イオンクロマトグラフィーによる食用赤色 104 号中の 臭化物の定量

(平成 2 年 9 月 14 日受理)

鈴木 淳子^{*1} 合田 幸広^{*1,2}
神蔵美枝子^{*1} 義平 邦利^{*1}

Determination of Inorganic Bromides in Food Red No. 104 by Ion Chromatography

Junko SUZUKI^{*1}, Yukihiro GODA^{*1,2}, Mieko KAMIKURA^{*1} and Kunitoshi YOSHIHARA^{*1}

(^{*1}National Institute of Hygienic Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, Japan;

^{*2}To whom correspondence should be addressed)

An ion chromatographic method is described for the determination of inorganic bromides in Food Red No. 104 (R104; C. I. 45410, C. I. Acid Red 92).

Conductivity detection under acidic solvent conditions (2.5 mM phthalic acid and 2.4 mM tris (hydroxymethyl) aminomethane) was chosen from the viewpoint of sensitivity (determination limit: 0.5 ppm). The bromide ion was separated satisfactorily on a column of Shim-pack IC-A1 with a guard column of Shim-pack IC-GA1 at a flow rate of 1.5 ml/min at 40°C and the recovery of NaBr (0.0644 mg) added to R104 standard (100 mg) was 101.5%.

Then, thirty-nine commercial samples of R104 made in Japan were analyzed by this method. All of the commercial R104 samples contained inorganic bromides above 0.01% (calculated as NaBr) and the highest and average contents were 0.329 and 0.159%, respectively. The bromide content average classified according to manufacturer showed large differences, taking account of the standard deviations. Since we observed an increase of inorganic bromides in a solution of R104 after storage without shielding from light, the differences might derive from the manufacturing conditions used by each maker during the synthesis of R104.

(Received September 14, 1990)

Key words: 食用赤色 104 号 food red No. 104; フロキシシン phloxine; 臭化物 bromide; イオンクロマトグラフィー ion chromatography; キサンテン色素 xanthene color

緒 言

新しい食品分析技術への対応、諸外国の成分規格との整合性、さらには安全性確保のため、近年、食用タール色素中の不純物や付随色素などの新しい規格化が検討され、各種知見の蓄積が求められている。

このような情勢に基づき著者は、これまでに各種食用タール色素について、不純物や付随色素などの分析法、構造、含有量などを明らかにしてきた^{1)~6)}。前報では、食用赤色 3 号及び同 105 号中の不純物であるヨウ化物量の測定にイオンクロマトグラフィー (IC) を応用し、市販両色素のほとんどに若干量のヨウ化物が含まれ

ていることを示した⁶⁾。

本論文では、食用赤色 104 号が上記両色素と類似した製造過程⁷⁾や化学構造 (Fig. 1) をもち、不純物として臭化物の存在が予想されるため、IC による色素中の臭化物の分析法を検討した。また食用赤色 104 号は日本独自の食用色素であるため、FAO/WHO 等の規格もなく、さらに我が国でも、同色素中の臭化物量についての規制値が定められておらず⁷⁾、その実態が明らかでないことから、市販の食用赤色 104 号、3 社、39 検体について臭化物量を測定した。

実験方法

1. 食用赤色 104 号

食用赤色 104 号は、国立衛生試験所標準品と、市販品

^{*1} 国立衛生試験所: 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

^{*2} 連絡先

Fig. 1. Structures of food red No. 3, No. 104 and No. 105

A 社製造 7 検体 (昭和 60 年製 1 検体, 62 年製 1 検体, 63 年製 2 検体, 平成元年製 3 検体), B 社製造 29 検体 (昭和 60 年製 1 検体, 61 年製 7 検体, 62 年製 5 検体, 63 年製 5 検体, 平成元年製 11 検体), C 社製造 3 検体 (昭和 60, 61, 62 年製各 1 検体) を用いた。

2. 試薬及び標準液

フタル酸, トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンは和光純薬工業(株)製特級品を用いた。また臭化ナトリウムは和光純薬工業(株)製の純度 99.9% の表示品を使用した。水は, すべて Milli-Q (日本ミリポア(株)) により蒸留水を純水まで精製したものを用いた。陰イオン標準試料 (各種陰イオンの混合水溶液) は, (株)島津製作所製を用いた。

臭素イオン標準液は, 臭化ナトリウム 128.8 mg を水に溶かして 100 ml としたものを用いた。この液 1 ml は臭素イオン 1 mg を含む。

3. 装置

IC 装置は, 東ソー(株)製 CCPD ポンプ樹脂仕様品に, 東ソー(株)製 CM-8010 電気伝導度検出器と CO-8000 カラムオープンを取り付けたものを用いた。またインテグレーターは, (株)島津製作所製 CR4AD を用いた。

4. 分析方法

4.1. IC 分析条件

分析カラムは, (株)島津製作所製 Shim-pack IC-A1 に, ガードカラムとして(株)島津製作所製 Shim-pack IC-GA1 を取り付けたものを使用し, 2.5 mM フタル酸と 2.4 mM トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンを含む水溶液 (pH 4.0) を溶離液として, 流速 1.5 ml/min, 設定温度 40°, 注入量 20 μ l (色素量として 0.1 mg), 検出感度 0.1 μ S/cm, ピーク面積法で測定した。

4.2. 検量線の作成

臭素イオン標準液を定量的に希釈し (臭素イオンとして 0.5~20 ppm), 検量線用臭素イオン溶液として IC に供した。

4.3. 添加回収実験

食用赤色 104 号国立衛生試験所標準品 100.0 mg を正確に量り, 臭素イオン標準液を 20 倍に希釈した溶液

Fig. 2. Calibration curve of Br^-

を 1 ml 加え, 更に, 水を加えてよく振り混ぜて溶かした後, 水で液量を 20 ml とし, 添加回収試験溶液として IC に供した。また別に空試験を行った。

5. 市販色素中の臭化物の定量

市販の食用赤色 104 号 100.0 mg または 120.0 mg を正確に量り, 水を加えてよく振り混ぜて溶かした後, 水で液量を 20 ml とし, 試験溶液として, 以後 4.1. の IC 条件で分析を行った。

6. 市販色素の含量

公定書法⁹⁾によった。

結果及び考察

1. 分析条件の検討

IC による臭素イオンの検出には, 紫外吸収検出法及び電気伝導度検出法が知られている。食用赤色 104 号中の臭化物量は, 食用赤色 3 号及び同 105 号中のヨウ化物量から推察すると, 同様に極めて少量であると考えられる。そこで本実験では, 臭素イオンに対し, より感度が高い電気伝導度検出法を用いることにした。さらに, 検出器は, 最高感度の 0.1 μ S/cm で使用することにし, 分析する色素量も, 0.1 mg と, 硫酸塩や塩化物の分析時に用いた量⁵⁾の 5 倍量用いることにした。

次に, 市販の陰イオン標準試料を加えた食用赤色 104 号国立衛生試験所標準品を用い, 各種溶媒条件下での市販陰イオン交換カラムの分離能及び検出感度について検討した。その結果, 実験方法 4.1 で示した酸性の IC 条件が, 感度の面で特に優れている上, 分離面でも, 予想される妨害イオンである塩素イオンや硫酸イオンの保持時間が, それぞれ 2 分 15 秒, 5 分 10 秒と, 臭素イオン (保持時間, 3 分) の定量に支障を与えないことが判明した。そこで, 本条件下での検量線を作成したところ, 0.5 ppm から 20 ppm の濃度範囲で, Fig. 2 に示すような良好な直線性を持つ検量線が得られた。

Fig. 3. Ion chromatograms of food red No. 104 standard

Left: non-spiked food red No. 104 standard (100 µg)

Right: NaBr (0.0644 µg) spiked food red No. 104 standard (100 µg)

Table 1. Recovery of Sodium Bromide Added to Food Red No. 104 Standard by Ion Chromatography

Food red No. 104 Standard (mg)	Sodium bromide		
	Content (mg)	Added (mg)	Recovery* (%)
100.0	0.0352	0.0644	101.5 ± 1.1

* Mean ± standard deviation of four determinations

2. 添加回収実験

Fig. 3 は、国立衛生試験所標準品及び臭化ナトリウムを添加した標準品のイオンクロマトグラムである。本実験系は既報⁶⁾と比較して高感度分析であるため、臭素イオンピークとともに、既報では観測されなかった標準品由来の塩素イオンピークがクロマトグラム中に見い出されている。添加回収の結果は、Table 1 に示すとおり、ほぼ 100% と良好であった。そこで本添加回収実験と同様の実験条件で、以後市販品中の臭化物の定量を行うことにした。

3. 市販食用赤色 104 号中の臭化物量

添加回収実験の結果より、IC により良好に色素中の臭化物量が定量できることが明らかとなったので、市販食用赤色 104 号、3 社、39 検体につきその分析を行った。その結果、すべての検体で、色素総量の 0.01% 以上の臭化物が検出され、最も含有量の高い検体では、0.33% の臭化物を含むことが判明した (Table 2)。また、各市販色素中の臭化物量と、色素含量には相関が無いことも明らかとなった。なお Table 2 中の A, B, C の記号は各メーカーを示し、次の数字は、製造年月日の古い順につけたものである。また色素 0.1 mg を用いた実験では、3 検体が 0.5 ppm 以下の臭素イオン量しか示さなかったため、これらのものについては採取量を 0.12 mg に

Table 2. Bromide Contents as Sodium Bromide in Food Red No. 104

Food red No. 104	Bromide contents (%)	Food red No. 104	Bromide contents (%)
A-1	0.0814	A-21	0.217
A-2	0.0934	A-22	0.216
A-3	0.187	A-23	0.218
A-4	0.177	A-24	0.213
A-5	0.185	A-25	0.227
A-6	0.180	A-26	0.0291
A-7	0.252	A-27	0.0300
A-8	0.329	A-28	0.0285
A-9	0.227	A-29	0.0274
A-10	0.239	B-1	0.0404
A-11	0.187	B-2	0.0741
A-12	0.250	B-3	0.0154
A-13	0.225	B-4*	0.0126
A-14	0.255	B-5	0.0158
A-15	0.244	B-6*	0.0110
A-16*	0.0122	B-7	0.125
A-17	0.256	C-1	0.222
A-18	0.250	C-2	0.242
A-19	0.141	C-3	0.245
A-20	0.215	Standard	0.0352 ± 0.008

Each value except for food red No. 104 standard is the mean of two determinations. The value of food red No. 104 standard is the mean ± standard deviation of four determinations. Injection volume of each food color dissolved in water (5 mg/ml except for *, *: 6 mg/ml) was 20 µl. Bromide ion concentration of 1 ppm in the solution represents bromide content of 0.0258% as sodium bromide in the original food color.

あげ再測定を行った。

次に、食用赤色 104 号中の臭化物量についてまとめ、その傾向について検討した (Table 3)。その結果、食用赤

Table 3. Comparison of the Bromide Content in Food Red No. 104 among Their Makers

Maker	Number	Bromide content		
		Mean value (%)	Range (%)	Standard deviation
A	29	0.179	0.0122~0.329	0.0846
B	7	0.0420	0.0110~0.125	0.0399
C	3	0.236	0.222 ~0.245	0.0102
A+B+C	39	0.159	0.0110~0.329	0.0940

色 3 号や食用赤色 105 号中のヨウ化物量⁶⁾の場合と同様、製造時期を問わず、メーカーにより、色素中の臭化物量が異なることが判明した ($p < 0.01$)。さらに、29 検体について測定した A 社の場合、0.2% 程度の臭化物含量を示すグループ (個数, 平均値 $\pm$ 標準偏差: 22, 0.222 $\pm$ 0.038%) と 0.025% 程度の含量を示すグループ (個数, 平均値 $\pm$ 標準偏差: 5, 0.0254 $\pm$ 0.0067%) 及びその中間の値を示す 2 検体に分けられた。実験上、色素水溶液を遮光せずに長期間放置すると、定量値が上昇することが観察されており、このような定量平均値の偏りは、各市販色素の製造過程での水浸時間の長短に由来する可能性も考えられる。また、市販の食用赤色 104 号 39 検体すべての臭化物の定量平均値は 0.159 $\pm$ 0.094% で、この値は市販の食用赤色 3 号及び 105 号のヨウ化物の定量平均値⁶⁾ 0.121 $\pm$ 0.064% より大きいものであった。

結 語

食用赤色 104 号中の臭化物量の測定に、これまで食用色素中の塩化物、硫酸塩、ヨウ化物の定量法として報告した電気伝導度検出の IC を応用し、本法で定量可能であることを示した。更に同法により、測定した市販の食用赤色 104 号すべてに臭化物が含まれており、その値は NaBr として 0.01~0.33% であることを明らかにした。

文 献

- 1) 神蔵美枝子: 食衛誌, 26, 243~252 (1985).
- 2) 神蔵美枝子: 同上 26, 643~650 (1985).
- 3) 神蔵美枝子: 同上 27, 27~36 (1986).
- 4) 神蔵美枝子: 同上 27, 398~407 (1986).
- 5) 合田幸広, 高野寿子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利: 同上 29, 325~330 (1988).
- 6) 合田幸広, 斉藤礼子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利: 同上 30, 390~395 (1989).
- 7) 食品添加物公定書解説書: 第 5 版 (1986), 広川書店.
- 8) 食品添加物公定書: 第 5 版 (1986), 厚生省.