原子吸光法による食用タール色素中の重金属 およびヒ素試験法の簡易化の試み

外海泰秀 慶田雅洋

An Improved Method for the Determination of Arsenic and Heavy Metals in Food Coal-Tar Dyes by Atomic Absorption Spectrophotometry

Yasuhide Tonogai and Masahiro Iwaida

最近の機器の発達により重金属の定量にはしばしば原子吸光法が用いられるようになり、化粧品中の重金属試験にも原子吸光法の応用が検討され始めている。その場合に一番問題となるのは試験溶液の調製法であると思われるので、初めに試料の灰化方法および微量金属取扱上の問題点などを総説的に述べ、ついで機器による試験法の簡易化の試みとして、著者らの実験例を説明し参考供したい。

1. 試験溶液の調製法

1・1 乾式灰化法

試料の灰化法には乾式灰化法、湿式灰化法、低温灰化法その他ポンプ燃焼法などがある。

乾式灰化法は、電気炉等で試料中の有機物を高温に熱することにより酸化分解する方法で、古くから用いられている。しかしこの方法は高温で揮散する金属には用いられず、下記の如き少なからぬ問題点があるので、他の灰化法で処理しにくい時に用いるのがよい。

乾式灰化法を行なう上で問題となるのは、①電気炉内の温度であり、その分布は一様でなく炉内の位置によって温度のバラツキがある¹⁾。炉によっては50～80°の差が生じるので灰化の状態が位置によって異なり、金属の揮散の程度や溶出効率にも影響する。②灰化容器としては石英ざら、磁製ざら、白金ざらが用いられるが、500°以上では磁製ざらはうわぐすりが侵されやすく、特に鉛は容器への吸着が高くなる。③ケイ酸、アルミニウム、

鉄、マンガンを含む試料は不溶性の化合物を作り、溶出時の回収率を低下させる。④500°以下で灰化をおこなう場合は灰化が不十分のために炭化物が残り、特にFe, Co, Ni, Znは金属濃度に一次の関係で炭化物に吸着されるので誤差の原因となる。

また灰化に際しての酸化を促進させる意味で灰化補助剤としてCa, Mg, Alの硝酸塩、炭酸塩、酸化物等がしばしば用いられ、金属の回収率を向上させている²⁾。灰化補助剤を用いた場合、灰化物を溶解した最終の溶液中には多量のCa, Mg, Alを含むことになるが、後述するキレート剤を用いる溶媒抽出を行なうことにより目的金属と分離することができる。

1・2 湿式灰化法

湿式灰化法は硝酸、過塩素酸、過酸化水素等の酸化剤や硫酸を用いる方法で、①硝酸-硫酸、②硝酸-過塩素酸、③硝酸-硫酸-過塩素酸または過酸化水素など種々な組み合わせの灰化法がある。これらの方法はいずれも乾式灰化法に比して低い温度で酸化分解を行なえ、分解時間も短いという利点をもつ。①は動植物組織、食品など有機性試料の分解に最も広く用いられる。②は金属の回収率もよく、分解速度も早い。③は乾固させると爆発する。

国立衛生試験所大阪支所（大阪市東区法円坂町6）
National Institute of Hygienic Sciences, Osaka
Branch 6-Hoensakacho Higashiku, Osaka

脂肪の少ない動植物の組織、タンパク質、炭水化物の分解に用いる。③は①の灰化を促進するために過塩素酸または過酸化水素を加えるもので、最も分解力の高い方法である。

湿式分解法で注意すべき点は、試薬からの重金属汚染であり、特に硫酸中には多くの不純物を含むので、微量金属を測定する場合に留意する必要がある。また、Sb, Cr, Fe, Pb, Zn 等は試料中のハロゲンと灰化中に低沸点の化合物を作り揮散損失することがある⁹⁾。

1・3 低温灰化法

低温灰化法は酸化室内の空気を酸素で置換し、高周波によって反応性の強い原子状またはイオン状の酸素を発生させ、低温で試料を灰化する方法であり、最近かなり用いられるようになった。この方法は乾式灰化法の欠点である低沸点元素の損失をなくし、湿式灰化法の欠点である酸の大量使用を必要としないため、試薬による汚染が少ないという利点をもつ。

Table-I, 試料の前処理法の比較

元 素 (1M HNO ₃)	試料添 加量 (μg)	回 収 率 (%)		
		乾式灰化 500°C	低温灰化 170W.8hr	湿式分解 100°C加熱
As	7200	0	17 ± 5	—
Cu	0.01	92 ± 4	94 ± 3	96 ± 5
Pb	0.5	38 ± 15	99 ± 3	98 ± 5
Cd	0.5	56 ± 19	90 ± 6	98 ± 6
Mn	0.5	102 ± 11	99 ± 3	100 ± 1
Ni	0.1	95 ± 8	97 ± 4	98 ± 7
Se	1	0	11 ± 6	—
Sb	0.5	37 ± 11	95 ± 4	97 ± 2
Zn	1	28 ± 9	94 ± 4	66 ± 5
Cr	0.5	98 ± 7	99 ± 3	99 ± 6
Hg	1	—	0 ~ 1	0 ~ 4

保田和雄, 長谷川敬彦, “原子吸光分析”, 講談社

Table-I には、種々な金属を乾式灰化、低温灰化、湿式灰化した場合の回収率を示した⁴⁾。As, Se, Hg はいずれの方法でも回収率は低い。Pb, Cd, Zn は低温灰化、湿式灰化法で回収率の向上がみられる。

1・4 微量金属取扱上の注意

微量金属イオンを取扱う上での問題点としては、①通常の銅製蒸留水製造装置の場合はもちろん、ガラス器具を用いて蒸留を行なった場合でも、蒸留水中には銅、亜鉛その他の金属類が留液中に含まれることが多いので、一度蒸留した水をイオン交換樹脂で処理してえた脱塩水

を使用するのがよい。

②定量用と称される汙紙でも Cu, Mn, Pb, Zn などの金属塩を含んでおり、汙紙灰分の 1% は PbO, 0.3% は ZnO であるといわれている⁹⁾。また汙紙よりの溶出による汚染だけでなく、目的金属の汙紙への吸着も生じる。

③ガラス成分の溶出による汚染、前に吸着されていたものの溶出による汚染およびガラス壁への吸着による試料の損失等、ガラス容器に貯蔵したために起る分析誤差は想像以上に大きい。④一般に用いられている重クロム酸カリ中には多量の不純物が含まれており、クロム酸硫酸に浸したガラスにはきわめて多量のクロムが附着し、水洗しても容易に除かれない。

1・5 溶媒抽出法

灰化してえた溶液を原子吸光法の測定に用いる場合に、灰化液をそのまま測定する場合と、溶媒抽出したのち測定する場合とに別けられる。検液中に硫酸、磷酸、アルミニウムなどの存在する時には、共存妨害物質の除去、目的金属の濃縮および感度増大を目的として溶媒抽出法が用いられ、特に金属キレート・有機溶媒抽出法がしばしば使用される。

原子吸光法で測定する場合には、金属相互の分離操作をほとんど必要としないため、むしろ多種類の金属と同一条件で反応するキレート剤が用いられ、ピロリジン

Table-II, 種々な金属とピロリジンジチオカルバミン酸の反応

金属	呈色	pH	金属	呈色	pH
Ag	黄白	2 ~ 14	Os	黄	2 ~ 14
As ³⁺	白	2 ~ 6	Pb	白	2 ~ 14
Au	茶	2 ~ 14	Pd	黄	2 ~ 14
Bi	黄	2 ~ 14	Pt	黄白	2 ~ 14
Cd	白	2 ~ 14	Rh	茶	2 ~ 14
Co	緑	2 ~ 14	Ru	茶	2 ~ 14
Cr	灰青	2 ~ 6	Sb ³⁺	黄白	2 ~ 9
Cu	暗褐	2 ~ 14	Sn ²⁺	白	2 ~ 8
Fe ²⁺	黒	2 ~ 14	Se	白	2 ~ 9
Fe ³⁺	黒	2 ~ 14	Te	黄	2 ~ 6
Hg	白	2 ~ 14	Tl	白	2 ~ 14
Ir	黄白	2 ~ 14	U	橙	2 ~ 4
Mn	白	2 ~ 14	V	黄赤	2 ~ 6
Mo	赤紫	2 ~ 6	W	白	2
Ni	黄緑	2 ~ 14	Zn	白	2 ~ 14
Nb	白	2 ~ 14			

進藤英二, 森藤 守; 化学の領域, 21, 206 (1967)

ジチオカルバミン酸アンモン (APDC), ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC), ジチゾン等が使用される。また有機溶媒としては不完全燃焼を起さず, 燃焼時に安定なフレイムを与えるメチルイソブチルケントの様なケトン類, 酢酸ブチルの様なエステル類が使用される。

Table-II には, APDC とキレートを生成する種々な金属の沈澱色とpH範囲を示している⁶⁾。ほとんどの金属がpH 2~14でキレートを生成する。ただし APDC はpH 7で等電沈澱を起すので, pH 7附近ではキレートを行なえない。

2. 機器による測定の見易化

2・1 色素試験法の簡易化

著者らは食用タール色素原末の製品検査を, 食品添加物公定書の色素試験法⁷⁾に従って実施しているが, その検数は年間約2,000件にもおぼり, 各検体について全項目試験するには多大な時間と労力を要するので, 機器による試験法の簡易化を検討した。

Table-III, 食品添加物公定書による色素試験法

No.	試験項目	試験方法
1	水不溶物	汙過乾燥重量
2	四塩化炭素不溶物	〃
3	塩化物および硫酸塩	滴定法(活性炭脱色後)
4	ヒ素	グートツァイト法(湿式灰化後)
5	重金属 1) 亜鉛 2) クロム 3) 鉄 4) その他の重金属	Na ₂ S比色法(乾式灰化後) 〃 〃 〃
6	定量	三塩化チタン滴定法

Table-III には, 色素試験法の試験項目と試験法を示した。この中で塩化物および硫酸塩の試験はすでに, 色素水溶液を直接電位差滴定する方法に改良した⁸⁾。

ヒ素の試験法は, 試料を湿式灰化したのちグートツァイト法が採用されているが, この比色法は測定値の再現性が低く, 共存物質の妨害もあって正確な測定値をえがたく, 湿式灰化中に一部のヒ素はハロゲン化物や三価のヒ素となって揮散損失する恐れもあり⁹⁾, ヒ素の測定法として必ずしも満足な方法とは言えない。ゆえに色素の灰化法として低温灰化法, ヒ素の測定法として原子吸光法の活用を検討した。

また重金属の試験は, 試料を乾式灰化したのち硫化ナ

トリウムによる比色法が採用されているが, 乾式灰化法は前記の如く灰化中に一部の金属が揮散損失する恐れがあり, 比色法では重金属相互の分離操作が煩雑であり, 発色妨害も多い。ゆえに試験法の中で多大な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金属を一度に処理するため, 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多種類の金属を同一条件下に溶媒抽出し, 原子吸光法で測定する方法について検討した。

2・2 重金属の試験法

原子吸光分析装置は Nippon Jarrell Ash 製 AA-1型光源は Westinghouse 製の中空陰極ランプを使用した。試験対照金属として7種を選び, それぞれの測定条件を **Table-IV** に示した。

Table-IV, Analytical Conditions of Atomic Absorption Spectrophotometer for Fe, Zn, Cr, Cu, Cd and Mn

Metal	Wavelength (Å)	Lamp current (mA)	1% Absorption (μg/ml)
Iron	2483	20	0.08
Zinc	2139	10	0.01
Chromium	3579	6	0.1
Lead	2833	6	0.3
Copper	3247	20	0.03
Cadmium	2288	10	0.015
Manganese	2795	6	0.05

なるべく測定条件をそろえるためバーナーは全噴霧型を用い, 空気-水素炎で測定した。色素水溶液を直接測定するには重金属濃度が低く, 共存物質の測定妨害も考えられるので溶媒抽出法で行なった。

抽出条件の検討は, キレート剤として衛生試験法記載のDDTCを用い¹⁰⁾, 有機溶媒としては酢酸ブチルを使用して色素中の問題となる重金属を一度に抽出する至適pHを求めた。

Fig.-I に示したように, 亜鉛, 鉄, 銅, カドミウムおよび鉛は pH 3~9 において, いずれも定量的な抽出率を示した。一方マンガンおよびクロムは **Fig.-II** 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 pH5.5~7.5, クロムは pH 5.0~6.5 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

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

Fig.-II, Effect of pH on the Extraction of Mn and Cr

なく、したがって pH6 にすれば 7 種類の金属は一度に抽出されることになる。

つぎに問題となるのは、色素共存下に抽出をおこなうため、色素が金属の抽出に妨害を与えないかどうかである。pH 6, DDTC-酢酸ブチルによる抽出法を用い、各種の色素水溶液から重金属の回収率を求めた。

Table-V に示したように、食用赤色 106 号および青色 1 号の鉄および銅以外の回収率は良好であり、色素は重金属の抽出に妨害のないことがわかった。この両者の場合も、塩析剤として硫酸アンモニウムを加えると定量的な回収率がえられた。回収率が低い原因として考えられることは、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た。

Table-VI には、実際の試料について各金属を本法すなわち、試料を灰化せずに溶媒抽出して原子吸光法で測定した場合とを比較し、両測定値間に有意差は認められないことを確認した。

このようにして重金属試験は、試料を灰化することなく溶媒抽出-原子吸光法により試験法を簡易化することができた。

3・2 ヒ素の試験法

低温灰化装置は日立製 302 型、原子吸光分析装置は Nippon Jarrell Ash 製 AA-1 型 および 微量ヒ素測定

Table-V Recovery of Heavy Metals in Food Dye obtained by Extraction Method

Colors	Metals	Fe (50µg)	Zn (10µg)	Cr (50µg)	Pb (40µg)	Cu (10µg)	Cd (10µg)	Mn (10µg)
Food red	No. 2	99	98	97	99	98	100	101
"	No. 3	95	97	97	97	95	98	95
"	No.102	99	99	98	99	100	100	100
"	No.104	95	95	96	95	97	97	99
"	No.105	96	98	98	98	98	99	99
"	No.106	82	96	97	98	83	97	95
Food yellow	No. 4	100	100	96	99	100	99	98
"	No. 5	97	98	98	98	99	101	99
Food blue	No. 1	85	96	97	96	81	98	96
"	No. 2	96	95	96	96	98	96	97
Food violet	No. 1	95	97	98	97	96	98	95

These recoveries are mean value of five trials.

Table-VI 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
	"	No.106	52
	Food blue	No. 1	130
	"	No. 2	110
Zinc	Food red	No. 3	44
	"	No.102	30
	"	No.106	64
	Food yellow	No. 4	42
Chromium	Food red	No.102	44
	"	No.104	30
	"	No.106	19
	Food blue	No. 1	40
Lead	Food red	No. 2	14
	"	No.104	8
	Food blue	No. 1	17
	"	No. 2	10
Copper	Food red	No. 2	10
	"	No.106	5
	Food yellow	No. 5	9
	Food blue	No. 1	8
Cadmium	Food red	No. 2	4
	"	No.104	10
	"	No.106	17
	Food yellow	No. 4	9
Manganese	Food red	No.104	19
	Food yellow	No. 5	8
	Food blue	No. 1	10
	Food violet	No. 1	8

a) solvent extraction and atomic absorption spectrophotometry

b) wet ashing and atomic absorption spectrophotometry

付属装置 ASD-1 型を使用し、その操作条件を **Table-VII** に示した。

操作法は試料、還元試薬および亜鉛を反応容器にとり、一定時間後に発生したヒ化水素をキャリアガスで炎に導き、ヒ素の吸収を測定する。この方法における反応時間は90秒（約0.5気圧）で、また反応溶液の酸濃度は10%硫酸-20%塩酸でそれぞれ最大かつ定常となった。またヨウ化カリウムおよび塩化第一スズを加えないとヒ素は測定できず¹¹⁾。砂状亜鉛は2gが適当であった。

本法によりヒ素の標準溶液について測定した検量線を **Fig.-III** に示した。ヒ素含量 10 μ g/tube まで検量線は

Table-VII Analytical Conditions of Low Temperature Asher and Atomic Absorption Spectrophotometer

Low temperature asher	
Frequency	: 13.56 MHz
Vacuum	: 1-2Torr
Oxygen flow rate	: 150ml/min.
Power of radio frequency	: 200 W
Temperature in chamber	: 120°C
Atomic absorption spectrophotometer	
Wavelength	: 193.7 nm
Lamp current	: 20 mA
Slit width	: 100 μ
Hydrogen flow rate	: 8L/min.
Argon flow rate	: 6L/min.

ほぼ直線性を示し、ヒ素含量 5 μ g/tube における測定の変動係数は 3.5%とよい精度を示した。

分析操作をなるべく短縮し、かつヒ素の損失を少なくするためには、色素を灰化することなく色素の水溶液について直接ヒ素を測定することが望ましい。10種類の食用タール色素 0.5gの水溶液にヒ素 5.0 μ gを添加して測定した結果を **Table-VIII** に示した。

食用赤色 106号および同青色 1号以外の色素についてはほぼ定量的な回収率がえられたので、色素水溶液につい

Fig.-III, Calibration curve of arsenic by atomic absorption spectrophotometry

Table-VIII Recovery of Arsenic in Food Dyes by Atomic Absorption Method

Name of dye		As Added (μg)	Recovery (%)	Recovery* (%)
Food yellow	No. 4 (Tartrazine)	5.0	94.5 - 101.2	98.0
"	No. 5 (Sunset yellow FCF)	"	92.0 - 95.4	93.3
Food Red	No. 2 (Amaranth)	"	93.5 - 98.0	94.8
"	No. 3 (Erythrosine)	"	96.4 - 100.5	98.7
"	No.102 (New cocchine)	"	89.7 - 93.3	91.5
"	No.104 (Phloxine)	"	97.0 - 100.4	99.5
"	No.105 (Rose bengale)	"	89.4 - 95.8	93.0
"	No.106 (Acid red)	"	74.2 - 81.5	77.2
Food Blue	No. 1 (Brilliant blue FCF)	"	55.6 - 67.3	59.0
"	No. 2 (Indigo carmine)	"	93.9 - 98.8	95.4

*Mean value of five trials

て直接ヒ素を測定してよいことがわかった。

上記種類の色素についてヒ素の添加回収率の低下する原因として考えられることは、色素共存下におけるヒ素のヒ化水素への還元過程であり、特に試料の組成の違いによる水素ガスの発生状況にあると考えられた。そこで、同一条件下における各色素の水溶液について水素ガス発生量を石けん膜流量計を用いて測定した。

Fig.-IV Volume of hydrogen gas produced in various conditions

Fig.-IV には色素の代表例として食用黄色 4 号と同青色 1 号につき、水素ガス発生量を経時的に測定した結果を示した。酸濃度が高い場合および低い場合とも、食用青色 1 号の水素ガス発生量は食用黄色 4 号よりもかなり少ないことがわかった。

従って捕集したヒ化水素および水素ガスを瞬間にフレ

ームへ導き、ピーク高で測定する原子吸光法では、ガス発生量の少ないことが感度の低下する原因になると推定された。なお食用赤色 106 号は同青色 1 号と、その他の色素は同黄色 4 号と類似の傾向を示したので、食用赤色 106 号と同青色 1 号については、色素を低温灰化法で灰化したのち原子吸光法で測定することにした。

ヒ素は比較的低い温度で揮発する元素であるため、ヒ素を含む試料の低温灰化法による灰化を検討した。本法ではファンによる強制空冷機構をもつ装置を用い、チャンパー内の温度は約 120° 前後におさえられるため、高周波出力 200W、酸素流量 150 ml で比較的すみやかに色素の灰化をおこなった。

色素 0.5 g を灰化したときの重量の減少を経時的に測

Fig.-V, Variation of sample weight on ashing time

定した結果を Fig.-V に示した。約3時間で試料は恒量となったので灰化完了とみなし、灰化時間は3時間とした。

食用赤色 106号および同青色 1 号の 0.5 g にヒ素 5.0 μg を添加して灰化した試料について、原子吸光法で測定したヒ素の回収率を Table-IX に示した。

Table-IX Recovery of Arsenic in Food Dyes by Low Temperature Asher Method

Name of dye	As Added (μg)	Found (μg)	Recovery* (%)	Coefficient of variation (%)
Food Red No.106	5.0	4.9-5.6	99.4	5.8
Food Blue No. 1	5.0	4.8-5.4	99.0	4.5

*Mean value of five trials

5回のくり返し実験を行なった結果、両色素について定量的な回収率がえられたので、ヒ素の損失が少なく、試薬からの汚染、操作の繁雑さの少ない低温灰化法を色素の灰化法に採用してもよいと考えられた。

このようにして、一部の色素については低温灰化したのち、大多数の色素については試料を灰化することなく、原子吸光法でヒ素を測定することにより試験法を簡易化することができた。

あとがき

以上の如く、重金属およびヒ素試験法の簡易化に共通することは、検体が色素の原末であるため共存物の影響がほとんどなく、しかも水溶性色素なので水溶液の状態

でそれぞれ測定できるため、多大な時間を要する試料の灰化行程を省略でき、よって分析時間を飛躍的に短縮できた点にある。

ゆえに検体が化粧品の場合には、本法の様に簡単にはゆかないと思うが、例えば化粧水やヘアスプレーなど溶液状の検体はなるべく灰化することなく、またアルミニウムやチタン等を多量に含む検体は、灰化したのち溶媒抽出法で処理して妨害を除き、それぞれ原子吸光法で測定する試験法の簡易化が可能ではないかと考えられる。

文 献

- 1) E. I. Hamilton et. al., Analyst, **92** 257 (1967)
- 2) T. T. Gorsuch, "The Destruction of Organic Matter", 1st ed., Pergamon Press, New York 7 (1970), p. 37 •
- 3) T. T. Gorsuch, Analyst, **87**, 112 (1962)
- 4) 保田和雄, 長谷川敬彦, "原子吸光分析" p. 218 (1972) 講談社
- 5) 田辺弘也, 食品衛生研究, **23**, 555 (1973)
- 6) 進藤英二, 森藤 守, 化学の領域, **21**, 206 (1967)
- 7) 厚生省編, "食品添加物公定書", 第三版, 東京, (1974), p. 490
- 8) 外海泰秀 他, 食衛誌, **14**, 90 (1973)
- 9) 日本薬学会編, "衛生試験法注解" p. 292 (1965) 金原出版
- 10) 日本薬学会編, ibid., p. 293 (1973) 金原出版
- 11) 山本勇麗 他, 分析化学, **22**, 876 (1973)

(昭和49年10月17日受理)