

食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）
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6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

JIS 試薬規格に基づき、食品添加物でもある4品目の無機塩（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、前処理し調製した検液を用い、ICP-OESによるヒ素（As）および鉛（Pb）の分析を行った。Asは試料を水で溶解し、Pbのみを吸着させるためキレート固相カートリッジに通液し、希釈するだけで検液を調製し、Pbはキレート固相カートリッジを用いてマトリックス除去後に検液を調製した。定量には、絶対検量線法、内標準法（内標準元素：イットリウム（Y）、波長 371.030 nm）、及び標準添加法（Asのみ）を用いた。

各品目について規格値相当のAs及びPbを添加し、添加回収試験（n=3）により平均回収率を求めた。Asの回収率については、亜硫酸ナトリウムでは絶対検量線法で82.6%（RSD 1.1%）、標準添加法では96.5%（RSD 1.5%）と良好な結果だったが、PbについてはAs分析用検液中に0.01~0.02 µg/mL程度のPbが確認され、カートリッジを通過していることが判明した。このことから、亜硫酸ナトリウムではカートリッジ使用条件の再検討が必要とされた。

塩化カルシウムでは、Asでは絶対検量線法で91.8%（RSD 3.4%）、内標準法で116.2%（RSD 2.8%）、標準添加法で97.5%（RSD 5.2%）と、標準添加法および絶対検量線法で良好な回収率が得られた。Pbでは絶対検量線法で90.4%（RSD 3.2%）、内標準法で83.6%（RSD 11.2%）と、いずれも80%以上の回収率が得られた。炭酸カリウムでは、Asについて絶対検量線法93.4%、標準添加法104.8%、内標準法134.4%と高い回収率を示したが、Pbの回収率は絶対検量線法、内標準法で90%以上の回収率が得られた。

硫酸マグネシウムでは、Asの回収率は絶対検量線法で88.7%、標準添加法93.7%、内標準法110.9%と安定した結果となり、Pbもいずれの方法でも90%以上の回収率が得られた。全体として、昨年度に回収率が低かったPbについては、キレート固相カートリッジを用いることでマトリックス除去が可能となり、亜硫酸ナトリウムを除く全試料で80%以上の回収率が得られた。また、Asについても、絶対検量線法で82%以上、標準添加法で92%以上の回収率を得ており、標準添加法とすることで回収率がより良好となり、標準添加法は定量法として適用可能と判断された。一方で、内標準法はすべての試料で110%以上と高めに出る傾向があり、Asの分析においては内標準元素Yの適用に再検討の必要があると考えられた。

研究協力者

藤原由美子 国立医薬品食品衛生研究所
高田翔平 国立医薬品食品衛生研究所

A. 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、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原子吸光光度法(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誘導結合プラズマ発光分光分析法(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、令和 5 年の調査結果を基に、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、As 及び Pb を規格値相当添加し、添加回収試験を行い、内標準法における内標準物質濃度、検液中の試料濃度の最適化を行った。その結果、内標準濃度は 0.01 µg/mL が感度としては最適であり、As を分析するには、検液中の試料濃度は 0.02 mg/mL で、絶対検量線法で測定すれば 90%以上の回収率が得られることが明らかとなった。一方、Pb はいずれの試料濃度の検液であっても、内標準法、絶対検量線法、方法を問わず、回収率は 37~71%であった。以上の結果に基づき、今年度は各試料についてキレート固相カートリッジを組み合わせた方法で、As 及び Pb を同時に分析する方法を検討したので報告する。

B. 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、塩化カリウム、炭酸カルシウム、硫酸マグネシウム)^{5~8)}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)、及びイットリウム(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)、酢酸アンモニウム溶液(500 g/L、鉄試験用)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 に定容した。

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 に定容した。

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 に定容した。

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 に定容した。

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 標準溶液 (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 標準溶液 (100 µg/mL) 6 mL 及び Pb 標準溶液 (100 µg/mL) 4 mL を正確に採り、水を加えて 50 mL に定容した。

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

4) 内標準溶液の調製

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

5) 検量線用 Pb・As 混合標準溶液の調製

昨年度の結果から、Y の感度と測定対象 Table 1 に従い、内標準物質の濃度が 0.01 µg/mL となるように添加し、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

ICP-OES 装置 (iCAP Pro XP Duo 及び ASX-280) は ThermoFisher Scientific 製を用いた。キレート固相カートリッジ (Inert SEP ME-1、250 mg/6 mL) は GL サイエンス製を用いた。

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：アキシアル (Aqueous-Axial-iFR)、エクスポージャー時間：5 s、測定波長：As (189.042 nm、193.759 nm)、Pb (220.353 nm、261.418 nm)、Y (371.030 nm)。

8) 検量線の作成

8)-1 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。

8)-2 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 (371.030 nm) 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。

9) 検液の調製方法

9)-1 As 及び Pb 分析用検液の調製

昨年の結果から、As は検液中の試料濃度が 0.02 mg/mL であれば、絶対検量線法で良好な回収率が得られていたことから、As は試料を希釈するのみでも定量が可能と考えられた。一方、Pb は検液中の試料濃度が低くても、マトリックスの影響を受けやすく、内標準法を用いたとしても回収率が低かったことから、キレート固相カートリッジを用いたマトリックスの除去を行うこととした。Fig. 1 に従い、試料 2.0 g を水 20 mL に溶解し試料液とした。あらかじめ硝酸 (1→100) 液 5 mL (流速 20 mL/min)、水 20 mL 以上 (流速 20 mL/min) 及び 0.1 M 酢酸アンモニウム溶液 5 mL でコンディショニングしておいたキレート固相カートリッジに負荷し (流速 5 mL/min 程度)、キレート固相カートリッジから流出させた試料液を回収し、水で 50 mL に定容し、As

用試料液とした。得られた As 分析用試料液 5 mL 正確に取り、Table 2-1 及び 2-2 に従い、内標準溶液を加え、As 分析用検液とした。試料の水溶液を負荷したキレート固相カートリッジは、0.5M 酢酸アンモニウム溶液 10 mL 及び水 10 mL で洗浄し、硝酸 (1→100) 8 mL で溶出し (流速 1 mL/min)、硝酸 (1→100) で 10 mL とし、Pb 分析用試料液とした。得られた Pb 用試料液 1 mL を正確に取り、Table 2-1 及び 2-2 に従い、内標準溶液を加え、Pb 分析用検液とした。

9)-2 As 標準添加用検液の調製

As 分析用検液は試料をそのまま溶解したものであるためマトリックスの影響を考慮し、同様の試料液を用いて標準添加法でも定量することとした。10)-1 で得られた As 分析用試料液 5 mL を正確に採り、Table 3-1 及び 3-2 に従い、標準添加用 As 標準液 (1 µg/mL) を添加し、As 標準添加用検液 A~D を調製した。

10) 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（絶対検量線法及び内標準法）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 の濃度を求めた。

11) 標準添加法による定量 (As のみ)

As 標準添加用検液 A~D を用いて、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、標準添加用検液中の添加した標準添加用 As

標準液の As 濃度 (0、0.02、0.04 及び 0.08 µg/mL) に対して、As の信号強度をプロットし、得られた回帰線から試料中の As の濃度を求めた。

12) 添加回収試験

12)-1 内標準法及び絶対検量線法

試料 2.0 g を採取し、Table 1 に従い As・Pb 添加用混合標準溶液 1 を添加し 30 分放置したものを添加試料とした。添加試料を用いて Fig.1 及び Table2-1 及び 2-2 に従い各検液を調製した。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) 定量に従い分析し、内標準法及び絶対検量線法でそれぞれ各検液中の 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 (n=3) を求めた。

12)-2 標準添加法

As 標準添加用検液 A~D を用いて、同様に 11) 標準添加法による定量 (As のみ) 従い分析し、標準添加用検液中の添加した標準添加用 As 標準液の As 濃度 (0、0.02、0.04 及び 0.08 µg/mL) に対して、As の信号強度をプロットし、得られた回帰線から試料中の As の濃度を求め、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。

C. 研究結果及び考察

1) 測定波長と検量線

Fig.2 に示すように、絶対検量線では As (189.042 nm, 193.759 nm) 及び Pb (220.353 nm, 261.418 nm) において、0.02~1 µg/mL の範囲で良好な直線性が

得られた ($R^2 > 0.999$)。また、Fig. 3 に示すように、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 (371.030 nm) の発光強度に対する As 及び Pb の発光強度比を求め、検量線を作成したところ、いずれの波長においても良好な直線性が得られた ($R^2 > 0.99$)。

2) As 試料液の調製方法の検討

昨年度はヒ素及び鉛の添加試料を硝酸 (1→100) 溶液に溶解し調製した検液を用いて検討した。本研究では試料液をキレート固相カートリッジに通液し、鉛をキレート固相カートリッジに保持させマトリックスの除去を試みるため、硝酸 (1→100) 溶液に溶解した酸性の溶液では鉛がキレート固相カートリッジに保持されないことから、試料は水で溶解することとした。一方、市販のヒ素及び鉛標準溶液はいずれも硝酸溶液に溶解されたものが販売されていることから、As・Pb 添加用混合標準溶液 1 及び 2 は水を用いて希釈定容し、なるべく硝酸の影響が少なくなるようにした。また、塩化カルシウムは添加用混合標準溶液 1 を添加したところ、pH 3.7 付近となったことから、アンモニア水を少量加えて pH 6 程度に調整し、水を加えて試料液を調製した。その他の試料液は、添加用混合標準溶液を添加することで若干酸性となったが、いずれも pH 7 以上であったことから、pH は調整せずに水で溶解するのみで試料液とした。

3) 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、7)-3 定量に従い、ICP-OES で分析し、検量線(内標準法)及び検量線(絶対検量線法)を用いて検液中の As 及び Pb の濃度をそれぞれ算出し、回収率を求めた。

3)-1 亜硫酸ナトリウム

規格値相当(As として 3 µg/g、Pb として 5 µg/g)添加した添加回収試験の結果、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。As において、Table 4 に示すように、絶対検量線法での平均回収率(n=3)は測定波長 189.042 nm では 82.6% (相対標準偏差(RSD) 1.1%)、測定波長 193.759 nm では 79.3% (RSD 1.1%)であった。内標準法では測定波長問わず、回収率は 110%を超えた。また、標準添加法では、189.042 nm で 96.5% (RSD 1.5%)、193.759 nm で 100.4% (RSD 5.5%)であり、いずれも良好な回収率が得られた。一方、鉛では、Table 5 に示すように絶対検量線法、内標準法問わず、平均回収率(n=3)が 67.3~69.1% (RSD 5.4~8.5%)

であり、回収率も低く、As と比較してばらつきも大きい傾向がみられた。As に関しては絶対検量線法、標準添加法いずれも 189.042 nm で 80%以上の回収率が得られたことから、As の分析法としては適用可能であると考えられた。一方、昨年度の絶対検量線法の As の添加回収の結果では、93.6% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長: 189.042 nm)であったことから、今回は試料を水で溶解したことや、カートリッジに通液したこと、希釈などの操作が加わったことが回収率の低下の原因となった可能性もある。また、鉛に関しては、いずれの測定波長、定量法でも回収率が 60%台であったが、As 分析用検液中に約 0.01~0.02 µg/mL 相当の Pb が確認できたことから、キレート固相カートリッジに吸着せず、一部の Pb が流出してしまっていることが明らかとなったことから、亜硫酸ナトリウム中の Pb についてはキレート固相カートリッジを用いる上で、更なる検討が必要と考えられた。

3)-2 塩化カルシウム

規格値相当(As として 3 µg/g、Pb として 2 µg/g)添加した添加回収試験の結果、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。

Table 6 に示すように、As においては、絶対検量線法での平均回収率(n=3)は測定波長 189.042 nm では 91.8% (RSD 3.4%)、測定波長 193.759 nm では 92.7% (RSD 2.5%)、内標準法では、測定波長 189.042 nm では 116.2% (RSD 2.8%)、測定波長 193.759 nm では 112.5% (RSD 3.3%)であり、いずれの波長でも 110%

を超える回収率が得られた。また、標準添加法では、測定波長 189.042 nm では 97.5% (RSD 5.2%)、測定波長 193.759 nm では 99.8% (RSD 8.7%) であり、95% 以上の良好な回収率が得られた。Pb においては、Table 7 に示すように、絶対検量線法での平均回収率 (n=3) は測定波長 220.353 nm では 90.4% (RSD 3.2%)、測定波長 261.418 nm では 87.1% (RSD 13.3%)、内標準法では、測定波長 220.353 nm では 83.6% (RSD 11.2%)、測定波長 261.418 nm では 91.9% (RSD 11.1%)、であり、いずれの波長でも 80% 以上の回収率が得られた。

昨年の結果では、昨年度の絶対検量線法の As の添加回収の結果では、91.3% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：189.042 nm) であったことから、今回の絶対検量線法で得られた結果とほぼ一致した。また、昨年度の Pb の添加回収の結果では、63.9% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：220.353 nm) であったが、今回は 90.4% の回収率が得られ、キレート固相カートリッジによりマトリックスを除去することにより、良好な回収率が得られることが明らかとなった。

3)-3 炭酸カリウム

規格値相当 (As として 3 µg/g、Pb として 2 µg/g) 添加した添加回収試験の結果、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。

As においては、Table 8 に示すように、絶対検量線法での平均回収率 (n=3) は測定波長 189.042 nm では 93.4% (RSD 5.9%)、測定波長 193.759 nm では 93.9%

(RSD 6.3%) であり、いずれの波長でも 90% 以上の良好な回収率が得られた。内標準法では、測定波長 189.042 nm では 134.4% (RSD 6.1%)、測定波長 193.759 nm では 138.2% (RSD 6.5%) であり、いずれの波長でも 130% をを超える回収率が得られた。また、標準添加法では、測定波長 189.042 nm では 104.8% (RSD 6.5%)、測定波長 193.759 nm では 114.61% (RSD 6.5%) であり、100% 以上の回収率が得られた。Pb においては、Table 9 に示すように絶対検量線法での平均回収率 (n=3) は測定波長 220.353 nm では 83.5% (RSD 5.2%)、測定波長 261.418 nm では 91.7% (RSD 9.0%)、内標準法では、測定波長 220.353 nm では 101.8% (RSD 3.8%)、測定波長 261.418 nm では 97.1% (RSD 8.8%)、であり、いずれの波長でも 80% 以上の回収率が得られたが、Pb 分析用検液 2 で低い定量値が得られていることが影響し、全体としてばらつきが大きくなった。

昨年の結果では、絶対検量線法の As の添加回収の結果では、96.9% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：189.042 nm) であったことから、今回の絶対検量線法で得られた結果とほぼ一致した。また、昨年度の Pb の添加回収の結果では、絶対検量線法で 54.5% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：220.353 nm)、内標準法で 72.7% であったが、今回は 83.5% 及び 101.8% の回収率が得られ、キレート固相カートリッジによりマトリックスを除去することにより、良好な回収率が得られることが明らかとなった。

3)-4 硫酸マグネシウム

規格値相当 (As として 3 µg/g、Pb として 2 µg/g) 添加した添加回収試験の結果、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。

As においては、Table 10 に示すように、絶対検量線法での平均回収率 (n=3)

は測定波長 189.042 nm では 88.7%

(RSD 1.7%)、測定波長 193.759 nm では 86.8% (RSD 1.5%) であり、いずれの波長でも 85% 以上の良好な回収率が得られた。内標準法では、測定波長 189.042 nm では 110.9% (RSD 3.8%)、測定波長 193.759 nm では 104.2% (RSD 3.2%)

であり、いずれの波長でも 100% を超える回収率が得られた。また、標準添加法では、測定波長 189.042 nm では 93.7%

(RSD 5.7%)、測定波長 193.759 nm では 92.2% (RSD 3.7%) であり、90% 以上の良好な回収率が得られた。Pb においては、Table 11 に示すように、絶対検量線法での平均回収率 (n=3) は測定波長 220.353 nm では 97.3% (RSD 1.6%)、測定波長 261.418 nm では 95.4% (RSD 4.2%)、内標準法では、測定波長測定波長 220.353 nm では 94.0% (RSD 2.0%)、261.418 nm では 93.0% (RSD 4.9%)、であり、いずれの波長でも 90% 以上の回収率が得られた。

昨年の結果では、絶対検量線法の As の添加回収の結果では、92.8% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：189.042 nm) であったことから、今回の絶対検量線法で得られた結果 (88.7%) が若干低かった。また、昨年度の Pb の添加回収の結果では、絶対検量線法で 71.8% (検液中の試料濃度 0.02 mg/mL、測定波長：

220.353 nm)、内標準法で 83.9% であったが、今回は 97.3% 及び 94.0% の回収率が得られ、キレート固相カートリッジによりマトリックスを除去することにより、良好な回収率が得られることが明らかとなった。

4) 鉛試験法前処理法の提案

以上の結果から、鉛試験においてはキレート固相カートリッジを用いた前処理法が有用であることが明らかとなったことから、鉛試験法の検液及び比較液の調製として、以下の通り提案する。

鉛試験法 検液及び比較液の調製

第 6 法 (案)

別に規定する方法で試料液を調製する。試料液が酸性の場合はアンモニア水で pH を 5 ～ 6 に調整する。キレート樹脂ミニカラム (250 mg) に硝酸 (1 → 100) 5 mL、水 20 mL、酢酸アンモニウム試液 (0.1 mol/L) 5 mL をそれぞれ注入し、流出液は捨てる。このカラムに試料液を注入し、その後、水 20 mL 酢酸アンモニウム試液 (0.5 mol/L) 10 mL 及び水 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次に硝酸 (1 → 100) 5 ～ 8 mL で溶出し、硝酸 (1 → 100) で 10 mL とし検液とする。

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、昨年度の結果に基づき、As については試料を水で希釈しキレート固相カートリッジを通した素通りの液で検液を調製し、Pb についてははキレート固相カートリッジを用いてマトリックスを取り除くことにより検液を調製し、As については、絶対検量線法、内標準法 (Y 測定波長 : 371.030 nm.) 及び標準添加法で、Pb については絶対検量線法、内標準法で測定した。各試料について規格値相当の As 及び Pb を添加し、添加回収試験 (n=3) を行い、平均回収率を求めた。その結果、亜硫酸ナトリウムでは As において、測定波長 189.042 nm で絶対検量線法では 82.6% (RSD 1.1%)、内標準法では、標準添加法では、96.5% (RSD 1.5%) であり、良好な回収率が得られた。一方、鉛では、220.353 nm では、絶対検量線法、内標準法であった。また、As 分析用検液中に約 0.01~0.02 µg/mL 相当の Pb が確認され、一部の Pb がキレート固相カートリッジに吸着せず、素通りしてしまっていることが明らかとなったことから、亜硫酸ナトリウムについてはキレート固相カートリッジを用いる上で、更なる条件の検討が必要と考えられた。また、塩化カルシウムでは As においては、測定波長 189.042 nm では絶対検量線法での平均回収率 (n=3) 91.8% (RSD 3.4%)、内標準法では、116.2% (RSD 2.8%)、標準添加法では、97.5% (RSD 5.2%) であり、絶対検量線法及び標準添加法で 90%以上の良好な回収率が得られた。Pb においては、測定波長 220.353 nm で、絶対検量線法で 90.4% (RSD 3.2%)、内標準法

では、83.6% (RSD 11.2%) であり、いずれの方法でも 80%以上の回収率が得られた。

炭酸カリウムでは、As においては、測定波長 189.042 nm で、絶対検量線法で 93.4% (RSD 5.9%)、内標準法では、134.4% (RSD 6.1%)、標準添加法では、104.8% (RSD 6.5%) 絶対検量線法及び標準添加法で 90%以上の回収率が得られた。Pb においては、測定波長 220.353 nm で、絶対検量線法で 93.3% (RSD 15.0%)、内標準法では、101.8% (RSD 3.8%) であり、いずれの方法でも 90%以上の回収率が得られたが、Pb 分析用検液 2 で低い定量値が得られていることが影響し、全体としてばらつきが大きい傾向が見られた。

硫酸マグネシウムについては、As では、測定波長 189.042 nm で、絶対検量線法では 88.7% (RSD 1.7%)、内標準法では、測定波長 189.042 nm では 110.9% (RSD 3.8%)、標準添加法では、93.7% (RSD 5.7%)、いずれの方法でも 88%以上の良好な回収率が得られた。Pb においては、測定波長 220.353 nm で絶対検量線法では 97.3% (RSD 1.6%)、内標準法では、94.0% (RSD 2.0%) であり、いずれの方法でも 90%以上の回収率が得られた。

昨年の結果では、回収率が悪かった鉛について、キレート固相カートリッジを用いることで、マトリックスを除去することが可能であり、亜硫酸ナトリウム以外の品目でいずれの定量方法でも 80%以上の回収率が得られることが明らかとなり、キレート固相カートリッジはマトリックス除去のための有用な前処理であ

ることがあきらかとなったことから、公定書の鉛試験法の新規前処理法として提案した。また、As についても、昨年の結果をほぼ同様に、絶対検量線法では 82% 以上 (RSD 1.1~6.3%) の回収率が得られたが、標準添加法では 92% 以上 (RSD 1.5~8.7%) のより回収率が得られたことから、標準添加法も定量法として適用可能であると考えられた。一方、内標準法ではいずれの試料でも 110% 以上 (RSD 2.8~6.5%) の高い回収率が得られ、As の分析では Y を内標準物質として用いた内標準法は定量値が高くなる可能性があり、より適切な内標準物質を選ぶ必要があると考えられた。

E. 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>
- v2) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive, COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS, FAO , vol.4 (2006).
- 3) Food Chemicals Codex, 13th Eddition, 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

F 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 藤原由美子, 建部千絵, 黒原 崇, 柳本登紀子, 日置冬子, 久保田浩樹, 多田敦子, 杉本直樹: 食品添加物公定書のニンヒドリン反応による確認試験の基礎的検討. 日本食品化学学会第 30 回総会学術大会, 2024. 5. 24 (東京)
- 2) 建部千絵, 藤原由美子, 高田翔平, 久保田浩樹, 多田敦子, 杉本直樹: SR-HPLC 法を用いた食用青色 1 号中の 2-, 3-及び 4-ホルミルベンゼンスルホン酸の定量法に関する検討. 日本食品衛生学会第 120 回学術講演会, 2024.11.7-8 (愛知県春日井市)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 検量線用 Pb 及び As 混合標準溶液調製法及び濃度（内標準濃度：0.01 µg/mL）

	添加量（mL）							
①As・Pb 混合標準溶液（各 1 µg/mL）	1	2.5	5					
②As・Pb 混合標準溶液（各 10 µg/mL）				1	2	3	4	5
③内標準溶液（Y：1 µg/mL）	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
定容量（mL）	50	50	50	50	50	50	50	50
	濃度（µg/mL）							
Pb 濃度（µg/mL）	0.02	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
As 濃度（µg/mL）	0.02	0.05	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
混合標準溶液中の内標準濃度（µg/mL）	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Table 2-1 各添加試料及び検液の調製方法

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		
	As 分析用 検液	Pb 分析用 検液
試料採取量（g）	2	
As・Pb 添加用混合標準溶液 1 の添加量（mL）	0.5	
試料中の As 濃度（μg/g）	3	
試料中の Pb 濃度（μg/g）	2	
キレート固相カートリッジ通液後の処理		
As 分析用試料液定容量（mL）	50	
As 分析用試料液分取量（mL）	5	
（カートリッジ溶出後）Pb 分析用試料液定容量（mL）		10*
Pb 分析用試料液分取量（mL）		1
内標準溶液（Y:1 μg/mL）添加量（mL）	0.5	0.5
As 分析用検液・Pb 分析用検液中の内標準濃度（μg/mL）	0.01	0.01
As 分析用検液・Pb 分析用検液検液定容量（mL）	10*	10
検液中の試料濃度（g/mL）	0.02	—

*硝酸（1→100）で定容

Table 2-2 亜硫酸ナトリウム添加試料及び検液の調製方法

対象品目：亜硫酸ナトリウム		
	As 分析用 検液	Pb 分析用 検液
試料採取量（g）	2	
As・Pb 添加用混合標準溶液 2 の添加量（mL）	0.5	
試料中の As 濃度（μg/ g）	3	
試料中の Pb 濃度（μg/ g）	5	
キレート固相カートリッジ通液後の処理		
As 分析用試料液定容量（mL）	50	
As 分析用試料液分取量（mL）	5	
（カートリッジ溶出後）Pb 分析用試料液定容量（mL）		10*
Pb 分析用試料液分取量（mL）		1
内標準溶液（Y:1 μg/mL）添加量（mL）	0.5	0.5
As 分析用検液・Pb 分析用検液中の内標準（μg/mL）	0.01	0.01
As 分析用検液・Pb 分析用検液定容量（mL）	10*	10
As 分析用検液中の試料濃度（g/mL）	0.02	—

* 硝酸 (1→100) で定容

Table 3-1 As 標準添加用検液の調製 1

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				
	As 標準添加検液			
	A	B	C	D
試料採取量（g）	2			
試料中の As 濃度（μg/ g）	3			
試料中の Pb 濃度（μg/ g）	2			
As・Pb 添加用混合標準溶液 1 の添加量（mL）	0.5			
キレート固相カートリッジ通液				
As 分析用試料液定容量（mL）	50			
As 分析用試料液分取量（mL）	5	5	5	5
内標準溶液（Y:1 μg/mL）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
標準添加法用 As 標準液(1 μg/mL) 添加量（mL）	0	0.2	0.4	0.8
As 標準添加用検液定容量（mL）**	10	10	10	10
As 標準添加用検液 As 濃度（μg/mL）	0	0.02	0.04	0.08
As 標準添加用検液中の試料濃度（g/mL）	0.02	0.02	0.02	0.02

*硝酸 (1→100) で定容

Table 3-2 As 標準添加用検液の調製 2

対象品目：亜硫酸ナトリウム				
	As 標準添加検液			
	A	B	C	D
試料採取量（g）	2			
試料中の As 濃度（μg/ g）	3			
試料中の Pb 濃度（μg/ g）	5			
As・Pb 添加用混合標準溶液 2 の添加量（mL）	0.5			
キレート固相カートリッジ通液				
As 分析用試料液定容量（mL）	50			
As 分析用試料液分取量（mL）	5	5	5	5
内標準溶液（Y:1 μg/mL）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
標準添加法用 As 標準液(1 μg/mL) 添加量（mL）	0	0.2	0.4	0.8
As 標準添加用検液定容量（mL）**	10	10	10	10
As 標準添加用検液 As 濃度（μg/mL）	0	0.02	0.04	0.08
As 標準添加用検液中の試料濃度（g/mL）	0.02	0.02	0.02	0.02

*硝酸 (1→100) で定容

Table 4 亜硫酸ナトリウム に対する As 添加回収試験結果 (As 添加濃度 As として 3 µg/g (検液中 As 濃度 0.06 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法				標準添加法			
測定波長	As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0		0		0	
As 分析用検液 1	0.049	81.6	0.048	80.2	0.069	115.5	0.070	116.5	0.057	95.4	0.057	95.4
As 分析用検液 2	0.050	83.4	0.047	78.5	0.072	119.4	0.069	115.5	0.059	98.2	0.060	99.5
As 分析用検液 3	0.050	82.7	0.048	79.2	0.072	119.5	0.071	117.7	0.058	95.9	0.064	106.3
Average	0.050	82.6	0.048	79.3	0.071	118.1	0.070	116.5	0.058	96.5	0.060	100.4
RSD(%)	1.1	1.1	1.1	1.1	1.9	1.9	0.9	0.9	1.5	1.5	5.5	5.5

Table 5 亜硫酸ナトリウムに対する Pb 添加回収試験結果 (Pb 添加濃度 Pb として 5 µg/g (検液中 As 濃度 0.1 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法			
測定波長	Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm		Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm	
	定量値 (µg/mL)	定量値 (µg/mL)	定量値 (µg/mL)	定量値 (µg/mL)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0	
Pb 分析用検液 1	0.063	63.1	0.062	61.5	0.063	63.3	0.062	61.8
Pb 分析用検液 2	0.070	69.5	0.072	72.3	0.071	70.9	0.074	73.9
Pb 分析用検液 3	0.069	69.2	0.074	74.2	0.070	70.4	0.076	75.6
Average	0.067	67.3	0.069	69.3	0.068	68.2	0.070	70.4
RSD(%)	5.4	5.4	9.9	9.9	6.2	6.2	10.6	10.6

Table 6 塩化カルシウム に対する As 添加回収試験結果 (As 添加濃度 As として 3 µg/g (検液中 As 濃度 0.06 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法				標準添加法			
測定波長	As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0		0		0	
As 分析用検液 1	0.056	93.9	0.055	91.2	0.074	117.7	0.073	109.0	0.062	98.0	0.062	91.3
As 分析用検液 2	0.053	88.1	0.055	91.6	0.071	112.5	0.075	112.2	0.059	92.1	0.066	99.2
As 分析用検液 3	0.056	93.2	0.057	95.4	0.075	118.5	0.078	116.4	0.065	102.2	0.072	108.8
Average	0.055	91.8	0.06	92.7	0.07	116.2	0.08	112.5	0.06	97.5	0.07	99.8
RSD(%)	3.4	3.4	2.5	2.5	2.7	2.8	3.0	3.3	4.9	5.2	7.9	8.7

Table 7 塩化カルシウム に対する Pb 添加回収試験結果 (Pb 添加濃度 Pb として 2 µg/g (検液中 Pb 濃度 0.04 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法			
測定波長	Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm		Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0	0	0	0	0	0	0	0
Pb 分析用検液 1	0.039	88.3	0.034	74.2	0.038	73.7	0.035	80.3
Pb 分析用検液 2	0.040	89.3	0.040	90.5	0.045	92.3	0.042	96.0
Pb 分析用検液 3	0.041	93.7	0.043	96.6	0.042	84.7	0.043	99.3
Average	0.04	90.4	0.04	87.1	0.04	83.6	0.04	91.9
RSD(%)	2.9	3.2	11.9	13.3	9.0	11.2	10.2	11.1

Table 8 炭酸カリウムに対する As 添加回収試験結果 (As 添加濃度 As として 3 µg/g (検液中 As 濃度 0.06 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法				標準添加法			
測定波長	As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0		0		0	
As 分析用検液 1	0.059	98.8	0.059	97.6	0.085	142.1	0.086	143.5	0.063	104.5	0.073	120.9
As 分析用検液 2	0.056	93.6	0.058	96.9	0.081	135.3	0.086	143.2	0.059	98.2	0.070	116.6
As 分析用検液 3	0.053	87.8	0.052	87.1	0.075	125.7	0.077	127.8	0.067	111.7	0.064	106.3
Average	0.056	93.4	0.056	93.9	0.081	134.4	0.083	138.2	0.063	104.8	0.069	114.61
RSD(%)	5.9	5.9	6.3	6.3	6.1	6.1	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5

Table 9 炭酸カリウム に対する Pb 添加回収試験結果 (Pb 添加濃度 Pb として 2 µg/g (検液中 Pb 濃度 0.04 µg/mL))

定量方法	絶対検量線法				内標準法			
測定波長	Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm		Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0	
Pb 分析用検液 1	0.035	86.5	0.040	101.2	0.042	104.9	0.043	106.8
Pb 分析用検液 2	0.031	78.6	0.035	87.8	0.039	97.4	0.038	93.9
Pb 分析用検液 3	0.034	85.4	0.034	86.1	0.041	103.0	0.036	90.7
Average	0.03	83.5	0.04	91.7	0.04	101.8	0.04	97.1
RSD(%)	5.2	5.2	9.0	9.0	3.8	3.8	8.8	8.8

Table 10 硫酸マグネシウムに対する As 添加回収試験結果 (As 添加濃度 As として 3 µg/g (検液中 As 濃度 0.06 µg/mL)

定量方法 測定波長	絶対検量線法				内標準法				標準添加法			
	As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm		As 189.042 nm		As 193.759 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0		0		0	
As 分析用検液 1	0.054	90.4	0.052	87.4	0.071	115.7	0.070	107.8	0.060	96.5	0.066	95.9
As 分析用検液 2	0.052	87.4	0.051	85.3	0.067	108.1	0.067	101.2	0.060	97.0	0.061	89.1
As 分析用検液 3	0.053	88.4	0.053	87.7	0.067	108.8	0.068	103.6	0.055	87.5	0.063	91.6
Average	0.053	88.7	0.052	86.8	0.069	110.9	0.068	104.2	0.058	93.7	0.1	92.2
RSD(%)	1.7	1.7	1.5	1.5	3.7	3.8	2.9	3.2	5.5	5.7	3.2	3.7

Table 11 硫酸マグネシウムに対する Pb 添加回収試験結果 (Pb 添加濃度 Pb として 2 µg/g (検液中 Pb 濃度 0.04 µg/mL)

定量方法 測定波長	絶対検量線法				内標準法			
	Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm		Pb 220.353 nm		Pb 261.418 nm	
	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)	定量値 (µg/mL)	回収率 (%)
BLK	0		0		0		0	
Pb 分析用検液 1	0.039	98.0	0.040	93.3	0.039	94.4	0.040	90.6
Pb 分析用検液 2	0.039	98.4	0.043	100.0	0.040	95.7	0.043	98.2
Pb 分析用検液 3	0.038	95.5	0.040	92.9	0.038	92.0	0.040	90.1
Average	0.039	97.3	0.041	95.4	0.039	94.0	0.041	93.0
RSD(%)	1.6	1.6	3.9	4.2	1.9	2.0	4.5	4.9

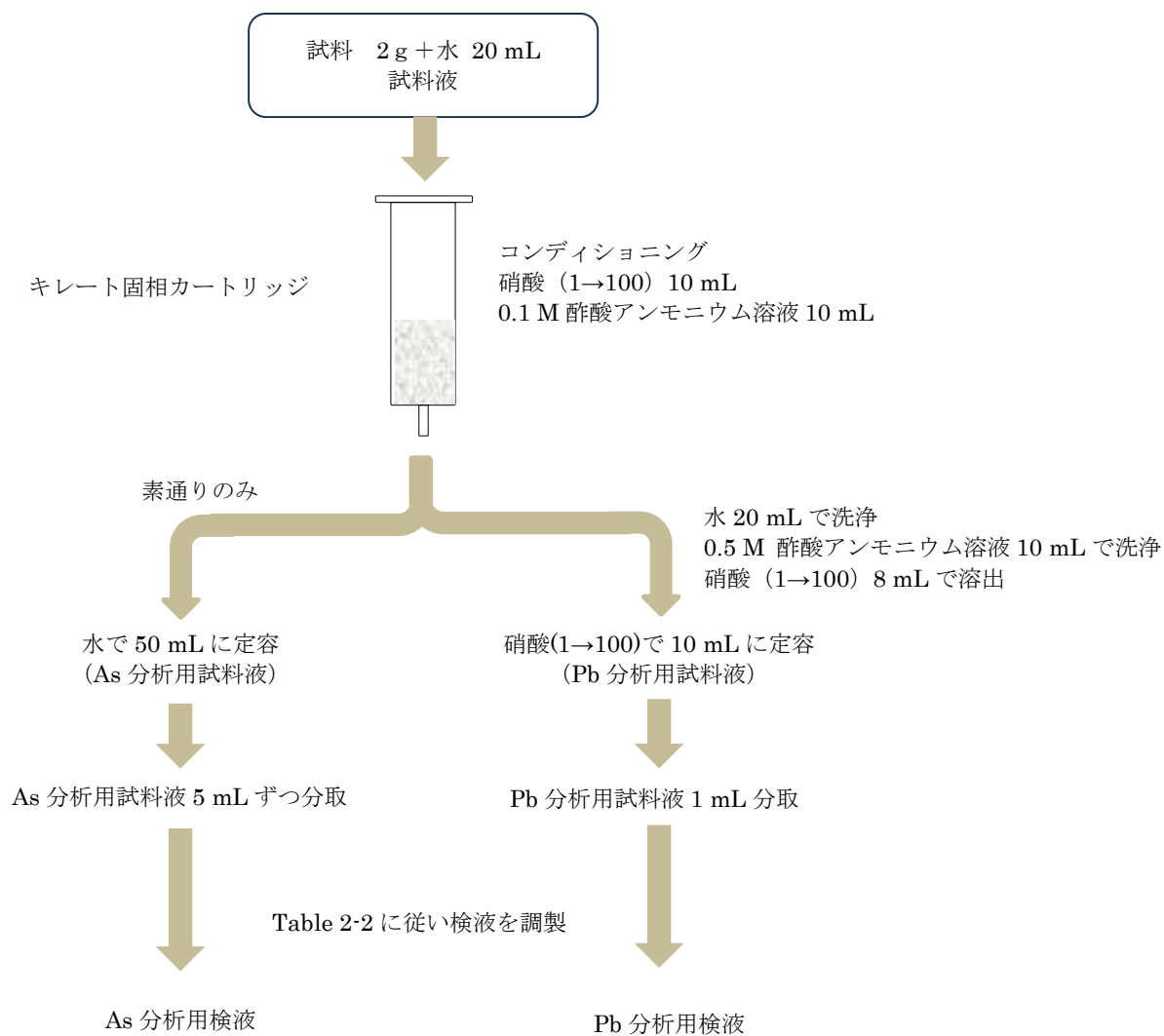


Fig. 1 検液調製方法の概要

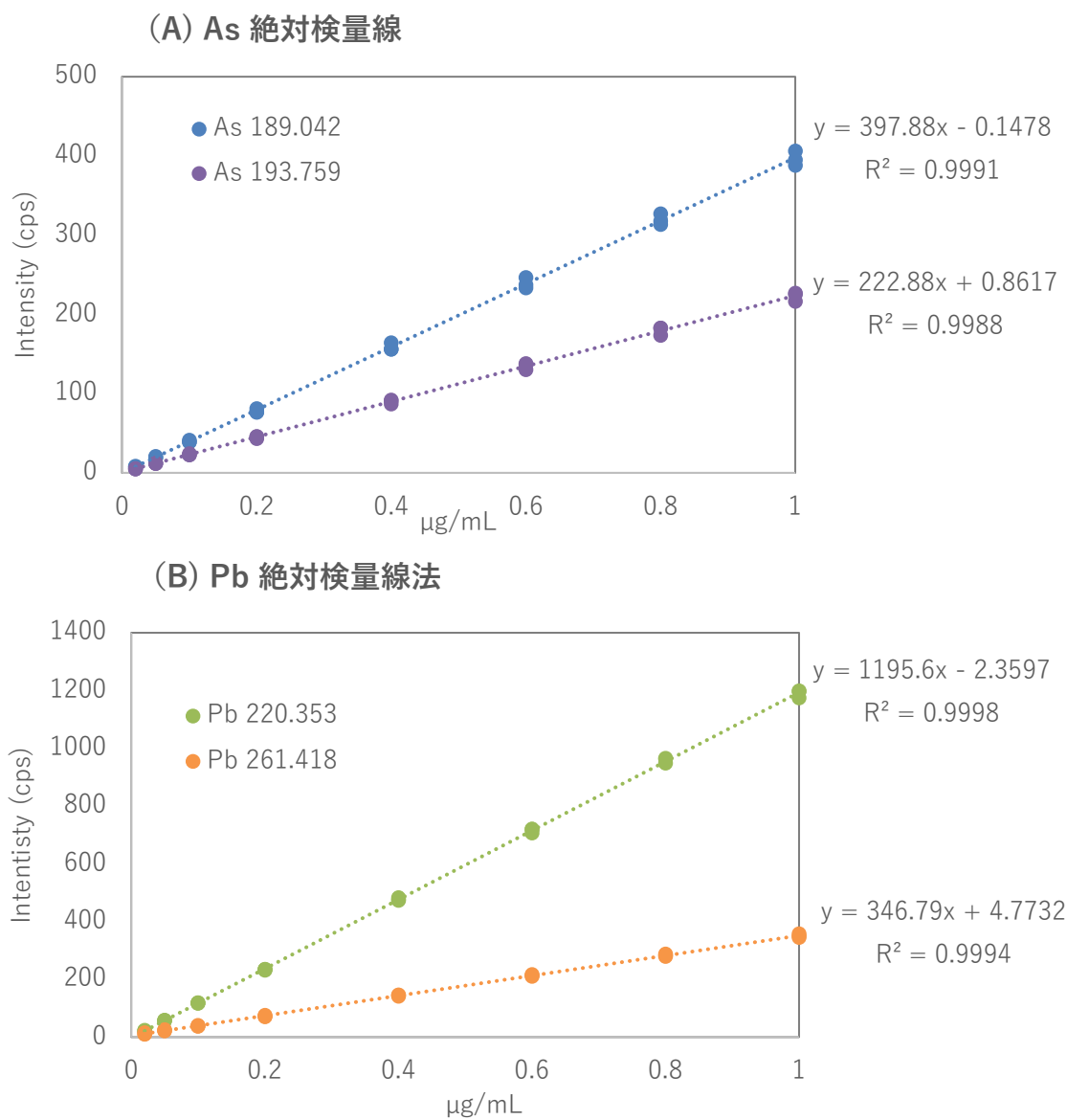


Fig.2 ICP-OES による As 及び Pb の絶対検量線 (n=3 の平均)
(As 測定波長 : 189.042 nm、193.759 nm、Pb 測定波長 : 220.353 nm、261.418 nm)

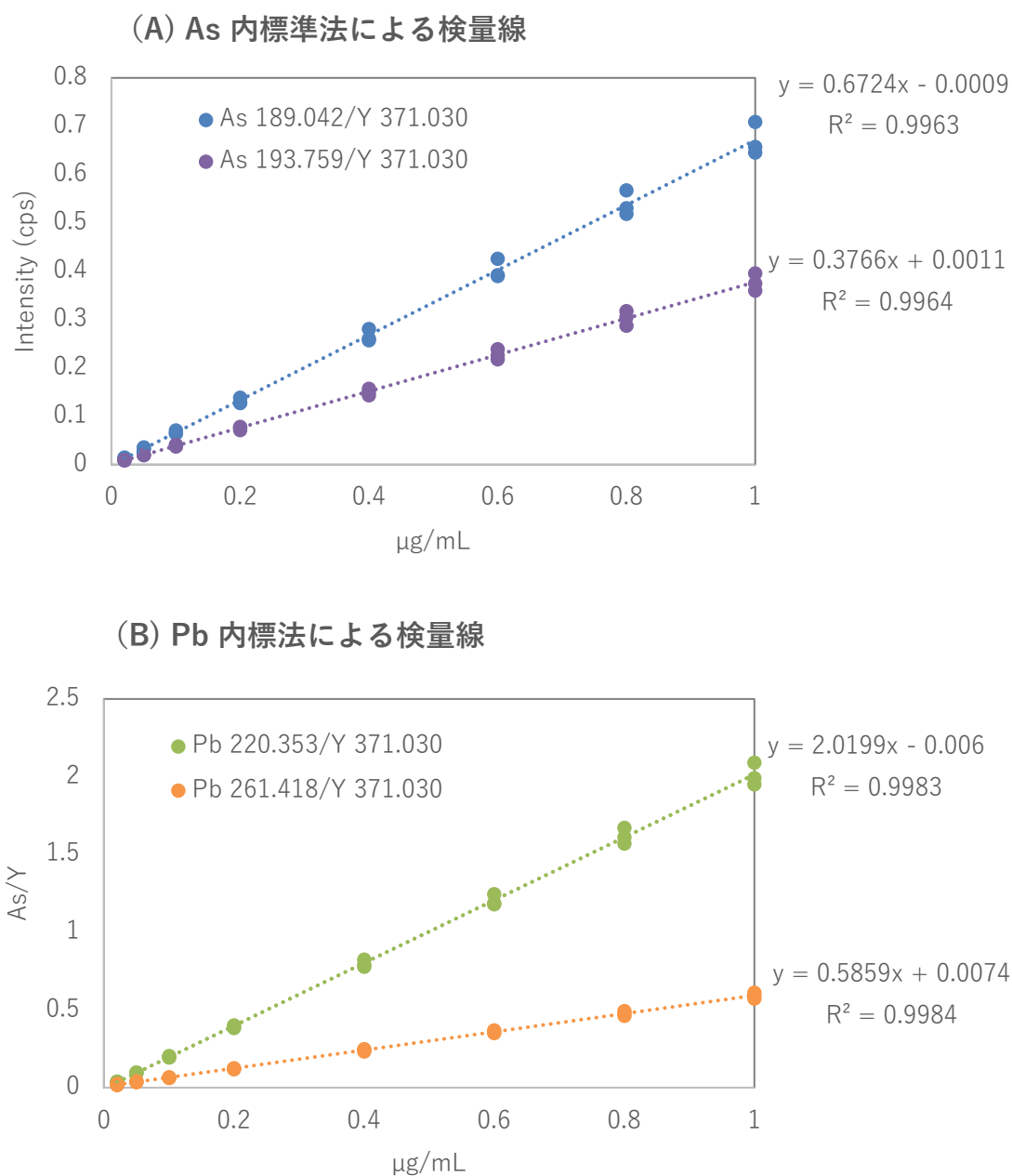


Fig. 3 ICP-OES による As 及び Pb の内標準法による検量線 (n=3 の平均) (As 測定波長 : 189.042 nm、193.759 nm、Pb 測定波長 : 220.353 nm、261.418 nm、Y 測定波長 : 371.030 nm、内標準 (Y) 濃度 : 0.01 μg/mL)

