タール色素の製品検査について (第7報¹⁾)
溶媒抽出, 原子吸光法による食用タール色素中の重金属の定量

外海泰秀, 野村幸雄
国立衛生試験所大阪支所²⁾

On the Official Inspection of Coal-Tar Dyes. VII.¹⁾
Determination of Heavy Metal Contaminants in Food Coal-Tar Dyes by
Solvent Extraction-Atomic Absorption Spectrophotometry

YASUhide TONOGAI and YUKIO NOMURA
National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch²⁾

(Received May 29, 1972)

A chelate extraction-atomic absorption procedure for the determination of heavy metal contaminants in food coal-tar dyes has been developed by using sodium diethyldithiocarbamate as the chelating reagent. This method can be adapted to the sample without digestion, and Fe(III), Zn(II), Cr(VI), Pb(II), Cu(II), Cd(II), and Mn(VI) were quantitatively extracted from aqueous solution of food dye into butyl acetate by one extraction. Therefore, official inspection of coal-tar dyes could be carried out more speedily by this method than the method adopted in Japanese Standards of Food Additives.

緒 言

著者らは色素の製品検査³⁾の重金属試験においては、試料を湿式灰化した検液について鉄, 亜鉛, クロムは疎解液のまま, 鉛はジチゾンクロホルム溶液で抽出し, それぞれ原子吸光分析法により測定している.⁴⁾しかし, 多数の試料を短期間に処理する必要上, 比較的時間を要する試料の灰化操作を省略し, 色素中の問題となる重金属を一度に処理することが望ましい。

すでに種々の金属について, キレート剤を用いて溶媒抽出を行ない, 原子吸光分析法で測定した報告^{5,6)}はあるが, 多数の金属を一度にキレート抽出し, しかも試料を灰化せずに測定した報告は見られない。

それゆえ, 試料を灰化することなく, 色素の水溶液から直接キレート剤を用いて色素中の問題となる重金属, すなわち, 鉄, 亜鉛, クロムおよび“その他の重金属”として鉛, 銅, カドミウム, マンガンを同一条件下に溶

媒抽出し, 原子吸光分析法により測定する方法について検討し, 若干の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 試薬 鉄, 亜鉛, クロムおよび鉛標準溶液は既報⁴⁾に準ずる。

銅標準溶液: 金属銅 (99.99%) 1.00 g を硝酸に溶解し, 蒸発乾固したのち塩酸に溶解し, 水を加えて 1 liter とする (Cu: 1000 ppm)。

カドミウム標準溶液: 金属カドミウム (99.99%) 1.00 g を少量の塩酸に溶解し, 水を加えて 1 liter とする (Cd: 1000 ppm)。

マンガン標準溶液: 金属マンガン (99.99%) 1.00 g を少量の塩酸に溶解し, 水を加えて 1 liter とする (Mn: 1000 ppm)。

ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC) 溶液: DDTC 2 g を水にとかして 100 ml とする (2%)。

- 1) 日本薬学会第92年会で発表, 大阪, 1972年4月。
第6報: 外海泰秀, 野村幸雄, 衛生化学, **17**, 419 (1971)。
- 2) Location: No. 6 Hoenzaka-cho, Higashi-ku, Osaka (大阪市東区法円坂町6)。
- 3) 厚生省編, “食品添加物公定書”, 第2版, 東京, 1966, pp. 467-470。
- 4) 外海泰秀, 野村幸雄, 衛生試験, **88**, 139 (1970)。
- 5) 深町和美, 森本昌宏, 柳川正男, 分析化学, **21**, 26 (1972)。
- 6) Masaaki Yanagisawa, Masami Suzuki, Tsugio Takeuchi, *Anal. Chim. Acta*, **43**, 500 (1968)。

この溶液は用時調製する。

酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液：1N 酢酸および1N 酢酸ナトリウムを用いて調製する。

色素は国立衛生試験所標準品を用い、その他の試薬はすべて特級品を使用した。

2. 装置 原子吸光分析装置は Nippon Jarrel Ash AA-1 E 型、光源は Westinghouse 製の中空陰極ランプ、バーナーは全噴霧型（空気-水素炎）を使用し、Table I に示した条件で測定した。

ただし、亜鉛およびカドミウムは感度が高いので光束は1 pass、他の金属は5 pass にし、クロムおよび鉛の感度は低いので Scale expansion $\times 2$ にして使用した。

3. 定量操作 色素0.5g を水40 ml に溶かして分液ロートにとり、pH 6 の酢酸緩衝液10 ml および2% DDTC 溶液5 ml を加えて、しばらく放置する。ついで酢酸ブチル10 ml を加えて約5分間ふりまぜ、生成する金属キレートをも有機溶媒層に抽出する。この有機溶媒層を分取して原子吸光測定用の検液とし、Table I の測定条件で測定する。ただし、食用赤色106号および同青色1号のときは、塩析剤として硫酸アンモニウム1g を抽出時に加える。

結果と考察

1. 抽出条件の検討

キレート剤としては衛生試験法記載⁷⁾のDDTCを用い、有機溶媒は水に対する溶解度の比較的小さい酢酸ブチルを使用した。

また、色素中の問題となる重金属を一度に抽出する至適pHを求めるため、酢酸緩衝液を用いて調製したpH 3-8の水溶液に、公定法³⁾で定める限度量に相当する重金属をそれぞれ添加し、抽出率を求めてFig. 1 およびFig. 2 に示した。なお原子吸光法による測定感度を考慮して、鉄と亜鉛は10分の1量、クロムと鉛は2倍量添加した。

Fig. 1 に示したように、亜鉛、鉄、銅、カドミウムおよび鉛は、pH 3-8 において、いずれも抽出率はほぼ

Fig. 1. Effect of pH on the Extraction of Zn, Fe, Cu, Cd and Pb

○—○ : zinc 10 µg
●—● : iron 50 µg
×—× : copper 10 µg
●—● : cadmium 10 µg
○—○ : lead 40 µg

Fig. 2. Effect of pH on the Extraction of Mn and Cr

○—○ : manganese 10 µg
●—● : chromium 50 µg

TABLE I. Analytical Conditions of Atomic Absorption Spectrophotometer for Fe, Zn, Cr, Pb, Cu, Cd and Mn

Metal	Wave length (Å)	Lamp current (mA)	Slit width (μ)	Hydrogen flow rate (liter/min)	Air flow rate (liter/min)
Iron	2483	20	100	6	6
Zinc	2139	10	100	6	6
Chromium	3579	6	100	6	6
Lead	2833	6	100	6	6
Copper	3247	20	100	6	6
Cadmium	2288	10	100	6	6
Manganese	2795	6	100	6	6

7) 日本薬学会, 衛生化学, 17, 173 (1971).

定量的であった。

一方、マンガンおよびクロムは Fig. 2 に示したように、抽出率の pH による影響が大きく、マンガンは pH 5.5—7.5、クロムは 5.0—6.5 で定量的に抽出されるが、その他の pH においては、急激に抽出率が減少する。マンガンおよびクロムに共通した抽出至適 pH の範囲は狭いが、試料は中性の水溶液なので pH 調製に問題はなく、したがって、pH 6 にすれば 7 種類の金属は一度に抽出されることになる。

なお、共存金属の抽出率におよぼす影響を検討した結果、上記 7 種類の金属について、それぞれ 200 μg まで妨害は見られなかった。

2. 色素と金属のキレート生成

アゾ色素である食用黄色 4 号、同 5 号、同赤色 2 号および同 102 号は、いずれもアゾ基のオルト位に水酸基をもち、色素と重金属とがキレートを生じて抽出に妨害を与える可能性がある。⁸⁾

アゾ色素と重金属のキレート生成の有無を調べるため上記 4 種の色素に 7 種類の重金属をそれぞれ添加して、紫外部および可視部吸収スペクトルを測定したところ、銅だけが色素のスペクトルに変化を与えた。

Fig. 3. Effect of Copper on the Absorption Spectra of Food Red No. 102 in aqueous solution (pH 6)

- A: food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$)
- B: food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$) and copper ($3 \times 10^{-5}\text{M}$)
- C: food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$) and copper ($15 \times 10^{-5}\text{M}$)
- D: food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$) and copper ($30 \times 10^{-5}\text{M}$)

いずれの色素についても同様な挙動がみられたが、Fig. 3 には、重金属の抽出条件である pH 6 の酢酸緩衝液に食用赤色 102 号の一定量をとかし、銅の添加量を変化したときの吸収スペクトルを一例として示した。A は色素だけの場合であり、B、C、D と色素に銅の添加

量を増すに従って、食用赤色 102 号は 460 $\text{m}\mu$ に等吸収点をもちながら、吸収極大波長における吸光度が減少する。

また、スペクトルに及ぼす pH の影響を調べるため、食用赤色 102 号に一定量の銅を添加し、pH 3—10 における色素の吸収極大波長 510 $\text{m}\mu$ の吸光度の変化を pH に対してプロットし、Fig. 4 に示した。

Fig. 4. Effect of pH on the Absorption Spectra of Food Red No. 102 and Copper Chelate (510 $\text{m}\mu$)

- : food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$)
- : food red No. 102 ($2 \times 10^{-5}\text{M}$) and copper ($6 \times 10^{-5}\text{M}$)

色素だけの場合、pH による変化はほとんど見られない。一方、銅を添加した場合には、pH 7 付近で最もスペクトルの変化が大きく、pH を変えた場合も 460 $\text{m}\mu$ に等吸収点をもちながら極大波長の吸光度が減少する。

一般に、オルトヒドロキシアゾ化合物は、種々の溶媒中でアゾ型およびヒドラゾン型の互変異性体として存在することが知られている。⁹⁾ それゆえ Fig. 3 に示したように、pH を一定にして銅の添加量を変えた場合、また Fig. 4 に示したように、銅の量を一定にして pH を変えた場合、いずれも等吸収点をもちながら吸収極大波における吸光度が減少することから、食用赤色 102 号は、アゾ型またはヒドラゾン型の互変異性体となって銅とキレートを生じ、銅の量を増加するに従い、かつ pH 7 付近で特にヒドラゾン型に移行するものと推定される。

3. 色素から金属の回収実験

色素と金属とがキレートを生じていても、DDTC と金属とのキレート生成定数¹⁰⁾の方が大きければ、金属は DDTC 錯体となって有機溶媒層へ抽出されるはずである。

pH 6、DDTC-酢酸ブチルによる抽出法を用い、各種

8) J. Knoeck, J.A. Buchholz, *Talanta*, **18**, 895 (1971).

9) R.L. Reeves, R.S. Kaiser, *J. Org. Chem.*, **35**, 3670 (1970).

10) 坂口武一, 上野景平編, 金属キレート [I], 南江堂, 1967, pp. 173—186.

TABLE II. Recovery of Heavy Metals in Food Dye obtained by Extraction Method

Metals \ Colors	Food yellow No. 4 (%)	Food yellow No. 5 (%)	Food red No. 2 (%)	Food red No. 102 (%)
Iron (50 μ g)	100	97	99	99
Zinc (10 μ g)	100	98	98	99
Chromium (50 μ g)	96	98	97	98
Lead (40 μ g)	99	98	99	99
Copper (10 μ g)	100	99	98	100
Cadmium (10 μ g)	99	101	100	100
Manganese (10 μ g)	98	99	101	100

These recoveries are mean value of five trials.

TABLE III. Recovery of Heavy Metals in Food Dye obtained by Extraction Method

Metals \ Colors	Food red No. 3(%)	Food red No. 104(%)	Food red No. 105(%)	Food red No. 106(%)	Food Blue No. 1(%)	Food Violet No. 1(%)	Food Blue No. 2(%)
Iron (50 μ g)	95	95	96	82	85	95	96
Zinc (10 μ g)	97	95	98	96	96	97	95
Chromium (50 μ g)	97	96	98	97	97	98	96
Lead (40 μ g)	97	95	98	98	96	97	96
Copper (10 μ g)	95	97	98	83	81	96	98
Cadmium (10 μ g)	98	97	99	97	98	98	96
Manganese (10 μ g)	95	99	99	95	96	95	97

These recoveries are mean value of five trials.

色素の水溶液に7種類の金属をそれぞれ添加し、水から抽出したものを100%として回収率を求めた。

Table II はアゾ色素についての回収結果で、いずれの場合にも、各金属は定量的に抽出され、回収率の変動係数は1—2%であった。色素とキレートを生成していると思われる銅も定量的に抽出され、抽出後の食用赤色102号の吸収スペクトルはFig. 3のAに一致することから、金属とDDTCとのキレート生成定数の方が色素との生成定数よりも明らかに大きく、重金属の抽出に妨害のないことがわかった。

同様にキサンテン系、トリフェニルメタン系およびインジゴ系色素に各金属を添加した回収率をTable IIIに示した。

キサンテン系色素である食用赤色3号、同104号、105号は抽出時色酸がわずかに生じ、一部有機溶媒層に抽出される。食用紫色1号および同青色2号はpH 6で沈殿を生じ、酢酸ブチル層に分散して分離を悪くするので遠心分離した。

アゾ色素の場合に比較して回収率はやや低下するが、変動係数は1—5%で、ほぼ定量的に抽出された。ただし、食用赤色106号および同青色1号の鉄および銅の回

収率は81—85%と低く、変動係数も7—10%とばらつきがみられた。

4. 添加回収率の低下原因

食用赤色106号と同青色1号から、鉄および銅の添加回収率が低下する原因を検索するため、キレート剤としてDDTCおよびAPDC¹¹⁾有機溶媒として酢酸ブチルを使用し、抽出時に塩析剤として硫酸アンモニウム1gを加えた場合と、加えない場合について、それぞれ回収率を求めTable VIに示した。

キレート剤がDDTCの場合、塩析剤を加えないと鉄および銅の回収率は低いが、塩析剤を加えると定量的に抽出される。一方、キレート剤がAPDCの場合は、塩析剤の有無にかかわらず回収率は定量的である。

前者の場合、遠心分離しても回収率はほとんど変わらないことから、層分離の不良が回収率低下の原因ではなく、塩析剤を加えることにより、DDTCと金属のキレートが沈殿として生じやすくなるのである。後者の場合、APDCはDDTCに比して水に対する溶解度が小さいため¹²⁾塩析剤を加えなくてもAPDCと金属のキレートが沈殿として生じるのである。

特に食用赤色106号と同青色1号の場合に回収率が低

11) Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate.

12) 進藤英二, 森藤 守, 化学の領域, 21, 206 (1967).

TABLE IV. Recovery of Heavy Metals in Food Dye obtained by Various Extraction Method

Chelating reagent	Ammonium sulfate	Iron (50 μ g)		Copper (10 μ g)	
		Food red No. 106 (%)	Food blue No. 1 (%)	Food red No. 106 (%)	Food blue No. 1 (%)
DDTC ^{a)}	none	83	81	84	85
	added	99	99	100	100
APDC ^{b)}	none	98	99	98	97
	added	99	100	100	100

a) sodium diethyldithiocarbamate

b) ammonium pyrrolidinedithiocarbamate

TABLE V. Comparison of Heavy Metal Contents in Food Dye obtained by Two different Methods

Heavy metals	Name of dye	Extraction method ^{a)} (ppm)	Another method ^{b)} (ppm)
Iron	Food red No. 105	82	80
	Food red No. 106	52	60
	Food blue No. 1	130	126
	Food blue No. 2	110	118
Zinc	Food red No. 3	44	40
	Food red No. 102	30	33
	Food red No. 106	64	69
	Food Yellow No. 4	42	45
Chromium	Food red No. 102	44	41
	Food red No. 104	30	27
	Food red No. 106	19	21
	Food blue No. 1	40	38
Lead	Food red No. 2	14	14
	Food red No. 104	8	10
	Food blue No. 1	17	20
	Food blue No. 2	10	11
Copper	Food red No. 2	10	9
	Food red No. 106	5	6
	Food yellow No. 5	9	8
	Food blue No. 1	8	10
Cadmium	Food red No. 2	4	4
	Food red No. 104	10	9
	Food red No. 106	17	18
	Food yellow No. 4	9	9
Manganese	Food red No. 104	19	20
	Food yellow No. 5	8	8
	Food blue No. 1	10	12
	Food violet No. 1	8	10

a) solvent extraction and atomic absorption spectrophotometry

b) wet ashing and atomic absorption spectrophotometry

下するのは、両色素が両性イオンなので、なんらかの形で鉄および銅と DDTC とのキレート生成を阻害するものと推定される。ゆえに両色素から鉄および銅を抽出する場合には、塩析剤として硫酸アンモニウムを加えればよいことがわかる。

5. 試料分析の実例

実際の試料について、各金属を本法、すなわち、溶媒抽出して原子吸光法で測定した場合と、既報⁴⁾のごとく、試料を湿式灰化したのち原子吸光分析法で測定した場合の測定値を比較し、Table V に示した。

それぞれの試料について、いずれも実験誤差の範囲内で両測定法による定量値は一致を示し、本法が色素の製品検査に適用できることがわかった。

総 括

1) キレート剤として DDTC、有機溶媒として酢酸ブチルを用い Fe(III)、Zn(II)、Cr(VI)、Pb(II)、Cu(II)、Cd(II) および Mn(II) を一度に抽出する条件を求めた。

2) 銅とアゾ色素はキレートを生成するが、色素からの添加回収率が定量的であることから、銅と DDTC のキレート生成定数の方が色素との生成定数よりも大きいと推定され、抽出に妨害のないことが判明した。

3) 食用赤色 106 号および食用青色 1 号から鉄および銅の回収率は低い、抽出する際に塩析剤として硫酸アンモニウムを加えれば、重金属は定量的に抽出されることがわかった。

4) 実際の試料について、本法と既報⁴⁾の方法による測定値は一致を示したので、試料を灰化せずに金属をキレート抽出する方法が色素の製品検査に適用でき、目的とする重金属試験の時間短縮が可能となった。