

有害試薬不使用のチアベンダゾール定量法の改良

古庄紀子, 大月典子, 大槻 崇, 建部 (佐々木) 千絵, 佐藤恭子[#], 穠山 浩, 河村葉子

Improved methodology for quantitative determination of thiabendazole

Noriko Furusho, Noriko Otsuki, Takashi Ohtsuki, Chiye Tatebe-Sasaki, Kyoko Sato[#], Hiroshi Akiyama and Yoko Kawamura

The method prescribed in the 8th edition of Japan's Specifications and Standards for Food Additives (JSSFA) for the quantitative analysis of thiabendazole was improved by eliminating the use of toxic reagents such as mercuric acetate and chromium trioxide.

For exclusion of mercuric acetate, a nonaqueous titration was performed using four types of solvent systems, including acetic acid:acetic anhydride (1:5), acetic acid:acetic anhydride (3:7), acetic acid alone, and formic acid:acetic acid (1:10), that did not contain mercuric compounds. Because precipitates were formed in titrations using acetic acid alone and formic acid:acetic acid (1:10), we considered that it was difficult to determine the purity using these solvent systems. However, it was confirmed that the purity of thiabendazole dissolved in the two acetic acid:acetic anhydride solvent systems can be determined using either a visual indicator or potentiometry. Specifically, the purity of thiabendazole was determined to be 99.9% (relative standard deviation (RSD) = 0.07%) for acetic acid:acetic anhydride (1:5) and 99.7% (RSD = 0.13%) for acetic acid:acetic anhydride (3:7).

With respect to chromium trioxide, it was determined that chromium trioxide can be excluded using acetic acid, which conforms to the JIS K8001 standard for nonaqueous titrations.

Therefore, in this study, an improved method for the quantitative determination of thiabendazole was developed without the use of toxic reagents.

Keywords: thiabendazole, titration, quantification, food additives

1. 緒言

チアベンダゾールは、主に建材の塗料や衣料品の抗菌加工剤として用いられている薬剤であり、農薬、食品添加物としても使用されている。日本では1972年に農薬として登録され、1978年に食品添加物として指定された¹⁾。その幅広い抗菌スペクトルから、農薬として利用されており、現在、172品目の食品に対して残留農薬としての最大残存量が設けられている²⁾。一方、食品添加物としての使用は国内では柑橘類とバナナに限定され、ポストハーベスト処理を施す目的で使用されている。使用方法は柑橘類にはワックスと混合後に収穫後の果実を

浸漬する方法、バナナには浸漬、あるいは直接噴霧する方法が用いられている。食品添加物の使用基準において、最大残存量は柑橘類10 ppm、バナナ3 ppm（果肉のみでは0.4 ppm）と設定されている³⁾。

日本で指定されるにあたり、成分規格は米国薬局方 (United States Pharmacopeia: USP) および欧州薬局方 (European Pharmacopoeia: EP) の規格を参考に設定された。その後の改正はなく、第8版食品添加物公定書 (公定書) に定められているチアベンダゾールの定量法では、非水滴定用酢酸の調製に三酸化クロム、また、滴定を行う試験液の調製に酢酸第二水銀といった2種類の有害試薬が使用されている。

本研究では、食品添加物の規格試験における有害試薬排除への取り組みとして、これら2種類の有害試薬を排除した、安全かつ精度のよい定量法を策定するため、非水滴定用の溶媒の選択および、選択した溶媒に適した終点指示法について検討したので報告する。

[#] To whom correspondence should be addressed:

Kyoko Sato; Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.333; Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: ksato@nihs.go.jp

2. 実験方法

2.1 試薬および試液

チアベンダゾールは、和光純薬工業（株）の食品添加物試験用チアベンダゾール標準品を使用した（Fig. 1）。

酢酸は関東化学（株）製（非水滴定用）を使用し、ギ酸、無水酢酸および塩化リチウムは和光純薬工業（株）（いずれも試薬特級）、また、0.1 mol/l過塩素酸液は和光純薬工業（株）製の非水滴定用0.1 mol/l過塩素酸（酢酸溶媒）を用いた。さらにクリスタルバイオレットは関東化学（株）製（一級試薬）を使用した。

クリスタルバイオレット・酢酸試液は、クリスタルバイオレット0.005gを秤量し、酢酸100 mlに溶解し調製した。

2.2 機器

電位差計は、（株）三菱化学アナリテック製自動滴定装置GT-100を使用した。

2.3 定量法

チアベンダゾールを24時間減圧乾燥させた後、0.2 gを試料とし、4種の試験液（Table 1）を調製した。終点の確認には指示薬法あるいは電位差滴定法を用いた。

指示薬法では各試験液に指示薬としてクリスタルバイオレット・酢酸試液1 mlを加え、0.1 mol/l過塩素酸液を用い、目視により試験液が紫色から青色を経て緑色に変化するポイントを終点として定めた。

電位差滴定法では電位差計の参照電極の内部液について、一般的な滴定に用いられる塩化カリウム溶液（4 mol/l）および非水滴定用の塩化リチウム・酢酸溶液（3 mol/l）の2種類について検討を行った。全ての試験液に対して、チアベンダゾールを含まない溶媒のみを用いて空試験を行い、純度を算出した。

3. 結果および考察

3.1 三酸化クロムの排除に関する検討

現行の公定書には非水滴定に使用できる酢酸の試薬規格として、三酸化クロムを加えて調製したのち蒸留し、特定の沸点で得られた留分を用いることが規定されている⁴⁾。一方、JIS規格K8001の附属書JA.2には、酢酸（非

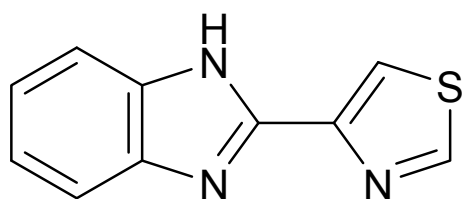


Fig. 1 Structural formula of thiabenzodazole

Table 1 Test solutions for nonaqueous titration

Test solution	Solvent composition	Method of preparation
A	1:5 mixture of Acetic acid/ Acetic anhydride	Weigh accurately about 0.2 g of thiabenzodazole, previously dried, add 10 ml of acetic acid for non-aqueous titration, dissolve by warming, and cool. Add 50 ml of acetic anhydride and mix.
B	3:7 mixture of Acetic acid/ Acetic anhydride	Weigh accurately about 0.2 g of thiabenzodazole, previously dried, add 15 ml of acetic acid for non-aqueous titration, dissolve by warming, and cool. Add 50 ml of acetic anhydride and mix.
C	Acetic acid	Weigh accurately about 0.2 g of thiabenzodazole, previously dried, dissolve it in 50 ml of acetic acid for non-aqueous titration.
D	1:10 mixture of Formic acid/ Acetic acid	Weigh accurately about 0.2 g of thiabenzodazole, previously dried, dissolve it in 5 ml of formic acid, add 50 ml of acetic acid for non-aqueous titration and mix.

水滴定用) について、無水酢酸の限度試験が示されており⁵⁾、蒸留法については規定されていない。試薬メーカーではこの規定に適合したものを販売していることから、公定書における非水滴定用酢酸の試薬規格はJIS K8001附属書JA.2と同様のものを採用することが適当と判断した。このように改定すれば、三酸化クロム不使用の酢酸が使用可能となる。そこで本研究では以下の検討にJIS K8001に適合した市販の酢酸（非水滴定用）を用いることとした。

3.2 酢酸第二水銀の排除に関する検討

3.2.1 試験液の検討

チアベンダゾールの定量法としては、非水滴定用酢酸第二水銀試液⁴⁾を加えた試験液を調製して非水滴定により定量する方法が規定されている⁶⁾。

非水滴定において、ハロゲン化水素酸塩を構造に含む試料の場合、非水滴定用溶媒の酢酸に溶解することによりハロゲン化水素酸を生じる。生じた酸が、臭化水素あるいは塩化水素などのように、酢酸中で硝酸よりも強酸であると、酸・塩基反応を妨害し、目視による終点の決定が困難になるが、そこに酢酸第二水銀を加えると、ハロゲン化水銀として安定化し、指示薬を用いた場合の終点の決定が容易になることが知られている⁷⁾。

しかし、チアベンダゾールはハロゲン基を含まず、電離して強酸を呈することもないことから、酢酸第二水銀を用いない条件で滴定を行うことができると考えられ

た。そこで酢酸第二水銀を加えずに試験液を調製するとともに、組成を変えた4種類の溶媒を用いて検討した。

Table 1に示した、現行法の試験液A (酢酸:無水酢酸=1:5)、朝日らの報告⁸⁾ および日本薬局方技術情報2011 (The Japanese Pharmacopoeia Technical Information: JPTI)⁹⁾ を参考に調製した試験液B (酢酸:無水酢酸=3:7)、公定書中の他の非水滴定による定量に用いられることの多い試験液C (酢酸)、ならびに試験液Cに難溶なアミノ酸等の試料に対して用いられる試験液D (ギ酸:酢酸=1:10) の4種を調製し、指示薬法により滴定を行った。

その結果、試験溶液AおよびBでは、酢酸第二水銀を添加しなくても滴定終点の判定は十分に行えることが判明した。

しかし、試験液CおよびDでは、過塩素酸液で滴定する過程で析出物が認められた。これらの析出物の形成により、試験液CおよびDでは濁りを生じたため、滴定終点が明確でなく目視による判定に困難を生じた。

また、試験結果において、試験液Aは純度99.9% (相対標準偏差:RSD, 0.07%)、試験液Bは99.7% (0.13%)、試験液Cは99.4% (0.18%)、試験液Dは99.0% (0.47%) となり、析出が認められなかったAおよびBはCおよびDよりやや高い傾向がみられた (Table 2)。

以上のことから試験液Aおよび試験液Bによる定量法を選択することとした。

3.2.2 指示薬法と電位差法の比較

次に電位差法で定量し、指示薬法の結果と比較した。JPTIでは、滴定終点検出法に関する情報として非水滴定の電位差滴定法を行う際の参照電極の内部液について言及している⁹⁾。すなわち、塩基性物質を滴定する場合、塩化カリウム溶液による滴定系への妨害を防ぐために、酢酸、または試験液の試料を含まないように調製した溶液に過塩素酸リチウムや塩化リチウムを酢酸に飽和させた溶液で適切な塩橋を存在させることが望ましい、と記載されている。

そこで、一般に参照電極内部液として使用されている4 mol/l塩化カリウム溶液と、JPTIで推奨している3 mol/l

塩化リチウム・酢酸溶液の2種類の液をそれぞれ参照電極に用い、電位差計でチアベンダゾールの純度を比較した。その結果、電極内部液の違いに関わらず、99.9%から100.2%の範囲で純度が算出された (Table 3)。しかし、この結果は指示薬法で得られた結果とほぼ同等であり、電位差法の優位性は認められなかった。

そこで、チアベンダゾールの定量には、酢酸:無水酢酸を1:5あるいは3:7の比率で混合した溶媒で調製した試験液を用いた非水滴定を行うことが適切な定量法であり、指示薬法でも電位差計を用いた方法でも良好な定量結果が得られることが確認された。また、その際に調製する参照電極の内部液は3 mol/l塩化リチウム・酢酸溶液だけでなく、汎用されている4 mol/l塩化カリウム溶液も適用可能で信頼性の高い定量値を得られることが確認された。

4. おわりに

我々はチアベンダゾールの定量法について、三酸化クロムと酢酸第二水銀の排除を目的として検討を行った。その結果、二つの有害物質を排除した、より安全性が高く、また分析精度もよい改良法が示された。

引用文献

- 1) 環食化第36号, 食品衛生法施行規則及び食品, 添加物等の規格基準の一部改正について (昭和53年8月30日), 厚生省 (1978)
- 2) 農薬等の基準値, チアベンダゾール, 公益財団法人日本食品化学研究振興財団ホームページ, http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/agrdtl.php?a_inq=39500
- 3) 告示497・498・499号, 食品中の残存する農薬等の基準に係るポジティブリスト制度について (平成17年11月28日) (2005) 2012.5.7改訂
- 4) 第8版食品添加物公定書, 厚生労働省, p99 (2007)
- 5) 財団法人日本規格協会, JISハンドブック2011,

Table 3 Purity of thiabendazole calculated in acetic acid: acetic anhydride solvent systems by using potentiometry

Test solution	Purity of thiabendazole ^{a)}	
	reference electrode	
	4mol/l ^{b)} potassium chloride	3mol/l ^{b)} lithium chloride /acetic acid
A	100.2/0.10	100.1/0.09
B	100.1/0.70	99.9/0.31

a) mean (%) / RSD* (%) , n=3

RSD: Relative standard deviation

b) The electrolyte solution inside a reference electrode

Table 2 Purity of thiabendazole calculated in four different solvent systems by using a visual indicator

Test solution	Purity of thiabendazole ^{a)}
A	99.9/0.07
B	99.7/0.13
C	99.4/0.18
D	99.0/0.47

a) mean (%) / RSD* (%) , n=3

RSD: Relative standard deviation

- 48, 試薬, 日本規格協会, 東京, p47 (2011)
- 6) 第8版食品添加物公定書 2007, 厚生労働省, p475
 - 7) 河合 聡, 木下俊夫, 辻 章夫, 渡辺光夫, 定量分析化学, 改訂2版, 丸善 (株), 東京, pp.166-177 (1988)
 - 8) 朝日 豊, 田中正巳, 無水酢酸-氷酢酸溶液中における塩基及びその塩の過塩素酸滴定, 分析化学, **37**, 339-343 (1988)
 - 9) 一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団編, 日本薬局方技術情報2011, (株) じほう, 東京, pp.126-128 (2011)