

## 112 ホウ酸

Boric Acid

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> : 77.83

### 1. 試験法の概要<sup>1)</sup>

食品中のホウ酸は、試料を直接 2-エチル-1,3-ヘキサジオール（以下 EHD という）でキレート抽出した後、非水条件下でプロトン化クルクミン発色を行い比色法で定量する。

### 2. 試験法（比色法）

#### （1）検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

#### （2）試料液の調製

試料約 10g を精密に量り、水 3ml を加えた後、濃塩酸 1ml、5% EHD 溶液 30ml を加えホモジナイザーで 2 分間磨砕する。次いで無水硫酸ナトリウム<sup>2)</sup> 20g を加え再び軽くホモジナイズした後、上澄液を分取する。残留物は 5% EHD 溶液 30ml ずつで 2 回同様にホモジナイズし、上澄液を分取し、はじめの液に合わせ、5% EHD 溶液を加えて全量を正確に 100ml とし、試料液とする。

#### （3）検量線用標準液の調製

ホウ酸 EHD 標準溶液を 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5ml 及び 3ml をそれぞれ 25ml の目盛り付きポリプロピレン製試験管<sup>3)</sup>に正確に量り、5% EHD 溶液を加えてそれぞれ正確に 3ml とし、検量線用標準液とする（これらの試験管はそれぞれホウ酸として 0, 1, 2, 3, 4, 5 $\mu$ g 及び 6 $\mu$ g を含む）。

#### （4）測定法

##### ① 発色条件

試料液 3ml を 25ml の目盛り付きポリプロピレン製試験管に正確に採り、クルクミン試液 1ml 及び濃硫酸 0.5ml をそれぞれ正確に加え、栓をしてよく混合する。ときどき混合しながら

室温で30分間放置した後、水3ml<sup>4)</sup>を加えて振り混ぜ、次いでアセトンで全量25mlとして発色させる。

## ② 検量線

検量線用標準液を上記の条件で発色させ、波長550nmにおける吸光度を測定し、検量線を作成する。

## ③ 定量条件

対照として、5% EHD溶液3mlを用いて上記と同様に操作し空試験液を用い、①の操作で発色した液の波長550nmにおける吸光度を測定し、別に作成した検量線によって試料液中のホウ酸濃度A ( $\mu\text{g/ml}$ )を求める。

## (5) 試料中の含有率の計算式

検量線から、試料液3mlの試験管中のホウ酸含有量(A)を求め、次式から試料中のホウ酸濃度(g/kg)を求める<sup>5)-7)</sup>。

$$\text{試料中のホウ酸濃度 (mg/g)} = \frac{A}{3 \times 10 \times W}$$

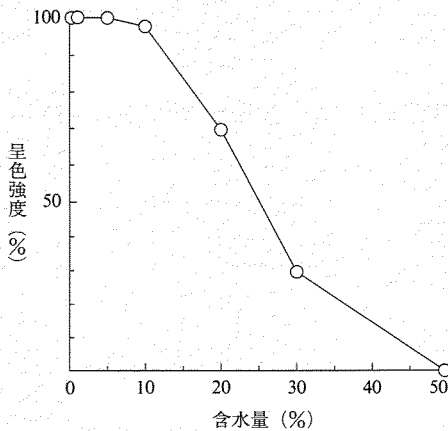
W：試料の採取量 (g)

## 試薬・試液

1. 2-エチル-1,3-ヘキサジオール (EHD)：[1級]
2. クルクミン：[特級]
3. ホウ酸：特級品をデシケーター(硫酸)中で5時間乾燥したものを用いる。
4. 5% EHD溶液：EHD50mlをn-ヘキサン・酢酸ブチル混液(4:1)に溶かし、全量1,000mlとする<sup>8)</sup>。
5. クルクミン試薬：クルクミン375mgを酢酸に溶かし、全量100mlとする。
6. ホウ酸標準原液(ホウ酸1mg/ml)：ホウ酸100mgを水に溶かし全量を100mlとする。
7. ホウ酸標準溶液(ホウ酸100 $\mu\text{g/ml}$ )：ホウ酸標準原液10mlに水を加え全量を100mlとする。
8. ホウ酸EHD標準原液(ホウ酸10 $\mu\text{g/ml}$ )：ホウ酸標準溶液10mlを分液漏斗に採り、濃塩酸1mlを加え、5% EHD溶液30mlずつで3回抽出し、二層分離後有機層を分取し合わせる。有機層に無水硫酸ナトリウム少量を加え脱水した後ろ過し、ろ液に5% EHD溶液を加えて全量100mlとする。
9. ホウ酸EHD標準溶液(ホウ酸2 $\mu\text{g/ml}$ )：ホウ酸EHD標準原液20mlに5% EHD溶液を加えて全量100mlとする。

[注]

- 1) 灰化操作がないため、一度に多数の試料を処理でき、簡易で迅速な方法である。
- 2) プロトン化クルクミン発色法における、水分による影響を検討した結果を注図 112-1 に示した。試験溶液中に水分を 5%以上含むと、呈色度が減少することが明らかになった。したがって、試験溶液は無水硫酸ナトリウムで脱水し、非水条件下での発色を行う。
- 3) ガラス器具からはホウ素を溶出するためポリプロピレン製試験管を用いる。
- 4) プロトン化クルクミンの分解剤として水 3ml を用いる。
- 5) 添加回収実験の結果を注表 112-1 に示す。
- 6) 本法の定量限界は、 $0.3\mu\text{g/g}$  である。
- 7) 20 検体の定量に要する時間は約 3 時間であった。
- 8) *n*-ヘキサン・酢酸ブチル混液 (4:1) の方がクロロホルムより層分離が良好である。



水分 0~50% 及びホウ酸  $3\mu\text{g}$  を含む 5% EHD 溶液 1ml を用いた。  
水分 0% の反応液での呈色強度を 100% とした。

注図 112-1 発色に及ぼす水分の影響

注表 112-1 ホウ酸の食品からの添加回収率

検体	ホウ酸		回収率 (%)
	添加量 ( $\mu\text{g/g}$ )	検出量 ( $\mu\text{g/g}$ )	
殻付き冷凍エビ	0	2.9	—
	10	12.7	98.0
	100	102.2	99.3
塩蔵くらげ	0	40.5	—
	10	50.3	98.0
	100	139.5	99.0
寒天	0	864.9	—
	500	1,360.9	99.2
牛乳	0	1.0	—
	10	10.7	97.0
	100	99.3	98.3
豆乳	0	9.6	—
	10	19.3	97.0
	100	108.2	98.6
赤ワイン	0	23.8	—
	10	33.5	97.0
	100	122.6	98.8

いずれも 3 試行の平均値