

## フレイムレス原子吸光法による食品中の微量クロムの定量

堀尾 嘉友・荒川あつみ

### Determination of Trace Amount of Chromium in Foods Using Flameless Atomic Absorption Spectrometry

Takatomo Horio and Atsumi Arakawa

Recently, it is reported that the trace amount of chromium is essential for human nutrition.

In general, chromium contents in foods are inconsiderable. A colorimetric method by using diphenyl-carbazide has been employed for the determination of chromium in foodstuffs. As the matter of fact, it is very difficult to determine the trace amount of chromium in foods. In this paper, a convenient flameless atomic absorption method is proposed.

An aliquot of homogenized sample (usually 10 to 25 grams) is ashed in an electric furnace below 450 °C, and is cooled. The ash obtained is dissolved by adding N-HNO<sub>3</sub>, and the solution is made up to an appropriate volume by using a volumetric flask. Thus prepared test solution is subjected to the flameless atomic absorption analysis at suitable conditions (Wave length---357.9nm., Drying temp.---100 °C, 30 sec., Charring temp.---1100 °C, 30 sec., Atomizing temp.---2700 °C, 6.5 sec., Sample size---10 μl., Purge gas---Argon 20 ml/min.).

The contents of chromium in several agricultural and marine products were determined both by the proposed method and the conventional colorimetric method by using diphenyl-carbazide, it was found that the present method is more accurate than the colorimetric method for the determination of the trace amount of chromium in foodstuffs.

クロムはメッキ、皮革処理、顔料等工業的に使用されるほか、ステンレス鋼、またはクロム処理鋼板として広く食品産業界における器具容器材質等の分野で繁用されている。また土壤中或いは生物体にその微量が広く分布し、<sup>1, 2)</sup> われわれの生活に密着した金属である。しかし6価クロムが発癌物質であり、また毒性の著しいこと、<sup>1, 2, 3)</sup> クロム鉱滓による土壤汚染問題、産業廃棄物または廃水による公害問題から注目を集めている反面3価クロムは近年核酸との関連性、ホスホグルコムターゼのコファクター作用、トリプシン酵素の構成因子として存在するほか、動物体における血糖低下作用を有するホルモンであるインシュリンの活性化に重要な役割りを演ずる微量元素として認められている。<sup>2, 3, 4)</sup>

食品中のクロムの定量法としてはジフェニルカルバチドを発色試薬とした呈色液の540nmにおける吸光度より算出する比色定量法が繁用されてきた。<sup>1, 6)</sup> しかしこの方法は共存する鉄の影響を受け易いことのほか、感度的にも食品中の微量クロムの定量は困難である。近時原子吸光分析法の発達とともに共存物質の影響を除去する目的で、塩化アンモニウム添加法、あるいはピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム、ジチゾンまたはアセチルアセトン錯体として溶媒抽出する方法<sup>7, 8, 9)</sup> あるいはガスクロマトグラフィーによる方法<sup>10)</sup> 等が報告されているが、その操作は何れも繁雑で多数の試料の測定が困難である。そこで測定の簡易化と微量化を計るため、フレイムレス原子吸光分析法により検討を行ない、従来のジフェニルカルバチドを用いる比色法より優れた方法を確立

したので報告する。

## 実 験 方 法

### 1. 装 置

- 1) 原子吸光分析機：パーキンエルマー603型，フレイムレスアトマイザーHG A2200，および自動サンプリング装置AS-1付き
- 2) 分光光度計：日立製作所124型
- 3) 電気炉
- 4) 赤外線ランプ：375Wを試料の予備乾燥に用いた。

### 2. 試 薬

- 1) クロム標準液：予め乾燥したメルク製分析用重クロム酸カリウム〔 $K_2Cr_2O_7$ 〕0.283 gを秤りとり水に溶解して1000mlとし原液とした。原液10mlを秤りとり水を加えて1000mlとしクロム標準液とした。1 ml = 1  $\mu$ g Cr.
  - 2) 0.2%ジフェニルカルバチド・アセトン溶液（用時調製）
  - 3) 10%尿素溶液
  - 4) 0.5%過マンガン酸カリウム溶液
  - 5) 2%亜硝酸ナトリウム溶液
  - 6) 混酸：硝酸，硫酸，リン酸および水を，1 : 4 : 3 : 22容積比で混和した。
- これらの2)～6)の試薬はいずれも試薬特級を使用した。また試薬2)～5)は比色法においてのみ使用した。

### 3. 器 具

試料の灰化にはパイレックス製50mlまたは100 mlビーカーを使用した。  
 その他通常の定量分析に使用するガラス器具類，計量器を使用した。

### 4. 試 料

農産加工食品として，みかん缶，ビン詰，野菜ミックス缶詰，およびトマトホール缶詰，また水産加工食品として，カツオサラダ油漬缶詰，カキ水煮缶詰，イワシフレーク油漬缶詰およびサンマフレーク油漬缶詰の内容物全量をそれぞれミキサーで充分磨砕して試料とした。

### 5. 試験溶液の調製並びに測定法

試料10～25 g（比色法の場合は25 g）をビーカーに秤りとり，赤外線ランプを照射して充分乾燥炭化させたのち，予め約450℃に加熱した電気炉中に移し，一夜灰化，一旦電気炉より取り出し放冷後硝酸（1→2）約2 mlを静かに注加し，ホットプレート上で蒸発乾固し，硝酸の臭気が殆んど感じられなくなったのち再び電気炉中に移し完全に灰化した。

標準添加法による場合には，試料10～25 gずつを数個のビーカーに秤りとり，3組に分け，2組にはそれぞれ段階量のクロム標準液〔通常，1.25mlと2.5 ml，（比色法の場合には2.5mlと5.0 ml）〕を添加し，混和，乾燥後前記と同様に灰化した。

#### 1) 比色法

灰化した試料に混酸5 mlを加え溶解し，一夜放置後0.5%過マンガン酸カリウム溶液2 mlを加えホットプレート上で加熱し約 $\frac{1}{5}$ 量に濃縮し，放冷後10%尿素溶液5 mlを混和し，2%亜硝酸ナトリウム溶液を滴下して僅かに紅色が残る程度としたのち，100 mlメスフラスコを受器とし，東洋ろ紙 No. 5 B を用いてろ過し，ろ紙は数回温湯を注いで洗浄し，ろ液を合わせたのち残存する過マンガン酸カリウムの紅色を2%亜硝酸ナトリウム溶液を滴下して無色とする。次いで0.2%ジフェニ

ルカルバチドアセトン溶液 2 ml を注加，さらに水を加えて定容として混和後 3 分間以内に 540 nm における吸光度を，空試験溶液を対照として測定し，別に作成した検量線に照してクロム量を算出する。

### 検量線の作成

クロム標準液の 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0 および 15.0 ml をそれぞれビーカーに秤りとり，ホットプレート上で蒸発乾固させたのち，混酸 5 ml を加え以下前記と同様に操作し，クロム標準液 0 ml より得た溶液を対照として 540 nm における吸光度を測定し検量線を作成する。

#### 2) 原子吸光分析法

灰化した試料に 1 N - 硝酸（あるいは 1 N - 塩酸または混酸）5 ml を加え混和して一夜室温に保持して溶解させたのち 25 ml メスフラスコに移し，1 N - 硝酸（あるいは 1 N - 塩酸または水）を加えて定容とした。混和後その一部をとりフレームレス原子吸光分析法により測定し，得られた吸光度を別に作成した検量線に照してクロム量を算出するか，標準添加法による場合はそれぞれの添加量に対応する吸光度より，試料の影響を加味した検量線を作成し，これに基づき試料中のクロム量を算出した。

原子吸光分析法における測定条件

Wave length	357.9 nm.
Drying temp.	100°C 30 sec.
Charring temp.	1100°C 30 sec.
Atomizing temp.	2700°C 6.5 sec.
Sample size	10 $\mu$ l.
Purge gas	Argon 20 ml/min.
Number of measurement for individual test solution	4 times.
( cf. mean values are plotted. )	

## 結 果

### 1. 比色法による検量線

首題とする原子吸光分析法との比較のためまず比色法による検量線を作成し，Fig. 1 に示した。

2 以降に原子吸光による検討成績を記す。

### 2. 検量線に及ぼす酸の種類の影響

クロム標準液 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 15.0 および 20.0 ml をとり 5 - 2) 試験溶液の調製並びに測定法に従って灰化処理したのち溶媒として混酸 20 ml に溶解後，水で 100 ml とした液について測定した。また別に混酸および水の代わりに一規定硝酸または一規定塩酸を用いた場合について測定した。さらに灰化処理しない場合についても測定した。酸の相違による吸光度の著しい差は認められず，また灰化方法

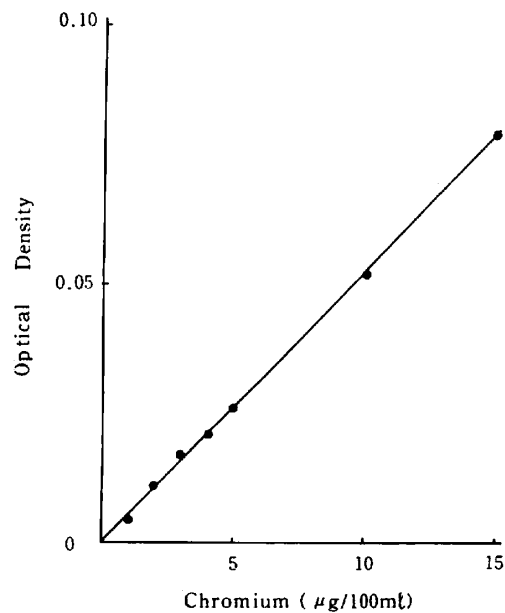


Fig.1 Calibration Curve for Chromium Determination by Colorimetry.

による差は全く認められなかった。しかし混酸を用いた場合には炭素管の損耗が著しい。

### 3. 酸の濃度の吸光度に及ぼす影響

クロム標準液1.25ml, および2.5mlをとり5-2)に従って処理し, 溶媒として0.1規定硝酸を用いた場合について測定した。また別に硝酸濃度を0.5, 1.0, 1.5または2.0規定とした場合, さらに硝酸の代わりに塩酸を用いた場合について測定した。両者の酸の何れの濃度を用いてもクロム量が等しいとき, その吸光度は混酸を用いた時とほぼ同じ値を示したことから酸の濃度は一規定液を使用することとした。

### 4. 食塩共存時の吸光度に及ぼす影響

調味缶詰は0.5~3%の食塩を含むものが多いのでその影響について調べた。この実験には10g/100ml塩化ナトリウム溶液を調製し使用した。クロム標準液0.2, 5.0, 10.0および15.0mlをそれぞれ100mlメスフラスコに秤りとり, 10%塩化ナトリウム溶液を10ml, および混酸20mlを加え, さらに水を加えて100mlとした。同様に塩化ナトリウム溶液の添加量を20, 30, または40mlにかえた場合について測定した。混酸の代わりに硝酸または塩酸を用い, 終濃度がそれぞれ1規定となるようにした場合についても測定し, Fig. 3に示した。

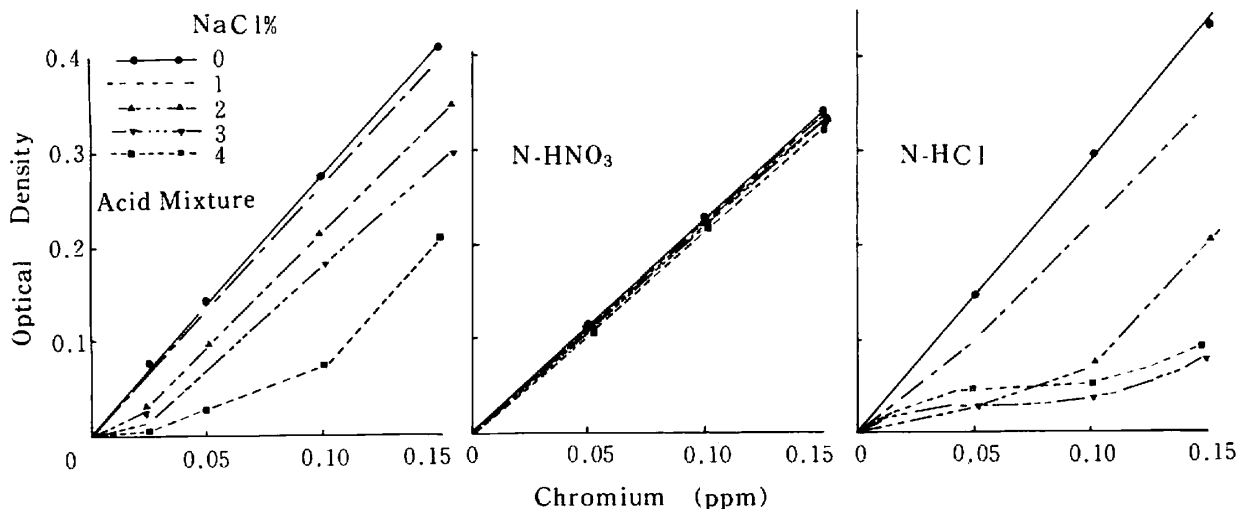


Fig.3 Influence of Sodium Chloride on the Determination of Chromium by Flameless Atomic Absorption Method.

### 5. 鉄共存時の吸光度に及ぼす影響

クロム標準液0.2, 5.0, 10.0, 15.0及び20.0mlを100mlメスフラスコに秤りとり, 鉄標準液(原子吸光分析用 $FeCl_3$  1000ppm 0.1N-塩酸溶液)5ml, 及び2N-硝酸50mlを加えて水で100mlとした液(鉄添加量50ppm)について測定した。また別に鉄添加量を100ppmとした場合についても測定したが, 鉄共存により吸光度の僅かな低下が認められたが, 実用上問題とはならない。

### 6. 2, 3 の農産加工品についての測定成績

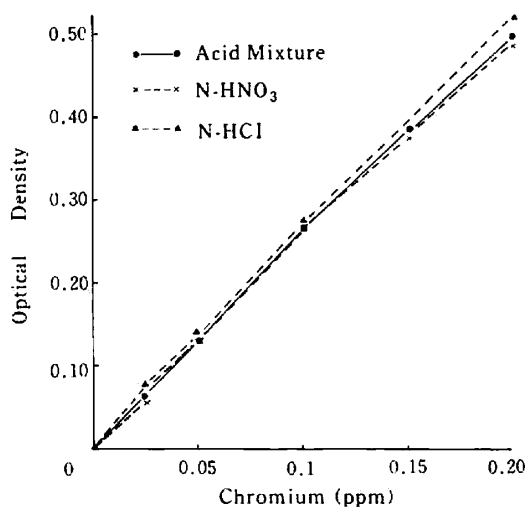


Fig.2 Calibration Curve for Chromium Determination by Flameless Atomic Absorption Method.

みかん缶，ビン詰，ミックスドベジタブル缶詰，およびホールトマト缶詰について，それぞれ原子吸光法，並びに比色法により測定した。これらの測定成績を Table 1, 2, 3, Fig. 4, 5 にそれぞれ示した。

Table 1 Determination of Chromium in canned Mandarin Orange in Syrup.\*

Acid	Proposed Atomic Absorption Method **				Colorimetric Method ***	
	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected		Test solution O.D.	Sample ppm.
			in test solution ppm.	in sample ppm.		
Acid Mixture	0	0.150 0.151 0.155	0.066	0.17	0.016 0.017 0.018	0.14
	0.05	0.266 0.271 0.271				
	0.10	0.380 0.380 0.383				
N-HNO <sub>3</sub>	0	0.116 0.126 0.129	0.064	0.16	—	—
	0.05	0.210 0.223 0.227				
	0.10	0.312 0.320 0.323				
N-HCl	0	0.132 0.135 0.147	0.060	0.15	—	—
	0.05	0.256 0.257 0.266				
	0.10	0.374 0.381 0.386				

\* One hundred and sixty eight ppm of tin was detected.

\*\* Ten grams of the mixed sample was treated and made up to 25 ml.

\*\*\* Twenty-five grams of the sample was treated and made up to 100 ml.

Table 2 Determination of Chromium in Mandarin Orange in Syrup Packed in Glass jars.\*

Acid	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected		Colorimetric Method ppm.***
			in test solution ppm.**	in sample ppm.	
Acid Mixture	0	0.022 0.024 0.025	0.008	0.02	Not detected
	0.05	0.153 0.155 0.161			
	0.10	0.285 0.293 0.296			
N-HNO <sub>3</sub>	0	0.016 0.016 0.016	0.008	0.02	—
	0.05	0.123 0.132 0.134			
	0.10	0.237 0.253 0.256			
N-HCl	0	0.021 0.023 0.027	0.009	0.02	—
	0.05	0.151 0.151 0.155			
	0.10	0.277 0.278 0.289			

\* Test packed sample (821215)

\*\* Ten grams of the mixed sample was treated and made up to 25 ml.

\*\*\* Twenty-five grams of sample was treated and made up to 100 ml.

Table 3 Determination of Chromium in Canned Vegetables

Sample	Proposed Atomic Absorption Method			Colorimetric Method	
	Acid	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected in sample ppm. <sup>**</sup>	
Canned Mixed Vegetable	N-HNO <sub>3</sub>	0	0.037	0.02	Not detected
			0.037		
			0.043		
		0.05	0.167		
			0.168		
			0.168		
		0.10	0.285		
			0.286		
			0.291		
Canned Whole Tomato	N-HNO <sub>3</sub>	0	0.038	0.02	Not detected
			0.045		
			0.056		
		0.10	0.266		
			0.268		
			0.270		
		0.20	0.461		
			0.475		
			0.477		
Canned Mandarin Orange*	N-HCl	0	0.172	0.21	—
			0.194		
			0.196		
			0.207		
		0.05	0.291		
			0.294		
			0.302		
			0.309		
		0.10	0.413		
0.414					
0.416					
0.419					

\* Tin was detected 346 ppm by polarography. when N-HNO<sub>3</sub> was added, white precipitate was formed, therefore N-HCl was used.

Ten grams of sample was treated and made up to 25 ml.

\*\* Twenty-five grams of sample was treated and made up to 100 ml.

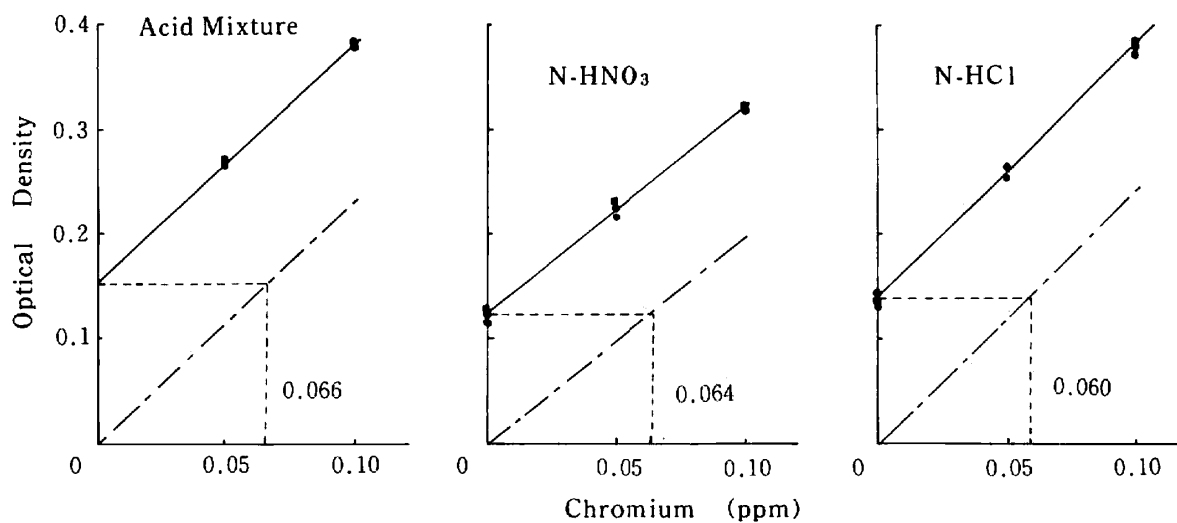


Fig.4 Determination of Chromium in Canned Mandarin Orange in Syrup by Flameless Atomic Absorption Method.

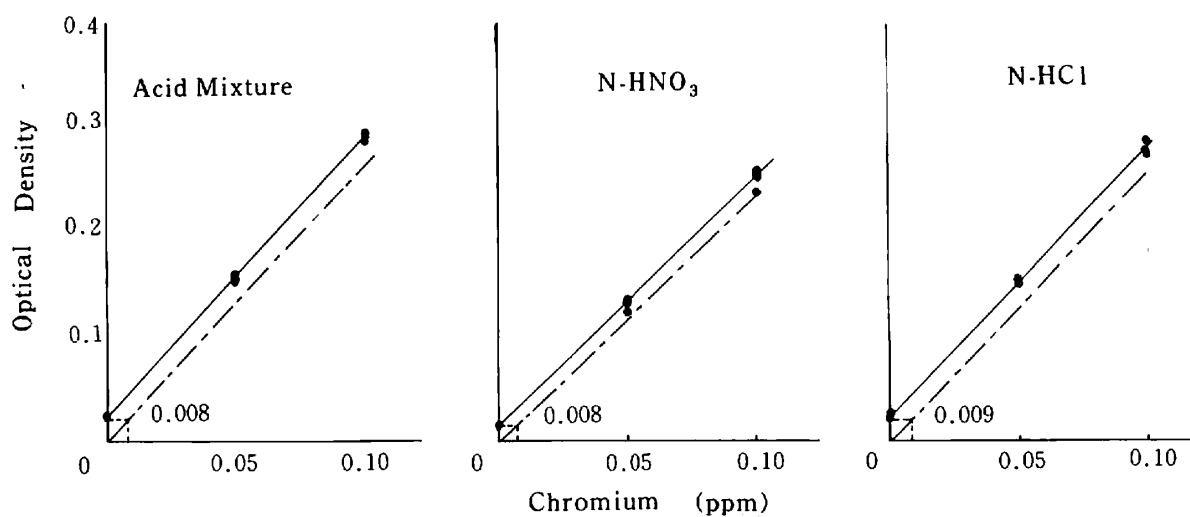


Fig.5 Determination of Chromium in bottled Mandarin Orange in Syrup by Flameless Atomic Absorption Method.



## 7. 2, 3 の水産缶詰についての測定成績

カツオサラダ油漬缶詰, カキ水煮缶詰, イワシ油漬, サンマ油漬缶詰等のそれぞれについて原子吸光分析法, 並びに比色法により測定し, これらの測定成績を Table 4, 5, 6, Fig. 6, 7 に示した。

Table 4 Determination of Chromium in Canned Skipjack in Oil\*

Proposed Atomic Absorption Method**					Colorimetric Method***		
Acid	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected		Standard chromium solution added ppm.	Test solution O.D.	Sample ppm.
			in test solution ppm.	in sample ppm.			
Acid Mixture	0	0.157	0.07	0.07	0	0.011	0.10
		0.158				0.012	
	0.1	0.391			0.2	0.037	
		0.392				0.038	
	0.2	0.614			0.4	0.058	
		0.616				0.059	
N-HNO <sub>3</sub>	0	0.137	0.06	0.06	—	—	
		0.143					
	0.1	0.355					
		0.371					
	0.2	0.571					
		0.585					

\* Packed in lacquered can. Salad oil was used.

\*\* Twenty-five grams of the mixed sample was treated and made up to 25 ml.

\*\*\* Twenty-five grams of the mixed sample was treated and made up to 100 ml.

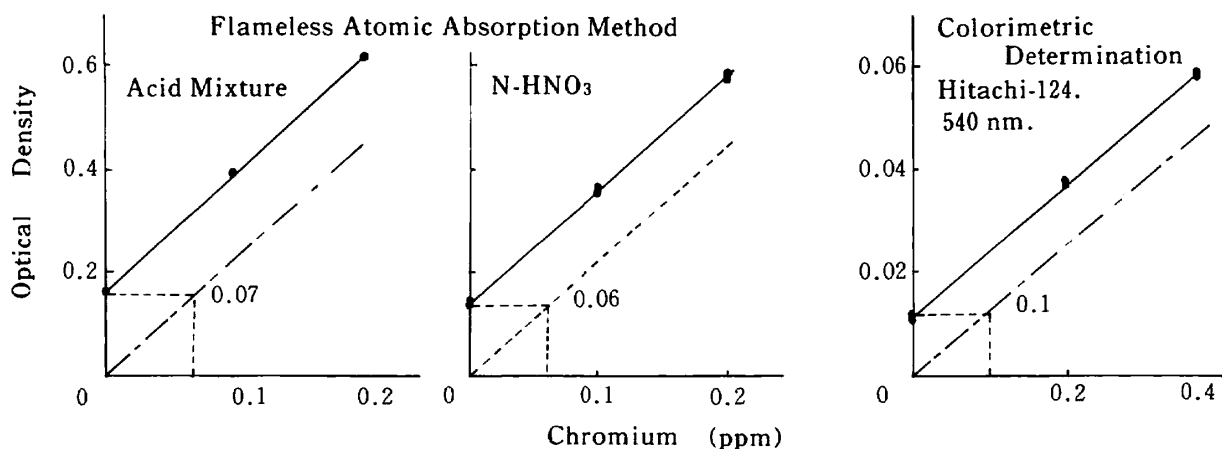


Fig.6 Determination of Chromium in Canned Skipjack in Oil.

Table 5 Determination of Chromium in Canned Oysters in Brine \*

Proposed Atomic Absorption Method **				Colorimetric Method ***			
Acid	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected		Standard chromium solution added ppm.	Test solution O.D.	Sample ppm.
			in test solution ppm.	in Sample ppm.			
Acid Mixture	0	0.130	0.07	0.07	0	0.008	0.08
		0.135				0.008	
		0.161				0.008	
	0.1	0.353			0.020		
		0.367			0.020		
		0.368			0.020		
0.2	0.567	0.030					
	0.584	0.030					
	0.584	0.030					
N-HNO <sub>3</sub>	0	0.131	0.07	0.07	—	—	
		0.141					
		0.168					
	0.1	0.349					
		0.365					
		0.386					
	0.2	0.559					
		0.583					
		0.583					

\* Packed in lacquered can.

\*\* Twenty-five grams of the mixed sample was treated and made up to 25 ml.

\*\*\* Twenty-five grams of the mixed sample was treated and made up to 100 ml.

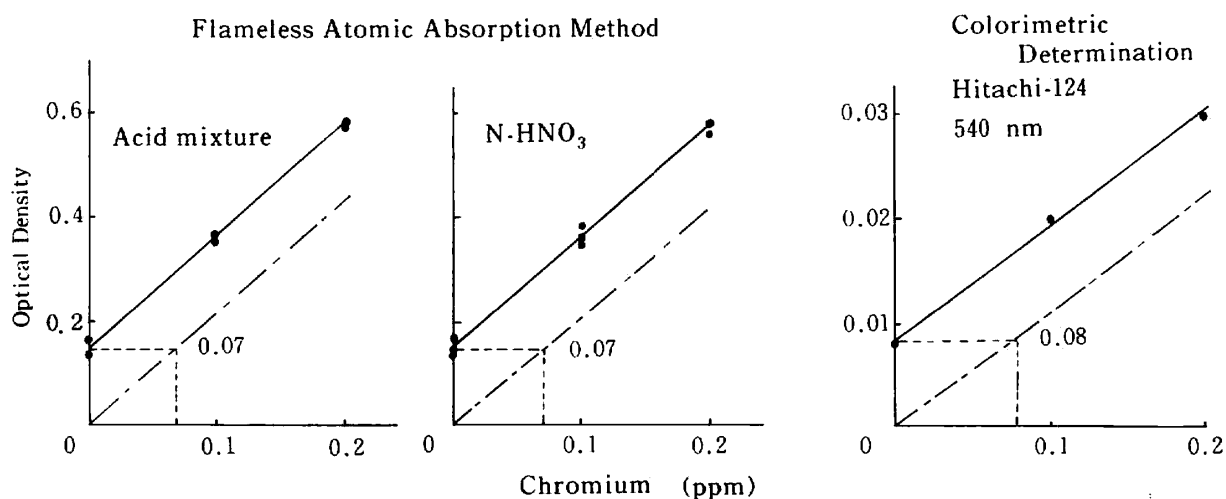


Fig.7 Determination of Chromium in Canned Oysters in Brine.

Table 6 Determination of Chromium in Canned Fishes

Sample	Proposed Atomic Absorption Method *			Colorimetric Method **	
	Acid	Standard chromium solution added ppm.	O.D.	Chromium detected in sample ppm.	Chromium detected in sample ppm.
Canned Oil Sardine	N-HNO <sub>3</sub>	0	0.054	0.03	Not detected
			0.055		
			0.064		
		0.10	0.279		
			0.282		
			0.292		
0.20	0.496				
	0.497				
	0.515				
Canned Oil Saury	N-HNO <sub>3</sub>	0	0.048	0.02	Not detected
			0.053		
			0.056		
		0.10	0.281		
			0.290		
			0.297		
		0.20	0.499		
			0.514		
			0.514		

\* Twenty-five grams of sample was treated and made up to 25 ml.

\*\* Twenty-five grams of sample was treated and made up to 100 ml.

## 考 察

初めに述べたようにクロムはわれわれの生活圏内において広く使用されている金属で、とりわけ不銹鋼として食品工業並びに日常生活における食品用器具容器として繁用されている。殊に近年は缶詰食品容器として塗装したクロム処理鋼板が広く利用されるようになった。食品中のクロムの定量法としてジフェニルカルバチド比色法で測定してきた。6価のクロムとジフェニルカルバチドとのキレート呈色物質の分子吸光係数は31400であり、この価は例えば鉄の比色定量法であるオルトフェナンスロリン・鉄キレート呈色物、またはバソフェナンスロリンジスルホン酸・鉄キレート呈色物のそれぞれの分子吸光係数 $\Sigma = 11150$ 、または $\Sigma = 22350$ に比して遙かに高いが、1)食品中のクロム含有量が海産物を除き一般に少いこと、2)湿式分解法、乾式分解法の何れを問わず試験溶液の調製のための試料処理量はサンプリングの趣旨と、処理時間との兼ね合いであるが5~25gの範囲としたいこと、3)比色測定前に例えば高級アルコール、またはM I B K等で抽出すれば濃縮とともに呈色液の経時的安定性は向上するが、操作上の手間と時間の延長となるため、水系で測定するとクロム濃度はもとの試料濃度に比し希釈されることとなり、1cmの液槽を用いて測定する限りFig. 1に示した低吸光度域での測定となり、誤差も当然大となる。そこで食品中の低濃度のクロムの分析の正確且簡易化を計るためフレイムレス法での検討を行なった。

まず食品中のクロム量についての従来知見より0~0.2 ppmのクロムを含む液を、比色法と同じ

濃度の混酸溶液として測定した。その結果は Fig. 2 に示したように、感度的には充分満足しうるものであったが、炭素管内面は数十回の使用により損耗が著しいため、硝酸、または塩酸を用いることの是非について調べた処、一規定の硝酸、または塩酸で代わりうる事がわかった。さらに比色法では共存鉄の影響を受けるが、原子吸光法では実用上殆んど問題とはならない。しかし食塩の影響がかなり著しいことから、食塩含量の高い試料については定量の精密さと正確度の面から標準添加法の適用が必要である。

実際の農水産加工品について本法並びに比色法により測定し比較することとした。試料の灰化温度については電気炉のパイロメーターを予め校正して使用したが、炉内各箇所の温度分布を調べていないため、本文中に殊更一項目を設けておらないが、灰化時のパイロメーターの指示温度が 500°C を越えた場合に常にクロム回収率のバラツキがみられ、安定した成績を得るに到らなかったことから灰化温度を 450°C とした。これらに基づいた測定成績を Table 1, 及び Fig. 4 以降にそれぞれ示した。特に Table 1, 2 および Table 4, 5 についてそれぞれ別途図示したのは、比色法では殆んど呈色が認められない場合と、比色可能な場合での両法の測定値の相関を示すためである。これらの図表から本法はその測定値において比色法と比肩して余りあることがわかった。さらに測定能率においても、仮令標準添加法を適用したとしても比色法の数倍の処理能力を有する上、発色から褪色の経過を辿る比色法と異り数度の測定が可能であることから、日常缶詰中のクロムの試験方法として正確さと、迅速性で極めて利用価値の大きいものと考えられる。

## 要 約

食品中の微量クロムの定量法として、フレイムレス原子吸光分析法を適用するため、ジフェニルカルバチド法を用いる比色法と比較検討した。

試料 10~25 g をとり、標準添加法を用い、450°C を越えない温度で灰化し、一規定硝酸または塩酸で溶解し定容として測定する方法で満足する成績を得た。

## 文 献

- 1) 日本薬学会編 衛生試験法注解 p. 51 (1980) 金原出版(株).
- 2) 和田 攻: 中外医薬 28, 166 (1975), 29, 23 (1976).
- 3) 食品衛生研究: 24, 509 (昭和49年) 日本食品衛生協会.
- 4) 和田 攻: 中外医薬 30, 203 (1977).
- 5) Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Trace of Metals p. 257 (1950).
- 6) Herausgegeben von den Arbeitsgruppen des Institute für Lebensmitteltechnologie und Verpackung an der Technischen Universität München, -Institute der Fraunhofer-Desellschaft. Merkblatt 10, Chrombestimmung in Fischkonserven: Verpackungs-Rundschau 11, 94 (1971).
- 7) 下村 滋, 福本佳子, 棚瀬弥一郎: 衛生化学 16, 144 (1970).
- 8) 西垣 進, 田村行弘, 真木俊夫, 山田 洋, 鳥羽啓子, 鳴村保洋, 木村康夫: 東京都立衛生研究所研究年報 24, 231 (1972).
- 9) Cary, E. E., Olson, O. E.: J. A. O. A. C. 53, 433 (1975).
- 10) Ross, W. D., Guthrie, W. Jr.: Anal. Chem. 36, 266 (1964).