

油脂中に含まれる微量鉄の吸光度法による定量

(昭和42年9月30日受理)

吉田 治郎* 竹下 安日児**

The Spectrophotometric Determination of Small Amounts of Organic Iron in the Fatty Oil

By Haruo Yoshida* and Yasuhiko Takeshita**

Synopsis The spectrophotometric determination of iron as the minor constituent in the several kinds of oil samples was investigated with two kinds of colorimetric reagents α - α' dipyridyl and o-phenanthroline. α - α' dipyridyl forms the red coloured and stable complex $[\text{Fe}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)]^{2+}$ with Fe (II) at pH range from 3 to 9. This solution has an absorption maximum at 522m μ , and its optical density conforms to Beer's law up to Fe (II) conc. 7 γ /ml.

About rice bran oils obtained at each step in the refining process, iron contents were estimated. The range of data was from 0.58 (crude oil) to 0.16 (edible oil) ppm as iron, and standard deviations were below 0.02 ppm. The results compared with determined values by o-phenanthroline (pH: 2~9, absorption maximum: 508m μ) have given sufficient coincidence in each refining step.

1. 緒 言

油脂中に含まれる鉄分の多少は油脂の安定性を左右する因子の一つであって、もともと天然に原料である動植物体の構成成分として含まれていたものと、油脂の抽出および精製の工程ならびに貯蔵中に外部から混入したものとに別けられるが、いずれにしても鉄分は油脂の自動酸化を促進する触媒となり油脂劣化の原因となる。¹⁻³⁾一般に微量鉄の定量には、吸光度法が用いられ、呈色試薬としては古くから *o*-フェナントロリン⁴⁾ が用いられているが、さらに *p*-ソフェナントロリン⁵⁾、最近では、2・4・6 トリピリジル-sym-トリアジン^{6),7)} もすぐれた発色感度をもつ試薬として用いられている。さらに α - α' ジピリジルも Fe^{2+} と安定な赤色錯体 $[\text{Fe}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)]^{2+}$ をつくり、発色感度がすぐれていることが認められている⁸⁾ので、著者らは α - α' ジピリジルの Fe^{2+} に対する発色についての特性を追試するとともにヌカ油中の微量鉄の精製工程による増減を α - α' ジピリジルを発色剤とする吸光

度測定によって定量し、*o*-フェナントロリン $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$ の発色によるヌカ油中の鉄の測定値と比較検討した。

油中の有機金属の分析については、本邦で大豆油およびナタネ油中の銅と鉄に関する外山ら⁹⁾の報告についてヌカ油およびナタネ油中の鉄についての丸田ら⁷⁾の研究がある。海外では1945年に Feugeら¹⁰⁾の亜鉛、スズに関するもの、1948年 O'Connorら¹¹⁾によるニッケルの分析、1951~2年の Evans¹²⁾らの銅、鉄に関するもの、1951年の Melvin¹³⁾の鉄および銅に関するものおよび Kingら¹²⁾のバター中の銅および鉄に関する原子吸光度法を他法と比較したものがある。わが国でも安原ら¹³⁾は最近この種の分析法による鉄の分析結果を報告している。そしてこれらの諸結果は一応の関連性をもつが多少の検討の余地を残している。

2. 実 験

2.1 置 装

油脂の灰化には 100 ml の石英ビーカーを用い、変圧器付の電熱器上で燃焼させ、さらに内径 120 mm、深さ 180 mm の炉心管を入れた電気炉中で完全に灰化した。

吸光度の測定には島津製 QV 型光電分光光度計を用いセル光路は 10 mm とした。

2.2 試 薬

* 化学研究室 講師

Instructor, Chemical Research Laboratory

** 化学研究室 教授、工学博士

Professor, Chemical Research Laboratory, Dr. of Engineering.

α - α' ジピリジルの $6 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$ 溶液：発色剤として、 α - α' ジピリジルの 1.00 g を 0.1 N の塩酸に溶かして 100 ml とした。

o-フェナントロリンの $5 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$ 溶液：標準発色剤として、*o*-フェナントロリンの一水塩 1.00 g を温水に溶かして 100 ml とした。

塩酸ヒドロキシルアミンの10%溶液：3 価の鉄を 2 価に還元するため、還元剤の塩酸ヒドロキシルアミン10wt %水溶液を用いた¹⁴⁾。

緩衝溶液：1N の酢酸と1N の酢酸ナトリウムの混合溶液¹⁵⁾および Britton-Robinson の広域緩衝溶液¹⁵⁾として、(85%の正リン酸 1.35 ml)+(96% の氷酢酸 1.18 ml)+(ホウ酸1.2g)を水に溶かし 500 ml としたA液と水酸化ナトリウム 0.2 N 水溶液のB液相当量とを混ぜて、広域の pH 調整溶液とした。

鉄標準溶液：硫酸第一鉄アンモニウム (モル塩) $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ の 0.7022 g を、いったん煮沸した水に希硫酸 (1 : 5) を 10 ml 加えてある溶液に溶かして 1000 ml とした。

水：イオン交換樹脂塔をととして脱イオンしたのち、硬質ガラス製蒸留器で蒸留して用いた。

塩酸、硫酸、酢酸、硝酸マグネシウム、メタノールおよび緩衝溶液用試薬などは、いずれも試薬特級を用い試薬からの鉄分混入を避けた。

2.3 試料油脂

実験に用いた試料ヌカ油は同一精製系統の工程別に採取し、その特徴は Table. 1 に示した。

Table. 1 Characteristics of rice bran oil samples.

	Sample oils	I. V.	S. V.	A. V.	d_{25}^{25}	n_D^{25}
1	Crude oil	103.0	182.3	40.5	0.9227	1.4698
9	Acid refined oil	102.0	182.3	40.5	0.9225	1.4706
3	Dewaxed oil	102.6	182.0	41.2	0.9220	1.4697
4	Alkali refined oil	102.6	182.0	0.55 (0.21)	0.9220	1.4707
5	Bleached oil	105.4	183.8	1.26 (0.61)	0.9226	1.4715
6	Deodorized oil	105.5	184.0	0.72 (0.12)	0.9221	1.4712
7	Wintered edible oil	107.4	189.0	0.54 (0.06)	0.9220	1.4714

() ; Alkalibule 6-B indicator

2.4 定量方法

10 g 内外の油脂を 100 ml の石英ビーカーに正しくはかりとり、25%の硝酸マグネシウムのメタノール溶液¹⁶⁾ 0.2 ml を加え、変圧器付の電热器上におき、直径 11 cm の東洋ろ紙 No. 3 を正しく二分し白金線を支えとして灯

心をつくり、炎の長さは 3 cm 以下とし、約 4 時間で燃焼させた。タール状から乾いた黒色の固体になったところで、ビーカーを電気炉に移し、約 800°C で 3 時間加熱し完全に灰化した。冷えてから灰を少量の水でうるおし、少量の塩酸を加えて湯浴上で蒸発乾固し、これに 2 N 塩酸 5 ml を加えておだやかに加熱溶解した。(白色の固形物があるときはろ過洗浄した) つぎに10%塩酸ヒドロキシルアミン 2 ml を加えて約20分放置し、第二鉄イオンを第一鉄イオンに還元したのち、緩衝溶液を加えて pH 3~9 に調整し、 $6 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$ の α - α' ジピリジル溶液 1 ml を加えて発色させ、100 ml のメスフラスコに移し水で標線まで希釈した。

ろ紙を除く全空試験液を補償液として、522 m μ の吸光度を測定し、検量線から鉄の量を求めた。

o-フェナントロリンを発色剤とする場合は pH 2~9 に調整し、 $5 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$ *o*-フェナントロリン溶液 1 ml を加えて発色させ 100 ml とした水溶液の 508 m μ の吸光度について測定した。またろ紙 5 枚中の鉄を定量し、灯心としたろ紙中の鉄の平均値を求め、補正に用いた。

3. 実験結果と考察

3.1 Fe(II)- α - α' ジピリジルおよび Fe(II)-*o*-フェナントロリン錯体の吸収曲線

鉄の濃度 0.100 mg/ml の硫酸第一鉄アンモニウム水溶液をつくり、その 4.00 ml を 100 ml のビーカーにとり、1N-塩酸 0.2 ml と10%-塩酸ヒドロキシルアミン 2 ml を加えて、2.4 に記したと同様に緩衝溶液により pH 3~9 に調整したのち、 α - α' ジピリジル溶液 1 ml を加えて赤色に発色させ、100 ml のメスフラスコに移して標線まで水を加えた。(この溶液は Fe^{2+} -濃度が 4 γ /ml である)

また *o*-フェナントロリンを発色剤とする場合は pH 2~9 に調整したのち、*o*-フェナントロリン 1 ml 加えて橙赤色に発色させ、100 ml とした。これら 2 種の錯体溶液の吸光度を測定した結果は Fig. 1 に示したとおりで、吸収極大が、 α - α' ジピリジル錯体では 522 m μ に、*o*-フェナントロリンでは 508 m μ にあった。

なお、R. H. Thorp⁸⁾ は α - α' ジピリジル錯体水溶液の吸収極大を 525 m μ に、また武藤¹⁷⁾は 522 m μ と報告しているが、著者らの実験では 522 m μ であったので以後すべてこの波長で測定した。

3.2 Fe(II)- α - α' ジピリジル錯体の pH 変化と吸光度との関係

Fig. 2 に示すように Fe^{2+} 濃度を一定とし、pH を変化した場合の Fe(II)- α - α' ジピリジル錯体の 522 m μ での吸光度は pH 3~9 ではほぼ一定であるが、その前後

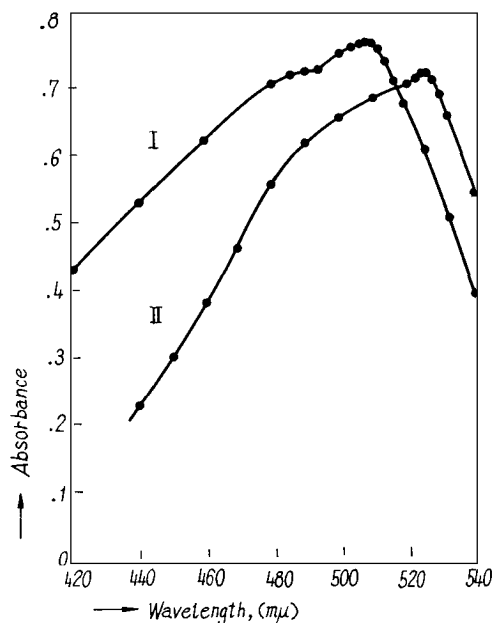


Fig. 1 Absorption spectra

Curve I: Spectrum of the aqueous solution contained α - α' dipyrityl (6×10^{-2} mol/l) and Fe^{2+} (4.00 γ /ml), pH 4.7

Curve II: Spectrum of the aqueous solution contained o-phenanthroline (5×10^{-2} mol/l) and Fe^{2+} (4.00 γ /ml), pH 4.2.

Reference: Reagent blank.

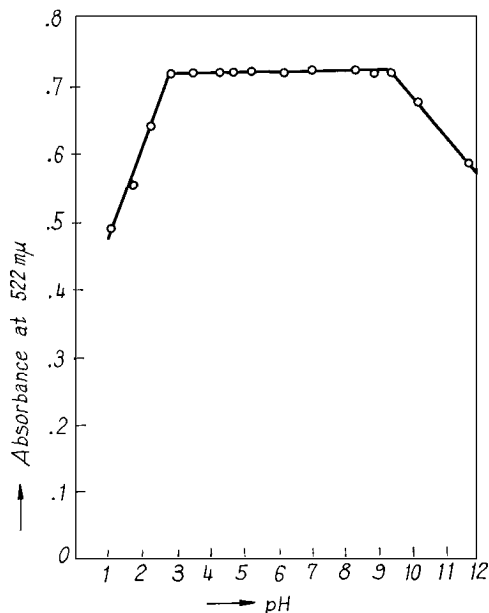


Fig. 2 The relation between absorbance and pH of the solution of α - α' dipyrityl and Fe^{2+} in the aqueous solution were 6×10^{-2} mol/l and 4 γ /ml respectively.

Reference: Reagent blank.

ではいちじるしく発色感度が低下する。

$\text{Fe}(\text{II})$ - α -フェナントロリン錯体については検討しなかったが、pH 2~9 において発色感度良好であることが認められている。

3.3 $\text{Fe}(\text{II})$ - α - α' ジピリジル錯体の時間経過と吸光度との関係

$\text{Fe}(\text{II})$ - α - α' ジピリジル錯体の時間経過と吸光度の関係については、**Fig. 3** に示すように、最初の約10分まではわずかな変色が見られるが、その後はほとんど一定で2時間後においても変化がなく、非常に安定であることがわかる。 α -フェナントロリンについては検討しなかったが、その $\text{Fe}(\text{II})$ 錯体は48時間安定であることが認められている¹⁴⁾

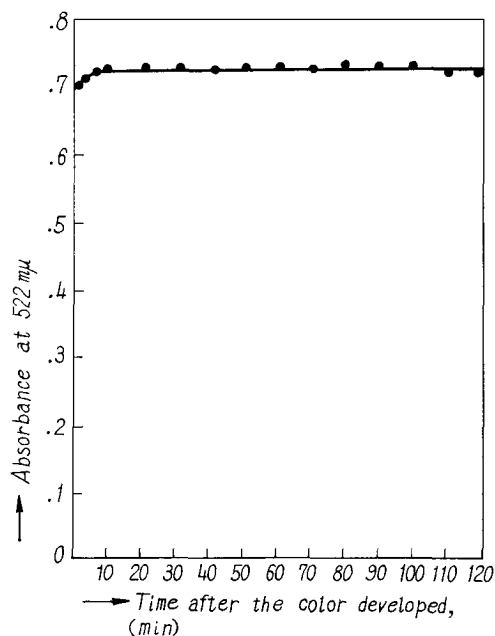


Fig. 3 The relation between absorbance and time.

The concentrations of α - α' dipyrityl and Fe^{2+} in the aqueous solution were 6×10^{-2} mol/l and 4 γ /ml respectively.

Reference: Reagent blank.

3.4 検量線

Fe^{2+} の 0.1 mg/ml の硫酸第一鉄アンモニウム水溶液をピペットで、1~10 ml をそれぞれ 100 ml のビーカーにとり、3.1 に記したと同様の方法で試薬を加え、 α - α' ジピリジルで赤色に、また α -フェナントロリンでは橙赤色に発色させ、100 ml のメスフラスコに移して、標線まで水を加えた。溶液中には、それぞれ Fe^{2+} 1~10 γ /ml を含む。これらの溶液について、 $\text{Fe}(\text{II})$ - α - α' ジピリジル錯体では 522 mμ の、また $\text{Fe}(\text{II})$ - α -フェナントロリ

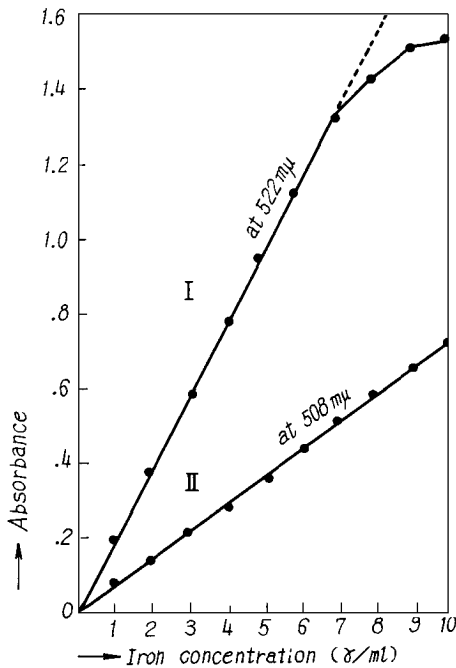


Fig. 4 Calibration Curve.
Curve I: Fe(Ⅱ)-α-α' dipirgyl complex, pH 3~9.
Curve II: Fe(Ⅱ)-o-phenanthroline Complex, pH 2~9
Reference: Reagent blank.

ン錯体では 508 mμ の吸光度を測定し、検量線を作成してこれを **Fig. 4** に示す。

この結果から、α-α'ジピリジルでは、0~7 γ/ml 付近までは直線となり、Beerの法則にしたがうことが明らかである。o-フェナントロリンについてはさらに広範囲に直線となり、いずれも直線部分の範囲では検量線として適当である。

3.5 ヌカ油中の鉄含有率

同一精製系統の工程別試料 No. 1~7 のヌカ油に含まれる鉄分を定量し、測定値の標準偏差を求めた結果は **Table 2** に示した。

この表からあきらかなように α-α'ジピリジル法ではヌカ原油は 0.57 ppm の鉄分を含み、これに比べると精製工程の位置をことにする酸精製、脱ろう、脱色および脱臭では鉄分がほとんど増減せず、一方アルカリ精製では原油の約60%、食用精製最終工程のウインター（冷凍ろ過）ではさらに約12%が減少した。

この傾向は Feuge, O'connor ならびに Eevans らの結果とアルカリ精製段階では一致し、脱色段階では丸田らの結果と一致して、ヌカ油特有の精製工程の実際からみて一層合理的なものとみられる。

o-フェナントロリンによる結果も α-α'ジピリジルのそれに近く、脱ろう油では 0.05 ppm その他の工程についても 0.02 ppm 以下の差にとどまった。

Table 2 Results of Iron Estimation of Rice Oil Samples.

Reagent		By α-α'dipyridyl					By o-phenanthroline				
Sample oils Refining steps		Sample Wt.	Iron Wt.	Iron Content	Mean Value	Standard Deviation	Sample Wt.	Iron Wt.	Iron Content	Mean Value	Standard Deviation
No.	Item	(g)	(γ)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(g)	(γ)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
1	Crude (oil)	9. 6521	5. 50	0. 57	0. 57	0. 01	10. 2922	6. 17	0. 60	0. 59	0. 01
		9. 3344	5. 22	0. 56			11. 1420	6. 43	0. 60		
		10. 1023	5. 96	0. 59			11. 4671	6. 76	0. 59		
		1. 4301	5. 47	0. 58			11. 7737	6. 93	0. 50		
2	Degummed	10. 8310	6. 17	0. 57	0. 58	0. 01	11. 4947	6. 78	0. 58	0. 60	0. 01
		9. 3412	5. 51	0. 59			10. 7371	6. 70	0. 62		
		9. 4625	5. 49	0. 58			11. 6842	7. 24	0. 62		
3	Dewaxed	10. 1102	5. 86	0. 58	0. 58	0. 01	11. 3109	6. 82	0. 63	0. 63	0. 01
		9. 4682	5. 40	0. 57			9. 6293	6. 20	0. 64		
		9. 1003	2. 00	0. 22	0. 22	0. 01	12. 0421	3. 13	0. 24	0. 23	0. 01
4	Alkali Refined	10. 1204	2. 33	0. 23			9. 9750	2. 25	0. 23		
		9. 3046	1. 95	0. 21			11. 1519	2. 56	0. 23		
5	Bleached	10. 1121	2. 02	0. 20	0. 21	0. 01	10. 6111	2. 75	0. 25	0. 23	0. 01
		9. 3653	2. 06	0. 22			11. 2527	2. 46	0. 22		
		9. 2312	1. 94	0. 21			11. 7810	2. 71	0. 23		
6	Deodorized	10. 6540	2. 13	0. 20	0. 21	0. 02	8. 7945	1. 85	0. 21	0. 22	0. 01
		9. 2683	1. 76	0. 19			10. 5610	2. 53	0. 24		
		9. 7345	2. 34	0. 24			9. 5362	2. 10	0. 22		
7	Wintered (edible oil)	9. 8114	1. 67	0. 17	0. 16	0. 01	10. 7982	1. 73	0. 16	0. 18	0. 01
		10. 2134	1. 63	0. 16			11. 5975	2. 20	0. 19		
		9. 2330	1. 48	0. 16			10. 3213	1. 96	0. 19		

測定値の標準偏差は両分析法とも 0.02~0.01 ppm の範囲にありこの種分析では良好な結果とみられる。

鉄以外の金属の混在の影響について今回は実験上の検討は行なわないが、試料の性質と分析操作からその必要がないものと認めた。しかしながらピロリン酸、メタリン酸の存在は鉄の酸化を促進するので¹⁸⁾、油脂試料を灰化してのち塩酸を加え蒸発乾固し完全に正リン酸とすることによってこの障害を防いだ。

以上の結果を総合すると、油脂中の微量鉄分析用発色試薬として α - α' ジピリジルは *o*-フェナントロリンに比べて検量線の直線範囲と発色 pH 範囲とがやや小さい点はあるがほぼ類似の測定成果を与え、これらの試薬によるヌカ油の精製工程別試料の分析結果は、独特の精製方式の行なわれるこの油の場合、従来の諸報告より一そう合理的な数値を示した。

なおこの種の研究では試料採取が生産工程とロットの大小とから一貫性を欠きやすく、分析法自体についても発色試薬による処理以前の灰化、抽出および還元など誤差の因子となりやすく、絶対の数値については実験操作の条件による差は無視しがたい。しかしヌカ油についての精製工程による鉄分の増減は信頼性が十分とみられる。

文 献

- 1) A. E. King *et al.*, *Oil & Soap*, **10**, 204 (1933).
- 2) C. D. Evans *et al.*, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **28**, 68 (1951), **29**, 61 (1952).
- 3) E. H. Melvin, *et al.*, *ibid.*, **28**, 61 (1952).
- 4) F. Blan, *Monatsh.*, **19**, 647 (1898).
- “岩波講座, 現代化学 II, D, 錯化合物,” 岩波 (1956)p.55; 安原, 堀川, 益山, 科学と工業, **33**, 26(1959); 武内, 田中, 工化, **64**, 305 (1962).
- 5) W. G. Knopp, *Anal. Chem.*, **31**, 1445(1959); 中島, 酒井, 分析化学, **10**, 89, 94 (1961); 安原, 益山, 堀川, “第2回油化学討論会予稿集”, (1963). p.50
- 6) P. F. Collins *et al.*, *Anal. Chem.*, **31**, 1862 (1959); 中島, 酒井, 分析化学, **11**, 73 (1962).
- 7) 丸田銓二郎ら, 油化学, **15**, 160 (1966).
- 8) R. H. Thorp, *Bioch. J.* **35**, 672(1941); “1946. Book of ASTM Method of Chemical Analysis of Metals,” ASTM, Philadelphia Pa (1946) p. 325.
- 9) 外山修之ら, 油化学, **4**, 240 (1955).
- 10) R. O. Feuge *et al.*, *Oil & Soap*, **22**, 202 (1945).
- 11) R. T. O'connor *et al.*, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **25**, 408 (1948).
- 12) L. F. King *et al.*, *The Australian J. of Dairy Technology*, January-March, 27 (1964).
- 13) 安原諭, 益山新六, 油化学討論会予稿集, (1958) p. 15.
- 14) 日本化学会編, “実験化学講座15分析化学(下),” 丸善 (1958) p. 276.
- 15) 日本化学会編, “化学便覧, 基礎編, II”丸善(1966) p. 1319.
- 16) 日本油化学協会編, “基準油脂分析試験法,” 朝倉書店 (1966) p. 61.
- 17) 武藤, 柳田, “機器分析実験,” 共立出版(1960) p. 26.
- 18) 内海誓一郎ら, 日化, **86**, 593 (1965).