食品中の無機スズおよび有機スズ化合物の 薄層クロマトグラフィー

(昭和 46 年 10 月 12 日受理)

赤木 洋勝* 藤田 昌彦* 坂上 米次*

Thin Layer Chromatography of Inorganotin and Organotin Compounds in Foods

Hirokatsu AKAGI, Masahiko FUJITA, Yoneji SAKAGAMI

(Institute of Public Health: 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo)

In the previous paper, the authors reported on the thin layer chromatographic technique for the separation of inorganotin and organotin compounds.

In the present paper, a rapid and simple procedure was contrived for the identification of the tin compounds in foods by the thin layer chromatography.

The tin compounds added to foods were easily extracted with diethyl ether from the samples acidified with hydrochloric acid as they were or as their thiocyanates.

In the extraction procedure, the ether contained in the mixture of emulsion and suspension, which had been formed through vigorous shaking with each sample, was successfully separated by centrifugation using filter paper and the perforated disc made of "teflon".

After the extracts were evaporated to dryness, inorganotin and organotin compounds in the residues were identified on thin layer chromatography.

(Received October 12, 1971)

は し が き

われわれは、前報¹⁾において農薬ならびに塩化ビニル樹脂の安定剤として使用される代表的な有機スズ化合物の紫外線による分解について検討し、各有機スズ化合物が短時間の紫外線照射により、その一部が分解され、種々の有機スズ化合物と無機スズ化合物との混合物を生ずることを認めた。したがって、農作物に付着した有機スズ化合物やポリ塩化ビニル中の有機スズ化合物なども長期にわたる日光照射によって同様に分解を受け、種々の形態で食品中に含まれるようになるかと推定した。

従来、食品汚染にかかわる有機スズ化合物の分析に関しては、ジアルキルスズのみが対象とされ、カテコールバイオレットのエタノール溶液（油の場合）²⁾、ジチゾンの 1, 2-ジクロロエタン³⁾ またはヘキサン溶液⁴⁾ など主として溶媒抽出法によって食品からのクリーンアップが行なわれている。しかしながら、これらの手法を適用できる食品は限られ、抽出に際して堅固なエマルジョンを形成する食品では、抽出液を分離しがたいため、灰化後無機スズの形で単離しなければならず、その化学形態に

ついては不明なことが多い^{4)~7)}。

そこで、われわれは食品中の種々のスズ化合物を薄層クロマトグラフィー（以下 TLC と略す）によって分析するための前処理法について検討した。すなわち、Bock⁸⁾ は多くの金属のチオシアン酸錯塩の水層からエチルエーテルへの移行性についての研究において、無機スズ（IV）が極めて有効に抽出されることを見出している。そこで、本抽出法の有機スズおよび無機スズ化合物の同時抽出性について検討すると共に、食品からの抽出操作の過程でエマルジョンが生じた場合の処理法についても検討を行ない、極めて良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試 料

① スズ化合物標準品：標準品として用いたスズ化合物は Table 1 に示す 10 種で、いずれも TLC 上で他のスポットを認めなかった。添加実験用溶液および TLC 用標準溶液としては、各々 100 mg をメタノール 100 ml に溶解したものを使用した。

② 農作物および調味食品：農作物としてトマトを、調味食品として醸造酢、醸造しょう油およびソースを選

* 国立公衆衛生院：東京都港区白金台 4-6-1

Table 1. Chemical Formulas and their Abbreviations of Inorganotin and Organotin Compounds

Compound	Chemical formula	Abbreviation
Tin tetrachloride	SnCl_4	TC
Mono- <i>n</i> -butyltin trichloride	$n\text{-C}_4\text{H}_9\text{SnCl}_3$	MBC
Di- <i>n</i> -butyltin dichloride	$(n\text{-C}_4\text{H}_9)_2\text{SnCl}_2$	DBC
Tri- <i>n</i> -butyltin chloride	$(n\text{-C}_4\text{H}_9)_3\text{SnCl}$	TBC
Mono- <i>n</i> -octyltin trichloride	$n\text{-C}_8\text{H}_{17}\text{SnCl}_3$	MOC
Di- <i>n</i> -octyltin dichloride	$(n\text{-C}_8\text{H}_{17})_2\text{SnCl}_2$	DOC
Tri- <i>n</i> -octyltin chloride	$(n\text{-C}_8\text{H}_{17})_3\text{SnCl}$	TOC
Mono-phenyltin trichloride	$\text{C}_6\text{H}_5\text{SnCl}_3$	MPC
Di-phenyltin dichloride	$(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{SnCl}_2$	DPC
Tri-phenyltin chloride	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{SnCl}$	TPC

び、いずれも市販品を使用した。

2. 試薬および器具

① チオシアン酸アンモニウム：精製メタノールで2回再結晶したもの。

② エチルエーテル：水酸化ナトリウム溶液と振り混ぜ、水洗後蒸留したもの。

③ 円形ろ紙：東洋濾紙 No.1 を 50 ml 用遠心分離管の内径よりやや小さめに切取ったもの。

④ テフロン製円形目皿板：円形ろ紙と同等の径を有し、厚さ 0.25 mm の目皿板。

⑤ 薄層：薄層クロマトグラフィー用キーゼルゲル H18 g、硫酸アンモニウム 2 g および水 40 ml を十分混和し、これを用いて厚さ 0.3 mm の薄層を調製したのち、110°で1時間活性化したもの。

⑥ 展開溶媒 (A) 四塩化炭素-氷酢酸 (14+6)。 (B) イソオクタン-アセトン-氷酢酸 (16+3.5+0.5)。 (C) イソオクタン-アセトン (17+3)。

⑦ 発色試液：(i) 0.1%ジチゾン-アセトン溶液 (ii) 0.1%ピロカテコールバイオレット-エタノール溶液。

その他の試薬および溶媒はいずれも試薬特級品をそのまま用いた。また、TLC については前報¹⁾による。

3. 水溶液からのスズ化合物の分離

各分液ロートに水 30 ml をとり、各スズ化合物のメタノール溶液をそれぞれ 10 ppm になるように添加してよく振り混ぜ、これにチオシアン酸アンモニウム 3 g を加えて溶かし、2 N-塩酸 10 ml を加えたのち、エチルエーテル 20 ml で約2分間抽出した。

エーテル層を水 10 ml で2回洗い、洗液は水層に合した。また水層をエーテル 5 ml で2回洗浄し、洗液はエーテル層に合した。エーテル層はそのまま減圧下に蒸発乾固したのち、少量のエタノールを加えて同様に蒸発乾固し、水層は10%水酸化ナトリウム溶液で中和後、これを減圧下に蒸発乾固し、おのおの残留物をメタノール約 0.5 ml に溶かして TLC 用試料溶液とした。

4. 食品中からのスズ化合物の分離

一定量のトマトを乳鉢中ですりつぶし、これに TPC, DPC, MPC および TC をそれぞれ 10 ppm になるように添加し、その他の調味食品には、DOC, MOC および TC を同様に添加し、それぞれ一夜放置したものについて、水溶液の場合と同様に操作して TLC 用試料溶液を調製した。ただし、抽出操作において、エマルジョンを生ずるものについては、これを遠心分離管にうつし、3000 rpm で10分間遠心分離したのち、分液を行った。

遠心分離によってもなおエマルジョン層がエーテル層と水層との間に留まっているときは、そのエマルジョン層上に円形ろ紙およびテフロン製円形目皿板を順次のせ、再び 3000 rpm で10分間遠心分離を行ない、エーテル層を分離した。

また、別にスズ化合物無添加の各食品について同様に操作し、比較用試料溶液とした。

実験結果および考察

1. 水溶液からのスズ化合物の分離

試料中のスズ化合物の化学形態を TLC によって同定するための試料溶液調製法としては、試料中のすべてのスズ化合物を同時に効率よく抽出する必要がある。

Bock の方法²⁾は無機スズ (IV) をチオシアン酸錯塩としてエチルエーテルに移行させるものであるが、エチルエーテルによって、ジアルキルスズ化合物が効率よく抽出されることから、本抽出法の食品汚染にかかわる無機および有機スズ化合物の同時抽出性について、検討を行った。

本法におけるチオシアン酸アンモニウムの効果を知るために、各スズ化合物の水溶液にチオシアン酸アンモニウムを添加したものと無添加のものについて、それぞれエーテル抽出を行ない、各水層およびエーテル層中のスズ化合物の有無を TLC によって確認した。その結果を Table 2 に示す。チオシアン酸アンモニウム無添加

Table 2. Effect of Ammonium Thiocyanate in the Proposed Extraction Procedure for the Detection of Inorganotin and Organotin Compounds on the Thin Layer Chromatogram

Compound	Ammonium thiocyanate			
	None		Added	
	Ether layer	Aqueous layer	Ether layer	Aqueous layer
TC	±	+	+	—
MBC	+	±	+	—
MOC	+	—	+	—
MPC	+	±	+	—
DBC	+	—	+	—
DOC	+	—	+	—
DPC	+	—	+	—
TBC	+	—	+	—
TOC	+	—	+	—
TPC	+	—	+	—

+: very clear, +: clear, ±: slightly detectable, —: non-detectable

のものでは、エーテル層中にほとんどすべての有機スズ化合物が検出され、水層には極微量の MBC, MPC および多量の TC の残存が認められた。一方、チオシアン酸アンモニウム添加の抽出条件においては、エーテル層中にすべてのスズ化合物が多量検出され、水層にはまったくスズ化合物の残存は認められなかった。また、この抽出条件で、 Sn^{2+} も Sn^{4+} と同様ほぼ完全に抽出され、本法は TLC のためのスズ化合物のクリーンアップとして極めて有効であることを認めた。

なお、本法において、チオシアン酸アンモニウムを塩酸性溶液中に溶かすとき、ただちに赤色を帯び、この着色物質はエーテル抽出により、エーテル層に移行したが、エーテルを減圧下に蒸発乾固後、少量のエタノールを加えて再び乾固するとき、それをほぼ完全に除去することができた。

2. 食品中のスズ化合物の分離検定について

(1) チオシアン酸アンモニウム-エチルエーテルによる抽出

水溶液からのスズ化合物の分離法として好結果をえたチオシアン酸アンモニウム-エチルエーテルによる抽出法を、無機スズおよび有機スズ化合物を添加した食品に応用した。

醸造酢からの抽出においては、水溶液の場合と同様に分液ロートにより、容易にエーテル層を分離することができた。しかしながら、ソース、しょう油およびトマトでは、エチルエーテルと振とうするとき、エマルジョンが生じ、分液ロートでの分液は不可能であったため、それらをそれぞれ遠心分離管にうつし、3000 rpm で10分間遠心分離を行なった。

その結果、ソースおよびしょう油では、大半のエーテ

ル層をとり出し得たが、トマトについては、エマルジョン層がエーテル層と水層および固形分との間にかなりの厚さをもって存在し、わずかのエーテル層を分離したにとどまった。さらに、遠心分離操作を 4000 rpm で10分間行なってもほぼ同様な結果に終わった。

(2) エマルジョン層中のエチルエーテルの分離について

エマルジョンの形成は、溶媒抽出法においてしばしばおこる現象であるが、これを簡便に破壊する方法はほとんど見当たらない。

われわれは、エマルジョンを破壊するために、遠心分離操作に改良を加えた。すなわち、食品とエチルエーテルとの混合物を予め 3000 rpm で10分間遠心分離したのち、エマルジョン層上に円形ろ紙およびテフロン製円形目皿板を順次のせ、再び 3000 rpm で10分間遠心分離を行なった。

その結果、テフロン製円形目皿板および円形ろ紙がエマルジョン層と共に遠心分離管の底部まで沈降し、エーテル層をほぼ完全に分離することができた。

この原因は、遠心分離によって、比重 2.2 を有するテフロン製円形目皿板が円形ろ紙と共にエマルジョン層を圧して沈降し、さらにエマルジョン層が遠心分離管の底部で圧縮され、この間にエマルジョン層中の液相が強制ろ過されたものと考えられる。

この方法において、テフロン製円形目皿板が厚すぎると、その重量のために、そのみが急速に沈降し、エマルジョン層を全体的に圧することができないばかりでなく、底部での圧縮の際、底面に沿って湾曲しえない。本法では厚さ 0.25 mm のものを使用し、その目的を十分達することができた。

(3) スズ化合物の TLC による検出

以上の操作によって得られたエーテル層を水洗し、エチルエーテルを減圧下に留去したのち、少量のエタノールを加えて再び蒸発乾固し、そのメタノール溶液について、前報¹⁾にしたがってそれぞれ TLC を行なった。

その結果、いずれの試料についても、有機スズ化合物の検出に妨害となる物質は認められなかったが、原点付近に、TC 以外の金属イオンと思われるジチゾンによって呈色するものの存在を認めた。この物質は、各比較用試料溶液の分析の結果、ジチゾンにより桃赤色を呈し、ピロカテコールバイオレットにより何ら呈色を与えないことから、Zn イオンと思われた。

3. その他の金属イオンの影響について

チオシアン酸 アンモニウム-エチルエーテルによるスズ化合物の抽出およびその TLC における各金属イオンの影響について検討した。

金属化合物として、 HgCl_2 、 AgNO_3 、 $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ および $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ の 8 種をえらび、各 100 mg をおのおの水 30 ml に溶かしたものについて、実験方法 3 にしたがって試料溶液を調製し、四塩化炭素-氷酢酸 (14+6) を展開溶媒として TLC を行ない、0.1% ジチゾン溶液または 0.1% ピロカテコールバイオレット溶液を用いて発色を行なった。その結果を Table 3 に示す。

展開は TC, MPC, MBC および MOC 用の展開溶

液を用いて行なったが、呈色した各金属イオンのスポットはいずれも原点であった。

Table 3 に示すように、ジチゾン溶液による発色においては、 Sn^{2+} および Zn^{2+} が多量に検出され、また、 Ag^+ および Fe^{3+} も検出された。

一方、ピロカテコールバイオレット溶液による発色では、 Sn^{2+} および Fe^{3+} の呈色が強く現われ、 Zn^{2+} もわずかに検出された。

これらの金属イオンは前述のように、原点に留まり、Sn イオンのスポットと分離しえなかったが、 Sn^{2+} および Sn^{4+} は共に、いずれの発色試薬とも極めて鋭敏に反応するため、それら 2 種の発色試薬を用いれば、それらの呈色の特異性により、スズイオンの存在を容易に知ることができると考えられる。

結 語

食品中に混在する可能性のある一連の無機スズおよび有機スズ化合物を TLC によって検出するための食品中からのクリーンアップ法について検討した。

その結果、各スズ化合物は塩酸酸性溶液から、塩化物またはチオシアン酸塩としてエチルエーテルにほぼ定量的に抽出され、無機スズおよび有機スズ化合物の同時抽出法として極めて有効であることを認めた。また、これらの食品からの抽出操作において、しばしば形成されるエマルジョンは、円形ろ紙およびテフロン製円形目皿板を用いて遠心分離するとき、容易に破壊され、エマルジョン中のエーテル分をほぼ完全に分離することができた。

文 献

- 1) 赤木洋勝, 坂上米次: 公衆衛生院研究報告 20 (1), 1 (1972).
- 2) Adamson, J. H.: Analyst 87, 597 (1962).
- 3) 小松美博, 並木恒久, 森 文雄: 食衛誌, 11, 17 (1970).
- 4) Larkin, W. A., Sheldon, A. W., Simmons, I. L.: 26th Annual Technical Conference of the Society of Plastic Engineers. New York, May, 1968; 塩ビ食品衛生協議会: 技術参考資料 22 号, 10 (1969).
- 5) 塩ビ食品衛生協議会: 塩ビ食品衛生協議会報 No. 4, 48 (1968).
- 6) Corbin, H. B.: J. Assoc. Offic. Anal. Chemists 53, 140 (1970).
- 7) 山畑慧位子, 楠山 尚, 小西一生: 分析化学 20, 223 (1971).
- 8) Bock, R.: Z. Anal. Chem. 133, 110 (1951).

Table 3. Thin Layer Chromatographic Detection of Ether Extract of Thiocyanates of the Metal

Reagent Metal ion	Dithizone	Pyrocathocol violet
Sn^{2+}	± (Red purple)	± (Blue)
Zn^{2+}	± (Red pink)	± (Yellow orange)
Fe^{3+}	± (Yellow)	± (Purple)
Ag^+	± (Yellow orange)	—
Pb^{2+}	± (Yellow brown)	—
Cu^{2+}	—	—
Cd^{2+}	—	—
Hg^{2+}	—	—

±: very clear, +: clear,

±: slightly detectable, —: non-detectable

Adsorbent: 10% ammonium sulfate-containing Kieselgel H

Solvent system: carbon tetrachloride-acetic acid (14+6)