

<その3> 乳等省令におけるヒ素試験法の改良

研究協力者 羽石 奈穂子、荻本 真美、塩澤 優、高梨 麻由

東京都健康安全研究センター

A. 研究目的

乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（乳等省令）では、「乳等の器具若しくは容器包装又はこれらの原材料の規格及び製造方法の基準」が定められており、その中に、ヒ素の規格及び試験法が記載されている。規格は、三酸化二ヒ素（ As_2O_3 ）として $2 \mu\text{g/g}$ 以下である。試験溶液（食品添加物公定書では検液）の調製法として、試料に硝酸及び硫酸を加えて湿式灰化する方法（硫硝酸法）が記載されている。一方、食品添加物においてもヒ素試験法が設定されており、食品添加物公定書記載の「ヒ素試験法」検液（乳等省令では試験溶液）の調製 第3法及び第4法 における検液の調製法は、試料に硝酸マグネシウム・エタノール溶液を加え、点火して試料を燃焼させた後に灰化する方法である（硝酸マグネシウム・エタノール法）。試験溶液または検液を調製した後の操作は、乳等省令及び食品添加物公定書とも同じである。試験溶液または検液の調製法の詳細を図1に示した。

硫硝酸法では、試料を分解するために大量の硝酸を必要とする。また試料を炭化させてしまうと、ヒ素が還元されて気化するので、硝酸と硫酸を加えた後は、注意深く加熱しなければならず¹⁾、分解が終了するまで常時観察を続けることが不可欠である。試料によっては、分解終了まで1週間程度を要する場合もある。また、亜硝酸ガス、硫酸の白煙等強酸のガスが大量に発生する。食品添加物公定書の解説書²⁾にも、上記のような記載があり、現在、食品添加物公定書のヒ素試験法に、硫硝酸法による検液の調製法は記載されていない。これに対して、硝酸マグネシウム・エタノール法は、硫酸や硝酸等の強酸を使用せず、

分解は2~3日で終了する、安全で効率の良い方法である。

そこで、乳等省令のヒ素試験法における試験溶液の調製法において、硝酸マグネシウム・エタノール法が使用可能か検証した。

B. 研究方法

1. 試料

1) 標準物質

ポリエチレン（PE）標準物質：JSM P700-1（ヒ素認証値 $9.1 \mu\text{g/g}$ 、JFE テクノリサーチ製）

ポリプロピレン（PP）標準物質：113-01-002（ヒ素推定値 $16.9 \mu\text{g/g}$ 、KRISSE 製）

2) 標準試料

PE 標準試料：PE 標準物質 0.17 g に、ヒ素不検出の PE 製袋の粉碎品を加えて 1.00 g としたもの。

PP 標準試料：PP 標準物質 0.09 g に、ヒ素不検出の PP 製食品用トレーの粉碎品を加えて 1.00 g としたもの。

上記の割合で混合した場合、 As_2O_3 として $2 \mu\text{g/g}$ を含む。

3) ブランク試料

標準試料作製に用いたヒ素不検出の試料

2. 試薬

亜鉛：砂状、ヒ素分析用、和光純薬工業(株)製

アンモニア水（25~27.9%）、エタノール（99.5%）、塩化スズ（ ）二水和物、塩酸、酢酸、酢酸鉛（ ）三水和物、硝酸マグネシウム（硝酸マグネシウム六水和物）、ピリジン、プロモフェノールブルー、ヨウ化カリウム：特級、和光純薬工業(株)製

N,N-ジエチルジチオカルバミド酸銀：特級、

3. 試液

酢酸鉛試液：酢酸鉛（ ）三水合物 11.8 g を量り、水に溶かして 100 ml とし、酢酸（14）2 滴を加える。

塩化スズ（ ）試液：塩化スズ（ ）二水合物 4 g を量り、塩酸 125 ml を加えて溶かし水を加えて 250 ml とする。

ヒ化水素吸収液：N,N-ジエチルジチオカルバミド酸銀 0.50 g をピリジンに溶かして 100 ml とする。

プロモフェノールブルー試液：プロモフェノールブルー0.1 g を量り、50%エタノール 100 ml を加えて溶かし、必要があればろ過する。

ヨウ化カリウム試液：ヨウ化カリウム 16.5 g を量り、水を加えて溶かし 100 ml とする。

	乳等省令	第8版食品添加物公定書 ヒ素試験法第4法
試料	1 g	別に規定する量
試験溶液 または検液 の調製法	<p>硝酸 20 mL</p> <p>↓</p> <p>弱く加熱</p> <p>↓</p> <p>内容物が流動状になるまで</p> <p>↓ 冷後</p> <p>硫酸 5 mL</p> <p>↓</p> <p>・白煙が発生するまで加熱 ・液がなお褐色を呈するときは</p> <p>↓ 冷後</p> <p>硝酸 5 mL</p> <p>↓</p> <p>褐色 無色または淡黄色になるまで [] を繰り返す</p> <p>↓ 冷後</p> <p>飽和シュウ酸アンモニウム溶液 15 mL</p> <p>↓</p> <p>白煙が発生するまで加熱</p> <p>↓ 冷後</p> <p>水を加えて20 mLとする(試験溶液) このうち10 mLを用いて試験を行う</p> <p>↓</p>	<p>硝酸マグネシウムのエタノール 溶液(1 10) 10 mL 第3法は硝酸マグネシウムのエタノール溶液(1 50)</p> <p>↓</p> <p>10 mL</p> <p>↓</p> <p>エタノールに点火</p> <p>↓</p> <p>燃焼</p> <p>↓</p> <p>・徐々に加熱して450～550 で灰化 ・炭化物が残るときは少量の 硝酸マグネシウムのエタノール溶液 (1 50)で潤し再び強熱して 450～550 で灰化する</p> <p>↓ 冷後</p> <p>塩酸 3 mL</p> <p>↓</p> <p>水浴上で加温し溶かす(検液)</p> <p>↓</p>
ヒ素試験	B法 As ₂ O ₃ として2 μg/g以下	B法

図1. ヒ素試験における試験溶液または検液の調製法

4. 標準液

ヒ素標準原液：As 100 mg/L、和光純薬工業(株)製

ヒ素標準液：ヒ素標準原液 0.76 ml を量り、水を加えて 100 ml とする。本液 1 ml は As_2O_3 1 μg を含む。

5. 装置及び器具

分光光度計：UV-2700、島津製作所(株)製
電気炉：KM-420、アドバンテック東洋(株)製
粉碎機：MS-09、ラボネクト(株)製
ねじ口付セル：S15-UV-10、石英二面透明、アズワン(株)製

6. 試験溶液の調製法

試料 1 g を磁製のるつぼに採り、硝酸マグネシウムのエタノール溶液 (1 : 10) 10 ml を試料が完全に浸るように注意深く加え、点火棒でエタノールに点火して試料を燃焼させた。炎が消えるのを確認した後、るつぼを電気炉に入れ、250 °C まで昇温し、50 分間保持した後、520 °C まで昇温し、16 時間保持し灰化した。炉内温度が 200 °C まで下がった時点で、るつぼを電気炉から取り出し、室温まで冷ました後、残留物に塩酸 (1 : 4) 10 ml を加え、沸騰水浴上で加熱して溶かし試験溶液とした。

7. ヒ素試験

試験溶液にプロモフェノールブルー試液 1 滴を加え、アンモニア水で中和し、塩酸 (1 : 2) 5 ml 及びヨウ化カリウム試液 5 ml を加え、2~3 分間放置した。塩化スズ () 試液 5 ml を加えて室温で 10 分間放置した後、発生瓶に入れ、水で洗い込み 40 ml とした。亜鉛 2 g を加え、直ちに排気管及びガラス管を連結したゴム栓を発生瓶に付けた。ガラス管の細管部の端はあらかじめヒ化水素吸収液 5 ml を入れた吸接管の底に達するように入れ、次に発生瓶は 25 °C の水中に肩まで浸し、1 時間放置した。吸接管をはずし、吸収液の呈色

を標準色と比較した。

標準色の調製：ヒ素標準液 2.0 ml を発生瓶に入れ、塩酸 (1 : 2) 5 ml 及びヨウ化カリウム試液 5 ml を加え、2~3 分間放置した。塩化スズ () 試液 5 ml を加えて室温で 10 分間放置した後、水を加えて 40 ml とした。亜鉛 2 g を加え、以下試験溶液の場合と同様に操作して得た吸収液の呈色を標準色とした。

試薬ブランクの調製：ヒ素標準液を加えず、標準色の調製と同様に操作したものを試薬ブランクとした。

8. 吸光度の測定

ヒ素試験により呈色した吸収液をねじ口付セルに採り、30 分以内に 525 nm における吸光度を測定した³⁾。

C. 研究結果及び考察

1. 試験溶液の調製

標準試料及びブランク試料を用い試験溶液を調製した。硫硝酸法では、試料を分解し試験溶液を調製するまで 1 週間以上を要する場合があるが、本法では 2 日間であった。また、硫硝酸法では灰化終了まで常時観察を続けることが必要だが、本法では、試料を 10 分程度燃焼させた後は電気炉で灰化させるため、常に観察する必要はなく、操作は非常に簡便であった。

2. ヒ素試験の結果

1) 目視による比較

1. で得られた試験溶液を用い、ヒ素試験を行い、吸収液の色の濃さを比較した。その結果、ヒ素を含まないブランク試料の吸収液は呈色しなかった。一方、ヒ素を含む試料の試験溶液の吸収液はいずれも標準色と同じ黄褐色を示し、色の濃さもほぼ同程度であった。以上より、本法により調製した試験溶液が、乳等省令のヒ素試験法に適用可能であると考えられた。

表 1 . 標準色、ブランク、標準試料及びブランク試料の吸光度

試料		ヒ素含有量 (As ₂ O ₃ として) (µg/g)	吸光度
標準色		2	0.046,0.043,0.043,0.042,0.045
試薬ブランク			0.000,0.002,0.001,0.001,-0.001
PE	標準試料	2	0.043,0.042,0.043
	ブランク試料		0.002
PP	標準試料	2	0.043,0.044,0.043
	ブランク試料		0.002

2) 吸光度による比較

食品衛生法や食品添加物公定書で規定されている目視による判定では、色の濃さを詳細に判別することが出来ないため、吸収液の吸光度を測定することにより色の濃さを数値化して比較した。日本薬局方では、呈色反応の観測対象は、遊離コロイド状銀（極大吸収約 535 nm）⁴⁾としているが、本法では衛生検査指針を参考とし、525 nm³⁾の吸光度を測定した。

その結果を表 1 に示した。標準色及び試薬ブランクのヒ素試験における吸収液（各 5 回）の吸光度は、それぞれ 0.042 ~ 0.046 及び -0.001 ~ 0.002 であり、ばらつきも小さく最大値と最小値の差が 0.004 及び 0.003 であった。標準色及び試薬ブランクは試験溶液の調製操作を行わないため、このばらつきはヒ素試験と吸光度測定の実操作による誤差と考えられた。

一方、PE 標準試料及び PP 標準試料の吸収液（各 3 併行）の吸光度は、それぞれ 0.042 ~ 0.043 及び 0.043 ~ 0.044 であった。吸光度のばらつきは小さく最大値と最小値の差が 0.001 であり、試験溶液の調製操作ではほとんどばらつきが生じていないことが判明した。また、標準色とほぼ同じ吸光度を示した。

以上より、本法は、乳等省令のヒ素試験法

における試験溶液の調製法の代替法として適用可能と考えられた。

D . 結論

乳等省令のヒ素試験法における試験溶液の調製法の代替法として、硝酸マグネシウム・エタノール法が使用可能か検証した。本法は、現行の硫硝酸法に比べて試験に要する期間が短く、強酸等も使用しないため、簡便で安全であった。また、試験溶液の調製操作による結果のばらつきも小さく、標準色及び標準試料は、ほぼ同じ吸光度を示した。以上より、本法は、試験溶液調製法の代替法として適用可能であると考えられた。

E . 参考文献

- 1) 公益社団法人日本食品衛生協会、食品衛生検査指針 理化学編 2015、p 1151-1152 (2015)
- 2) 第 8 版食品添加物公定書解説書、廣川書店、p B-224 (2007)
- 3) 公益社団法人日本食品衛生協会、食品衛生検査指針 理化学編 2015、p 1152 (2015)
- 4) 第十七改正日本薬局方解説書、廣川書店、p B-75 (2016)