生化学分析および食品分析用テストコンビネーション

F-キット　亜硫酸	製品番号	包装単位
TC Sulfite	725 854	30 回

UV テスト

果実、野菜製品、スパイス、ビール、ワインなどの食品、医薬品、排気ガス、空気、水中の亜硫酸塩の測定。

分析物

二酸化硫黄、亜硫酸およびその塩(亜硫酸塩)は天然には非常に低い濃度でしか存在しませんが、食品の工業的製造分野では非常に長い間使用されてきました(硫化)。亜硫酸塩は細胞にとって毒物と見なされるので、代謝では、迅速に酸化され排出されます。

食品中の亜硫酸塩濃度は多くの国で法的に規制されており、その内容量はラベルに表示しなければなりません。

原理(1)

$$\text{亜硫酸塩} + O2 + H_2O \xrightarrow{\text{sulfite-OD}} \text{硫酸塩} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + NADH + H^+ \xrightarrow{\text{NADH-POD}} 2H_2O + NAD^+$$

特異性

亜硫酸オキシダーゼは亜硫酸塩、イソチオシアネートおよびそのグリコシドと反応するので、マスタード、白ネギ、ニンニク、西洋ワサビ、タマネギなどを分析する際にはクリープ反応が起きるか、数値が非常に高く出ます。有機スルフォン酸化合物はクリープ反応の程度を上昇させます。硫化物、チオ硫酸、硫酸塩及び有機のスルフィン酸化合物はこの測定条件下では反応しません。

感度と測定限界

測定感度は試料量(v)が 2.000ml の時の 0.005 吸光度に基づいています。これは 340nm で測定した際の約 0.1mg/l(試料溶液)の亜硫酸塩濃度に相当します。0.3mg/l の測定限界は、最大試料量(v)が 2.000ml の時の吸光度変化量 0.020(340nm)に由来します。

直線性

測定の直線性は 0.6µg 亜硫酸塩/アッセイ(0.3mg 亜硫酸塩/試料溶液:v=2.000ml)から 30µg 亜硫酸塩/アッセイ(0.3g 亜硫酸塩/試料溶液:v=0.100ml)の間にあります。

正確性

一つの試料を二重測定した場合、0.005 から 0.010 の吸光度の違いが起きます。

標準偏差値は測定範囲内で約 1〜4%です。(亜硫酸塩は揮発性で容易に酸化すると言う事実が大きな理由です。)

小粒の種なし干しぶどうの分析(2):

x=260mg/kg	r=45mg/kg	S(r)=±16mg/kg
	R=129 mg/kg	S(R)=±46mg/kg

ビールの分析(2):

x=4.9mg/kg	r=0.8mg/l	S(r)=±0.3mg/l
	R=1.6 mg/l	S(R)=±0.6mg/l

干渉物/誤差の原因

L-アスコルビン酸は亜硫酸オキシダーゼを阻害します。測定中の高濃度の L-アスコルビン酸は中間産物として形成される過酸化水素と反応するので、測定結果が低くなりすぎます。

キット内容

1.TEA バッファー.pH8.0
2.錠剤(各、約 0.4 mg NADH)
3.約 3U NADH-POD
4.約 4U 亜硫酸オキシダーゼ

試薬

亜硫酸の測定に用いられる試薬は危険物条令、化学法令、EEC 条令 67/548/EEC 及びその改正版、補遺、適用ガイドラインに入るような危険物ではありません。しかし使用化学物質が接触した場合の一般的安全性は確認してください。使用後の試薬は研究室の使用品として廃棄できますが、地域の規制には常に注意してください。

試料調製の一般的情報

透明で、無色の実際的に中性の液体試料を直接、あるいは希釈後液量 2.000ml まで使用してください。

濁った溶液はろ過してください。

二酸化炭素を含む試料は脱気(ろ過などで)してください。

酸性試料は NaOH や KOH 溶液で pH を約 8 に調整してください。

酸性で軽く色のついた試料は pH を約 8 に調整し、約 15 分間インキュベートしてください。

強く色のついた試料を希釈せず、多い液量で用いる場合は、ポリビニルポリピロリドン(PVPP)で処理してください。

固形、半固形試料は砕くか、ホモジナイズし、水で抽出するか溶解してください。

脂肪を含む試料は密封したビンの中、温水で抽出してください。

参考文献

1. Beutler, H.-O. & Schütte, I. (1983) Eine enzymatische Methode zur Bestimmung von Sulfit in Lebensmitteln, Deutsche Lebensmittel-Rundschau 79, 323-330
2. Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Sulfit (schwefliger Säure) in Frischobst, L 29.00-2 (November 1986): Bestimmung von Sulfit (schwefliger Säure) in Obstprodukten, L 30.00-1 (November 1986): Bestimmung von Sulfit in Bier, L 36.00-8 (November 1986)
3. Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), Analysenmethoden, vol.Ⅱ, 2nd ed., pp. 133-136 (1988)
4. Nordisk Metodikkommittée för Livsmedel - Nordic Committee on Food Analysis, Sulphite, Enzymatic Determination in Foodstuffs, UDC 546.224:577,152.1 No 135, 1990
5. Deutsche Norm DIN EN 11988-2 (Mai 1998) Lebensmittel; Bestimmung von Sulfit, Teil 2: Enzymatisches Verfahren
6. Europäische Norm/European Standard EN 1988-2 (1988) Foodstuffs - Determination of sulfite - Part 2: Enzymitic method DIN EN 11988-2 (Mai 1998) Lebensmittel; Bestimmung von Sulfit, Teil 2: Enzymatisches Verfahren)