

乳等の容器包装におけるヒ素試験法の改良

羽石 奈穂子^a, 荻本 真美^b, 鈴木 公美^a, 吉川 光英^a, 小林 千種^a, 大塚 健治^a

乳等の容器包装におけるヒ素試験の改良法として、硝酸マグネシウム・エタノール溶液存在下で試料分解後、水素化物発生装置付原子吸光分光光度計で測定する方法（以下AAS法とする）、及び、マイクロウェーブで試料分解後、ICP-MSで測定する方法（以下ICP-MS法とする）を検討した。AAS法では、チタンや鉄を含有する試料を除き、回収率は80%以上を示した。ICP-MS法では、酸分解液として硝酸・塩酸混液を用いることで、AAS法で適用できる容器包装に加え材質にチタンを含む試料でも回収率は良好であった。AAS法及びICP-MS法は、試験時間が短く、有害ガスを生じない方法であるため、公定法の代替として適用可能であると考えられた。

キーワード：食品衛生法，ヒ素，原子吸光分光光度法，マイクロウェーブ，ICP-MS，容器包装

はじめに

食品衛生法では、乳等の容器包装中のヒ素（As）について、規格（材質中に三酸化二ヒ素として2 µg/g以下）及び試験法が定められている¹⁾。その試験溶液調製は、試料に硫酸及び硝酸を加えて湿式灰化する方法（硫硝酸法）であり、測定は、試験溶液中のAsを亜鉛でヒ化水素とし、試薬と反応させた際の呈色を目視で確認する比色法である。試験溶液調製では、硫酸及び硝酸を加熱して試料を分解するため、亜硝酸ガスや硫酸の白煙等の有害ガスが大量に発生し分析者の健康への影響が懸念される。さらに、分解が終了するまで硝酸を追加する操作を繰り返すことが不可欠であり、試料によっては分解終了まで一週間程度を要する。また、測定は標準溶液の呈色に基づいた比色試験であるため数値化されず、試験法としての精度の担保が難しい。

一方、食品添加物公定書²⁾には、食品添加物中のAs試験法として試料を硝酸マグネシウム・エタノール溶液存在下で灰化後、水素化物を発生させて原子吸光分光光度計で測定する方法（以下AAS法とする）が記載されている。また、衛生試験法・注解³⁾には、試料をマイクロウェーブ（MW）により分解後、誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）で測定する方法（以下ICP-MS法とする）が記載されている。

今回、これらの試験溶液調製法や測定法に検討を加え、乳等の容器包装に適用したので報告する。

実験方法

1. 試料

市販の乳製品等の容器包装部分を用いた。これらはいずれもAs不検出の合成樹脂製品であり、フーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）で測定しポリエチレン（PE）、ポリプロピレン（PP）及びポリスチレン（PS）製品であることを確認した（表1）。各市販品は5 mm角に細切り試験に

供した。

表1. 市販品の内訳

市販品	内訳	材質 ^{*1}	形状
市販品 A	牛乳容器	PE	半透明容器
市販品 B	チーズ包装	PP	透明フィルム
市販品 C	乳酸菌飲料容器	PS	半透明容器
市販品 D	ヨーグルト容器	PE	白色カップ状容器
市販品 E	ヨーグルト容器	PP	白色カップ状容器
市販品 F	ヨーグルト容器	PP	白色カップ状容器

*1 PE：ポリエチレン，PP：ポリプロピレン，PS：ポリスチレン

2. 標準品等

1) 標準品

Asを一定量含有する合成樹脂製ペレットを用いた。

PE製標準品：As認証値9.1 µg/g，JSM P 700-1，JFEテクノロジーサーチ製

PP製標準品：As推定値16.9 µg/g，113-01-002，KRISS（韓国）製

2) 標準原液

As標準原液：100 µg/mL，JCSS化学分析用，関東化学（株）製

イットリウム（Y）標準原液：1000 µg/mL，原子吸光分析用，関東化学（株）製

3) 試薬

エタノール（95%），硝酸（比重1.42），塩酸，硝酸マグネシウム六水和物，ヨウ化カリウム，水素化ホウ素ナトリウム及び水酸化ナトリウム：特級，富士フィルム和光純薬（株）製

4) 試液

硝酸Mg溶液：硝酸マグネシウム六水和物10 gにエタノール

^a 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 当時：東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科

ールを加えて100 mLとした。

硝酸・塩酸混液：硝酸及び塩酸を，7：1，6：2又は4：4の割合で混合したものを用いた。

0.1 mol/L硝酸：硝酸6.4 mLに蒸留水を加えて1000 mLとした。

10%ヨウ化カリウム溶液：ヨウ化カリウム10 gに蒸留水を加えて100 mLとした。

1%水素化ホウ素ナトリウム溶液：水素化ホウ素ナトリウム10 g及び水酸化ナトリウム4 gに蒸留水を加えて1000 mLとした。

1.2 mol/L塩酸：塩酸100 mLに蒸留水を加えて1000 mLとした。

5) 標準溶液

As標準溶液：蒸留水，硝酸又は硝酸・塩酸混液を8 mLとり蒸留水で100 mLとしたもので，As標準原液を適宜希釈した。

Y標準溶液：Y標準原液を0.1 mol/L硝酸で10 ng/mLに希釈した。

3. 標準試料及び添加試料

1) 標準試料

PE製市販品AにPE製標準品を，PP製市販品BにPP製標準品をAsとして1.5 µg/gとなるように混合し，標準試料a，標準試料bとした。

2) 添加試料

各市販品にAs標準原液をAsとして1.5 µg/gとなるように加えて30分間放置し，添加試料A～Fとした。

4. 装置

FT-IR：(株)島津製作所製 IR Tracer-100

蛍光X線分析装置：(株)リガク製 PrimusIV

原子吸光分光光度計(AAS)：(株)日立ハイテクサイエンス製 Z-2000

水素化物発生装置：(株)日立ハイテクサイエンス製 HFS-3

MW：マイルストーンゼネラル(株)製 ETHOS One

ICP-MS：アジレント・テクノロジー(株)製 7900

5. 蛍光X線分析装置による元素分析

各市販品中の金属及び無機元素を蛍光X線分析装置で測定し，強度(kcps)を比較した。

測定対象元素：ナトリウム(Na)，マグネシウム(Mg)，アルミニウム(Al)，ケイ素(Si)，リン(P)，硫黄(S)，塩素(Cl)，カリウム(K)，カルシウム(Ca)，フッ素(F)，ホウ素(B)，チタン(Ti)，クロム(Cr)，マンガン(Mn)，鉄(Fe)，ニッケル(Ni)，銅(Cu)，亜鉛(Zn)，モリブデン(Mo)，コバルト(Co)の計20種類

測定条件：EZスキャンモード

6. AAS法

1) 試験溶液の調製

各標準試料又は各添加試料1 gをろつぽに入れ，硝酸Mg溶液10 mLを加え点火してエタノールを燃焼させた。冷後ホットプレート上で徐々に加熱した後，電気炉で灰化した。灰化物に塩酸3 mLを加え水浴上で溶解させ，冷後，蒸留水で20 mLとした。

2) 検量線用溶液の調製

ろつぽに硝酸Mg溶液を10 mL入れ，蒸留水で調製したAs標準溶液(10 µg/mL)を100，150及び200 µL加えて30分間放置後点火してエタノールを燃焼させた。以後試験溶液と同様に操作した。

3) 還元操作

検量線用溶液又は試験溶液を8 mLとり，塩酸及び10%ヨウ化カリウム溶液を各1 mL加えて蒸留水で20 mLに定容した。30分以内に水素化物発生装置を装着したAASで測定した。

4) AAS測定条件

Asホロカソードランプを用いフレーム法で測定した。ゼーマンバックグラウンド補正を採用した。

5) 水素化物発生装置の条件

試薬：1%水素化ホウ素ナトリウム溶液

1.2 mol/L塩酸

注入方式：ペリスタリックポンプによる連続フロー

流量：測定溶液 約12 mL/min

試薬 約8 mL/min

7. ICP-MS法

1) 試験溶液の調製

各標準試料又は各添加試料0.1 gをMW用分解容器に入れ，硝酸又は硝酸・塩酸混液(以下酸分解液とする)を8 mL加えMWで分解した。MW分解条件を表2に示した。冷後，溶液を蒸留水で100 mLに定容した。

表2. MWの分解条件

ステップ	時間 (分)	出力 (ワット)	溶液温度 (°C)	分解容器 温度 (°C)
1	3	1000	50	115
2	1	0	30	115
3	53	1000	220	115

2) 検量線用溶液の調製

試験溶液の調製に用いた酸分解液8 mLを蒸留水で100 mLとしたものを用いてAs標準溶液(10 µg/mL)を1 ng/mL～3 ng/mLに希釈し，検量線用溶液とした。

3) ICP-MS測定条件

測定モード：ヘリウムコリジョンモード

内部標準物質：ペリスタリックポンプによりY標準溶液

を導入した。

結果及び考察

1. 蛍光X線分析装置による元素分析

合成樹脂の分解の過程で、測定元素によっては共存元素の影響により回収率が低下することが指摘されている³⁾。そこで、蛍光X線分析装置により市販品を分析し、共存元素の種類を確認した。

検出された8元素 (Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn及びMo) について蛍光X線強度の測定結果を図1に示した。市販品D~Fでは、市販品A~Cに比べてTiの強度が20倍以上高かった。特に、市販品DではTiに加え、Fe, Cr等の強度が高かった。

合成樹脂の白色顔料として、二酸化チタンが用いられることがある。今回Ti強度の高かった市販品3種類はいずれも白色容器であるため、二酸化チタンが含まれていると推察した。一方、FeやCrは黄色~茶色系顔料として用いられることがあるが、市販品Dに用いられたとは考えにくく、これらの元素配合の目的は不明であった。

Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, F, B, Coの強度は6種類の市販品全てで低く、試料間において顕著な差はなかった。

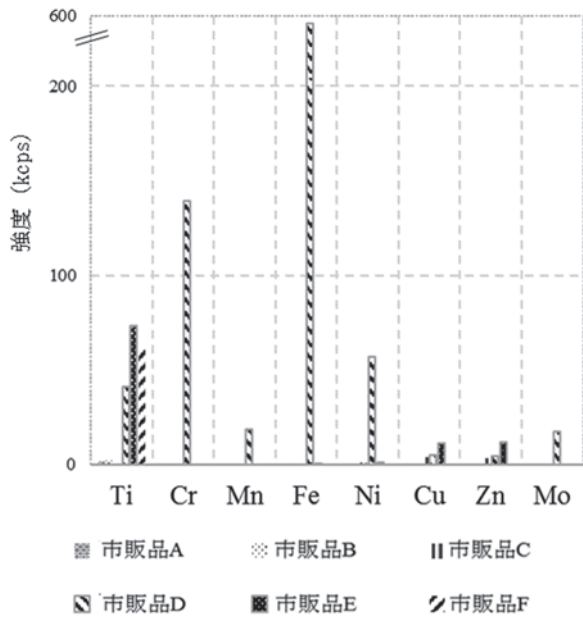


図1. 市販品の蛍光X線分析結果

2. AAS法

標準試料及び添加試料を硝酸Mg溶液存在下で灰化し、水素化物発生装置によりヒ化水素を発生させてAASで測定したときの添加回収試験結果を表3に示した。

標準試料及び添加試料A~Cでは回収率は80%以上と良好だった。しかし、太字で示した添加試料D~Fでは回収

率は54%以下と非常に低く、ばらつきもRSD10%以上と大きかった。

添加試料Dの材質はPE、添加試料E及びFの材質はPPであり、同じ材質の標準試料では回収率は良好であった。灰化条件は同一であるため、添加試料D~Fの合成樹脂部分は他の添加試料と同様に十分に分解できていると考えられる。しかし、添加試料D~Fは添加試料A~Cと異なりいずれも白色で、二酸化チタンが含まれていると推定される。Asは、Fe, Mn, Ti等の酸化物に吸着することが知られており^{4,5)}、今回、添加試料D~Fの回収率が低かった原因は、合成樹脂に含まれる二酸化チタンにAsが吸着したためと推察した。

表 3. AAS 法及び ICP-MS 法における As 回収率

試料	AAS 法		ICP-MS 法 (硝酸溶液)	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
標準試料 a	98.8	8.5	81.2	8.5
標準試料 b	82.5	3.0	88.4	5.9
添加試料 A	89.8	2.2	102.2	2.5
添加試料 B	99.9	5.3	102.4	1.1
添加試料 C	98.1	6.0	99.0	5.7
添加試料 D	53.8	10.0	48.7	10.6
添加試料 E	33.2	14.8	86.3	6.0
添加試料 F	38.3	15.7	93.7	7.3

n = 6

3. ICP-MS法

標準試料及び添加試料をMWで分解後、ICP-MSで測定する方法により、添加回収試験を行った。

1) 硝酸を使用したときの回収率

酸分解液として硝酸を使用したときのICP-MS測定結果を表3に示した。

AAS法で回収率の低かった添加試料D~Fのうち、添加試料E及びFでは回収率が86%以上と大きく上昇した。

AAS法では十分に脱離されなかったTi酸化物中のAsが、MWで長時間加熱することにより酸分解液中に溶出されたと考えられた。

一方、添加試料Dの回収率は改善しなかった。本試料はTi以外にFeを多く含んでおり、Fe酸化物にAsが吸着したことにより回収率が改善しなかったと推察した。そこで、MWで用いる酸分解液を検討した。MWでは硝酸だけでなく、硝酸と塩酸又は硫酸の混液等が酸分解液として用いられることがあるため、FeやCrの化合物を溶解する塩酸を用いた溶液を使用することとした。

2) 硝酸・塩酸混液における回収率 (添加試料D)

添加試料Dに酸分解液として硝酸・塩酸混液の比率を7:1、

表4. 添加試料D~Fの硝酸・塩酸混液におけるAs回収率

試料	硝酸：塩酸 (7：1)		硝酸：塩酸 (6：2)		硝酸：塩酸 (4：4)	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
添加試料D	64.2	2.8	73.7	9.3	58.7	6.8
添加試料E	—	—	82.9	1.9	—	—
添加試料F	—	—	92.5	1.9	—	—

$n = 6$

6：2又は4：4としたものを加えてMWで分解したときの回収率を表4に示した。

硝酸・塩酸混液とすることによりAsの回収率は改善され、硝酸・塩酸（6：2）の時に73.7%と最も高くなった。このことからTiやFeを多く含む容器におけるAsの回収率上昇のためには、硝酸・塩酸混液が有効と考えられた。ただし、塩素はICP-MSにおいてアルゴンと結合して干渉イオンを生成すること、硝酸濃度が低いと合成樹脂の分解が不十分となる可能性があることから、塩酸の比率は低いほうが望ましい。硝酸及び塩酸の比率は、今回最も回収率の高かった6：2を選択したが、これ以上塩酸の比率を高くすることは妥当ではないと考えられた。

3) 硝酸・塩酸混液における回収率（添加試料E及びF）

添加試料E及びFは添加試料Dと同様白色容器であり、元素分析を行わなければFe等の含有が不明であるため、添加試料Dとの区別が難しい場合がある。そこで、Fe酸化物を含有していなくても硝酸・塩酸混液でAsが回収されるか検討した。

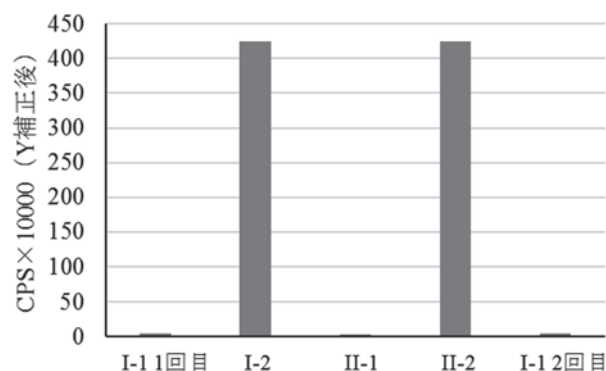
表4に示すように、硝酸・塩酸（6：2）混液における添加試料E及びFの回収率は82.9%及び92.5%であり、硝酸における回収率（86.3%及び93.7%）とほぼ同等であった。このことから、Tiを含む白色容器については、Feの含有は関係なく、硝酸・塩酸混液（6：2）の適用が可能と考えられた。

4) ICP-MSにおけるバックグラウンドの確認

ICP-MSによる測定において、塩素含有溶液では干渉イオンの影響によりAs測定時のバックグラウンドが上昇し、定量精度が低下するといわれている。しかし清涼飲料水の分析では、ヘリウムガスによるコリジョンモードを用いることにより、塩酸混液でも良好な回収率が得られたことが報告されている^{6,7)}。そこで、酸分解液として硝酸・塩酸混液（6：2）を使用した場合の塩酸濃度（100 mL中に塩酸2 mLを含む）におけるバックグラウンドへの影響の有無を確認した。

I-1：100 mL中に硝酸8 mLを含む溶液、II-1：100 mL中に硝酸6 mL、塩酸2 mLを含む溶液、I-2：I-1で調製したAs標準溶液（1 ng/mL）、II-2：II-1で調製したAs標準溶液（1 ng/mL）の4種類をICP-MSで測定し、Asの分子量75の強度（CPS）から塩素によるバックグラウンドへの影響を確認した結果を図2に示した。

I-1及びII-1のCPS強度を内部標準物質Yで補正した値はほぼ同等であり、塩酸添加によるバックグラウンドの上昇は認められなかった。またI-1について、最初に測定したとき（1回目）と、塩酸含有溶液（II-1及びII-2）注入後に測定したとき（2回目）の強度もほぼ同等であり、塩酸含有溶液が他の測定溶液のバックグラウンドに影響を及ぼすことはないと考えられた。そして、I-2及びII-2の強度もほぼ同程度で、I-1及びII-1の強度の100倍程度を示しており、今回測定したAs濃度1 ng/mLでは、硝酸・塩酸（6：2）混液を使用しても測定への影響はないと考えられた。



I-1：100 mL中に硝酸8 mL含有溶液
 II-1：100 mL中に硝酸6 mL、塩酸2 mL含有溶液
 I-2：I-1で調製したAs標準溶液（1 ng/mL）
 II-2：II-1で調製したAs標準溶液（1 ng/mL）

図2. ICP-MSにおいて標準溶液中の塩素の濃度がAs強度に与える影響

ま と め

乳等の容器包装のAs試験法について、硝酸マグネシウム・エタノール溶液存在下で灰化し、水素化物発生装置付AASで測定する方法（AAS法）、及び、MWで分解後、ICP-MSで測定する方法（ICP-MS法）を検討した。AAS法は、Tiを含む白色容器を除き、適用可能であると考えられた。ICP-MS法では、硝酸で分解する場合はAAS法で適用可能な試料に加え一部の白色容器で適用可能であった。硝酸・塩酸混液でTiを含む試料を分解する場合は、さらにFe等を含む試料でも良好な回収率が得られ、多くの乳製品用容器包装に対して有効な試験法と考えられた。

文 献

- 1) 食品, 添加物等の規格基準, 昭和34年12月28日, 厚生労働省告示第370号, 令和2年12月4日.
- 2) 厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官: 生食発第1130第1号, 食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について(通知), 平成29年11月30日.
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解2020, 639-640, 2020, 金原出版, 東京.
- 4) 市側大稀, 塩盛弘一郎, 大榮 薫: 科学・技術研究, **8**, 23-29, 2019.
- 5) 柳田友隆, 江 輝宋, 中村未来: 水環境学会誌, **36**, 149-155, 2013.
- 6) 岩佐泰恵, 赤城浩一: 福岡市保健環境研所報, **37**, 71-73, 2012.
- 7) 森居京美, 木本聖子, 城山二郎, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, **44**, 58-61, 2010.

Improved Arsenic Testing Method for Containers/Packages such as Milk

Nahoko HANEISHI^a, Mami OGIMOTO^b, Kumi SUZUKI^a, Mitsuhide YOSHIKAWA^a, Chigusa KOBAYASHI^a, and Kenji OTSUKA^a

To improve the arsenic test for containers/packages, such as milk, this study investigated two methods, including measurement by atomic absorption spectrophotometer with hydride generator after sample decomposition in the presence of magnesium nitrate ethanol solution and measurement by inductively coupled plasma mass spectrometry after sample decomposition by microwave irradiation. The recovery rate of the first method was >80%, except for the samples that contained titanium and iron, and that of the second method was improved using a mixture of nitric and hydrochloric acids, as the acid decomposition solution. Those methods were considered applicable as an alternative to the official method because of the short test time and the absence of harmful gases.

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out