

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・岡本華葉*・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分以下に短縮され、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⁾³⁾、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)	($^{\circ}$ 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⁴⁾、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 $^{\circ}$ 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。水銀は還元酸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、頭髮で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、生体試料として頭髮）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。清涼飲料水及び頭髮は、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。頭髮については、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（玄米及び頭髮）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（玄米及び頭髮）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（頭髮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。頭髮の標準試料では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。頭髮は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5-50mg⁵⁾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=4の平均値を示した。

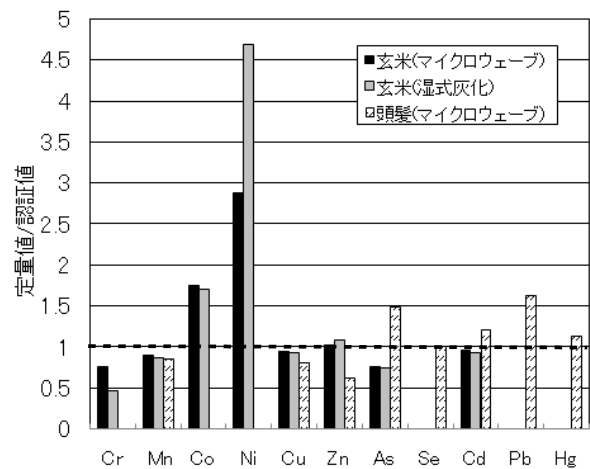


図1 マイクロウェーブ分解及び湿式分解を用いた環境標準試料の分析における認証値と定量値の比

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	—	—

* — の欄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⁹⁾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た。

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）かかると算出された。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

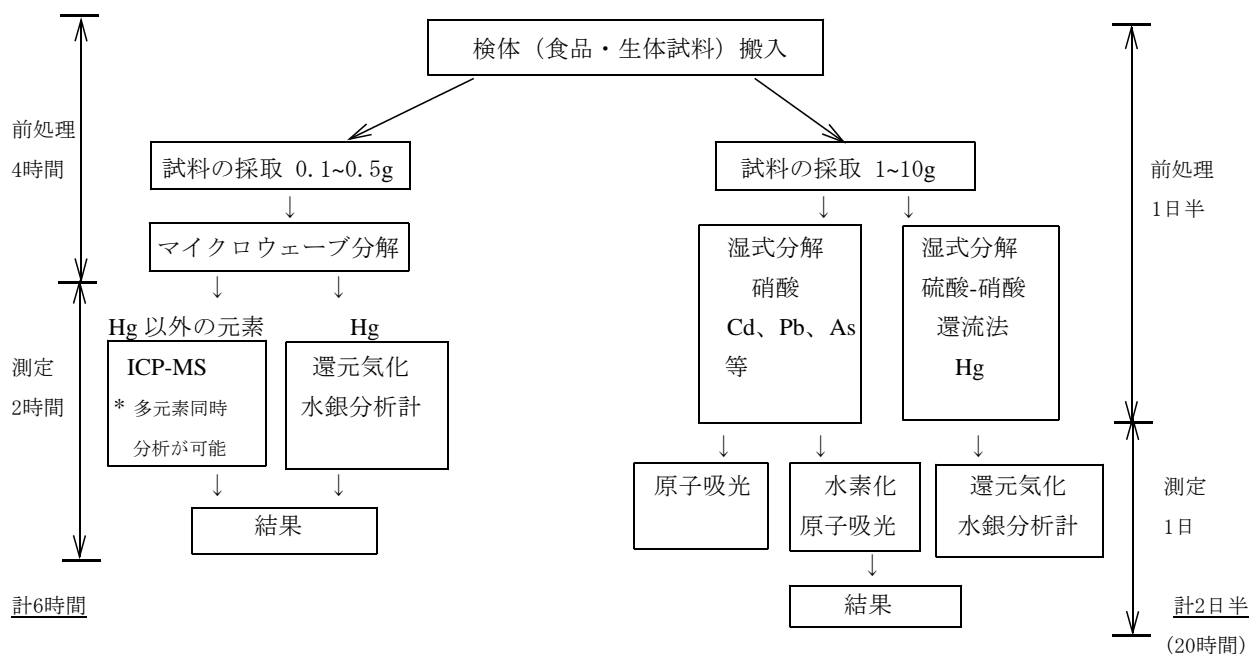


図2 マイクロウェーブ分解法（左）と湿式分解/原子吸光法（右）を用いた場合の検査時間の比較（玄米5検体とした場合）

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、生体試料として頭髮を用い、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。頭髮についても、Ni だけつきが見られたが、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，マンガン，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.