

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^{※1}

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^{※2} 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^{※1}

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^{*3}, 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 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン [1]、Cd 2.1 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン [2]、As 130 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン [3]、Hg 1.5 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン [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

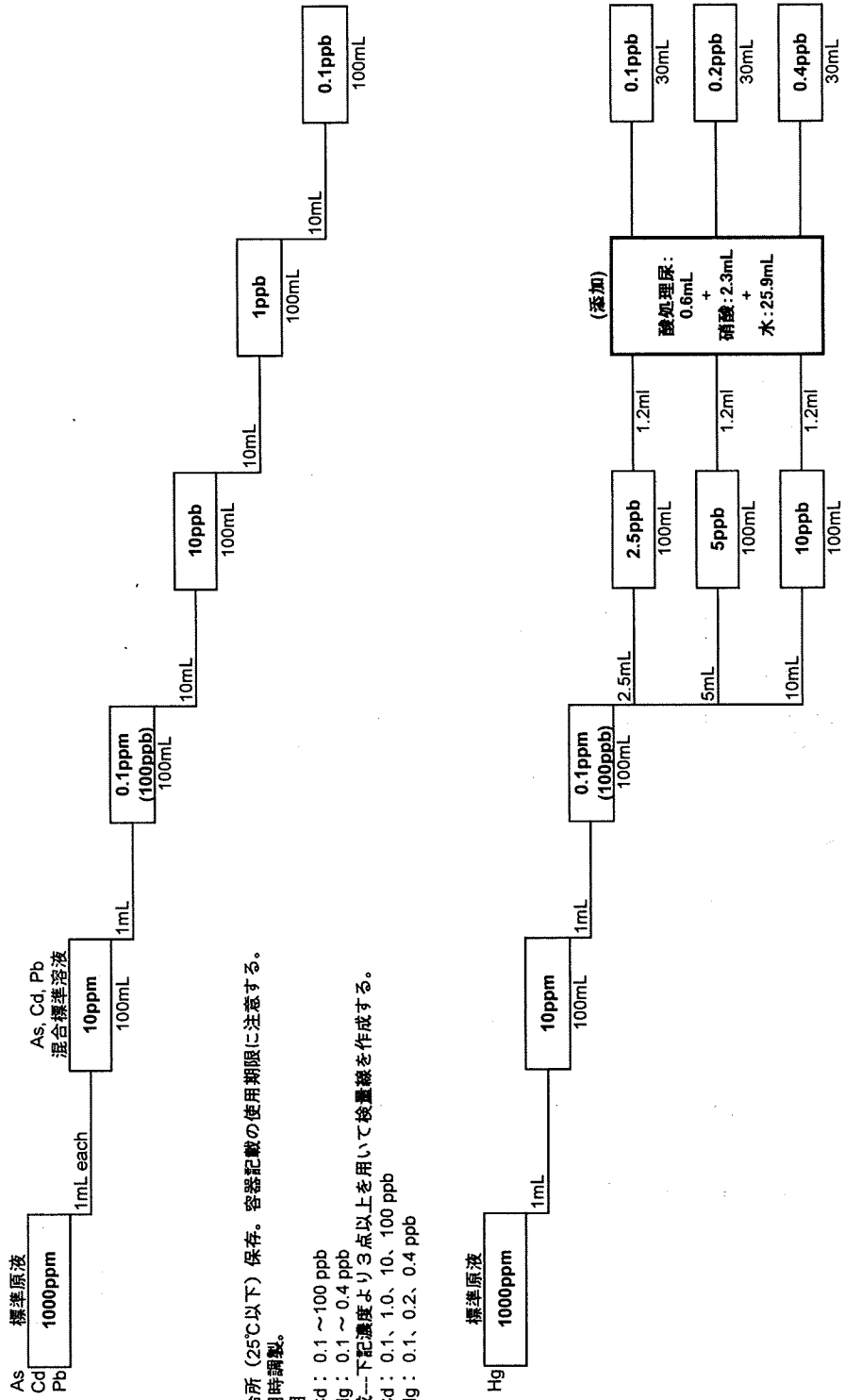
<p><試料溶液の調製></p> <p>尿試料 40 mL</p> <p>濃硝酸 8mL</p> <p>振とう10秒</p> <p>遠心分離 3,000rpm、10分、室温</p> <p>上清をフィルターでろ過</p> <p>(As,Pb,Cdの場合) (Hgの場合)</p> <p>酸処理尿 1.5 mL 酸処理尿 0.6 mL</p> <p>硝酸 0.5 mL 硝酸 2.4 mL</p> <p>水 28 mL 水 27 mL</p> <p>試料溶液 試料溶液</p> <p>(1.5%硝酸中24倍希釈尿) (5%硝酸中60倍希釈尿)</p>	<p>採尿用紙コップ</p> <p>50 mLポリプ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><測定></p> <p>ICP-MS</p>	
<p><計算処理></p>	
<p><結果></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°C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 : 0.1 ~ 100 ppb
 Hg : 0.1 ~ 0.4 ppb
- 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、Pb、Cd : 0.1、1.0、10、100 ppb
 Hg : 0.1、0.2、0.4 ppb

<参考資料>

○健全人における各元素の尿中濃度

中毒的曝露のない健全人 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 µg/L、Cd 4.8 µg/L、As 180 µg/L、Hg 定量下限（尿中濃度として 6 µg/L）^{*4}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 µg/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 µg/L（尿中濃度として 6 µg/L）であった。

表 1. 健全人における各元素の尿中濃度 (µg/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全人 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 µg/L (As) および 24 µg/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、健全時の 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、健全時の 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 $\mu\text{g/L}$ (As) および 24 $\mu\text{g/L}$ (Pb, Cd, Hg)

別紙 4

健康危機管理時における食品中の重金属迅速分析マニュアル

マイクロウェーブ分解法 (ヒ素、鉛、水銀、カドミウム)

I. 試薬類

1. 標準品

市販の ICP/MS 用重金属混合標準溶液 (SPEX 社製, XSTC-331, 10ppm 溶液等) または、単品の標準溶液 (JCSS 認定、和光純薬工業株式会社製等) を使用する。単品の標準溶液を用いる場合は、2% の硝酸を用いて 10ppm 混合溶液を作製する。水銀の分析には、水銀 100ppm 又は 1000ppm 溶液を使用する。ICP/MS 用の内部標準溶液にはインジウム (In), 1000ppb (SPEX 社製等) を使用する。

(使用期限：容器に記載)

2. その他の試薬等

- 1) 濃硝酸：超微量分析用
- 2) 過酸化水素水：超高純度試薬
- 3) 水：純水製造装置により精製したもの
- 4) 硫酸：有害金属測定用
- 5) 塩化第一スズ (II) 二水和物：有害金属測定用
塩化スズ (II) 溶液 (水銀分析に使用)：塩化第一スズ (II) 二水和物 10g に硫酸 (1+20) 60mL を加えて溶かし、水で 100mL にする。

II. 装置

- 1) 純水製造装置
- 2) 天秤
- 3) マイクロウェーブ試料前処理装置
- 4) ホットプレート
- 5) 還元気化水銀分析計
- 6) 誘導結合プラズマ・質量分析計 (ICP-MS)
- 7) マイクロピペット

III. 器具等

- 1) マイクロウェーブ用容器及びフタ
- 2) 100mL テフロンビーカー

- 3) 10mL 駒込ピペット
- 4) 2mL 駒込ピペット
- 5) 20mL メスフラスコ
- 6) 10mL メスフラスコ
- 7) 10-15mL PP 製サンプルチューブ
- 8) 5mL ホールピペット
- 9) 1mL メスピペット
- 10) 水銀発生瓶 (50mL 比色管)

IV. 試料溶液および標準液の調製

1. 試料溶液^{※1}

1) マイクロウェーブによる前処理

均一化した検体 0.5g を精秤し、マイクロウェーブ用の容器（テフロン、白）に入れる。濃硝酸 8mL を加えてフタをし、1 時間～1 晩放置する。同時に硝酸のみを入れたブランク試験も実施する。放置後、マイクロウェーブ試料前処理装置を用い、表のプログラムで分解を行う。容器を取り出してドラフト中でフタを開け、褐色の煙がなくなるまで放置する。玄米の場合は、さらに濃硝酸 2mL、過酸化水素水 0.5mL を加えて、もう一度マイクロウェーブ試料前処理装置で分解をおこなう（一回目と同じプログラム）。終了後、ドラフト中でフタを開け、褐色の煙が出なくなるまで放置する。試料液が淡黄色になっていれば、分解終了とする。試料液を濃硝酸で 20mL にメスアップする。

マイクロウェーブ試料前処理装置の条件

ステップ	時間 (分)	出力 (W)	温度 (℃)
1	2	1000	50
2	3	0	30
3	13	1000	185
4	1	0	155
5	4	1000	185
6	7	1000	185

2. 標準溶液

ICP/MS 用の検量線標準溶液は、10ppm 混合標準溶液を 2%硝酸で希釈し、1～100ppb (例 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100ppb) の範囲で標準溶液を作製する。水銀の標準溶液は標準液原液を 2%硝酸で希釈して 0.1ppm 溶液を作製する（一点検量線）。

V. 定性・定量

1) As、Pb、Cd の測定 (ICP-MS 法)

As、Pb、Cd を測定するために、その標準溶液および試料溶液を以下のように調製し、ICP-MS に導入する。

Ⅳ-1 で前処理をした試料液 10mL を正確にテフロンビーカーに取り、ドラフト中でホットプレート（170℃）上にのせて加熱する（濃硝酸を蒸発させる）。試料液が少なくなってきたら（0.5mL 程度）、ホットプレートからおろして煙が出なくなるまで放置する。2%硝酸を 2-3mL 程度加えて、よく溶かしながら再び加熱する。試料液が少なくなってきたら、再び 2%硝酸を 2-3mL 程度加えて残渣をよく溶かす。試料液を 10mL メスフラスコに移して、2%硝酸でメスアップする。調製したサンプルと検量線用の標準溶液を、それぞれホールピペットで 5mL ずつ PP 製サンプルチューブに取り（サンプル中の濃度が濃い場合は、希釈する）、内部標準溶液（インジウム In, 1000ppb）を 50uL ずつ添加する。これを ICP-MS 測定試料とする。標準溶液を測定し、それぞれの金属について検量線を作成する。試験溶液についても、同様にそれぞれの金属の強度を測定し、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]

装置：Agilent 7500cs

高周波出力：1.5 kW

ガス：

アルゴン

キャリアガス：0.85 L/min

メイクアップガス：0.20 L/min

ヘリウム

コリジョンガス：5.5 L/min

測定質量数：As：75, Pb：208, Cd：111

検量線範囲：1～100 ppb

2) Hg の測定（還元気化水銀分析法）

Hg を測定するために、その標準溶液および試料溶液を以下のように調製し、還元気化水銀分析で測定する。

Ⅳ-1 で前処理をした試料液 1～10mL と硫酸 1mL を水銀発生瓶（比色管）に入れ、全量で 20mL になるように水を加える。標準溶液として、水銀 0.1ppm 溶液、0.1mL(10ng)、水 18.9mL、硫酸 1mL を比色管に入れたものを用いて、1 点検量線を作製する。測定までフタをしておく。装置が安定化するまで 20 分程度要するので、立ち上げ（0.1N NaOH 溶液の注入、電源 ON）を行っておく。測定の直前に塩化スズ溶液 1mL を加えて通気することにより、水銀蒸気を発生させ、原子吸光法で検出・定量する。Ⅵの計算式より試料溶液中の水銀濃度を算出する。

[還元気化水銀分析計測定条件]

装置：日本インスツルメンツ社製のマーキュリー/RA-2A

測定波長：253.7nm

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。

1) As, Pb, Cd

$$C \text{ (mg/kg, ppm)} = A \text{ (}\mu\text{g/mL, ppm)} \times 20 \text{ (mL)} \div W \text{ (g)}$$

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

W：試料採取量 (g)

2) Hg

$$C \text{ (mg/kg, ppm)} = A \text{ (ng)} \times 1/1000 \times 20 \text{ (mL)} \div V \text{ (mL)} \div W \text{ (g)}$$

A：検量線から得られた試験溶液中の Hg の発生量 (ng)

W：試料採取量 (g)

V：試料液採取量 (mL)

VII. 判定

判定は以下の通りを行う。

定量下限値は試料中含有量として 0.02 mg/kg(ppm)となる。

VIII. 文献

- 1) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子, マイクロウェーブ分解装置を用いた重金属の迅速分析法の検討, 福岡県保健環境研究所年報第 36 号

IX. フローシート

<p><試験用検体の調製> 粉碎、均一化</p>	<p>フードプロセッサー、ミルサー等</p>
<p><抽出> 試料 0.5g ↓ 濃硝酸 8mLを加えて、一時間以上放置 (ドラフト中でフタをして) ↓ マイクロウェーブ前処理装置で分解 ↓ 容器のフタを開けて冷ます ↓ 玄米の場合は、濃硝酸 2mL、過酸化水素水 0.5mLを加えて 再びマイクロウェーブ前処理装置で分解 ↓ 容器のフタを開けて冷ます ↓ 20mLのメスフラスコでメスアップ(濃硝酸)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>As, Pb, Cd</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">ICP/MS法</div> <p>↓</p> <p>分解した試料 10mLを正確にとり、ホットプレートで蒸発させて濃硝酸を除去させる。2%硝酸で10mLメスフラスコに洗いこみ、メスアップする。その試料液 5mL(希釈が必要な場合は2%硝酸で希釈すると)、内部標準溶液(In 1000ppb)をサンプルチューブに入れ、よく混合して測定する。</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>水銀(Hg)</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">還元気化水銀分析法</div> <p>↓</p> <p>試料液 1~10mL 硫酸 1mL 水で全量 20mLにする</p> <p>↓</p> <p>直前に塩化スズ 1mLを加えて、測定</p> </div> </div>	<p>マイクロウェーブ用容器 精密天秤、駒込ピペット又はマイクロピペット</p> <p>マイクロウェーブ分解装置</p> <p>マイクロピペット</p> <p>20mLメスフラスコ</p> <p>10mLホールピペット テフロンピーカー 10mLメスフラスコ 駒込ピペット 比色管</p> <p>ICP-MS 還元気化水銀分析計</p>
<p><測定> ICP-MS 還元気化水銀分析計</p>	
<p><計算処理></p>	
<p><結果></p>	

別紙5

健康危機管理時における生体試料中の重金属迅速分析マニュアル

マイクロウェーブ分解法

(ヒ素、鉛、水銀、カドミウム)

I. 試薬類

1. 標準品

市販の ICP/MS 用重金属混合標準溶液 (SPEX 社製, XSTC-331, 10ppm 溶液等) または、単品の標準溶液 (JCSS 認定、和光純薬工業株式会社製等) を使用する。単品の標準溶液を用いる場合は、2%の硝酸を用いて 10ppm 混合溶液を作製する。水銀の分析には、水銀 100ppm 又は 1000ppm 溶液を使用する。ICP/MS 用の内部標準溶液にはインジウム (In), 1000ppb (SPEX 社製等) を使用する。

(使用期限：容器に記載)

2. その他の試薬等

- 1) 濃硝酸：超微量分析用
- 2) 過酸化水素水：超高純度試薬
- 3) 水：純水製造装置により精製したもの
- 4) 硫酸：有害金属測定用
- 5) 塩化第一スズ (II) 二水和物：有害金属測定用
塩化スズ (II) 溶液 (水銀分析に使用)：塩化第一スズ (II) 二水和物 10g に硫酸 (1+20) 60mL を加えて溶かし、水で 100mL にする。

II. 装置

- 1) 純水製造装置
- 2) 天秤
- 3) マイクロウェーブ試料前処理装置
- 4) ホットプレート
- 5) 還元気化水銀分析計
- 6) 誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS)
- 7) マイクロピペット

III. 器具等

- 1) マイクロウェーブ用容器及びフタ
- 2) 100mL テフロンビーカー

- 3) 10mL 駒込ピペット
- 4) 2mL 駒込ピペット
- 5) 20mL メスフラスコ
- 6) 10mL メスフラスコ
- 7) 10-15mL PP 製サンプルチューブ
- 8) 5mL ホールピペット
- 9) 1mL メスピペット
- 10) 水銀発生瓶 (50mL 比色管)

IV. 試料溶液および標準液の調製

1. 試料溶液^{※1}

1) マイクロウェーブによる前処理

均一化した検体 0.1g を精秤し、マイクロウェーブ用の容器（テフロン、白）に入れる。濃硝酸 8mL を加えてフタをし、1 時間～1 晩放置する。同時に硝酸のみを入れたブランク試験も実施する。放置後、マイクロウェーブ試料前処理装置を用い、表のプログラムで分解を行う。容器を取り出してドラフト中でフタを開け、褐色の煙がなくなるまで放置する。終了後、ドラフト中でフタを開け、褐色の煙が出なくなるまで放置する。試料液が淡黄色になっていれば、分解終了とする。試料液を濃硝酸で 20mL にメスアップする。

マイクロウェーブ試料前処理装置の条件

ステップ	時間 (分)	出力 (W)	温度 (°C)
1	2	1000	50
2	3	0	30
3	13	1000	185
4	1	0	155
5	4	1000	185
6	7	1000	185

2. 標準溶液

ICP/MS 用の検量線標準溶液は、10ppm 混合標準溶液を 2%硝酸で希釈し、1～100ppb (例 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100ppb) の範囲で標準溶液を作製する。水銀の標準溶液は標準液原液を 2%硝酸で希釈して 0.1ppm 溶液を作製する (一点検量線)。

V. 定性・定量

1) As、Pb、Cd の測定 (ICP-MS 法)

As、Pb、Cd を測定するために、その標準溶液および試料溶液を以下のように調製し、ICP-MS に導入する。

IV-1 で前処理をした試料液 10mL を正確にテフロンビーカーに取り、ドラ

フト中でホットプレート（170℃）上に乗せて加熱する（濃硝酸を蒸発させる）。試料液が少なくなってきたら（0.5mL程度）、ホットプレートからおろして煙が出なくなるまで放置する。2%硝酸を2-3mL程度加えて、よく溶かしながら再び加熱する。試料液が少なくなってきたら、再び2%硝酸を2-3mL程度加えて残渣をよく溶かす。試料液を10mLメスフラスコに移して、2%硝酸でメスアップする。調製したサンプルと検量線用の標準溶液を、それぞれホールピペットで5mLずつPP製サンプルチューブに取り（サンプル中の濃度が濃い場合は、希釈する）、内部標準溶液（インジウムIn, 1000ppb）を50 μ Lずつ添加する。これをICP-MS測定試料とする。標準溶液を測定し、それぞれの金属について検量線を作成する。試験溶液についても、同様にそれぞれの金属の強度を測定し、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：Agilent 7500cs

高周波出力：1.5 kW

ガ ス：

アルゴン

キャリアガス：0.85 L/min

メイクアップガス：0.20 L/min

ヘリウム

コリジョンガス：5.5 L/min

測定質量数：As：75, Pb：208, Cd：111

検量線範囲：1～100 ppb

2) Hgの測定（還元気化水銀分析法）

Hgを測定するために、その標準溶液および試料溶液を以下のように調製し、還元気化水銀分析で測定する。

Ⅳ-1で前処理をした試料液1～10mLと硫酸1mLを水銀発生瓶（比色管）に入れ、全量で20mLになるように水を加える。標準溶液として、水銀0.1ppm溶液、0.1mL(10ng)、水18.9mL、硫酸1mLを比色管に入れたものを用いて、1点検量線を作製する。測定までフタをしておく。装置が安定化するまで20分程度要するので、立ち上げ（0.1N NaOH溶液の注入、電源ON）を行っておく。測定の直前に塩化スズ溶液1mLを加えて通気することにより、水銀蒸気を発生させ、原子吸光法で検出・定量する。Ⅵの計算式より試料溶液中の水銀濃度を算出する。

[還元気化水銀分析計測定条件]

装 置：日本インスツルメンツ社製のマーキュリー/RA-2A

測定波長：253.7nm

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。

1) As, Pb, Cd

$$C \text{ (mg/kg, ppm)} = A \text{ (}\mu\text{g/mL, ppm)} \times 20 \text{ (mL)} \div W \text{ (g)}$$

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

W : 試料採取量 (g)

2) Hg

$$C \text{ (mg/kg, ppm)} = A \text{ (ng)} \times 1/1000 \times 20 \text{ (mL)} \div V \text{ (mL)} \div W \text{ (g)}$$

A : 検量線から得られた試験溶液中の Hg の発生量 (ng)

W : 試料採取量 (g)

V : 試料液採取量 (mL)

VII. 判定

判定は以下の通りを行う。

定量下限値は試料中含有量として 0.1 mg/kg(ppm)となる。

VIII. 文献

- 1) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子, マイクロウェーブ分解装置を用いた重金属の迅速分析法の検討, 福岡県保健環境研究所年報第 36 号

IX. フローシート

<p><試験用検体の調製> 粉碎、均一化</p>	<p>フードプロセッサ、ミルサー等</p>				
<p><抽出> 試料 0.1g ↓ 濃硝酸 8mLを加えて、一時間以上放置 (ドラフト中でフタをして) ↓ マイクロウェーブ前処理装置で分解 ↓ 容器のフタを開けて冷ます ↓ 20mLのメスフラスコでメスアップ(濃硝酸)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center;">As, Pb, Cd</td> <td style="width: 50%; text-align: center;">水銀(Hg)</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">↓ ICP/MS法</td> <td style="text-align: center;">↓ 還元気化水銀分析法</td> </tr> </table> <p>分解した試料 10mL を正確にとり、ホットプレートで蒸発させて濃硝酸を除去させる。2%硝酸で10mLメスフラスコに洗いこみ、メスアップする。その試料液 5mL (希釈が必要な場合は 2%硝酸で希釈すると)、内部標準溶液 (In 1000ppb) をサンプルチューブに入れ、よく混合して測定する。</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>試料液 1~10mL 硫酸 1mL 水で全量 20mLにする</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>直前に塩化スズ 1mLを加えて、測定</p>	As, Pb, Cd	水銀(Hg)	↓ ICP/MS法	↓ 還元気化水銀分析法	<p>マイクロウェーブ用容器 精密天秤、駒込ピペット又は マイクロピペット</p> <p>マイクロウェーブ分解装置</p> <p>マイクロピペット</p> <p>20mLメスフラスコ</p> <p>10mLホールピペット テフロンピーカー 10mLメスフラスコ 駒込ピペット 比色管</p> <p>ICP-MS 還元気化水銀分析計</p>
As, Pb, Cd	水銀(Hg)				
↓ ICP/MS法	↓ 還元気化水銀分析法				
<p><測定> ICP-MS</p> <p>還元気化水銀分析計</p>					
<p><計算処理></p>					
<p><結果></p>					

<参考資料1> マイクロウェーブ分解装置を用いた迅速分析法の検討結果

1. 食品試料 (参考として As, Pb, Cd, Hg 以外の元素についても示した。)

清涼飲料水の添加回収率 (n=5)

金属	回収率(%)	RSD(%)
Cr	112.2	23.8
Mn	81.3	7.1
Co	106.3	2.6
Ni	66.8	8.9
Cu	89.2	14.7
As	90.2	4.3
Se	90.3	4.2
Cd	92.7	2.3
Tl	99.5	2.4
Pb	102.0	15.9
Hg	87.4	8.7
Zn*	125.2	22.8

玄米の添加回収率 (n=5)

金属	回収率(%)	RSD(%)
Cr	98.3	5.2
Co	88.6	4.6
Cu	97.3	10.6
As	91.3	4.6
Se	85.3	6.7
Cd	99.4	2.0
Tl	112.0	2.4
Pb	118.6	21.9
Hg	95.3	7.2
Ni*	99.2	23.6
Mn*	171.0	41.4
Zn*	422.8	134.1