イオンクロマトグラフィーによる各種食用タール色素中の塩化物, 硫酸塩, 臭化物及びヨウ化物の同時定量

(平成 3 年 3 月 15 日受理)

山田真記子^{*1} 宮田 政明^{*1} 中村 幹雄^{*1}

柴 田 正^{*2} 伊藤 蒼志男^{*2}

Determination of Chlorides, Sulfates, Bromides and Iodides in Food Coal-Tar Dyes by Ion Chromatography

Makiko YAMADA^{*1}, Masaaki MIYATA^{*1}, Mikio NAKAMURA^{*1},
Tadashi SHIBATA^{*2} and Yoshio ITO^{*2}

(^{*1}San-Ei Chemical Industries, Ltd.: 1-1-11, Sanwa-cho, Toyonaka-shi, Osaka, Japan;

^{*2}National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch:
1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka, Japan)

Soluble chlorides, sulfates, bromides and iodides in food coal-tar dyes can be determined by suppressed ion chromatography with a conductivity monitor.

Each food coal-tar dye was dissolved in water and ion-chromatographed directly with eluent containing 20% acetonitrile, 2 mM TBAOH (tetrabutylammonium hydroxide) and 0.8 mM sodium carbonate. IonPac NG1 was used as the guard column, and IonPac NS1 as the separating column. These columns are made from neutral polystyrene resin. The dyes are adsorbed on the guard column in the eluent containing the ion-pair reagent TBAOH, but four anions are separated by the separating column. After separation of the four anions, the columns were switched and the dyes were eluted from the guard column with 50% acetonitrile.

The recoveries of sodium chloride, sodium sulfate, sodium bromide and sodium iodide (each 10 µg/ml) added to 1000 µg/ml dye solution were in the range of 89.6~106.9%. The determination limits were 0.1 µg/ml (NaCl), 0.2 µg/ml (Na₂SO₄), 0.2 µg/ml (NaBr) and 0.5 µg/ml (NaI).

Thirty-one commercial samples were analyzed. Chlorides (as sodium chloride) and sulfates (as sodium sulfate) of all samples were within the limits of specifications. The commercial Food Red No. 104 contained 0.86~1.16% bromides as sodium bromide. The commercial Food Red No. 3 and the commercial Food Red No. 105 contained 0.07~0.22% iodides as sodium iodide.

(Received March 15, 1991)

Key words: 食用タール色素 coal-tar dyes; イオンクロマトグラフィー ion chromatography; 塩化物 chlorides; 硫酸塩 sulfates; 臭化物 bromides; ヨウ化物 iodides

^{*1} 三栄化学工業(株): 大阪府豊中市三和町 1-1-11

^{*2} 国立衛生試験所大阪支所: 大阪市中央区法円坂 1-1-43

緒 言

食品添加物公定書第五版¹⁾ (以下公定書と略) によれば、食用タール色素中の塩化物及び硫酸塩の定量は、色素を水溶液とした後、呈色指示薬を用いて滴定している。しかし、本方法には(1)煩雑で長い分析時間を必要とする。(2)硫酸イオンを定量する場合、指示薬の変色で終点を判断するため、かなりの熟練を必要とする。(3)滴定用の検液を調製する際に色素を脱色するが、脱色時に活性炭からの両イオンの溶出、活性炭への両イオンの吸着が認められ、活性炭の品質により測定値が変動するなどいくつかの難点がある^{2)~6)}。

食用タール色素中の塩化物及び硫酸塩の定量法は公定書法の他に、電位差滴定法^{2), 6), 7)}、キレート滴定法²⁾、比濁法^{3), 5)}などが報告されている。

電位差滴定法は、塩化物^{2), 6)}と硫酸塩⁷⁾に別の電極を用いる必要があるため、同時分析ができない。一方、硫酸塩の電位差滴定は食用赤色 3 号のようなフルオレセイン色素への適用は不可能である⁷⁾。キレート滴定法は、硫酸塩について行われる方法で、公定書法より精度は高いが、陰イオン交換体を用いた前処理が必要であり、また色素によって前処理方法が異なるなど煩雑である²⁾。硫酸塩について行われる比濁法も、公定書法の滴定部分の簡易化を行ったものであるが、公定書法と同じ活性炭による煩雑な前処理が必要である^{3), 5)}。

近年イオンクロマトグラフ(IC)を用いた方法では、合田らはノンサプレッサー方式のICを用い、タール色素中の塩化物及び硫酸塩の定量⁸⁾や、食用赤色 3 号及び食用赤色 105 号中のヨウ化物の定量⁹⁾を行っている。この方法は陰イオン交換カラムに色素が吸着するため、分析終了後カラムを洗浄するか、または市販の前処理用イオン交換ゲルカートリッジを使用した脱色操作後、分析を行わなければならない。また、食用赤色 104 号中の臭化物の定量法についての報告はない。

食用タール色素中に遊離のヨウ化物及び臭化物が混在することは食品衛生上好ましくない。

今回著者らは、現在許可されているすべての食用タール色素を対照とし、品質確保の目的でこれらの食用タール色素中に混在する塩化物、硫酸塩、臭化物及びヨウ化物の迅速かつ正確な同時定量法について検討した。サプレッサー方式のICを用いることにより良好な結果が得られたので報告する。

器具及び方法

1. 試料

食用タール色素はアゾ色素として食用黄色 4 号、キサンテン色素として食用赤色 3 号、食用赤色 104 号、トリフェニル色素として食用青色 1 号、インジゴイド色素として食用青色 2 号を用いた。色素はいずれも市販酸性タール色素を用いた。

Fig. 1. Apparatus of ion chromatograph

1: eluent A; 2: pump 1; 3: injector; 4: eluent B; 5: pump 2; 6: 8-port slider valve; 7: IonPac NG1; 8: IonPac NS1; 9: micro membrane suppressor; 10: conductivity detector

2. 試薬及び標準液

①アセトニトリル: キンダ化学(株)製高速液体クロマトグラフ用

②炭酸ナトリウム、無水: キンダ化学(株)製特級

③0.1 M 水酸化テトラブチルアンモニウム (TBAOH) 標準液: Dionex 社製

④塩素イオン標準液: キンダ化学(株)製塩化ナトリウム(特級)を 600° 2 時間乾燥し、その 100 mg を水に溶かして 100 ml とした。

⑤硫酸イオン標準液: キンダ化学(株)製無水硫酸ナトリウム(特級)を 200° 2 時間乾燥し、その 100 mg を水に溶かして 100 ml とした。

⑥臭素イオン標準液: メルク社製紫外吸収スペクトル用臭化カリウムを 115.7 mg 水に溶かして 100 ml とした。

⑦ヨウ素イオン標準液: ヨウ化カリウム(特級)を 110.7 mg を水に溶かして 100 ml とした。

⑧実験に使用した水は、Milli-Q (日本ミリポア(株))により蒸留水を精製した。

3. 装置

①IC 装置: Dionex 社製 4500i にインテグレーターとして Dionex 社製 AI-450 を取り付けたものを用いた。

②色素溶出用ポンプ (第 2 ポンプ): Waters 社製 6000A を用いた。

③試料の注入: Dionex 社製オートサンプラーを用い

Table 1. Typical Operation of Ion Chromatography

Time (min)		Injection ↓ 0	Column Switching ↓ 14	Column Switching ↓ 24	
Column condition		Initial	Adsorption	Desorption	Initial
Guard column IonPac NG1	Eluent	A	A	B	A
Separating column IonPac NS1	Eluent	A	A	A	A

Eluent A: 20% acetonitrile + 2 mM TBAOH (tetrabutyl ammonium hydroxide) + 0.8 mM sodium carbonate; Eluent B: 50% acetonitrile; Eluent flow rate: 1 ml/min; Suppressor: Anion Micro Membrane Suppressor; Regenerant: 50 mM sulfuric acid; Regenerant flow rate: 3 ml/min; Initial: initial condition; Adsorption: adsorption of colors; Desorption: desorption of colors; Separation: separation of four anions; Waiting: waiting for desorption of colors from the guard column

Fig. 2. Calibration curves for NaCl, Na₂SO₄, NaBr and NaI

●—● NaCl; ○—○ Na₂SO₄;
▲—▲ NaBr; △—△ NaI

た。

装置の概略図を Fig. 1 に示す。

4.1 分析条件

分析カラムは Dionex 社製 IonPac NS1 (4×200 mm), ガードカラムとして Dionex 社製 IonPac NG1 (4×50 mm) を, サプレッサーとしてアニオンマイクロメンブランサプレッサー AMMS-MPIC を使用した。IonPac NG1 及び IonPac NS1 カラムは中性のポリスチレン樹脂であり, カラム自身にイオン交換を行う部位を持たないため, TBAOH などのイオンペア試薬を移動相として用いることにより陰イオンの分析が行われる。

陰イオン分析用溶離液 (A 液) は 20% アセトニトリ

Fig. 3. Ion chromatogram of chloride, sulfate, bromide and iodide added to Food Yellow No. 4

Each 10 μg/ml of NaCl, Na₂SO₄, NaBr and NaI was added to 1,000 μg/ml of Food Yellow No. 4

ル, 0.8 mM 炭酸ナトリウム, 2 mM TBAOH を, 色素溶出用溶離液 (B 液) は 50% アセトニトリルを用いた。サプレッサー溶液は 50 mM 硫酸, 流速は 1.0 ml/min, 注入量 25 μl, 検出感度 30 μs/cm, ピーク面積法で測定した。

Table 1 に, IC の標準的な操作状態を示した。

IC の操作方法は, 初期状態 (Fig. 1-1) で A 液を流し試料を注入する。試料は, IonPac NG1 により色素成分と陰イオン群に分離される。色素成分が TBAOH とイオンペアを形成し, ガードカラムに保持される。一方, 陰イオン群は第 2 カラムに導入され分離される。陰イオン分析終了後, カラムスイッチングを行いスイッチング

Table 2. Recoveries of Sodium Chloride, Sodium Sulfate, Sodium Bromide and Sodium Iodide Added to Food Color

Food Colors	Recovery*			
	NaCl (%)	Na ₂ SO ₄ (%)	NaBr (%)	NaI (%)
Food Yellow No. 4	101.4	95.6	99.7	89.6
Food Red No. 3	105.1	94.4	102.4	98.5
Food Red No. 104	100.4	99.6	97.3	99.5
Food Blue No. 1	105.9	97.6	98.6	95.6
Food Blue No. 2	105.7	93.7	106.9	100.9

* Average of three determinations

Injection volume: 25 μ l10 μ g/g of sodium chloride, sodium sulfate, sodium bromide and sodium iodide were added to 1,000 μ g/g of color water solution

バルブを回転させ (Fig. 1-2), ポンプ 2 から送られる B 液により第 1 カラムに保持された色素が溶出される。色素溶出後、再びカラムスイッチングを行い初期状態とする。

5. 添加回収実験

試料各 100.0 mg に各イオン標準液 1.0 ml ずつを加え、水で全量 100 ml としたものを添加回収試験溶液とし、本法に従い定量した。

結果及び考察

1. 検量線

各イオンの検量線を Fig. 2 に示した。塩素イオンは塩化ナトリウムとして 0.1~100 μ g/ml, 硫酸イオンは硫酸ナトリウムとして 0.2~100 μ g/ml, 臭素イオンは臭化ナトリウムとして 0.2~100 μ g/ml, ヨウ素イオンはヨウ化ナトリウムとして 0.5~100 μ g/ml で良好な直線関係が得られた。以後の添加回収実験は 1,000 μ g/ml 色素溶液を用いて行った。

2. 添加回収実験

食用黄色 4 号に各イオン標準液を添加したときのイオンクロマトグラムを Fig. 3 に示した。いずれのイオンも良好な相互分離が示されている。

また Table 2 に示すように、4 種色素の回収率は塩化物: 100.4~105.9%, 硫酸塩: 93.7~99.6%, 臭化物: 97.3~106.9%, ヨウ化物: 89.6~100.9% と良好な結果が得られた。

3. 市販色素の調査結果

市販色素の結果を Table 3 に示す。すべての市販色素において、塩化物及び硫酸塩は公定書に定められた規格範囲内であった。また、食用赤色 3 号及び食用赤色 105 号のヨウ化物はヨウ化ナトリウムとして、0.07~0.22% であった。食用赤色 104 号中の臭化物は臭化ナトリウムとして、0.86~1.16% と高い値を示した。

Table 3. Contents of Sodium Chloride, Sodium Sulfate, Sodium Bromide and Sodium Iodide in Commercial Food Colors

Food Colors		NaCl (%)	Na ₂ SO ₄ (%)	NaBr (%)	NaI (%)
Food Red No. 2	A	2.34	1.02	N.D.	N.D.
	B	2.50	1.05	N.D.	N.D.
	C	2.79	1.03	N.D.	N.D.
Food Red No. 3	A	1.23	0.08	N.D.	0.22
	B	1.04	0.01	N.D.	0.08
	C	1.22	0.01	N.D.	0.08
Food Red No. 102	A	5.64	0.13	N.D.	N.D.
	B	5.96	0.04	N.D.	N.D.
	C	5.97	0.16	N.D.	N.D.
Food Red No. 104	A	1.60	0.02	0.86	N.D.
	B	1.75	0.02	1.16	N.D.
	C	2.20	0.03	1.07	N.D.
Food Red No. 105	A	2.11	N.D.	N.D.	0.13
	B	1.75	0.01	N.D.	0.07
Food Red No. 106	A	2.39	1.34	N.D.	N.D.
	B	2.75	0.82	N.D.	N.D.
	C	2.46	0.95	N.D.	N.D.
Food Green No. 3	A	3.82	0.45	N.D.	N.D.
Food Blue No. 1	A	0.38	0.47	N.D.	N.D.
	B	0.38	0.54	N.D.	N.D.
	C	0.31	0.60	N.D.	N.D.
Food Blue No. 2	A	2.33	0.07	N.D.	N.D.
	B	2.41	0.06	N.D.	N.D.
	C	2.73	0.06	N.D.	N.D.
Food Yellow No. 4	A	3.52	0.02	N.D.	N.D.
	B	4.02	0.01	N.D.	N.D.
	C	4.63	0.02	N.D.	N.D.
Food Yellow No. 5	A	3.17	0.25	N.D.	N.D.
	B	2.93	0.06	N.D.	N.D.
	C	2.91	0.15	N.D.	N.D.

* Average of three determinations

NaBr: N.D.<0.02%; NaI: N.D.<0.05%

ま と め

食用タール色素中の塩化物、硫酸塩、臭化物及びヨウ化物の定量法として、サプレッサー方式の IC の応用を検討し、良好な結果を得た。本法は前処理を必要とせず、色素中の 4 イオンを同時に直接定量することから、簡便で感度が高く、かつ精度の高い方法である。さらにオートサンプラーを用いることにより省力化が行えることから、検定検査として有効な手法であると考えられる。

市販色素を調査した結果、塩化物及び硫酸塩は食品添加物公定書第五版に定められた規格範囲内であった。また、食用赤色 3 号及び食用赤色 105 号のヨウ化物は 0.07~0.22% 食用赤色 104 号中の臭化物は 0.86~1.16% であった。本法により市販色素中の塩化物、硫酸塩、臭化物及びヨウ化物を簡易な操作で感度、精度共に

良好な結果を得ることができた。

文 献

- 1) 食品添加物公定書：第五版 p. 26～27 (1986).
- 2) 志村 博, 近盛玲子, 寺島敏雄：衛生化学 **15**, 346～350 (1969).
- 3) 野村幸雄, 外海泰秀, 吉田由美子, 栗山加代：衛生試報 **88**, 134～139 (1970).
- 4) 外海泰秀, 上吉千恵子, 野村幸雄：食衛誌 **14**, 90～93 (1973).
- 5) Hobin, N. K.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **53**, 242～243 (1970).
- 6) Graichen, C., Bailey, J. E.: *ibid.* **57**, 356～357 (1974).
- 7) Bailey, J. E., Graichen, C.: *ibid.* **57**, 353～355 (1974).
- 8) 合田幸広, 高野寿子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利：食衛誌 **29**, 325～330 (1988).
- 9) 合田幸広, 齊藤礼子, 佐藤恭子, 神蔵美枝子, 義平邦利：同上 **30**, 390～395 (1989).