

2. 摂取量の精密化研究

2-1. リスクを考慮した精密摂取量推定手法開発に関する研究

A. 研究目的

「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究」では、MB方式により調製したTD試料を分析することにより、重金属類、PCBs、ダイオキシン類(DXNs)のような有害物質の一日摂取量推定を継続して実施している。TD試料調製にあたっては、国民健康・栄養調査で得られたそれぞれの食品小分類の一日摂取重量を解析して得た平均値に基づいて各食品を混合している。このような試料の分析値から推定された有害物質一日摂取量は、国民全体の平均的一日摂取量の推定値である。しかし、特定のグループに着目すると、そのグループの食品摂取の量あるいはパターンが全年齢層の平均とは異なることから、これらグループにおける有害物質の一日摂取量は国民全体の平均的な一日摂取量とは異なると予想される。

本分担課題の平成25年の研究において、年代別の食品摂取量パターンを比較した結果、体重1kg当たりの食品一日摂取量は、1-3歳の幼児で最も大きく、成長と共に小さくなり、高齢者でやや増加することが明らかとなっ

た。従って、体重当たりの有害物質一日摂取量も幼児で最も大きくなる可能性が高いと考えられた。平成25年から27年までに、1-3歳の幼児の平均的食事を模したTD試料(TD_{inf})を3セット調製した。 TD_{inf} の調製では、本研究の分担研究課題「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」で調製された全年齢層平均の食品摂取量に基づいて調製されたTD試料(TD_{ave})と可能な限り共通とした。

TD_{inf} と TD_{ave} の各種元素、PCBs、DXNs濃度は、分担研究課題「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」及び「食品からの塩素化ダイオキシン類の摂取量調査研究」中で測定され、それぞれの一日摂取量が推定された。

本研究課題では、 TD_{inf} と TD_{ave} から推定された有害物質の体重当たり一日摂取量を比較することにより、 TD_{ave} を用いて推定した有害物質一日摂取量から、幼児の一日摂取量を推定する方法論を検討した。

B. 研究方法

平成25年及び26年と同様の方法により、1-3歳の食品小分類毎の一日食

品摂取量の平均値を用いた TD 試料 (TD_{inf})を調製した。TD_{inf}の調製に使用する食品は、TD_{ave}調製に用いるものと基本的に統一したが、一般に幼児が食べないと考えられる、刺激の強い食品等は、別の食品でおきかえた。食材は東京都世田谷区のスーパーマーケット及び小売店で購入し、13の食品群に分別し、必要に応じて茹でる・焼く等の調理を行った後に、上記の1-3歳の日摂取量に従って混合し、13群の試料を調製した。各群の内容は、米(1群)、雑穀・芋(2群)、砂糖・菓子(3群)、油脂(4群)、豆(5群)、果実(6群)、有色野菜(7群)、その他の野菜・漬物・きのこ・海藻(8群)、嗜好飲料(9群)、魚介(10群)、肉・卵(11群)、乳(12群)、調味料(13群)とした。

TD_{inf}及びTD_{ave}の15元素(B、Al、Cr、Co、Ni、As、Se、Mo、Cd、Sn、Sb、Ba、Pb、U、Hg)、PCBs、DXNs濃度の分析方法は、「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」及び「食品からの塩素化ダイオキシン類の摂取量調査研究」課題の分担報告書に記載されている。

平成25-27年度に調製したTD_{ave}及びTD_{inf}から推定された、各種元素、PCBs並びに、DXNsの全年齢層平均体重当たり一日摂取量と幼児の体重当たり一日摂取量も、上記報告書により報告されている。本分担課題での一

日摂取量の比較には、ND=0とした摂取量推定値を用いた。

C. D. 結果及び考察

食品の体重当たり一日摂取量

平成22-24年の国民健康・栄養調査結果から、南関東における全年齢層平均の体重当たり食品一日摂取量、及び全国の幼児(1-3歳)の体重当たり一日食品摂取量、及び両者の比を計算した。全体として体重当たりの食品一日摂取量は幼児の方が大きく、一日に摂取する体重当たりの全食品摂取量は、幼児が全年齢層平均の1.77倍であった。また、食品群ごとに比は異なっており、嗜好飲料の群(9群)の1.02倍から乳の群(12群)の4.86倍の範囲にあった。

元素類の体重当たり一日摂取量

TD_{ave}及びTD_{inf}は基本的に同じ食品から調製されているため、TD_{ave}及びTD_{inf}から推定される体重当たりの有害物質一日摂取量の比も、これに近い値となると予想される。

平成25-27(2013-2015)年に得られたTD_{inf}及びTD_{ave}の元素類の分析結果から推定した幼児と全年齢平均の体重当たりの一日摂取量、及び両者の比を解析した。その結果、体重当たり一日摂取量の比が、食品の体重当たり一日摂取量の比である1.77の±25%の範囲(1.33-2.23)に入った元素の数は、15元

素中 12-13 であった。元素の体重当たり一日摂取量比がこの範囲に入らなかったのは、2013 年は Al、Sn、2014 年は As、Sn、Sb、2015 年は Sb、Pb、Hg であった。

このように、元素類の体重当たりの一日摂取量の比は、体重当たりの食品摂取重量の比と近い値となったことから、 TD_{ave} を用いて推定した体重当たり一日摂取量から幼児あるいは他の年齢層における体重当たり有害物質摂取量がある程度推定可能と考えられた。

一日摂取量のオーダーが同程度の元素をグループとして、横軸に TD_{inf} の濃度から推定された幼児の体重当たり元素類一日摂取量(実測値)を、縦軸に TD_{ave} から推定された全年齢平均の体重当たり元素類一日摂取量に、体重当たり食品摂取量の比である 1.77 を乗じた値(予測値 1)を求めプロットした(プロット 1)。多くのプロットが推定値 0 の 75% 及び 125% に囲まれた範囲に存在したことから、 TD_{ave} から推定した全年齢平均の体重当たり一日摂取量から幼児の体重当たり一日摂取量が推定可能と考えられた。

3 年間に推定した 15 元素の摂取量(計 45)中、実測値と予測値 1 の比が 75-125% の範囲内となった数は 28 であった。この範囲から大きくはずれたのは、Al(2013 年)、Sn(2013 年、2014

年)、Hg(2014 年、2015 年)であった。Sb(2014 年、2015 年)も 2 つの値に大きな差が見られたが、摂取量は非常に小さかった。

横軸を実測値としたまま、縦軸には TD_{ave} の食品群ごとに推定された全年齢平均の体重当たり各元素一日摂取量に、各食品群の体重当たり摂取量の比を乗じた値の和(予測値 2)を求めプロットした(プロット 2)。その結果、実測値と予測値 2 の比が 75-125% の範囲内となった数は 37 で、予測値 1 よりも増加した。プロット 1 とプロット 2 を比較すると、プロット 2 の方が、75-125% の範囲の中央に近づく場合が多いが、ほとんど変わらない場合(2013 年及び 2014 年の Sn)、75-125% の範囲から遠ざかる場合(2015 年の Al)も見られた。

Al の体重当たり一日摂取量は、2013-2015 の 3 年間に、幼児は 303 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、40.7 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、608 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、全年齢平均は 427 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、29.9 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、305 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ となり、大きな変動が見られた。各食品群からの Al の体重当たり一日摂取量を解析した結果、体重当たり一日摂取量の大きかった、2013 年と 2015 年では、野菜の群(8 群)からの摂取が極度に大きくなっていた。各年試料の Al 濃度を比較すると、2013 年の 8 群では、 TD_{inf} が 54 mg/kg 、 TD_{ave} が

112 mg/kg、2015 年の 8 群では TD_{inf} が 125 mg/kg、 TD_{ave} が 81 mg/kg であった。一方、2014 年の 8 群試料の Al 濃度は、 TD_{inf} が 0.48 mg/kg、 TD_{ave} が 0.74 mg/kg であった。体重当たり食品摂取量比からの予測が大きく外れた 2013 年の TD_{inf} では、8 群の Al 濃度が 2014 年の 10 倍以上高くなり、また TD_{ave} の濃度が TD_{inf} の 2 倍以上になったために、 TD_{ave} から予測した幼児の体重当たり一日摂取量が過大になったものと考えられる。2015 年の 8 群試料も Al 濃度が高いが、 TD_{inf} の Al 濃度は TD_{ave} の 1/2 程度であったため、やや過小な値となった。

「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」報告書では、全国 12 カ所で調製された TD 試料から推定した Al 摂取量が報告されている。これらの値は、全年齢層の平均的摂取量であり、3 年間の平均値は 90.5 $\mu\text{g/kg bw/day}$ 、中央値は 44.4 $\mu\text{g/kg bw/day}$ である。この値に比較して、2013 年と 2015 年の TD_{ave} から推定された 427 $\mu\text{g/kg bw/day}$ と 305 $\mu\text{g/kg bw/day}$ は非常に高い値である。また、 TD_{ave} で摂取に寄与する食品群のパターンを見ても、8 群の寄与が非常に大きく、一般的な傾向とは異なった。このことから、2013 年と 2015 年の TD_{inf} と TD_{ave} の 8 群に特異的に Al の濃度が高い食品が含まれていたと推測される。

2013 年から 2015 年に TD_{inf} と TD_{ave} の 8 群に含めた食品を比較すると、2013 年と 2015 年に共通し、2014 年に含まれていない食品は青のりであった。2015 年に使用した青のりの Al 濃度を測定したところ、3,407 mg/kg であり、通常の 8 群の Al 濃度レベルの 1 mg/kg のオーダーよりもはるかに高濃度であった。ただし、2013 年と 2015 年の 8 群中の青のりの割合は同一であり、 TD_{inf} と TD_{ave} の Al 濃度の大小関係が逆転したことは説明できない。2015 年の TD_{ave} の 8 群の Al 濃度を青のりの Al 濃度から計算すると 57 mg/kg となるが、実際の濃度は 81 mg/kg、 TD_{inf} では計算値が 83 mg/kg、実測値が 125 mg/kg であった。このことから、他にも高濃度に Al を含む食品が TD 試料に含まれていた可能性がある。Al は膨張剤、色止め剤といった食品添加物としても使用されており、他にもこのような添加物を使用した食品が含まれていた可能性もある。このように特異的に高濃度の食品が TD 試料中に存在すると、その食品からの寄与が支配的になるために、食品の体重当たり一日摂取の比で説明できない変動が起こると考えられる。

2013-2015 の 3 年間の S_n の体重当たり一日摂取量は、幼児では 0.481 $\mu\text{g/kg bw/day}$ 、0.113 $\mu\text{g/kg bw/day}$ 、0.054 $\mu\text{g/kg bw/day}$ 、全年齢層平均は

0.110 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.124 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.028 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ となり、2013 年の幼児の一日摂取量が突出して高くなった。

Sn の摂取に寄与する食品群は、研究の実施年により変化しており、2014 年は豆の群(5 群)、2015 年は野菜の群(8 群)の寄与が大きかった。この中で、2013 年の幼児では肉と卵の群(11 群)が 80%を占め、特異的なパターンを示した。食品中の Sn 濃度は比較的 low、おおむね 0.01 mg/kg 以下であるが、2013 年の 11 群の Sn 濃度は TD_{inf} が 0.113 mg/kg、 TD_{ave} が 0.025 mg/kg、2014 年の 5 群の Sn 濃度は TD_{inf} が 0.059 mg/kg、 TD_{ave} が 0.103 mg/kg であった。

2013 年の 11 群試料は、 TD_{inf} と TD_{ave} の構成食品が全て同一であるが、 TD_{inf} 中での割合が高いハム・ソーセージ類に Sn を高濃度に含む製品が含まれていたと予想される。2014 年の 5 群の Sn 濃度も高いが、一日当たりの摂取量が 11 群の 3 分の 1 程度であるため、全体への影響が少なかったと考えられる。

「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」報告書では、全国 12 カ所で調製された TD 試料から推定した Sn の体重当たり一日摂取量が報告されている。これらの値は、全年齢層の平均的一日摂取量であり、3 年

間の平均値は 2.05 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、中央値は 0.067 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、最大値は 20.8 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ である。このように Sn の体重当たり一日摂取量推定値は変動が大きかった。

Sb の体重当たり摂取量は、2013-2015 の 3 年間に、幼児は 0.0595 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.0307 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.0036 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、全年齢平均は 0.0292 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.0020 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ 、0.0331 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ となり、2014 年の全年齢平均の摂取量推定値が非常に低くなった。

一般に、TD 試料の Sb 濃度は低く、検出下限値である 0.0005 mg/kg をわずかに超える程度である。このため、Sb が検出下限以下(ND)となる試料の出現頻度は他の元素よりも高い。2014 年の TD_{ave} では、14 群中 12 の群が検出下限以下(ND)となった。一方、 TD_{inf} の各群からは検出下限レベルではあるが濃度が得られた。今回比較に用いた摂取量は、 $\text{ND}=0$ として計算しており、 TD_{ave} から推定された摂取量が非常に低くなったため、予測値 1 と 2 も過小な評価となったと考えられる。2013 年は TD_{ave} と TD_{inf} のすべての群から Sb 濃度が得られており、予測値 1 及び 2 と実測値の差は 20%以下となった。

体重当たり一日摂取量が 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ を下回るような低濃度の元素

(Co、Hg、U等)では、体重当たり食品摂取量の比で予測した値からのずれが大きい。これらの元素の摂取量推定では、NDとなる試料が多いことに加え、低濃度の分析における精度の低さ、つまり TD_{ave} と TD_{inf} の各食品群の分析値がばらつくことが影響して、摂取量の予測値が外れる可能性も考えられる。

Hg の体重当たり一日摂取量は、2013-2015 の 3 年間に、幼児は $0.375 \mu\text{g/kg bw/day}$ 、 $0.200 \mu\text{g/kg bw/day}$ 、 $0.143 \mu\text{g/kg bw/day}$ 、全年齢平均は $0.227 \mu\text{g/kg bw/day}$ 、 $0.149 \mu\text{g/kg bw/day}$ 、 $0.125 \mu\text{g/kg bw/day}$ となり、変動は小さかった。Hg の摂取に寄与する食品群は魚の群(10群)で一定していた。幼児と全年齢層平均の 10 群の体重当たりの一日摂取量比は 1.27 で、食品全体の体重当たりの一日摂取量比である 1.77 よりも小さい。このため、 TD_{ave} から推定した摂取量に 1.77 を乗じた予測値 1 は過大な値となったと考えられる。全年齢平均摂取量に 1.27 を乗じて幼児の摂取量を予測すると、予測値と実測値の差は 25%以内となった。また、予測値 2 と実測値の差はより小さくなった。

PCBs 及び DXNs の体重当たり摂取量

平成 25-27(2013-2015)年に TD_{inf} 及び TD_{ave} の PCBs 及び DXNs 分析結果

から推定した、幼児と全年齢平均の体重当たりの PCBs 及び DXNs 一日摂取量、及び両者の比を解析した。PCBs 及び DXNs は、大部分が 10 群(魚介類)から摂取されることが、これまでの研究により明らかとなっている。これは前述の Hg の場合と同じ状況であるため、幼児の体重当たり一日摂取量と全年齢平均の体重当たり一日摂取量の比は、元素類のように体重当たりの食品一日摂取量の比ではなく、10 群の一日摂取量の比に近い値となると予想される。

横軸に TD_{inf} の濃度から推定された幼児の体重当たり PCBs 一日摂取量(実測値)、縦軸に TD_{ave} から推定された全年齢平均の体重当たり各元素一日摂取量に体重当たり食品摂取量の比である 1.77 を乗じた予測値 1、また 10 群摂取量の比である 1.27 を乗じた予測値 3、さらに 10 群と 11 群の摂取量にそれぞれの幼児と全年齢平均の食品摂取量の比である 1.27 と 1.96 を乗じて足し合わせた値(予測値 4)をプロットし解析した。食品摂取量の比である 1.77 を乗じた予測値 1 はやや過大となったが、魚の群(10群)の摂取量比である 1.27 を乗じた予測値 3 は、やや過小となった。肉・卵の群(11群)の摂取量を考慮した予測値 4 は、より正確な値となった。

幼児の DXNs の摂取量予測を、PCBs

と同様に行い、プロットにより解析した。DXNs は、全食品群の濃度が測定されていたため、元素類と同様に全食品群それぞれの一日摂取量と、体重当たり食品群摂取量比を用いた予測値2を計算した。PCBs と同じく、食品摂取量の比である 1.77 を乗じた予測値1はやや過大となったが、魚の群(10群)の摂取量比である 1.27 を乗じた予測値3及び、予測値2は、実測値に近い値となった。

E. 結論

本分担研究課題では、できるだけ同一の食材を使用して TD_{inf} を調製し、その提供を受けた他の分担研究課題において推定された元素類、PCBs、DXNs の幼児と全年齢平均の体重当たり一日摂取量を解析した。幼児は体重当たりに摂取する食品の量が多く、その結果として有害物質の体重当たり一日摂取量も全年齢平均よりも多くなる。しかし、幼児の摂取量推定のために、全年齢平均とは別途 TD 試料を調製することは、摂取量推定の効率を低下させるため、全年齢平均試料 TD_{ave} から得られた一日摂取量推定値と幼児と全年齢平均の食品摂取量比を用いて、幼児の一日摂取量を推定する方法を検討した。

Al、Sb、Sn、Hg を除いた元素類では、体重当たりの食品摂取量の幼児と

全年齢層平均の比 1.77 と、体重当たりの有害物質一日摂取量の幼児と全年齢層平均の比との差は 25%以下であった。このことから、全年齢層平均食品摂取量に基づいて調製した TD_{ave} の分析結果に基づき推定した全年齢層平均摂取量に、体重当たり食品摂取量の比である 1.77 を乗じることにより、おおよその幼児の体重当たりの元素類一日摂取量を推定することが可能と考えられた。

多くの元素では、全年齢層平均の食品摂取量に基づき調製した TD 試料から推定した一日摂取量に、1.77(全年齢層平均の体重当たりの食品摂取量に対する幼児の体重当たり食品摂取量の比)を乗じた値(予測値1)は、 TD_{inf} から推定した体重当たり一日摂取量(実測値)の $\pm 25\%$ の範囲となった。Hg は魚介類の群(10群)からの摂取が大部分を占めており、1.77 を乗じた予測値は過大となったが、10群の体重当たり一日摂取量比である 1.27 を乗じることにより、より実測値に近い予測値が得られた。

PCBs 及び DXNs も Hg と同様に、魚介類の群(10群)からの摂取が支配的である。このため全年齢層平均の体重当たり一日摂取量に 1.77 を乗じると過大となり、10群の摂取量比 1.27 を用いることにより、 $\pm 25\%$ の範囲で予測されたが、全体にやや過小な値と

なった。PCBs は肉・卵の群(11 群)からも摂取されており、幼児においては11 群の摂取割合が、全年齢平均に比較して大きく、体重当たりの一日摂取量が全年齢平均の 1.96 倍である。このため、10 群の摂取量比のみを乗じた予測値が過小となったと考えられる。10 群及び 11 群からの摂取量に体重当たり摂取量比 1.27 と 1.96 を乗じれば、 TD_{inf} から推定した一日摂取量に近づいた。

以上の結果、多くの場合には、 TD_{ave} のそれぞれの食品群から推定した体重当たり一日摂取量に、当該食品群の体重当たり一日摂取量の比を乗じることにより、幼児における一日摂取量を $\pm 25\%$ の範囲で推定できることが示された。また、多くの群から平均的に摂取されている物質の場合には、全食品の体重当たり摂取量の比である 1.77 を乗じて幼児の一日摂取量を推定可能であった。

この手法により、幼児だけでなく、ハイリスクグループと考えられる集団の食品摂取量が分かれば、平均的な一日摂取量の値から、目的のグループの一日摂取量推定が可能となる。特定のグループごとに試料を調製せずに、摂取量を推定できることになるため、効率的な摂取量推定が可能となり、有用な手法と考えられる。また、過去に推定された全年齢平均一日摂取量に

基づいて、幼児の一日摂取量を遡って推定することも可能である。

MB 方式による TD 試料を用いた一日摂取量推定の大前提は、全食品あるいはそれぞれの食品群に含まれる全食品において、摂取量推定対象となる物質濃度が、比較的狭い範囲で分布していることである。食品となる生物の成分である物質、環境に存在する物質では、このような前提が満たされると予想される。このような状況では、1 つの TD 試料は食品全体から、あるルールに従ってサンプリングされたサンプルであり、ランダムに選択されていけば、それから得られた値の平均値(期待値)は、母平均値に一致すると期待される。つまり、TD 試料を多数調製して推定した一日摂取量の推定値の平均値は、中心極限定理により、試料数を大きくすれば真の一日摂取量に近づき、変動範囲は小さくなる。このような推定により、全年齢平均の信頼性の高い摂取量が得られ、体重当たり食品摂取量の比が分かっているならば、年齢、季節、食習慣の違いのような影響を加味した一日摂取量を推定することが可能である。

上記の TD 試料による摂取量推定の大前提が満たされていない、つまり一部の食品に人工的な持ち込みがあり、食品全体での濃度分布が非常に広く、単一とは考えられない分布を持つよ

うな有害物質では、中心極限定理によって平均値が正規分布に至るには、非常に多数の試料から推定した一日摂取量が必要となり、現実的に不可能である。「各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究」で摂取量推定値の分布が極めて広がった、Al、Sn等はこのような場合に該当する。また、

使用頻度が低い農薬等のように全体の一部の食品だけに使用されている場合の残留濃度分布も不均一と予想される。これらの場合、幼児用の TD 試料を調製して推定しても、全年齢の摂取量から推定しても、幼児の摂取量の推定値も正しく推定することは困難であると考えられる。

2-2. 有害化学物質摂取量推定に不可欠な分析法開発

A. 研究目的

ヒ素は食品に含まれ、日常的に摂取される可能性の高い有害物質の一つに挙げられる。食品を含む環境中には、価数が3価または5価の無機ヒ素、メチル基を官能基として有する複数のヒ素化合物やアルセノ糖のような有機ヒ素化合物の存在が知られている。ヒ素化合物は化学形態によって生体内動態や毒性が異なり、一般に有機ヒ素化合物はヒトに対して低毒性であるが、無機ヒ素は有毒であるとされる。したがって、総ヒ素のみならず化学形態別にヒ素化合物の濃度や摂取量を知ることが重要であると言える。

米や一部の海産物といった特定の食品には、ヒ素が高頻度に比較的高濃度で含まれていることが知られており、製造規範の策定や食品規

格の設定等が、国際的なレベルで活発に議論されている。現在、FAO/WHO 合同国際食品規格委員会(Codex 委員会)、中国、オーストラリア、ニュージーランドが、食品に含まれるヒ素の基準値を設定し、WHO は飲料水中のヒ素についてガイドライン値を設定している。特に、米については Codex 委員会が、2014年7月に精米の無機ヒ素の最大基準値を 0.2 mg/kg とすることを採択し、玄米の無機ヒ素の最大基準値を 0.35 mg/kg とすることの予備採択が行われている。

本課題では、昨年度までに摂取量推定を目的に使用可能な無機ヒ素分析法について検討し、その成果として TD 試料を対象とする無機ヒ素分析法を開発した。今年度は、Codex 委員会等での無機ヒ素への国際的

な食品規格策定の動向も踏まえ、TD試料を分析対象とする無機ヒ素分析法を基礎とし、精米及び玄米を分析対象とする無機ヒ素分析法を検討した。また、主に摂取量推定を目的とし、化学形態別に無機ヒ素及び有機ヒ素化合物を分析可能な一斉分析法の検討も昨年度に引き続き実施した。

検討 1) 精米及び玄米を対象とした無機ヒ素分析法の開発

昨年度までに、希硝酸による抽出法と HPLC と ICP-MS を用いた測定法を組み合わせた無機ヒ素分析法(HPLC-ICP-MS 法)を開発したが、本年度は、精米及び玄米を対象を限定し、HPLC-ICP-MS法の改良を試みた。分析法の改良では、文献等を参考に、測定時間の短縮の検討とクロマトグラムのピーク形状や分離の改善を目的に測定条件を最適化した。また、文献情報、精米及び玄米が分析試料であることの特長並びに、HPLC-ICP-MS法の基本的な性能などを考慮し、分析に供する試料量についても検討した。併せて、改良した無機ヒ素分析法の性能を評価した。

検討 2) LC-MS/MS等を用いた無機ヒ素及び有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

検討 1)で化学形態別のヒ素化合物

の検出器として用いられている ICP-MS では、As の質量数 75 を共通して観測するため、導入前に各ヒ素化合物が十分に分離していることが重要である。しかし、上記有機ヒ素化合物に 3 価と 5 価の無機ヒ素を加えた全てのヒ素化合物を、互いの測定に影響のないよう、完全に分離することは難しい。また、イオンペア試薬を用いた分離方法が採用されているが、高濃度のイオンペア試薬を用いるため、機器の汚染や感度低下が心配される。

本研究ではイオンペア試薬を用いず、また ICP-MS 導入前の各ヒ素化合物の完全分離を必要としない方法として、LC-MS/MS を用いる分析法(LC-MS/MS 法)を検討した。なお、検討は福岡市保健環境研究所で実施した。

B. 研究方法

検討 1) 精米及び玄米を分析対象とした無機ヒ素分析法の開発 分析対象化合物

無機ヒ素である亜ヒ酸；As(III)及び、ヒ酸；As(V)を分析対象化合物とした。

試料

改良した無機ヒ素分析法の性能を評価する際には、下記の認証標準試料の他に、精米試料と玄米試料を使用した。

認証標準試料：白米粉末；NMIJ CRM 7503-a (産業技術総合研究所製) (As(III)認証値：As として 0.0711 ± 0.029 mg/kg、As(V)認証値：As として 0.0130 ± 0.009 mg/kg)、

玄米粉末；NMIJ CRM 7532-a (産業技術総合研究所製) (無機ヒ素化合物認証値：As として 0.0298 ± 0.008 mg/kg)

精米試料及び玄米試料：平成 27 年 8 月から 12 月に全国で流通していた玄米 30 試料を購入し、玄米試料とした。また、とう精後の玄米試料を精米試料とした。

試薬及び試液等

25%テトラメチルアンモニウムヒドロキシド(以下、TMAH)(精密分析用)、1-ブタンスルホン酸ナトリウム、マロン酸(特級)、メタノール(液体クロマトグラフィー用)、メチルオレンジ(特級)、25%アンモニア水(有害金属測定用)、1 mol/L リン酸二水素アンモニウム溶液(高速液体クロマトグラフ用)は和光純薬社製のものを用いた。硝酸 1.42(超高純度試薬)は関東化学社製を用いた。

水：メルク社製装置(Element A10)により製造した超純水(比抵抗 $> 18.2 M\Omega \cdot cm$ 、TOC < 3 ppb)を用いた。

標準品：下記の 5 種類を使用した。

亜ヒ酸；As(III)：ひ素標準液(As 100)(関東化学社製)

ヒ酸；As(V)：ひ酸[As(V)] 水溶液(NMIJ CRM 7912-a)(産業技術総合研究所製)

ジメチルアルシン酸(DMA)水溶液(NMIJ CRM 7913-a)(産業技術総合研究所製)

アルセノベタイン(AsB)水溶液(NMIJ CRM 7901-a)(産業技術総合研究所製)

モノメチルアルシン酸(MMA)(トリケミカル研究所製)

標準原液：MMA 標準品 93.410 mg を正確に量りとり、水で 50 mL に定容した(ヒ素濃度として 1000 mg/L)。MMA 以外については、購入した標準品を標準原液として用いた。

添加用標準溶液：As(III)の添加用標準溶液は、 $0.1 \mu\text{g/mL}$ になるように 0.3 mol/L 硝酸溶液で希釈した(以下、添加用標準溶液 A)。As(V)の添加用標準溶液は、 $0.1 \mu\text{g/mL}$ になるように 0.3 mol/L 硝酸溶液で希釈した(以下、添加用標準溶液 B)。さらに、添加用標準溶液 B を $0.01 \mu\text{g/mL}$ になるように 0.3 mol/L 硝酸溶液で 10 倍希釈した(以下、添加用標準溶液 C)。

0.30 mol/L 硝酸溶液：硝酸 9.6 mL を量りとり、水で 500 mL に定容した。

メチルオレンジ溶液：メチルオレンジ 0.1 g を量りとり、水で 100 mL に定容後、孔径 $0.45 \mu\text{m}$ の PTFE フィルター(メルク社製)でろ過した。

5% アンモニア水:25%アンモニア水
10 mL を水で 50 mL に定容した。

HPLC 用移動相： 25% TMAH 0.3645
g、1-ブタンスルホン酸ナトリウム
1.922 g、マロン酸 0.416 g、1 mol/L リ
ン酸二水素アンモニウム溶液 5mL
を量りとり、水を加え、0.30 mol/L 硝
酸溶液で pH2.7 に調整した後、メタ
ノール 0.5 mL を添加し、水で 1 L に
定容した。

0.45 μm フィルター： Millex-HP(メ
ルク社製)を用いた。

分析機器

HPLC: 島津製作所社製 Prominence を
用いた。

ICP-MS: サーモフィッシャーサイエ
ンティフィック社製 X-Series2 を用
いた。

HPLC-ICP-MS 測定条件

HPLC 条件

カラム：L-column2 (内径 4.6 mm 長
さ 25 cm 粒子径 3 μm) (化学物質研
究評価機構社製)

移動相：0.05 (v/v%) メタノール、12
mM 1-ブタンスルホン酸ナトリウム、
1 mM TMAH、5mM リン酸二水素ア
ンモニウム、4 mM マロン酸溶液
(pH2.7)

流速：0.75 mL/min

カラム温度：25°C

オートサンプラー温度：4°C

注入量：20 μL

測定時間：7 min

ICP-MS 条件

測定モード：CCT モード

(コリジョンモード)

コリジョンガス：He

コリジョンガス流量：8.5 mL/min

測定ポイント時間：50 ms

測定質量数：75

その他の条件は、機器の自動チュー
ニングプログラムによって設定した。

測定溶液の調製

試料からの測定溶液の調製方法を
以下に示した。

試料 1.0 g を量り取り、0.30 mol/L
硝酸溶液 5 mL を加え、100°C で 2 時
間静置した。なお、30 分おきによく
振り混ぜた。2600 g で 10 分間遠心分
離後、水層を 20 mL メスフラスコに
移した。残渣に水 5mL を加え、手で
よく振とうした後、同様に遠心分離
後、水層を上記のメスフラスコに合
わせた。同様の操作を計 2 回行った。
メスフラスコにメチルオレンジ溶液
を 100 μL 加え、5%アンモニア水で
約 pH3.0 (溶液の色が薄い赤色～オ
レンジ)に調整した後、20 mL に水で
定容した。この溶液を孔径 0.45 μm フ
ィルターでろ過し、測定溶液とした。

検量線の作成

各標準原液を適宜量とり、0.30 mol/L 硝酸溶液を 5 mL 加えた。メチルオレンジ溶液を 100 μ L 加え、5% アンモニア水で約 pH3.0(溶液の色が薄い赤色～オレンジ)に調整した後、定容した溶液を孔径 0.45 μ m フィルターでろ過し、検量線用測定溶液とした。各検量線用溶液 20 μ L を HPLC-ICP-MS に注入し、得られたピーク面積値の濃度に対する一次回帰式を最小二乗法により求め、検量線を作成した。検量線用溶液の濃度は As(III)、As(V)共に、0、0.25、0.5、1、2.5、5、10、25、50 ng/mL とした。

測定及び各無機ヒ素濃度の算出

測定溶液を HPLC-ICP-MS に注入し、測定値を得た。次いで、作成した検量線の各変数を用いて下式にしたがい、測定溶液の各分析対象化合物濃度を逆推定した。

測定溶液の各無機ヒ素濃度(mg/L)

$$= \{(\text{Signal}_{\text{analyte}} - \text{intercept}) / \text{slope}\} / 100$$

Signal_{analyte}: 各無機ヒ素の測定値

Intercept: 検量線の切片

Slope: 検量線の傾き

測定溶液の各無機ヒ素濃度から下式に従い試料の各無機ヒ素濃度(mg/kg)を算出し、分析値とした。

$$\text{試料の各無機ヒ素濃度(mg/kg)} = \text{測定溶液の各無機ヒ素濃度(mg/L)} \times 0.02 \text{ (L)} / 0.001 \text{ (kg)}$$

検量は、作製した検量線に内挿することで行った。なお、内部標準法による分析の報告もあるが、本検討で用いた測定条件では分析カラムへの内部標準物質として用いる元素の保持が弱かったため、内部標準法は用いなかった。

検出限界(LOD)及び定量下限(LOQ)の推定

標準溶液を順次希釈して、信号が認められた最小の濃度(0.1 ng/mL)を繰り返し 11 回測定し、分析値の標準偏差(σ)の 3 倍の値(3σ)を LOD、10 倍の値(10σ)を LOQ として、それぞれ推定した。

精米及び玄米を分析対象とした無機ヒ素分析法の性能を評価するための実験計画

精米、または玄米を基材とする認証標準試料、及び As(III)と As(V)の標準溶液を用いて調製した添加試料(精米及び玄米)を下記のとおり計画的に分析することで、改良した分析法の性能を評価した。

1) 認証標準試料の分析

白米粉末(NMIJ CRM 7503-a)、玄米

粉末(NMIJ CRM 7532-a)を 5 併行で分析し、認証値と比較した。また、その時の併行精度及び、認証値を真値として真度を推定した。

2) 添加試料の分析

購入した玄米 30 試料をそれぞれ粉砕することで調製した試料を分析法に従い予備的に分析した。その結果から、As(III)の濃度が 0.02 mg/kg 未満、As(V)の濃度が 0.005 mg/kg 未満であることを確認した試料より 1 つを選び、玄米のブランク試料とした。これをとう精した試料を精米のブランク試料とした。

予備的に分析した精米試料及び玄米試料に含まれる As(III)と As(V)の濃度を踏まえ、添加濃度を決定し、標準品をブランク試料に添加した試料(添加試料)を計画的に分析することで、分析法の性能を評価した。ブランク試料と添加試料を 5 併行で分析し、添加試料から得られた分析値から、ブランク試料の分析結果(n=5)の平均値を差し引いた後、真度と併行精度を推定した。

添加濃度は、精米試料、玄米試料ともに、低濃度添加では、As(III) 0.05mg/kg、As(V) 0.01mg/kg とし、高濃度添加では、As(III) 0.15mg/kg、As(V) 0.05mg/kg とした。高濃度添加における添加濃度は、Codex 委員会

で採択された精米の無機ヒ素の最大基準値が 0.2 mg/kg であることから、As(III)と As(V)の濃度の和が 0.2 mg/kg となり、かつ実態調査の情報等も踏まえ、より実態に近い As(III)と As(V)の濃度として、As(III) 0.15 mg/kg、As(V) 0.05 mg/kg を選択した。

低濃度添加試料は、As(III)の添加用標準溶液 A を正確に 0.5 mL、As(V)の添加用標準溶液 C を正確に 1 mL 加え、よく混合して調製した。高濃度添加試料は、As(III)の添加用標準溶液 A を正確に 1.5 mL、As(V)の添加用標準溶液 B を正確に 0.5 mL 加え、よく混合して調製した。

検討 2) LC-MS/MS 等を用いた無機ヒ素及び有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

分析対象化合物

昨年度の報告では、LC-MS/MS では無機ヒ素の検出が困難であるために有機ヒ素化合物 6 種類を対象としたが、本年度は無機ヒ素 2 種類についても検討を行った。

有機ヒ素化合物：①MMA、②DMA、③トリメチルアルシンオキシド(TMAO)、④AsB、⑤アルセノコリン(AsC)、⑥テトラメチルアルソニウム(TeMA)

無機ヒ素：①As(III)、②As(V)

試料

下記の認証標準試料を使用した。

タラ：タラ魚肉粉末；NMIJ CRM 7402-a (産業技術総合研究所製) (AsB 認証値：As として 35.5 ± 1.8 mg/kg)

メカジキ：メカジキ魚肉粉末；NMIJ CRM 7403-a (産業技術総合研究所製) (AsB 認証値：As として 6.23 ± 0.21 mg/kg)

コメ：白米粉末；NMIJ CRM 7503-a (産業技術総合研究所製) (DMA 認証値：As として 0.0133 ± 0.009 mg/kg、As(III)認証値：As として 0.0711 ± 0.029 mg/kg、As(V)認証値：As として 0.0130 ± 0.009 mg/kg)

試薬等

硝酸(比重:1.38、濃度:60～61%)は関東化学社製を用いた。ギ酸は関東化学社製を用いた。

水：ADVANTEC 社製装置 (ULTRAPURE WATER SYSTEM)により製造した超純水(比抵抗 > $18.2 \text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 、TOC < 1 ppb)を用いた。

標準品：下記の8種類を使用した。

MMA、DMA、AsB、AsC は、和光純薬工業社製、TMAO、TeMA はトリケミカル研究所社製、As(III)は関東化学製、As(V)は産業技術総合研究所製を用いた。

HPLC 用移動相：0.1%ギ酸水溶液は、水にギ酸 1mL を混和し、水で 1L と

した。0.1%ギ酸アセトニトリル溶液は、アセトニトリルにギ酸 1mL を混和し、アセトニトリルで 1L とした。

分析機器

LC-MS/MS：アジレントテクノロジー社製 1200 シリーズおよび ABSCIEX 社製 4000QTrap を用いた。

LC-QTOF/MS：アジレントテクノロジー社製 1200 シリーズおよびアジレントテクノロジー社製 6530 を用いた。

LC-MS/MS 測定条件

HPLC 条件を昨年度報告分から変更したことで、測定時間が短縮し、より一般的なギ酸アセトニトリル系移動相の使用が可能となった。

HPLC 条件

カラム：CR1:50 (内径 2 mm 長さ 15 cm) (資生堂社製)

移動相：A 液：0.1%ギ酸水溶液/B 液：0.1%ギ酸アセトニトリル溶液

流速：0.2 mL/min

カラム温度：40°C

オートサンプラー温度：4°C

注入量：1 μL

測定時間：15 min

MS/MS 条件

イオン化法：ESI

イオン化モード：ポジティブモード

(有機ヒ素)、ネガティブモード(無機ヒ素)

LC-QTOF/MS 測定条件

HPLC 条件

カラム：Atrantis T3 (内径 2 mm 長さ 5 cm、3 μm) (Waters 社製)

移動相：A 液：0.1%ギ酸水溶液/B 液：0.1%ギ酸アセトニトリル溶液(A:B=99:1)

流速：0.1 mL/min(アイソクラティック)

カラム温度：40°C

オートサンプラー温度：4°C

注入量：5 μL

測定時間：5 min

QTOF/MS 条件

イオン化法：ESI

イオン化モード：ポジティブモード(有機ヒ素)、ネガティブモード(無機ヒ素)

測定溶液の調製

認証標準試料を検討 1)と同様に操作し、測定溶液とした。試料採取量、及び測定直前の希釈倍率を適宜変更して検討した。

検量線の作成

各標準原液を適宜量りとり、水で希釈して混合標準液を調製し、上記

測定条件にて測定して得られたピーク面積値の濃度に対する一次回帰式を最小二乗法により求め、検量線を作成した。

C.D. 結果及び考察

検討 1) 精米及び玄米を対象とした無機ヒ素分析法の開発

分析する食品を精米及び玄米に限定することから、含有されるヒ素化合物が限られると推測されるため、分析時間の短縮とクロマトグラムにおけるピークの形状や分離の改善を目的に測定条件の最適化を検討した。

分析に供する試料量についても、試料の性質上、精米及び玄米は TD 試料よりも As(III)と As(V)の濃度が高いことが推測されるため、試料量の変更を検討した。

C.D. 1-1 分析時間の検討

米に含まれるヒ素化合物は、無機ヒ素の As(III)、As(V)と有機ヒ素化合物の MMA、DMA が大部分であることが報告されている。また、海外の文献では AsB も検出されるといった報告もある。そこで、検出される可能性のある有機ヒ素化合物の保持時間も考慮して、分析時間の短縮を検討した。昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法では、As(V)、As(III)、MMA、DMA、AsB の順でクロマトグラムにピーク

が検出される。最後に検出される AsB の保持時間が約 5 分であることを考慮し、測定時間をこれまでの 15 分から 7 分に短縮した。

C.D. 1-2 クロマトグラムにおけるピーク形状改善の検討

昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法では、マトリクスが多い試料溶液を測定した後に標準溶液を測定すると、ピークのテーリングやピーク形状が悪くなる現象が As(V) で顕著に観察された。この現象の解消を目的に文献を調査した結果、移動相にリン酸二水素アンモニウムを添加することで、ピーク形状が改善される可能性が高いことが判明した。そこで、リン酸二水素アンモニウムの添加について検討した。なお、リン酸二水素アンモニウムの添加により As(V) のピークの形状が改善される理由としては、As(V) の酸解離定数 (pK_a 2.2) が、リン酸の酸解離定数 (pK_a 2.1) に近いこと、分析カラムへのリン酸と As(V) の相互作用によるクロマトグラフィーへの効果が大きいと考えられる。

最初にリン酸二水素アンモニウムの添加濃度を検討した。文献ではその濃度を 5 mM としているが、5 mM よりも濃度を低くするとピーク形状の改善と分離に明確な効果がなかった。反対に、5 mM よりも濃度を高くする

と、5 mM の時と同程度のピーク形状の改善とピーク分離が得られた。しかし、ICP-MS のサンプルコーンとスキマーコーンへの汚染が生じ、測定溶液の繰り返し測定を行うに連れて、機器の感度低下が見られた。以上の結果より、リン酸二水素アンモニウムの添加濃度は、文献と同様に 5 mM とした。

次に、リン酸二水素アンモニウムの添加による移動相の pH を検討した。昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法では、移動相の pH は 3 としているが、文献ではリン酸二水素アンモニウムを添加した場合の移動相の pH は 2.7 が最適とされている。そこで、pH の違いによるクロマトグラムにおけるピークの形状と分離を比較した結果、移動相の pH が 3 よりも 2.7 の方が As(V) のピークが鋭く、左右の対称性も優れていた。また、As(V) 以外のヒ素化合物についても、隣接するピークの分離がよい結果であった。特に、測定するヒ素化合物の中で最も近接する As(III) と MMA のピーク及び、DMA と AsB のピークの分離については、明確な違いが見られた。以上の結果より、移動相の pH は、文献と同様に 2.7 とした。これにより、昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法と比較して、有機ヒ素化合物のピークの妨害なく無機ヒ素のピークを、より選択的に検出することが可能となった。

また、その他観察された現象として、リン酸二水素アンモニウムを移動相に添加することで、添加しない場合の移動相(昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法の移動相)と比較して、調製後 24 時間以降に観察されていた白色沈殿が生じなくなった。このため、移動相の用時調製の必要がなく翌日以降の測定にも使用可能であった。

C.D. 1-3 分析に供する試料量の検討

精米及び玄米を分析対象とすることから、これらを調理後、調製される 1 群の TD 試料より、精米及び玄米の方が As(III)と As(V)の濃度は高いことが推測される。この場合、昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法の分析手順、検出限界と定量下限の推定値及び、検量線の濃度範囲を考慮すると、試料量を減らすことが可能である。そこで、これまでに報告のある精米及び玄米における As(III)と As(V)濃度の文献情報も併せて検討し、分析に供する試料量をこれまでの 2.0 g から 1.0 g に変更した。

C.D. 1-4 精米及び玄米を分析対象とした無機ヒ素分析法の性能評価

C.D.1-1～1-3 に示した検討の結果、最終的に規定した無機ヒ素分析法(改良 HPLC-ICP-MS 法)の性能を評価した。

1) 認証標準試料の分析結果

白米粉末(NMIJ CRM 7503-a)から得られた分析値の解析結果に基づき、As(III)分析時の真度は 77%、併行精度(RSD%) は 1.1%と推定された。また、As(V)分析時の真度は 226%、併行精度(RSD%)は 1.0%と推定された。As(III)の真度が低く、As(V)の真度が高く推定されたことは、分析操作の際に As(III)から As(V)へと価数の変換が起こったためと考えられた。そのため認証値の不確かさの範囲内で As(III)と As(V)を個別に定量することはできなかった。

しかし、As(III)と As(V)の認証値の和を真値とし、これと As(III)と As(V)分析値の和との比較から推定した真度は 100%、併行精度(RSD%)は 1.0%であった。この場合は、As(III)の認証値と As(V)の認証値の和の合成標準不確かさの範囲内での分析が可能であった。

玄米粉末(NMIJ CRM 7532-a)から得られた分析値の解析結果に基づき、真度は 99%、併行精度(RSD%)は 1.6%と推定された。また、認証値の不確かさの範囲内での分析が可能であった。

2) 添加試料の分析結果

各試料を 5 点併行で分析し、分析値の解析結果に基づき、改良 HPLC-ICP-MS 法の真度と精度を推定した。精米

では各添加濃度の As(III)及び As(V)の組み合わせを通じて、As(III)分析時の真度は 112~102%、As(V)分析時の真度は 71~100%と推定された。併行精度(RSD%)は 0.8~3.9%と推定された。玄米では各添加濃度の As(III)及び As(V)の組み合わせを通じて、As(III)分析時の真度は 98~100%、As(V)分析時の真度は 105~109%と推定された。併行精度(RSD%)は 1.8~2.6%と推定された。また、精米及び玄米を通じ、As(III)と As(V)の添加量の和を真値とし、これと As(III)と As(V)分析値の和との比較から推定した真度は 100~102%、併行精度(RSD%)は 1.5~2.6%であった。

以上の結果より、認証標準試料、添加試料によらず、無機ヒ素量を真値とした場合、改良 HPLC-ICP-MS 法の真度は 99~102%、併行精度(RSD%)は 1.0~2.6%と推定された。したがって、As(III)と As(V)の量の和を無機ヒ素量とするのであれば、精米及び玄米に適用可能な十分な性能を有した分析法であると判断した。

検討 2) LC-MS/MS 等を用いた無機ヒ素及び有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

C.D. 2-1 認証標準試料の分析による真度の推定

各有機ヒ素化合物の標準溶液を前

述の測定条件により測定し、検量線の直線性を確認したところ、AsB は 0.001~0.2 µg/mL、他の化合物は 0.001~0.5 µg/mL の範囲において良好な直線性があった。R² 値としては、0.98 以上、AsB を除くと 0.99 以上であった。設定した LC-MS/MS 測定条件、検量線範囲、暫定定量下限値に基づき、測定溶液として調製した認証標準試料タラ、メカジキ、コメを、希釈倍率を段階的に変更して n=1 で測定し、得られた分析結果を認証値と比較した。また、空試験についても同様に操作した。

当初は試料量を 2.0 g としたが、水分不足により抽出操作時に均質とならなかったため、暫定定量下限値以上の測定値が見込まれるタラとメカジキの有機ヒ素化合物について、試料量を 0.20 g に変更して操作した。その際、測定溶液の発泡が見られたため、タンパク質除去を目的に測定直前に限外ろ過(分子量 3000 以上排除)を行った試料についても別途測定した。

試料量が 2.0 g の場合、コメの DMA、As(III)、As(V)はいずれも暫定定量下限値未満であり、定量値を得ることはできなかった。タラ及びメカジキの AsB は検出されたが、希釈倍率によって定量値が大きく異なり、マトリクス成分の影響が強く見られた。10 倍希釈液で得られた分析値を認証値と比

較した結果、分析法の真度はタラ、メカジキいずれにおいても 40%程度であった。

試料量が 0.20 g の場合、10 倍希釈液の測定により得られた分析値から推定される真度は、タラで 64%、メカジキで 51%ととなり抽出の改善が見られた。限外ろ過の有無では真度に大きな変化は見られず、タンパク質以外のマトリクス成分が定量に影響を与えている可能性が高いと考えられる。

なお、認証値のない化合物では、MMA がタラ、メカジキ、コメから、TeMA がタラから、As(III)がタラ、メカジキから検出された。

C.D. 2-2 測定溶液のマトリクス影響確認

測定溶液中のマトリクス成分が測定に与える影響を確認するために、2.0 g の試料を操作した測定溶液を C.D.2-1 と同様の倍率で段階的に希釈したものに、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (試料由来濃度を除く)となるよう混合標準液を添加して測定し、測定濃度と添加濃度との比を求めた。空試験では、試料抽出液由来のマトリクスの影響が認められたが、10 倍以上に希釈することで影響はほぼ無くなった。認証標準試料についても、希釈倍率が高いほどマトリクスの影響が低減する傾向が見られた。また、化合物ごとに定量に必要な

希釈倍率が異なることが示唆され、定量下限値を考慮して希釈倍率を決定する必要があることを確認した。

C.D. 2-3 認証標準試料への標準溶液の添加と分析

タラ、メカジキについて、試料 0.20 g に対し、有機ヒ素 6 種混合標準液 4 μg を添加し分析した。認証標準試料に標準溶液を添加し分析した結果、MMA、TeMA の値は概ね良好であったが、その他の化合物については抽出条件や希釈倍率等についてさらに検討する必要がある。

C.D. 2-4 測定イオン形態の確認

LC-MS/MS 条件で設定した各測定対象化合物の m/z について、イオン形態を確認するために、LC-QTOF/MS で標準品の精密質量測定を行った。Q1 及び Q3 として推定されるイオン形態と LC-MS/MS 設定 m/z 、理論精密 m/z 、QTOF 測定精密 m/z と QTOF 測定値のずれについて確認した結果、有機ヒ素化合物 6 種については、すべて数 ppm のずれであり、想定しているイオン形態であることが強く推定された。無機ヒ素については LC-MS/MS で測定している m/z が検出されなかったが、ESI のイオン化条件が LC-MS/MS と LC-QTOF/MS で異なるためと考えられる。

また、無機ヒ素 2 種をポジティブモ