

令和6年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

重金属類試験法の改良と妥当性評価に関する研究

研究代表者	渡辺 卓穂	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所	副所長
研究分担者	新矢 将尚	（地独）大阪健康安全基盤研究所	課長
研究協力者	油谷 藍子	（地独）大阪健康安全基盤研究所	主任研究員
研究協力者	村野 晃一	（地独）大阪健康安全基盤研究所	研究員
研究協力者	村上 太郎	（地独）大阪健康安全基盤研究所	主任研究員

研究要旨

食品中の重金属の基準値としては、食品衛生法において、米（玄米及び精米）中のカドミウムが0.4 mg/kg以下、清涼飲料水の規格では、ヒ素及び鉛は検出してはならないとされている。一方、諸外国では鉛やヒ素、カドミウム等の重金属類の食品への汚染防止や低減対策が進められており、コーデックス委員会が設定している基準値は日本のものより低く、対象とする食品も多くなっている。そのため、食品の輸出促進に向けては海外基準を考慮した、重金属類に関する食品の安全性確保が重要な課題となっている。食品中の重金属類試験については、マイクロウェーブ分解－誘導結合プラズマ（ICP）質量分析法が迅速に多元素を分析できるため有用であり、前年度にマトリックスの異なる3種の認証標準物質を用いて、マイクロウェーブ分解－ICP質量分析法による最適分析条件の検討と、分析妥当性の評価を行った。今年度は本法を畜産肉へ適用して分析妥当性の評価を行った。また、市販されており入手可能な肉試料の重金属類含有量を調査し、外部精度管理調査に資するか検討を行った。

本研究で使用した認証標準物質（Bovine Liver、Pig Kidney、Bovine Muscle）のいずれにおいても、測定した元素濃度は認証値とほぼ一致し、真度、併行精度および室内再現精度は目標値を満たしていた。また、重金属類を調査した市販肉試料においては、海外で規制値が設定されているPb、Cd、Asが含まれていないか、Asがわずかに含まれる程度であり、重金属類の精度管理におけるブランク試料として有効であることが示唆された。これら3元素の海外規制値レベルでの添加回収試験の結果は良好であり、本分析法による市販粉末肉の精度管理試料への適用可能性が確認された。

今後は粉末肉を用いた外部精度管理試料の作製方法の検討やその品質評価を行い、パイロットスタディとしての室間共同試験に向けた検討を行う予定である。

A. 研究目的

日本において、食品中の金属に関する成分規格は、米のカドミウム（Cd）、清涼飲料水および粉末清涼飲料のヒ素（As）、鉛

（Pb）およびスズ（Sn）がある。また、残留農薬基準として青果物の一部についてAsおよびPbの基準値が設定されている。一方、諸外国ではPbやAs、Cdといった重

金属類の食品への汚染防止や低減対策が進められており、コーデックス委員会が設定している基準値は日本のものより低く、対象とする食品も多くなっている。そのため、食品の輸出促進に向けては海外基準を考慮した、重金属類に関する食品の安全性確保が、重要な課題である。

食品中の重金属類を分析する上で、現状の告示試験法では試料の酸分解を開放系で行うため、前処理に長い時間を要する。また測定法についても、比色法や原子吸光光度法を用いた元素ごとの方法が定められており、複数の元素を同時に分析することができないため労力を要する。食品中の重金属類試験については、マイクロウェーブ（MW）分解－誘導結合プラズマ質量分析計（ICP-MS）法が、迅速に多元素を分析できるため非常に有用であり、すでに欧米では採用されている^{1,2)}。本課題では、昨年度にマトリックスの異なる食品3種の認証標準物質を用いて、MW分解－ICP-MS法による最適分析条件の検討と、分析妥当性の評価を行った。3種の認証標準物質のいずれにおいても、Na、Mg、K、Mn、Fe、Co、Cu、Zn、Sr、Cd、Ba、Pbの12元素は、検討したいずれの測定条件でも認証値とよく一致し、本法の有効性が示された。

今年度は、近年輸出実績が増大傾向にある畜産肉を対象とし、MW分解－ICP-MS法を適用して分析妥当性の評価を行った。また、市販されており入手可能な肉試料の重金属類含有量を調査し、外部精度管理調査に資するか検討を行った。

B. 方法

1. 試料

1.1. 肉由来の認証標準物質

試料には、海外において肉類で規制されているPb、Cd、Asを中心として重金属類の認証値が比較的多い、3種類の認証標準物質を選択した。すなわち、牛の肝臓“Bovine Liver”（NIST製 SRM1577c）、豚の腎臓“Pig Kidney”（IRMM製 ERM-BB186）、牛の筋肉“Bovine Muscle”（IRMM製ERM-BB184）を使用した。認証値は、Bovine LiverがPb、Cd、Asを含む20元素、Pig KidneyがPb、Cdを含む7元素、Bovine MuscleがCd、Asを含む7元素である。

1.2. 乾燥肉

均質な食肉試料を調製するために、市販されている乾燥肉を入手した。食肉のみを原料とする、牛肉、豚肉および鶏肉のそれぞれを100%粉末にした無添加パウダー食品、ならびに無添加国産牛の干し肉を使用した。

2 試薬

次に示す試薬を用いた。

35元素混合標準溶液：SPEX社製XSTC-622B、各元素10mg/L

イットリウム（Y）、インジウム（In）、タリウム（Tl）標準溶液：関東化学製、各1000 mg/L

硝酸：富士フイルム和光純薬製 有害金属測定用（純度60%）、および関東化学製 ウルトラピュア（純度60~62%）

過酸化水素水：関東化学製 ウルトラピュア（純度30~32%）

検量線用標準溶液は、35元素混合標準溶

液を0.1mol/L硝酸を用いて0.05～1000 µg/Lとなるように調製した。

内部標準元素溶液は、Y、In、Tlの各標準溶液を適宜混合し、0.1 mol/L硝酸を用いて50 µg/Lとなるように調製した。試験溶液への添加はペリスタルティックポンプによる自動添加とした。

これらの溶液は超純水（メルク社製超純水製造装置 Milli-Q® IQ 7003）を用いて調製した。

3 試料の前処理

3.1. 試料の粉碎

認証標準物質および無添加パウダー肉は粉末状であったため、そのまま使用した。干し肉は、岩谷産業社製ミルサー IFM-800 を用いて粉碎した。

3.2. MW分解

それぞれの試料について、0.5 gをテフロン製分解容器に採り、有害金属測定用硝酸 7 mL、過酸化水素水 1 mLを加え、MW分解装置により加熱分解した。加熱プログラムは、装置のアプリケーションを参考にし、800 W (Ramp:10 min) – 800 W (Hold:40 min)とした。この試料分解液を室温まで冷却後、超純水を加えて50 mLとし試験原液とした。これを超純水で2倍、10倍希釈したもの、0.1 mol/L硝酸で100倍、500倍希釈したものを試験溶液とした。これらの試験溶液は、50 mLポリプロピレン製チューブ（ジーエルサイエンス社製 DigiTUBEs）を用いて調製・保管した。

4. 試料の測定

4.1. ICP-MS

アジレントテクノロジー社製 Agilent 7850 ICP-MS を用いた。

4.2. 測定条件

4.2.1. 標準モード (No Gas モード)

高周波出力：1.55 kW

プラズマガス流量：Ar 15.0 L/min

補助ガス流量：Ar 0.9 L/min

キャリアーガス流量：Ar 1.03 L/min

ネブライザポンプ回転速度：0.1 rpm

測定数：3 points/peak

積分時間：1.0 sec/point (Mn及びSrについては 0.1 sec/point)

測定質量数：表 2 に記載

4.2.2. コリジョンモード (He モード)

コリジョンガス流量：

He 4.3mL/min

測定元素・質量数：表 2 に記載

4.2.3. リアクションモード (H₂ モード)

リアクションガス流量：

H₂ 6.0 mL/min

測定元素・質量数：表 2 に記載

4.3. 定量

検量線用標準溶液および試験溶液をICP-MSで測定し、表 1 に示す内標準元素を用いて内標準法で定量した。

4.4. 水分含量の測定と補正

水分含量の測定には、加熱乾燥にヤマト科学社製定温乾燥機DVS403、秤量にメトラー・トレド社製電子天秤ME204T/00を使用した。予め加熱、放冷したアルミカップに粉末肉試料1 gを秤量し、135 °C、2時間乾燥して放冷後に秤量、以後恒量になるまで加熱、放冷、秤量の操作を繰り返した。

5. 妥当性評価

本法により3種類の認証標準物質中の元素を測定し、分析法の妥当性評価を実施した。分析者2名が併行数2で3日間の枝分かれ試験で実施した。「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」³⁾に従って、一元配置の分散分析により真度、併行精度および室内再現精度を求めた。

6. 肉試料を用いた添加回収試験

粉末にした牛干し肉0.5 gに、諸外国で牛肉に対して規制されているPb、Cd、Asを添加し、上述の前処理および測定を実施した。添加濃度は、PbについてはCODEX等の規制値である0.1 mg/kg、CdについてはEU等の規制値である0.05 mg/kg、Asについては香港の規制値である0.5 mg/kgになるように設定した。試験は5回行い、回収率を算出した。

(倫理面への配慮)

食品の安全に関する研究であり、倫理面への配慮を必要としなかった。実験者および環境への配慮として、強酸の取扱いや排気は酸ドラフト内で行った。

C. D. 研究結果および考察

1. 検量線および定量下限

各元素の測定質量数、測定モード、使用した内標準元素を表1に示す。測定モードは、前年度にマトリックスの異なる3種類の認証標準物質において妥当性が確認されたモードを選択した。検量線の直線性については、いずれの元素においても相関係数

が0.9997以上の良好な結果が得られた。なお、測定液の定量下限は検量線の最低濃度とした。

2. 妥当性評価

2.1. Bovine Liver (SRM1577c)

Bovine Liverの測定および妥当性評価の結果を表2に示す。Kを除く16元素については、真度、併行精度、室内再現精度の目標値を満たしていた。Kについては、真度がわずかに目標値を超えていたが、試料中濃度が高かったために、洗浄してもメモリーが少しずつ蓄積して上振れしたと考えられた。元素によっては、供試する試料量や希釈倍率の検討が必要と考えられる。なお、認証値が定量下限未満であったAg、Mo、Ni、および測定が困難であるSは、今回の対象から除外した。

2.2. Pig Kidney (ERM-BB186)

Pig Kidneyの測定および妥当性評価の結果を表3に示す。認証値のある8元素すべてにおいて、真度、併行精度、室内再現精度の目標値を満たしていた。さらにMn、Fe、Cu、Zn、Se、Pbについては、測定値が認証値の不確かさ範囲内に入っており、きわめて良好な結果であった。

2.3. Bovine Muscle (ERM-BB184)

Bovine Muscleの測定および妥当性評価の結果を表4に示す。Cdを除く7元素において、真度、併行精度、室内再現精度の目標値を満たしていた。そのうち、Mn、Fe、Zn、As、Seについては、測定値が認証値の不確かさ範囲内に入っており、きわめて良好な結果であった。Cdについては、認

証値が定量下限を下回っていたため、真度が小さくなったと考えられた。低濃度のCdを分析するためには、供試する試料量や希釈倍率の検討が必要と考えられる。

3. 肉試料の重金属類含有量

牛肉、豚肉、鶏肉の各パウダー食品および牛干し肉の分析結果を表5に示す。値はいずれも2回測定の平均値である。各パウダー食品において、V、Co、As、Cd、Pbはいずれも定量下限未満であった。牛干し肉においては、VとCdが定量下限未満であり、総じて牛肉パウダーよりやや高い元素含有量を示した。これらの肉試料は、CODEXやEUなど海外で規制値が設定されているPb、Cd、Asが含まれていないか、Asがわずかに含まれる程度であり、重金属類の精度管理におけるブランク試料として有効であることが示唆された。

今回の含有量調査結果が妥当な値か判断するために、食品成分表（八訂2023増補）に掲載されている生肉中の元素濃度と比較した。乾燥肉と生肉では水分含量が異なるため、乾燥重量当りに換算して求めた元素含有量を表6に示す。検討に用いた牛肉、豚肉、鶏肉のいずれの試料においても、分析値の元素ごとのオーダーは食品成分表とほぼ一致しており、一般的な肉試料を代表していると考えられた。したがって、本研究で使用した粉末乾燥肉を、肉由来の精度管理用試料の基材へ適用することは妥当であると考えられた。

4. 肉試料を用いた添加回収試験

添加回収試験の結果を表7に示す。牛干し肉にはAsがわずかに含有されていたため、

元の含有量を減算して添加回収率を算出した。いずれの元素も真度（平均回収率）は99.2～104%、ばらつき（変動係数）は1.3～3.9%の範囲にあり、良好な結果が得られた。

以上の結果より、粉末乾燥肉の精度管理試料へ適用可能性が確認された。

E. 結論

畜産肉を対象としてMW分解－ICP-MSを適用し、3種の認証標準物質（Bovine Liver、Pig Kidney、Bovine Muscle）を用いて分析妥当性の評価を行った。いずれの認証標準物質においても、測定した元素濃度は認証値とほぼ一致し、真度、併行精度および室内再現精度は目標値を満たしていた。ただし、Bovine Liver中のKにおいては認証値が高く、Bovine Muscle中のCdにおいては認証値が低かったことから、検討した条件では妥当性を確認できなかった。外部精度管理において多元素を設定する場合には、それぞれの濃度範囲に留意して、引き続き検討を行う必要がある。

一方、重金属類を調査した市販肉試料においては、海外で規制値が設定されているPb、Cd、Asが含まれていないか、Asがわずかに含まれる程度であり、重金属類の精度管理におけるブランク試料として有効であることが示唆された。これら3元素の海外規制値レベルでの添加回収試験の結果は良好であり、本分析法による市販粉末肉の精度管理試料への適用可能性が確認された。

今後は粉末肉を用いた外部精度管理試料の作製方法の検討やその品質評価を行い、パイロットスタディとしての室間共同試験に向けた検討を行う予定である。現在、食

肉中の重金属が値付けされた認証標準物質は日本国内で製造されていない。また、海外からの輸入に関しては家畜伝染病予防法により輸入が非常に困難である。それゆえ、日本国内で容易に入手できる食肉の認証標準物質に資する試料を作製することは、日本における食肉中の重金属類分析法の発展につながると考えられる。

知「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」平成 20 年 9 月 26 日食安発第 0926001 号

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

油谷藍子, 村野晃一, 村上太郎, 新矢将尚:
マイクロウェーブ分解-ICP-MS法による
食品中元素分析法の妥当性評価, 日本食品
衛生学会第120回学術講演会, 愛知 (2024)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

- 1) US FDA. Elemental Analysis Manual
4.7, Version 1.2, 2020
- 2) BS EN 17851:2023, 2023
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通

以下 図表

表1 ICP-MSの測定質量数、測定モードおよび検量線範囲

元素	質量数 (m/z)	測定モード	内標準元素 (質量数 m/z)	検量線範囲 (ng/mL)
Na	23	He	Y (87)	50 ~ 1000
Mg	24	He	Y (88)	5 ~ 100
P	31	He	Y (89)	50 ~ 500
K	39	He	Y (89)	50 ~ 1000
Ca	40	H2	Y (89)	5 ~ 100
V	51	He	Y (89)	0.1 ~ 5
Cr	52	He	Y (89)	0.5 ~ 10
Mn	55	He	Y (89)	0.5 ~ 10
Fe	56	He	Y (89)	50 ~ 1000
Co	59	He	Y (89)	0.05 ~ 5
Cu	63	No Gas	Y (89)	5 ~ 100
Zn	66	No Gas	Y (89)	5 ~ 500
As	75	H2	Y (89)	0.05 ~ 5
Se	78	He	Y (89)	1 ~ 50
Sr	88	No Gas	Y (89)	0.5 ~ 100
Cd	111	No Gas	In (115)	0.05 ~ 5
Pb	208	No Gas	Tl (205)	0.05 ~ 5

表2 Bovine Liver の妥当性評価結果

主要元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (%)		測定値(総平均) (%)		真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
Na	23	He	0.2033	± 0.0064	<u>0.1983</u>		98	1.9	3.0	◎
P*	31	He	1.175	± 0.027	1.127		96	2.8	5.0	○
K	39	He	1.023	± 0.064	1.135		111	2.0	6.3	×

主要元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (mg/kg)		測定値(総平均) (mg/kg)		真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
Mg	24	He	620	± 42	<u>592</u>		96	2.2	3	◎
Ca	40	H2	131	± 10	<u>130</u>		100	1.5	6.4	◎

微量元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (mg/kg)		測定値(総平均) (mg/kg)		真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
Mn	55	He	10.46	± 0.47	<u>10.04</u>		96	1.9	4.5	◎
Fe	56	He	197.94	± 0.65	194.98		99	1.8	4.7	○
Co	59	He	0.300	± 0.018	<u>0.307</u>		102	2.2	3.2	◎
Cu	63	No Gas	275.2	± 4.6	269.4		98	1.9	5.4	○
Zn	66	No Gas	181.1	± 1.0	183.1		101	1.8	2.5	○
Se	78	He	2.031	± 0.045	1.915		94	4.3	5.1	○

微量元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (μg/kg)		測定値(総平均) (μg/kg)		真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
V	51	He	8.17	± 0.66	9.78		120	5.9	12	○
Cr	52	He	53	± 14	<u>53</u>		101	6.6	14	◎
As	75	H2	19.6	± 1.4	18.1		92	10	11	○
Sr	88	No Gas	95.3	± 4.2	90.6		95	2.2	7.1	○
Cd	111	No Gas	97.0	± 1.4	92.7		96	2.4	4.5	○
Pb	208	No Gas	62.8	± 1.00	59.5		95	1.9	2.2	○

妥当性判定基準：

0.01<濃度(mg/kg)≦0.1 … 真度：80～120%，併行精度<15%，室内精度<20%

0.1<濃度(mg/kg)≦10 … 真度：80～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

10<濃度(mg/kg) … 真度：90～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

判定基準を満たすものは○，さらに測定値が認証値の不確かさ範囲内に入っているもの（下線）については◎とした。

* P については参考値

表3 Pig kidney の妥当性評価結果

微量元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (mg/kg)			測定値(総平均) (mg/kg)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
Mn	55	He	7.26	±	0.25	<u>7.05</u>	97	2.5	5.8	◎
Fe	56	He	255	±	13	<u>244</u>	96	1.1	2.8	◎
Cu	63	No Gas	36.5	±	1.8	<u>35.1</u>	96	1.8	5.3	◎
Zn	66	No Gas	134	±	5.0	<u>132</u>	99	1.8	3.2	◎
Se	78	He	10.3	±	0.9	<u>9.59</u>	93	5.0	5.0	◎
Cd	111	No Gas	1.09	±	0.05	1.03	95	2.7	2.8	○
Pb	208	No Gas	0.040	±	0.005	<u>0.039</u>	98	6.8	8.0	◎

妥当性判定基準：

0.01<濃度(mg/kg)≦0.1 … 真度：80～120%，併行精度<15%，室内精度<20%

0.1<濃度(mg/kg)≦10 … 真度：80～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

10<濃度(mg/kg) … 真度：90～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

判定基準を満たすものは○，さらに測定値が認証値の不確かさ範囲内に入っているもの（下線）については◎とした。

表4 Bovine muscle の妥当性評価結果

微量元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	認証値 (mg/kg)			測定値(総平均) (mg/kg)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内 再現精度 (%)	判定
Mn	55	He	0.276	±	0.013	<u>0.287</u>	104	2.5	5.8	◎
Fe	56	He	75	±	4	<u>75</u>	100	1.1	2.8	◎
Cu	63	No Gas	2.31	±	0.09	2.14	93	1.8	5.3	○
Zn	66	No Gas	146	±	7.0	<u>144</u>	98	1.8	3.2	◎
As	75	H2	0.0234	±	0.0026	<u>0.021</u>	90	5.0	5.0	◎
Se	78	He	0.45	±	0.04	<u>0.43</u>	96	2.7	2.8	◎
Cd	111	No Gas	0.0022	±	0.0004	0.0016	74	6.8	8.0	×

妥当性判定基準：

0.01<濃度(mg/kg)≦0.1 … 真度：80～120%，併行精度<15%，室内精度<20%

0.1<濃度(mg/kg)≦10 … 真度：80～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

10<濃度(mg/kg) … 真度：90～110%，併行精度<10%，室内精度<15%

判定基準を満たすものは○，さらに測定値が認証値の不確かさ範囲内に入っているもの（下線）については◎とした。

表5 肉試料の重金属類含有量

微量元素	質量数 (<i>m/z</i>)	測定 モード	鶏肉パウダー (mg/kg)	豚肉パウダー (mg/kg)	牛肉パウダー (mg/kg)	牛干し肉 (mg/kg)	定量下限 (mg/kg)
Na	23	He	2064	982	1148	1378	5
Mg	24	He	645	757	743	848	0.5
P	31	He	5037	5936	5034	7046	5
K	39	He	8146	10352	7463	13726	5
Ca	40	H2	223	173	247	111	0.5
V	51	He	ND	ND	ND	ND	0.01
Cr	52	He	0.121	0.133	0.091	0.317	0.05
Mn	55	He	0.247	0.258	0.337	0.311	0.05
Fe	56	He	80.6	35.6	26.9	98.8	5
Co	59	He	ND	ND	ND	0.033	0.005
Cu	63	No Gas	2.21	2.65	1.56	2.53	0.5
Zn	66	No Gas	265	76.9	44.0	135	0.5
As	75	H2	ND	ND	ND	0.022	0.005
Se	82	He	0.221	1.181	0.693	0.431	0.1
Sr	88	No Gas	0.261	0.149	0.242	0.062	0.05
Cd	111	No Gas	ND	ND	ND	ND	0.005
Pb	208	No Gas	ND	ND	ND	0.011	0.005
水分 (%)			3.25	5.83	4.45	9.77	

ND：定量下限未満

表6 水分補正を行った肉試料の重金属類含有量および食品成分表（八訂）との比較

	肉試料分析結果 (mg/100g-dw)				食品成分表（生肉）八訂2023増補 (mg/100g-dw)		
	鶏肉パウダー	豚肉パウダー	牛肉パウダー	牛干し肉	鶏肉	豚肉	牛肉
Na	119	104	216	153	113	155	114
Mg	77	80	68	94	43	61	46
P	520	630	527	781	296	525	364
K	771	1099	853	1521	431	933	680
Ca	25.6	18.4	23.3	12.3	21.6	11.7	9.7
Mn	0.035	0.027	0.026	0.034	0.027	0.029	0.000
Fe	2.78	3.78	8.43	11.0	2.43	1.46	2.18
Cu	0.162	0.281	0.231	0.280	0.189	0.262	0.170
Zn	4.55	8.17	27.7	15.0	4.58	7.87	11.9
水分 (%)	3.25	5.83	4.45	9.77	62.9	65.7	58.8

表7 牛干し肉を用いた添加回収試験結果

	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			変動係数 (%)
As	0.5	103	±	2.5	2.4
Cd	0.05	99.2	±	3.9	3.9
Pb	0.1	104	±	1.4	1.3

回収率：平均回収率±標準偏差 (n=5)