キレート試薬を用いた分光光度滴定法 による食品中の銅の分析

(昭和41年2月14日受理)

鹿島 哲^{*1} 天野 立爾^{*2} 武見 和子^{*2}
川田 公平^{*2} 川城 巖^{*2}

Determination of Copper in Food by Spectrophotometric Titration with a Chelating Agent

Tetsu KASHIMA, Ryuji AMANO, Kazuko TAKEMI,
Kohei KAWADA, and Iwao KAWASHIRO

About 10~100 μg of copper (II) in 40 ml of solution of a pH 4~7 have been determined by spectrophotometric titration at 261m μ , with 0.001 M or 0.01 M *NN'*-ethylenediamine-dipropionic acid (EDDP) solution, and the error was 1~2%. Ca(II), Mg(II), Ni(II), Pb(II), Zn(II), and Hg(II) did not interfere with the determination of copper, but Fe(III) interfered slightly.

Copper in foods was also determined by this method, after the foods were ashed in a electric furnace at 400~500°C and dissolved in 0.1M hydrochloric acid.

(Received February 14, 1966)

まえがき

食品中の微量の銅は従来ポーログラフ¹⁾などで定量されている。また、EDTAを用いるキレート滴定でも定量することができるが、共存金属イオンの妨害が多いうえに通常の終点決定法では感度も低く、数~数十mgの銅を必要とする。

そこで銅(II)と選択的に結合する Ethylenediaminetetrapropionic acid (EDTP)²⁾ または Ethylenediaminedipropionic acid (EDDP)³⁾ を使って分光光度滴定を試みることにした。Cu(II)-EDDP 錯塩の青色吸収バンドの吸収より、紫外部の吸収バンドの吸収の方が遙かに強いので紫外部の吸収バンドを使って測定した。まず銅標準液をその吸収バンドを使って分光光度滴定したところ、非常に微量(10 μg 程度)の銅が共存金属イオンの妨害を受けずに定量できることがわかったので、食品

中の銅の定量を試みた。

実験材料

Ethylenediaminedipropionic acid dihydrochloric acid (EDDP-2HCl) 同仁薬化学研究所より EDTP (B 42409) を購入し、標準銅(99.99%)で作った標準溶液で標定したところ、求められたファクターが余りにも違うので検討した結果、まず塩素イオンが含まれていることがわかった。銀-ガラス電極を使って硝酸銀標準溶液で滴定した結果と標準銅を基準として求めたファクターより、試薬を EDDP-2HCl (分子量274.1) と仮定した場合、塩素イオンが0.7%過剰、分子量272 $\pm$ 5と計算されるので、この試薬は EDTP と EDDP-2HCl との混合物⁴⁾ というより、大部分は EDDP-2HCl であると考えられるので、以後は EDDP-2HCl として扱うことにする。

0.01M-EDDP 標準溶液 EDDP-2HCl をデンケーター(シリカゲル)で数日間乾燥後純水に溶かし、含有する塩酸を中和するのに十分な NaOH を加え銅標準溶液で標定した。0.001M-EDDP 標準溶液は0.01M-EDDP 標準

*1 共立薬科大学：東京都港区芝公園6号地

*2 国立衛生試験所：東京都世田谷区玉川用賀町

溶液を純水で10倍に希釈した。

0.01M-銅標準溶液 JIS 標準銅を硝酸で表面の不純物を取り水洗後乾燥したもの約0.63 gを精確にはかりとり特級硫酸に溶解，硫酸濃度は約0.1Mである。

純水 イオン交換樹脂で精製した比抵抗 $5 \times 10^6 \Omega \cdot \text{cm}$ 以上の水である。

0.2M-酢酸塩緩衝液 精製した氷酢酸で作った1 M- CH_3COOH と常法により炭酸塩を除いた水酸化ナトリウムで作った1 M-NaOH とを，適当に混合希釈し pH 4～5.5とし，さらに試料溶液に加えたとき緩衝液の濃度が0.01M～0.001M濃度になるようにした。

0.2M-アンモニウム塩緩衝液 特級アンモニア水を純水で薄めた1 M- NH_3 と特級塩化アンモニウムで作った1 M- NH_4Cl を等量混合希釈したもので，pH 9.6である。

なお pH 5～7の緩衝液はこの緩衝液と酢酸塩緩衝液と混合して作った。

実験装置

自記分光光度計：日立製，EPS-2型

分光光度計：島津製，QR-50型

pH メーター：ベックマン製，GS 型

光度滴定装置：分光光度計に光度滴定付属装置をつけ，滴定セルには石英製を用い，標準溶液を加えるには Agla のマイクロシリンジ（全量0.5 ml，2500目盛り）を用い，しゃ光を完全にした。

実験方法および結果

吸収スペクトル Cu(II)，EDDP および Cu(II)-EDDP 錯塩の1万分の1モル溶液（pH 4～7）の吸収スペクトル（Fig. 1）を測定したところ，その錯塩は261 m μ に吸収極大を有しモル吸光係数は5,500で，その波長においては Cu(II) および EDDP のいずれもがほとんど吸収しなかった。なお，Cu(II)-EDDP 錯塩は670 m μ 付近にも吸収バンドを有するが，そのモル吸光係数はわずかに175であった。

Fig. 1. Absorption spectra of Cu(II)-EDDP complex, Cu(II) and EDDP solution of pH 4～7

光度滴定⁵⁾ 銅として約10～100 μg を含む銅標準溶液をとり，緩衝液を加えて pH 4～7として純水を加えて約40 ml とし，0.01M または0.001M-EDDP 標準溶液で光度滴定したところよい結果が得られた（Table 1）。

光度滴定曲線の1例を Fig. 2 に示す。

Table 1. Determination of Cu(II) by Spectrophotometric Titration with 0.001M or 0.01M EDDP

Cu(II) Taken, μg	EDDP ml	Cu(II) Found, μg
12.7	0.1556 $\pm$ 0.0016	12.68 $\pm$ 0.13
25.4	0.3120 $\pm$ 0.001	25.40 $\pm$ 0.08
63.5	0.0951 $\pm$ 0.0006	63.56 $\pm$ 0.36
127.0	0.1573 $\pm$ 0.0008	127.9 $\pm$ 0.25

Fig. 2. Spectrophotometric titration curve of Cu(II) with 0.001M-EDDP (pH 4.5～5.6, at 261 m μ)

共存金属の影響 Zn(II)，Pb(II)，および Hg(II) と EDDP との錯塩の吸収スペクトル（pH 4～5.5）を測定したところ，261 m μ におけるモル吸光係数はそれぞれ約100，350，および700であった。

Fe(III) は EDDP と錯塩を作り，その安定度定数は Cu(II) の錯塩と大差がないため，Fe(III) をマスクする目的でトリエタノールアミンを加えて測定したがあまりよい結果は得られなかった（Table 2）。しかし，分光光度法よりは光度滴定によった方がよい成績が得られた。Fe(III) 以外の共存金属イオンの滴定に及ぼす影響はあまり見られなかった（Table 3）。

食品中の銅の定量

試料の食品10 gを白金ザラにとり，電気炉に入れ500°以下で完全に灰化する。その灰を塩酸に溶かし水浴上で蒸発乾固してから，0.1M 塩酸に溶かしメスフラスコに入れて50 ml の試料溶液とする。その溶液5～25 ml を滴定セルに入れ，酢酸塩緩衝液およびアンモニウム塩緩衝液を0.2～1 ml の範囲内で加え，溶液の pH を4.5～

Table 2. The Effect of Triethanolamine on the Determination of Cu(II), 1 μ M with 0.01M EDDP in the Presence of Fe(III)

Triethanolamine Added, %	Fe(III)/Cu(II)	E 261 m μ	EDDP Consumed, ml
0	{ 0 2	0.416 0.422	0.0965 0.0945
0.004	0	0.418	0.094
0.008	{ 0 2	0.378 0.370	0.0905 0.0905
0.02	{ 0 2 4 6	0.216 0.311 0.302 0.277	0.087 0.0895 0.0905 0.084
0.04	0	0.170	0.088

Table 3. Determination of Cu(II) with 0.01M EDDP in Presence of Other Metal Ions

Cu(II) Taken, μ M	Metal ion Taken, μ M	EDDP Consumed, ml
1	0	0.0965
1	Ca(II) 20	0.0955
1	Mg(II) 20	0.094
1	Ni(II) { 5 10 15	0.0955 0.0945 0.093
2	0	0.193
2	Pb(II) { 5 10	0.193 0.194
2	Zn(II) 20	0.193
2	Hg(II) 10	0.197
2	Fe(II) 4	0.190

6に調節し全量を40 mlとしたものを、0.01Mまたは0.001M-EDDP標準溶液をマイクロシリンジから加えることによって261 m μ の波長で分光光度滴定した。その成績をTable 3に示した。これにより、試料10 g中に1 μ g(0.1 ppm)以上の銅があれば定量可能で、10 μ g以上あれば $\pm 2\%$ 程度の再現性で定量できることが確かめられた。

考 察

食品中の微量の銅の定量にはポーラログラフ法が使われているが、だれでも簡単にこなうことができる方法ではない。そこでキレート試薬を用いる光度滴定法を試みてみたわけである。その場合、試薬としてEDTA⁶⁾を用いたのでは共存金属イオンの妨害を受けやすいので、銅と選択的に結合するEDDPを使いその目的を達することができた。そのキレート試薬としてはEDTPであ

るという試薬を購入したのであるが、標準銅を用いた標定結果と銀滴定の結果とから、その試薬はEDTPではなくてEDDP $\cdot 2\text{HCl}$ であると見なさざるをえなくなった。しかし幸いなことには、銅に対する安定度定数はどちらの試薬でも大差がないので²⁾、今回の定量目的には差支えなかった。

また、分光光度法より光度滴定法によるほうが共存金属の影響を受けにくいことは、Zn(II)、Pb(II)およびHg(II)とEDDPとの錯塩の吸収スペクトルおよびTable 2のE₂₆₁と光度滴定の成績(Table 3)を比較してみれば明りょうである。

なお、試料中に共存する鉄(III)の影響を除く目的でトリエタノールアミンを添加したところ、その効果は鉄の含量に対して適量が増えられた場合以外はむしろ逆効果であった。緩衝液の濃度が高くなるにつれて、キレートの吸光係数が低下することから、試料溶液に添加する緩衝液もpHを保つ作用さえ十分あれば、できるだけ低濃度である方が望ましいことがわかった。それは試料溶液中の銅の濃度が非常に低い(10⁻⁴モル濃度以下)ため、少量の共存物もその銅に対する含量比が相対的に高くなることによるためと考えられる。

試料溶液中に100 μ g以上の銅が含まれ、その濃度が高くなったときは、Cu(II)-EDDP錯塩の吸収の弱い波長、たとえば300 m μ を使って光度滴定すればよい。つまり低濃度から高濃度の試料溶液にわたってこの方法で定量することができる。なお、光度滴定するとき加える標準溶液の体積は試料溶液の体積の1%以下であるから希釈誤差はほとんど問題にならず、またマイクロシリンジから加える標準溶液の体積誤差も0.5%以下であった。

食品に銅標準液を添加し、その回収率をみたところ99.7 $\pm$ 1.0%(Table 4)であったことから、この方法は食品分析法として十分正確簡便な方法といえよう。グリーンピース(A)は103 ppmの銅を含んでいたが、その上澄液10 g中の銅は0.1 μ g以下であった。なお、正常なグリーンピース(B)10 g中の銅の含量は0.1 ppm以

Table 4. Determination of Copper in Food

Food	Taken g	Copper Found, μ g
Green peas (A)	1	103 $\pm$ 1.8
Supernatant liquid	10	0
Green peas (B)	10	0
Peanut	1	12.2 $\pm$ 0.2
Coffee bean, Mocha	1	16.3 $\pm$ 0.3
Coffee bean, Columbia	1	11.0 $\pm$ 0.2
Sea tangle (3 species)	10	0
Skim milk	10	0
Food*+Copper(90.2 μ g)	10	88.9 $\pm$ 0.9

* Contain no copper

下であった。また、ピーナッツおよびコーヒーまめには10数 ppm の銅が含まれていたが、こんぶおよび粉ミルクには検出されなかった。

結 論

銅と選択的に結合するキレート試薬 EDDP を用い、その錯塩 Cu(II)-EDDP の吸収極大の波長 $261\text{ m}\mu$ で分光光度滴定すれば、共存金属イオンの影響を受けないで微量の銅を定量することができることがわかったので、食品10 g を灰化してから0.1M 塩酸に溶かし、0.001M または0.01M-EDDP 標準溶液で $261\text{ m}\mu$ の単色光を用いて光度滴定したところ、銅が $10\text{ }\mu\text{g}$ 以上あれば共存金属の影響を受けずに1～2%の測定精度で簡単に定量することができた。

本報の要旨は日本食品衛生学会第8回学術講演会（昭和39年11月20日、東京）で発表。

文 献

- 1) R. D. Coleman, J. B. Thompson, I. Branum: Anal. Chem. **20**, 365 (1948).
- 2) R. C. Courtney, S. Chaberek Jr., A. E. Martell: J. Am. Chem. Soc. **75**, 4814 (1953).
- 3) I. P. Sanderson, T. S. West: Talanta **10**, 247 (1962).
- 4) 同仁薬化学研究所から和光純薬工業株式会社への返信。
- 5) J. B. Headridge: "Photometric Titrations" (1961), Pergmon Press, Oxford.
- 6) P. B. Sweetser, C. E. Bricker: Anal. Chem. **25**, 253 (1953).
- 7) A. L. Underwood: ibid. **25**, 1910 (1953).