

酸化防止剤

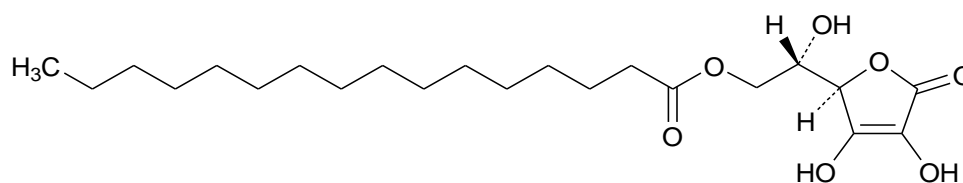
## L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及び

## L-アスコルビン酸ステアリン酸エステル

L-Ascorbyl Palmitate and L-Ascorbic Stearate

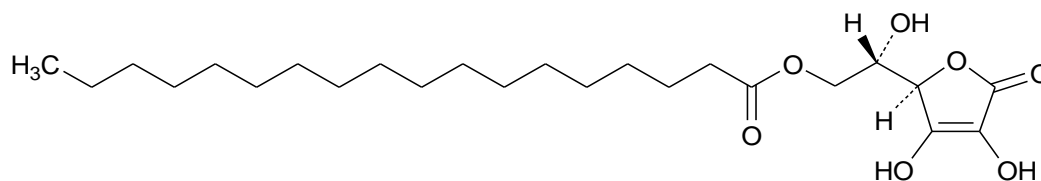
L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル

別名：ビタミンCパルミテート

 $C_{22}H_{38}O_7$  : 414.53

L-アスコルビン酸ステアリン酸エステル

別名：ビタミンCステアレート

 $C_{24}H_{42}O_7$  : 442.59

## 1. 分析法の概要

食品中のL-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルは、液体クロマトグラフィーにより酸化型を含めた総L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及び総L-アスコルビン酸ステアリン酸エステルとして定量する。(2021年改正)

## 2. 分析法（液体クロマトグラフィー）

## (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) 試験溶液の調製

試料<sup>1)</sup>を細切又はすりつぶした後、その約5 gを50mLの遠心管に精密に量り、アスコルビン酸<sup>2)</sup> 0.5 g及びエタノール20mLを加え、5分間振とう後、遠心(5分間、3000回転/分)し、上清を50mLのメスフラスコに入れる。沈殿物にエタノール15mLを加え、同様の操作を繰り返す。上清を先の上清と合わせ、0.05mol/L酢酸緩衝液(pH4.0)<sup>3)</sup>を加えて正確に50mLとする。この液をガラス繊維ろ紙<sup>4)</sup>でろ過する。ろ液2mLを正確に量り、あらかじめメタノール10mL及び0.05mol/L酢酸緩衝液(pH4.0) 5mLで洗浄した逆相固相抽出カラム<sup>5)</sup>に静かに注入し、1~2mL/分の速度で流出させる。流出液は捨て、カラムは水10mL及びエタノール/0.05mol/L酢酸緩衝液(pH4.0)混液(1:1) 5mLを流して洗浄した後、共栓付試験管にメタノール4mLで溶出する<sup>6)</sup>。溶出液に1%DL-ホモシステイン溶液<sup>7)</sup> 1mLを加え、40°Cで15分間加温した後、1%アスコルビン酸・メタノール試液<sup>8)</sup> 1mLを加え、メタノールを加えて正確に10mLとし、メンブランフィルター(0.45µm)を用いてろ過し<sup>9)</sup>、試験溶液とする。

## (3) 検量線用標準溶液の調製<sup>10)</sup>

L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステル各0.0100 gを量り、1%アスコルビン酸・メタノール試液<sup>8)</sup> 10mLを加え、メタノールを加えて溶かして正確に100mLとし、標準原液とする(各濃度100µg/mL)。

標準原液1、2.5mL及び5mLをそれぞれ正確に量り、1%アスコルビン酸・メタノール試液<sup>8)</sup> 5mLをそれぞれに加え、メタノールを加えてそれぞれ正確に50mLとし、検量線用標準溶液とする(各濃度2~10µg/mL)。さらに、2µg/mLの検量線用標準溶液をそれぞれ1mL、2.5mL及び5mL正確に量り、1%アスコルビン酸・メタノール試液<sup>8)</sup> 1mLをそれぞれに加え、メタノールを加えてそれぞれ正確に10mLとし、検量線用標準溶液とする(各濃度0.2~1µg/mL)。

## (4) 測定法

### ① 測定条件<sup>11)</sup>

紫外吸光光度検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤<sup>12)</sup>：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径4.6~6.0mm、長さ150~250mm

カラム温度：35°C

移動相：メタノール/0.05mol/Lリン酸二水素ナトリウム緩衝液(pH2.0)混液(85:15)

流速：1.0mL/分

測定波長：254nm

注入量：20µL

② 検量線<sup>13)</sup>

検量線用標準溶液を液体クロマトグラフに注入し、ピーク高さから検量線を作成する。

③ 定量<sup>14)</sup>

試験溶液を液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さから検量線によって試験溶液中のL-アスコルビン酸パルミチン酸エステル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を求め、次式によって試料中のL-アスコルビン酸パルミチン酸エステル含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) 及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステル含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) を計算する。

$$\begin{aligned} & \text{総L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル含量 (g/kg)} \\ &= \frac{C_p \times 10 \times 50}{W \times 2} \times \frac{1}{1000} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \text{総L-アスコルビン酸ステアリン酸エステル含量 (g/kg)} \\ &= \frac{C_s \times 10 \times 50}{W \times 2} \times \frac{1}{1000} \end{aligned}$$

$C_p$  : 試験溶液中のL-アスコルビン酸パルミチン酸エステル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

$C_s$  : 試験溶液中のL-アスコルビン酸ステアリン酸エステル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

$W$  : 試料の採取量 (g)

④ 定量限界 0.01 g/kg

試薬・試液等

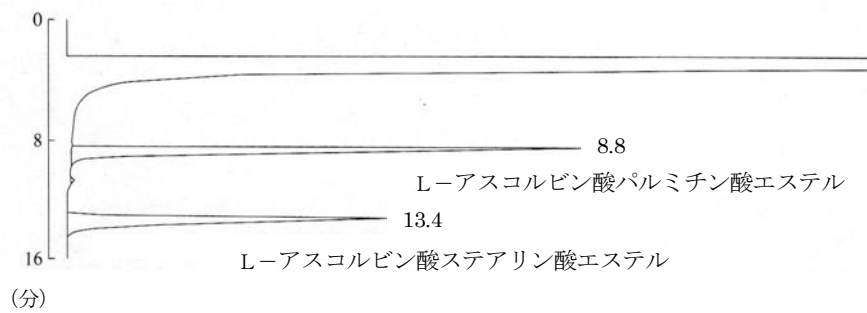
1. L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル：市販品を用いる。
2. L-アスコルビン酸ステアリン酸エステル：市販品を用いる。
3. アスコルビン酸：[特級]
4. エタノール：[特級]
5. 酢酸：[特級]
6. 酢酸ナトリウム：[特級]
7. 0.05mol/L酢酸緩衝液 (pH4.0)：0.05mol/L酢酸ナトリウム溶液に 0.05mol/L酢酸溶液を加え、pH4.0に調整する。
8. メタノール：[特級]
9. 逆相固相抽出カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル固相抽出カラム
10. DL-ホモシステイン：[特級]
11. 1%DL-ホモシステイン溶液：DL-ホモシステイン 100mg を水 10mL に溶かす。
12. 1%アスコルビン酸・メタノール試液：アスコルビン酸 1 g をとり、水 10mL に溶解し、メタノールを加えて 100mL とする。

13. リン酸二水素ナトリウム：[特級]
14. リン酸：[特級]
15. 0.05mol/Lリン酸二水素ナトリウム緩衝液（pH2.0）：リン酸二水素ナトリウム 7.80 g  
を水 900mL に溶かし、リン酸で pH を 2.0 に調整し、水を加えて 1000mL とする。

[注]

- 1) 液体試料の場合、そのまま約 5 g を遠心管にとる。
- 2) 抽出効率を上げるために加える。通常 0.5～1 g の添加量で効果を示す。
- 3) アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びアスコルビン酸ステアリン酸エステルの逆相固相抽出カラムへの保持力は、酸性側で強くなる傾向にあるため、溶液を逆相固相抽出カラムに通す前に、0.05mol/L酢酸緩衝液（pH4.0）で酸性とする。
- 4) ガラス繊維ろ紙（粒子保持能：1.6 $\mu$ m）などが使用できる。
- 5) 夾雑物の少ないときは、この操作は省略できる。
- 6) L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルは、メタノール量 3 mL でほぼ 100%溶出する。
- 7) L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルは、酸化型では紫外部に吸収を持たないため、還元剤としてホモシステインを加えて酸化型のものを還元型にする。
- 8) L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルの分解を防ぐために加える。
- 9) 遠心して試験溶液を調製する方法もある。
- 10) 検量線用標準溶液の数は、直線性が確認できれば、適宜調整してもよい。
- 11) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。
- 12) 分析の際は、被験物質のピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 13) 必要に応じて、検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。
- 14) L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルの混合液を分離した液体クロマトグラムを注図 1 に示す。検量線は 0.2～10 $\mu$ g/mL の範囲で直線関係がある。

なお、食用植物油、牛脂及びポテトチップスに、L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル又はL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルを、0.02 g/kg 又は 1.5 g/kg 添加した時の回収率は 90～105%（n = 3）であった。また、食用植物油、ポテトチップス及び錠剤型食品に、L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル又はL-アスコルビン酸ステアリン酸エステルを、0.01 g/kg 又は 0.1 g/kg 添加した時の回収率は 76～100%（相対標準偏差 0.2～8.1%）（n = 5 の平均）であった。



<測定条件>

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル      流速：1.0mL/分  
 カラム管：内径 4.6mm、長さ 250mm      測定波長：254nm  
 カラム温度：35°C      注入量：20μL  
 移動相：メタノール/0.05mol/Lリン酸二水素ナトリウム緩衝液 (pH2.0) 混液 (85 : 15)

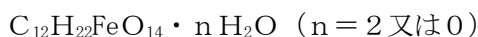
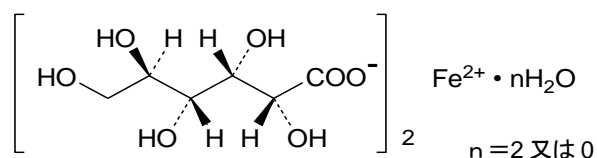
注図 1      L-アスコルビン酸パルミチン酸エステル及びL-アスコルビン酸  
 ステアリン酸エステル混合液の液体クロマトグラム

色調安定剤

## グルコン酸第一鉄

Ferrous Gluconate

別名：グルコン酸鉄



### 1. 分析法の概要

食品中のグルコン酸第一鉄は、原子吸光光度法により鉄として定量する。必要があれば分子量比を乗じて、グルコン酸第一鉄の量として求める。食品中には天然の鉄化合物が広く分布している。したがって、定量値は食品由来の鉄と添加されたものとの合計値である<sup>1)</sup>。(2021年改正)

### 2. 分析法（原子吸光光度法）

#### (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) 試験溶液の調製

次のいずれかの方法<sup>2)</sup>により試験溶液を調製する。

##### ① 湿式灰化法<sup>3)</sup>

試料約 10 g を精密に量り<sup>4)</sup>、250～500mL の分解フラスコ<sup>5)</sup>に入れ、液体食品以外には水約 30mL を加える。次に硝酸 30mL を加えて振り混ぜ、放置した後、穏やかに加熱し、激しい反応がおさまれば、冷後、硫酸 10mL を加え、再び穏やかに加熱する。加熱のはじめに発泡が激しい場合には、1-オクタノール 2～3 滴を加える。液が暗色になりはじめたら硝酸 2～3 mL ずつを追加し、加熱を続ける。無水硫酸の白煙が生じ、液が微黄～無色になったとき、加熱を止める。冷後、少量の水を用いて磁製蒸発皿に移し、これを熱板上で蒸発乾固する。残留物に塩酸（1→4）10mL を加え、加温してかき混ぜ、水を用いて 100mL のメスフラスコに移し、水を加えて正確に 100mL とし、試験溶液とする<sup>6)</sup>。

## ② 乾式灰化法<sup>7)</sup>

試料約 10 g を精密に量り<sup>4)</sup>、石英又は磁製のつぼに入れ、熱板等のヒーター上で加熱乾燥し<sup>8)</sup>、更に加熱を続けて炭化する。次に電気炉に入れ、温度を上げて 500～550℃<sup>9)</sup>とし、灰化するまで加熱する。24 時間加熱しても灰化しない場合は、硝酸（1→2）2～5 mL を加えて潤し、乾燥<sup>10)</sup>した後、灰化を続ける。灰化不十分<sup>11)</sup>のときは硝酸（1→2）2～5 mL ずつを加え、同様の操作を完全に灰化するまで繰り返す。冷後、残留物に塩酸（1→4）10 mL を加え、加温してかき混ぜ、水を用いて 100 mL のメスフラスコに移し、水を加えて正確に 100 mL とし、試験溶液とする<sup>6)</sup>。

また、①及び②のいずれの方法も、試料を用いずに同様に操作して、空試験溶液とする。

## (3) 検量線用標準溶液の調製

鉄標準原液 1 mL を正確に量り、100 mL のメスフラスコに入れ、塩酸（1→40）を加えて正確に 100 mL とし、標準溶液とする（濃度 10 µg/mL）。標準溶液 1、2、5、8 mL 及び 10 mL をそれぞれ正確に量り、塩酸（1→40）を加えてそれぞれ正確に 10 mL とし、検量線用標準溶液とする（濃度 1～10 µg/mL）。

## (4) 測定法

### ① 測定条件

原子吸光光度計を用い、次の条件で測定する。

光源ランプ：鉄中空陰極ランプ

分析線波長：248.3 nm<sup>12)</sup>

バーナー：スリットバーナー

可燃性ガス：アセチレン

支燃性ガス：空気

### ② 検量線

検量線用標準溶液それぞれにつき、吸光度を測定し、検量線を作成する。

### ③ 定量<sup>13)</sup>

試験溶液及び空試験溶液につきその吸光度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中の鉄濃度（µg/mL）を求め、次式によって試料中の鉄含量（g/kg）を計算する。

$$\text{鉄含量 (g/kg)} = \frac{C \times 100}{W \times 1000}$$

C：試験溶液中の鉄濃度（µg/mL）

W：試料の採取量（g）

$$\text{グルコン酸第一鉄含量 (g/kg)} = \text{鉄含量 (g/kg)} \times 7.989$$

④ 定量限界 鉄として 0.01 g/kg

試薬・試液等

1. 鉄標準原液<sup>14)</sup>：市販の原子吸光度分析に適した標準液 (Fe : 1000 $\mu$ g/mL) を用いる。
2. 硝酸：[有害金属測定用]
3. 硫酸：[有害金属測定用]
4. 1-オクタノール：[特級]
5. 塩酸：[有害金属測定用]

[注]

- 1) 本法は、グルコン酸第一鉄を測定対象としているが、鉄強化剤（水溶性鉄：塩化第二鉄、クエン酸第一鉄ナトリウム、クエン酸鉄、クエン酸鉄アンモニウム、乳酸鉄、硫酸第一鉄。不溶性鉄：ピロリン酸第二鉄。有機鉄：ヘム鉄、フェリチン、ラクトフェリン。）、着色料の三二酸化鉄及び鉄クロロフィリンナトリウムも本法により鉄として測定される。
- 2) これら 2 法の他に、低温灰化装置を用い減圧下高周波エネルギーによって低温で試料を酸化する方法もある。
- 3) 湿式灰化法は硝酸、硫酸、過塩素酸、過酸化水素等の酸化剤を適宜配合して用い、比較的低温で酸化分解する方法である。本法は試薬による汚染が第一の欠点である。また、脂肪性の検体は分解し難い。
- 4) 試料の量が多く灰化が困難な場合等は、試料の採取量を適宜減らしてもよい。ただし、十分な回収率等が得られることを確認できる場合に限る。
- 5) 試験に用いるガラス器具はすべて使用前に硝酸（1→3）で十分洗うか、又は硝酸（1→3）に一夜つけておく。
- 6) 試験溶液中の鉄濃度が検量線の範囲を超える場合は、塩酸（1→40）で適宜希釈する。
- 7) 乾式灰化法は試料を強熱して有機物を空気酸化し、揮発させる方法である。本法は、操作の管理が湿式灰化法のように煩雑でないので、比較的多数の試料を同時に操作でき、大量の試料を逐次追加して灰化することもできる。更に酸化物（分解剤）を用いないでも行えるので、これら試薬からの汚染の危険が少ない。
- 8) オリーブのように水分及び油を含むものは、不用意に加熱すると油が飛び散ることがあるため、まず水が蒸発する程度の温度で加熱し、その後温度を上げる。
- 9) 湿式法に比べて灰化温度が高いため、ほとんどすべての元素について揮散のおそれがある。Hg は完全に揮散し、Cd、Pb、Zn、Sn、As、Ca 等は 500 $^{\circ}$ C 以上で揮散する。とくにハロゲンが存在すると Zn、Sn、Sb、As 等が揮散しやすい。しかし、550 $^{\circ}$ C 以下の灰化では Fe に関しては心配ない。
- 10) 乾固直前に内容物が飛び散り易いので、水浴を用いる場合はよいが、熱板上で行うときは、高温になり過ぎないように注意する。



- 11) 不完全灰化によって残存する炭素は、鉄に対しての吸着力が大きいので、試料を完全に灰化することが必要である。
- 12) 他の元素の影響を受ける場合は、鉄の他の波長を用いても良い。
- 13) オリーブに、グルコン酸第一鉄を 0.01 g/kg 及び 0.16 g/kg 添加した時の回収率は、湿式灰化法ではそれぞれ 91%及び 105%（相対標準偏差 1.8%及び 9.7%）、乾式灰化法ではそれぞれ 91%及び 93%（相対標準偏差 1.3%及び 1.5%）（n = 5 の平均）であった。
- 14) 鉄 1.00 g を量り、硝酸（1 → 4）100mL を加えて溶かし、煮沸して二酸化窒素を追い出し、冷後、1000mL のメスフラスコに移し、水を加えて正確に 1000mL としたもの（濃度 1000µg/mL）を用いてもよい。

着色料

## 二酸化チタン

Titanium Dioxide

TiO<sub>2</sub> : 79.87

### 1. 分析法の概要

食品中の二酸化チタンは、灰化後、硫酸に溶かし、過酸化水素を作用させて生ずるペルオキシチタン酸が呈する黄色を測定する比色法により定量する。(2021年改正)

### 2. 分析法(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<sup>1)</sup>。

#### (2) 試験溶液の調製

試料約5gを精密に量り、灰化容器<sup>2)</sup>に入れ、徐々に加熱して炭化させる<sup>3)</sup>。残留物がほとんど白色となるまで550℃～650℃に強熱して灰化させる<sup>4)</sup>。黒色の炭素粒が残っている場合は同じ条件で再灰化を行う<sup>5)</sup>。冷後、無水硫酸ナトリウム0.75g及び硫酸5mLを加え、注意しながら徐々に加熱して残留物を完全に溶かす<sup>6)</sup>。冷後、灰化容器内の残留物を、あらかじめ水を約10mL入れた50mLメスフラスコに徐々に加え<sup>7)</sup>、さらに灰化容器内を水約10mLずつで3回洗い、洗液はメスフラスコに加え、水を加えて正確に50mLとし、試験溶液とする。また、試料を用いずに同様に操作して、空試験溶液とする。

#### (3) 検量線用標準溶液の調製<sup>8)</sup>

チタン標準原液(濃度1000µg/mL)10mLを正確に量り、100mLメスフラスコに入れ、硫酸(1→10)を加えて正確に100mLとし、チタン標準溶液とする(濃度100µg/mL)。チタン標準溶液1.5、5、10及び15mLをそれぞれ正確に量り、硫酸(1→10)を加えてそれぞれ正確に25mLとし、検量線用標準溶液とする(濃度6～60µg/mL)。

#### (4) 測定溶液の調製

検量線用標準溶液及び試験溶液<sup>9)</sup>を正確に10mLずつ量り、それぞれに、過酸化水素0.2mLを加え、よく振り混ぜたのち、測定溶液とする<sup>10)</sup>。硫酸(1→10)10mLに過酸化水素0.2mLを加え、よく振り混ぜた液を対照として、吸光度を測定する。

#### (5) 測定法

##### ① 測定条件

分光光度計を用い、波長 408nm における吸光度を測定する。

② 検量線

検量線用標準溶液の測定溶液それぞれにつき吸光度を測定し、得られた吸光度から検量線を作成する。

③ 定量<sup>1)</sup>

試験溶液及び空試験溶液につきその吸光度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中のチタン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を求め、次式<sup>2)</sup>によって試料中の二酸化チタン濃度 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) を計算する。

$$\text{二酸化チタン含量 (g/kg)} = \frac{C}{W \times 20} \times 1.669$$

C : 試験溶液中のチタン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

W : 試料の採取量 (g)

④ 定量限界 0.1 g/kg

試薬・試液等

1. チタン標準原液：市販の吸光度分析に適した標準液 (Ti : 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を用いる。
2. 無水硫酸ナトリウム：硫酸ナトリウム [特級]
3. 硫酸：[特級]
4. 過酸化水素：[特級]

[注]

- 1) 可能な限り細切して試料とする。
- 2) ふた付きの磁製るつぼ (50~100mL) が適当である<sup>文献1)</sup>。
- 3) 熱板や電熱器など 500°C程度まで加熱できるものを用いる。
- 4) 試料に応じ、灰化を十分に作る。一般に 550°Cを超えると、無機成分のるつぼの上葉への吸着が大きくなるといわれている<sup>文献2)</sup>。
- 5) 灰化は完全に行う必要がある。炭化した試料が残ったまま続けないこと。炭化した試料が観察される場合は硫酸で潤し熱板上で加熱し硫酸を揮散させた後、あるいは炭化している部分をガラス棒でつぶした後に再度電気炉中で灰化するとよい。それでも灰化しきれないときは試料の採取量を必要に応じて減ずる<sup>文献1、文献2)</sup>。試料によっては、白色の灰化物が得られないものがある。
- 6) 約 300°Cで 30 分程度加熱すると、残留物を完全に溶かすことができる。フタをし、温度が下がらないように砂浴等を用いて加熱するとよい。
- 7) 発熱するのでメスフラスコを冷やしながら注意して操作する。
- 8) 市販の吸光度分析に適した二酸化チタンを用い、検量線用二酸化チタン標準溶液を作成

して定量に用いてもよい。その場合、検量線用二酸化チタン標準溶液は以下の方法により調製する。

二酸化チタン 10mg を正確に量り、灰化容器に入れ、無水硫酸ナトリウム 3 g 及び硫酸 10mL を加え、ふたをした後、注意しながら徐々に加熱して残留物を完全に溶かす<sup>6)</sup>。放冷後、ふたを開け、灰化容器内の内容物を、あらかじめ水を約 50mL 入れた 100mL メスフラスコに徐々に加え<sup>7)</sup>、さらに灰化容器内を水約 10mL ずつで 3 回洗い、洗液はメスフラスコに加え、水を加えて正確に 100mL とし、二酸化チタン標準原液とする（濃度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。二酸化チタン標準原液 2.5、5、10 及び 20mL をそれぞれ正確に量り、硫酸（1→10）を加えてそれぞれ正確に 25mL とし、検量線用二酸化チタン標準溶液とする（濃度 10～80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。

この場合、(5) ③定量法の項では、試験溶液の測定溶液の吸光度を測定し、二酸化チタン検量線から試験溶液中の二酸化チタン濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を求め、次式によって試料中の二酸化チタン濃度（ $\text{g}/\text{kg}$ ）を計算する。

$$\text{二酸化チタン含量 (g/kg)} = \frac{C}{W \times 20}$$

C：試験溶液中の二酸化チタン濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

W：試料の採取量（g）

なお、チタン標準原液から調製した検量線用標準溶液を用い、検量線用二酸化チタン標準溶液を評価したところ、理論値の $\pm 0.2\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲内であった。

- 9) 試験溶液が着色している場合は、ろ紙（5種Bのろ紙もしくは同等品）でろ過してから用いる。
- 10) 測定溶液が検量線の範囲を超えた場合は、試験溶液を硫酸（1→10）で希釈した液を試験溶液とし、測定溶液を調製する。
- 11) ホワイトチョコレート、グミ、クリームサンドビスケット、マシュマロ及びチーズに、二酸化チタンを、0.1 g/kg 又は 1 g/kg 添加した時の回収率は 98～115%（ $n = 5$ の平均）であった。また、マシュマロ、ホワイトチョコレート及びチーズに、二酸化チタンを、0.1 g/kg 又は 0.5 g/kg 添加した時の回収率は 91～106%（相対標準偏差 0.1～0.8%）（ $n = 5$ の平均）であった。
- 12) 式中の係数 1.669 は、二酸化チタンの分子量 79.867 / チタンの原子量 47.867 を示す。

#### [文献]

- 1) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針食品添加物編、211-214（2003）、(社)日本食品衛生協会
- 2) 谷村顕雄ら監修：食品中の食品添加物分析法解説書、327-332（1989）、(株)講談社

## 参考

### 二酸化チタン確認分析法

#### 1. 分析法の概要

食品中の二酸化チタンは、誘導結合プラズマ発光分光分析法又は蛍光X線分析法により確認を行う。(2021年設定)

#### 2. 分析法

分析法A (誘導結合プラズマ (ICP) 発光分光分析法)

##### (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) 試験溶液の調製

二酸化チタン分析法の(2)試験溶液の調製を準用する。

##### (3) 定性用標準溶液及び検量線用標準溶液の調製<sup>1)</sup>

二酸化チタン分析法の(3)検量線用標準溶液の調製を準用し、定性に適した濃度(6 µg/mL等)の定性用標準溶液及び検量線用標準溶液(濃度6~60 µg/mL)を調製する。

##### (4) 測定法

###### ① 測定条件<sup>2)</sup>

ICP発光分光分析装置を用い、原子発光スペクトルを分析し、次の条件によってチタンの発光強度を測定する。

測定波長：334.94nm、336.12nm又は337.28nm<sup>3)</sup>

###### ② 定性

試験溶液及び定性用標準溶液を測定し、定性用標準溶液で検出される原子発光スペクトル線(334.94nm、336.12nm及び337.28nm)が、試験溶液で検出されることを確認する。

###### ③ 定量

二酸化チタン分析法により試料から検出された場合、その定量値の確認のため、必要に応じて定量を行う。試験溶液及び空試験溶液につきチタンの発光強度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中のチタン濃度(µg/mL)を求め、二酸化チタン分析法の2.(5)③定量の項の式によって試料中の二酸化チタン濃度(g/kg)を計算する<sup>4)</sup>。

分析法B (蛍光X線分析法)

##### (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) 試験溶液の調製

二酸化チタン分析法の(2) 試験溶液の調製を準用する。

(3) 標準溶液の調製<sup>1)</sup>

二酸化チタン分析法の(3) 検量線用標準溶液の調製を準用し、定性に適した濃度(6 µg/mL等)の標準溶液を調製する。

(4) 測定法

① 測定条件<sup>2)</sup>

試験溶液及び標準溶液を、それぞれポリプロピレンを張った試料容器に入れ<sup>5)</sup>、蛍光X線分析装置を用い、大気雰囲気下で測定する。

② 定性

試験溶液及び標準溶液を測定し、標準溶液で検出されるTiK $\alpha$  (4.51keV)及びTiK $\beta$  (4.90keV)の両方あるいはTiK $\alpha$ が、試験溶液において検出されること及びその強度を確認する。

[注]

1) 市販の二酸化チタンを用い、検量線用二酸化チタン標準溶液を作成して用いてもよい。

その場合、二酸化チタン分析法の注8)を参照すること。

また、必要な場合は、検量線用標準溶液を適宜希釈し、定量に適した濃度の検量線用標準液を調製し、直線性が確認できる範囲で、適宜、検量線用標準溶液の濃度及び数を調製してもよい。

2) 測定条件は、各測定機器に従い、チタンの測定に最適な条件に設定する。

<分析法Aの測定条件例>

高周波出力：1.2～1.5kW

プラズマガス流量：16L/分

補助ガス流量：0.5L/分

キャリアーガス流量：1.0L/分

3) 発光強度、バックグラウンド強度のほか、選択性、ピーク形状及び相対標準偏差を考慮して測定波長を設定する。

4) 試験溶液中の他の元素の影響を受ける場合は、内標準元素を用いて補正を行っても良い。

5) 他に、ろ紙に試験溶液を浸み込ませて測定する方法もある。

膨張剤

## 硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム

Aluminium Ammonium Sulfate and Aluminium Potassium Sulfate

硫酸アルミニウムアンモニウム	硫酸アルミニウムカリウム
Aluminium Ammonium Sulfate	Aluminium Potassium Sulfate
別名：結晶物 アンモニウムミョウバン 乾燥物：焼アンモニウムミョウバン	別名：結晶物 カリミョウバン, ミョウバン 乾燥物 焼ミョウバン
$\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ( $n=12, 10, 4, 3, 2$ 又は $0$ ) [ $\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$ : 237.15]	$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ( $n=12, 10, 6, 3, 2$ 又は $0$ ) [ $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$ : 258.21]

### 1. 分析法の概要<sup>1)</sup>

食品中の硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウムはマイクロ波分解装置により酸分解した後、誘導結合プラズマ（ICP）発光分光分析法によりアルミニウムとして定量する。必要があれば分子量比を乗じて、硫酸アルミニウムアンモニウム又は硫酸アルミニウムカリウムの量として求める。食品中には天然のアルミニウムが分布している。したがって、定量値は食品由来のアルミニウムと添加されたものとの合計値である。（2021年改正）

### 2. 分析法（ICP発光分光分析法）

#### （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）試験溶液の調製<sup>2)</sup>

試料約 0.5 g を精密に量り、マイクロ波分解装置用分解容器に入れ、硝酸 4 mL を加える。硝酸を添加した直後に激しい反応（発泡、発煙等）が確認された場合は、反応が落ち着くまでしばらく放置する。次に水 4 mL を加え、マイクロ波分解装置<sup>3)</sup>により酸分解処理を行う。得られた分解液は水を用いて定量的に 50 mL のメスフラスコ<sup>4)</sup>に移し、水を加えて正確に 50 mL としたものをメンブランフィルター（0.45 μm）でろ過し、試験溶液とする<sup>5)</sup>。

#### （3）検量線用標準溶液の調製<sup>6)</sup>

アルミニウム標準原液 0.5 mL を正確に量り、硝酸（2→25）を加えて正確に 50 mL とする（濃度 10 μg/mL）。さらに、この液 0.5、5、25 及び 50 mL をそれぞれ正確に量り、硝酸（2→25）を加えてそれぞれ正確に 50 mL とし、検量線用標準溶液とする（濃度 0.1～10 μg/mL）。

(4) 空試験溶液の調製<sup>2)</sup>

水 0.5 g を用い、(2) 試験溶液の調製と同様に操作し、空試験溶液とする。

(5) 測定法

① 測定条件<sup>7)</sup>

I C P 発光分光分析装置を用い、次の条件によってアルミニウムの発光強度を測定する。

測定波長：396.15nm<sup>8)</sup>

② 検量線

検量線用標準溶液につき、その発光強度を測定し、その値から検量線を作成する。

③ 定量<sup>9)</sup>

試験溶液及び空試験溶液につきその発光強度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中のアルミニウム濃度 (µg/mL) を求め、次式によって試料中のアルミニウム含量 (g/kg) を計算する<sup>10)</sup>。

$$\text{アルミニウム含量 (g/kg)} = \frac{A \times 50}{W \times 1000}$$

A：試験溶液中のアルミニウム濃度 (µg/mL)

W：試料採取量 (g)

硫酸アルミニウムアンモニウム含量<sup>11)</sup> (g/kg)

=アルミニウム含量 (g/kg) × 16.80

硫酸アルミニウムカリウム含量<sup>11)</sup> (g/kg) =アルミニウム含量 (g/kg) × 17.58

④ 定量限界 アルミニウムとして 0.01 g/kg

試薬・試液等

1. アルミニウム標準原液：市販の I C P 発光分光分析に適した標準液 (濃度 1000µg/mL) を用いる。
2. 硝酸：[J I S K8541、特級] (含有量 69~70%、比重：1.42) を用いる。

[注]

- 1) 本法は食品中の硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム (ミョウバン類、それぞれ、アンモニウムミョウバン及びカリミョウバンとも呼ばれる) を、I C P 発光分光分析法を用いてアルミニウムとして定量する方法である<sup>文献1、文献2)</sup>。
- 2) 適切な乾式灰化法又は湿式灰化法で調製してもよい。ただし、予め十分な添加回収率や精度が得られることを確認する。また、試験溶液量に対する試料採取量が、本分析法と異



なる場合は、定量限界も異なる点に留意する。

- 3) 分解条件は各機器メーカーのアプリケーションに従う。
- 4) 試験に用いる器具は、すべて使用前に硝酸（1→20）に浸漬して加温するか、または硝酸（1→20）に一夜つけておく。
- 5) 試験溶液中のアルミニウム濃度が高く、検量線の範囲を超える場合は、試験溶液を硝酸（2→25）で適宜希釈して定量をやり直し、計算式に希釈倍率を乗じて含量を求める。
- 6) 検量線用標準溶液の数は、直線性が確認できれば、適宜調整してもよい。
- 7) 測定条件は、各測定機器に従い、アルミニウムの測定に最適な条件に設定する。
- 8) 測定波長は、JECFAでアルミニウムの分析に用いられており<sup>文献3)</sup>、309.3nm より感度が良いとされる396.15nmを用いる。ただし、他の元素の影響を受ける場合は、アルミニウムの他の波長を用いても良い。
- 9) 本法の添加回収試験結果を注表1に示す。

注表1 アルミニウムの各種食品での添加回収率 (%) <sup>文献2)</sup> (n = 2 × 5 日間)

食品	採取量 (g)	添加量 (g/kg)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
ホットケーキミックス	0.5	0.02	98	7.3	9.7
漬物	0.5	0.05	93	4.1	5.8
うに	0.5	0.2	104	3.9	4.8

また、漬物、クッキー及び味噌に、硫酸アルミニウムアンモニウム又は硫酸アルミニウムカリウムを、0.01 g/kg 又は0.1 g/kg 添加した時の回収率は 93~101%（相対標準偏差（RSD）0.4~3.6%）（n = 5 の平均）であった。

- 10) 試験溶液中の他の元素の影響を受ける場合は、内標準元素を用いて補正を行っても良い。
- 11) 硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウムの無水物相当の含量

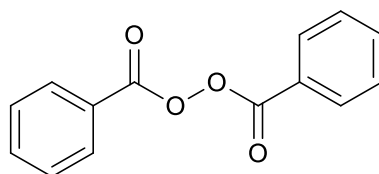
#### [文献]

- 1) 荻本真美ら：食衛誌, **53**, 57 (2012)
- 2) Ogimoto, M., *et al.* : Food Additives and Contaminants : Part B, **9**, 185 (2016), Taylor & Francis
- 3) JECFA : JECFA Monographs, **14**, Potassium Aluminium silicate-based pearlescent Pigments, Type III (2013)

## 小麦粉改良剤

### 過酸化ベンゾイル

Benzoyl Peroxide



$C_{14}H_{10}O_4$  : 242.23

#### 1. 分析法の概要

小麦粉、小麦粉製品及びはるさめ中の過酸化ベンゾイルは、アセトニトリルで抽出後、液体クロマトグラフィーで定量する<sup>1)</sup>。(2004年改正、2021年改正)

#### 2. 分析法（液体クロマトグラフィー）

##### (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) 試験溶液の調製<sup>2)</sup>

粉末試料はそのまま、固形試料は粉碎後、約 10 g を精密に量り、アセトニトリル 50 mL を正確に加え、マグネチックスターラーで 15 分間かくはんする。この液をメンブランフィルター（0.45 $\mu$ m）に通し、試験溶液とする。

##### (3) 検量線用標準溶液の調製<sup>3)</sup>

過酸化ベンゾイルとして 約 0.25 g に相当する水添加過酸化ベンゾイル<sup>4,5)</sup>を精密に量り、アセトニトリルを加えて溶かして正確に 50 mL とする。その 1 mL を正確に量り、アセトニトリルを加えて正確に 200 mL としたものを標準溶液とする（濃度 25 $\mu$ g/mL）。標準溶液 1、4、40 及び 100 mL を正確に量り、アセトニトリルを加えてそれぞれ正確に 100 mL とし、0.25、1、10 及び 25 $\mu$ g/mL の検量線用標準溶液とする。1 $\mu$ g/mL の検量線用標準溶液 1 mL を正確に量り、アセトニトリルで正確に 25 mL とし、0.04 $\mu$ g/mL の検量線用標準溶液とする。（濃度 0.04~25 $\mu$ g/mL）。

##### (4) 測定法

###### ① 測定条件<sup>6)</sup>

紫外可視吸光度検出器付高速液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 4.6mm、長さ 250mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル／水混液（55：45）

流速：1.0mL／分

測定波長：235nm

注入量：20μL

② 検量線<sup>7)</sup>

検量線用標準溶液それぞれ 20μL ずつを高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量<sup>8)</sup>

試験溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線から試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度（μg/mL）を求め、次式によって試料中の過酸化ベンゾイル含量（g/kg）を計算する。

$$\text{過酸化ベンゾイル含量 (g/kg)} = \frac{C \times 50}{W \times 1000}$$

C：試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度（μg/mL）

W：試料の採取量（g）

④ 定量限界 0.0002 g/kg

試薬・試液等

1. 水添加過酸化ベンゾイル：市販品を用いる。以下の方法に従って、あらかじめ滴定により過酸化ベンゾイル含量を求めておく<sup>5)</sup>。

水添加過酸化ベンゾイル約0.25 gを精密に量り、共栓フラスコに入れ、アセトン 15mLを加えて振り混ぜる。この液にヨウ化カリウム溶液（1→2）3mLを加え、直ちに密栓し、1分間振り混ぜる。遊離したヨウ素を 0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する（指示薬：デンプン溶液）。別に空試験を行い補正する。

$$\text{過酸化ベンゾイル含量 (\%)} = (V \times 12.11 \times F \times 100) / (W \times 1000)$$

V：0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液の消費量（mL）

F：0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

W：水添加過酸化ベンゾイルの採取量（g）

2. アセトン：[特級]

3. ヨウ化カリウム：[特級]

4. 0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液：市販品を用いる。

5. アセトニトリル：[高速液体クロマトグラフィー用]

[注]

- 1) 過酸化ベンゾイルは、小麦粉以外の食品には使用が認められていないが、2004年（平成16年）にはるさめに使用違反があったことから、はるさめも対象食品とした。
- 2) 試料によっては、アセトニトリルを加えた後、かくはんする代わりにホモジナイズし、ろ過又は遠心した後、そのろ液又は上清をメンブランフィルター（0.45 $\mu$ m）に通したものを試験溶液とする。
- 3) 試料中の濃度に合わせ、用いる検量線用標準溶液の濃度範囲を、直線性が確認できるよう、適宜調整する。
- 4) 過酸化ベンゾイルは爆発の危険性があるため、食品添加物としては、過酸化ベンゾイルをミョウバン、リン酸カルシウム塩類、硫酸カルシウム、炭酸カルシウム及びデンプンのうち的一种以上で約20%に希釈した希釈過酸化ベンゾイルを用いることとされている。そこで、標準品は市販の試薬として入手可能な水添加過酸化ベンゾイルを使用する。過酸化ベンゾイルは60 $^{\circ}$ C以上、あるいは還元性物質の共存で爆発する危険性があるので、もとの容器内に保存し、状態が変化しないように取り扱うように注意する。
- 5) 水添加過酸化ベンゾイルは、25%程度の水を含んでいるため、過酸化ベンゾイル含量をあらかじめ滴定により定める必要がある。

0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液1mL=12.11mg 過酸化ベンゾイル（C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>）
- 6) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。
- 7) 必要に応じて、検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。
- 8) 本法による小麦粉及び乾製品における添加回収率は97.1~99.4%<sup>文献1)</sup>であった。また、小麦粉、パン粉、はるさめ、うどん（乾麺）及びたこ焼き粉に、水添加過酸化ベンゾイルのアセトニトリル溶液を、過酸化ベンゾイルとして0.0002g/kg、0.002g/kg又は0.066g/kg添加した時の回収率は89~107%（相対標準偏差0.3~6.0%）（n=5の平均）であった。

[文献]

- 1) Abe-Ohnishi, Y., *et al.* : J. Chromatogr. A, **1040**, 209 (2004)

## 参考

### 過酸化ベンゾイル確認分析法

#### 1. 分析法の概要

食品中の過酸化ベンゾイルは、液体クロマトグラフィー質量分析により確認を行う。(2021年設定)

#### 2. 分析法 (液体クロマトグラフィー質量分析)

##### (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) 試験溶液の調製

過酸化ベンゾイル (2) 試験溶液の調製を準用する。

##### (3) 定性用標準溶液及び検量線用標準溶液の調製

過酸化ベンゾイル分析法 (3) 検量線用標準溶液の調製を準用し、定性に適した濃度の定性用標準溶液 (1 µg/mL 等) 及び検量線用標準溶液 (濃度 0.04~1 µg/mL) を調製する<sup>1)</sup>。

##### (4) 測定法

###### ① 測定条件<sup>2, 3)</sup>

液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS) を用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 2.0mm、長さ 150mm

カラム温度：40°C

移動相：5 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 75vol%メタノール

流速：0.3mL/分

イオン化モード：ESI (+)

検出法：スキャン ( $m/z$  50~300)、

選択イオン検出 (SIM) (モニターイオン： $m/z$  260<sup>4)</sup>)

注入量：3 µL

###### ② 定性<sup>5, 6)</sup>

試験溶液及び定性用標準溶液を LC-MS に注入し、試験溶液のクロマトグラム上で、定性用標準溶液で検出されたピークと同じ保持時間にピークが検出されること、このピークのスキャン検出で得られるマススペクトルの主なイオンの  $m/z$  が定性用標準溶液の主ピークのそれと一致することを確認する。

③ 定量<sup>7, 8)</sup>

過酸化ベンゾイル分析法により試料から検出された場合、その定量値の確認のため、必要に応じて定量を行う。試験溶液をLC-MSに注入し、SIMで得られたピーク面積と検量線から試験溶液中の過酸化ベンゾイル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を求め、過酸化ベンゾイル分析法の2. (4)

③定量の項の式によって試料中の過酸化ベンゾイル含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) を計算する。

試薬・試液等

1. 過酸化ベンゾイル分析法の試薬・試液等を準用する。
2. メタノール：[高速液体クロマトグラフィー用]
3. ギ酸アンモニウム：[特級]
4. 5 mmol/L ギ酸アンモニウム含有 75 vol%メタノール: ギ酸アンモニウム 0.16 g を量り、水 125mL 及びメタノール 375mL を加えて溶解する。

[注]

- 1) 必要な場合は、検量線用標準溶液を適宜希釈し、定量に適した濃度の検量線用標準液を調製し、直線性が確認できる範囲で、適宜、検量線用標準溶液の濃度及び数を調製してもよい。
- 2) 測定条件は例示である。用いるカラムによって、流速及び注入量等を調整する。分析の際は、過酸化ベンゾイルのピークが妨害ピークの影響を受けないことを確認する。
- 3) その他の測定条件は各測定機器に従い、定性用標準溶液の強度が最大になるように、あらかじめ最適化を行う。
- 4) 測定により適した過酸化ベンゾイル由来のイオンが検出された場合は、そのイオン ( $m/z$ ) をモニターイオンとしてもよい。移動相に 75vol%メタノールを用いた場合には、過酸化ベンゾイルのナトリウム付加イオン  $m/z$  265 が確認されている。
- 5) LC-MSを用いて確認を行う場合、食品中の夾雑物の影響により確認を見誤るおそれがあるため、別途、対象試料の試験溶液に標準溶液を添加し、ピークの検出感度やマススペクトルの変化について確認する。
- 6) スキャン測定により、過酸化ベンゾイルのアンモニウム付加イオン  $m/z$  260 を確認することができる。バックグラウンドが高い場合は補正する。
- 7) 小麦粉、はるさめ、うどん（乾麺）及びたこ焼き粉に、水添加過酸化ベンゾイルのアセトニトリル溶液を、過酸化ベンゾイルとして 0.0002 g/kg 又は 0.002 g/kg 添加した時の回収率は 89~102%（相対標準偏差 0.8~3.3%）（ $n=5$  の平均）であった。
- 8) 液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いる確認分析法が報告されている<sup>文献1)</sup>。

[文献]

- 1) 米田正樹ら：平成16年度奈良県保健環境センター年報、**39**、81（2005）

強化剤等

## 鉄化合物

Iron Compounds

塩化第二鉄

Ferric Chloride

$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$

( $\text{FeCl}_3$  : 162.20)

クエン酸第一鉄ナトリウム

Sodium Ferrous Citrate

別名：クエン酸鉄ナトリウム

クエン酸鉄

Ferric Citrate

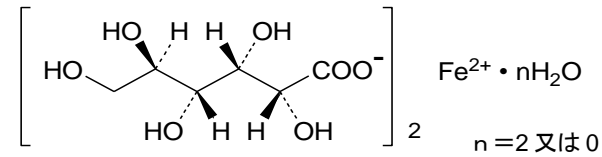
クエン酸鉄アンモニウム

Ferric Ammonium Citrate

グルコン酸第一鉄

Ferrous Gluconate

別名：グルコン酸鉄



$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{FeO}_{14} \cdot n \text{H}_2\text{O}$  ( $n = 2$  又は  $0$ )

( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{FeO}_{14}$  : 446.14)

乳酸鉄

Iron Lactate

( $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{FeO}_6$  : 233.99)

ピロリン酸第二鉄

Ferric Pyrophosphate

$\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3$  : 745.21

硫酸第一鉄

Ferrous Sulfate

$\text{FeSO}_4 \cdot n \text{H}_2\text{O}$  ( $n = 7$  又は  $1 \sim 1.5$ )

( $\text{FeSO}_4$  : 151.91)

三酸化鉄<sup>1)</sup>

Iron Sesquioxide

別名：三酸化二鉄、ベンガラ

鉄クロロフィリンナトリウム<sup>1)</sup>

Sodium Iron Chlorophyllin



## 1. 分析法の概要

食品中の鉄化合物は、原子吸光光度法により鉄として定量する。必要があれば分子量比を乗じて、鉄化合物それぞれの量として求める。食品中には天然の鉄化合物が広く分布している。したがって、定量値は食品由来の鉄と添加されたものとの合計値である<sup>1)</sup>。(2021年改正)

## 2. 分析法(原子吸光光度法)

### (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) 試験溶液の調製

次のいずれかの方法<sup>2)</sup>により試験溶液を調製する。

#### ① 湿式灰化法<sup>3)</sup>

試料約10gを精密に量り<sup>4)</sup>、250～500mLの分解フラスコ<sup>5)</sup>に入れ、液体食品以外には水約30mLを加える。次に硝酸30mLを加えて振り混ぜ、放置した後、穏やかに加熱し、激しい反応がおさまれば、冷後、硫酸10mLを加え、再び穏やかに加熱する。加熱のはじめに発泡が激しい場合には、1-オクタノール2～3滴を加える。液が暗色になりはじめたら硝酸2～3mLずつを追加し、加熱を続ける。無水硫酸の白煙が生じ、液が微黄～無色になったとき、加熱を止める。冷後、少量の水を用いて磁製蒸発皿に移し、これを熱板上で蒸発乾固する。残留物に塩酸(1→4)10mLを加え、加温してかき混ぜ、水を用いて100mLのメスフラスコに移し、水を加えて正確に100mLとし、試験溶液とする<sup>6)</sup>。

#### ② 乾式灰化法<sup>7)</sup>

試料約10gを精密に量り<sup>4)</sup>、石英又は磁製るつぼに入れ、熱板等のヒーター上で加熱乾燥し、更に加熱を続けて炭化する。次に電気炉に入れ、温度を上げて500～550℃<sup>8)</sup>とし、灰化するまで加熱する。24時間加熱しても灰化しない場合は、硝酸(1→2)2～5mLを加えて潤し、乾燥<sup>9)</sup>した後、灰化を続ける。灰化不十分<sup>10)</sup>のときは硝酸(1→2)2～5mLずつを加え、同様の操作を完全に灰化するまで繰り返す。冷後、残留物に塩酸(1→4)10mLを加え、加温してかき混ぜ、水を用いて100mLのメスフラスコに移し、水を加えて正確に100mLとし、試験溶液とする<sup>6)</sup>。

また、①及び②のいずれの方法も、試料を用いずに同様に操作して、空試験溶液とする。

### (3) 検量線用標準溶液の調製

鉄標準原液1mLを正確に量り、100mLのメスフラスコに入れ、塩酸(1→40)を加えて正確に100mLとし、標準溶液とする(濃度10μg/mL)。標準溶液1、2、5、8mL及び10mLをそれぞれ正確に量り、塩酸(1→40)を加えてそれぞれ正確に10mLとし、検量線用標準溶液とする(濃度1～10μg/mL)。

#### (4) 測定法

##### ① 測定条件

原子吸光光度計を用い、次の条件で測定する。

光源ランプ：鉄中空陰極ランプ

分析線波長：248.3nm<sup>11)</sup>

バーナー：スリットバーナー

可燃性ガス：アセチレン

支燃性ガス：空気

##### ② 検量線

検量線用標準溶液それぞれにつき、吸光度を測定し、検量線を作成する。

##### ③ 定量<sup>12)</sup>

試験溶液及び空試験溶液につきその吸光度を測定し、両者の値の差を求め、その値と検量線から試験溶液中の鉄濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を求め、次式によって試料中の鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) を計算する。

$$\text{鉄含量 (g/kg)} = \frac{C \times 100}{W \times 1000}$$

C：試験溶液中の鉄濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

W：試料の採取量 (g)

塩化第二鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) = 鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ )  $\times$  2.904

グルコン酸第一鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) = 鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ )  $\times$  7.989

乳酸鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) = 鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ )  $\times$  4.190

ピロリン酸第二鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) = 鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ )  $\times$  3.336

硫酸第一鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ ) = 鉄含量 ( $\text{g}/\text{kg}$ )  $\times$  2.720

##### ④ 定量限界 鉄として 0.01 g/kg

#### 試薬・試液等

1. 鉄標準原液<sup>13)</sup>：市販の原子吸光度分析に適した標準液 (Fe：1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を用いる。
2. 硝酸：[有害金属測定用]
3. 硫酸：[有害金属測定用]
4. 1-オクタノール：[特級]
5. 塩酸：[有害金属測定用]

[注]

- 1) 本法は、鉄強化剤（水溶性鉄：塩化第二鉄、クエン酸第一鉄ナトリウム、クエン酸鉄、クエン酸鉄アンモニウム、乳酸鉄、硫酸第一鉄、グルコン酸第一鉄。不溶性鉄：ピロリン酸第二鉄。有機鉄：ヘム鉄、フェリチン、ラクトフェリン。）を測定対象としているが、着色料の三二酸化鉄及び鉄クロロフィリンナトリウムも本法により鉄として測定される。
- 2) これら2法の他に、低温灰化装置を用い減圧下高周波エネルギーによって低温で試料を酸化する方法もある。
- 3) 湿式灰化法は硝酸、硫酸、過塩素酸、過酸化水素等の酸化剤を適宜配合して用い、比較的低温で酸化分解する方法である。本法は試薬による汚染が第一の欠点である。また、脂肪性の検体は分解し難い。
- 4) 試料の量が多く灰化が困難な場合等は、試料の採取量を適宜減らしてもよい。ただし、十分な回収率等が得られることを確認できる場合に限る。
- 5) 試験に用いるガラス器具はすべて使用前に硝酸（1→3）で十分洗うか、又は硝酸（1→3）に一夜つけておく。
- 6) 試験溶液中の鉄濃度が検量線の範囲を超える場合は、塩酸（1→40）で適宜希釈する。
- 7) 乾式灰化法は試料を強熱して有機物を空気酸化し、揮発させる方法である。本法は、操作の管理が湿式灰化法のように煩雑でないので、比較的多数の試料を同時に操作でき、大量の試料を逐次追加して灰化することもできる。更に酸化物（分解剤）を用いなくても行えるので、これら試薬からの汚染の危険が少ない。
- 8) 湿式法に比べて灰化温度が高いため、ほとんどすべての元素について揮散のおそれがある。Hgは完全に揮散し、Cd、Pb、Zn、Sn、As、Ca等は500℃以上で揮散する。とくにハロゲンが存在するとZn、Sn、Sb、As等が揮散しやすい。しかし、550℃以下の灰化ではFeに関しては心配ない。
- 9) 乾固直前に内容物が飛び散り易いので、水浴を用いる場合はよいが、熱板上で行うときは、高温になり過ぎないように注意する。
- 10) 不完全灰化によって残存する炭素は、鉄に対しての吸着力が大きいため、試料を完全に灰化することが必要である。
- 11) 他の元素の影響を受ける場合は、鉄の他の波長を用いても良い。
- 12) サプリメント、母乳代替食品又は離乳食に、塩化第二鉄、グルコン酸第一鉄又はピロリン酸第二鉄を0.01g/kg又は0.1g/kg添加した時の回収率は、湿式灰化法では77～106%（相対標準偏差0.7～7.5%）、乾式灰化法では83～110%（相対標準偏差0.5～3.2%）（n=5の平均）であった。
- 13) 鉄1.00gを量り、硝酸（1→4）100mLを加えて溶かし、煮沸して二酸化窒素を追い出し、冷後、1000mLのメスフラスコに移し、水を加えて正確に1000mLとしたもの（濃度1000μg/mL）を用いてもよい。