ガスクロマトグラフィーによる食品中総臭素の定量

(昭和 59 年 7 月 19 日受理)

小山田則孝* 上野 清一*
久保田かほる* 石崎 睦雄*

Determination of Total Bromine in Foods by Gas Chromatography

Noritaka OYAMADA, Seiichi UENO, Kaoru KUBOTA and Mutsuo ISHIZAKI

(Department of Environmental Health, Ibaraki Hygienic Laboratory:
4-1, Atago-cho, Mito, Ibaraki, Japan)

An improved method for the determination of total bromide in foods was established.

A sample of 1 g was taken into an alumina ceramic crucible and 1.5 ml of alkaline monoethanolamine solution was added. The sample was ashed at 550°C for 8 hr and the ashed residue was dissolved in 0.1 N sodium hydroxide solution and distilled water. The sample solution was transferred to the reaction vessel, then 0.3 g of manganese dioxide and 10 ml of 50% sulfuric acid were added, and the reaction vessel was connected to the absorption vessel containing 2 ml of $4 \times 10^{-3} M$ styrene monomer ethanol solution and 15 ml of 30% potassium chloride solution. Bromine produced was expelled to the reaction vessel by bubbling nitrogen gas (flow rate, 100 ml/min) through the sample solution for 9 min, and then the liberated bromine was reacted with styrene monomer. The product (bromo derivative of styrene) was extracted with *n*-hexane and determined by ECD-GC.

In this method, it was found that bromide in foods could be determined with a recovery of 84-91% and a variation coefficient of 4.6-8.9%. The detection limit was 0.1 µg/g.

(Received July 19, 1984)

Key words: 臭素 bromine; 食品 foods; スチレンブROM誘導体 styrene bromo derivative; ガスクロマトグラフィー (ECD) gas chromatography (ECD)

緒 言

近年食品中に残留する臭素が注目されてきている。食品中の総臭素の測定法としてガスクロマトグラフ法、ヨウ素滴定法、比色法等が報告されているが¹⁻³⁾、これらの測定法はそれぞれ精度、感度、使用上の制限がつきまとうことなどの難点がある。これらのうち我が国ではフルオレセインを発色試薬として用いた比色法を基とした分析法が広く利用されている。しかしながらこの方法では、呈色時に共存する他のハロゲン化合物の影響を受けたり、呈色が安定しないことなどから、しばしばその測定値が大きく変動し、測定困難な例が生じる場合がある。また操作過程で酸化剤として重クロム酸塩を用いねばならないことから、実験後これらの廃液処理に問題を残している。

そこで著者らは、硫酸酸性下臭素イオンが二酸化マンガンの定量的に酸化されて臭素となることに着目し⁴⁾、発生した臭素をスチレンモノマーと反応させれば、先に著者らが報告した電子捕獲型 (ECD) 検出ガスクロマトグラフィー (GC) による臭素酸⁵⁾と同様に、食品中の総臭素をスチレンブROM誘導体として簡単に測定可能であろうと考え、この方法を利用した分析法を検討し、簡便かつ精度の高い分析法を確立したので報告する。

実験方法

1. 試 料

生産者から直接購入したもの及び水戸市内で購入した市販品、合わせて22種類55検体を試料として用いた。

2. 試 薬

臭素イオン標準溶液: 臭化カリウム 0.149 g を精秤して、水に溶かして 100 ml とした (Br^- として 1,000 ppm 含む) ものを用時適宜希釈して用いた。

* 茨城県衛生研究所: 茨城県水戸市愛宕町 4-1

Fig. 1. Apparatus for generation and absorption of bromine

(A), reaction vessel (2.4 cm × 19.5 cm, T19); (B), absorption vessel (2.5 cm × 20 cm, T19/18); (C), teflon tubing (6 mm × 4.5 cm)

モノエタノールアミン-アルカリ溶液: 上村⁶⁾らの方法により, 用時調製した。

$4 \times 10^{-3} M$ スチレンモノマー溶液: 和光純薬工業(株)製特級品を用時 1% 水酸化ナトリウム溶液で洗浄し, ついで水で 2 回洗浄後, 無水硫酸ナトリウムで脱水したものの 42 mg をとり, エタノール 5 ml に溶かし水を加えて 100 ml とした。

Table 1. Operating Conditions of Gas-liquid Chromatograph

Instrument	Hitachi 073 type equipped with ECD
Column	Glass column 2 m × 3 mm
Liquid phase	Fluoxylate-K, 0.5% (Uniport HP, 80-100 mesh)
Detector temperature	300°C
Column temperature	130°C
Carrier gas	N ₂ , 60 ml/min

n-ヘキサン: 関東化学工業(株)製残留農薬分析用を用いた。

その他の試薬は市販特級品を用いた。

3. 装置

臭素発生装置を Fig. 1 に示した。

るつぼ: アルミナセラミックス製, 容量 30 ml のものを用いた。

ガスクロマトグラフ及び GC 用充てん剤は既報に準じて行い, その条件を Table 1 に示した。

4. 試料の灰化

よく粉碎した試料 1 g をアルミナセラミックス製のるつぼに秤取し, モノエタノールアミン-アルカリ溶液 1.5 ml を加えて混和した後, ホットプレート上で蒸発乾固した。ついで 550° の電気炉で 8 時間灰化した。灰化物を 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 2.5 ml に溶かした後反応容器に移した。同様の操作を繰り返し行った後, 水 3 ml を用いて, るつぼを洗い洗液を反応容器へ移し, このものに二酸化マンガ 0.3 g を加え灰化液とした。

Sample (1.0 g)

add 1.5 ml of alkaline-ethanolamine solution
(3 ml of monoethanolamine and 0.6 g of NaOH in 76 ml of ethanol)
ash for 8 hr at 550°

Ashed residue

rinse the crucible twice with 2.5 ml of 0.1 N NaOH, and with 3 ml of H₂O
transfer into the reaction vessel
containing 300 mg of MnO₂

Ashed solution

add 10 ml of 50% H₂SO₄
connect the reaction vessel to the absorption vessel containing
2 ml of $4 \times 10^{-3} M$ styrene monomer ethanol solution and 15 ml of 30% KCl
bubble N₂-gas (flow rate, 100 ml/min) for 9 min

Absorbed solution

extract the solution in the absorption vessel with 2 ml of *n*-hexane

n-Hexane

ECD-GC

Scheme 1. Analytical procedure for bromide in foods

5. 臭素の定量法

吸収容器に $4 \times 10^{-4} M$ スチレンモノマー溶液 2 ml 及び 30% 塩化カリウム溶液 15 ml を入れた後、4 の項で調製した灰化液の入っている反応容器に 50% 硫酸 10 ml を加え、ただちに通気管を装着し、反応温度 25° 、窒素流量 100 ml/min の条件で 9 分間通気した。吸収容器の通気管を 30% 塩化カリウム溶液 1 ml で 2 回洗浄し、洗液を吸収容器に移した後、*n*-ヘキサン 2 ml を吸収容器に加え 5 分間振とうし、スチレンブrom誘導体を抽出した。ついで *n*-ヘキサン層を分取し、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、試験溶液とした。試験溶液 1 μ l を ECD-GC に供し、Table 1 の条件で Br^- を測定した。同様の操作により半値幅法を用いて作成した検量線から臭素量を算出した。試験操作の概略を Scheme 1 に示した。

結果及び考察

臭素の吸収剤として、既報と同様にスチレンモノマーを用い、臭素を定量的に発生させる至適条件について検討した。

1. 硫酸添加量

臭素を発生させるために灰化液を酸性にする必要がある。そこで反応温度 25° とし、二酸化マンガン 0.5 g、窒素通気量 200 ml/min 及び通気時間 10 分間に設定し、水 8 ml に臭素イオン標準溶液 1 μ g を加えた反応容器に 50% 硫酸の量を 6~12 ml まで変化させ 5 の定量法に準じて操作を行った。その結果 50% 硫酸の添加量 8 ml 以上で一定・最高の値を示したので、以後の操作では 50% 硫酸 10 ml を用いることとした。

2. 酸化剤

臭素イオンを酸化して遊離臭素とするため、酸化剤として重クロム酸塩を用いた場合、試験終了時に反応液の処理に問題が残る。そこで酸化剤として二酸化マンガンを用いて、臭素イオンの至適酸化条件について検討した。臭素イオン標準溶液 1 μ g を含む反応容器に二酸化マンガン量 50~600 mg の範囲で変化させ 5 の定量法に準じて操作を行ったところ、添加量 100 mg 以上で一定・最高の値を示したので、二酸化マンガン添加量は 300 mg とした。

3. 窒素通気量

発生させた臭素を分離することなく、反応容器中でスチレンモノマーと反応させたところ、ガスクロマトグラム上に多数のピークが出現し、しかも定量的にスチレンブrom誘導体が生成されなかった。そこで百川³⁾らの臭素発生装置を応用して臭素を分離することとし、この際の本法での至適窒素通気量を求めることとした。窒素通気量を 1 分間に 50~300 ml の範囲で変化させ実験を行ったところ、Fig. 2 に示したように通気量 50~200 ml の範囲で一定・最高の値が得られたので、以後の操作では窒素通気量を 100 ml/min とした。

Fig. 2. Relationship between flow rate of N_2 gas and the yield of styrene bromo derivative

One microgram Br^- was used.

Fig. 3. Relationship between bubbling time and the yield of styrene bromo derivative

Flow rate of N_2 gas, 100 ml/min.

4. 通気時間

窒素通気量 100 ml/min とし、通気時間を 5~12 分間で変化させ実験を行ったところ、Fig. 3 に示したように通気時間 7~10 分間で一定・最高の値が得られたので、窒素通気時間を 9 分間とした。

5. 反応温度

反応容器に臭素イオン標準溶液 1 μ g をとり、5 の定量法に準じて臭素を発生させ、室温を $20\sim 30^\circ$ に変化させたところ、 20° 、 25° 及び 30° でいずれも一定の値を示したので、反応温度を 25° とした。

6. 妨害物質の検討

灰化液中に他のハロゲンイオンが共存した場合、臭素イ

Table 2. Recovery Test of the Proposed Method

臭素の検出

Sample (1.0 g)	Br ⁻ added (μ g)	Found (μ g)					Mean (μ g)	Recovery (%)	C.V. (%)
Milled rice	0	0.20	0.20	0.23	0.23	0.19	0.21		8.9
	0.5	0.59	0.65	0.66	0.61	0.62	0.63	84.0	4.6
	1.0	1.09	1.01	0.99	1.20	1.07	1.07	86.0	7.7
Rice flower (Joshinko)	0	2.43	2.10	2.58	2.31	2.37	2.36		7.4
	1.0	3.45	3.20	2.90	3.16	3.50	3.24	88.0	7.5
	3.0	5.30	5.10	5.05	4.72	5.30	5.09	91.0	4.7

Table 3. Determination of Total Bromide in Foods

Sample	No. of sample	No. of detected	Found, ppm		
Milled rice	4	3	0.35,	0.28,	1.48
Rice flour	3	3	4.70,	10.06,	2.36
Soft flour	3	3	2.97,	1.70,	3.43
Hard flour	2	2	3.18,	0.11	
Bread crumbs	1	1	28.71		
Tempura flour	3	3	2.05,	0.50,	2.60
Adzuki beans	1	1	0.11		
Peas	1	1	4.90		
Soy beans	1	1	0.33		
Uzura-mame	1	1	0.10		
Daifuku-mame	1	1	1.25		
Toramame	1	1	0.10		
Sweet potato	2	2	2.81,	2.34	
Potato	4	3	0.10,	21.18,	2.22
Cucumber	4	4	0.10,	0.11,	0.29, 0.14
Tomato	4	2	0.11,	0.55	
Eggplant	5	4	0.26,	4.37,	1.90, 0.10
Satsuma mandarin	3	1	0.10		
Grapefruit	3	2	0.19,	0.12	
Apple	3	0			
Lemon	3	1	0.15		
Fish jelly product (Sasakamaboko)	2	2	25.30,	15.95	

オンと同時に遊離状態となりスチレンモノマーと反応すると考えられる。そこで塩素イオン (塩化ナトリウム) として 30 mg, フッ素イオン (フッ化カリウム) として 0.5 mg, ヨウ素イオン (ヨウ化カリウム) として 0.1 mg をそれぞれ反応容器にとり、定量法に準じて操作を行った。その結果クロマトグラム上には、スチレンブROM誘導体 (保持時間 3 分) に一致するピークはなく、本法では共存する他のハロゲンイオンの影響はないものと考えられる。

7. 検量線の作成

検量線は臭素イオンとして各々 0.1 μ g/ml から 5.0 μ g/ml の範囲で作成し、以後の定量操作に利用した。

8. 添加回収実験

米及び上新粉を用いて臭素イオンの添加回収実験を行った結果を Table 2 に示した。回収率 84~91%, 変動

係数 4.6~8.9% と良好な結果が得られ、さらに本法では 1 g の試料を用いた場合 0.1 μ g まで測定できることから、検出限界は試料濃度として 0.1 ppm であった。

9. 食品中の総臭素量

本法を用いて、穀類、いも類、豆類、野菜類、果実類及び水産物等 22 種 55 検体中の臭素量の測定を行い、その結果を Table 3 に示した。臭素は 55 検体中 42 検体から検出され、その濃度範囲は穀類 0.11~28.71 ppm, いも類 0.10~21.18 ppm, 豆類 0.10~4.90 ppm, 野菜類 0.10~4.37 ppm, 果実類 0.10~0.19 ppm 及び水産物等 15.95, 25.30 ppm であった。

要 約

1. 臭素イオンは硫酸酸性下、二酸化マンガンで酸化され遊離臭素となり、発生した臭素を還元法で分離しスチレンモノマーと反応させることで定量的にスチレンブ

ロム誘導体を生成する。このものを *n*-ヘキサン抽出し、ECD-GC により精度よく測定できた。

2. 灰化試料を少量化させることができ、灰化時間を短縮させることができた。

3. 米及び上新粉を用いた添加回収実験では回収率 84~91%, 変動係数 4.6~8.9%, 試料 1g を用いた場合検出限界は 0.1 ppm と良好な結果が得られた。

4. 本法は共存する塩素イオン等他のハロゲンイオンの影響もなく簡便かつ精度よく臭素イオンを測定できた。

以上のことから、本法は食品中総臭素の分析法として十分実用に供し得るものと考えられる。

文 献

1) Thewlis, B. H.: J. Sci. Food Agric. 28, 85~

88 (1977).

2) 厚生省環境衛生局食品化学課: 食品中の添加物分析法, 第4集, p. 14~20 (昭和 53 年 9 月).

3) 百川 洸, 山田わか, 佐藤文子, 堀 敬一: 食衛誌, 22, 531~535 (1981).

4) 高木誠司: “定性分析化学” p. 235~236 (1964) 南江堂.

5) 小山田則孝, 久保田かほる, 上野清一, 石崎陸雄: 食衛誌, 24, 563~568 (1983).

6) 上村 尚, 西島基弘, 永山敏廣, 安田和男, 斉藤和夫, 井部明広, 牛山博文, 直井家壽太: 同上, 21, 214~218 (1980).