

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）
食品添加物の試験法の検討及び摂取量に基づく安全性確保に向けた研究
令和5年度分担研究報告書

ICPを用いた規格試験法に関する研究
— ICP-OESを用いたヒ素及び鉛試験法の検討 —

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

研究要旨

誘導結合プラズマ発光分光装置を用いた方法（ICP-OES）及び誘導結合プラズマ質量分析装置を用いた方法について、昨年度、海外規格（FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives）や Food Chemicals Codex 13 や、国内規格（第十八改正日本薬局方や日本産業規格（JIS））において、一般試験法での記載状況や、各条の成分規格試験に用いられている記載例について調査を行った。その結果、JIS や海外規格では多くの試薬規格の成分や不純物規格において ICP-OES を用いた試験法が設定されており、JIS では多くの試薬規格で、内標準物質としてイットリウムを使用した内標準法による規格試験法が設定されていることが明らかとなった。

本研究では、JIS で ICP-OES を用いた規格試験法が設定されている試薬品目のうち、第 10 版食品添加物公定書（公定書 10）で成分規格が設定されている添加物品目を対象とし、公定書 10 の各条で規格が設けられている鉛及びヒ素について、内標準法（内標準物質としてイットリウム使用）を用いて、適切な測定波長の検討や、内標準法を用いる場合の適切な内標準濃度を検討した。その結果、測定波長は、As で 189.042 nm、Pb で 220.353 nm、Y で 371.030 nm が最も感度が良く、測定対象元素の強度に合わせ内標準濃度は 0.01 µg/mL とした。亜硫酸ナトリウム、塩化カリウム、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウムを対象とし、異なる試料液濃度で As 及び Pb の添加回収試験を行ったところ、検液中の試料濃度、検量線（内標準法または絶対検量線法）、含まれるマトリックスの違いにより、測定値に与える影響が異なることが明らかとなった。試料液濃度が低くなると、マトリックスの影響は小さくなるが、測定対象元素の濃度も低くなり強度も低くなることから、測定対象元素とマトリックスの種類や濃度によって良好な回収率が得られる場合と得られない場合があった。硫酸マグネシウムについては内標準法であれば、いずれの検液でも As 及び Pb は 70～114% 回収率が得られ、試料を硝酸（1→100）で溶解するのみで、ICP-OES の内標準法で As 及び Pb の分析が可能であると考えられた。また、いずれの品目においても、絶対検量線法では、検液 1～2（試料濃度 0.02～0.04 g/mL）であれば As は 77.8～96.9% の回収率が得られた。一方、Pb では回収率が悪く（21.0～65.3%）、70% 以上の回収率が得られたものは硫酸マグネシウム検液 1（試料濃度 0.02 g/mL）のみであった（71.8%）。今後、良好な回収率が得られなかった品目については、より最適な内標準物質の選択、マトリックスを取り除く前処理法や、標準添加法、測定モードの検討（アキシアル又はラジアル）等の更なる検討が必要であると考えられた。

研究協力者

藤原由美子 国立医薬品食品衛生研究所

研究目的

第10版食品添加物公定書¹⁾(公定書10)¹⁾では、様々な食品添加物の成分規格が収載されており、その多くの食品添加物の純度試験においてヒ素(As)や鉛(Pb)の規格値が設けられている。公定書10では、成分規格試験に用いられる一般的な試験方法が一般試験法の項に示されており、鉛試験法は原子吸光光度計による方法(AAS)、ヒ素試験の吸光度による試験法は水素化物発生装置を用いたAASによる方法が示されている。一方、近年、多元素を一斉に分析する装置として誘導結合プラズマ発光分光装置を用いる方法(ICP-OES)が用いられることも多く、海外規格(FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives²⁾)及びFood Chemicals Codex 13³⁾や、国内規格(第十八改正日本薬局⁴⁾及び日本産業規格(JIS))においても、多くの成分規格試験で使用されており、多元素を同時分析する方法としても期待される。公定書10では、いくつかの各条の成分規格においてICP-OESを用いた試験法が示されているが、試験法として採用されている添加物品目は12品目程度であり、鉛やヒ素以外の元素(鉄、バリウム、アルミニウム等)を対象としている。多くの成分規格に設定されているヒ素(As)や鉛(Pb)の分析には使用されていない。また、多くの無機化合物の添加物品目では、鉛試験法で溶媒抽出法が設定されており、操作の煩雑さや有機溶媒の使用による試

験環境の改善の点から、今後より簡便な方法への改正が望まれる。本研究では、昨年の調査結果を元に、日本産業規格(JIS)の試薬規格において、硝酸溶液で希釈したのみの検液について、ICP-OESを用いた元素分析が設定されている試薬品目のうち、公定書10においても添加物品目として挙げられている異なる無機塩の4品目(亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カリウム、硫酸マグネシウム)についてイットリウム(Y)を内標物質とした内標準法、及び絶対検量線法による、As及びPbの定量方法について検討を行った。

A. 研究方法

1) 対象品目

JIS 試薬規格においてICP-OESを用いた元素分析が設定されている品目のうち公定書10においても添加物品目として挙げられており、As及びPb規格がある品目(亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウム)を対象とした。

2) 試薬・試液

亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カリウム、硫酸マグネシウムはいずれも試薬特級、和光純薬工業製を用いた。As標準液(100 mg/L)、Pb標準液(1000 mg/L)、及びY標準液(原子吸光分析用、1000 mg/L)は富士フイルム和光純薬製を用いた。硝酸(Ultrapur-100、1.42、超高純度試薬)は関東化学製を用いた。水はピュアリーク^ωで生成した超純水を用いた。

硝酸(1→100)：硝酸10 mLに水を加

えて 1 L とした。

3) 標準溶液の調製

Pb 標準溶液 (100 µg/mL) : Pb 標準液 (1000 mg/L) 10 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 100 mL に定容した。

Pb・As 混合標準溶液 (10 µg/mL) : Pb 標準液 (100 µg/mL) 5 mL 及び As 標準液 (100 µg/mL) 5 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

Pb・As 混合標準溶液 (1 µg/mL) : Pb・As 混合標準溶液 (10 µg/mL) 5 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

As・Pb 添加用混合標準溶液 1 : As 標準液 (100 µg/mL) 6 mL 及び Pb 標準液 (100 µg/mL) 4 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

As・Pb 添加用混合標準溶液 2 : ヒ素標準液 (100 µg/mL) 6 mL 及び鉛標準液 (1000 µg/mL) 1 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

内標準溶液 (Y : 100 µg/mL) : Y 標準液 (1000 mg/L) を 5 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

4) 内標準溶液の調製

内標準溶液 (Y : 10 µg/mL) : 内標準液 (Y : 100 µg/mL) 5 mL を正確に採り、硝酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

内標準溶液 (Y : 1 µg/mL) : 内標準液 (Y : 10 µg/mL) 5 mL を正確に採り、硝

酸 (1→100) を加えて 50 mL に定容した。

5) 検量線用 Pb・As 混合標準溶液の調製

Table 1～3 に従い、内標準濃度が異なる検量線用 Pb・As 混合標準溶液 (0.02～1.0 µg/mL) をそれぞれ調製した。

6) 器具・装置

メンブランフィルター (DigiFILTER、0.45 µm、Hydrophilic Tefron®) は GLサイエンス製を用いた。ICP-OES 装置 (iCAP Pro XP Duo 及び ASX-280) は ThermoFisher Scientific 製を用いた。

7) ICP-OES 測定条件

RF パワー : 1150 W、ネブライザーガス流量 : 0.50 L/min、補助ガス流量 : 0.50 L/min、冷却ガス流量 : 12.5 L/min、ポンプスピード : 45 rpm、測定モード : アクシシャル (Aqueous-Axial-iFR)、エクスポージャー時間 : 5 s、測定波長 : As (189.042 nm)、Pb (220.353 nm) Y (360.073 nm 及び 371.030 nm)。

8) 検量線の作成

8)-1 検量線 (内標準法)

検量線用 Pb・As 混合標準溶液につき、ICP-OES により 7) ICP-OES 測定条件に従い、Pb、As 及び Y 各波長における発光スペクトル線の発光強度を測定した。検量線用標準溶液中の Y の発光強度に対する As 及び Pb の発光強度比を求め、検量線を作成した。なお、測定波長の検討では Y (360.073 nm 及び 371.030 nm) それぞれの波長に対しての As 及び Pb の発光強度比を求め、検量線を作成して比較し、添加回収試験では、Y (371.030 nm) に対する As 及び Pb の発光強度比を求め、検量線を作成した。

8)-2 検量線（絶対検量線法）

検量線用 Pb・As 混合標準溶液につき、ICP-OES により 7) ICP-OES 測定条件に従い、As 及び Pb の各波長における発光スペクトル線の発光強度を測定し、検量線を作成した。

9) 定量

検量線用 Pb・As 混合標準溶液、検液につき、ICP-OES により 7) ICP-OES 測定条件に従い、As、Pb、Y の各波長における発光スペクトル線の発光強度を測定し、8) 検量線の作成に従い、検量線（内標準法及び絶対検量線法）をそれぞれ作成した。検液強度から、検量線を用いて検液中の As 及び Pb の濃度を求め、試料中の各元素量を算出した。

10) 添加回収試験

10)-1 無添加検液の調製

試料 2.0 g 採取し、Table 4-1 に従い試料濃度の異なる検液（検液 1~4）を調製し、フィルターろ過したものを無添加検液とした（各品目、検液 1~4 各 n=1 で調製）。

10)-2 添加検液の調製

各品目の試料 2.0 g 採取し、Table 4-2 に従い As・Pb 添加用混合標準溶液 1 または 2 を添加し、30 分放置した後、Table 4-1 に従い検液を調製し、フィルターろ過したものを添加検液とした（各品目、検液 1~4 各 n=3 で調製）。なお、As 及び Pb の添加濃度は、公定書 10 の各品目の成分規格各条で設定されている規格値相当を添加した（塩化カルシウム、炭酸カリウム及び硫酸マグネシウム：As 3 µg/g 及び Pb 2 µg/g 相当、亜硫酸ナトリウム：As 3 µg/g 及び Pb 5 µg/g 相当）。

10)-3 回収率の算出

検量線用 Pb・As 混合標準溶液、無添加検液及び添加検液につき、9) 定量に従い各検液中の As 及び Pb の濃度を求め、各試料中の各元素量を算出し、回収率を求めた。

（倫理面への配慮）

本研究は、倫理面にかかわる事項はない。

B. 研究結果及び考察

1) JIS 規格の各品目の ICP-OES 条件調査

亜硫酸ナトリウム（JIS K8061⁵⁾）、塩化カルシウム（JIS K8123⁶⁾）、炭酸カリウム（JIS K8615⁷⁾）、硫酸マグネシウム（JIS K8995⁸⁾）の JIS 試薬規格の各条を参考に、各条での ICP-OES 分析対象の規格及び標準溶液の濃度や内標準溶液濃度等の条件について Table 5~7 にまとめた。その結果、いずれも鉛は ICP-OES の分析対象となっていたが、ヒ素は ICP-OES の分析対象外であった。今回挙げた試薬品目のうち 3 品目（亜硫酸ナトリウム、炭酸カリウム、硫酸マグネシウム）は Y を内標準物質とした内標準溶液を用いた方法が設定されており、Pb に関しては、規格値相当の Pb が含まれていた場合と同じ濃度となる標準溶液濃度とその濃度における内標準溶液濃度を比較すると、内標準濃度は標準溶液の測定対象元素濃度の 5~10 倍であった。一方、塩化カルシウムでは、試料に標準溶液を添加する標準添加法が設定されていた。いずれの品目も試料を酸分解や抽出する等の前処理操作はなく、いずれも硝酸溶液などで溶解した後、ICP-OES を用いて

元素分析する方法が設定されていた。以上の情報から、試料を硝酸溶液で溶解した液を ICP-OES で分析することが可能であると考え、今回は対象のすべての品目について、公定書の As 及び Pb を規格値相当添加した場合に、試料を硝酸 (1→100) で溶解した検液を用いて、Y を内標準物質とした内標準法及び絶対検量線法による ICP-OES で As 及び Pb が分析可能か検討した。

2) 測定波長の検討

測定波長については As、Pb 及び Y の強度の高い波長 (As : 449.423 nm、189.042 nm 及び 193.759 nm、Pb : 220.353 nm、216.999 nm 及び 261.418 nm、Y : 324.228 nm、360.073 nm 及び 371.030 nm) でブランク溶液 (硝酸 (1→100)、内標準 (Y) 濃度 0.01 µg/mL)、As・Pb 混合標準溶液 (As 及び Pb 0.05 µg/mL、内標準 (Y) 濃度 0.01 µg/mL) 及び各品目の添加試料の検液 1 (試料濃度 0.02 g/mL) についてそれぞれ測定し、得られた強度から選択することとした。Fig. 1~6 に示すように、As は 189.042 nm の感度が高かった。Pb はいずれの品目も 220.353 nm の感度が高かった。Y はいずれの品目も 371.030 nm の感度が高かった。JIS 試薬規格 (亜硫酸ナトリウム (JIS K8061⁵⁾) 及び炭酸カリウム (JIS K8615⁷⁾) では Y の測定波長は 360.074 nm (Table 5 及び 7) であり、硫酸マグネシウム (JIS K8995⁸⁾) で 371.029 nm であったため (Table 8)、Y については JIS で設定された波長付近で、本装置で最も感度が高かった 360.073 nm 及び 371.030 nm で測定することと

した。

3) 検量線 (内標準法) 及び内標準濃度の検討

Table 1~3 に従い調製した異なる内標準 (Y) 濃度の As・Pb 混合標準溶液を用いて、内標準法により検量線をそれぞれ作成した (Fig.7)。なお、Fig. 7 で As 189.042/371.030 と示したものは Y (371.030 nm) の強度に対して As (189.042 nm) の強度比から求めた検量線を示している。その他も同様に Y の 2 波長 (371.030 nm 及び 360.073 nm) でのそれぞれの強度に対する強度比から検量線を作成した。その結果、Fig.7 (A)~(C) に示すように、いずれの内標準 (Y) 濃度 (0.01、0.1 及び 1 µg/mL) においても As 及び Pb 0.02~1.0 µg/mL の範囲で $R^2 > 0.999$ 以上の良好な直線性が得られた。また、各検量点におけるばらつきは、Fig.8 に示すように、内標準 (Y) 濃度 0.01 µg/mL における As 0.02 µg/mL での強度 (As 189.042/Y 371.030 及び As 189.042/Y 360.073) の $n=3$ での相対標準偏差 (RSD) が、それぞれ 9.7%、10.9%、8.3% 及び 8.2%、内標準 (Y) 濃度 0.1 µg/mL における As 0.05 µg/mL (As 189.042/Y 371.030 及び As 189.042/Y 360.073) の RSD は、それぞれ 5.8% 及び 5.4% とばらつきが大きかった。その他の濃度における RSD はいずれも 5% 未満であり、内標準 (Y) 濃度によるばらつきの違いや、Y の波長 (371.030 nm 及び 360.073 nm) の違いによるばらつきの相違は見られなかった。一方で、内標準 (Y) 濃度における Y の強度は 0.01 µg/mL で約 460 cps、0.1 µg/mL で約 4400 cps、

1 µg/mL で約 44000 cps であるのに対し、As・Pb 混合標準溶液 (0.02~1.0 µg/mL) 中の As の強度は約 5~250 cps (189.042 nm)、Pb の強度は約 20~800 cps (220.353 nm) であったことから、測定対象元素の強度に近い内標準 (Y) 濃度として 0.01 µg/mL を用いることとし、Y の測定波長はより感度のよい 370.030 nm を選択することとした。

4) 検量線 (絶対検量線)

As・Pb 混合標準溶液 (0.02~1.0 µg/mL) を用いて検量線を作成したところ、0.02~1.0 µg/mL の範囲で良好な直線性 ($R^2 > 0.999$) が得られた (Fig. 9)。

5) 添加回収試験

ICP-OES で定量にあたって誤差を生じる原因となる干渉としては 4 種類 (物理干渉、化学干渉、イオン化干渉、分光干渉) が考えられるが、物理干渉は試験溶液の噴霧、輸送過程において、塩類や主成分元素濃度が高い場合に起こると言われている⁹⁾。物理干渉が起こる場合の対処法としては、希釈して干渉のない範囲で測定することが最も簡便な対処法と言える。そこで、検液中のマトリックスの濃度が As 及び Pb の測定に影響があるかを確かめるため、各対象品目について、As 及び Pb をそれぞれ規格値相当添加し、異なる試料濃度となるよう硝酸 (1→100) で溶かし、添加検液 (内標準 (Y) 濃度はいずれも 0.01 µg/mL) を作成し、

4)-1 亜硫酸ナトリウム

無添加試料からはいずれの検液からも As 及び Pb は検出されなかった。内標準法においては、Table 9 に示すように、添加試料では、いずれの検液においても As で 133.7~141.5% の高い回収率が得られ、Pb では 58.7~65.1% と低い回収率が得られた。絶対検量線法では、Table 10 に示すように、検液 2 (0.04 g/mL) で 77.8%、検液 1 (0.02 g/mL) で 93.6% と良好であったが、検液 3 (0.08 g/mL) 及び検液 4 (0.2 g/mL) では 65.5% 及び 46.8% と回収率は低かった。Pb ではいずれの検液においても回収率が 36.9% 以下と低かった。以上の結果から、絶対検量線法の検液 1 (0.02 g/mL) 及び検液 2 (0.04 g/mL) の As 以外では、回収率が低く、試料由来のマトリックスの影響が大きく内標準法でも補正することが困難であると考えられた (Table 9)。

4)-2 塩化カルシウム

無添加試料からはいずれの検液においても As 及び Pb は検出されなかった。内標準法では、Table 11 に示すように、添加試料では、As では検液 1 (0.02 g/mL) で回収率 104.0%、検液 2 (0.04 g/mL) で 95.1%、検液 3 (0.08 g/mL) で 88.8% と良好な回収率が得られた。一方、検液 4 (0.2 g/mL) では回収率 66.8% と低かった。また、Pb では検液 1 (0.02 g/mL) では回収率 72.7% であったが、その他の試料液濃度では 39.1~67.6% と回収率は低かった。絶対検量線法では、Table 12 に示すように、添加試料では、As では検液 1 (0.02 g/mL) で回収率 91.3%、0.04 g/mL で 82.2%、0.08 g/mL で 70.6% と良好な回収率が得られた。一方、検液 4

(0.2 g/mL) では回収率 53.0%と低かった。また、Pb ではいずれの検液中の試料濃度においても 30.1~63.9%と回収率は低かった。以上の結果から、塩化カルシウムでは内標準法及び絶対検量線法で As は検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) では 70.6%以上の良好な回収率が得られ、マトリックスの影響も少ないと考えられた。一方、Pb は内標準法で検液 1 (0.02 g/mL) では 70%以上の回収率が得られたが、それ以上の濃度ではマトリックスの影響が大きくいずれの方法でも回収率が低くなったと考えられた。

4)-3 炭酸カリウム

無添加試料からはいずれの検液においても As 及び Pb は検出されなかった。内標準法では、Table 13 に示すように、添加試料では、As では検液 2 (0.04 g/mL) では回収率 113.5%であったが検液 1 (0.02 g/mL)、検液 3 (0.08 g/mL) 及び検液 4 (0.2 g/mL) では 147.3%、123.4% 及び 138.9% と 120%を超える回収率が得られた。Pb では検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で 72.4~77.5%の回収率が得られたが、検液 4 (0.2 g/mL) では 67.5%と回収率 70%を下回った。一方絶対検量線法では、Table 14 に示すように、As では検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で 79.9~96.9%と良好な結果が得られたのに対し、Pb ではいずれの検液でも 58.4%以下の回収率しか得られなかった。以上の結果から、炭酸カリウムでは内標準法で検液 2 (0.04 g/mL) であれば、As 及び Pb の回収率は 70~120%となり、絶対検量線法であれば、検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) であれば As

の回収率はおよそ 80%以上であり、概ね良好な結果が得られることが明らかとなった。

4)-4 硫酸マグネシウム

無添加試料からはいずれの試料濃度においても As 及び Pb は検出されなかった。内標準法では、Table 15 に示すように、添加試料では、As ではいずれの試料液濃度においても回収率 105.6~114.0%であり、良好な結果が得られた。Pb では検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で 77.0~83.9%の回収率が得られたが、0.2 g/mL では 69.9%であった。絶対検量線法では Table 16 に示すように、As ではいずれの試料液濃度においても回収率 70.8~92.8%であり、良好な結果が得られた。Pb では検液 1 (0.02 g/mL) で 71.8%の回収率が得られたが、それ以外の検液では 65.3%以下となった。以上の結果から、硫酸マグネシウムでは内標準法で、検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で As 及び Pb の回収率は 70~120%となり概ね良好な結果が得られることが明らかとなった。

D. 結論

JIS 試薬規格において、前処理なく調製した検液について ICP-OES を用いた元素分析が設定されている異なる無機塩で、添加物でもある 4 品目 (亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カリウム及び硫酸マグネシウム) について、ICP-OES を用いた内標準法及び絶対検量線法による As 及び Pb の定量法について検討した。内標準法において As、Pb 及び Y の最適な測定波長

及び内標準 (Y) 濃度を検討したところ、As は 189.042 nm、Pb は 220.353 nm、Y は 370.030 nm での感度が良好であった。また、測定対象の As や Pb の強度を考慮し、内標準 (Y) 濃度は 0.01 µg/mL を用いることとした。亜硫酸ナトリウム、塩化カルシウム、炭酸カリウム及び硫酸マグネシウムについて、規格値相当の As 及び Pb の添加回収試験を異なる試料濃度の検液 1~4 (0.02~0.2 g/mL) を用いて行った。その結果、内標準法では亜硫酸ナトリウムではいずれの検液でも回収率 70%未滿または 130%以上の結果が得られ、マトリックスの影響が大きかった。塩化カルシウムでは検液 1 (0.02 g/mL) での回収率が As で 104.0%、Pb で 72.7% と良好な結果が得られたが、検液中の試料濃度が濃くなるにつれて回収率が低くなった (検液 4 (0.2 g/mL) で As 66.8%、Pb 39.1%)。炭酸カリウムでは、検液 2 (0.04 g/mL) で As 113.5%、Pb 77.5% と良好な結果が得られたが、その他の検液では、As では回収率 120%以上、Pb で 67.5~72.7%であった。硫酸マグネシウムでは検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) で As 105.6~107.1%、Pb 77.0~83.9% と良好な結果が得られた。なお、いずれの無添加試料からも As 及び Pb は検出されなかった。また絶対検量線法では、亜硫酸ナトリウムの検液 1 及び 2 (0.02 及び 0.04 g/mL) 及び炭酸カリウムの検液 1~3 (0.02~0.08 g/mL) において As で内標準法より良好な回収率が得られたものの、Pb では硫酸マグネシウムの検液 1

(0.02 g/mL) での 71.8%以外、いずれの品目、検液でも回収率は 65.3%以下と低かった。

以上の結果から、検液中の試料濃度、検量線 (内標準法または絶対検量線法)、含まれるマトリックスの違いにより、測定値に与える影響が異なることが明らかとなった。試料濃度が低くなると、マトリックスの影響は小さくなるが、測定対象元素の濃度も低くなり強度も低くなることから、測定対象元素とマトリックスの種類や濃度によって良好な回収率が得られる場合と得られない場合があった。硫酸マグネシウムについては内標準法であれば、いずれの試料濃度の検液でも 70~114%回収率が得られ、試料を硝酸 (1→100) で溶解するのみで、ICP-OESの内標準法で As 及び Pb の分析が可能であると考えられた。また、絶対検量線法では、検液 1 及び 2 (0.02 及び 0.04 g/mL) であれば 77.8~96.9%の回収率が得られた。一方、Pb では回収率が悪く (21.0~65.3%)、70%以上の回収率が得られた者は硫酸マグネシウムの検液 1 (0.02 g/mL) のみであった (71.8%)。今後、良好な回収率が得られなかった品目については、マトリックスを取り除く前処理法や、標準添加法、測定モードの検討 (アキシヤル又はラジアル) 等の更なる検討が必要であると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表

- 1) 建部千絵、藤原由美子、久保田浩樹、多田敦子、杉本直樹：アルギン酸の硫酸塩試験法に関する検討、日本食品化学学会 第 29 回 総会・学術大会 (2023.6.9) (富山) (2020)
- 2) 建部千絵、藤原由美子、久保田浩樹、多田敦子、杉本直樹：qNMR を用いた食用タール色素成分規格で使用される不純物定量用試薬の純度測定、第 5 回日本定量 NMR 研究会年会 (2023.12.1) (川崎)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 参考文献

- 1) 第 10 版食品添加物公定書
<https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/001208056.pdf>
- 2) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive, COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS, FAO , vol.4 (2006).
- 3) Food Chemicals Codex, 13th Edition, USP, (2022).
- 4) 第十八改正日本薬局方
<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0192.html>
- 5) JIS K8061 亜硫酸ナトリウム
- 6) JIS K8123 塩化カルシウム
- 7) JIS K8615 炭酸カリウム
- 8) JIS K8995 硫酸マグネシウム
- 9) 衛生試験法注解, 金原出版株式会社

Table 4-1 各無添加検液の調製方法

	検液1	検液2	検液3	検液4
試料採取量 (g)	2.0	2.0	2.0	2.0
定容量 (mL)	100	50	25	10
検液中の試料濃度 (g/mL)	0.02	0.04	0.08	0.2
内標準溶液中の内標準濃度 (μg/mL)	2	1	0.5	0.2
内標準溶液添加量 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5
検液中の内標準濃度 (μg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01

Table 4-2 各添加検液の調製方法

対象品目：塩化カルシウム、炭酸カリウム、硫酸マグネシウム				
	検液1	検液2	検液3	検液4
試料採取量 (g)	2.0	2.0	2.0	2.0
定容量 (mL)	100	50	25	10
検液中の試料濃度 (g/mL)	0.02	0.04	0.08	0.2
内標準溶液中の内標準濃度 (μg/mL)	2	1	0.5	0.2
内標準溶液添加量 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5
検液中の内標準濃度 (μg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01
As・Pb添加用混合標準溶液1の添加量 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5
試料中のAs濃度 (μg/g)	3	3	3	3
試料中のPb濃度 (μg/g)	2	2	2	2
対象品目：亜硫酸ナトリウム				
	検液1	検液2	検液3	検液4
試料採取量 (g)	2.0	2.0	2.0	2.0
定容量 (mL)	100	50	25	10
検液中の試料濃度 (g/mL)	0.02	0.04	0.08	0.2
内標準溶液中の内標準濃度 (μg/mL)	2	1	0.5	0.2
内標準溶液添加量 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5
検液中の内標準濃度 (μg/mL)	0.01	0.01	0.01	0.01
As・Pb添加用混合標準溶液2の添加量 (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5
試料中のAs濃度 (μg/g)	3	3	3	3
試料中のPb濃度 (μg/g)	5	5	5	5

Table 5 JIS 8061 亜硫酸ナトリウムにおける ICP-OES 条件、標準溶液濃度、内標準濃度

元素	規格値		測定波長 (nm)	標準溶液 濃度 mg/mL	標準溶液添加量 (mL)				メスアップ (mL)	標準溶液中の測定元素または内標準濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				試料調製方法		試料溶液 濃度 g/mL
	%	$\mu\text{g/g}$			Y10	Y11	Y12	Y13		50	Y10	Y11	Y12	Y13	試料 (g)	
Cu		5	327.754	0.01	0	0.25	0.5	1	50	0	0.05	0.1	0.2	1	50	0.02
Ca	0.01	100	396.847	0.1	0	0.5	1	2	50	0	1	2	4			
Zn		5	213.857	0.01	0	0.25	0.5	1	50	0	0.05	0.1	0.2			
Pb	0.001	10	220.353	0.01	0	0.5	1	2	50	0	0.1	0.2	0.4			
Fe	0.001	10	238.204	0.01	0	0.5	1	2	50	0	0.1	0.2	0.4			
Y			360.074	1	0.05	0.05	0.05	0.05	50	1	1	1	1			

Table 6 JIS K8123 塩化カルシウムにおける ICP-OES 条件、標準溶液濃度、内標準濃度

元素	規格値		測定波長 (nm)	標準溶液 濃度 mg/mL	試料量 (g)	標準溶液添加量 (mL)			メスアップ (mL)	標準溶液濃度 ($\mu\text{g/mL}$)			標準溶液濃度 ($\mu\text{g/g}$)		
	%	$\mu\text{g/g}$				Y1	Y2	Y3		50	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2
Cu		2	327.396	0.01	5	0.5	1	2	100	0.05	0.1	0.2	1	2	4
Pb		5	220.351	0.01	5	1	2.5	5	100	0.1	0.25	0.5	2	5	10
Fe		2	259.94	0.01	5	0.5	1	2	100	0.05	0.1	0.2	1	2	4
Mg	0.01	100	279.553	0.01	0.5	2.5	5	10	100	0.25	0.5	1	50	100	200
Sr	0.01	100	407.771	0.01	0.5	2.5	5	10	100	0.25	0.5	1	50	100	200
Ba	0.006	60	455.404	0.01	0.5	1.5	3	5	100	0.15	0.3	0.5	30	60	100

Table 7 JIS K8615 炭酸カリウムにおける ICP-OES 条件、標準溶液濃度、内標準濃度

元素	規格値		測定波長 (nm)	標準溶液 濃度 mg/mL	標準溶液添加量 (mL)				メスアップ (mL)	標準溶液中の測定元素または内標準濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				試料調製方法		試料溶液 濃度 g/mL
	%	$\mu\text{g/g}$			Y1	Y2	Y3	Y4		50	Y1	Y2	Y3	Y4	試料 (g)	
Cu		5	213.598	0.01	0	0.25	0.5	1	100	0	0.025	0.05	0.1	1	100	0.01
Mg		5	279.553	0.01	0	0.25	0.5	1	100	0	0.025	0.05	0.1			
Ca	0.001	10	396.847	0.01	0	0.5	1	2	100	0	0.05	0.1	0.2			
Zn		2	213.857	0.01	0	0.1	0.2	0.4	100	0	0.01	0.02	0.04			
Pb		5	220.353	0.01	0	0.25	0.5	1	100	0	0.025	0.05	0.1			
Fe		5	238.204	0.01	0	0.25	0.5	1	100	0	0.025	0.05	0.1			
Y			360.074	1	0.05	0.05	0.05	0.05	100	0.5	0.5	0.5	0.5			
In			325.609	1	0.05	0.05	0.05	0.05	100	0.5	0.5	0.5	0.5			

Table 8 JIS K8995 硫酸マグネシウムにおける ICP-OES 条件、標準溶液濃度、内標準濃度

元素	規格値		測定波長 (nm)	標準溶液 濃度 mg/mL	標準溶液添加量 (mL)					メスアップ (mL)	標準溶液中の測定元素または内標準濃度 ($\mu\text{g/mL}$)					試料調製方法		試料溶液 濃度 g/mL
	%	$\mu\text{g/g}$			Y10	Y11	Y12	Y13	Y14		50	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	試料 (g)	
Ca	0.02	200	396.847	0.1	0	0.03	0.05	0.1	1	50	0	0.06	0.1	0.2	2	1	50	0.02
Zn	0.001	10	213.857	0.1	0	0.03	0.05	0.1	1	50	0	0.06	0.1	0.2	2			
Mn		5	257.61	0.1	0	0.03	0.05	0.1	1	50	0	0.06	0.1	0.2	2			
Pb		5	220.353	0.1	0	0.03	0.05	0.1	1	50	0	0.06	0.1	0.2	2			
Fe		3	238.204	0.1	0	0.03	0.05	0.1	1	50	0	0.06	0.1	0.2	2			
Y			371.029	1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	50	1	1	1	1	1			

Table 9 ICP-OES（内標準法）による異なる試料濃度の検液を用いた亜硫酸ナトリウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Y conc (µg/mL)	As				Pb			
			Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	0.01	3	0.086	0.085	141.5	5	0.062	0.059	58.7
				0.083				0.056		
				0.086				0.058		
2	0.04	0.01	3	0.17	0.16	136.0	5	0.12	0.12	59.0
				0.17				0.12		
				0.16				0.12		
3	0.08	0.01	3	0.32	0.32	133.7	5	0.25	0.26	65.1
				0.32				0.25		
				0.32				0.28		
4	0.2	0.01	3	0.82	0.82	136.4	5	0.60	0.62	62.1
				0.80				0.60		
				0.84				0.66		

*検液 1~4 の調製方法は Table 4-2 参照

Table 10 ICP-OES（絶対検量線法）による異なる試料濃度の検液を用いた亜硫酸ナトリウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Spiked level (µg/g)	As			Pb			
			Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	3	0.057	0.056	93.6	5	0.039	0.037	36.9
			0.055				0.035		
			0.056				0.036		
2	0.04	3	0.09	0.09	77.8	5	0.07	0.07	32.7
			0.10				0.06		
			0.09				0.06		
3	0.08	3	0.16	0.16	65.5	5	0.12	0.13	31.3
			0.16				0.12		
			0.16				0.14		
4	0.2	3	0.28	0.28	46.8	5	0.20	0.21	21.0
			0.28				0.21		
			0.28				0.22		

*検液 1~4 の調製方法は Table 4-2 参照

Table 11 ICP-OES（内標準法）による異なる試料濃度の検液を用いた塩化カルシウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Y conc (µg/mL)	As				Pb			
			Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	0.01	3	0.090 0.087 0.088	0.088	147.3	2	0.030 0.028 0.029	0.029	72.7
2	0.04	0.01	3	0.13 0.14 0.13	0.14	113.5	2	0.061 0.063 0.062	0.062	77.5
3	0.08	0.01	3	0.30 0.29 0.30	0.30	123.4	2	0.12 0.12 0.12	0.12	72.4
4	0.2	0.01	3	0.84 0.84 0.83	0.83	138.9	2	0.27 0.27 0.27	0.27	67.5

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

Table 12 ICP-OES（絶対検量線法）による異なる試料濃度の検液を用いた塩化カルシウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Spiked level (µg/g)	As			Pb			
			Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	3	0.056 0.054 0.054	0.055	91.3	2	0.027 0.025 0.025	0.026	63.9
2	0.04	3	0.10 0.10 0.10	0.10	82.2	2	0.05 0.05 0.05	0.05	57.4
3	0.08	3	0.17 0.17 0.17	0.17	70.6	2	0.07 0.07 0.07	0.07	45.9
4	0.2	3	0.32 0.32 0.31	0.32	53.0	2	0.12 0.12 0.12	0.12	30.1

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

Table 13 ICP-OES（内標準法）による異なる試料濃度の検液を用いた炭酸カリウム中の As 及び Pb の添加回収試験

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Y conc (µg/mL)	As				Pb			
			Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	0.01	3	0.090	0.088	147.3	2	0.030	0.029	72.7
				0.087				0.028		
				0.088				0.029		
2	0.04	0.01	3	0.13	0.14	113.5	2	0.061	0.062	77.5
				0.14				0.063		
				0.13				0.062		
3	0.08	0.01	3	0.30	0.30	123.4	2	0.12	0.12	72.4
				0.29				0.12		
				0.30				0.12		
4	0.2	0.01	3	0.84	0.83	138.9	2	0.27	0.27	67.5
				0.84				0.27		
				0.83				0.27		

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

Table 14 ICP-OES（絶対検量線法）による異なる試料濃度の検液を用いた炭酸カリウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Spiked level (µg/g)	As			Pb			
			Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	3	0.057	0.058	96.9	2	0.020	0.022	54.5
			0.058				0.022		
			0.060				0.023		
2	0.04	3	0.10	0.10	84.0	2	0.05	0.05	58.4
			0.10				0.05		
			0.10				0.05		
3	0.08	3	0.19	0.19	79.9	2	0.08	0.08	47.4
			0.19				0.08		
			0.19				0.08		
4	0.2	3	0.39	0.38	63.8	2	0.12	0.12	31.1
			0.38				0.12		
			0.38				0.12		

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

Table 15 ICP-OES（内標準法）による異なる試料濃度の検液を用いた硫酸マグネシウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Y conc (µg/mL)	As				Pb			
			Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Mean value (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	0.01	3	0.067	0.064	107.1	2	0.035	0.034	83.9
				0.064				0.033		
				0.062				0.033		
2	0.04	0.01	3	0.13	0.13	105.6	2	0.06	0.06	79.7
				0.12				0.06		
				0.13				0.06		
3	0.08	0.01	3	0.26	0.26	106.4	2	0.12	0.12	77.0
				0.25				0.12		
				0.25				0.12		
4	0.2	0.01	3	0.67	0.68	114.0	2	0.27	0.28	69.9
				0.69				0.28		
				0.69				0.28		

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

Table 16 ICP-OES（絶対検量線法）による異なる試料濃度の検液を用いた硫酸マグネシウム中の As 及び Pb の添加回収試験結果

Test solution*	Sample conc. (g/mL)	Spiked level (µg/g)	As			Pb			
			Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)	Spiked level (µg/g)	Conc. (µg/mL)	Average (µg/mL)	Recovery (%)
1	0.02	3	0.058	0.056	92.8	2	0.030	0.029	71.8
			0.056				0.028		
			0.054				0.028		
2	0.04	3	0.11	0.10	87.4	2	0.05	0.05	65.3
			0.10				0.05		
			0.11				0.05		
3	0.08	3	0.19	0.19	80.0	2	0.09	0.09	57.5
			0.19				0.09		
			0.19				0.09		
4	0.2	3	0.41	0.42	70.8	2	0.17	0.17	43.2
			0.43				0.18		
			0.43				0.18		

*検液 1~4 の調製方法は 4-2 参照

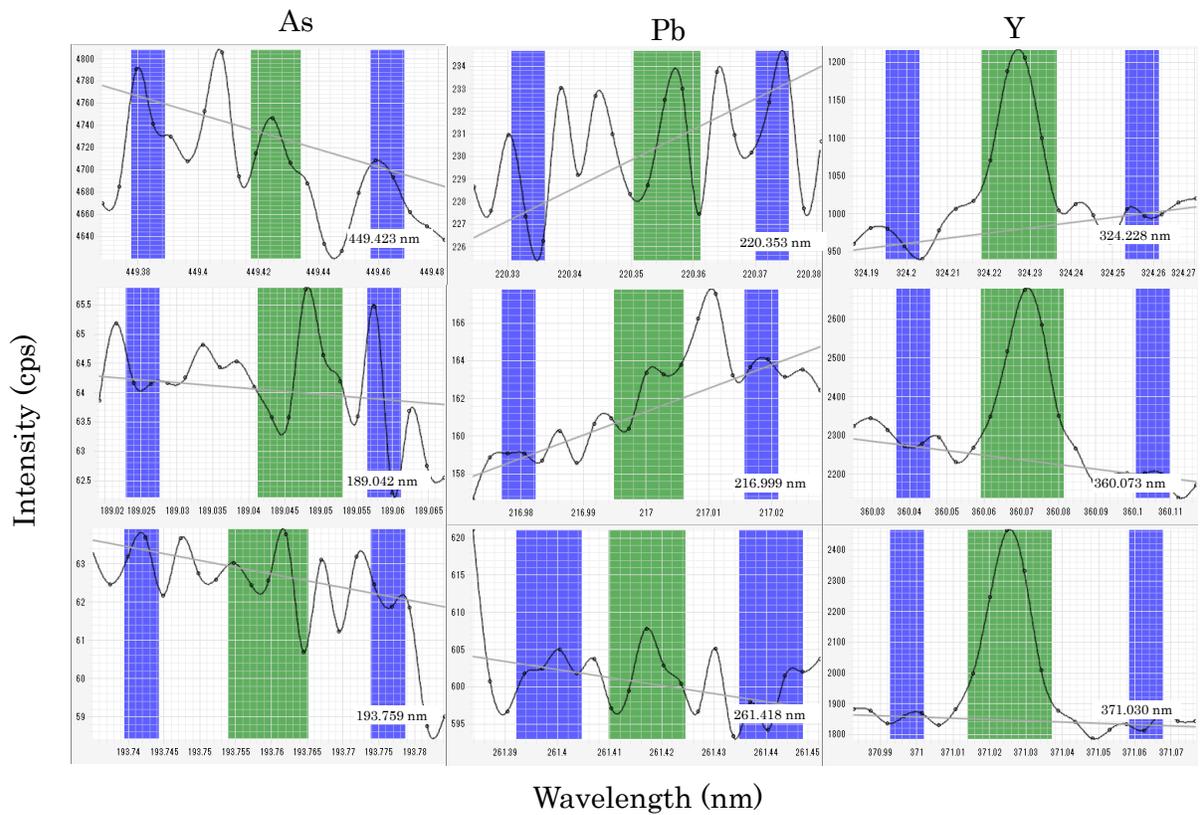


Fig. 1 硝酸 (1→100) (内標準 (Y) 濃度 0.01 $\mu\text{g/mL}$) の波長スペクトル

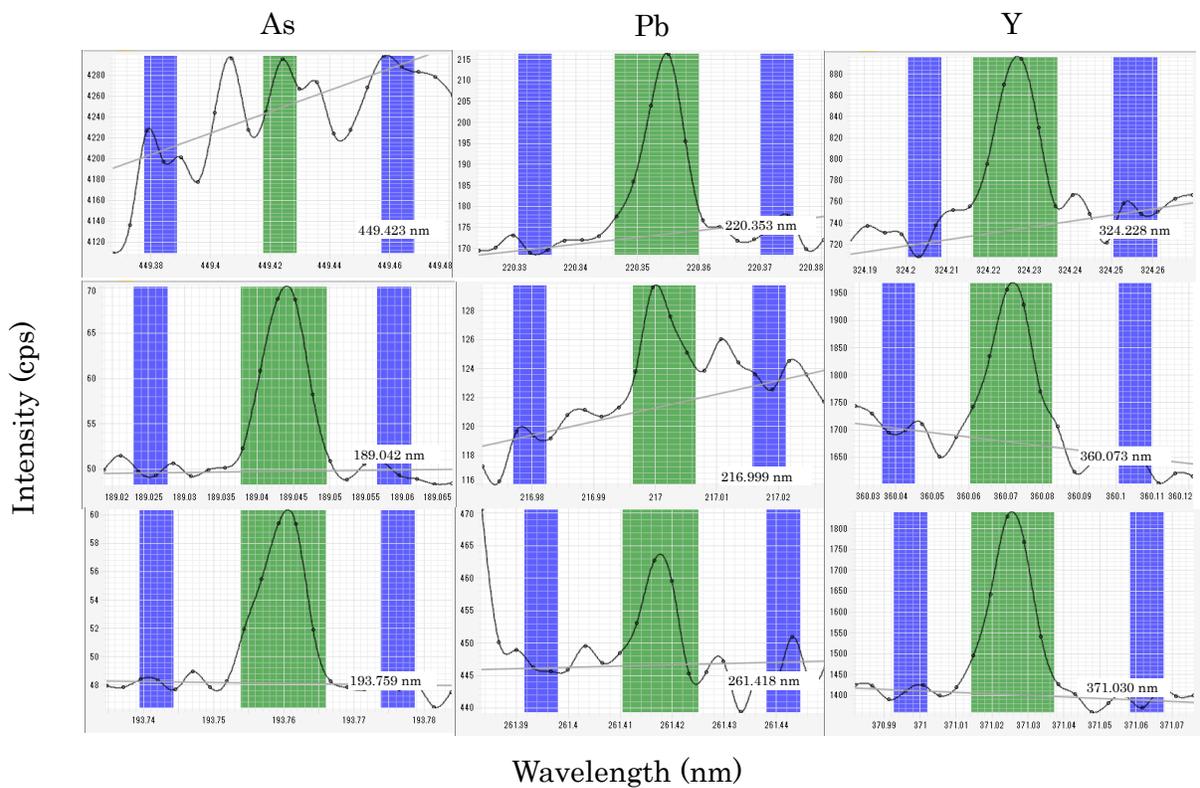


Fig. 2 As・Pb 混合標準溶液 (内標準 (Y) 濃度 0.01 $\mu\text{g/mL}$) の波長スペクトル

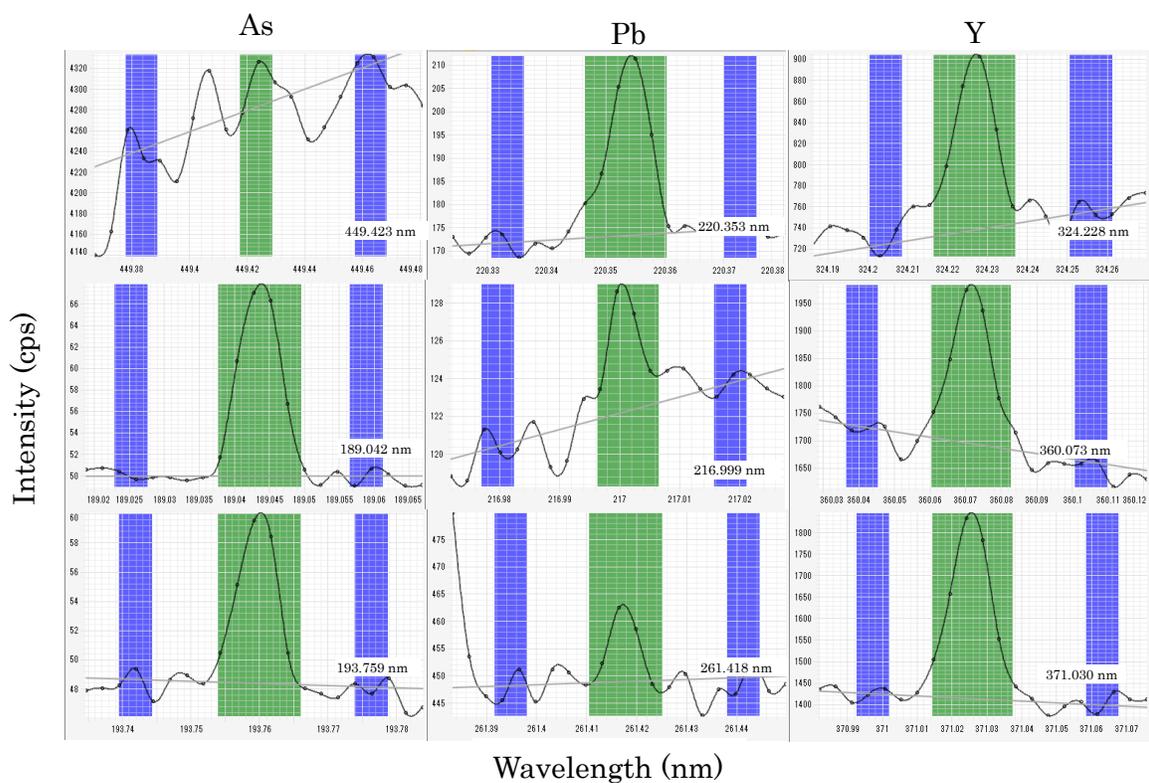


Fig. 3 亜硫酸ナトリウム As・Pb 添加検液 1 (試料濃度 : 0.02 mg/mL、As 3 μ g/g、Pb 5 μ g/g 相当添加、内標準 (Y) 濃度 0.01 μ g/mL) 中の As、Pb 及び Y の波長スペクトル

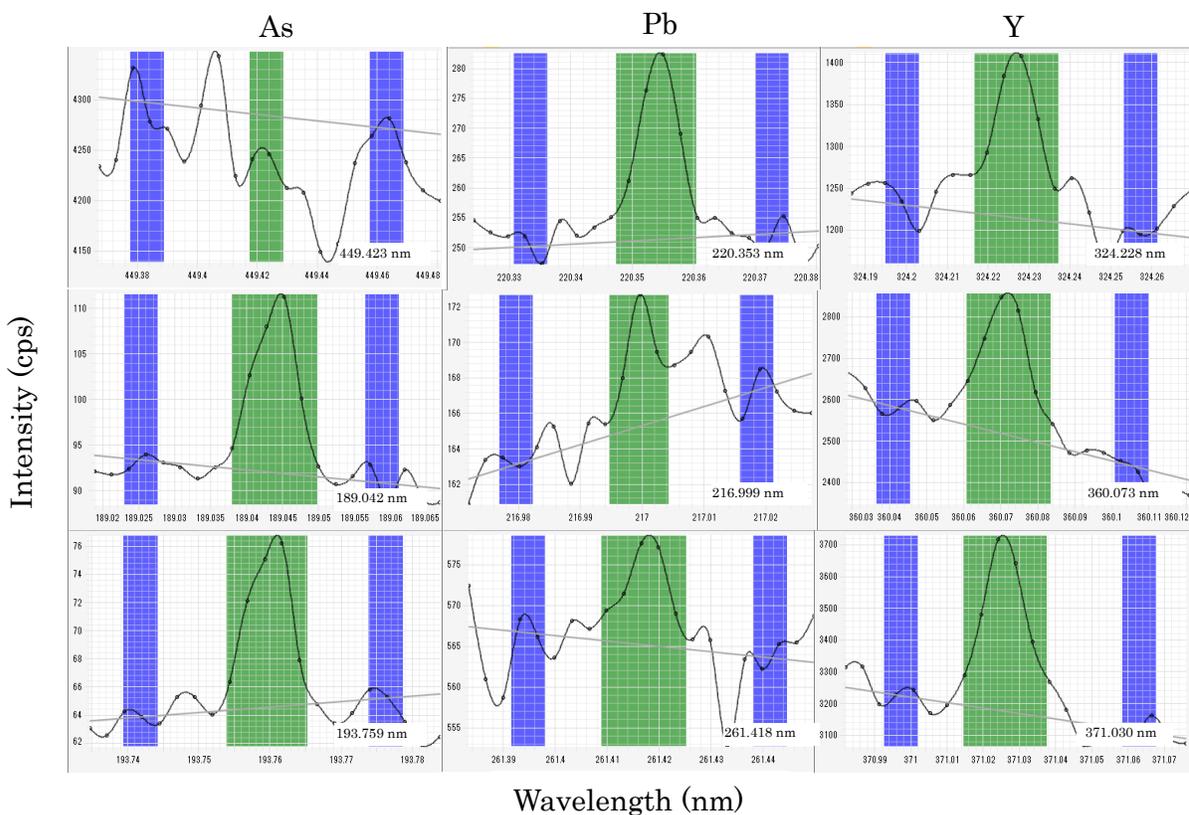


Fig. 4 塩化カルシウム As・Pb 添加検液 1 (試料濃度 : 0.02 mg/mL、As 3 μ g/g、Pb 2 μ g/g 相当添加、内標準 (Y) 濃度 0.01 μ g/mL) 中の As、Pb 及び Y の波長スペクトル

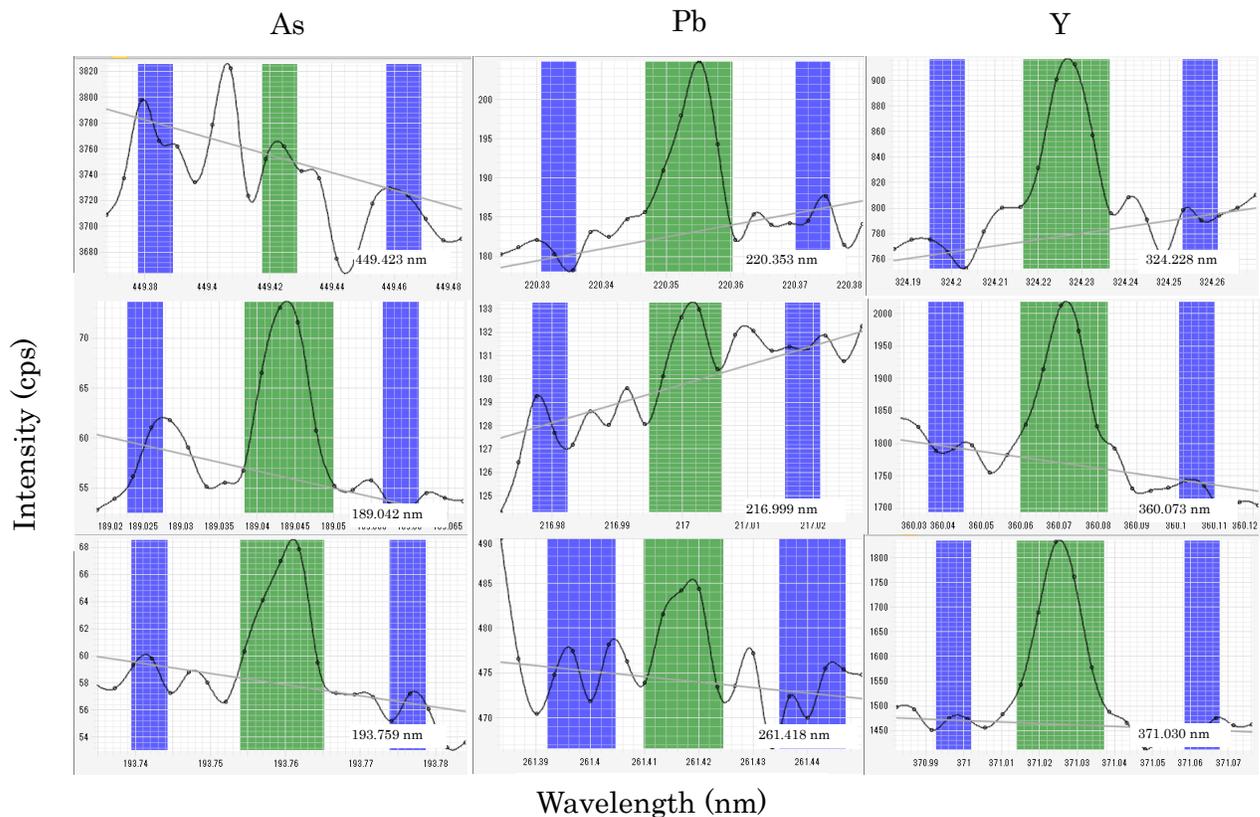


Fig. 5 炭酸カリウム As・Pb 添加検液 1 ((試料濃度 : 0.02 mg/mL、As 3 μ g/g、Pb 2 μ g/g 相当添加、内標準 (Y) 濃度 0.01 μ g/mL) 中の As、Pb 及び Y の波長スペクトル

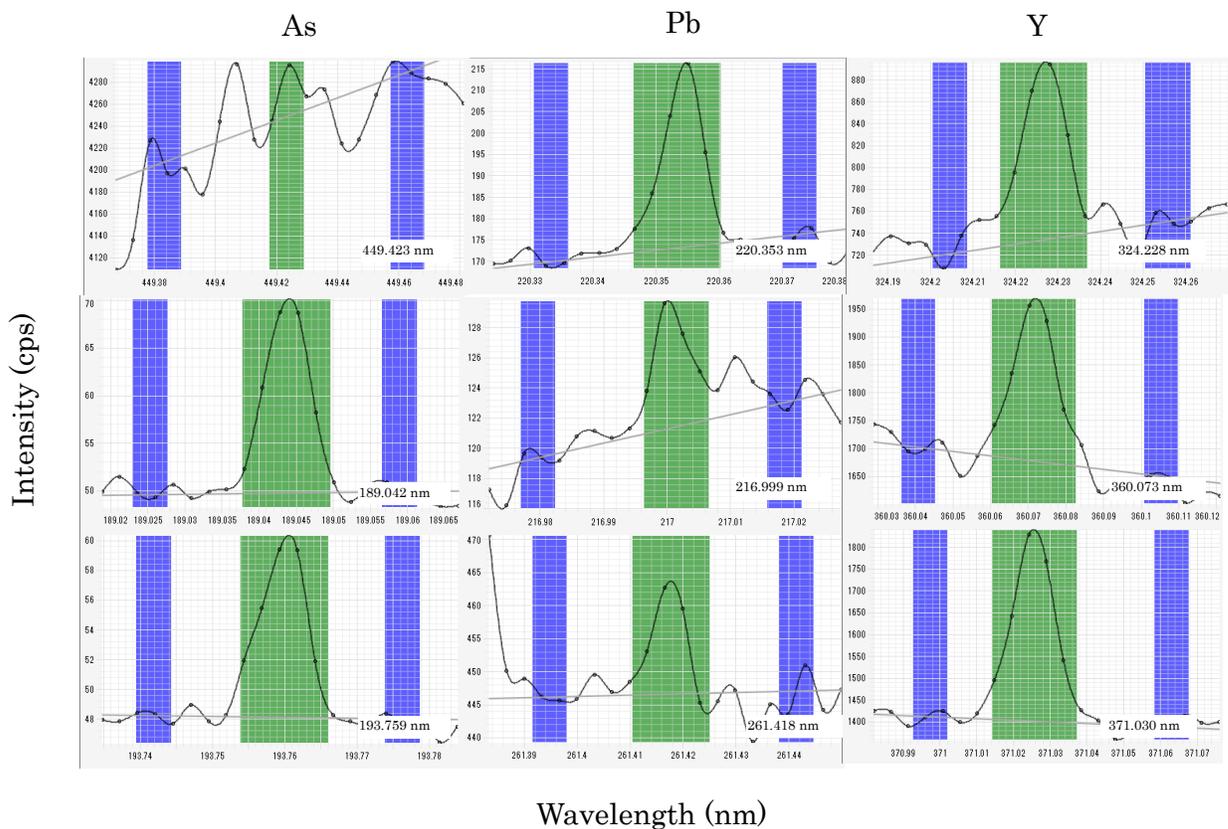


Fig. 6 硫酸マグネシウム As・Pb 添加検液 (試料濃度 : 0.02 mg/mL、As 3 μ g/g、Pb 2 μ g/g 相当添加、内標準 (Y) 濃度 0.01 μ g/mL) 中の As、Pb 及び Y の波長スペクトル

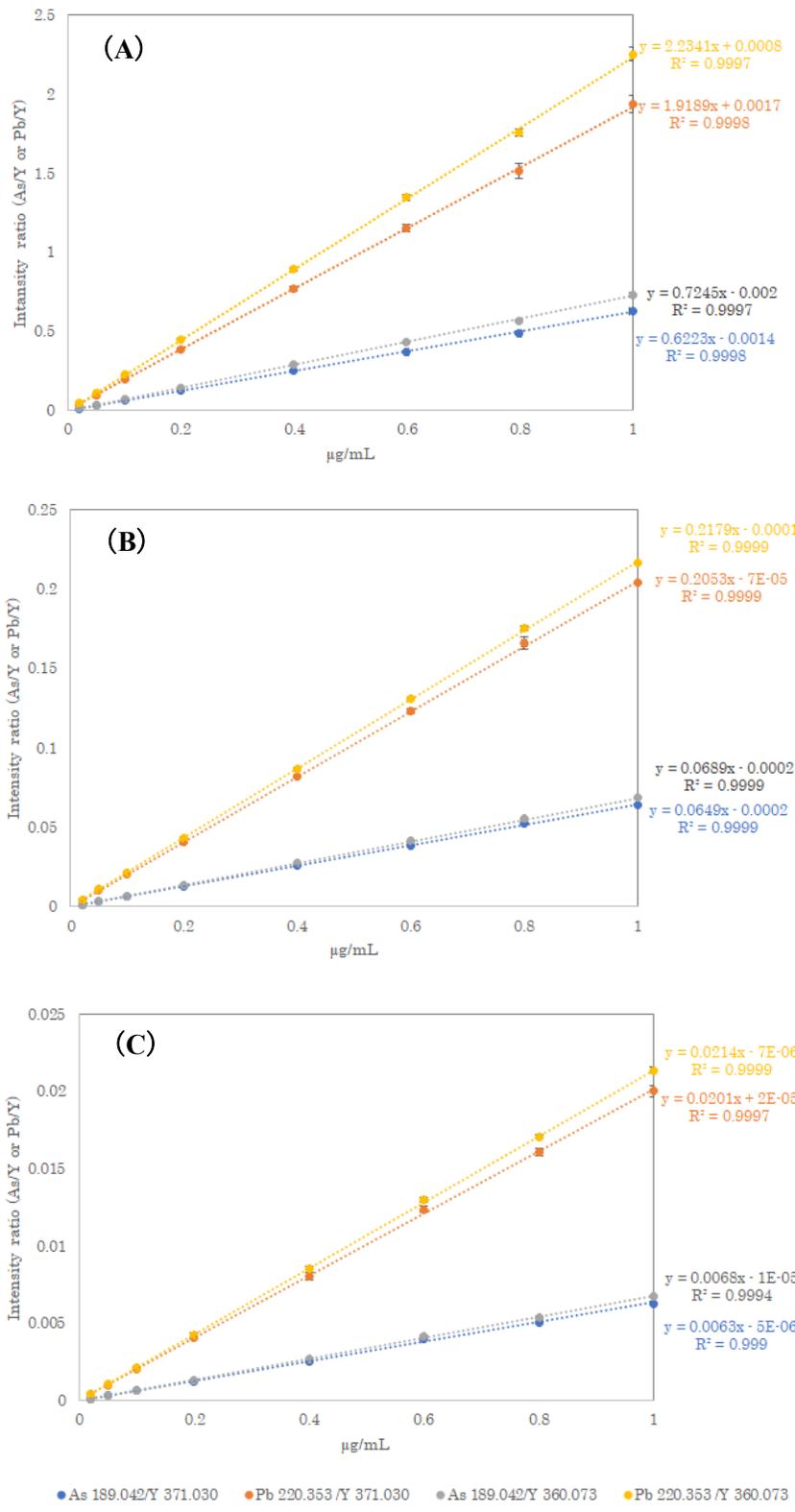


Fig. 7 異なる内標準濃度での As 及び Pb の検量線 (n=3 の平均)
 (内標準 (Y) 濃度、A : 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 、B : 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、C : 1.0 $\mu\text{g/mL}$)

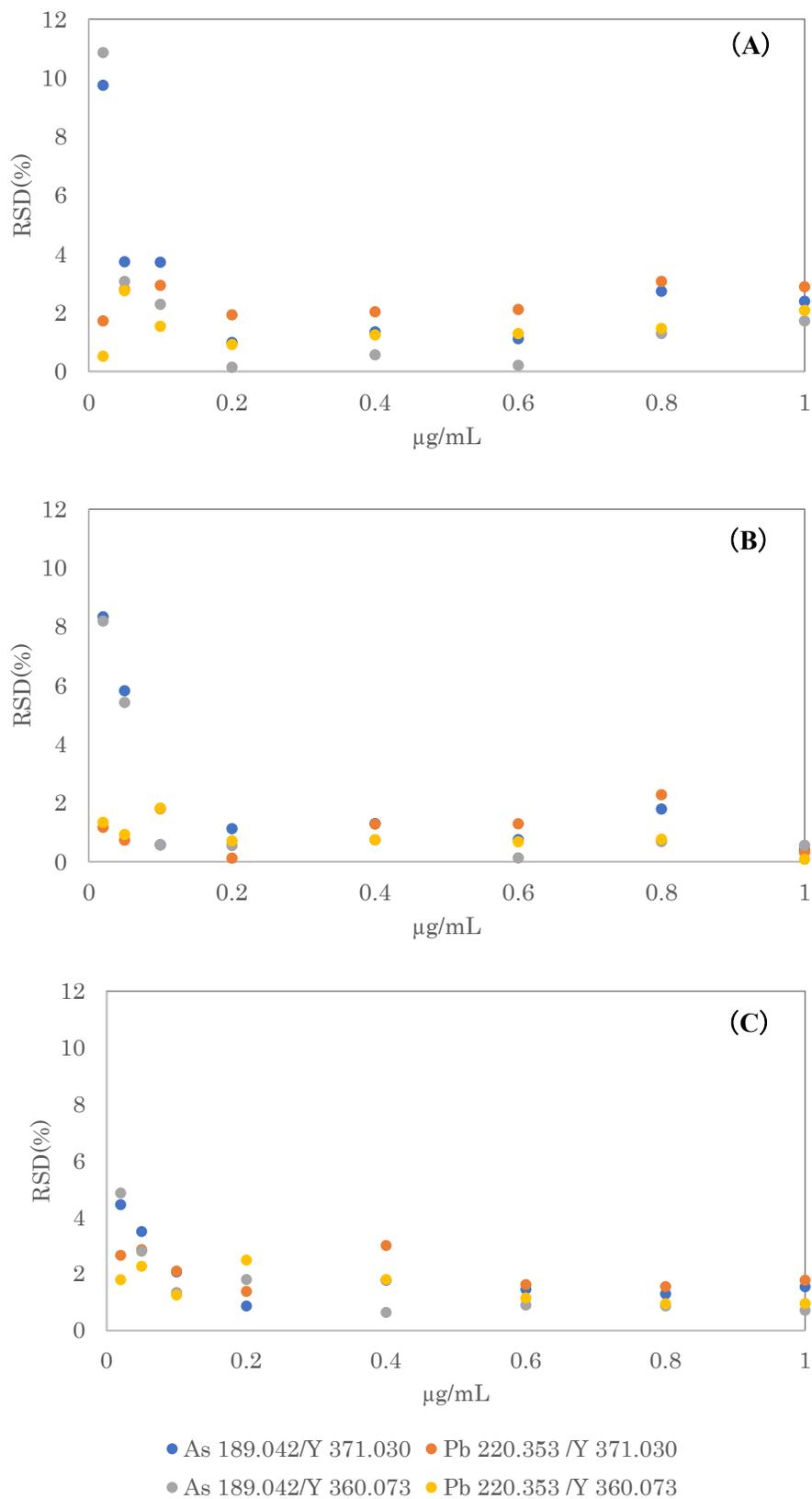


Fig. 8 As・Pb 混合標準溶液の各濃度における As 及び Pb 強度の相対標準偏差 (n=3)
 (内標準 (Y) 濃度、A : 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 、B : 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、C : 1.0 $\mu\text{g/mL}$)

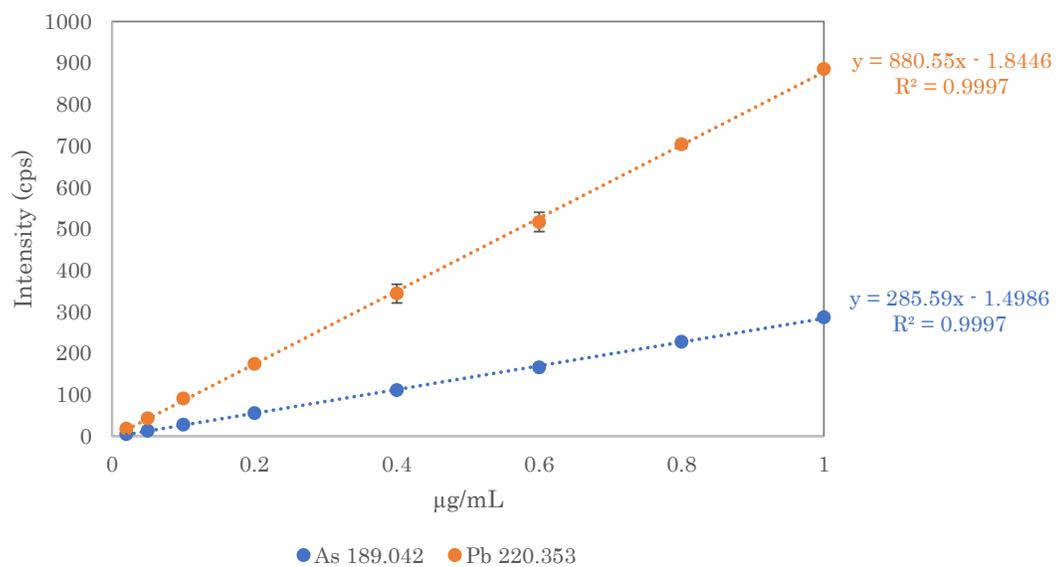


Fig. 9 ICP-OESによるAs及びPbの絶対検量線
 (各濃度 n=3 の平均強度、エラーバーは標準偏差)