

## 短報

# 魚介類中の総水銀分析法の妥当性確認及び含有量調査

佐藤環・平川博仙・堀就英

魚介類中の総水銀分析法を検討し妥当性確認を行った。前処理操作の時間短縮を目的として、分析に用いる試料量を公定法に示されている5.0 gから1.0 gに変更して分析可能であるか検討した。暫定的規制値付近の濃度について真度及び精度を評価したところ、本分析法は総水銀の試験に要求される十分な再現性で分析することが可能であった。また、本法を用いて県内に流通する魚介類中の総水銀含有量について調査した結果、全ての魚種から総水銀が定量下限を超えて検出されたが、暫定的規制値を超えるものはなかった。

[キーワード：妥当性確認、総水銀、魚介類]

## 1 はじめに

水銀は多量に摂取すると人の健康に影響を及ぼす恐れがあることから、昭和48年7月23日付厚生省（現在の厚生労働省）通知<sup>1)</sup>において魚介類についての水銀の暫定的規制値が定められている（一部の魚類を除き、総水銀：0.4 µg/g、メチル水銀：0.3 µg/g）。また、この通知の中には分析手順も示されており、まず始めに総水銀を分析してその結果が暫定的規制値を超えていた場合に、さらにメチル水銀の分析を行うこととなっている。そのため、第一段階の判定基準となる総水銀の分析法の妥当性確認は極めて重要である。魚介類中の総水銀分析法の妥当性確認についてはすでにいくつかの報告があるが<sup>2) 3)</sup>、分析結果の信頼性確保の観点から基準値判定に用いる分析法の妥当性確認は試験室ごとに実施するように厚生労働省より推奨されている<sup>4)</sup>。

通知<sup>1)</sup>に示されている魚介類中総水銀の分析法は試料約5.0 gを採取した後、湿式酸分解を行う方法である。この方法は特別な機器を必要としない優れた方法といえるが、有機物の分解に時間を要し、迅速性の面に課題があった。前処理操作の時間短縮には、分析に用いる試料量を少なくすることが簡単で有効な方法の一つである。一方で、定量下限値や分析結果のばらつきが大きくなる恐れがある。

そこでまず本研究では、分析に用いる試料量を1.0 gに変更して分析可能か検討した。また、検討した分析法について妥当性確認を行い、当所における試験法として適用可能か検討した。さらに、本法を用いて福岡県に流通する魚介類中の総水銀含有量について調査し若干の知見を得たので報告する。

福岡県保健環境研究所（〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39）

## 2 方法

### 2・1 試料

添加回収試料には、予め水銀が検出されないことを確認したサーモン、陽性試料には予め水銀を含むことを確認したタイ及び認証標準試料タラ魚肉粉末NMIJ CRM 7402-a（総水銀の認証値：0.61 µg/g、メチル水銀の認証値：0.58 µg/g）を用いた。また、含有量調査は県内に流通する魚介類を対象とした。可食部を細切均一化した後、検討及び調査に用いた。

### 2・2 標準物質

水銀標準溶液（100 µg/mL）は富士フィルム和光純薬社製を用いた。この標準溶液を1%硝酸で適宜希釈し、試料への標準物質の添加及び検量線の作成に用いた。

### 2・3 試薬

超純水は超純水製造装置で製造したものを使用した。硝酸（有害金属分析用）、30%過酸化水素水（原子吸光分析用）、硫酸（有害金属分析用）、過マンガン酸カリウム（有害金属分析用）、塩化ヒドロキシルアンモニウム（原子吸光分析用）及び塩化スズ（II）二水和物（有害金属分析用）は富士フィルム和光純薬社製を用いた。

### 2・4 機器

超純水製造装置はMilliQ® Advantage A10（Merck Millipore社製）を用いた。還元水銀分析装置はRA-3320A（日本インスツルメンツ社製）を用いた。測定条件は、測定時間：180秒、硫酸（1+1）添加量：0.6mL、塩化スズ（II）溶液添加量：0.3mLとした。

## 2・5 試験溶液の調製

均一化試料約1.0 gを丸底フラスコに採取した。超純水15 mL、30%過酸化水素水15 mL、硫酸30 mLを順次加え、30分放置した後、ガスバーナーで1時間加熱した。冷却後、過マンガン酸カリウムを1 g加えて加熱し過マンガン酸カリウムの紫色が消失する直前で火を止めた。この過マンガン酸カリウムの添加後加熱する操作を色が消えなくなるまで繰り返した。なお、加熱分解中は丸底フラスコに還流冷却管を取り付け冷却した。分解後の溶液に10%塩化ヒドロキシルアンモニウム溶液を紫色が消失するまで加えた後、超純水を用いて200 mLに定容した。この溶液5 mLを分取したものを試験溶液とした。

## 2・6 定量

検量線用標準溶液は、1%硝酸を用いて0.05–10 ng/mLの範囲で調製した。各標準溶液5 mL中の水銀量及びピーク強度から検量線を作成し絶対検量線法により定量を行った。

## 2・7 定量下限

検量線の最低濃度の標準溶液0.05 ng/mLを10回繰り返し測定し、繰り返し再現性を確認した。

## 2・8 妥当性確認

### 2・8・1 添加回収試験

採取したサーモン試料約1.0 gに試料中濃度として0.4 µg/gとなるように標準溶液を添加後、上記2・5に従い試験溶液を5併行で調製し定量を行った。

### 2・8・2 枝分かれ試験

1日2併行分析を5日間行う枝分かれ試験を実施した。認証標準試料約1.0 gを採取し、上記2・5に従い試験溶液を調製し定量を行った。

### 2・8・3 均一化試料の繰り返し再現性

陽性のタイ試料約1.0 gを採取し、上記2・5に従い試験溶液を5併行で調製し定量を行った。

## 2・9 魚介類中総水銀の含有量調査

本分析法を用いて、県内に流通する魚介類25件の総水銀の含有量について調査した。

## 3 結果及び考察

### 3・1 検量線の妥当性及び選択性の評価

検量線用標準溶液の調製に用いる1%硝酸は試験溶液と溶媒組成が異なる。また、実試料中では分析値が試料マトリックスの影響をうける場合がある。そこで、検量線用標準溶液(0.5–4 ng/mL)を①1%硝酸の他、②空操作の試験溶液、③サーモン試料(添加回収用試料で未添加のもの)の試験溶液を用いてそれぞれ調製して検量線を作成した。各検量線を用いて同一の試験溶液(サーモンの添加回収試料、添加濃度:0.4 µg/g)の定量を行い、測定値を比較した。添加回収試料の試験溶液の調製は4併行で実施した。

各検量線を用いて定量した結果、試験溶液中濃度(ng/mL)は①1.87±0.05、②1.80±0.04、③1.78±0.05となり、ほぼ同等の値であった。このことから、測定溶液の溶媒組成は分析値にほとんど影響しないこと、空操作において妨害ピークがないこと、分析値が試料マトリックスの影響をうけないことを確認した。以降の検討では、検量線用標準溶液の調製には1%硝酸を用いることとした。

### 3・2 検量線及び定量下限

作成した検量線を図1に示した。作成した検量線は0.05–10 ng/mL(水銀量換算で0.25–50 ng)の範囲で良好な直線性を得た。

検量線の最低濃度の標準溶液(0.05 ng/mL、試料中濃度換算で0.01 µg/g)を10回繰り返し測定した結果、ピーク強度の相対標準偏差(RSD)は2.3%となり、高い再現性であった。従って、本分析法の定量下限を検量線の最下点濃度である0.01 µg/gに設定した。

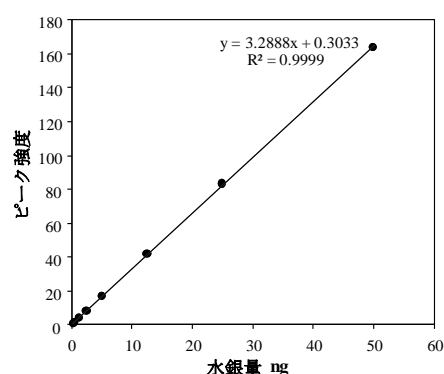


図1 検量線

表1 認証標準試料を用いた枝分かれ試験の分析結果(1日2併行分析を5日間)

認証値 (µg/g)	分析値 (µg/g)					総平均 (µg/g)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目				
0.61±0.02	0.576	0.565	0.634	0.538	0.536	0.570	93	1.8	5.9
	0.582	0.561	0.611	0.558	0.541				

### 3・3 真度および精度

分析法の真度及び精度を評価するため、まず添加回収試験を実施したところ、平均回収率は95% (RSD=0.60%) となりガイドラインの目標値<sup>4)</sup>である80–110% (RSD<10%) を満足した。また、認証標準試料を用いて、2併行分析を5日間行う枝分かかれ試験を実施した結果を表1に示す。得られた分析値を用いて一元配置の分散分析を行い、真度(%)、併行精度(RSD%)及び室内精度(RSD%)を算出した。その結果、真度は93%、併行精度は1.8%、室内精度は5.9%と推定され、ガイドラインの目標値<sup>4)</sup>を十分に満たしていた。認証標準試料の分析結果から、本分析法はメチル水銀を多く含む魚介類中の総水銀を分析可能であると考えられた。

日常の検査においては試料の細切均一化操作が分析結果のばらつきに影響する可能性がある。そこで、実試料の分析精度について、陽性試料を用いて確認した。その結果、分析値は0.102±0.005 µg/g (RSD=5.3%) であり良好な結果が得られ、実試料の均一化操作は適切に行われていると考えられた。以上のことから、本分析法は試験に要求される十分な再現性で分析することが可能であると考えられた。

### 3・4 魚介類中総水銀の含有量調査

県内に流通する魚介類25件の総水銀の含有量について、本分析法を用いて調査した結果を表2に示す。今回調査した県内に流通する魚介類のうち、サーモンにおいては定量下限値未満の検体もあったが、全ての魚種から定量下限を超えて総水銀が検出された(0.01–0.31 µg/g)。サーモン中の総水銀の含有量は他の魚介類と比べ低濃度の傾向であった。一方で、ブリ中の総水銀の含有量は比較的高濃度であったが、暫定的規制値を超えるものはなかった。また、渡邊らの報告<sup>5)</sup>によると、総水銀の含有量に対するメチル水銀の含有量の比は0.9以下である。このことを踏まえると、今回調査した魚介類についてメチル水銀の暫定的規制値も超えるものはないと推測された。

### 4 まとめ

魚介類中の総水銀分析法の検討及び妥当性確認を行った。その結果、本分析法は、試験に要求される十分な再現性で分析可能であった。また、本法を用いて県内に流通する魚介類中総水銀の含有量について調査した結果、全ての魚種から総水銀が検出されたが、暫定的規制値を超えるものはなかった。一方で、国内の調査では暫定的規制値を超過した事例も報告されている<sup>5)</sup>。魚介類由来の水銀の摂取を避けることは難しい。そのため、今後も継続的なモニタリング検査を実施することが県民の食の安全への寄与に繋がると考えられた。

表2 県内に流通する魚介類と総水銀含有量

試料名	総水銀含有量 (µg/g)
アジ-1	0.06
アジ-2	0.23
イカ	0.06
カレイ	0.14
カンパチ-1	0.09
カンパチ-2	0.06
サーモン-1	ND
サーモン-2	0.01
サーモン-3	ND
サーモン-4	0.01
サーモン-5	0.01
サーモン-6	ND
サーモン-7	ND
サーモン-8	ND
サーモン-9	0.02
タイ-1	0.23
タイ-2	0.14
タイ-3	0.09
タイ-4	0.10
タイ-5	0.10
ヒラス-1	0.05
ヒラス-2	0.09
ヒラス-3	0.08
ブリ-1	0.22
ブリ-2	0.31

ND : <0.01 µg/g

### 文献

- 1) 厚生省通知, 環乳第99号, 昭和48年7月23日.
- 2) 橋本論ら, 北海道衛研所報, 65,41-43,2015
- 3) 皆河幹夫, 京都市衛生環境研究所年報, 83,89-90,2017
- 4) 厚生労働省通知, 食安発0926003号, 平成20年9月26日.
- 5) 渡邊敬浩ら, 食品衛生学雑誌, 58, 80-85, 2017.

(英文要旨)

## **Validation study of a method for determination and survey of total mercury in fish**

**Tamaki SATO, Hironori Hirakawa and Tsuguhide HORI**

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,*

*Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

We carried out a validation study of a modified method for the determination of total mercury in fish. We modified the sample weight, from 5.0 g in the official method to 1.0 g in this method, to shorten the processing time of test solution preparation. The method was assessed at a concentration near the temporary regulation value. The accuracy of this method was 93%–95%, with satisfactory repeatability and within-laboratory reproducibility. Thus, this method could be useful for the determination of total mercury in fish. Furthermore, we conducted a content survey among several fish species distributed throughout Fukuoka Prefecture. The total mercury was determined in all fish species, with a concentration range 0.01–0.31 µg/g, which is lower than the regulated value.

[Key words ; validation study, total mercury, fish]