

## イオンクロマトグラフィーによる市販農産缶詰中の 各種リン酸イオンの分析

高橋 英史, 稲田有美子, 安福 美幸, 森 大蔵

### Analysis of Various Phosphate Anions in Commercial Canned Vegetable Foods by Ion Chromatography

Hidehito Takahashi, Yumiko Inada  
Miyuki Yasufuku and Daizo Mori

Phosphates and polyphosphates provide stability against loss of color and improve capacity of water-holding in peas, mushrooms and beans. So they are used as a food additive in some commercial canned vegetable foods. "The Food Sanitation Law" does not specify maximum limits for their use in Japan. Therefore consumers are concerned about the use of phosphates and polyphosphates in canned food processing, and anxious that their increased use may attain a level being harmful to human health. Until ion chromatography was developed, there was no easy method of analyzing phosphates and polyphosphates. The object of our study was to measure various phosphate anions in commercial canned vegetable foods by ion chromatography. Results indicated that each sample has hypophosphate and orthophosphate anions. Some commercial canned vegetable foods have tripolyphosphate and tetrapolyphosphate anions. But total concentration of phosphate anions contained in each can was shown to be harmless.

**Key words:** phosphate, polyphosphate, food additive, ion chromatography, canned vegetable foods, organic acid.

食品添加物であるリン酸塩および縮合リン酸塩は、主に食品製造助剤として種々の加工食品で使用されている。農産缶詰においても、一部の製品で変色防止や保水性の向上のため製造工程中使用されている。

リン酸塩と縮合リン酸塩は、国際食品規格では使用量の最大限度が規制されているが、食品衛生法ではその限度が決められていない。そのため、製品によってリン酸塩および縮合リン酸塩の添加量が異なっている。消費者は、最終製品中に含まれている各種リン酸イオンの総量が、人体に影響を与えるのではないかと懸念している。

これまで、リン酸塩や縮合リン酸塩の分析は難しかったが<sup>1)</sup>、イオンクロマトグラフィー(IC)の発展により、それらをイオンの形でより簡便に分析出来るようになった<sup>2)</sup>。そこで、本報ではイオンクロマトグラフィーにより数種の市販農産缶詰ならびに生の農産物の各種リン酸イオン濃度を調べた。

また、イオンクロマトグラフィーによるリン酸塩の分析において分析を妨害する物質について

も検討した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

グリーンピース水煮缶詰（もどし豆使用，小型2号溶接缶，固形量63.6g，A社，1992年9月24日製），ナメコ水煮缶詰（つぼみ，小型2号溶接缶，固形量49.5g，B社，1992年1月30日製），ギンナン水煮缶詰（小型2号溶接缶，固形量59.0g，C社，1991年3月14日製），ダイズ水煮缶詰（5号溶接缶，固形量205.6g，D社，1992年6月16日製とコーン7号溶接缶，固形量151.2g，E社，1991年7月17日製），ダイズドライパック缶詰（6号溶接缶，固形量141.3g，F社，1992年9月17日製），マッシュルームホール水煮缶詰（小型2号缶，固形量54.2g，G社，1992年10月19日製），マッシュルームスライス水煮缶詰（中国産戻し原料使用，小型2号缶，固形量51.9g，H社，1992年8月6日製），および，生試料のグリーンピース *Pisum sativum* L.，ナメコ *Pholita nameko* (T. Ito) S. Ito & Imai in Imai，ギンナン *Ginkgo biloba* L.，ダイズ *Glycine* Max. Merrill.，マッシュルーム *Agaricus bisporus* (J. Lange) Imbachは，当研究所最寄りの豆屋もしくはスーパーマーケットにて購入した。ただし生試料は農産物が元来含んでいるリン酸イオン濃度の参考とするため実験に供試したもので，市販農産缶詰の原料と同一ではない。

### 2. 供試試薬

次亜リン酸一ナトリウム一水和物 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )，オルトリン酸ナトリウム塩 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )，ピロリン酸四ナトリウム塩十水和物 ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ )，トリポリリン酸五ナトリウム塩六水和物 ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 純度98%，テトラポリリン酸ヘキサアンモニウム塩 ( $(\text{NH}_4)_6\text{P}_4\text{O}_{13}$  純度95%はいずれも Sigma (U.S.A.) 製を，その他の試薬はすべて和光純薬製特級試薬を用いた。水はすべて Elga (U.K.) 製 Elgastat UHQ 超純水製造装置により製造した超純水を使用した。窒素ガスは住友精化製 (ZERO-A) を用いた。

### 3. 実験装置

ICは電気伝導度検出器を内蔵した DIONEX (U.S.A.) 製のサブレッサー式300i型を，記録計は日立製 D-2500型を用いた。

### 4. ICの分析条件

分析カラムが DIONEX 製 Ion Pac AS5 では，オルトリン酸イオンと有機酸のピークが重なるため，次亜リン酸イオンとオルトリン酸イオンの分析には DIONEX 製分析カラム Ion Pac AS4A を使用した。その分析条件は Table 1 に示した。ピロリン酸イオン，トリポリリン酸イオン，テトラポリリン酸イオンの分析には DIONEX 製 Ion Pac AS5 を用いて Table 2 に示した分析条件で分析した。

### 5. 分析方法

市販農産缶詰は常法に従って開缶した。開缶後の固形物，液汁および生試料は，それぞれ Fig. 1 に示した方法で希釈，粉碎，超音波処理，ろ過を行い，分析した。添加回収試験は，20倍に希釈した市販瓶入り100%リンゴジュースおよび同オレンジジュースにイオンの最終濃度が10ppmもしくは3ppmになるようリン酸塩標準試薬を添加し，回収率を求めた。

## 実験結果

### 1. 標準溶液のイオンクロマトグラム

各リン酸塩標準試薬を各々20ppmになるよう調製した標準溶液のイオンクロマトグラムを Fig. 2 に示した。いずれも分離が良く，それぞれの保持時間 (分) は1.04, 1.26, 1.63, 2.89, 5.81で

Table 1. Analytical conditions of IC for phosphates.

Sample Loop Volume	: 25 $\mu$ L
Guard Column	: Ion Pac AG5 (9 $\times$ 50mm)
Analytical Column	: Ion Pac AS5 (9 $\times$ 250mm)
Eluent	: 90mM NaOH
Eluent Flow Rate	: 1.5mL/min
Suppressor	: AMMS-II
Regenerant	: 50mN H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Regenerant Flow Rate	: 13mL/min

Table 2. Analytical conditions of IC for PO<sub>2</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>.

Sample Loop Volume	: 25 $\mu$ L
Guard Column	: Ion Pac AG4A (4 $\times$ 50mm)
Analytical Column	: Ion Pac AS4A (4 $\times$ 250mm)
Eluent	: 90mM NaOH
Eluent Flow Rate	: 1.5mL/min
Suppressor	: AMMS-II
Regenerant	: 50mN H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Regenerant Flow Rate	: 13mL/min

あった。SIGMA 製以外の試薬は純度が悪く、特に縮合リン酸塩では他の数種類のリン酸塩が混入しており、単品でも単一のピークが得られなかった。

## 2. 妨害物質の影響

Ion Pac AS5は、通常のリン酸塩分析において問題は生じなかった。各種アミノ酸、グラニュー糖のような糖溶液はリン酸塩分析を妨害しなかった。

しかし、有機酸を含むサンプルの分析においては、有機酸とオルトリン酸イオンの溶出時間がほぼ同じであるためピークが重なった。オルトリン酸イオン濃度が10ppm、クエン酸濃度が0.3ppmになるよう調製した溶液を分析すると、Fig. 3に示したイオンクロマトグラムが得られた。二つのピークは重なりあい、分離しなかった。リンゴ酸、乳酸、酢酸、酒石酸等の有機酸でもクエン酸と同様にオルトリン酸イオンのピークと重なった。このことから有機酸がオルトリン酸イオンの分析を妨害することが分かった。そこで、陰イオン分析用の分析カラム Ion Pac AS4Aを用い有機酸の妨害について検討した。Table 2の条件下でオルトリン酸イオンとクエン酸を同時分析すると、Fig. 4に示したようにクエン酸濃度を6mMまであげても二つのピークは重ならなかった。Ion Pac AS4Aを用いることで妨害物質の影響を受けずにオルトリン酸イオンの分析ができるようになった。

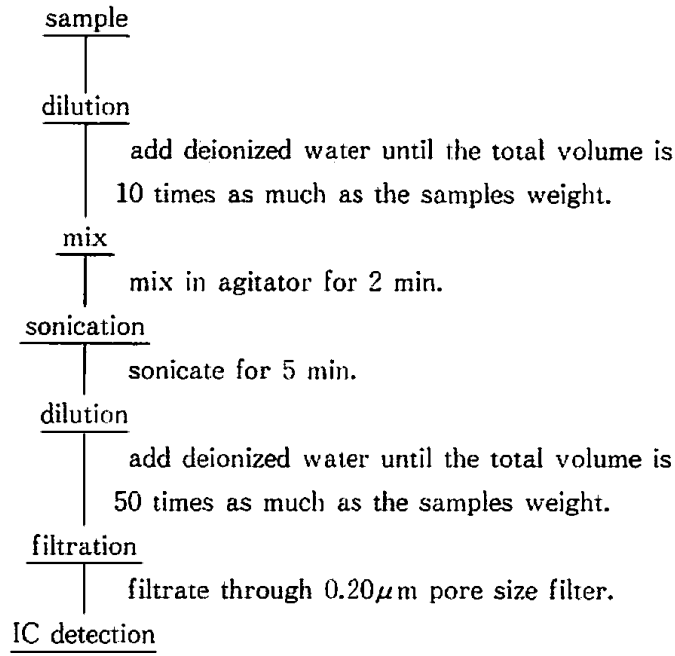


Fig. 1. Procedure for the analysis of phosphate anions in commercial canned foods and fresh foods.

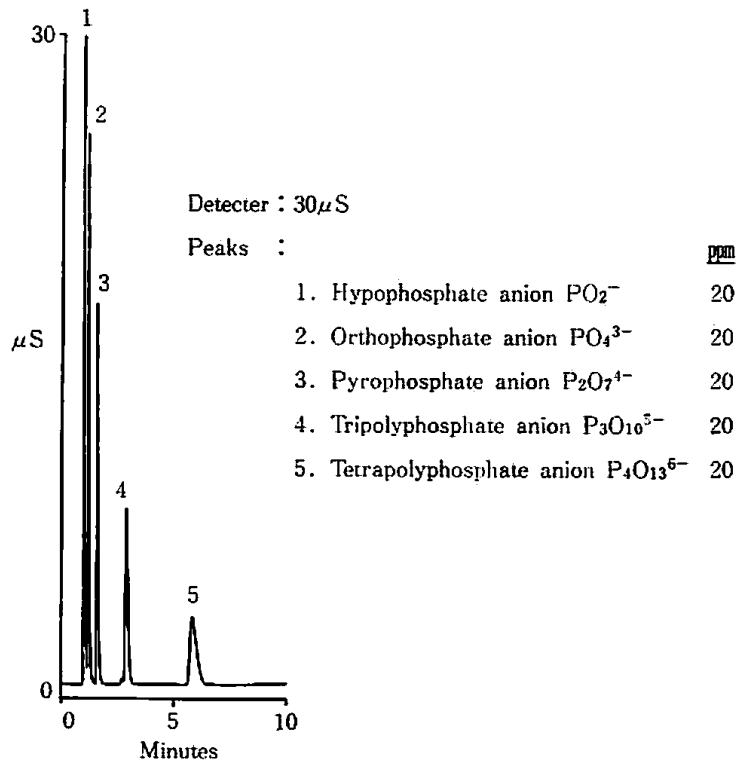


Fig. 2. Ion chromatogram of standard solution.

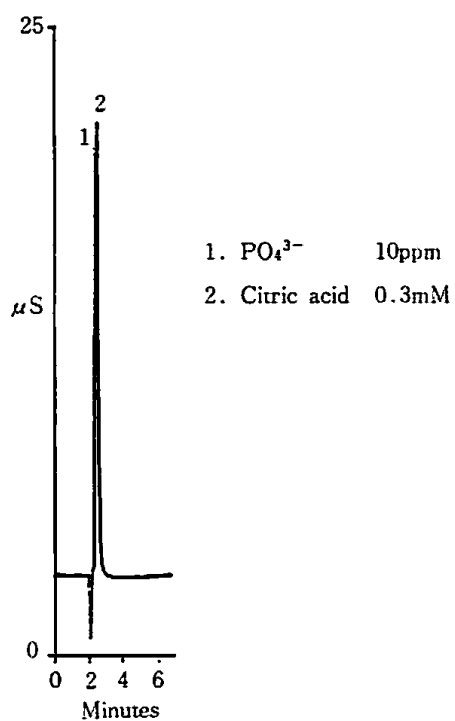


Fig. 3. Ion chromatogram of standard  $\text{PO}_4^{3-}$  solution containing citric acid on AS5 column.

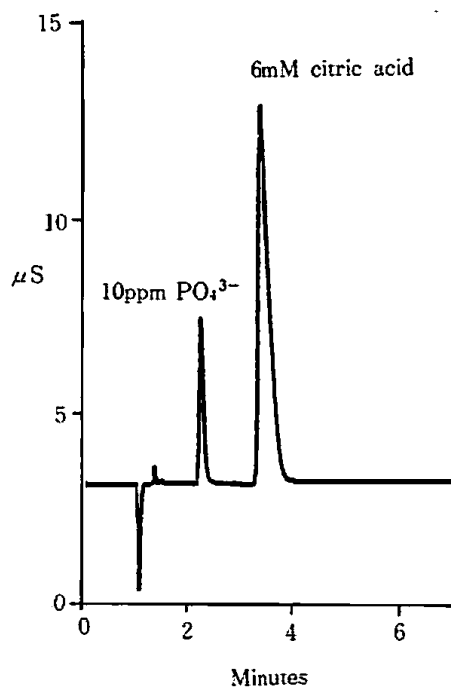


Fig. 4. Ion chromatogram of standard  $\text{PO}_4^{3-}$  solution containing citric acid on AS4A column.

ただし、Ion Pac AS4Aでは交換容量不足のため縮合リン酸イオンの分析ができない。そこで次亜リン酸イオンとオルトリン酸イオンはIon Pac AS4Aで、ピロリン酸イオン、トリポリリン酸イオンとテトラポリリン酸イオンはIon Pac AS5を用いることにした。

### 3. 添加回収試験

添加回収試験の結果はTable 3に示した。100%アップルジュース20倍希釈溶液における次亜リン酸イオン、オルトリン酸イオン、ピロリン酸イオン、トリポリリン酸イオン、テトラポリリン酸イオンの回収率はそれぞれ83.1, 99.2, 94.0, 93.0, 94.3%であった。それぞれの測定値の変動係数は5.78, 4.37, 4.20, 8.83, 6.71であった。同様に100%オレンジジュース20倍希釈溶液における次亜リン酸イオン、オルトリン酸イオン、ピロリン酸イオン、トリポリリン酸イオン、テトラポリリン酸イオンの回収率はそれぞれ86.4, 97.8, 90.3, 89.3, 95.3%であり、測定値の変動係数は1.95, 2.07, 6.64, 6.63, 6.34であった。

Table 3. Recoveries of phosphate anions added to apple and orange juice.

Sample	Added phosphate (ppm)	Found phosphate <sup>a)</sup> (ppm)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	SD <sup>b)</sup>	CV <sup>c)</sup> (%)
apple <sup>d)</sup> juice	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0	5.04		
		10	13.35	83.1	0.771
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0	0.99		
		10	10.91	99.2	0.476
	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup>	0	ND <sup>e)</sup>		
		3	2.82	94.0	0.118
	P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> <sup>5-</sup>	0	ND		
		3	2.79	93.0	0.246
	P <sub>4</sub> O <sub>13</sub> <sup>6-</sup>	0	ND		
		3	2.83	94.3	0.190
orange <sup>d)</sup> juice	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0	4.46		
		10	13.10	86.4	0.255
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0	1.09		
		10	10.87	97.8	0.225
	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup>	0	ND		
		3	2.71	90.3	0.180
	P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> <sup>5-</sup>	0	ND		
		3	2.68	89.3	0.178
	P <sub>4</sub> O <sub>13</sub> <sup>6-</sup>	0	ND		
		3	2.86	95.3	0.181

a) average of three trials.

b) standard deviation.

c) coefficient of variation.

d) Added deionized water until the total volume is 20 times as much as each 100% juice.

e) ND : not detected.

#### 4. 市販農産缶詰と生試料中の各種リン酸イオン含有量

分析結果を Table 4 に示した。缶詰では、次亜リン酸イオンは大豆水煮に多く約2300ppm、マッシュルームホールに少なく約250ppmであった。オルトリン酸イオンはグリーンピースに多く約1500ppm、ギンナンに少なく約440ppmであった。一方、生試料では前者はマッシュルームに多く約1690ppm、ナメコに少なく約85ppmであった。後者もマッシュルームに多く約3350ppm、ナメコに少なく約1600ppmであった。

Table 4. Contents of phosphate and polyphosphate anions  
in commercial canned foods and fresh foods (ppm).

Sample	PO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup>	P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> <sup>5-</sup>	P <sub>4</sub> O <sub>13</sub> <sup>6-</sup>
<u>Greenpeas</u>					
canned ; solids	371.8	573.5	—	—	0.9
canned ; liquid	592.2	939.2	—	—	—
fresh	603.3	3005.2	—	27.7	—
<u>P. Namekos</u>					
canned : solids	172.9	285.4	48.8	13.7	9.4
canned ; liquid	192.6	394.8	83.5	4.2	—
fresh	84.6	1602.8	—	—	—
<u>Gingkos</u>					
canned ; solids	178.2	215.2	—	107.8	—
canned : liquid	248.8	226.6	—	108.1	—
fresh	484.5	1804.2	—	225.2	—
<u>Soybeans</u>					
D company					
canned ; solids	1249.7	486.4	—	—	—
canned ; liquid	1062.9	388.4	—	—	—
E company					
canned : solids	989.5	255.4	—	—	495.1
canned : liquid	1551.1	351.7	—	—	114.2
F company					
vacumm packed solids	292.3	652.1	—	—	—
fresh	690.3	2352.8	—	15.3	—
<u>Mushrooms whole</u>					
canned ; solids	82.0	217.5	—	26.8	—
canned ; liquid	171.4	315.4	—	32.3	—
<u>Mushrooms sliced</u>					
canned ; solids	145.7	237.7	34.2	5.7	2.8
canned ; liquid	276.5	642.4	22.4	68.8	7.6
fresh	1690.9	3350.0	—	19.0	—

グリーンピース水煮缶詰において、市販缶詰中のオルトリン酸イオン濃度は、生試料中の約1/3であったが、このようなオルトリン酸イオンの減少は農産缶詰一般に見られる傾向であった。また、固形物中にテトラポリリン酸イオンが含まれていた。

ナメコ水煮缶詰は、固形物中にテトラポリリン酸イオンが9.4ppm含まれていたが、液汁中には含まれていなかった。

ギンナン水煮缶詰は、ギンナン生試料中に含まれるポリリン酸イオン225.2ppmの約半分に相当する107.8ppmが固形物中に、108.1ppmが液汁中に含まれていたが、ピロリン酸イオンは含まれていなかった。

大豆缶詰においては、D社の水煮缶詰とF社のドライパック缶詰にはテトラポリリン酸イオンが含まれていなかったが、E社の水煮缶詰には固形物中に495.1ppm、液汁中に114.2ppm含まれていた。

マッシュルームホール水煮缶詰では、固形物中にも液汁中にもトリポリリン酸イオンが含まれていた。マッシュルームスライス水煮缶詰では、ピロリン酸イオン、トリポリリン酸イオン、テトラポリリン酸イオンが含まれていた。

## 考 察

ナメコ水煮缶詰の次亜リン酸イオン濃度を除き、本研究で供試した試料一般にみられる傾向は、生試料中に元来含まれていた次亜リン酸イオンやオルトリン酸イオン含有量に比べ、缶詰中に含まれていた量はいずれも少なかったということである。その原因は、ブランチングの際に流出したものと考えられる。生試料と缶詰原料が同一ではないので推測の域を出ないが、例えばナメコ缶詰中の次亜リン酸イオンとオルトリン酸イオン濃度が、生試料のそれらより高いのは、縮合リン酸塩の添加により縮合リン酸イオンの加水分解が生じ、次亜リン酸イオン濃度が生試料よりも缶詰の方で高くなったのではないかと考えられる。生試料中に存在しない縮合リン酸塩が、固形物と液汁の両方に存在したことから、縮合リン酸が添加されたのではないかと推測する。ギンナンやマッシュルームは、もともと生試料中にトリポリリン酸イオンが存在するため、ギンナン缶詰やマッシュルームホール缶詰にトリポリリン酸イオンがそのまま残ったと思われる。グリーンピース水煮缶詰、ナメコ水煮缶詰、E社の大豆水煮缶詰、マッシュルームスライス水煮缶詰には、テトラポリリン酸イオンが存在することから、缶詰製造工程中に縮合リン酸塩が添加されたものと推測する。これらの缶詰では測定時にテトラポリリン酸イオンを検出したが、貯蔵中における縮合リン酸イオンの挙動は現在のところ不明である。貯蔵中に加水分解が起きるのか、起きないのか、どのように反応が進むのかということは、今後の研究課題である。

一日一人当たりの総リン摂取量は1000~1600mgである<sup>3)</sup>。カルシウムとリンは、2:1の比率で摂取することが、人体の発育に最も好ましいとされているが、今日の加工食品の使用状況から推定してリンの一日当たりの摂取量は、カルシウムと等量か1200mgまでが適正と言われている<sup>4)</sup>。

マッシュルームスライス水煮缶詰(固形物量45g)を一度に食した場合に摂取するリン量がどのくらいになるか、各リン酸イオン濃度からリン量を算出してみると、次亜リン酸イオン由来のリン量3.22mg、オルトリン酸イオン由来のリン量3.49mg、ピロリン酸イオン由来のリン量0.55mg、トリポリリン酸イオン由来のリン量0.37mg、テトラポリリン酸イオン由来のリン量0.05mgであるため、一缶中のリン量は約7.7mgとなる。これは一日に摂取する総リン量の0.5%~0.7%に相当する。

消化管刺激、出血、腫瘍等を招く恐れ<sup>5)</sup>があり有毒とされるピロリン酸ナトリウムは、マッシュルームスライス水煮缶詰では、一缶当たり1.54mg含まれていた。この値は、体重60kgの人での



最小致死量が3000mg（ウサギM.L.D.50mg/kg<sup>5)</sup>より計算）とすれば、致死量の僅か0.05%にしかすぎない。

本研究結果で最も総リン量が多かったE社の大豆水煮缶詰固形物においても、リン量は114.12mgにすぎず、リン酸ナトリウムを5～7g/人/日（リンとして一日当たり1000～1500mgに相当）経口投与した慢性試験において何ら悪影響はなかった<sup>6)</sup>という報告があることから、缶詰中のリン酸イオンが人体に対して悪影響を与えることはないと考えられる。縮合リン酸塩は、一般的に分子量が大きくなるほど人体での分解と吸収が悪くなり人体には影響が少ないとされている<sup>7)</sup>。そのため、缶詰中に残存する縮合リン酸イオン濃度は特に問題とならないであろう。

## 要 約

市販農産缶詰の一部の製品では、内容物の変色防止や保水性の向上のため、食品添加物であるリン酸塩や縮合リン酸塩が使用されている。食品衛生法では添加限度が決められていないため、最終製品中の残存量が人体に影響を与えるのではないかと、消費者は懸念している。

これまではリン酸塩や縮合リン酸塩の分析は難しかったが、イオンクロマトグラフィーの発展により、それらをより簡便に分析できるようになった。そこでイオンクロマトグラフを用いて、数種の生の農産物と市販農産缶詰中の各種リン酸イオン濃度を測定した。

実験に用いた供試品全てに、次亜リン酸イオンとオルトリン酸イオンが含まれていた。供試缶詰の中にはトリポリリン酸イオンやテトラポリリン酸イオンが含まれていた缶詰もあった。しかし、一缶あたりに含まれる全リン酸イオン濃度は人体に害を与えるレベルではなかった。

## 文 献

- 1) 松永明信, 山本 敦ら: 衛生化学, 34, 70-74 (1988).
- 2) Makoto, C., Hisashi, S.: *Bull. Coll. Agr. & Med., Nihon Univ.*, 47, 197-201 (1990).
- 3) 谷村顕雄, 藤井正美, 義平邦利, 伊藤誉志男, 城 昭雄: 食品中の食品添加物分析解説書, pp. 842-868. 講談社サイエンティフィック, 東京, (1992).
- 4) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 福場博保: リン酸のはたらき, p. 144, 第一出版株式会社, 東京 (1983).
- 5) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 福場博保: リン酸のはたらき, p. 154, 第一出版株式会社, 東京 (1983).
- 6) 東京都都民生活局: 食品添加物の安全性に関する文献調査 (その2), p. 239 (1980).
- 7) 東京都都民生活局: 食品添加物の安全性に関する文献調査 (その3), p. 212 (1980).