

ノート

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

(平成 21 年 4 月 9 日受理)

野村千枝* 尾花裕孝 織田 肇

Examination of Rapid Analysis of Toxic Heavy Metals
in Foods for Emergency Response to Health Crisis

Chie NOMURA*, Hirotaka OBANA and Hajime ODA

Osaka Prefectural Institute of Public Health: 1-3-69 Nakamichi,
Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan; * Corresponding author

A simple and rapid method for determination of intentional contamination with heavy metals in foods using inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) has been developed. The heavy metals were extracted with sulfuric acid in a disposable tube using a homogenizer. The extract was diluted with 1% HNO₃ solution and analyzed with ICP-AES. Recovery tests of 9 metals, As, Cd, Cr, Hg, Mn, Pb, Sb, Sn, and Tl, from 12 foods were performed, and gave acceptable recovery (71-107%) with low relative standard deviation (1-11%). The time required for conversion of 12 samples to test solutions was approximately 2 hr. This method could be useful for identification of heavy metals involved in food poisoning cases.

(Received April 9, 2009)

Key words: 重金属 heavy metal; 誘導結合プラズマ発光分光分析法 induced coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES); 硫酸 sulfuric acid; 希釈法 dilution method; 食品 food; 健康危機 health crisis; 経口 ingestion; 混入 contamination; アスコルビン酸 ascorbic acid

はじめに

近年、食品への有害な化学物質混入による重大な健康被害（健康危機）事例の頻発^{1)~3)}を受けて、健康危機への緊急対応の強化が食品衛生行政上の急務となっている⁴⁾。健康危機発生時には、適切な初動措置による早期治療および健康被害の拡大防止が重要であり、関連機関の連携による迅速な原因究明が望まれる。著者らが所属する地方衛生研究所（地研）の理化学部門においても現在、地域ブロックごとの定期的な健康危機模擬訓練と併せて緊急情報網の整備や分析対象項目の補充に取り組んでいるところである。

食品中の有害重金属の迅速分析法についてはいくつかの報告^{5),6)}があるものの、マイクロ波分解装置など、地研への普及率が比較的低い装置を試料の前処理または測定に使用する例が多いのが実情である。

そこで本研究では、多くの地研の設備で実施可能な食品中有害重金属の迅速分析法の開発を試みた。本法では簡便な硫酸による希釈法を前処理法に採用し、測定には試験液由来の装置汚染に対して頑健であり、各地研への普及率も比較的高いと推定される誘導結合プラズマ発光分光分析計

(ICP-AES)を用いた。測定対象元素には過去の中毒事例を考慮し、ヒ素をはじめとする10種類の重金属を選定した。各種食品を用いた添加回収試験の結果、緊急時分析法としての本法の有用性が示されたので報告する。

実験方法

1. 試料

大阪府内の小売店で購入した各種の飲料（牛乳、乳飲料、コーヒー、ジュース）、レトルト食品（カレー、ハヤシライス、シチュー）、およびチルド・冷凍食品（ぎょうざ、しゅうまい、そばめし、中華丼の具）を試料とした。レトルト食品およびチルド・冷凍食品は、フードプロセッサで細切均一化して分析に供した。

2. 試薬および器具

分析対象重金属10元素、ヒ素(As)、カドミウム(Cd)、クロム(Cr)、水銀(Hg)、マンガン(Mn)、鉛(Pb)、アンチモン(Sb)、セレン(Se)、スズ(Sn)およびタリウム(Tl)の標準品は、和光純薬工業(株)製の標準溶液(1,000 µg/mL)を用いた。

L(+)-アスコルビン酸ナトリウム(試薬特級)、硫酸および硝酸(重金属分析用)は和光純薬工業(株)製を用いた。

水はミリポア社製のMILLI Q SP. TOC.により精製したものをを用いた。メンブランフィルターはアドバンテック

* 連絡先

大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

東洋(株)製 DISMIC (親水性 PTFE, $\phi 25$ mm, $0.45 \mu\text{m}$)を用いた。その他使用器具(ピペットマンチップ, 遠沈管, シャフト, シリンジ)はすべて合成樹脂(PP)製のものを単回使用とした。

3. 装置

ホモジナイザーは TissueRuptor™ ((株)キアゲン製), ICP-AES は ICPS-7510 ((株)島津製作所製)を用いた。

4. ICP-AES 分析条件

高周波出力: 1.2 kW, ガス: アルゴン, クーラントガス: 12 L/min, プラズマガス: 1.2 L/min, キャリヤース: 0.7 L/min, 観測方向: 横方向, チャンバ: サイクロン型, 試料導入用チューブ: PTFE 製, 測定波長: As: 193.696 nm, Cd: 228.802 nm, Cr: 267.716 nm, Hg: 194.227 nm, Mn: 257.610 nm, Pb: 220.351 nm, Se: 196.026 nm, Sb: 206.838 nm, Sn: 189.989 nm, Tl: 190.864 nm。

5. 検量線の作成

As 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 $\mu\text{g/mL}$, およびその他 9 元素 0.02, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ を含む混合標準溶液(1%硝酸および8%硫酸水溶液)を ICP-AES に導入した。各元素の最適波長における発光強度を測定し, バックグラウンドを差し引いた補正強度比を用いて検量線を作成した。試験液の定量には絶対検量線法を用いた。

6. 試料液の調製

均質化した試料 0.25 g を採り, 濃硫酸 10 g を加え 30 秒間ホモジナイズした。そのうち 4 g を採り, 1%硝酸で 50 mL に定容した。これをフィルターろ過し試験液とした。

7. 添加回収試験

As 20 $\mu\text{g/mL}$, およびその他 9 元素 100 $\mu\text{g/mL}$ を含む混合標準溶液 0.25 mL を試料 0.25 g に添加した。

結果および考察

1. 添加濃度の設定

過去に中毒事例があった無機毒の例としては亜ヒ酸(三酸化二ヒ素, As_2O_3), 塩化水銀, 塩化カドミウム, 硝酸タリウムなどが挙げられる*1。その中でも特に亜ヒ酸の成人における急性の最小経口中毒量は 5 mg (3.8 mg As) であり, 他の無機毒と比較すると, 亜ヒ酸の毒性は非常に高い*2。そこで, 健康危機発生の際の喫食量は, 一般的な加工食品一食分 200 g と設定し, As の添加濃度は 20 $\mu\text{g/g}$ とした。その他 9 元素については, 最小中毒量が As の 5 倍以上であることから, 添加濃度は 100 $\mu\text{g/g}$ とした。

2. ICP-AES 分析条件の検討

測定波長は各測定対象の元素, および硫酸由来の硫黄と

の分光干渉が最も少ない最適波長を選択した。観測方向は高塩試料の導入が可能である横方向観測を選択した。チューブおよび装置内部の洗浄は, 10%硝酸を 30 秒間導入後, 1%硝酸を 30 秒間導入した。当初, 試料導入用チューブは PP 樹脂製のものをしていたが Hg を測定した場合, 洗浄を繰り返してもチューブ内部に Hg が残存した。そこでフッ素樹脂 (PTFE) に変更したところ, Hg の残存は解消した。

3. 検量線とマトリックスの影響

沈殿や揮散による測定元素の損失を避けるため, 検量線用標準溶液は用時調製とした。8%の硫酸を含有する試験液と検量線用標準溶液の粘度の違いに起因する ICP における試料噴霧量の差をなくすため, 検量線用標準溶液の硫酸濃度を 8%として測定した。1%硝酸を溶媒とした場合と比べて感度の低下はあるものの, As は 0.01~0.20 $\mu\text{g/mL}$, その他 9 元素は 0.02~0.50 $\mu\text{g/mL}$ の範囲内において相関係数 0.9999 以上と良好な直線性を示す検量線が得られた。

4. 定量下限

ブランク試料を繰り返し測定し, その強度の変動の標準偏差の大きさの 10 倍に相当する強度を与える元素濃度を定量下限値とした。得られた定量下限値は As 10 $\mu\text{g/g}$, その他 9 元素 50 $\mu\text{g/g}$ あった。

Table 1. Comparison of recoveries between HNO_3 method and H_2SO_4 method

| Sample | Average recovery (%) / RSD (%), n=3 | |
|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| | HNO_3 | H_2SO_4 |
| Water | 92/2 | 100/2 |
| Tea | 96/2 | 95/3 |
| Milk | 57/8 | 98/6 |
| Curry | 63/12 | 104/6 |
| Fermented milk drink | 114/6 | 96/5 |
| Lemon-flavored drink* | 332/5 | 116/4 |
| Honey-flavored drink* | 210/4 | 100/3 |
| Lemon-flavored jelly* | 335/20 | 112/4 |
| Lemon-flavored soda* | 320/8 | 102/3 |

Spiked level: 100 $\mu\text{g/g}$

* VC was spiked as the ingredient.

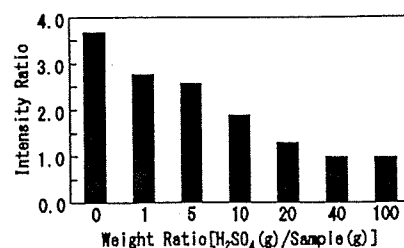


Fig. 1. Suppressive effect of H_2SO_4 on the overestimation of Hg value with ICP detection

■ Intensity ratio of Hg standard solution (0.2 $\mu\text{g/mL}$) containing VC (500 $\mu\text{g/g}$)

*1 厚生労働省 医薬食品局化学物質安全対策室資料

<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/doku/guide/guide.pdf>

*2 財団法人化学物質評価研究機構編 “化学物質安全性評価シートデータ集”

http://www.cerij.or.jp/db/sheet/sheet_indx.htm

Table 2. Recoveries of metals from various foods by using H₂SO₄

| Sample | Average recovery (%) / RSD (%), n=5 | | | | | | | | | |
|---------------------------|-------------------------------------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | As | Cd | Cr | Hg | Mn | Pb | Sb | Se | Sn | Tl |
| Added ($\mu\text{g/g}$) | 20 | | | | | 100 | | | | |
| Milk | 90/8 | 97/2 | 99/2 | 99/2 | 103/2 | 92/3 | 102/8 | 42/12 | 106/3 | 98/9 |
| Sobameshi | 100/5 | 95/1 | 99/2 | 93/5 | 102/3 | 102/4 | 97/6 | 55/11 | 97/2 | 100/5 |
| Brown sauce | 102/6 | 94/4 | 95/5 | 94/11 | 97/2 | 96/8 | 87/5 | 33/14 | 94/2 | 97/4 |
| Shao-mai | 106/4 | 91/2 | 93/3 | 79/9 | 96/1 | 93/5 | 85/6 | 35/12 | 93/3 | 95/6 |
| Spring roll | 101/3 | 90/3 | 96/3 | 78/8 | 95/2 | 92/5 | 93/4 | 22/9 | 92/2 | 89/4 |
| Roast pork | 74/9 | 92/3 | 93/2 | 79/6 | 94/2 | 98/9 | 90/2 | 26/11 | 89/5 | 87/7 |
| Cream stew | 96/6 | 91/4 | 91/3 | 90/9 | 91/2 | 90/5 | 84/4 | 48/10 | 90/2 | 90/6 |
| Beef stew | 92/11 | 95/4 | 96/4 | 84/8 | 96/2 | 96/5 | 93/3 | 50/9 | 93/4 | 94/4 |
| Okonomiyaki | 92/6 | 93/5 | 96/5 | 80/5 | 95/3 | 99/6 | 93/3 | 40/10 | 84/5 | 90/7 |
| Gyoza | 71/8 | 97/4 | 103/3 | 106/13 | 106/5 | 96/6 | 101/5 | 36/11 | 99/3 | 102/3 |
| Chuuka-don-no-gu | 99/3 | 96/2 | 98/2 | 88/9 | 98/2 | 99/4 | 95/1 | 42/11 | 93/2 | 98/4 |
| Curry | 84/5 | 102/3 | 106/3 | 107/8 | 107/3 | 97/5 | 105/4 | 71/9 | 106/1 | 105/3 |

5. 酸による希釈法の検討

不溶性の塩を生じにくい点から、重金属分析における試料溶液は一般的に硝酸が使用される。そこで、試料の希釈に用いる酸としてまず10%硝酸を用いて検討した。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8元素については良好な回収率が得られた。しかしながら、Hgについては牛乳57%、カレー63%とやや低値を示した (Table 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 $\mu\text{g/g}$) では、Hgの回収率が約210~335%と顕著に高い値を示した。Hgが還元剤の存在下で測定強度が増大したためと考えられる⁷⁾。このためHgの真値を測定するにはVCの影響を除く必要がある。そこで、VCの分解を目的として濃硫酸を用いた希釈法について検討した。その結果、VCによるHgの測定強度変動の影響を除去するためには試料重量の約20~40倍の濃硫酸が必要であった (Fig. 1)。試料重量の40倍の濃硫酸を用いてHgの回収試験を行った結果、VCを含む食品の回収率は、100~116%となりVCの影響を回避することができた。同時に回収率が低値であったカレーや牛乳においても、107%、99%と良好な結果が得られた (Table 1)。

6. 添加回収試験

12食品について5回繰り返し添加回収試験を行った結果、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 $\mu\text{g/g}$, その他9元素 100 $\mu\text{g/g}$) (Table 2)。Seについて回収率および再現性が悪かった一因としては、水への添加回収試験結果は良好なことから、試料に硫酸を加える際に発生する熱による揮散や試料との反応による損失が推測されたが、原因の究明には今後の検討が必要であると考えられた。

本報告で示した分析法は、試料の秤量から10元素の分析値を得るまでの時間は約2時間であり、既存の分析法

に比べ操作時間が大幅に短縮された。

以上の結果から本分析法は簡便で多様な食品にも対応可能であり、中毒発生時の迅速分析法として利用可能であると考えられた。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究健康安全・危機管理対策総合研究事業「地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究」の研究費を受けて実施したものであり、関係各位に深謝する。また、本研究を行うにあたり、ご助言いただいた元大阪府立公衆衛生研究所主任研究員の北川幹也氏に深謝する。

文 献

- 1) Seto, Y. Analytical chemistry contributing to crisis management in poisoning cases. *Bunseki Kagaku*, 56, 981-991 (2007).
- 2) Yoshida, T. Preparedness response to hazard and toxic incidents and food terrorism. *Yakugaku Zasshi*, 128, 851-857 (2008).
- 3) 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)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課. 食品による薬物中毒事案を踏まえた対応I. *食品衛生研究*, 58, 33-38 (2008).
- 5) Chan, K. C., Yip, Y. C., Chu, H. S., Sham, W. C. High-throughput determination of seven trace elements in food samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *J. AOAC Int.*, 89, 469-479 (2006).
- 6) Palmer, P. T., Jacobs, R., Baker, P. E., Ferguson, K., Webber, S. Use of field-portable XRF analyzers for rapid screening of toxic elements in FDA-regulated products. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 2605-2613 (2009).
- 7) 原口紘著「ICP発光分析の基礎と応用」東京, 講談社, 第11版, 2005, p. 229-230. (ISBN 4-06-139677-3)

原著

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

芦塚由紀・岡本華菜・山本重一・中川礼子

健康危機発生時のための重金属迅速分析法を確立することを目的とし、マイクロウェーブ分解装置を用いた前処理方法を検討した。測定には多元素同時分析が可能な ICP-MS (水銀は水銀分析計) を用いた。食品試料として玄米及び清涼飲料水を、生体試料として頭髪を用いてマイクロウェーブ分解装置における分解条件を検討した後、分析法の検証をした。添加回収試験の結果、食品試料では Cr、Mn、Co、Ni、Cu、As、Se、Cd、Tl、Pb、Hg の11元素について70~120%の良好な結果が得られ、健康危機発生時のスクリーニング検査法として適用可能であると考えられた。検査時間については、これまでの湿式分解/原子吸光法で要していた時間の半以下に短縮され、一日で結果を出すことが可能であると推察された。多元素を迅速に分析するための非常に有用な方法と考えられた。

[キーワード : 重金属、食品、生体試料、マイクロウェーブ、ICP-MS、多元素同時分析、健康危機管理]

1 はじめに

食品等による健康危機発生時に備え、地方衛生研究所においては様々な有害物質による事件を想定した検査体制を強化しておく必要がある。農薬や動物用医薬品については厚生労働省により通知された一斉分析法等の網羅的な分析法が比較的確立されているが、重金属については現在のところ確立された一斉分析法がない。特にカドミウム、鉛、ヒ素、水銀等はその有害性から健康危機発生時に検査すべき優先順位の高い物質と考えられることから、健康危機発生時を想定した検査法の確立が必要である。

従来から、食品中の重金属を分析する際ケルダールフラスコに入れた試料を硫酸及び硝酸で分解する湿式灰化法が用いられてきた。この方法は食品中カドミウム試験の公定試験法¹⁾であることから、当所においても食品の規格基準に伴う検査業務に用いているが、分解終了までに非常に多くの時間を要する。健康危機発生時は対応に有用な情報を得るために、第一に迅速的な検査が求められることから、分析試料の前処理過程における迅速化が不可欠である。試料の前処理法としては、湿式分解の他にホットプレート法やマイクロウェーブ分解法がある。マイクロウェーブ分解は、マイクロウェーブの出力条件を設定するだけで温度管理ができ、高圧、高温で分解可

能であるため迅速な前処理が可能である。また密封系で分解を行うため、コンタミネーションの低減、水銀等の揮発性の高い元素への適用が可能と考えられる。主に環境試料の分析に用いられている装置であり、食品試料への適用も報告されているが²⁾、まだ報告例が少ない。

今回我々は、健康危機発生時を想定した分析法として、カドミウム、鉛、ヒ素、水銀を含めた12元素についてマイクロウェーブ分解による前処理法を用いた迅速分析法の適用を検討した。さらに測定機器についても、これまでは重金属の分析に原子吸光分析を用いてきたが、多元素を同時に測定することが可能で検出感度が良い誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を用いること (水銀については水銀分析計) を検討した。分析試料は健康危機発生時を想定し、食品試料及び生体試料で検討を行った。食品の固体試料として玄米を、液体試料として清涼飲料水を、生体試料として頭髪を用いて、マイクロウェーブ分解条件を検討した後、標準試料の分析や添加回収試験を行い、分析法を検証した。

2 実験方法

2・1 試料

食品試料として玄米と清涼飲料水を、生体試料と

して頭髪を用いた。玄米と頭髪は重金属の濃度が既に認証値として明らかな環境標準試料（国立環境研究所、NIES CRM No. 10玄米粉末、及びNIES CRM No. 13頭髪）を使用した。清涼飲料水は標準試料が入手できなかったため市販品を用いた。

2・2 標準品及び試薬

重金属測定用の標準溶液は、SPEX社製のICP-MS用重金属混合標準溶液 XSTC-331 (29元素混合10ppm溶液) 及び和光純薬工業株式会社製の水銀標準液 (1000mg/L) を用いた。濃硝酸は和光純薬工業株式会社製の超微量分析用を使用した。内部標準溶液には、SPEX社製のインジウム標準液 (1000mg/L) を用いた。使用するガラス器具類及びテフロン製の容器類は予め10%硝酸に浸し、蒸留水で洗浄したものをを用いた。

2・3 装置

マイクロウェーブ分解装置はマイルストーンゼネラル社製 ETHOS TC を使用した。超純水製造装置はミリポア社のmiliQ SP UFを使用した。

2・4 試料の前処理

玄米の標準試料については湿式分解法（従来法）とマイクロウェーブ分解法の両方で前処理を行い、それぞれの定量値と認証値を比較した。清涼飲料水及び頭髪の試料についてはマイクロウェーブ分解法のみを行い認証値と比較した。添加回収試験は玄米、清涼飲料水の試料に各金属の添加量が試料1gあたり1 μ g（水銀は0.5 μ g）となるように標準溶液を添加し、n=5で行った。頭髪は試料1gあたり5 μ g（水銀は2.5 μ g）となるように標準液を添加し、同様にn=4で添加回収試験を行った。

2・4・1 湿式分解法

300mL のケルダールフラスコに試料約1g を正確に採取した。濃硝酸10mL を加えてドラフト中のバーナーで加熱し、茶色の煙が出たら加熱を止め放冷した。さらに濃硝酸を5mL 加えて、茶色の煙が出なくなるまでバーナーで加熱した。ケルダールフラスコ内の濃硝酸が蒸発で減少してきたら5mL ずつ濃硝酸を加え、試料液の色が淡黄色になるまで分解を繰り返した。分解後、試料液を20mL メスフラスコに洗い込み、濃硝酸でメスアップした。

2・4・2 マイクロウェーブ分解

マイクロウェーブ分解用容器に試料約0.5g を秤取りし、これに濃硝酸8mL を加えた。30分以上放置した後、表1に示す条件でマイクロウェーブ分解を行った。30分程度冷却した後、ドラフト内で容器のフタを開け、褐色の煙が出なくなるまで放置した。清涼飲料水及び頭髪の場合はここで分解を完了とし

た。玄米の場合は分解が不十分であったため、さらに濃硝酸2mL と過酸化水素0.5mL を加え、再びマイクロウェーブ分解を行った。分解液を20mL メスフラスコに入れ、濃硝酸で洗い込みながらメスアップした。

表1 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) | (°C) |
|------|--------|--------|------|
| 1 | 2 | 1000 | 50 |
| 2 | 3 | 0 | 30 |
| 3 | 13 | 1000 | 185 |
| 4 | 1 | 0 | 155 |
| 5 | 4 | 1000 | 185 |
| 6 | 17 | 1000 | 185 |

2・5 重金属の測定

前処理後の試料を一部採取し、クロム(Cr)、マンガン(Mn)、コバルト(Co)、ニッケル(Ni)、銅(Cu)、亜鉛(Zn)、ヒ素(As)、セレン(Se)、カドミウム(Cd)、タリウム(Tl)、鉛(Pb)の11元素はICP-MSで測定した。水銀については揮散しやすいことと、メモリー効果が起こることから¹⁾、高感度還元気化水銀分析装置で測定することにした。

2・5・1 水銀の測定

装置は日本インスツルメンツ社製のマーキュリー/RA-2Aを使用した。水銀の測定はサンプル前処理分解後すぐに行った。20mL にメスアップした各試料から0.8mL を専用の発生瓶に採取した。これに、蒸留水18.2mL と硫酸1mL を入れて軽く振り混ぜた。測定の直前に塩化スズ溶液1mL を加えた後、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・定量した（測定波長：253.7nm）。

2・5・2 ICP-MSによる測定（11元素）

装置はAgilent社製の7500csを使用した。分解後の試料を100mL テフロンビーカーに10mL 正確に採取し、硝酸を蒸発させるために170°Cのホットプレート上で加熱した。液量が1mL 以下まで蒸発させた後、2%硝酸を3mL 加えてよく溶解させ、再び加熱した。この操作を2~3回繰り返した後、2%硝酸を3mL 加えてよく溶解させ、10mL メスフラスコに移した。2%硝酸で洗い込みながらメスアップした。メスアップした試料液をポリプロピレン製の15mL 容の容器に5mL 採取した（金属濃度が濃い試料は希釈した）。また、検量線用標準溶液（1、2、5、10、20、50、100ppb の7点の濃度で調製したもの）も同様に5mL 採取した。採取した各標準溶液及び試料

溶液に1000ppb 溶液に希釈した内標準のインジウム標準溶液を50 μ L ずつ加えてよく混合した後、ICP-MS で測定を行った（高周波出力：1.5kW、アルゴンガス流量：キャリアガス 0.85L/min、メイクアップガス 0.20L/min、ヘリウムガス：5.5 mL/min）。測定対象とした元素及び質量数、また干渉する分子イオンの例を表2に示す。分子イオンの干渉を除去するためにコリジョンガスとしてヘリウムを使用した。

表2 測定対象とした11元素及び質量数

| 元素名* | 質量数 | 元素名* | 質量数 |
|-------------|-----|-----------|-----|
| Cr | 53 | As (ArCl) | 75 |
| Mn (ClO、KO) | 55 | Se | 77 |
| Co (ArNa) | 59 | Cd | 111 |
| Ni (CaO) | 60 | Tl | 205 |
| Cu (ArNa) | 63 | Pb | 208 |
| Zn (MgAr) | 66 | | |

* 括弧内は干渉する分子イオンの例を示す。

3. 結果及び考察

3・1 ICP-MSにおける検量線の作成

ICP-MS で測定を行う11元素について、1-100ppb の範囲で7点の濃度の標準溶液を測定し、検量線を作成した。いずれの元素についても、1-100ppb の濃度範囲で検量線に良好な直線性が得られた。水銀は還元気化水銀分析計を用いて、0.5ppb の1点検量線 で測定を行った。また、実験に使用する水（蒸留水及び超純水）におけるブランク値を測定した結果、0.2ppb 以下であり、健康危機発生時の食品等の検査に問題なく使用可能であると考えられた。各元素の試料における定量下限値は、玄米及び清涼飲料水で0.02ppm、頭髪で0.1ppmであった。

3・2 マイクロウェーブ分解装置の条件の検討

マイクロウェーブ分解装置を用いて、代表的な3種類の試料（食品の固形試料として玄米、液体試料として清涼飲料水、生体試料として頭髪）の前処理を試みた。それぞれの試料を分解するためのマイクロウェーブ分解装置の条件（昇温プログラム）を検討した。表1に示すプログラムで試料の分解を行った。分解前に加える硝酸の量は8mLとした。清涼飲料水及び頭髪は、いずれの試料も1回の分解で無色透明な分解液が得られた。しかしながら、玄米は1回の分解では分解液が暗緑色を呈し、有機物がかなり残存することを示していたため、さらに過酸化水素0.5mL と硝酸2mL を加えて再び同じプログラムで分解を行った。その結果、2回目の分解後は淡黄色の分解液を得ることができたことから、玄米試

料はマイクロウェーブの分解を2回行うこととした。また、分解に用いる試料の量について、0.2g と0.5g で分解し比較したところ、どちらも分解液の色も違いがなかったため、試料は0.5g を使用することとした。頭髪については、人体試料であるため少量で採取することが妥当であると判断し0.1g を使用することにした。

3・3 標準試料の分析による分析法の検証

予め濃度が検証されている認証値付きの標準試料（玄米及び頭髪）を用いて、マイクロウェーブ分解による迅速分析法の検証を行った。前処理後の試料を ICP-MS（水銀は水銀分析計）で測定し、定量値と認証値を比較した。標準試料（玄米及び頭髪）の認証値とマイクロウェーブ分解を用いた分析法による定量値を表3に示す。また、マイクロウェーブ及び湿式分解による定量値と認証値の比の比較（頭髪はマイクロウェーブ分解のみの値）を図1に示す。玄米の標準試料では、Cr、Mn、Cu、Zn、As、Cd の6元素について定量値は認証値と近い値（比が0.7-1.2の範囲内）であった。Ni では約2倍以上高い値であった。従来法である湿式分解法では Cr の値が低かったが、その他の元素については同様の傾向が見られた。水銀は標準試料中に極微量にしか含まれておらず、検出下限値以下であった。また、Se、Tl、Pb は認証値がなかったため比較はできなかった。マイクロウェーブ分解法は迅速でかつ湿式分解法と同等かそれ以上の良好な結果が得られることがわかった。頭髪の標準試料では Mn、Cu、Se、Cd、Hg の5元素について定量値は認証値と近い値（0.7-1.2の範囲）であった。As 及び Pb は1.5倍程度高めの値で、Cu 及び Zn はやや低めの値であった。Cr、Ni、Tl は認証値がなかったため比較できなかった。

3・4 添加回収試験による分析法の検証

各金属の添加量が食品試料は1g あたり1 μ g（水銀は1g あたり0.5 μ g）となるように試料に標準溶液を添加し、n=5で添加回収試験を行った。頭髪は5 μ g（水銀は1g あたり2.5 μ g）となるように試料に標準溶液を添加して n=4で行った。重金属の中でも毒性の高い亜ヒ酸の場合の中毒量は5-50mg³¹であることから、食事量を100g とした場合、試料中濃度は50ppm以上と推定される。今回の食品試料の添加量はその1/50以下である。添加回収試験の結果を表4に示す。食品試料（玄米及び清涼飲料水）では Zn 以外の11元素（Cr、Mn、Co、Ni、Cu、As、Se、Cd、Tl、Pb、Hg）について回収率70～120%の良好な結果が得られた。Co は標準試料中濃度が非常に低濃度であったため、認証値との比較においては近い値ではなかったが、

添加試験においては良好な結果であった。玄米中の Mn 及び Zn については添加前の標準試料中含有量が添加濃度よりも数倍以上高かったため、回収率を算出できなかったが、標準試料の分析結果で認証値と近い値であったことから、分析上問題はないと考えられた。頭髪では Co、As、Se、Cd の4元素について70~120%の良好な回収率が得られた。Mn、Cu、Zn、Pb 及び Hg については添加前の試料中含有量が高く、回収率を算出できなかったが、Mn、Cu、Hg については標準試料分析結果で認証値と近い値であった。Cr は回収率がやや低く(58.7%)、Tl は

やや高め(127.4%)であったが、ばらつきが小さいことから、スクリーニングとしては利用できると考えられた。Ni は回収率のばらつきが大きかった。Ni は標準試料の定量においても値が高めであったことから、分子イオン干渉の影響等も考慮して検討する必要があると考えられた。Hg については揮散しやすいため湿式分解で行う場合は還流しながら加熱する必要があるが、マイクロウェーブ分解では他の元素と同時に前処理をし、その試料の一部を水銀分析計で測定するという方法で良好な回収率が得られることがわかった。

表3 環境標準試料(玄米及び頭髪)の認証値とマイクロウェーブ分解を用いた分析法の定量値

| | 玄米 | | 頭髪 | |
|----|-------|------|------|------|
| | 認証値 | 定量値 | 認証値 | 定量値 |
| | μg/g | μg/g | μg/g | μg/g |
| Cr | 0.22 | 0.17 | — | 0.82 |
| Mn | 31.5 | 28.5 | 3.9 | 3.3 |
| Co | 0.02 | 0.04 | 0.07 | ND |
| Ni | 0.39 | 1.13 | — | 1.66 |
| Cu | 3.3 | 3.13 | 15.3 | 12.7 |
| Zn | 22.3 | 22.8 | 172 | 106 |
| As | 0.11 | 0.08 | 0.1 | 0.15 |
| Se | — | ND | 1.79 | 1.78 |
| Cd | 0.32 | 0.31 | 0.23 | 0.28 |
| Tl | — | ND | — | ND |
| Pb | — | 2.72 | 4.6 | 7.4 |
| Hg | 0.003 | ND | 4.42 | 4.98 |

玄米はn=5、頭髪はn=1の平均値を示した。

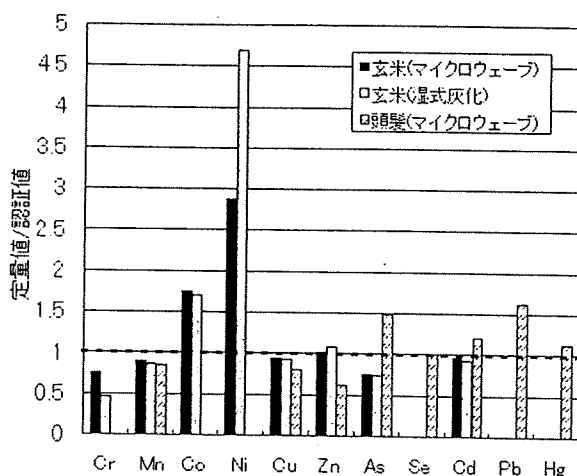


図1 マイクロウェーブ分解及び湿式分解を用いた環境標準試料の分析における認証値と定量値の比

表4 各分析試料における添加回収率(玄米及び清涼飲料水はn=5、頭髪はn=4)

| | 玄米 | | 清涼飲料水 | | 頭髪 | |
|----|-------|------|-------|------|-------|------|
| | 平均値 | RSD | 平均値 | RSD | 平均値 | RSD |
| | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) |
| Cr | 98.3 | 5.2 | 112.3 | 23.8 | 58.7 | 10.9 |
| Mn | — | — | 84.9 | 6.8 | — | — |
| Co | 88.6 | 4.6 | 96.6 | 2.9 | 97.1 | 1.8 |
| Ni | 99.2 | 23.6 | 84.2 | 7.1 | 38.5 | 81.4 |
| Cu | 97.3 | 10.6 | 91.8 | 14.3 | — | — |
| Zn | — | — | 176.9 | 16.1 | — | — |
| As | 91.3 | 4.6 | 81.6 | 4.3 | 91.6 | 2.8 |
| Se | 85.3 | 6.7 | 82.2 | 5.1 | 114.1 | 4.0 |
| Cd | 99.4 | 2.0 | 84.2 | 2.6 | 95.6 | 2.0 |
| Tl | 112.0 | 2.4 | 89.8 | 2.7 | 127.4 | 2.1 |
| Pb | 118.6 | 21.9 | 109.3 | 14.8 | — | — |
| Hg | 95.3 | 7.2 | 87.4 | 8.7 | — | — |

* — の間は試料中の含有量が大きく、回収率を算出できなかった。

3・5 従来法（湿式分解法）と迅速分析法の比較

食品中の重金属分析においては、硝酸などの酸を用いて有機物を十分に分解するという前処理が非常に重要である。試料中の有機物が十分に分解できていないと、機器分析の際の干渉や妨害となり、正確な定量が困難である。これまで当所で前処理法として用いてきた湿式分解法は、分解終了までに非常に時間がかかり、約1日半程度を要した。試料によっては2日以上かかるものもある。また強酸等の試薬使用量も多く、玄米を分解する場合で1検体あたり約50-100mLの硝酸を使用する。さらに、分解を開放系で行うため環境負荷が大きく、火力を用いるため危険性を伴うこともある。分解中は常に見張りが必要である。しかしながら、特別な装置等は必要なく、消耗品コストも安価であるため汎用性は高い。一方、今回検討を行ったマイクロウェーブ分解法は分解容器内部の試薬を直接加熱することができる非常に効率の良い分解法である。しかしながら2007年度の調査によると地方衛生研究所における導入割合は26機関中4機関のみで、普及度が低い装置である。そのため、緊急時における標準的な分析方法としてはまだ採用できる段階ではないが、今後あらゆる試料に対応できる非常に有用な分析方法として期待できる。マイクロウェーブ分解は、1検体に使用する酸の量が20mL以下と少なく、分解時間は1-2時間程度（冷却に30分程度）であり、自動で分解できるため、労力が節約できる。さらに湿式分解法との大きな相

違点として、閉鎖系で分解を行うという点がある。そのため環境負荷が小さく、コンタミネーションが少ない。また、水銀などの揮散しやすい元素にも適用できる。

測定機器については、これまで当所で使用してきた原子吸光分析はICP-MSに比べてランニングコストが安いという利点はあるが、単元素ずつの測定となるため、多種の元素を測定する場合は非常に時間がかかる。日常業務で決められた元素のみを測定する場合はよいが、スクリーニング検査には不向きである。一方、ICP-MSは多元素を同時に測定可能で、多元素測定を行った場合でも1検体あたりの測定時間は数分以内と短く感度もよい。しかし、マトリックス成分の多い食品試料では、共存物質による分子イオン干渉を受けやすいため、前処理や測定条件等の検討を十分に行う必要があると思われる。

図2にマイクロウェーブ分解を用いた方法と従来法（湿式分解/原子吸光法）の重金属の分析の流れを示した。検体搬入、検査開始から結果が出るまで要する時間は、従来法である湿式分解/原子吸光法では、分解に時間を要する玄米試料5検体で、前処理に1日半、測定に1日程かかり、試料の採取から測定まで約2日半（約20時間）かかると思算された。一方、マイクロウェーブ/ICP-MS（水銀は水銀分析計）では、前処理が4時間、測定が2時間で、計6時間で検査が可能となり、一日内で結果を出すことができる。従来法では元素によって前処理や測定法が

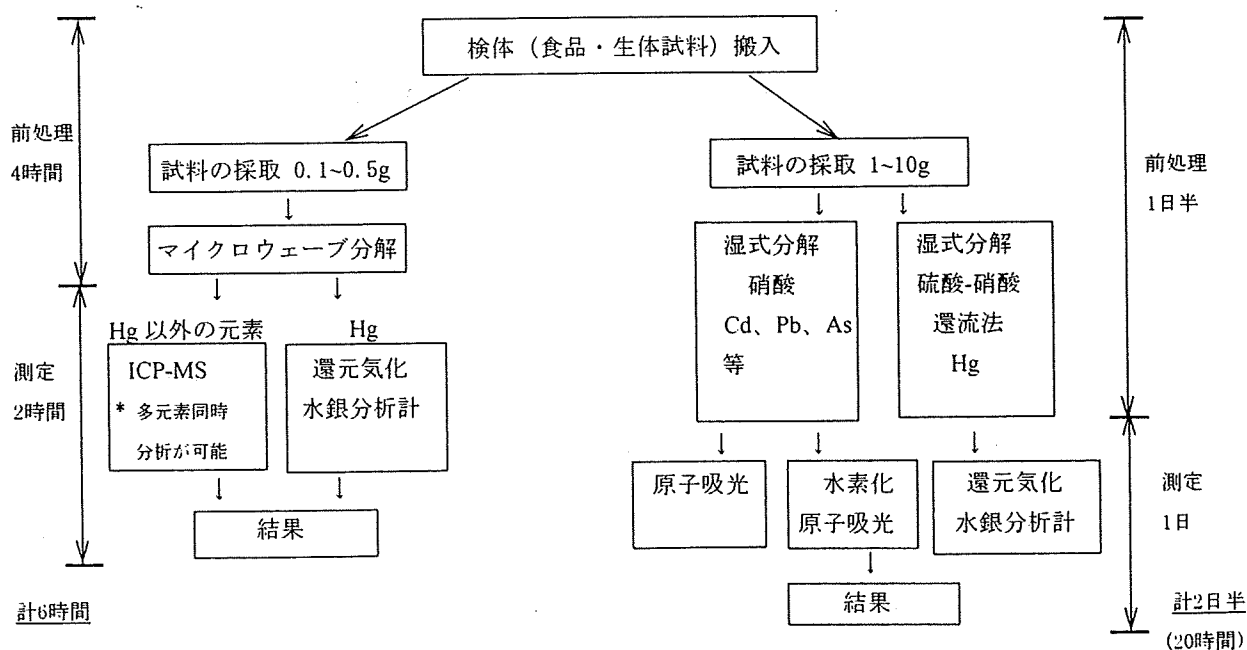


図2 マイクロウェーブ分解法（左）と湿式分解/原子吸光法（右）を用いた場合の検査時間の比較（玄米5検体とした場合）

違うこと時間や手間を要する原因となっている。迅速分析法では同時に前処理が可能で、測定も水銀以外は同時測定であるため時間短縮できると考えられた。検体搬入からの検査時間を、これまで要していた時間の半分以下に短縮することができた。

4 まとめ

食品試料及び生体試料の迅速な前処理装置として、マイクロウェーブを用いた方法の検討を行った。代表的な食品試料として玄米と清涼飲料水を、生体試料として頭髪を用い、マイクロウェーブ分解装置における分解条件を検討した後、標準試料（認証値付き試料）の定量及び添加回収試験を行い、分析法の検証を行った。食品試料の添加回収試験の結果ではCr、Mn、Co、Ni、Cu、As、Se、Cd、Tl、Pb、Hgの11元素について70~120%の良好な結果が得られ、健康危機発生時のスクリーニング検査法として適用できると考えられた。頭髪についても、Ni だけばつきが見られたが、その他の元素については健康危機発生時のスクリーニングとしては使用できると思われた。検査時間については、これまでの湿式分解/原子吸光法の半分以下の時間で検査が可能であり、1日で結果を出すことが可能であった。多元素を迅速かつ網羅的に分析可能であることから健康危機発生時に有用な検査方法と考えられた。

(英文要旨)

Screening method of multiple elements using microwave decomposition equipment

Yuki ASHIZUKA¹, Kana OKAMOTO², Shigekazu YAMAMOTO¹, Reiko NAKAGAWA¹

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

**Kurume Institute of Technology,*

Kamitsu 2228-66, Kurume, Fukuoka 830-0052, Japan

We developed efficient method using microwave decomposition equipment for the screening of multiple elements in the case of food poisoning. Food samples (brown rice and soft drink) and a biological sample (human hair) were used for this experiment. We established the condition of microwave decomposition equipment using these samples. The method was validated by recovery test and measurement of standard reference materials. These samples were analyzed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in order to measure multiple elements simultaneously. As the results of validation test, satisfactory recoveries (70-120%) of 10 elements (Cr, Mn, Co, Cu, As, Se, Cd, Tl, Pb and Hg) were obtained from food samples. Furthermore, the time required for analysis of multiple elements was shortened, making it possible to finish these analyses within one day. This method is very useful for analyzing multiple elements rapidly in the case of food poisoning.

[key words : element, microwave, food, biological sample, ICP-MS]

謝辞

この研究は厚生労働科学研究費補助金により実施しました。

文献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，食品汚染物試験法 湿式灰化法，557-560，1990.
- 2) 宮本展行，木野善夫，宇治田正則：マイクロウェーブ分解装置を用いたICP-MSによる醤油中ヒ素の定量，和歌山市衛生研究所報第13号，51-55，2001.
- 3) 博多幸子，中野憲，神尾典子，高野美紀子，安部幸雄，片平大造，伊藤岩夫：マイクロウェーブ分解法と誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS法）を用いた食品中の金属多元素迅速一斉分析法の検討，福島県衛生研究所年報第20号，75-80，2002.
- 4) 大島晴美，上野英二，斎藤勲，松本浩：玄米及び魚介類中カドミウム，鉛，水銀，ヒ素，セレン，マンガ，銅及び亜鉛の分析における誘導結合プラズマ質量分析法と原子吸光度法の比較，食品衛生学雑誌，45号，270-276，2004.
- 5) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，無機化合物，548-551，1990.
- 6) 織田肇：厚生労働科学研究報告書 地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究，平成19年度研究報告書（主任研究者吉村健清），7-31，2007.

