食用タール色素試験におけるカールフィシャー法と 乾燥減量試験法の比較検討

(平成3年1月7日受理)

柿内 雅* 川本礼子* 辻 澄子*
柴田 正* 伊藤誉志男*

Comparison of Karl-Fischer Method with Loss-on-Drying Method for the Official Inspection of Food Coal-Tar Dyes

Masa KAKIUCHI*, Reiko KAWAMOTO*, Sumiko TSUJI*, Tadashi SHIBATA* and Yoshio ITO*

(*National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch:
1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka, Japan)

The loss-on-drying method is adopted in the official methods for standards of food coal-tar dyes. However, food coal-tar dyes are so hygroscopic that the results obtained by the official method are dependent on the level of humidity in the desiccator after drying. The official method requires 6 hours for drying.

In the Karl-Fischer method, it is not necessary to dry the sample and total water content in food coal-tar dyes can be measured directly. Thus, the sensitivity, accuracy and reproducibility of the official method and the Karl-Fischer method were compared.

The loss-on-drying value obtained by the official method was influenced by the humidity in the desiccator on cooling the dyes to room temperature, and the reproducibility of this method was not good. On the other hand, the Karl-Fischer method was simple, rapid, and accurate, and is concluded to be superior for the determination of water content in food coal-tar dyes.

(Received January 7, 1991)

Key words: 食品添加物 food additives; 食用タール色素 food coal-tar dyes; 乾燥減量試験法 loss on drying method; カールフィシャー法 Karl-Fischer method

緒 言

食用タール色素における製品検査の1つに乾燥減量試験法がある。

乾燥減量試験法¹⁾とは第5版食品添加物公定書(公定書)によると、「試料を規定された条件で乾燥するとき失われる水分及び揮発性物質の量を測定する方法」とある。食用タール色素における乾燥減量試験法では6時間という長い時間を必要とする。また乾燥後デシケーター中に放冷するが、食用タール色素は吸湿性が大きくデシケーター中及び空気中からの水分の影響を受け、測定値にばらつきが生じている^{*1}。食用タール色素の場合、

240°以下の温度においては色素の揮散は認められない²⁾ことから今回乾燥減量を水分量とし検討した。

一方乾燥減量試験法とは異なり水分のみを定量する方法にカールフィシャー法³⁾がある。従来のカールフィシャー装置は操作が煩雑であり、再現性の良い試験結果を得るのに熟練を要した。しかし近年密封型で空気の影響がなく取扱いの容易な機器が開発され、操作が簡便で短時間に再現性よく水分定量が可能となった。近年我が国において医薬品などの化学合成物質の水分定量は乾燥減量試験法からカールフィシャー法へと移行する傾向にある⁴⁾。またFAO/WHO及びFDAでは揮散物質中の個々の成分の限度値も規制している。そこで乾燥減量試験法とカールフィシャー法との比較検討を行った。またカールフィシャー装置に水分気化装置を接続し、乾燥温度を

* 国立衛生試験所大阪支所: 大阪市中央区法円坂 1-1-43

*1 柴田 正, 柿内 雅, 辻 澄子, 伊藤誉志男: 第26回全国衛生化学技術協議会年会集, p. 68~69 (1989).

Table 1. Comparison of Karl-Fischer Method and Loss-on-Drying Method on Water Content in Various Food Dyes

Dye	Water content in food dyes (%)							
	Y-4		B-2		R-3		B-1	
	K. F.	L. D.	K. F.	L. D.	K. F.	L. D.	K. F.	L. D.
Standard	5.85±0.04	5.72±0.10	5.97±0.05	5.48±0.12	7.92±0.06	6.87±0.10	5.46±0.03	4.91±0.07
A	5.89±0.06	4.94±0.08	5.72±0.04	5.72±0.11	7.36±0.04	6.35±0.07	2.71±0.03	2.02±0.02
B	6.53±0.07	6.24±0.10	6.00±0.09	5.08±0.18	8.58±0.02	7.64±0.06	5.80±0.08	5.21±0.13
C	4.52±0.05	4.50±0.05	5.89±0.06	5.78±0.09	13.10±0.03	12.48±0.12	5.42±0.02	4.97±0.06

K. F.: Karl-Fischer direct method

L. D.: Loss-on-drying method

Standard: Standard of National Institute of Hygienic Sciences

A, B, C: Commercial products

Each value represents mean ± S.D. (n=5)

変化させたときの揮散水分量についても検討したので報告する。

実験方法

1. 試料及び試薬

1) 試料: 食用黄色 4 号 (Y-4), 食用赤色 3 号 (R-3), 食用青色 1 号 (B-1), 食用青色 2 号 (B-2) の 4 種類の色素について比較検討し, 国立衛生試験所標準品 (standard) 及び食品添加物公定書に基づく製品検査に合格した色素 (A, B, C 社) を用いた。

2) 試薬: カールフィッシャー試液: Riedel-deHaen 製 HYDRANAL-composite 5; 水・メタノール標準液: Riedel-deHaen 製 HYDRANAL-Methanol-Wasser-standard 5.00

2. 装置

1) カールフィッシャー装置: 京都電子(株)製 MKA-210

2) 水分気化装置: 京都電子(株)製 ADP-351

3. 測定方法

1) 乾燥減量試験法: 公定書を準用した。すなわち, ひょう量瓶に色素約 1 g を正確に量り, 135° で 6 時間乾燥した後, 相対湿度 20% のシリカゲルデシケーター中に 30 分間放冷し, 重量を正確に測定して乾燥減量を水分 (%) として算出した。

2) カールフィッシャー直接法: 試料約 200 mg をサンプル (京都電子(株)製) に正確に量り, カールフィッシャー装置の滴定フラスコの中に移し, 自動滴定装置により水分量をカールフィッシャー試液で滴定し算出した。

3) カールフィッシャー法による水分気化装置付間接法: 試料約 200 mg をナス形サンプル (京都電子(株)製) に正確に量り, サンプルを気化装置に設置し, キャリアガス (乾燥窒素) でサンプルを含め装置内をパージした後, 乾燥温度と乾燥時間を設定し, 気化した水分をキャリアガスにより滴定フラスコに運び, 自動滴定装置に

Fig. 1. Comparison of Karl-Fischer method and loss-on-drying method on water content in various food dyes

St: standard of National Institute of Hygienic Sciences

A, B, C: commercial products

□: Karl-Fischer method; ■: loss-on-drying method

より水分量をカールフィッシャー試液で滴定し算出した。

4) 乾燥処理-カールフィッシャー直接法: 1) の操作の終わった試料を, 2) の操作方法で測定した。

Table 2. Comparison of Karl-Fischer Method and Loss-on-Drying Method on Water Content for R-3

	Water content in food dye (%)	
① Loss-on-drying method	6.87 ± 0.10	(86.7 ± 1.3)
② Karl-Fischer direct method	7.92 ± 0.06	(100.0 ± 0.8)
③ Karl-Fischer vaporized method		
105°C, 6 hour	6.85 ± 0.01	(86.5 ± 0.1)
135°C, 6 hour	6.96 ± 0.01	(87.9 ± 0.1)
160°C, 6 hour	7.34 ± 0.03	(92.7 ± 0.4)
200°C, 6 hour	7.45 ± 0.02	(94.1 ± 0.3)
240°C, 6 hour	7.50 ± 0.03	(94.7 ± 0.4)
④ Karl-Fischer direct after loss-on-drying method	1.93 ± 0.06	(24.4 ± 0.8)

(): Compared with Karl-Fischer direct method (100%)

Each value represents mean $\pm$ S.D. (n=5) **Fig. 2.** Relative vaporized water content of R-3 at each temperature in various heating time by vaporized method

100%: water content of R-3 measured by Karl-Fischer direct method

●: direct method; □: 105°C; +: 135°C; ◇: 160°C; △: 200°C; ×: 240°C

実験結果及び考察

1. 乾燥減量試験法とカールフィッシャー法による水分量の比較

カールフィッシャー法はカールフィッシャー試薬溶媒のメタノールと反応するアルデヒド類、ケトン化合物⁵⁾及びカールフィッシャー試薬と反応する還元性または酸化性置換基⁵⁾を有する化合物には適用できない。しかし、食用タール色素 11 種は化学構造からみてカールフィッシャー法の適用が可能である。

食用タール色素はその構造からアゾ色素、キサンテン色素、トリフェニルメタン色素、インジゴ色素の 4 種に分類し、それぞれのグループの代表としてタートラジン (Y-4)、エリスロシン (R-3)、ブリリアントブルー FCF (B-1)、インジゴカルミン (B-2) を選び、公定法である乾燥減量試験法と、カールフィッシャー直接法の両方法により測

Fig. 3. Relative vaporized water content of various dyes at each temperature by vaporized method (Heating time: 60 min)

100%: water content of various dyes measured by Karl-Fischer direct method

●: Y-4 (azo); ■: R-3 (xanthene); ▲: B-2 (indigo); ▼: B-1 (triphenylmethane)

定した値を Table 1 に示した。

また Table 1 のカールフィッシャー直接法の値を 100 (%) とし、乾燥減量試験法との比較を Fig. 1 に示した。

すべての色素について乾燥減量試験法の値がカールフィッシャー直接法の値より低い結果が得られた。このことより乾燥減量試験法で定められている 135°, 6 時間の条件では一部の水分は揮散しなかったものと思われ揮散温度による影響があるものと思われる。

また、乾燥減量試験法の値は、ばらつきが大きかった。この原因として乾燥減量試験法では、放冷操作が加わることから、デシケーター中及びびょう量時の空気中の相対湿度や温度など周囲の影響を受け、水分が色素に再吸湿される割合が変動するためばらつきが生じたものと考えられる。

2. 乾燥温度及び乾燥時間

公定法では、食用タール色素における乾燥減量試験法の条件を 135°, 6 時間と定めていることから、乾燥温度

Fig. 4. Studies on adsorbed water content in the desiccator with silica gel (R. H. 20%) for various dyes

A: Karl-Fischer direct method; B: loss-on-drying method; C: Karl-Fischer direct after loss-on-drying method+B

▨: adsorbed water content in the desiccator (C-A); □: remained water content

及び乾燥時間について検討した。

乾燥温度の検討については測定方法 3) に示した方法を用いて R-3 について検討した。240°以上の温度になると色素の分解が考えられる²⁾ため、最高乾燥温度を240°として検討した。

乾燥温度が高くなるに伴い色素から揮散する水分量は多くなったが、最高乾燥温度である240°でも、カールフィッシャー直接法の水分量を100(%)とすると、揮散した水分量は94.7(%)であった。また公定法で定められている135°では87.9(%)の水分しか揮散しないことが分かった。

乾燥時間の検討についても測定方法 3) に示した方法を用いて R-3 について行った。乾燥温度の差異による揮散水分量の時間経緯を Fig. 2 に示した。縦軸はカールフィッシャー直接法により得られた水分量を100(%)とし、横軸には乾燥時間を示し、各温度における揮散水分量の時間積算量を相対値で表した。

その結果乾燥温度が高い程色素から揮散する水分量は多くなり、一定の値に達する時間は短くなった。135°では約30分、105°でも約50分で一定値に達した。

3. 各乾燥温度における揮散水分量の検討

4種の色素について各乾燥温度における揮散水分量を測定方法 3) を用い乾燥時間を1時間として測定した後、カールフィッシャー直接法で測定した水分量を100(%)として、相対的に揮散水分量を求め Fig. 3 に示した。

公定法に定められている135°において、Y-4 は96.9%、B-1 は84.2%、B-2 は93.5%の水分が揮散し、それ以後温度を上げて200°までは一定の値となった。しかし R-3 は上記の3種の色素と異なり一定の値とならず、温度の上昇とともに水分の揮散が認められた。また同じ乾燥温度においても色素の種類によって揮散した水分(%)はそれぞれ異なった。

乾燥温度300°まで行った結果、Y-4、R-3、B-2の色素は300°においてもすべての水分は揮散しなかったが、B-1 は240~300°の間に分解点を持ち²⁾、分解発泡時にすべての水分が揮散した。

これらの結果から、乾燥温度は135°が適当と思われるが、同じ温度で乾燥しても、色素の種類によって揮散する水分(%)は異なるため、乾燥減量試験法によって水分量を正しく評価することは難しいと思われる。分解点まで温度を上昇させると水分が完全に揮散するものと思われるが、色素の種類によって分解する温度も異なることから画一的に乾燥温度を定めるのは難しいものと思われる。

4. 放冷操作中の付着水分についての検討

乾燥減量試験法は、放冷する操作が加わることから、ゲシケーター放冷中に付着する水分の影響が考えられる。また測定時の相対湿度や、温度によってばらつきが生じることから操作中に付着した水分について検討した。

カールフィッシャー直接法の値を100(%)とし、乾燥減量試験法の値と、測定方法 4) で求めた残余水分量の値を求め、Fig. 4 に示した。

その結果、乾燥減量試験法によって得られた水分量と残余水分量の和は100(%)より大きな値が得られた。このことは放冷の際、色素が水分を吸湿したのと考えられる。色素の種類によって差はあるものの、放冷操作中に吸湿した水分量が測定値に大きく影響していることが分かった。

ま と め

現在公定法で定められている食用タール色素における乾燥減量試験法の問題点として下記の3点がある。

1) 乾燥時間6時間と長い時間を必要とする。

2) 定められている135°の乾燥温度で測定しても、色素の種類によって揮散する水分(%)は異なることや、すべての水分は完全に揮散しないことから画一的に乾燥温度を定めるのには問題がある。

3) 放冷操作が避けられないことから、空气中及びゲシケーター中の水分の影響が大きく、測定時の相対湿度や温度の違いからばらつきが生じる。

これに対して、カールフィッシャー直接法は短時間に、直接色素中の水分をすべて測定できる。また、放冷操作

の必要がないことから空気中の水分の影響が少なく、再現性のよい結果が得られる。吸湿性の大きい食用タール色素については、乾燥減量試験法よりもカールフィシャー直接法の方が適した方法と思われる。

なお、本研究の要旨は日本食品衛生学会第 60 回学術講演会（1990 年 9 月、北海道）で発表した。

謝 辞

本研究は、厚生科学研究「食品添加物の製品検査等の規格に関する試験法の作製」によって行った。厚生省生

活衛生局食品化学課に深謝する。

文 献

- 1) 厚生省編：“第五版食品添加物公定書” p. 9～11 (1986).
- 2) 多留康矩, 高岡 京: 色材 55, 537～545 (1982).
- 3) 厚生省編：“第五版食品添加物公定書” p. 21～22 (1986).
- 4) 北川輝幸, 原 光枝, 横林 静, 川端哲朗, 幸田繁孝, 安田 勉: 分析化学 40, T9～T13 (1991).
- 5) 石館守三, 谷村顕雄監修：“第五版食品添加物公定書解説書” p. B-45～B-49 (1987) 広川書店.