

〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
31 (1) 47-50 (1985)

吸光度検出イオンクロマトグラフィーによる食パン及び
かまぼこ中の臭素酸カリウムの分析について

山本 敦,^a 松永明信,^a 関口久義,^a

早川和一,^b 宮崎元一^b

富山県衛生研究所,^a 金沢大学薬学部^b

**Determination of Potassium Bromate in Bread and Kamaboko
by Photometric Ion Chromatography**

ATSUSHI YAMAMOTO,^a AKINOBU MATSUNAGA,^a

HISAYOSHI SEKIGUCHI,^a KAZUICHI HAYAKAWA^b

and MOTOICHI MIYAZAKI^b

Toyama Institute of Health,^a 17-1 Nakataikoyama, Kosugimachi, Toyama 939-03, Japan

and Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University,^b

13-1 Takaramachi, Kanazawa 920, Japan

(Received August 16, 1984)

Photometric ion chromatography is a novel method by using the photometer as a detector. A feature of this method is the use of light absorbing ion in the mobil phase, and the appearance of transparent sample ion in the effluent is detected by "trough" in the base line absorbance.

We applied this technique by using a conventional HPLC system equipped with a commercially available ion exchange separation column to the determination of bromate in such foodstuffs as bread and kamaboko.

Sample solution was prepared by aqueous extraction and mixed with acetone for removal of proteins. After evaporation of the organic solvent, the aqueous solution was dechlorinated by a Dowex column (Ag-form), and then was subjected to chromatography.

Samples of bread and kamaboko were spiked with 5.4 ppm and 8.4 ppm of bromate, respectively, and examined by the above method. The average recoveries were 88.3% in bread and 82.9% in kamaboko, and the coefficients of variation were 7.7% and 7.9%, respectively. The detection limit was 1 ppm.

The above findings indicate that bromate can be detected by HPLC using conventional instrumentation, and the sensitivity of this system is comparable to conductimetric detection.

Keywords—photometric ion chromatography; potassium bromate; bread; kamaboko

はじめに

従来臭素酸カリウムは食品添加物として魚肉ねり製品や小麦粉に使用されてきたが、動物実験で発癌性が明らかにされ、¹⁾昭和57年の食品、添加物等の基準改正²⁾により、小麦粉について 30 ppm の使用が認められるだけとなった。

食品中に添加された臭素酸カリウムは食品製造工程中の加熱により、臭素イオンに分解されるといわれてい

る。³⁾そしてその残存量の定量においてヨウ素滴定法等の従来法では感度、精度の点で問題があり、これに代る種々の分析法が研究され報告されている。⁴⁾特に最近開発された電気伝導度検出イオンクロマトグラフィー (IC) を用いる方法は、臭素酸イオンを直接しかも高感度で測定できる利点があるので、厚生省も昭和57年に食品中の臭素酸カリウムの分析法としてこの IC 法を採用している。⁵⁾しかしこの装置は特別なカラムや電気伝導度検出器

等を備えた高価なものであり、維持管理も煩雑なため汎用的とはいえない。

一方著者らは吸光度検出イオンクロマトグラフィー (Photometric Ion Chromatography: PIC) に関する研究の一環として、無機イオンの分析が一般の HPLC 装置と市販のイオン交換カラムを用い、従来の IC に劣らぬ性能で行なえることを既に見出している。⁶⁾ これは光吸収のないイオン性物質の検出を、大きな光吸収を持つ溶離液を用いることにより、成分イオンの溶出に伴う溶液の吸光度の減少としてとらえるという原理⁷⁾ を応用したものである。

そこで著者らはこの方法を用いれば、HPLC 装置で IC より簡便に、しかも高感度に臭素酸イオンの分析ができると考えた。食品として食パン及びかまぼこを例にとり、その条件を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料 食パンは 6 製造メーカー 8 製品を、かまぼこは 5 製造メーカー 5 製品を購入し、試験に供した。

2. 試薬 臭素酸カリウム標準溶液——臭素酸カリウム (和光純薬特級) 130.5 mg を精秤し、水に溶解して 200 ml とした。(標準溶液 1 ml = 500 μ g 臭素酸イオン)

2.5×10^{-4} M フタル酸水素カリウム - 2.5×10^{-4} M ホウ酸溶液——フタル酸水素カリウム (和光純薬特級) 510.6 mg とホウ酸 (和光純薬特級) 154.5 mg を水に溶解して 1 l とし、これを用時、水で 10 倍希釈して溶離液とした。この溶離液の pH は約 4.3 である。

銀コーティング樹脂——陽イオン交換樹脂 Dowex 50 W- \times 8 (100-200 mesh) 5 g を内径 1 cm のカラム管に充填し、10%硝酸銀溶液を流し、銀を付着させた後十分水洗した。

その他の試薬——市販特級品を用いた。

3. HPLC 装置 装置は島津製作所製ポンプ LC-5 A、サンプルインジェクター SIL-1 A、Zipax SAX 充填カラム (2.1 mm i.d. \times 500 mm) 及び島津製作所製紫外吸収検出器 SPD-2 A を用いて構成した。

4. HPLC 条件 溶離液: 2.5×10^{-4} M フタル酸水素カリウム - 2.5×10^{-4} M ホウ酸溶液、流速: 0.8 ml/min、検出波長: 230 nm、検出レンジ: 0.04 AUFS、カラム温度: 室温、試料注入量: 40 μ l。

5. 試験溶液の調製 試料 10 g を精秤し、水 50 ml を加え 5 分間ホモジナイズした。これを水で 100 ml とした後、3000 rpm、5 分間遠心分離して得られた上澄液 20 ml を共栓比色管にとった。アセトンを加え 40 ml とし、氷冷下 30 分放置した後、3000 rpm、5 分間遠心分離

して除タンパクを行なった。上澄液 20 ml をとり、アセトンを減圧留去した後、1%硫酸 2-3 滴を加え、水で 10 ml にした。これを銀カラムに通し、最初の 5-6 ml は捨て、それ以後の溶出液を回収し試験溶液とした。

結果と考察

1. 溶離液の検討

食品中には各種イオンが存在するが、一般に陰イオン交換カラムによる陰イオンの分離において、臭素酸イオンと塩素イオンの溶出位置は接近している。そこでクロマトグラム上でこれらイオンの分離は必要となり、また実際の分析の点から、検出されるイオンはなるべく早く溶出されることが望ましい。

これらの点を考慮して、まずフタル酸溶離液の pH の変化と臭素酸イオン・塩素イオンの分離の関係を検討したところ、pH を下げれば 2 つのイオンの分離は良くなったが、非解離型フタル酸の増加につれてイオン強度は低下し、溶出能力や感度は低くなった。次に溶離液の濃度について検討したところ、濃度を上げることにより溶出能力は高くなったが、溶離液自身の吸光度が大きくなるため、高い感度での分析が困難になった。以上の結果より溶離液として pH 4.3、 2.5×10^{-4} M のフタル酸水素カリウムを用いることにした。また溶離液の流速、カラム温度、検出波長並びに試料注入量については、臭素酸イオンと他のイオンの分離を考慮し、既報^{6,8)} の条件を参考に実験方法の 4. HPLC 条件の通りに定めた。

Fig. 1 は本条件下における陰イオン標準溶液のクロマトグラムである。臭素酸イオンと塩素イオンの分離度

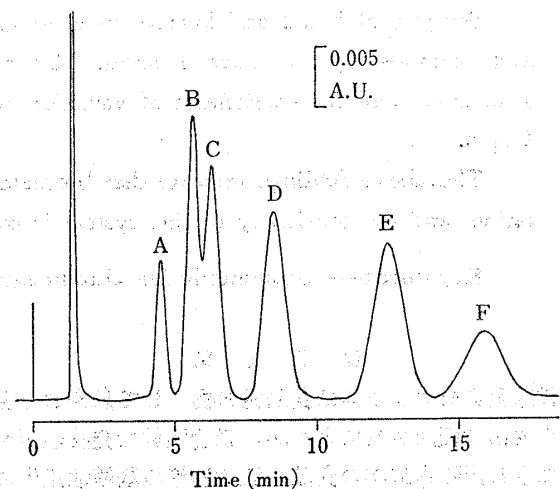


Fig. 1. Separation of Anions

Detector wavelength: 230 nm; peaks: A=chlorite (2.3 ppm), B=bromate (6.7 ppm), C=chloride (1.7 ppm), D=nitrite (3.3 ppm), E=bromide (5.1 ppm), F=nitrate (2.9 ppm).

R_s は 1.0 であった。なお Fig. 1 は、各ピークが上向きになるように記録計の電極を逆にして得られたものであり、以後のクロマトグラムについても同様な操作を施してある。

2. 塩素イオン及びソルビン酸の除去

パンやかまぼこ中には食塩が 1—3% 使用されており、このような多量の塩素イオンが存在すると微量の臭素酸イオンの測定は不可能となる。脱塩素イオン処理の方法としては、塩化銀の形で塩素イオンを除去するのが最も一般的である。

一方かまぼこのような魚肉ねり製品中には保存料としてソルビン酸の使用が認められており、従来の IC による臭素酸イオンの分析では、このソルビン酸イオンが妨害をおこすため、有機溶媒での抽出除去による方法が報告されている。⁹⁾ 本法においてもこれらのイオンの溶出位置はほとんど一致しており、ソルビン酸イオンの紫外吸収は溶離液に用いたフタル酸イオンのそれより大きいので、臭素酸イオンとは逆向きのピークとして分析の妨害をおこす。

一般に有機酸は解離をおさえると、ポリスチレン系の陽イオン交換樹脂カラムに吸着されることが知られている。そこで塩素イオン及びソルビン酸の除去法として銀コーティング Dowex 樹脂カラムを用いれば、同時に処理することができると考えた。Fig. 2 は 0.7 ppm 臭素酸イオンの 0.1% 塩化ナトリウム溶液 15 ml 及び 93 ppm ソルビン酸 15 ml に対し、1% 硫酸 3 滴ずつ加えた後、各々流速 0.2—0.5 ml/min で銀カラムに通した場合の溶出液量と溶出イオン量の関係を示したものである。Fig. 2 から試料溶液を導入しはじめてから 5 ml 以降は臭素酸イオンが定量的に溶出されるのに対し、塩素イオン及びソルビン酸は全く溶出されないことがわか

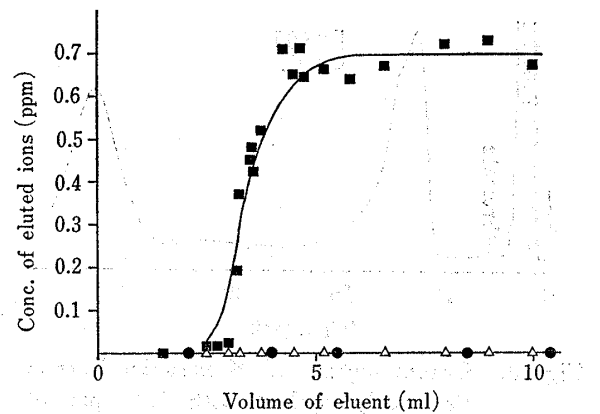


Fig. 2. Elution Patterns of Bromate, Chloride and Sorbic Acid from Dowex Column (Ag-form, 5g)

—■—: bromate, —△—: chloride, —●—: sorbic acid.

る。これより実際試料については、除タンパク後の検液に 1% 硫酸 2—3 滴を加えた後銀カラム処理を施し、溶出液の最初の 5—6 ml は捨て、それ以降 10 ml までの溶出液を試験溶液とした。

3. 検量線

0.5—8.4 ppm の臭素酸溶液 40 μ l を HPLC の分離カラムに注入し、得られたクロマトグラムのピーク高より検量線を作成した。この範囲では良好な直線性が得られ、また検出限界は 0.2 ppm であった。これは検体中、臭素酸イオン 1 ppm に相当する。

4. 添加回収

食パン及びかまぼこ抽出液に臭素酸イオンを添加して回収実験を行なった結果を Table I に示した。また Fig. 3 にはかまぼこ抽出液に臭素酸イオンを添加した場合のクロマトグラムを示した。ここで 13—14 分のピークはりん酸イオン、43—45 分のピークは硫酸イオンによる

TABLE I. Recovery of Bromate Added to Bread or Kamaboko

Sample	Bromate			Sample	Bromate		
	Added (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)		Added (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)
Bread 1	5.4	4.9	90	Kamaboko 1	8.4	6.7	80
2		4.8	88	2		6.8	81
3		4.6	86	3		7.3	87
4		5.1	94	4		6.0	72
5		5.2	96	5		7.5	89
6		5.1	94	6		6.7	80
7		4.4	81	7		7.6	91
8		4.9	90				
9		4.0	75				
Mean \pm S. D.		4.78 \pm 0.39	88.3 \pm 6.8	Mean \pm S. D.		6.94 \pm 0.56	82.9 \pm 6.6

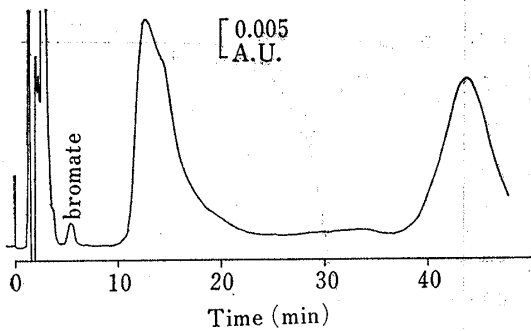


Fig. 3. Chromatogram of Kamaboko Extract Previously Spiked with 8.4 ppm of Bromate

もので、これ以後のベースラインは安定していた。実際の分析においては、臭素酸イオンの溶出後は溶離液の流速を 1.2 ml/min に上げることにより、1 検体の分析を 30 分以内で行なうことができた。

5. 市販食品の分析結果

市販のパン 8 検体とかまぼこ 5 検体について本法を適用したところ、臭素酸イオンはいずれの検体からも検出されなかった。またこれらの検体についてヨウ素滴定法¹⁰⁾を用いて臭素酸イオンを分析したが、同様にいずれからも検出されなかった。

ま と め

吸光度検出イオンクロマトグラフィーによる食品中の臭素酸カリウムの分析法について検討を行なった。その結果、検体を抽出後除タンパク及び銀カラム処理を施すことにより、市販の HPLC 装置の組み合わせで臭素酸イオンを分析することができた。その添加回収率は 80% 以上であり、検出限界は検体中の濃度で 1 ppm であった。本法により、従来の IC に劣らぬ性能で食品中の臭素酸イオンを測定できることが明らかとなった。

引用文献および注

- 1) Y. Kurokawa, Y. Hayashi, A. Maekawa, M. Takahashi, T. Kokubo, *Gann*, **73**, 335 (1982).
- 2) 昭和57年8月厚生省告示第136号一適用, 昭和58年2月.
- 3) K. Oikawa, H. Saito, S. Sakazume, M. Fujii, *Chemosphere*, **11**, 953 (1982); 及川紀久雄, 斎藤浩子, 藤井正美, *衛生化学*, **29**, 188 (1983).
- 4) 渡辺 功, 田中涼一, 榎本 隆, *食衛誌*, **23**, 135 (1982); 永山敏廣, 西島基弘, 上村 尚, 安田和男, 齊藤和夫, 井部明広, 牛山博文, 直井家壽太, *食衛誌*, **23**, 253 (1982); 小山田則孝, 久保田かほる, 上野清一, 石崎陸雄, *食衛誌*, **24**, 563 (1983); K. Oikawa, H. Saito, S. Sakazume, M. Fujii, *Bunseki Kagaku*, **31**, E 251 (1982).
- 5) 厚生省環境衛生局食品化学課, “食品中の食品添加物分析法指針 その3,” 1982, pp.10-14.
- 6) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一, *分析化学*, **32**, 504 (1983); K. Hayakawa, H. Hiraki, M. Miyazaki, *Bunseki Kagaku* (E), “Submitted”; M. Miyazaki, K. Hayakawa, S. Choi, *J. Chromatogr.*, “accepted”.
- 7) H. Small, T.E. Miller, Jr., *Anal. Chem.*, **54**, 462 (1982).
- 8) 早川和一, 蛭名令子, 松本美枝子, 宮崎元一, *分析化学*, **33**, 390 (1984).
- 9) 山田わか, 菊地秀明, 牛沢 勇, 百川 滉, 全国衛生化学技術協議会年会講演集, 宇都宮, 1983年9月, pp.48-49.
- 10) 厚生省環境衛生局食品化学課, “食品中, 食品添加物分析手法 原案 その2,” 1980.