

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品添加物の安全性確保のための研究

平成 30 年度分担研究報告書

鉛及びヒ素の同時分析法に関する研究

研究分担者 建部 千絵 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部主任研究官

研究要旨 第 9 版食品添加物公定書では多くの食品添加物において鉛及びヒ素の規格が設定されているが、その前処理法及び分析法は試料の性質により異なっている。本研究ではこれまで鉛及びヒ素の同時分析を目的として、より簡便な前処理法として、鉄共沈法による鉛及びヒ素の前処理法について検討を行い、ナトリウム塩及びカリウム塩中の鉛及びヒ素の高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES 法）による同時分析法を確立した。今年度は、これまで未検討であった炭酸塩について検討し、更に、食用タール色素を試料とし、鉛及びヒ素以外の金属についても鉄共沈法による前処理法や ICP-AES 法による同時分析法が適用可能か検討した。炭酸塩類（4 試料）に規格値相当の鉛及びヒ素を添加し（Pb として 2 µg/g、As として 3 µg/g 相当添加）、塩酸（1→4）溶液に溶かし、蒸発乾固したのち、鉄共沈法を行ったところに、鉛及びヒ素の回収率が 75%、95%以上の良好な回収率が得られることが明らかとなった。また、鉛、ヒ素及び亜鉛の規格がある食用赤色 3 号を試料とし、鉛、ヒ素及び亜鉛を添加し（Pb として 2 µg/g、As として 3 µg/g、亜鉛として 200 µg/g 相当添加）一般試験法タール色素試験法鉛試験法に従って前処理した後、鉄共沈法を行ったところ、鉛で 90.3%、ヒ素で 70.6%、亜鉛で 11.5%となり、鉛とヒ素は 70%以上の回収率が得られたが、亜鉛では回収率が得られなかった。そこで、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジを用い抽出したところ、鉛で 89.8±2.7%、ヒ素で 72.3±9.0%、亜鉛で 99.4±1.6%となり、良好な回収率（n=3）が得られた。以上の結果から、鉄共沈法は炭酸塩の鉛及びヒ素の同時分析法として有用な方法であり、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジを用いることで、鉛、ヒ素及び亜鉛が同時に分析できることが明らかとなった。

A. 研究目的

第9版食品添加物公定書<sup>1)</sup>においては、海外規格との整合性をはかる目的から、一部の食品添加物を除き、鉛規格が設定され、一般試験法の鉛試験法において、前処理法

の違いにより、第1法～第5法が検液の調製法として設定された。ヒ素規格についても、多くの食品添加物に設定されている。一般試験法のヒ素試験法において、前処理法の違いにより、検液の調製法に第1法～第5法

が設定されており、測定は、装置Bまたは装置C（水素化物発生装置）を使用して行うこととなっており、食品添加物毎にこれらの前処理法及び測定方法が規定されている。

高マトリックス中の鉛やヒ素の分析の前処理法としては、鉛ではピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム（APDC）溶媒抽出法や<sup>2)</sup>、イオン交換樹脂法などの、共存元素との分離や目的元素の濃縮を行う方法が一般的に採用されており、第9版食品添加物公定書においても、ナトリウム塩等の高マトリックスを含む食品添加物中の鉛の前処理においてはAPDC溶媒抽出法が第5法として設定される。ヒ素においてはヒ素が金属イオンと沈殿しやすい性質を利用し、廃水中や土壌からヒ素を除去する方法<sup>3)</sup>や、キレート樹脂に金属塩を結合させヒ素を精製する方法<sup>4)</sup><sup>5)</sup>が多く報告されている。

本研究では、これまで、鉛試験法において第5法（APDC溶媒抽出法）が設定されている食品添加物（無機塩類）であるナトリウム塩やカリウム塩試料を用いて、鉄共沈法による前処理後、誘導プラズマ発光分析装置（ICP-AES）による同時分析が可能であることを明らかとしてきたが、今年度は、これまで検討しなかった炭酸塩について鉄共沈法の適用が可能か検討した。更に、第9版食品添加物公定書において、鉛及びヒ素以外に重金属規格が設定されている品目は多くあるが、鉛試験法の前処理法として乾式灰化法が設定されている食用色素を用いて検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試薬・試液

硝酸（超高純度試薬、Ultrapur-100）、塩酸（超高純度試薬、Ultrapur-100）酢酸アンモニウム溶液（500 g/L、鉄試験用）、25%アンモニア水（有害金属測定用）、鉛標準液（1000 µg/mL）、炭酸水素ナトリウム（特級）、炭酸ナトリウム（特級）は関東化学(株)製を用いた。ヒ素(III)標準液(100 µg/mL)、亜鉛標準液(1000 µg/mL)、塩化鉄(III)六水和物(特級)、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度 9%、食品添加物用)硝酸マグネシウム六水和物(特級)、エタノール(95)、炭酸カリウム(特級)は和光純薬工業(株)製を用いた。炭酸水素アンモニウム(特級)はシグマアルドリッチ製を用いた。食用赤色3号は食品添加物製品を用いた。

1 M 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム溶液78 mLを水で500 mLとした。

0.1 M 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム溶液4 mLを水で250 mLとした。

0.5 M 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム溶液80 mLを水で1000 mLとした。

鉄溶液：塩化鉄(III)六水和物2.4 gを水に溶かし、50 mLとし、その液5 mLを水で50 mLとした。

硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→10)：硝酸マグネシウム六水和物50 gをエタノール(95)で500 mLとした。

硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→50)：硝酸マグネシウム六水和物10 gをエタノール(95)で500 mLとした。

硝酸(1→10)溶液：硝酸10 mLを水で

100 mLとした。

硝酸 (1→100) 溶液：硝酸10 mLを水で1000 mLとした。

鉛標準原液 (100 µg/mL)：鉛標準液 (1000 µg/mL) 5 mLを硝酸 (1→100) 溶液で50 mLとし、鉛標準原液 (100 µg/mL) とした。

Pb・As混合標準原液：鉛標準原液 (100 µg/mL) 5 mL、ヒ素 (III) 標準液 (1000 µg/mL) 7.5 mLを硝酸 (1→100) 溶液で100 mLとし、Pb・As混合標準原液とした (Pbとして5 µg/mL、Asとして7.5 µg/mL)。

Zn標準原液：Zn標準液 (1000 µg/mL) 10を硝酸 (1→100) 溶液で20 mLとし、Zn標準原液 (500 µg/mL) とした。

Pb・As混合標準液：Pb・As混合標準原液を適宜硝酸 (1→100) 溶液で希釈し、以下の表に示す濃度となるように、Pb・As混合標準液 1～7を調製した。

Pb・As混合標準液標準溶液No.	濃度 (µg/mL)	
	Pb	As
1	1.0	1.5
2	0.8	1.2
3	0.5	0.75
4	0.4	0.6
5	0.2	0.3
6	0.1	0.15
7	0.05	0.075

Pb・As・Zn混合標準液：Pb・As混合標準原液及び、Zn標準原液を適宜硝酸 (1→100) 溶液で希釈し、以下の表に示す濃度となるように、Pb・As・Zn混合標準液 1～7を調製した。

Pb・As・Zn混合標準液標準溶液No.	濃度 (µg/mL)		
	Pb	As	Zn
1	1.0	1.5	50
2	0.8	1.2	40
3	0.5	0.75	30
4	0.4	0.6	20
5	0.2	0.3	10
6	0.1	0.15	5
7	0.05	0.075	2.5

## 2. 器具・装置

ダイヤフラム真空ポンプ、SPEバキュームマニホールド、無機分析用吸引マニホールドDigiTUBE用ラック、PTFEデリバリーチップ、1、3、6 mLアダプター付き25 mLリザーバー、キレート固相カートリッジ (InertSep ME-1、250 mg/6 mL)、エンプティリーザーバー (20 mL、フリット付) 及びDigiTubeはGLサイエンス(株)製を用いた。ホットプレート (CHP-250DN、CHP-250DR) 及びホットスターラー (DP-1M) はアズワン製を用いた。電気マッフル炉 (KDF S100) はデンケン・ハイデンタル製を用いた。

高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (SPS-3520) は日立ハイテクサイエンス(株)製を用いた。

## 3. 高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES法) による鉛、ヒ素、亜鉛の定量

試験液、標準液及び空試験液につき、ICP-AES法により次の波長における発光

スペクトル線の発光強度を測定した。標準溶液の発光強度より検量線を作成し、試験液強度から空試験液吸光度を差し引いた値から、検量線を用いて試験液中の鉛、ヒ素、亜鉛の濃度を求め、試料中の各元素量を算出した。

元素	測定波長 (nm)
As	193.76
Pb	220.35
Zn	213.86

#### 4. 炭酸塩類を用いた鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

##### 1) 試料液の調製法

試料2 gにPb・As混合標準原液0.8 mLを添加 (Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g相当添加) し、30分室温で放置した後、硝酸 (1→100) 溶液20 mLを加え溶かし、試料液とした。

##### 2) 試料液の調製法 (改良法)

試料2 gにPb・As混合標準原液0.8 mLを添加 (Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g相当添加) し、30分室温で放置した後、塩酸 (1→4) 溶液20 mLを少量ずつ加え、泡立たなくなったら、ホットスターラー上で攪拌しながら加熱し、蒸発乾固させた。得られた残留物に硝酸 (1→100) 又は水20 mLを加え、加熱して溶かし、試料液とした。

##### 3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出

試料液に次亜塩素酸水0.2 mLを加えた後、鉄溶液0.5 mLを加えた後、1 M酢酸アンモニウム溶液5 mLを加え、アンモニア水でpH9に調整した後、30分静置した。上澄

液及び沈殿をストップコックを付けたフリット付エンプティリザーバーに負荷し (1滴/秒程度)、沈殿のみを回収した。得られた沈殿を水10 mLで洗浄し、洗浄液は捨てた。ストップコックを閉じ、硝酸 (1→10) 溶液1 mLでフリット上を満たし、5分間静置した。硝酸 (1→10) 溶液に沈殿が溶けたら、フリット上の硝酸 (1→10) 溶液を通液し、回収した。更に、少量の水でエンプティリザーバー及びフリットを洗浄し、得られた洗浄液を先の回収液と合わせ、水で10 mLとし試験液とした。3. ICP-AES法による鉛、ヒ素、亜鉛の定量によるヒ素、鉛及び亜鉛の定量に従い測定し、検量線より、試験液中の鉛及びヒ素の濃度を算出し、鉛及びヒ素の添加回収率を求めた。ただし、試料を用いずに調製した液を、試料液と同様に操作し、得られた液を空試験液とした。

#### 5. 食用赤色3号を用いた、鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

##### 1) 試料液の調製法 (タール色素試験法鉛試験法第2法)

試料1.0 gを磁製のるつぼに量り、Pb・As混合標準原液0.4 mL及び亜鉛標準原液0.4 mLを添加 (Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g、Znとして200µg/g相当添加) し、30分放置した。硝酸マグネシウム六水和物・エタノール (95) 溶液 (1→10) 10mLを加えて混和し、エタノールに点火して燃焼させた。燃焼終了近くになると内容物が飛び散ることがあるため、蓋を用いた。冷後、硫酸を2 mLで試料全体を潤し、ホットプレート上で100°C～500°Cで徐々に温度を上げ内容物は石英棒で時々かき混ぜながら加熱した。ほとんど炭化し、硫酸の白煙

が発生しなくなるまで加熱した。その後、るつぼを電気炉に入れ、徐々に加熱して500℃で強熱して灰化した。炭化物が残ったときは、硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→10)5 mLを加えて混和し、同様の操作を繰り返した。

冷後、残留物に塩酸(1→4)30 mLを加え、加熱して蒸発乾固させ、得られた残留物に水10 mLを加え加熱して溶かし試料液とした。

## 2) 試料液の調製法(タール色素試験法ヒ素試験法)

試料0.50 gを量り、磁製のるつぼに入れ、Pb・As混合標準原液0.2 mL及び亜鉛標準原液0.2 mLを添加(Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g、Znとして200µg/g相当添加)し、30分放置した。これに硝酸マグネシウム六水和物・エタノール(95)溶液(1→50)20 mLを加え、エタノールに点火して燃焼させた。燃焼終了近くになると内容物が飛び散るため蓋を用いた。その後、ホットプレート上で150℃～500℃で徐々に温度を上げ加熱し、時々石英棒で内容物を碎きながら、ほとんど炭化するまで加熱した。その後、電気炉に入れ、徐々に加熱して500℃で強熱して灰化した。炭化物が残ったときは、少量の硝酸で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、再び電気炉に入れて500℃で灰化した。冷後、残留物に塩酸(1→4)15 mLを加え、蒸発乾固し、水20 mLを加え加熱して溶かし試料液とした。

## 3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出方法

4. 3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出に従い実施した。

## 4) キレート固相カートリッジによる抽出方法

InertSep ME-1を硝酸(1→100)溶液5 mL(流速20 mL/min)で洗浄し、水20 mL以上(流速20 mL/min)でカートリッジ内に残る硝酸を洗浄した。0.1 M酢酸アンモニウム溶液5 mLを流出させ、試料液を流速5 mL/minでカートリッジへ負荷した。0.5 M酢酸アンモニウム10 mL及び水10 mLで洗浄後、硝酸(1→100)溶液約7 mLで流速1 mL/minでゆっくりと溶出し、その液を回収し、硝酸(1→100)溶液で10 mLとし、試験液とした。ただし、試料を用いずに調製した液を、試料液と同様に操作し、得られた液を空試験液とした。

## 5) 鉄共沈法及びキレート固相カートリッジによる鉛、ヒ素及び亜鉛の抽出法の検討

あらかじめ、フリット付エンプティリザーバーの下部にInertSEP ME-1をアダプターで連結し、InertSEP ME-1下部にストップコックを連結し、マニホールドに接続したものを用意した(Fig.2)。試料液に次亜塩素酸水0.2 mLを加えた後、鉄溶液0.5 mLを加えた後、1 M酢酸アンモニウム溶液5 mLを加え、アンモニア水でpH9に調整した後、30分静置した。必要に応じて遠心分離(3000 rpm、5分間)し、上澄液及び沈殿をエンプティリザーバー内へ負荷した。ストップコックを開け、毎秒1滴程度の早さで流れるように調整し、沈殿をエンプティリザーバーに保持させた。得られた沈殿を水10 mLで洗浄し、洗浄液は捨てた。

InertSEP ME-1を取り外し、エンプティリザーバーをストップコックにつなぎ、硝酸(1→10)1 mLでフリット上を満たし、

5分間静置した。硝酸（1→10）に沈殿が溶けたら、フリット上の硝酸（1→10）溶液を通液し、回収した。更に、少量の水でエンプティリザーバー及びフリットを洗浄し、得られた洗浄液を先の回収液と合わせ、水で10 mLとし試験液1とした。InertSEP ME-1は0.5 M酢酸アンモニウム溶液 5 mLで洗浄し、洗液は捨て、水20 mLで洗浄した後、硝酸（1→100）7 mLで溶出し（1 mL/min）、硝酸（1→100）で10 mLとし試験液2とした。なお、2) 試料液の調製法（タール色素試験法ヒ素試験法）で調製した試料液を用いた場合は、溶出液は半分の容量で溶出し、試験液1は、硝酸（1→10）0.5 mLを加え、5 mLとし、試験液2は、硝酸（1→100）3.5 mLで溶出し、5 mLとした。ただし、試料を用いずに調製した液を、試料液と同様に操作し、得られた液を空試験液とした。

3. ICP-AES法によるヒ素、鉛及び亜鉛の定量に従い、試験液1及び試験液2をそれぞれ測定し、検量線より、各試験液中の鉛、ヒ素及び亜鉛の濃度を算出し、それぞれの元素濃度を合算し、回収率を求めた。

## C. 研究結果及び考察

### 1. ICP-AES法による鉛及びヒ素、鉛、ヒ素及び亜鉛の同時測定

Pb・As混合標準液を用いて、測定し、検量線を作成したところ、Fig. 1に示すように鉛は0.05～1 µg/mL、ヒ素は0.075～1.5 µg/mL、亜鉛は2.5～50µg/mLの範囲で $R^2 > 0.999$ の良好な直線性が得られた。第9版食品添加物公定書において、多くの食品添加物の規格に設定される、鉛及びヒ素の規格値（Pbとして2 µg/g以下、Asとして3

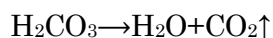
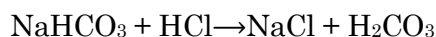
µg/g以下）を想定し最終試験液を調製した場合の各元素濃度（最終試験液としてPb 0.4 µg/mL、As 0.6 µg/mL）を十分に測定が可能な範囲で直線性が得られることが明らかとなった。また、食用赤色3号を対象とした場合も、鉛、ヒ素及び亜鉛の規格値（Pbとして2 µg/g以下、Asとして3 µg/g以下、Znとして200 µg/g以下）から想定し、最終試験液を調製した場合の各元素濃度（最終試験液としてPb 0.2 µg/mL、As 0.3 µg/mL、Zn 20 µg/mL）を十分に測定可能であることが明らかとなった。

### 2. 炭酸塩の鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

#### 1) 試料液調製法の検討

これまでの検討結果を踏まえて、炭酸水素ナトリウムを試料とし、鉛及びヒ素を添加（Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g相当添加）し、硝酸（1→100）溶液 20 mLに溶解し、試料液とし4. 3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出に従い、鉄共沈法を行ったところ、pHを調整する際、これまでの試料ではpH4～6程度のものが多かったが、炭酸水素ナトリウムではpH7.5であり、アンモニア水でpH9に調整しても、鉄の沈殿が析出しなかった。その結果、いずれの元素も回収率はほとんど得られなかった。更に、炭酸カリウムを試料と同様に試験したところ、鉛の回収率は70%程度、ヒ素の回収率は50%程度であった。炭酸カリウムの場合も pHを9に調整した際に鉄の沈殿の析出が少なかったことから、炭酸イオンが鉄の共沈に影響を及ぼしている可能性が示唆された。試料液中の炭酸イオンを取り除くため、炭酸塩が塩酸により二酸化炭素と水

に分解することを利用し（以下反応式）、



炭酸水素ナトリウムを試料とし、塩酸（1→4）溶液を加えて溶かすこととした。その結果、試料に塩酸（1→4）溶液を加えると、硝酸（1→100）溶液を加えた時よりも多量の泡が発生し、多くの二酸化炭素が発生している様子がみられた。その溶液を加熱し、蒸発乾固した後、硝酸（1→100）または水で試料液を調製した後鉄共沈法を行った。その結果、硝酸（1→100）で試料液を調製した場合、Table 1に示すように、鉛及びヒ素の回収率（n=5）は91.7±5.6%及び75.9±2.9%となり、水で試料液を調製した場合は104.8±7.2%、80.7±5.6%であり、水で溶解した方が良好な回収率が得られ、鉄共沈法でのpH調整も容易であったため、以後、試料液は水で溶解することとした。

## 2) 添加回収試験

炭酸塩試料（3品目：炭酸カリウム、炭酸水素アンモニウム、炭酸ナトリウム）を用いて、規格値相当の鉛及びヒ素を添加し（Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g）、塩酸（1→4）溶液に溶解した後、加熱し蒸発乾固させたものを水に溶解した後、4.3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出に従い操作し、鉛及びヒ素の添加回収試験を行った。その結果、Table 2に示すように、鉛及びヒ素の回収率（n=5）は、炭酸カリウムでは100.3±5.8%、78.8±5.4%、炭酸水素アンモニウムでは98.7±7.4%、76.8±4.7%、炭酸ナトリウムでは94.0±3.7%、75.6±3.0%となり、いずれも良好な回収率が得られた。

今回使用した、炭酸塩は炭酸水素ナトリウム

（分子量：89.91）を例とすると、試料2 g中の炭酸水素ナトリウムのモル濃度は0.02 molであり、加えた塩酸（1→4）溶液20 mL中の塩酸のモル濃度はおよそ0.06 molであるため、炭酸水素ナトリウムが二酸化炭素に分解されるには十分な量の塩酸を加えていることとなる。塩酸（1→4）溶液を加えることによって、すべての炭酸が二酸化炭素に分解することにより、炭酸イオンの影響がなくなったと考えられた。また、蒸発乾固させることにより、加えた塩酸が塩化物塩となり析出し、水を加えた時の試料液のpHが酸性～弱酸性となり、鉄共沈法でのpH調整が容易にでき、操作も簡便であった。

## 3. 食用赤色3号を用いた、鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出法の検討

### 1) 試料液調製法の検討

食用赤色3号に規格値相当の鉛、ヒ素及び亜鉛を添加し（Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g、Znとして200 µg/g相当添加）、Fig.3に示すようにタール色素試験法鉛試験法に従い灰化を行い、4. 3) 鉄共沈法による鉛及びヒ素の抽出に従い操作した。その結果、回収率（n=1）は、鉛で90.3%、ヒ素で70.6%、亜鉛で11.5%となり、鉛とヒ素は70%以上の回収率が得られたが、亜鉛では回収率が得られなかった。一方、4. 4) キレート固相カートリッジによる抽出方法を行ったところ、回収率（n=1）は鉛で102.7%、ヒ素で8.1%、亜鉛で105%であり、キレート固相カートリッジではヒ素は回収できなかった。そこで、Fig.2に示すように鉄共沈法及びキレート固相カートリッジに接続し、4. 5) 鉄共沈法及びキレート

固相カートリッジによる鉛、ヒ素及び亜鉛の抽出法の検討に従い操作し、鉛、ヒ素及び亜鉛を抽出することを試みた。その結果、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジによる回収率 (n=1) は鉛で89.3%、ヒ素で78.2%、亜鉛で101.1%の回収率が得られた。

一方、タール色素試験法ヒ素試験法の灰化方法で灰化した場合、試料が少ない分操作は簡便であり、硝酸マグネシウム・エタノール (95) 溶液を加えた際も飛び散ることが少なく操作しやすく、灰化操作で得られた残渣も少なかった(Fig.4)。残渣に水を加え、調製した試料液を用い鉄共沈法及びキレート固相カートリッジによる回収率 (n=1) を求めたところ、鉛で74.6%、ヒ素で78.6%、亜鉛で81.1%となり、灰化操作は簡便ではあったが、鉛及び亜鉛の回収率が低い傾向がみられた。

以上の結果から、タール色素試験法鉛試験法で灰化を行った場合、鉛及びヒ素は鉄共沈法で75%以上回収され、亜鉛は鉄共沈法では20%程度しか回収されなかったが、キレート固相カートリッジで80%程度の回収率が得られ、それらを合わせてほぼ100%の良好な回収率が得られることが明らかとなり、食用赤色3号はタール色素試験法鉛試験法に従い灰化を行い鉄共沈法及びキレート固相カートリッジで鉛、ヒ素及び亜鉛を抽出することとした。

## 2) 添加回収試験

食用赤色3号に規格値相当の鉛、ヒ素及び亜鉛を添加し (Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g、Znとして200 µg/g相当添加)、食用赤色3号はタール色素試験法鉛試験法に従い灰化を行い鉄共沈法及びキレート固

相カートリッジによる抽出を行ったところ、Table 3に示すように、回収率 (n=3) は鉛で89.8±2.7%、ヒ素で72.3±9.0%、亜鉛で100.4±1.2%であり、いずれも70%以上の良好な回収率が得られた。

タール色素試験法ヒ素試験法の灰化方法で試験液2を調製する際は、試料採取量が0.5 gと少ないこともあり、予備灰化と乾式灰化の2回の繰り返しで灰化が終了した。しかし、タール色素試験法ヒ素試験法の灰化方法では鉛や亜鉛の回収率がタール色素試験法鉛試験法の灰化方法で得られた回収率と比べて10%程度低い結果となった。これは、灰化操作において硫酸を加えないことにより一部の元素の揮散が考えられた。

一方、試験液1の調製法は、タール色素試験法鉛試験法において、硫酸を添加し、灰化する一般的な灰化方法では完全に灰化することが難しい色素を対象とし、灰化補助剤として硝酸マグネシウム溶液を添加した後、硫酸を加え灰化する方法であり、硝酸マグネシウム (1→10) 溶液を加えることから、鉛の分析の際は溶媒抽出法による前処理が必要とされている。今回の検討では、タール色素試験法鉛試験法に従い、ヒ素の揮散を懸念し500℃で強熱したため、試験液1を調製する際は、完全に白色の灰となるまで、予備灰化と乾式灰化を3回繰り返した。試験液1では硫酸を加えているため鉛や亜鉛などが揮散しづらいため、鉛や亜鉛で良い回収率が得られたと考えられた。また、食用赤色3号のタール色素試験法鉛試験法の灰化方法では、タール色素試験法ヒ素試験法の灰化方法と同様前処理で硝酸マグネシウム溶液を加えるため、ヒ素も揮散しづらい条件となっていることや、



強熱温度を500℃としたため、ヒ素もある程度回収できたと考えられた。

食用赤色3号では、鉛、ヒ素及び亜鉛を測定するために、タール色素試験法鉛試験法(灰化+溶媒抽出法+原子吸光光度法)、ヒ素試験法(灰化+原子吸光光度法(水素化物発生装置))、亜鉛及び鉄試験法(灰化+原子吸光光度法)が設定されており、それぞれ前処理方法や測定方法が異なっている。今回の検討において、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジを用い、ICP-AES法を用いることで鉛、ヒ素及び亜鉛を一度の前処理で簡便に同時分析できることが明らかとなった。

#### D. 結論

本研究により、炭酸塩4試料に規格値相当の鉛及びヒ素を添加し(Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g相当添加)、塩酸(1→4)溶液を加え、炭酸を二酸化炭素に分解した後、鉄共沈法を行ったところ、鉛及びヒ素の回収率が75%、95%以上の良好な回収率が得られることが明らかとなった。また、食用赤色3号に規格値相当の鉛、ヒ素及び亜鉛を添加し(Pbとして2 µg/g、Asとして3 µg/g、Znとして200 µg/g相当添加)、タール色素試験法鉛試験法に従い試料液を調製した後、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジを用い抽出したところ、鉛で89.8±2.7%、ヒ素で72.3±9.0%、亜鉛で99.4±1.6%となり、いずれも70%以上の良

好な回収率(n=3)が得られた。以上の結果から、鉄共沈法を用いることで炭酸塩中の鉛及びヒ素、鉄共沈法及びキレート固相カートリッジを用いることで、食用赤色3号中の鉛、ヒ素及び亜鉛を抽出することができ、ICP-AES法により同時分析が可能であることが明らかとなった。

#### E. 研究発表

学会発表

- 1) 建部千絵、鐘 熙寧、久保田浩樹、多田敦子、佐藤恭子鉄共沈法を用いた鉛及びヒ素の同時分析法の妥当性評価及び食品添加物への適用、日本食品衛生学会第114回学術講演会(2018.11)

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### G. 参考文献

- 1) 第9版食品添加物公定書(2017) (<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000186592.html>)
- 2) 日本食品化学工学会, 新・食品分析法, 光琳, pp232 (1996)
- 3) 柏木ら, 分析化学, vol.50, No.3, p187-192 (2991)
- 4) 五来ら, 分析化学, vol.51, No.9, p729-734 (2002)
- 5) Balaji et al., *Chemosphere*, 59, p1169-1174 (2005)

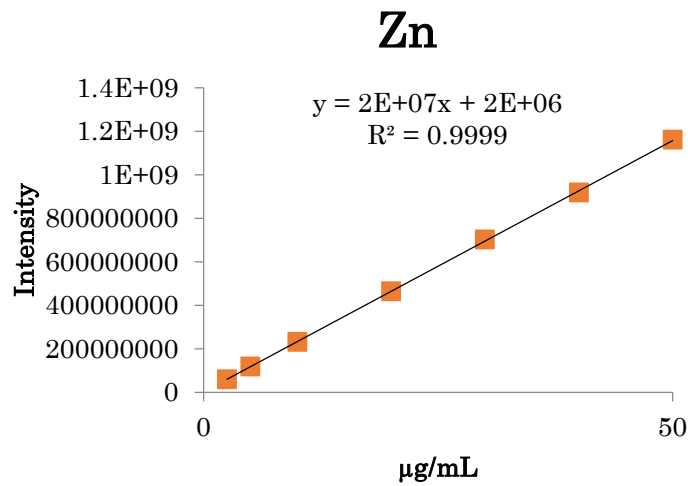
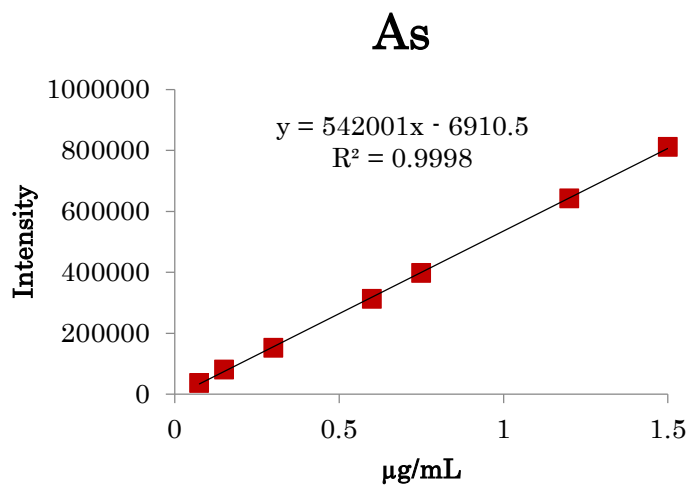
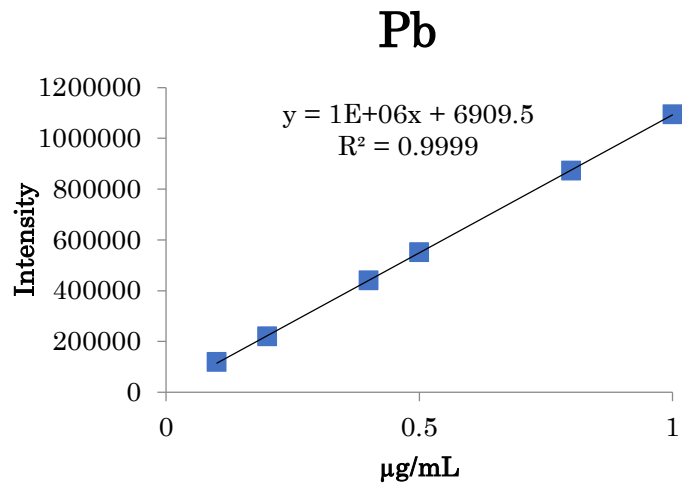


Fig.1 ICP-AESによる鉛、ヒ素及び亜鉛の検量線



Fig.2 鉄共沈法及びキレート固相カートリッジ法



硝酸マグネシウム・エタノール溶液に点火した様子



硫酸を加え 150~500°Cで加熱



500°Cで強熱した後の様子



予備灰化及び乾式灰化を3回繰り返した後の様子

Fig.3 食用赤色3号の灰化操作 (タール色素試験法鉛試験法第2法)



Fig.4 食用赤色3号の灰化後の様子（タール色素試験法ヒ素試験法）

Table 1 鉄共沈法による炭酸水素ナトリウムの鉛及びヒ素の添加回収試験結果  
（蒸発乾固後、硝酸（1→100）溶液又は水に溶解し鉄共沈法を実施）

	Recovery (%)	
	Pb	As
HNO <sub>3</sub> (1→100)	91.7 ± 5.6	75.9 ± 2.9
NaHCO <sub>3</sub>		
water	104.8 ± 7.2	80.7 ± 5.6
	mean±S.D (n=5)	

Table 2 鉄共沈法による炭酸塩類の鉛及びヒ素の添加回収試験結果  
（蒸発乾固後、水に溶解し鉄共沈法を実施）

	Recovery (%)	
	Pb	As
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	100.3 ± 5.8	78.8 ± 5.4
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	98.7 ± 7.4	76.8 ± 4.7
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	94.0 ± 3.7	75.6 ± 3.0
	mean±S.D (n=5)	

Table 3 鉄共沈法による食用赤色3号の鉛、ヒ素及び亜鉛の添加回収試験結果  
(タール色素試験法鉛試験法第2法により試料液調製)

Food Red No.3	Recovery (%)		
	Pb	As	Zn
鉄共沈法	89.8 ± 2.7	72.3 ± 9.0	16.9 ± 1.4
キレート固相カートリッジ	-	-	83.5 ± 2.7
合計回収率	89.8 ± 2.7	72.3 ± 9.0	100.4 ± 1.2

mean±S.D (n=3)