原 著

食品中のフッ素に関する研究

第1報 乳児用調製粉乳中の総フッ素の定量*

Fluorine in Food

I. Determination of Total Fluoride in Powdered Milk for Babies*

渡 辺 猛** 椿 田 直 也**
宮 城 昌 治** 岩 本 義 史**

Takeshi WATANABE**, Naoya TSUBAKIDA**,
Masaharu MIYAGI** and Yoshifumi IWAMOTO**

Received April 21, 1989 ; accepted May 18, 1989

Abstract: The purpose of this study was to determine total fluoride in powdered milk for babies. We determined fluoride in the diffusates of ashed samples using an ion-specific electrode.

The 74 blanks observed in this study contained $0.10 \pm 0.10 \mu\text{g}$ of fluoride ($M \pm SD$). Mean recovery for analysis determined by adding $0.1-1.0 \mu\text{g}$ of fluoride was 94 %. Coefficients of variance in recovery test and in repeated analysis ranged from 5 to 13 %, 4 to 8 %, respectively.

The total fluoride content of powdered milk ranged from 0.22 to 0.40 ppm.

索引用語: 食品中総フッ素, 乳児用調製粉乳, 定量

Key words: Total fluoride in food, Powdered milk for babies, Determination

緒 言

Dean らが、飲料水中のフッ素濃度とう蝕有病率と歯牙フッ素症有病率との関連を発見¹⁾して以来、う蝕予防を目的としたフッ化物の公衆衛生的な応用は、国際的に広く普及²⁾し、各国で成果が上がっている³⁾。

水道水フッ化物添加法を行っている欧米では、地域住民の1日総フッ素摂取量が至適レベルを越えていないか評価するため、食品中フッ素を定量し、住民とくに小児のフッ素摂取量を推定した報告が多数みられる⁴⁾。水道

水フッ化物添加法や小児へのフッ化物錠剤の投与を行っているわが国においても、食品中のフッ素を定量し、住民の総フッ素摂取量を推定した報告が多数認められる⁵⁻¹⁴⁾。今後、わが国でのフッ化物の全身応用について考えていく上で、今日の食品中のフッ素を定量し、住民とくに小児の総フッ素摂取量を推定することの意義は大きいと考えられる。

各種食品中のフッ素定量に向けて、この度、乳児用調製粉乳中の総フッ素を定量し、定量法の精度ならびに粉乳中の総フッ素濃度について若干の知見を得たので報告

* 本論文の要旨は、第37回日本口腔衛生学会総会（昭和63年10月、広島市）において発表した。

** 広島大学歯学部予防歯科学教室（主任：岩本義史教授）

** Department of Preventive Dentistry, Hiroshima University School of Dentistry (Director: Prof. Yoshifumi IWAMOTO)

する。

実験材料および方法

1. 分析器材

電気炉：試料を灰化するために電気炉（NMR-13SK, いすゞ製作所）を使用した。試料の汚染防止のため¹⁵⁾, 灰化時に空気ポンプ（PP-3GBS, トップラボウェア社）で屋外の空気を炉内に毎分3ℓ注入し換気した¹⁶⁾。

るつぼ：灰化時の試料の容器として、20ml 容の蓋付き白金るつぼ6個を使用した。

拡散容器：微量拡散¹⁷⁾のため、スチロール製の蓋付き容器、87×57×19mm（外室）の内側に34×32×11mm（内室）の容器を接着させた拡散容器¹⁸⁾を使用した。

フッ素イオン電極：フッ素の定量にはイオン電極法¹⁹⁾を用いた。複合フッ素電極（96-09型, オリオン社）をデジタルイオナライザー（901型, オリオン社）に接続して使用した。

2. 試薬

固定剤：灰化法の固定剤として次のように除フッ素処理¹⁶⁾をして、2モル塩化マグネシウム溶液を調製した。塩化マグネシウム（ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 半井化学薬品社）164g に蒸留水を加えて800ml にし、塩酸（半井）120 ml を加えた。通風室内でヘキサメチルジシロキサン（半井, 以下, HMDS）3ml を随時加えながら1日かく拌してフッ素を拡散し除去した。煮沸して250ml に濃縮した溶液に、アンモニア水（片山化学工業社）120ml と蒸留水を加えて400ml にした。数日間放置して得た上清を固定剤として保存した。

拡散液：微量拡散法の拡散液として次のように除フッ素処理¹⁶⁾をして、HMDS 飽和3.6規定塩酸を調製した。塩酸154ml に蒸留水を加えて500ml にした。通風室内でHMDS 3ml を随時加えながら6時間かく拌して、フッ素を拡散除去し、3.6規定塩酸として保存した。使用時に必要量を取り、HMDS 0.5ml を加えて、数分間かく拌して拡散液とした。

捕捉液：微量拡散法の捕捉液として、0.1規定水酸化ナトリウム溶液を使用した。

中和液：微量拡散後の捕捉液の中和液として、0.1規定硝酸を使用した。

緩衝液：イオン電極法の試料溶液に加える緩衝液として、全イオン強度調整緩衝液（TISABⅢ, オリオン社）を使用した。

フッ素標準液：イオン電極法の検量線作成用のフッ素標準液を次のように調製した。フッ化ナトリウム（半井）

Fig. 1 Analytical procedure of fluorine determination with an electrode following ashing and diffusion

2.21g に蒸留水を加えて1ℓにした溶液を蒸留水で希釈して、フッ素濃度0.04, 0.1, 0.2, 0.4, 1, 2, 4ppm の溶液列を作った。この溶液列と0.2規定水酸化ナトリウム溶液を等量ずつ混和して、フッ素濃度0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2ppm の0.1規定水酸化ナトリウムの溶液列を作り保存した。使用時は、これら溶液1ml, 中和液1ml と緩衝液0.2ml を混和してフッ素標準液とした。

なお、試薬は全て特級試薬を使用した。

3. 試料

実験に供した試料は、昭和61年から62年の間に製造された5社の乳児用調製粉乳である。

4. フッ素の定量法

試料中のフッ素を Taves²⁰⁾ の方法に準拠し、下記の手順で定量した（Fig. 1）。

1) 灰化法

るつぼに試料1g と固定剤1ml を入れ、スチロール棒で混和した。通風室内で、ホットプレート上にあるつぼを蓋をせずに置き、100°C, 110°C, 300°C で1時間ずつ加熱し、るつぼの内容物を乾固させた。ついで、るつぼに蓋をして電気炉に入れ、炉内を換気しながら加熱した。室温から300°C に1時間かけて温度上昇させ、300°C に1時間たもち、300°C から600°C に15分かけて温度上昇させ、600°C に3時間たもって灰化した。

2) 微量拡散法

灰化終了後、ろつばに振動を加えて剝離した灰分とろつばを1 ml の蒸留水で洗浄した液を拡散容器の外室の一方に入れた。拡散容器の外室の他方に拡散液を2 ml 入れ、内室に捕捉液を1 ml 入れた。拡散容器に蓋をしてセロファンテープで密閉し、外室の内容物を混和したのち、拡散容器を室温に1日放置した。

3) イオン電極法

微量拡散終了後、内室の捕捉液に中和液1 ml と緩衝液0.2 ml を加えて試験液とした。試験液のフッ素濃度をイオン電極法で測定した。フッ素標準液や試験液に、複合フッ素電極を浸漬してから10分後の電位を採用した。

ちなみに、Taves の方法に変更を加えた点は、次のとおりである。灰化法の手順の中で、試料を真空オーブンで105°C にて1晩加熱し乾固させるところを通風室内のホットプレートで3時間加熱し乾固させた。また、600°C で灰化したのち、200°C 以下になるまで電気炉の扉を開けないとあるところを600°C で灰化したのち、すぐに扉を開けて試料の入ったろつばを取り出し、測定の迅速化をはかった。微量拡散法の手順の中で、拡散容器を1日震盪させるところを震盪を加えずに1日放置した。

5. 粉乳中総フッ素の定量

粉乳中のフッ素定量実験のための予備実験として回収試験を行った。

1) 回収試験

0.2~1.0 μg のフッ素 (以下、F) を含むフッ化ナトリウム溶液0.1 ml を試料として12回ずつ定量し、同時に得た空値との差を回収量として回収試験を行った。

Fig. 2 Distribution of 74 blank values

ついで、粉乳1 g に0.1~1.0 μg F を含むフッ化ナトリウム溶液0.1 ml を添加したものを試料として12回ずつ定量し、同時に得たフッ素未添加の値との差を回収量として回収試験を行った。

2) 粉乳中総フッ素の定量

粉乳1 g を試料として12回ずつ定量し、同時に得た空値との差を粉乳に添加したフッ素の平均回収率で除して、粉乳1 g 中のフッ素量とした。

結 果

1. 空値の分布

予備実験ならびに粉乳中のフッ素定量実験で検出した74例の空値は、0.039~0.654 μg F の範囲に分布し (Fig. 2), 中央値は0.07 μg F, 平均値は0.10 μg F, 標準偏差は0.10 μg F であり、0.20 μg F 以上の空値が4例認められた。なお、空値が0.20 μg F 以上のとき、再度測定を行った。

2. 回収試験の成績

0.2~1.0 μg F の範囲で回収試験を行い、回収率は

Table 1 Recovery of fluoride

Original amount of fluoride (μg)	Number of samples	Amount Mean	recovered (μg) SD	Recovery (%)	Coefficient of variance (%)
0.20	12	0.20	0.04	99	20
0.40	12	0.33	0.04	82	12
1.00	12	0.78	0.06	78	7

Table 2 Recovery of fluoride added to 1 g of powdered milk*

Amount of fluoride added (μg)	Number of samples	Amount Mean	recovered (μg) SD	Recovery (%)	Coefficient of variance (%)
0.10	12	0.09	0.01	93	13
0.20	12	0.20	0.01	99	6
0.40	12	0.37	0.02	93	5
1.00	12	0.90	0.04	90	5

* Original amount of fluoride was $0.29 \pm 0.02 \mu\text{g}$ ($M \pm SD$, $n=24$).

Table 3 Total fluoride concentrations in powdered milk

	Number of samples	Fluoride Mean	concentration (ppm) SD	Coefficient of variance (%)
Sample A	12	0.22	0.01	7
Sample B	12	0.25	0.01	6
Sample C	12	0.35	0.02	5
Sample D	12	0.38	0.02	4
Sample E	12	0.40	0.03	8

78~99%, 変動係数は7~20%であった (Table 1)。

また、粉乳1gに0.1~1.0 μ g Fを添加して回収試験を行ったとき、フッ素未添加の値は24例で0.29 $\pm$ 0.02 μ g F (M $\pm$ SD)であり、回収率は90~99%, 変動係数は5~13%であった (Table 2)。平均回収率は94%であり、添加フッ素量0.2 μ g以上において、変動係数は5~6%であった。

3. 粉乳中の総フッ素濃度

A~Eの5社の粉乳中総フッ素濃度は0.22~0.40ppm, 標準偏差は0.01~0.03ppm, 変動係数は4~8%であった (Table 3)。粉乳中総フッ素濃度の最大値と最小値の間に1.8倍の較差が認められた。

考 察

1. 食品中総フッ素の定量法について

食品中総フッ素を定量する方法として、この度の灰化し微量拡散したのちイオン電極法で定量する方法^{20,21)} (以下、灰化・微量拡散・イオン電極法)の他に、灰化し微量拡散したのち比色法で定量する方法²²⁾, 灰化し蒸留したのちイオン電極法¹¹⁻¹⁴⁾や比色法^{5-10,23)}や滴定法²⁴⁾で定量する方法, パイロハイドロリシス法で分解したのちイオン電極法で定量する方法²⁵⁾, 酸素ポンプ法で分解したのち逆抽出しイオン電極法で定量する方法²⁶⁾, 低温酸素プラズマ灰化法で分解したのちガスクロマトグラフィーで定量する方法²⁷⁾などが採用されている。

これらの定量法の中で、食品を分解する方法である灰化法に関しては、灰化中のフッ素の損失と汚染の問題が指摘されており²⁸⁾, また、灰化の有無にかかわらず、食品中のフッ素を微量拡散しイオン電極法で定量するとき近似した値が検出されることも指摘されている²⁹⁾。しかし、灰化法は食品中の無機成分を定量するときの一般的な前処理法とされており^{29,30)}, 今日これに代わる方法が確立されているとはいいがたい。よって、本研究において、食品を灰化法で分解したのち、灰分中のフッ素を微量拡散法で分離し、捕捉液中のフッ素イオン濃度をイオ

ン電極法で測定して、食品中の総フッ素を定量した。

2. 定量法の精度について

1) 空値の分布

本研究において検出された74例の空値は、0.10 $\pm$ 0.10 μ g F (M $\pm$ SD)であった。Taves²⁰⁾は、例数不明ながら0.05 $\pm$ 0.01 μ g F (M $\pm$ SD)の空値を報告している。我々の渉猟した範囲では、Tavesの報告以外に、食品中総フッ素を灰化・微量拡散・イオン電極法で定量したときの空値の報告は見られなかった。本研究の空値は、Tavesの報告した空値に比べ、平均値が高く標準偏差も大きかった。

2) 回収試験の成績

0.2~1.0 μ g Fを定量したときの回収率は78~99%, 変動係数は7~20%であった。また、粉乳に0.1~1.0 μ g Fを添加したときの回収率は90~99%, 変動係数は5~13%であり、添加フッ素量0.2 μ g以上において変動係数は5~6%であった。

Taves²⁰⁾は、2日分の食餌の混合物に0.05~1.9 μ g Fを添加したときの回収率が72~97%, 変動係数が3~13%であったと報告している。また、Singerら²¹⁾は、6種類の食品に食品中フッ素量の半分以下のフッ素を添加したときの回収率が95~105%, 変動係数が3~8%であったと報告している。

本研究とTavesやSingerらの研究とは、食品試料の種類が異なるものの、回収試験の成績は近似しているものと考えられる。

3) 繰り返し分析の成績

粉乳中の総フッ素濃度を繰り返し12回ずつ測定したときの平均値と標準偏差は、それぞれ0.22~0.40ppm, 0.01~0.03ppmであった。Taves²⁰⁾は、ミルク中の総フッ素濃度を繰り返し10回ずつ測定したときの平均値と標準偏差として、それぞれ0.02ppm, 0.02ppm未満、トースト中の総フッ素濃度を繰り返し10回ずつ測定したときの平均値と標準偏差として、それぞれ0.51ppm, 0.11ppmを報告している。

本研究の繰り返し分析の成績は、Taves の報告した成績に近似しているものと考えられる。

4) 定量法の精度

粉乳中の総フッ素を灰化・微量拡散・イオン電極法で定量したときの空値の分布、回収試験や繰り返し分析の成績は、Taves や Singer らが食品中の総フッ素を同法で定量したときの成績に近似しており、この度の定量法の精度は、概ね満足できるものと考えられる。

3. 粉乳中の総フッ素濃度について

5社の粉乳中総フッ素濃度は0.22~0.40 ppm であった。乳児用調製粉乳から調製した人工乳中の総フッ素濃度についての報告は見当たらないが、フッ素イオン濃度について、次に示す報告が認められる。Adair ら³¹⁾は、5種類の粉乳を蒸留水で調製した人工乳中のフッ素をイオン電極法で定量し、フッ素濃度が0.10~0.29ppm であったと報告している。Howat ら³²⁾は、7種類の粉乳をフッ素濃度0.01ppm のイオン交換水で調製した人工乳中のフッ素をイオン電極法で定量し、フッ素濃度が0.02~0.08ppm であったと報告している。原ら³³⁾は4種類の粉乳中のフッ素を微量拡散したのちイオン電極法で定量し、蒸留水で調製したときのフッ素濃度を0.05~0.09ppm と算出している。

この度の乳児用調製粉乳を蒸留水で調製するときの人工乳中の総フッ素濃度は0.03~0.07ppm と算出され、Howat らや原らの報告した人工乳中のフッ素イオン濃度0.02~0.09ppm に近似した値を示した。

なお、近年の報告を通覧すると、母乳中総フッ素濃度は0.007~0.087 ppm^{34,35)}、母乳中フッ素イオン濃度は0.003~0.016ppm^{31,33-36)}、牛乳中総フッ素濃度は0.076~0.303 ppm^{25,27,35)}、牛乳中フッ素イオン濃度は0.011~0.151ppm^{25,27,31,35)}の範囲にあった。乳児用調製粉乳を水道水で調製するとき、水道水中のフッ素が加わることから、人工乳中の総フッ素濃度は母乳中総フッ素濃度より高くなることが考えられた。

結 論

乳児用調製粉乳中の総フッ素を灰化・微量拡散・イオン電極法で定量し、以下の知見を得た。

本研究において 検出された 74 例の 空値は $0.10 \pm 0.10 \mu\text{g F (M} \pm \text{SD)}$ 、粉乳に $0.1 \sim 1.0 \mu\text{g F}$ を添加したときの平均回収率は94%、変動係数は5~13%、粉乳を繰り返し分析したときの変動係数は4~8%であった。この度の定量法の精度は、概ね満足できるものと考えた。

5社の粉乳中の総フッ素濃度は0.22~0.40 ppm であ

った。これらの粉乳を蒸留水で調製した人工乳中の総フッ素濃度は、0.03~0.07ppm と算出された。

本研究の一部は昭和63年度文部省科学研究補助金（奨励研究A63771826）により行った。

文 献

- 1) Dean, H. T.: Endemic fluorosis and its relation to dental caries, Pub. Hlth. Reports, 53; 1443, 1938.
- 2) FDI: Basic Fact Sheets, 1984.
- 3) Renson, C. E., Crielers, J. A., Ibikunle, S. A. J., Pinto, V. G., Ross, C. B., Infirri, J. S., Takazoe, I. and Tala, H.: Changing patterns of oral health and implications for oral health manpower: Part I, Int. Dent. J., 35; 235, 1985.
- 4) Wei, S. H. Y.: Clinical uses of fluorides, Lea & Febiger, Philadelphia, 1985, p. 63.
- 5) 松浦新之助, 国分信英, 脇元作郎, 鮫島 悌, 渡辺昌介: 食品中のフッ素含有量 (第1報) 植物性食品中のフッ素, 栄養と食糧, 8; 52, 1955.
- 6) 松浦新之助, 国分信英, 井手 悌, 渡辺昌介, 内藤進夫: 食品中のフッ素含有量 (第2報) 動物性食品中のフッ素, 栄養と食糧, 9; 108, 1956.
- 7) 松浦新之助, 国分信英, 渡辺昌介, 井出 悌, 神近耕二: 食品中のフッ素含有量 (第3報) 調味料並に醗酵製品, 栄養と食糧, 9; 253, 1957.
- 8) 鮫島一男: 日本人沸素摂取量に関する研究, 口腔衛生会誌, 8; 37, 1958.
- 9) 斉藤博業: 日本人成年男子の日常摂取する食餌の弗素含有量に関する研究, 防衛衛生, 7; 313, 1960.
- 10) 飯塚喜一: フッ素に関する衛生学的研究 第2編 日本におけるヒト歯牙, 食品および上水道水中のフッ素量, 日衛誌, 19; 1, 1964.
- 11) 友松俊夫, 鈴木二郎, 中沢久美子, 木村康夫: フッ素イオン電極による食品中のフッ素の定量法について, 東京衛研年報, 25; 251, 1974.
- 12) 友松俊夫, 鈴木二郎, 中沢久美子, 木村康夫: 食品中のフッ素の定量について (第2報) Market-Basket Study に準拠した摂取量の評価, 東京衛研年報, 26; 192, 1975.
- 13) 友松俊夫, 鈴木二郎, 中沢久美子, 木村康夫: フッ素の衛生学的研究 (第3報) 各種食品中のフッ素含有量の分析および食餌からのフッ素摂取量の評価, 東京衛研年報, 27; 174, 1976.
- 14) 伊藤 誠, 出村礼子, 塚田司郎, 山本郁夫: イオン電極法による食品中フッ素の定量, 衛生化学, 29; 167, 1983.
- 15) Guy, W. S.: Fluorocompounds of human

- plasma, Doctoral thesis, Univ. of Rochester, Rochester, N. Y., 1972.
- 16) 渡辺 猛：フッ素摂取量とラット母獣・新生仔の血漿および骨フッ素濃度に関する研究，口腔衛生会誌，**35**；721，1985.
 - 17) Taves, D. R.: Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane, *Talanta*, **15**；969，1968.
 - 18) 小林清吾：マウス親仔の骨フッ素濃度に及ぼすフッ素摂取量の影響，口腔衛生会誌，**32**；51，1982.
 - 19) Frant, M. S. and Ross, J. W.: Electrode for sensing fluoride ion activity in solution, *Science*, **154**；1553，1966.
 - 20) Taves, D. R.: Dietary intake of fluoride ashed (total fluoride) v. unashed (inorganic fluoride) analysis of individual foods, *Br. J. Nutr.*, **49**；295，1983.
 - 21) Singer, L. and Ophaug, R.: Total fluoride intake of infants, *Pediatr.*, **63**；460，1979.
 - 22) San Filippo, F. A. and Battistone, G. C.: The fluoride content of a representative diet of the young adult male, *Clin. Chim. Acta*, **31**；453，1971.
 - 23) Marier, J. R. and Rose, D.: The fluoride content of some foods and beverages—a brief survey using a modified Zr-SPADNS method, **31**；941，1966.
 - 24) Ham, M. P. and Smith, M. D.: Fluorine balance studies on four infants, *J. Nutr.*, **43**；215，1954.
 - 25) Duff, E. J.: Total and ionic fluoride in milk, *Caries Res.*, **15**；406，1981.
 - 26) Ophaug, R. H., Singer, L. and Harland, B. F.: Estimated fluoride intake of 6-month-old infants in four dietary regions of the United States, *Amer. J. Clin. Nutr.*, **33**；324，1980.
 - 27) 別所洋子，富田美佐子，金子芳洋：低温酸素ブラズマ灰化応用による牛乳中フッ素の測定，口腔衛生会誌，**36**；510，1986.
 - 28) Venkateswarlu, P.: Determination of total fluorine in serum and other biological materials by oxygen bomb and reverse extraction techniques, *Anal. Biochem.*, **68**；512，1975.
 - 29) Horwitz, W.: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 13th ed., AOAC, Washington, 1980, p. 392.
 - 30) 日本薬学会編：衛生試験法・注解 1980 付。追補 (1986)，金原出版社，東京，1987，149 頁。
 - 31) Adair, S. and Wei, S. H. Y.: Supplemental Fluoride recommendations for infants based on dietary fluoride intake, *Caries Res.*, **12**；76，1978.
 - 32) Howat, A. P. and Nunn, J. H.: Fluoride levels in milk formulations supplementation for infants, *Brit. Dent. J.*, **150**；276，1981.
 - 33) 原 康二，平田幸夫，谷 武，木本一成，田中智子，飯塚喜一：母乳中のフッ素に関する研究，口腔衛生会誌，**34**；215，1984.
 - 34) Esala, S. and Vuori, E.: Effect of maternal fluorine intake on breast milk fluorine content, *Br. J. Nutr.*, **48**；201，1982.
 - 35) Backer Dirks, O., Jongeling-Eijndhoven, J. M. P. S., Flissebaalje, T. D. and Gedalia, I.: Total and free ionic fluoride in human and cow's milk as determined by gas-liquid chromatography and the fluoride electrode, *Caries Res.*, **8**；181，1974.
 - 36) Spak, C. J., Hardell, L. I. and De Chateau, P.: Fluoride in human milk, *Acta Paediatr. Scand.*, **72**；699，1983.
-