

マイクロウェーブ分解-黒鉛炉加熱原子吸光法による 玄米中のカドミウム分析法の妥当性確認

細木伸泰*1 佐藤寛子 江湖正育 宮本啓二*2 木田 潔

要 旨

平成 26 年 12 月 22 日付け食安発 1222 第 7 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知により「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドライン」(以下「ガイドライン」という。)が策定された旨、連絡があったことを契機として、玄米中のカドミウム分析法の全面的な見直しを行った。

分析者及び実験設備への負担が少なく、より簡便な分析法とすることを旨し、マイクロウェーブ分解及び黒鉛炉加熱原子吸光法による方法を検討した。

検討した新規分析法について、ガイドラインに従って妥当性確認を行ったところ、良好な結果が得られた。また、従前と比較して、試験時間の短縮、省試薬化及び試験操作の簡便化を実現できた。

1. 結 言

食品化学係では、食の安全・安心を確保するため、様々な食品を対象に理化学的検査を実施している。これらの検査の結果は、行政指導の根拠となる非常に重要なデータであり、検査に用いられる分析法には妥当性が求められる。このため、当係では、食品中の農薬等に係る試験法の妥当性評価を実施^{1), 2)}するなど、その確保に努めてきた。

先般、ガイドラインが新たに策定³⁾され、食品中の有害物質等に係る分析法について、妥当性の確認方法が定められた。玄米中のカドミウム(Cd)分析法はこのガイドラインが適用され、各試験機関において開発した分析法を用いて検査を実施しようとする場合は、その分析法がガイドラインに適合していることが要件となる。

当係ではこれまで、食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生省告示第 370 号)に準じた方法(以下「現行法」という。)を用いて、玄米中の Cd 検査を実施してきた。しかし、現行法で採用している湿式分解法による前処理法は長時間の加熱を要し、多量の硝酸を消費することから、分析者及び

ドラフト等の設備への負担が大きいという問題があった。そこでまず、近年食品分野にてしばしば用いられるマイクロウェーブ(MW)分解^{4), 5)}を採用することで、分解時間の短縮を図り、分析者及びドラフト等の設備への負担軽減を目指した。また、MW 分解では分解可能な試料量が 1g 以下と非常に少ないことが多く、従来よりも高感度な分析法が求められることから、黒鉛炉加熱方式による原子吸光法を採用し、分析条件を検討した。この新たに検討した MW 分解-黒鉛炉加熱原子吸光法による玄米中の Cd 分析法(以下「新法」という。)について、ガイドラインに基づく妥当性確認を行い、良好な結果を得たので報告する。

2. 方 法

2-1 試料

本市の収去検査で Cd の分析対象としている玄米を用いた。玄米はヴァーダー・サイエンティフィック(株)(旧レッチェ)製粉碎機 ZM200 により粉碎・均質化したものを用いた。

2-2 試薬及び標準液

*1 現保健所環境衛生課 *2 前生活科学課長

Cd 標準品(100 μ g/mL)は和光純薬(株)製を、過酸化水素、パラジウム(Pd)標準品(1000 μ g/mL)及びマグネシウム(Mg)標準品(1000 μ g/mL)は同社製原子吸光用グレードを、硝酸は関東化学(株)製有害金属用グレードを用いた。

2-3 装置及び分析条件

(1) MW 分解条件

条件はマイルストーンゼネラル(株)提供の分解条件に準じて設定した。

装置：マイルストーンゼネラル(株)製

MW 分解装置 ETHOS 900

分解プログラム：表 1 のとおり

表 1 MW 分解プログラム

	加熱時間 (mm:ss)	出力 (W)	制御温度 ($^{\circ}$ C)
1	00:01	0	100
2	02:00	250	100
3	03:00	0	100
4	05:00	250	100
5	05:00	400	100
6	10:00	500	100
7	10:00	(Ventilation)	

(2) 原子吸光測定条件

条件は、日立ハイテクノロジーズ(株)アプリケーションによった。

装置：日立ハイテクノロジーズ(株)製

偏光ゼーマン原子吸光光度計 Z-2010

原子化方式：グラファイトファーネス方式

測定ランプ：Cd 中空陰極ランプ

測定波長：228.8nm

ランプ電流：7.5mA

スリット幅：1.3nm

注入量：20 μ L

測定回数：2回

温度プログラム：表 2 のとおり

[マトリックス修飾剤]

種類：100 μ g/mL Pd-Mg 硝酸(1 \rightarrow 60)溶液

注入量：10 μ L

添加順：後添加

表 2 原子吸光測定温度プログラム

加熱段階	開始/終了 温度($^{\circ}$ C)	昇温/継続 時間(秒)	ガス流量 (mL/分)
乾燥	50/110	40/0	200
	110/300	20/0	200
灰化	400/400	20/0	200
原子化	1500/1500	0/3	10
クリーン	2800/2800	0/4	200
冷却	0/0	0/10	200

2-4 試験溶液の調製

日立ハイテクノロジーズ(株)アプリケーションを参考に試験溶液の調製を行った(図 1)。

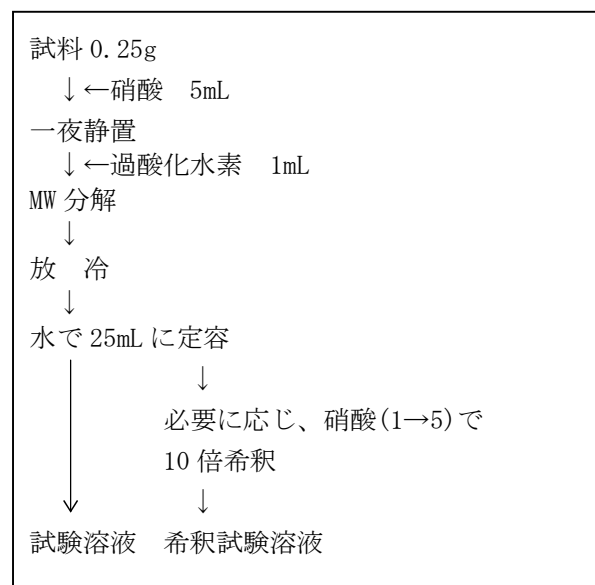


図 1 試験溶液調製フロー図

2-5 妥当性確認の方法

妥当性確認はガイドラインに基づき、トレース試料(添加回収試験への影響を無視できる程度の低い濃度でCdを含む試料。定義はガイドラインによる。)に0.4ppm相当となるようCdを添加して実

施した。実験計画は、分析者 2 名が、それぞれ添加試料を 1 日 2 回、3 日間分析する方法とした。測定値から性能パラメータを推定し、表 3 に示す性能パラメータの目標値と比較して評価を行った。なお、選択性については、ブランク試験の結果から評価した。

表 3 Cd 分析法における性能パラメータ目標値

性能パラメータ名	目標値
真度(%)	90~110
併行精度(RSD%)	15>
室内精度(RSD%)	15>
選択性	誤差信号が基準値相当信号の 1/10 未満

3. 結 果

3-1 分析法の検討

(1) 試験器具について

試料採取量を 0.20g としたとき、試験溶液に含まれる Cd の総量は、試料に基準値濃度(0.4ppm)の Cd が含まれる場合であっても 0.08 μg とごくわずかな量になる。微量の金属の試験においては、通常、器具への吸着を抑えるためプラスチック器具が用いられることから、新法ではプラスチック製メスフラスコを使用することとした。

(2) 試料採取量について

アプリケーションにて紹介されている試料採取量は 0.20g であったが、プラスチック製のメスフラスコは 25mL 容のものが主流であることから、計算を容易にするため、試料採取量を 0.25g とし、試験溶液は 25mL に定容することとした。

(3) MW 分解条件について

硝酸 5mL 及び過酸化水素 1mL を用いて表 1 の条件により分解したところ、未分解試料は見られず、透明な分解液が得られたことから、分解に使用する硝酸及び過酸化水素の量は上述のとおりとした。

(4) 試験溶液の定容及び希釈操作について

原子吸光測定においては、試験溶液中の酸濃度により分析感度の変動する可能性があるため、試験溶液を 25mL に定容する際は水を用いて定容し、試験溶液を 10 倍希釈する際には硝酸(1→5)を用いることとし、試験溶液及び希釈試験溶液に含まれる硝酸濃度をほぼ等しくなるようにした。

(5) マトリックス修飾剤の使用について

黒鉛炉加熱原子吸光法では、試験溶液中の夾雑物による影響が懸念されたため、Pd-Mg マトリックス修飾剤を用いることとした。

(6) 検量線について

0、0.1、0.25、0.5 及び 1ng/mL の Cd を含む標準列 5 点について、濃度とピーク高さの関係から検量線を作成したところ、 $R^2 > 0.999$ の良好な直線性が得られたため、この標準列を採用した(図 2)。

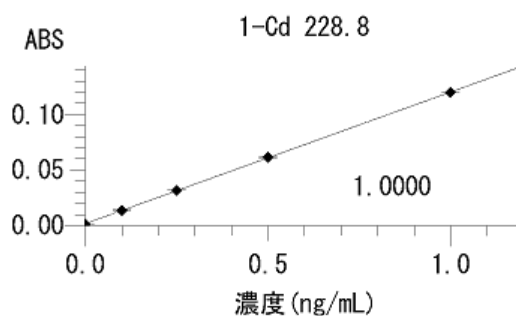


図 2 Cd 検量線

3-2 妥当性確認結果

新法を妥当性確認した結果、全ての性能パラメータが目標値(表 3)を満足した。推定された性能パラメータは表 4 のとおり。

表 4 新法の妥当性確認結果

性能パラメータ名	結果
真度(%)	92.8
併行精度(RSD%)	3.3
室内精度(RSD%)	4.5
選択性	良好

4. 考 察

4-1 新法の試験操作について

(1) 分解操作について

現行法では、1 検体あたり玄米穀粒 25g を採取し、約 250mL の硝酸を用いて約 3 日間かけて分解を実施していた。新法では、1 検体あたり玄米粉砕試料 0.25g を採取し、約 5mL の硝酸を用いて約 1 時間、分解準備や冷却時間等を含めても半日程度で分解を完了できる。分解に要する時間は約 6 分の 1、分解に使用する硝酸の量は約 50 分の 1 となり、分解時間の短縮及び省試薬化を実現し、ドラフト等の実験設備への負担が軽減された。また、現行法では、ガスバーナーを用いて手動で長時間の分解を行っていたことから、やけどや酸蒸気吸引のリスクがあり、分析者への負担が大きかったが、新法では MW 分解により分解操作を自動化でき、分析者への負担を大幅に軽減できた。

(2) 分解後の操作について

現行法では、ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム-メチルイソブチルケトンによるキレート生成-溶媒抽出による精製を実施していた。新法では、マトリックス修飾剤の使用により精製操作が省略でき、試験操作を簡便化できた。

(3) 現行法と新法の比較

現行法と新法について表 5 にまとめた。新法では、分解時間の短縮、省試薬化及び試験操作の簡便化を実現することができた。

4-2 検出値の代表性及び試料の均質性について

現行法では前述のとおり、1 検体あたり玄米穀粒

25g を検査に供していたが、新法では玄米粉砕試料 0.25g を検査に供することから、新法における検出値が試料全体を代表したものとなっているか、また、試料の均質性に問題はないか評価が必要であった。このため、現行法で Cd を 0.03ppm 検出した玄米について、同一ロット品 1kg を粉砕して試料とし、5 併行で新法により測定したところ、Cd 検出値は 0.03ppm となり、現行法と一致した。また、併行精度は 10.1%と、ガイドラインで示されている精度の目標値(15%未満)を満たした。以上から、1kg の試料から調製した玄米粉砕試料を用いることで、検出値の代表性及び試料の均質性を確保できると考えられた。

5. 結 語

玄米中のカドミウム分析法について、MW 分解-黒鉛炉加熱原子吸光法による新法を検討した。新法をガイドラインに従って妥当性確認したところ、全ての性能パラメータがガイドラインの目標値を満たした。新法を用いることで、分解時間の短縮、省試薬化及び試験操作の簡便化を実現できた。

新法は、平成 28 年度から取去検査に用いる分析法として実用化する予定である。新法を用いることで、食の安全・安心に係る情報を従前より迅速に市民等に提供することが可能となる。

なお、本研究は、平成 22 年度北海道消費者行政活性化事業補助金により整備した原子吸光度計を活用して行った。

6. 文 献

- 1) 柳田麻有, 石田陽子, 小野准子 他: 食品中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について, 札幌市衛生研究所年報, **41**, 56-68, 2014
- 2) 細木伸泰, 滝川香織, 小金澤望 他: 高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計による畜水産物中の動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価, 札幌市衛生研究所年報, **41**, 42-55,

表 5 現行法と新法の比較

	現行法	新法
分解時間	約 3 日	半日
分解時硝酸使用量	約 250mL	5mL
分解操作	手動	自動
抽出・精製	溶媒抽出	なし

2014

- 3) 厚生労働省：平成 26 年 12 月 22 日付け食安発 1222 第 7 号医薬食品局食品安全部長通知「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」
- 4) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一 他：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, 35, 61-66, 2009
- 5) 伊藤純子, 神尾典子, 大野金男：玄米中のカドミウムの試験法について, 福島県衛生研究所年報, 28, 77-80, 2010