにより、おおよその天然由来と思われるリン化合物、正リン酸、縮合リン酸の分別定量をした。

6 参考文献

- 1) 日本薬学会編：「衛生試験法注解」 67 (1973)，金原出版
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法，A-60，24，(1978)
- 3) 外海泰秀，田中清子：食衛誌 15，331，(1974)
- 4) 田原正邦編．工場排水試験方法解説 132，(1974)，日本規格協会
- 5) 津村周作，一色賢司，渡辺忠雄：北九州市環境衛生研究所年報 5，66(52年度)
- 6) 津村周作，一色賢司，渡辺忠雄：第37回食品衛生学会要旨，25，(1979 東京)