

クーラントガス：12.0 L/min

プラズマガス：1.20 L/min

キャリアーガス：0.70 L/min

光源観測方向：横方向

トーチ観測高：低

チェンバ：サイクロン型

ソルベントリンス：90 sec

サンプルリンス：60 sec

測定波長：As：193.696, Pb：220.351, Hg：194.227, Cd：228.80  
2 nm

積分時間：5.0 sec

定性：発光スペクトル

定量：絶対検量線法

定量下限値：As：0.01 µg/mL(ppm)、Pb, Hg, Cd：0.02 µg/mL(ppm)

検量線範囲：As：0.01～0.25 µg/mL(ppm)、Pb, Hg, Cd：0.02～0.5  
µg/mL(ppm)

## VI. 計算式

試料中の各元素の含有量 C (mg/kg, ppm) は、次式から求められる。

$$C \text{ (mg/kg, ppm)} = A \text{ (}\mu\text{g/mL, ppm)} \times V \text{ (mL)} \div 4 \text{ (g)} \times 10 \text{ (g)} \div W \text{ (g)}$$

A：検量線から得られた試験溶液中の各元素の濃度 (µg/mL, ppm)

W：試料採取量 (g) 通常は 0.25 g

V：測定溶液量 (mL) 通常は 50 mL

## VII. 判定

判定は以下の通りに行う。

定量下限値は標準溶液中濃度として As 0.01 µg/mL(ppm)、その他 3 元素 0.02 µg/mL(ppm)とし、また試料中含有量として As 5 mg/kg(ppm)、その他 3 元素 10 mg/kg(ppm)となる。各元素と同一のスペクトルが認められない場合、またはスペクトルが認められるがその発光強度が定量下限相当量未満である場合「ND」とする。

## VIII. 文献

- 1) 野村千枝, 尾花裕孝, 織田肇, 健康危機対応を目的とした食品中有害重金属等の迅速分析法の検討, 食品衛生学雑誌, 50(5), 253-255 (2009)
- 2) 鈴木修, 屋敷幹雄編 “薬毒物分析実践ハンドブック ―クロマトグラフィーを中心として―” 東京, じほう, 2002, p.557-566.(ISBN 4-8407-3004-0)

## IX. フローシート

<p>&lt;試験用検体の調製&gt;          粉碎、均一化</p>	<p>ポリ袋、フードプロセッサー等</p>
<p>&lt;抽出&gt;</p> <p style="text-align: right;">試料 0.25g</p> <p style="text-align: right;">硫酸 10g ※</p> <p style="text-align: right;">振とう抽出 30秒、または          ホモジナイズ抽出 30秒</p> <p style="text-align: right;">遠心分離 5,000rpm、10分、室温</p> <p style="text-align: right;">上清 4g</p> <p style="text-align: right;">1%硝酸で50mLに定容</p> <p style="text-align: right;">フィルターろ過</p> <p style="text-align: right;">測定溶液（硫酸8%、硝酸1%）</p>	<p>50 mL PP 遠沈管、精密天秤          駒込ピペット          上皿天秤</p> <p>高速振とう機          ホモジナイザー</p> <p>高速遠心機</p> <p>ピペッター、チップ          50 mL PP 遠沈管、上皿天秤          高速振とう機</p> <p>メンブランフィルター          （親水性 PTFE、          13mmφ、0.20μm）</p> <p>ディスポシリンジ          10 mL PP 遠沈管</p>
<p>&lt;測定&gt;          ICP-AES</p>	
<p>&lt;計算処理&gt;</p>	
<p>&lt;結果&gt;</p>	

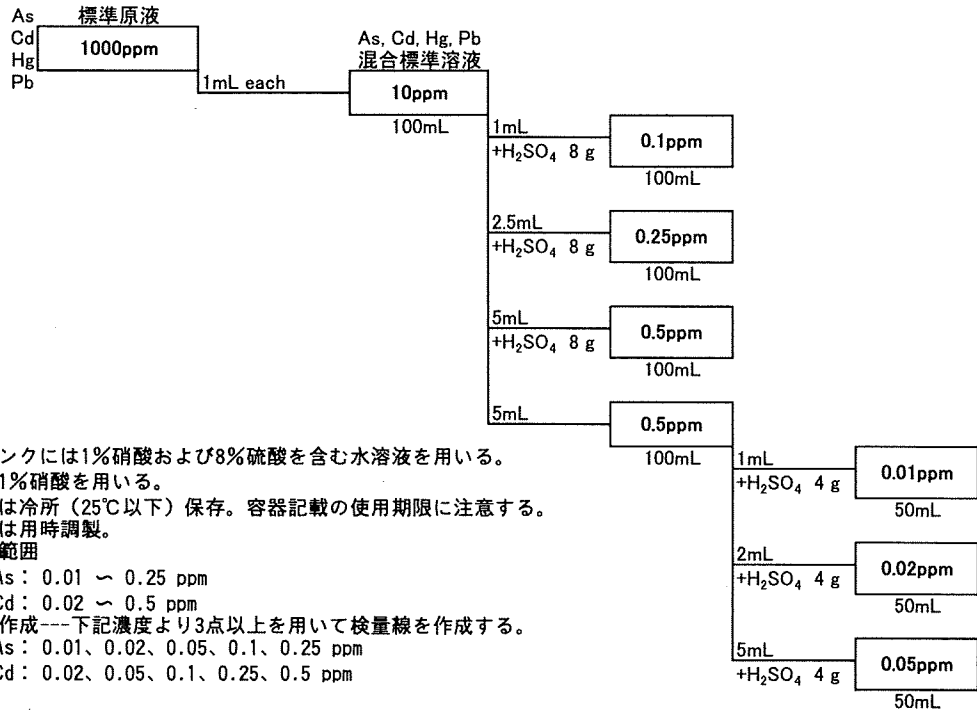
※ 有機物を多く含まず、かつアスコルビン酸等の酸化防止剤の表示がない食品の場合、硫酸の代わりに10%硝酸を用いて抽出しても良い。

標準溶液調製方法

(別紙)

以下の手順で、各濃度の混合標準溶液を調製する。

	標準原液濃度 (ppm)	標準品管理番号	採取量 (mL)	採取日	採取者	備考	廃棄日
ヒ素 (As)	1,000						
鉛 (Pb)	1,000						
水銀 (Hg)	1,000						
カドミウム (Cd)	1,000						



- 測定ブランクには1%硝酸および8%硫酸を含む水溶液を用いる。
- 希釈には1%硝酸を用いる。
- 標準原液は冷所（25℃以下）保存。容器記載の使用期限に注意する。
- 標準溶液は用時調製。
- 検量線の範囲
  - As：0.01 ～ 0.25 ppm
  - Pb、Hg、Cd：0.02 ～ 0.5 ppm
- 検量線の作成---下記濃度より3点以上を用いて検量線を作成する。
  - As：0.01、0.02、0.05、0.1、0.25 ppm
  - Pb、Hg、Cd：0.02、0.05、0.1、0.25、0.5 ppm

## <参考>

### ○ 希釈に用いる酸の選択

カレーや牛乳などの蛋白質や脂質が多量に含まれる試料の希釈に10%硝酸を用いた場合、Hgを除く3元素については良好な回収率が得られたが、Hgについては牛乳57%、カレー63%とやや低値を示した(表1)。一方、アスコルビン酸(VC)を含む食品(パッケージ記載のVC含量: 2,000~7,143 µg/g(ppm))では、Hgの回収率が約210~335%と顕著に高い値を示した。そこで本法では、試料中の蛋白質や脂質、およびアスコルビン酸等の酸化防止剤の除去を目的に、試料の希釈に濃硫酸を用いている。

蛋白質や脂質を多量に含まず、アスコルビン酸等の酸化防止剤の不使用が明確である場合、概ね80%以上の良好な回収率が得られることから、試料の希釈に10%硝酸を用いても良い。

表1. 試料の希釈に10%硝酸を用いた場合と硫酸を用いた場合の水銀の添加回収率の比較  
添加濃度: 100mg/kg(ppm)、\*: 表示にアスコルビン酸使用の記載あり

試料	平均添加回収率(%) / RSD(%), n=3	
	10%硝酸	硫酸
水	92/2	100/2
紅茶	96/2	95/3
牛乳	57/8	98/6
カレー	63/12	104/6
発酵乳	114/6	96/5
レモン風味の清涼飲料水*	332/5	116/4
蜂蜜風味の清涼飲料水*	210/4	100/3
レモン風味のゼリー飲料*	335/20	112/4
レモン風味の炭酸飲料*	320/8	102/3

### ○ 添加回収試験結果

12食品について表2の10元素について5回繰り返し添加回収試験をおこなった結果、Seを除く9元素(As, Cd, Cr, Hg, Mn, Pb, Sb, Sn, Tl)について、平均回収率は71~107%、相対標準偏差は1~13%と良好な結果が得られた(添加濃度: As 20 mg/kg(ppm)、その他9元素 100 mg/kg(ppm))。

表2. 試料の希釈に硫酸を用いた場合の添加回収試験結果

試料	平均添加回収率(%) / RSD(%), n=5									
	As	Cd	Cr	Hg	Mn	Pb	Sb	Se	Sn	Tl
添加濃度 (mg/kg, ppm)	20	100								
牛乳	90/8	97/2	99/2	99/2	103/2	92/3	102/8	42/12	106/3	98/9
そばめし	100/5	95/1	99/2	93/5	102/3	102/4	97/6	55/11	97/2	100/5
ハヤシライス	102/6	94/4	95/5	94/11	97/2	96/8	87/5	33/14	94/2	97/4
肉焼売	106/4	91/2	93/3	79/9	96/1	93/5	85/6	35/12	93/3	95/6
五目春巻	101/3	90/3	96/3	78/8	95/2	92/5	93/4	22/9	92/2	89/4
豚カルビ焼肉	74/9	92/3	93/2	79/6	94/2	98/9	90/2	26/11	89/5	87/7
クリームシチュー	96/6	91/4	91/3	90/9	91/2	90/5	84/4	48/10	90/2	90/6
ビーフシチュー	92/11	95/4	96/4	84/8	96/2	96/5	93/3	50/9	93/4	94/4
お好み焼き	92/6	93/5	96/5	80/5	95/3	99/6	93/3	40/10	84/5	90/7
餃子	71/8	97/4	103/3	106/13	106/5	96/6	101/5	36/11	99/3	102/3
中華丼の具	99/3	96/2	98/2	88/9	98/2	99/4	95/1	42/11	93/2	98/4
カレー	84/5	102/3	106/3	107/8	107/3	97/5	105/4	71/9	106/1	105/3

## 別紙 2

# 健康危機管理時における水中の重金属迅速分析マニュアル (ヒ素、鉛、水銀、カドミウム) ICP-MS 法

## I. 試薬類

### 1. 標準品

ヒ素 (As)、鉛 (Pb)、水銀 (Hg)、カドミウム (Cd) 標準原液 (1,000 mg/L(ppm)) : JCSS 認定、和光純薬工業製等、冷所 (25℃以下) 保存 (使用期限 : 容器に記載)

### 2. 内部標準品

ガリウム (Ga)、インジウム (In)、タリウム (Tl) 標準原液 (1,000 mg/L(ppm)) JCSS 認定、和光純薬工業製等、冷所 (25℃以下) 保存 (使用期限 : 容器に記載)

### 3. その他の試薬

- 1) 水 : 純水製造装置により精製したもの
- 2) 硝酸 : 超微量分析用
- 3) 塩化金 (Ⅲ) : 純度 98%以上

## II. 装置

- 1) 純水製造装置 : 日本ミリポア製 MILLI Q SP.TOC.等
- 2) マイクロピペッター
- 3) 誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) : 島津製作所製 ICPM-8500 等

## III. 器具等

- 1) 50 mL ポリプロピレン製遠沈管 (PP 遠沈管)
- 2) フィルター : ディスポーザブルシリンジフィルターユニット (セルロースアセテート、φ25 mm×0.20 μm、アドバンテック 東洋製等)
- 3) 10 mL ディスポシリンジ : テルモシリンジ等
- 4) 10 mL PP 遠沈管 : 栄研化学製丸底スピッツ等
- 5) ピペット用のチップ
- 6) プラスチック製手袋、マスク等

## IV. 試料溶液および標準溶液の調製

### 1. 試料溶液<sup>\*1</sup>

### 1) As、Pb および Cd

試料 49.5mL を PP 遠沈管に採り、硝酸 0.5mL<sup>※2</sup> を加え、50mL とする。ただし、検体に含まれる対象物質の濃度が検量線に使用する濃度範囲の上限値を超えると予測される場合には、精製水を用いて適宜希釈を行い調製する。また、濁りがある場合はフィルターでろ過し、測定溶液とする。

### 2) Hg

試料 47mL を PP 遠沈管に採り、硝酸を 2.5mL、100mg/L 塩化金[文献 1]を 0.5mL 加え、50mL とする。

## 2. 標準溶液および内部標準溶液<sup>※1</sup>

### 1) As、Pb および Cd

#### ①標準溶液（別紙参照）

As、Pb 及び Cd の各標準原液を等量ずつ混合し、それぞれ 10mg/L(ppm) になるように調製する。さらに、1~50 µg/L(ppb) となるように採り、硝酸濃度 1% となるよう硝酸を添加後、水を加えて一定量とし、これを標準溶液とする（用時調製）。

#### ②内部標準溶液

Ga、In 及び Tl の各標準原液を混合し、硝酸 1% になるよう硝酸を添加後、各元素濃度 50~100 µg/L 程度<sup>※3</sup> の溶液を調製する。

### 2) Hg

#### ①標準溶液（別紙参照）

標準原液を段階的に希釈し、1µg/L (ppb) になるように調製する。さらに、0.1~0.4 µg/L(ppb) となるように採り、硝酸濃度 5% となるよう硝酸を添加後、さらに塩化金が 1mg/L の濃度となるように添加した後、水を加えて一定量とし、これを標準溶液とする（用時調製）。

#### ②内部標準溶液

Ga、In 及び Tl の各標準原液を混合し、硝酸 1% になるよう硝酸を添加後、各元素濃度 50~100 µg/L 程度<sup>※3</sup> の溶液を調製する。

※1 試料溶液、標準溶液および内部標準溶液の調製は、器具からの汚染を避けるため、通常洗浄後再利用するガラス製のメスフラスコやホールピペット等の器具の代わりに、ポリプロピレン製のメスフラスコやマイクロピペット等のディスposable器具を用いて行う。

※2 酸使用時には、手袋およびマスクを着用する。手袋はプラスチック製のものが望ましい。

※3 ICP-MS 測定においてイオンカウント数が十分に得られる濃度（当所の機器においてはイオンカウント数 200kcps 以上）

## V. 定性・定量

### 1) ICP-MS による測定

標準溶液および試料溶液を ICP-MS に導入する。内部標準溶液の導入は

ICP-MS 装置による自動添加で行う。標準溶液については、それぞれの金属および内部標準物質の質量数のイオン強度を測定し、内部標準物質に対するそれぞれの金属のイオン強度比を求め検量線を作成する。試験溶液についても、同様にそれぞれの金属のイオン強度比を求め、Ⅵの計算式より試料溶液中の金属の濃度を算出する。ICP-MS の測定条件例を以下に示す。

#### [ICP-MS 測定条件例]

装 置：ICPM-8500  
周 波 数：27.120 MHz  
高周波出力： 1.2 kW  
ガ ス：アルゴン  
クーラントガス：12.0 L/min  
プラズマガス：1.20 L/min  
キャリアーガス：0.70 L/min  
ネブライザ：同軸型ネブライザ  
試料吸引量：0.55 mL/min (ADU-1 使用時 20 rpm)  
チェンバ：冷却式スプレーチェンバ (2℃冷却)  
ソルベントリンス：高速 60 sec、低速 30 sec  
サンプルリンス：高速 60 sec、低速 60 sec  
サンプリング深さ：5.0 mm  
インターフェイス部：Cu 製  
イオンレンズ部：ダイアゴナルレンズ  
マスフィルタ部：四重極型質量分析計  
測定質量数：As：75<sup>※4</sup>、Pb：208、Hg：202、Cd：114 (m/z)  
内部標準元素：Ga：69 (As 定量用)、Tl：205 (Pb、Hg 定量用)、  
In：115 (Cd 定量用) (m/z)  
積分時間：As：3.0、Pb：2.0、Hg：8.0、Cd：2.0、他：1.0 sec  
定 性：質量数 (m/z)  
定 量：内部標準法  
定量下限値：As、Cd、Pb：1.0 µg/L(ppb)、Hg：0.1 µg/L(ppb)  
検量線範囲：As、Cd、Pb：1.0～50 µg/L(ppb)、Hg：0.1～0.4 µg/L(ppb)

※4 As の測定質量数 75 は、キャリアーガスのアルゴンと水に含まれる塩素イオンにより形成される  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  によりスペクトル干渉を受けるため、干渉値を質量数 77 および 82 の測定値を用いて、以下のように自動補正した。

$$\text{As 補正值} = \text{As 測定値} - \text{干渉値} = {}^{75}\text{C} - {}^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl} = {}^{75}\text{C} - 3.127({}^{77}\text{C} - 0.825 \times {}^{82}\text{C})$$

ここで、<sup>a</sup>C は質量数 a における測定強度。

## 2) 留意事項

Hgは他3元素と比較すると、ICP-MSにおける測定濃度範囲が0～400ng/Lと低いため、イオン強度が相対的に小さい。このような場合、バックグラウンドに影響されやすく、測定の安定性が失われやすい傾向がある。また内部標準補正を行っても、正確な値が算出できない場合がある。さらには、低濃度の水銀溶液は揮発しやすい。バックグラウンドを軽減し、さらには安定したイオン強度を得るためには、①試料間の洗浄時間を長くする、②試料溶液の硝酸濃度を上げる、③積分時間を長くする、④塩化金等の揮発防止剤を添加する、といった対策が有効である。

## VI. 計算式

試料中の各元素の含有量 C (mg/L, ppm) は、次式から求められる。

$$C \text{ (mg/L, ppm)} = A \text{ (}\mu\text{g/L, ppb)} \times B \div 1000$$

A：検量線から得られた試験溶液中の各元素の濃度 ( $\mu\text{g/L}$ , ppb)

B：希釈率

## VII. 文献

- [1] <http://www.epa.gov/nerlesd1/factsheets/mpt.pdf#search='mercury%20preservation%20techniques> (accessed Oct.15.2009)



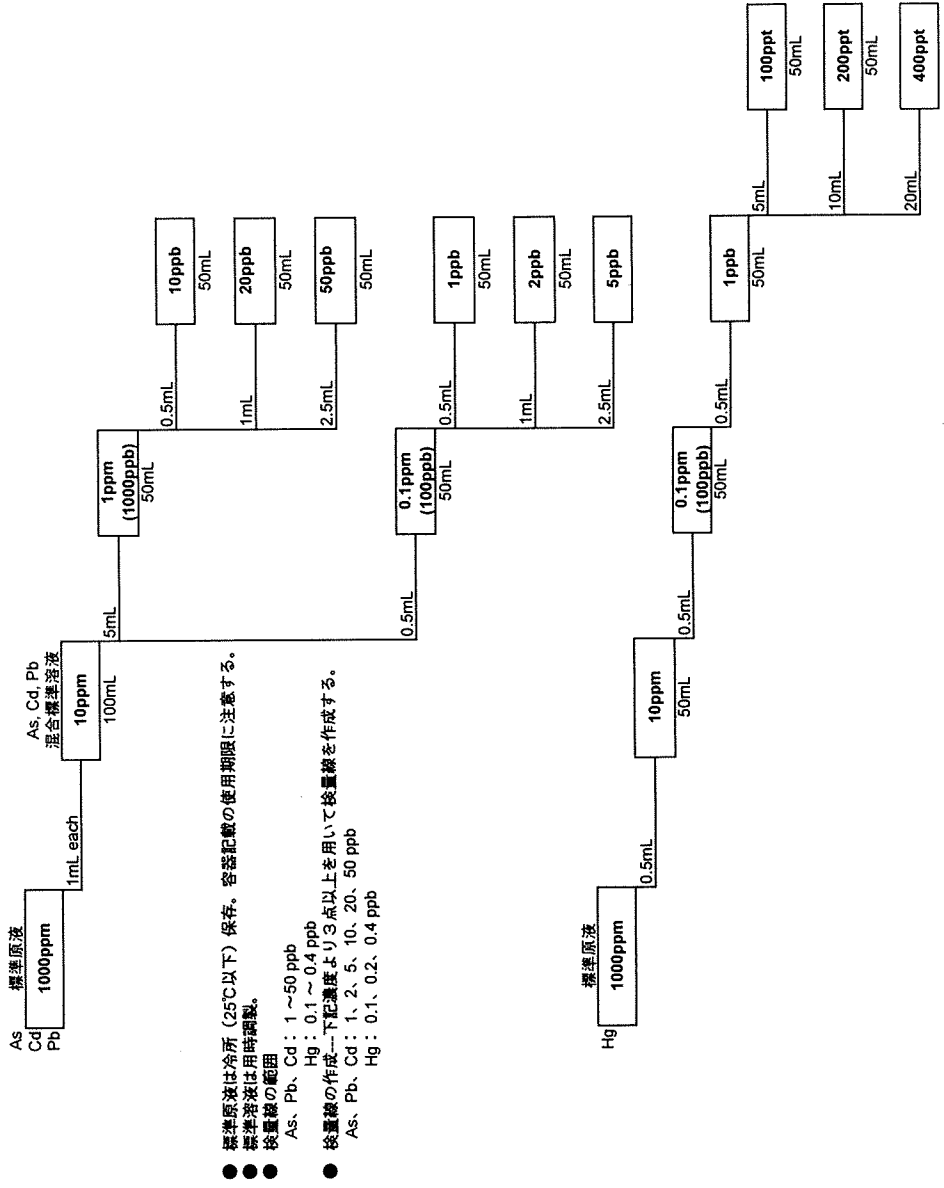
## VIII. フローシート

<p>&lt;前処理&gt;</p> <p style="text-align: center;">試料</p> <p style="text-align: center;"> </p> <p style="text-align: center;">精製水で希釈 (高濃度の場合)</p> <p style="text-align: center;"> </p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>(As, Pb, Cdの場合)</p> <p>硝酸添加 0.5mL</p> <p> </p> <p>測定溶液 (1%硝酸)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>(Hgの場合)</p> <p>硝酸添加 2.5mL</p> <p> </p> <p>塩化金添加</p> <p> </p> <p>フィルターろ過 (濁りがある場合)</p> <p> </p> <p>測定溶液 (5%硝酸)</p> </div> </div>	<p>50 mL PP遠沈管</p> <p>ピペッター、チップ</p> <p>ピペッター、チップ</p> <p>ピペッター、チップ</p> <p>ピペッター、チップ</p> <p>メンブランフィルター ディスポンシリンジ</p> <p>10 mL PP遠沈管</p>
<p>&lt;測定&gt;</p> <p>ICP-MS</p>	
<p>&lt;計算処理&gt;</p>	
<p>&lt;結果&gt;</p>	

標準溶液調製方法

以下の手順で、各濃度の混合標準溶液を調製する。

標準原液濃度 (mg/L, ppm)	標準品管理番号	採取量(mL)	採取日	採取者	備考	廃棄日
ヒ素(As)						
鉛(Pb)						
水銀(Hg)						
カドミウム(Cd)						



- 標準原液は冷所 (25℃以下) 保存。容器記載の使用期限に注意する。
- 標準溶液は用時調製。
- 検量線の範囲  
As、Pb、Cd : 1 ~ 50 ppb  
Hg : 0.1 ~ 0.4 ppb
- 検量線の作成は下記濃度より3点以上を用いて検量線を作成する。  
As、Pb、Cd : 1、2、5、10、20、50 ppb  
Hg : 0.1、0.2、0.4 ppb

<参考資料>

添加回収試験

水道水および河川水（表流水）に As, Cd, Pb 50mg/L および Hg 20 mg/L となるようそれぞれ添加し、添加回収実験を行った。結果を表 1 に示した。As, Cd および Pb については、平均回収率は、水道水において 101~103%、河川水において 96.9~113%であり、変動係数は水道水では 2.1-2.9%、河川水では 1.9-2.2%という良好な結果であった。

表1. 添加回収実験結果 (n=5)

		As	Cd	Pb	Hg
水道水	回収率	101.3	101.6	102.7	122.5
	CV(%)	2.2	2.9	2.1	9.6
河川水	回収率	112.8	96.9	99.9	91.4
	CV(%)	2.1	2.2	1.9	12.3

## 別紙 3

# 健康危機管理時における尿中の重金属迅速分析マニュアル

(ヒ素、鉛、水銀、カドミウム)

## I. 試薬類

### 1. 標準品

ヒ素 (As)、鉛 (Pb)、水銀 (Hg)、カドミウム (Cd) 標準原液 (1,000 mg/L(ppm)) : JCSS 認定、和光純薬工業製等、冷所 (25℃以下) 保存 (使用期限 : 容器に記載)

### 2. 内部標準品

ゲルマニウム (Ge)、インジウム (In)、ビスマス (Bi) 標準原液 (1,000 mg/L) : JCSS 認定、和光純薬工業製等、冷所 (25℃以下) 保存 (使用期限 : 容器に記載)

### 3. その他の試薬等

- 1) 水 : 純水製造装置により精製したもの
- 2) 硝酸 : 有害金属測定用
- 3) 1%硝酸 : 硝酸 1.64 mL に水を加えて 100 mL に定容する。
- 4) 5%硝酸 : 硝酸 8.2 mL に水を加えて 100 mL に定容する。

## II. 装置

- 1) 純水製造装置 : 日本ミリポア製 Milli-RX12 等
- 2) 高速遠心機 (50 mL の遠沈管を 3,000 rpm で遠心できるもの)  
: 日立製 himac CF7D 等
- 3) マイクロピペッター
- 4) 誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) : 島津製作所製 ICPM-8500 等
- 5) 滅菌装置 : TOMY 製オートクレイブ SS-235 等

## III. 器具等

- 1) 採尿用紙コップ : 日昭産業製ハルンカップ (150 mL 用) 等
- 2) 50 mL ポリプロピレン製自立型遠沈管 (以下 遠沈管)
- 3) ディスポーサブルシリンジ (12mL) : アズワン製ポリプロピレンディスポシリンジ等
- 4) メンブランフィルター  
: アドバンテック東洋濾紙製 DISMIC-25HP (親水性 PTFE、孔径 0.45 μm) 等
- 5) 100mL ポリプロピレン製メスフラスコ (以下 メスフラスコ)
- 6) ピペット用チップ
- 7) プラスチック製手袋、マスク等

#### IV. 試料溶液および標準溶液の調製

##### 1. 試料溶液<sup>※1</sup>

採尿用紙コップに試験用尿約 100mL を採取する。尿 40 mL を遠沈管に分取し、硝酸 8mL<sup>※2</sup> を加えてよく混和する (約 10 秒間)。室温にて毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離する。上清をディスポーサブルシリンジで吸引し、メンブランフィルターにより濾過して、酸処理尿を得る。次いで、As、Pb および Cd の分析の場合は、遠沈管に酸処理尿 1.5 mL を分取し、硝酸 0.5 mL、水 28 mL を加えて試料溶液とする (1.5%硝酸溶液中 24 倍希釈尿)。また、Hg の分析の場合は、酸処理尿 0.6 mL を分取し、硝酸 2.4 mL、水 27 mL を加えて試料溶液とする (5%硝酸溶液中 60 倍希釈尿)。

##### 2. 標準溶液および内部標準溶液<sup>※1</sup>

###### 1) As、Pb および Cd

###### ①標準溶液 (別紙参照)

As、Pb 及び Cd の各標準原液を等量ずつ混合し、1%硝酸にて希釈してメスフラスコに各元素濃度 0.1~100 µg/L (Blank, 0.1, 1.0, 10, 100 µg/L (ppb)) の溶液を調製する(用時調製)。

###### ②内部標準溶液

Ge、In 及び Bi の各標準原液を等量ずつ混合し、1%硝酸にて希釈して、メスフラスコに各元素濃度 50 µg/L の溶液を調製する [各標準原液 (1000 ppm) 1 mL → 100 mL (10 ppm)、さらに 0.5 mL → 100 mL (50 ppb)]。

###### 2) Hg

###### ①標準溶液 (別紙参照)

Hg 標準原液を 5%硝酸で希釈し、メスフラスコに 0(Blank)、2.5、5.0、10 µg/L の希釈溶液を調製する。健常人から得た尿から酸処理尿を上記 (1. 試料溶液) と同様の手順で調製する。4 本の遠沈管中にこの酸処理尿 0.6 mL、硝酸 2.3 mL、各 Hg 希釈溶液 1.2 mL、水 25.9 mL を加えて、Hg 濃度 0、100、200 および 400 ng/L の溶液を調製する。

###### ②内部標準溶液

Bi 標準原液を 1%硝酸にて希釈して、メスフラスコに濃度 50 µg/L の溶液を調製する。[標準原液 (1000 ppm) 1mL → 100 mL (10 ppm)、さらに 0.5 mL → 100 mL (50 ppb)]

※1 試料溶液、標準溶液および内部標準溶液の調製は、器具からの汚染を避けるため、通常洗浄後再利用するガラス製のメスフラスコやホールピペット等の器具の代わりに、ポリプロピレン製のメスフラスコやマイクロピペッター等のディスポーサブル器具を用いて行う。

※2 酸使用時には、手袋およびマスクを着用する。手袋はプラスチック製

のものが望ましい。

## V. 定性・定量

### 1) ICP-MS による測定

標準溶液および試料溶液を ICP-MS に導入する。内部標準溶液の導入は ICP-MS 装置による自動添加で行う。標準溶液については、それぞれの金属および内部標準物質の質量数のイオン強度を測定し、内部標準物質に対するそれぞれの金属のイオン強度比を求め検量線を作成する。試験溶液についても、同様にそれぞれの金属のイオン強度比を求め、Ⅵの計算式より試料溶液中の金属の濃度を算出する。ICP-MS の測定条件例を以下に示す。

#### [ICP-MS 測定条件例]

装 置：ICPM-8500

周 波 数：27.120 MHz

高周波出力： 1.2 kW

ガ ス：アルゴン

クーラントガス：7.0 L/min

プラズマガス：1.5 L/min

キャリアーガス：0.56 L/min

ネブライザ：同軸型ネブライザ

試料吸引量：0.55 mL/min (ADU-1 使用時 20 rpm)

チェンバ：冷却式スプレーチェンバ (2℃冷却)

ソルベントリンス：高速 60 sec、低速 30 sec

サンプルリンス：高速 60 sec、低速 60 sec

サンプリング深さ：5.0 mm

インターフェイス部：Cu 製

イオンレンズ部：ダイアゴナルレンズ

マスフィルタ部：四重極型質量分析計

測定質量数：As：75<sup>\*3</sup>、Pb：208、Hg：202、Cd：114 (m/z)

内部標準元素：Ge：74 (As 定量用)、Bi：209 (Pb、Hg 定量用)、

In：115 (Cd 定量用) (m/z)

積分時間：As：3.0、Pb：3.0、Hg：3.0、Cd：3.0、Ge：2.0、In：1.0、

Bi：1.0 (sec)

定 性：質量数 (m/z)

定 量：内部標準法

検量線範囲：As、Cd、Pb：0.1～100 µg/L(ppb) (尿中濃度として 240 µg/L 以下)、

Hg：0.1～0.4 µg/L(ppb) (尿中濃度として 24µg/L 以下)

※3 As の測定質量数 75 は、キャリアーガスのアルゴンと水に含まれる塩素イオンにより形成される  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  によりスペクトル干渉を受けるため、干渉値を質量数 77 および 82 の測定値を用いて、以下のように自動補正した。

$$\text{As 補正值} = \text{As 測定値} - \text{干渉値} = {}^{75}\text{C} - {}^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl} = {}^{75}\text{C} - 3.127({}^{77}\text{C} - 0.825 \times {}^{82}\text{C})$$

ここで、 ${}^a\text{C}$  は質量数  $a$  における測定強度。

## 2) 留意事項

Hg は他 3 元素と比較すると、ICP-MS における測定濃度範囲が 0~400ng/L と低いため、イオン強度が相対的に小さい。このような場合、バックグラウンドに影響されやすく、測定の安定性が失われやすい傾向がある。また内部標準補正を行っても、正確な値が算出できない場合がある。さらには、低濃度の水銀溶液は揮発しやすい。バックグラウンドを軽減し、さらには安定したイオン強度を得るためには、①試料間の洗浄時間を長くする、②試料溶液の硝酸濃度を上げる、③積分時間を長くする、といった対策が有効である。

## VI. 計算式

尿中の各元素濃度  $C$  ( $\mu\text{g/L}$ , ppb) は、次式から求められる。

$$C = A \times B$$

A: 検量線から得られた試料溶液中の各元素濃度 ( $\mu\text{g/L}$ , ppb)

B: 希釈倍率 (As、Pb、Cd: 24、Hg: 60)

## VII. 判定

健常日本人における各元素の尿中排泄量は、Pb 2.2  $\mu\text{g/g}$  クレアチン [1]、Cd 2.1  $\mu\text{g/g}$  クレアチン [2]、As 130  $\mu\text{g/g}$  クレアチン [3]、Hg 1.5  $\mu\text{g/g}$  クレアチン [4] であることが報告されている。健常人における一日あたりクレアチニン排泄量は 0.5~1.5 g [5] であり、一日に排泄される尿量を 1~1.5 L と仮定すると、健常人の各元素の尿中濃度レベルは、概ね、Pb 1~4  $\mu\text{g/L}$ 、Cd 0.9~4  $\mu\text{g/L}$ 、As 60~260  $\mu\text{g/L}$ 、Hg 0.7~3  $\mu\text{g/L}$  である。健常人における尿中 As の多くは魚貝類に含まれるアルセノベタインに由来すると推定され [3]、As の尿中への排泄量に及ぼす食事の影響は大きいと考えられる。各元素による中毒時にはいずれも健常時の 10 倍以上の量が尿中に排泄されると仮定し、As は 2 mg/L 以上、Pb、Cd および Hg は 2  $\mu\text{g/L}$  以上の尿中濃度が検出された際は、陽性と判断する。なお、Hg の定量に際し、尿中の他成分が測定に影響を及ぼし、定量値の正確性が乏しい場合がある (参考資料参照)。しかし、健常時の 10 倍程度の Hg が尿中に排泄されれば、測定値は健常時の値よりも明らかに高く、中毒原因元素としての特定は可能である。

## VIII. 分析終了後の試料の処理

測定を終了したのち、試料溶液および未使用の尿試料、試料溶液調製に使用したディスプレイサブル器具類はすべて滅菌装置により 120℃で 15 分間、滅菌した後廃棄する。

## IX. 文献

- [1] Zhang ZW., Moon CS., Shimbo S., Watanabe T., Nakatsuka H., Matsuda-Inoguchi N., Higashikawa K., Ikeda M., Int Arch Occup Environ Health 73: 91-97 (2000)
- [2] Ikeda M., Zhang ZW., Higashikawa K., Watanabe T., Shimbo S., Moon CS., Nakatsuka H., Matsuda-Inoguchi N., Toxicol Lett 108: 161-166 (1999)
- [3] 山内博, 日衛誌 49: 973-983 (1995)
- [4] Yamamura Y., Yoshinaga Y., Arai F., Kishimoto T., Jpn J Ind Health 36: 66-69 (1994)
- [5] Medical Practice 編集委員会、臨床検査ガイド 2003～2004、文光堂、東京 (2003)



X. フローシート

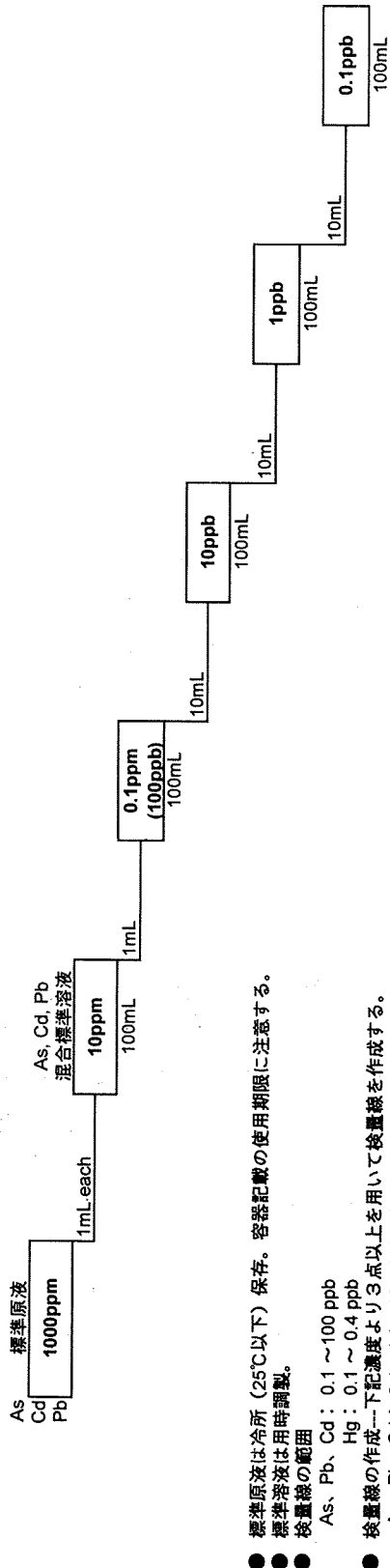
<p>&lt;試料溶液の調製&gt;</p> <p>尿試料 40 mL</p> <p>濃硝酸 8mL</p> <p>振とう10秒</p> <p>遠心分離 3,000rpm、10分、室温</p> <p>上清をフィルターでろ過</p> <p>(As,Pb,Cdの場合) (Hgの場合)</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>酸処理尿 1.5 mL</p> <p>硝酸 0.5 mL</p> <p>水 28 mL</p> <p>試料溶液 (1.5%硝酸中24倍希釈尿)</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>酸処理尿 0.6 mL</p> <p>硝酸 2.4 mL</p> <p>水 27 mL</p> <p>試料溶液 (5%硝酸中60倍希釈尿)</p> </td> </tr> </table>	<p>酸処理尿 1.5 mL</p> <p>硝酸 0.5 mL</p> <p>水 28 mL</p> <p>試料溶液 (1.5%硝酸中24倍希釈尿)</p>	<p>酸処理尿 0.6 mL</p> <p>硝酸 2.4 mL</p> <p>水 27 mL</p> <p>試料溶液 (5%硝酸中60倍希釈尿)</p>	<p>採尿用紙コップ</p> <p>50 mLポリプロピレン製自立型遠沈管</p> <p>マイクロピペッター、チップ</p> <p>高速遠心機</p> <p>メンブランフィルター (親水性PTFE、25mmφ、0.45 μm)</p> <p>ディスポーザブルシリンジ</p> <p>マイクロピペッター、チップ</p> <p>50 mLポリプロピレン製自立型遠沈管</p>
<p>酸処理尿 1.5 mL</p> <p>硝酸 0.5 mL</p> <p>水 28 mL</p> <p>試料溶液 (1.5%硝酸中24倍希釈尿)</p>	<p>酸処理尿 0.6 mL</p> <p>硝酸 2.4 mL</p> <p>水 27 mL</p> <p>試料溶液 (5%硝酸中60倍希釈尿)</p>		
<p>&lt;測定&gt;</p> <p>ICP-MS</p>			
<p>&lt;計算処理&gt;</p>			
<p>&lt;結果&gt;</p>			

標準溶液調製方法

(別紙)

以下の手順で、各濃度の混合標準溶液を調製する。

標準原液濃度 (mg/L, ppm)	標準品管理番号	採取量(mL)	採取者	備考	廃棄日
ヒ素(As) 1,000					
鉛(Pb) 1,000					
水銀(Hg) 1,000					
カドミウム(Cd)					



- 標準原液は冷所 (25℃以下) 保存。容器記載の使用期限に注意する。
- 標準溶液は用時調製。
- 校量線の範囲

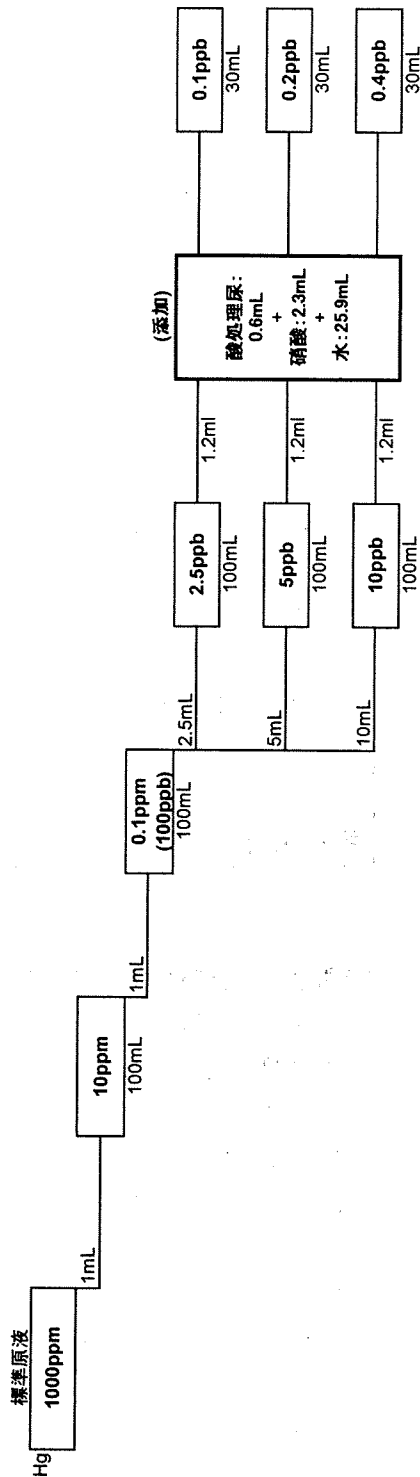
As, Pb, Cd : 0.1 ~ 100 ppb

Hg : 0.1 ~ 0.4 ppb

- 校量線の作成—下記濃度より3点以上を用いて校量線を作成する。

As, Pb, Cd : 0.1, 1.0, 10, 100 ppb

Hg : 0.1, 0.2, 0.4 ppb



## < 参考資料 >

### ○健常人における各元素の尿中濃度

中毒的曝露のない健常人 5 名（被験者 A～E）より尿を採取し、各元素の尿中濃度を分析した（表 1）。5 名における各元素濃度の平均値は、Pb 1.8  $\mu\text{g/L}$ 、Cd 4.8  $\mu\text{g/L}$ 、As 180  $\mu\text{g/L}$ 、Hg 定量下限（尿中濃度として 6  $\mu\text{g/L}$ ）<sup>※4</sup>以下であった。As の尿中濃度レベルは Pb 及び Cd に比較して高く、個人差も大きかった。

※4 Hg を添加していない標準溶液（0  $\mu\text{g/L}$  から若干量の Hg が検出された。この溶液を 5 本調製、分析し、測定値の平均値及び標準偏差を算出した。標準偏差の 10 倍を定量下限値とすると概ね 0.1  $\mu\text{g/L}$ （尿中濃度として 6  $\mu\text{g/L}$ ）であった。

表 1. 健常人における各元素の尿中濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )

被験者	Pb	Cd	As	Hg
A	3.2	4.9	46	< 6
B	1.5	5.3	365	< 6
C	1.3	5.2	151	< 6
D	1.2	4.2	96	< 6
E	1.7	4.1	240	< 6
平均	1.8	4.8	180	< 6
標準偏差	0.8	0.6	126	-

### ○添加回収試験および再現性試験

中毒的曝露のない健常人 5 名（被験者 A～E）から採取した尿に一定量の各元素（尿中濃度として 2400  $\mu\text{g/L}$  (As) および 24  $\mu\text{g/L}$  (Pb, Cd, Hg)) を添加し、分析法の正確性と精密性について試験した。精密性（再現性）は測定値の変動係数（ $n=5$ ）により、正確性は添加量に対する測定値（回収率）により評価した（表 2）。尿試料の定量値（標準添加試料－無添加試料）より各元素の測定における回収率を算出したところ、5 名の回収率は Pb 96～105%、Cd 82～87%、As 79～107%、Hg 67～1363%であった。また、変動係数は Pb 1.2～9.3%、Cd 1.0～3.6%、As 1.0～5.9%、Hg 11～55%であった。

Pb、Cd および As の変動係数は 10%以下であり再現性よく精密に定量できるものと考えられた。一方、Hg の変動係数は平均 33%であり、測定値の再現性は乏しく精密な定量は困難であると考えられた。Pb および As の回収率は、被験者 E の As を除き 95%以上であり、健常時の 10 倍程度の尿中濃度レベルにおいて概ね正確な定量が可能であると考えられた。一方、尿中 Cd の測定における回収率の平均値は 84%であった。回収率の被験者間における差異は小さい（82～87%）ため、回収率を 85%程度として概ね定量可能と考えられる。一方、Hg の回収率の平均値は 497%であった。特に被験者 A および D では測定値が著しく高く、尿中の他成分が測定に影響を及ぼしていると推察される。したがって、本法では、健常時の 10 倍程度の尿中 Hg 濃度レベルにおいて正確

な定量は不可能であると判断された。しかし、各人の標準添加尿の測定値は、いずれの被験者においても健常時の Hg 排泄量よりも明らかに高かった。したがって、中毒の際、健常時の 10 倍程度量の Hg が尿中に排泄されれば、中毒原因元素の特定は可能であると考えられる。

表 2. 各元素の回収率と測定値の変動係数 (% , n=5)

被験者	Pb		Cd		As		Hg	
	回収率	変動係数	回収率	変動係数	回収率	変動係数	回収率	変動係数
A	96	2.3	84	1.5	100	2.2	1363	11
B	99	1.2	82	1.5	102	3.3	76	38
C	101	4.3	82	3.6	104	2.4	175	55
D	99	1.7	87	1.0	107	1.0	806	45
E	105	9.3	84	1.2	79	5.9	67	14
平均	100	3.8	84	1.8	99	3.0	497	33

添加量：尿中濃度として2400 µg/L (As) および24 µg/L (Pb, Cd, Hg)