

# 超臨界処理装置を用いた食品中有害金属分析法の検討

## Study of element determination of toxic metals using supercritical water treatment

高橋 祐介 大倉 靖

Yusuke TAKAHASHI, Yasushi OKURA

重金属の多元素一斉分析に供する試料の前処理法として亜臨界水処理装置による試料の分解について検討した。認証標準物質（タラ魚肉粉末）を試料とし、亜臨界水処理の条件検討を実施した結果、300℃、5分間の処理で試料の分解が可能であり、無色透明な溶液を得ることができた。金属元素の一斉分析にはプラズマ誘導結合・質量分析装置（ICP-MS）を使用し、認証標準物質中の多元素一斉分析を実施した。一斉分析を行った10元素のうち、ヒ素、亜鉛、カドミウムの3元素で良好な真度と併行精度が得られた。水銀分析装置を用いた個別法による水銀測定については、「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」に記載の枝分かれ試験による評価を実施し、真度、併行精度、室内精度の目標値を満たした。この結果、測定対象であった8元素のうち、4元素で良好な分析が可能であることが分かった。

キーワード：有害重金属；水銀；ヒ素；カドミウム；亜臨界水処理

Key words : harmful heavy metal ; mercury ; arsenic ; cadmium ; supercritical water

### 1 はじめに

有害重金属の摂取について、国際的な基準作りが進みつつある。現在、国内では、コメ中のカドミウム（Cd）、水産物中の水銀（Hg）について基準値又は暫定的規制値が設定されている<sup>1)2)</sup>。国内における有害重金属の中毒事例として、カドミウム、水銀の他に、銅（Cu）、亜鉛（Zn）、ヒ素（As）、スズ（Sn）、クロム（Cr）、鉛（Pb）によるものが報告されている<sup>3)</sup>。

食品中金属元素分析において、試料中の有機物は分析を妨害するため、硫酸、硝酸等の酸を用いた加熱分解が行われてきた。加熱法としては、開放系の湿式加熱分解や、密閉系のマイクロウェーブ分解等の方法があるが、これらの方法は分解に長時間を要し、また、強い酸化力を持つ酸を使用することから、環境負荷や試験時の危険性を軽減する前処理法が望まれる。

物質は、通常固体、液体、気体のいずれかの状態にあるが、これらのいずれでもない「超臨界状態」と呼ばれる状態が存在する。超臨界状態の物質は、高い流動性と

溶解性、反応性を示すことが知られている。

水の場合は、1気圧において0℃を融点、100℃を沸点とするが、臨界点（374℃、22.1MPa）を超えると、超臨界状態となる（図1）。

超臨界及びその近傍条件下（亜臨界）において、超臨界（亜臨界）水は、強い反応性と酸化力を示す。超臨界（亜臨界）水処理は、食品中の有機物の分解に有効な手段であり、食品残渣の処理に利用されているほか、有機物中の金属元素分析の前処理法としての応用例が報告されている<sup>4)</sup>。

本研究では、食品中の有害重金属類の分析を実施するために、試料の前処理法として亜臨界水処理について検討した。亜臨界水処理による前処理法及びプラズマ誘導結合・質量分析装置（ICP-MS）による多元素一斉分析について、「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」<sup>5)</sup>（以下、「金属ガイドライン」という。）に従い選択性、真度及び併行精度を評価した。

水銀測定においては、亜臨界条件の下でステンレス製分解容器との合金形成が予測されたため、個別試験を実施することとし、試料を直接測定する水銀測定装置を用いた測定法について検討した。水銀測定法は、市販鮮魚を試料とし、金属ガイドラインにおける枝分かれ試験により選択性、真度、併行精度及び室内精度を評価した。

### 2 方法

#### 2.1 試料

As, Cd, Cr, Cu, Pb, Sn, Zn, 鉄（Fe）、ニッケル（Ni）、モリブデン（Mo）を対象とした多元素一斉分析の試料は、独立行政法人産業技術総合研究所の認証標準物質（タラ魚肉粉末）を使用した。

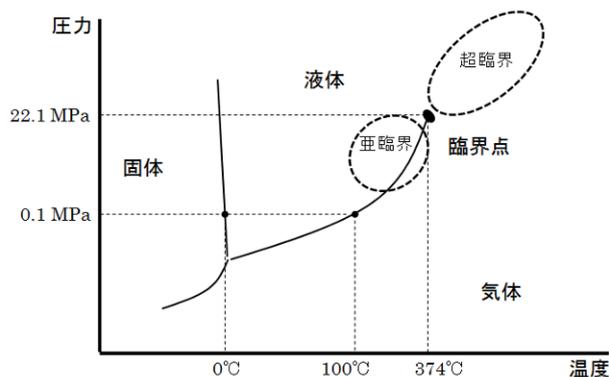


図1 水の三態図

水銀分析の試料は、宮城県沖で採取されたサバ（生鮮品）を用いた。水銀分析試料は、事前の試験により水銀含有量が暫定的規制値（0.4ppm）の1/2未満であることを確認した。

## 2.2 装置

亜臨界水処理装置：トーマス科学器械株式会社 ソルトバスセルシウス 600, ICP-MS：アジレント社 ICP-MS 7700, 水銀測定装置：日本インスツルメンツ社水銀測定装置マーキュリー-MA3000

## 2.3 器具、試薬

### 2.3.1 器具

実験に使用するガラス器具、プラスチック器具類は、過酸化水素-硝酸溶液により酸洗浄したものを使用した。亜臨界水処理を行う分解容器は、スウェーデン社製ステンレス容器を使用した。分解容器は、使用前に30%硝酸に1時間浸し、表面に酸化皮膜を形成し腐食に備えた。水銀測定に使用した試料ポートは、使用前に酸洗浄し、ブランク測定により、水銀の残留がないことを確認した。

### 2.3.2 試薬

試験には、硝酸（関東化学，超高純度），30%過酸化水素水（関東化学，有害金属分析用），システイン（和光純薬，特級）を使用した。多元素一斉分析の標準溶液は、ICP 混合標準溶液（Merck），ヒ素標準溶液（関東化学），スズ標準溶液（関東化学）を使用し、それぞれ1+100 硝酸溶液により希釈した。水銀標準溶液は、水銀標準液（関東化学）を100mg/L システイン含有硝酸溶液により希釈した。

## 2.4 試料液調製方法

### 2.4.1 多元素一斉分析

試料には、認証標準物質（タラ魚肉粉末）を用いた。試料を0.2g 精秤し、内容量約20ml のステンレス製容器（図2）に入れ、30%過酸化水素水を4g 加え、密封した。亜臨界水処理は、300℃、5分間と300℃、10分間の条件で実施した。処理後の試料は、容器ごと水冷し、室温となった後に-20度で冷却し、溶液を凍結させた。十分に冷却した後に容器を開封し、1+100 硝酸を用いて溶液を25ml に定容した。試料は定容後、0.45μm のフィルターにより濾過し、試験液とした。

認証標準物質による試験に併行して、0.2g の認証標準物質に各40ng（試料換算0.2ppm）の混合標準溶液を

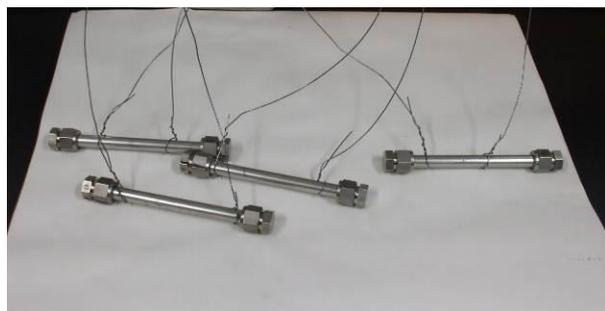


図2 ステンレス製分解容器

添加し、添加回収試験試料として同様の操作を行った。認証標準物質による試験、添加回収試験は、共に5併行で試験を実施した。試験結果は、金属ガイドラインに従い、真度及び併行精度について評価した。

### 2.4.2 水銀分析

試料は、宮城県沖で漁獲されたサバを試験品として用いた。試験品の頭部、内臓、骨を除去し、フードプロセッサにより均質化したものを試料とした。試料は、添加回収試験実施前にブランク試料として分析を行い、含有する総水銀濃度が0.12ppmであり、水産物中総水銀の暫定的基準値（0.4ppm）の1/2未満であることを確認した。0.1g の試料に20ng（試料換算0.2ppm 相当）の水銀標準溶液を添加し、添加回収試験を実施した。添加回収試験は、試験者1名が1回5併行の試験を5日間実施する枝分かれ試験として実施した。試験結果は、金属ガイドラインに従い、真度、併行精度及び室内精度について評価した。

## 2.5 測定条件

認証標準物質の亜臨界分解物を試料とした多元素一斉分析は、As, Cd, Cr, Cu, Pb, Sn, Zn を測定対象元素、イットリウム (Y) を内部標準とし、ICP-MS を用いて測定した。また、分解容器（ステンレス 316）の素材である Fe, Ni, Mo について、参考として溶液中濃度を測定した。測定元素と測定質量数を表1に示す。鮮魚中の総水銀分析は、水銀分析装置を用いて測定した。

## 3 結果及び考察

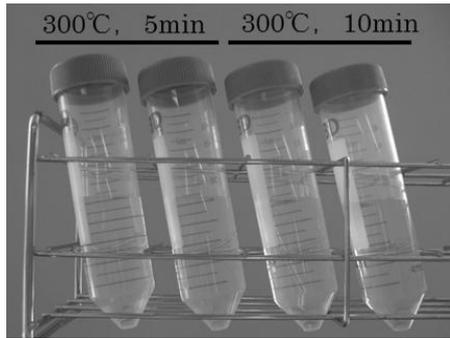
### 3.1 亜臨界水処理条件

試料の亜臨界水処理は、内容量約20ml のステンレス製分解容器を用いて実施した。亜臨界水処理に供する試料及び過酸化水素水の量は、分解容器の耐圧能力を超えず、かつカドミウムの基準値（0.4ppm）の測定が可能な量として、試料0.2g、過酸化水素水4gとした。試料の処理時間を5分間又は10分間とし、処理後の状態を確認したところ、5分間、10分間のいずれも未分解試料

表1 測定元素と測定質量数

元素	測定質量数 (amu)
As	75
Cd	111
Cr	52
Cu	63
Pb	208
Sn	118
Zn	66
Fe	56
Ni	60
Mo	95

図3 亜臨界水処理後試料溶液



の残存が認められず、また、無色透明な溶液が得られたため(図3)、亜臨界水処理の時間は5分間とした。

試料分解後、容器の蓋を開封する際、溶液の激しい発泡が認められ、溶液の回収が困難となる事態が生じた。これは、試料及び過酸化水素水の分解により生じた二酸化炭素と酸素により密閉容器中の気圧が高くなり、開封時の急激な気圧下降により発泡するものと考えられた。発泡による試料溶液のロスを防ぐため、亜臨界水処理後の試料溶液を容器ごと凍結させ、溶液が凍結したまま分解容器の蓋を開封する方法を試したところ、発泡による溶液のロスは見られず、試料溶液を全て回収することができた。このため、分解後に試料の凍結工程を加えることとした(図4)。

3.2 多元素一斉分析

回収した試料溶液を用いて、定容、濾過後にICP-MSによる多元素一斉分析を実施した(表2)。測定結果は、認証標準物質の認証(参考)値又は添加回収試験に対する回収率をもって真度とし、5併行試験の変動係数(CV%)をもって併行精度とした。また、試料を含まない試験液(ブランク)と試料を含む試験液のそれぞれにおいて標準を添加し、回収率を比較する事で選択性の評価を実施した。

測定を実施した10元素で、検量線(0~400mg/kg)の相関係数は、0.999以上の値を示し、測定範囲内にて良好な直線性を示すことが確認された。

表2 ICP-MS分析結果(10元素)

測定元素	定量下限 (mg/kg)	認証標準物質 認証(参考)値 (mg/kg)	対認証値比(n=5)		添加回収率(n=5)	
			真度 (%)	併行精度 (CV%)	真度 (%)	併行精度 (CV%)
As	0.560	33	108	5.1	100	9.1
Cd	0.450	(0.0081)				
Cu	0.924	1.1	136	12	66	120
Pb	0.283	(0.036)				
Sn	0.423	認証値無し			61	14
Zn	0.486	19	99	3.3		
Cr	0.623	0.65	>5000	27		
Fe	0.536	11.2	>10000	26		
Ni	0.074	0.38	>10000	34		
Mo	0.354	(0.01)	>100000	22		
目標値	-	-	80~110	10>	80~110	10>

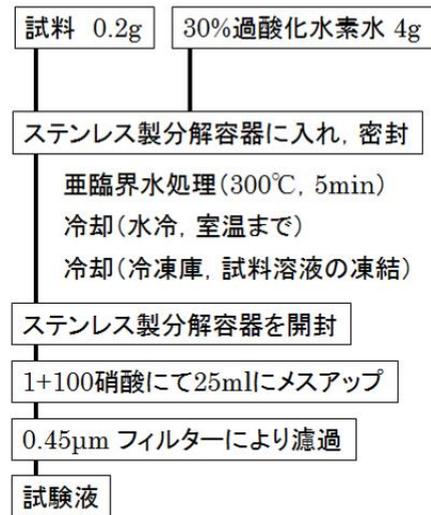


図4 操作フロー

測定結果が金属ガイドラインにおける真度の目標値(80~110%)、併行精度の目標値(<10%)を満たした元素は、As, Cd, Znの3元素であった。これらの元素のうち、Cdは、認証標準物質を含まない試験液と、認証標準物質を含む試験液との差が10%未満であり、良好な選択性を示した(表3)。測定した元素のうち、Crは、測定値が認証値の約50倍となっていた。分解容器として用いたステンレス管(SUS316)は、構成成分としてCr, Fe, Ni, Moを含むが、参考として測定したFe, Ni, Moも認証値を大きく超える値を示したため、分解容器構成成分の溶出によるものと考えられた。また、Pb, Snは、認証標準物質の認証値に対する分析値の値又は回収率が低値であり、操作上のロス又は容器材質との合金形成があると考えられた。その他、Cuは、認証値を36%上回る測定値となった。

分解容器に対し、硝酸により形成した酸化皮膜は、高温高压条件下においても安定であるが、試料中に塩素(Cl)が存在すると酸化皮膜を浸食する。認証標準物質は、天然の魚類筋肉組織に由来するため、試料由来の塩化物(NaCl等)により容器表面に形成した酸化皮膜を浸食し、金属元素の測定値が増加又は減少したものと考えられる。また、測定値が認証値(参考値)、添加量の80~110%の目標値を満たさなかった元素(Pb, Sn, Cu, Cr, Fe, Ni及びMo)は、試料中金属元素のロス、分解容器素材の溶出が分解容器ごとにはばらついたため併行精度(CV%)が10%を超える結果となった。

表3 カドミウム選択性の評価

元素名	試料量	標準添加量	Cd濃度	Cd回収量	回収率	ブランク	ブランク+0.2ppm添加	認証標準物質	標準物質+0.2ppm添加
Cd	(g)	(ng)	(ng/ml)	(ng)	(%)	0	40	0.2006	0.2003
	0	0	N.D.	37		0	1.49	N.D.	1.63
								N.D.	41
								93	102

表 4 水銀分析法の妥当性評価

	試料 (サバ)	ガイドライン目標値
暫定的規制値 (総水銀)	0.4ppm	-
試料量	0.1g	-
水銀含有量 (ブランク値)	0.13ppm	基準値の1/2以下
標準添加量	20ng (試料換算0.2ppm)	基準値の1/2
真度 (平均回収率%)	100	80~110
併行精度 (CV%) n=5	2.7	10>
室内精度 (CV%) n=5, 5日間	4.7	15>

### 3.3 水銀分析

ステンレス製分解容器による分解では、水銀が容器構成成分と合金を形成し、正確な測定が困難であると予想されたため、水銀の分析は個別試験として実施することとした。日本インスツルメンツ社の水銀測定装置は、前処理や添加剤が不要であり、均質化した試料を直接測定可能である。

分析者1名による1回5併行、5日間の日程による枝分かれ試験を実施し、真度、併行精度、室内精度について評価した(表4)。総水銀の測定は、真度100%、併行精度2.7%、室内精度4.7%であり、金属ガイドラインにおける目標値を満たした。また、水銀測定装置による分析では、ブランク+水銀溶液と、試料+水銀溶液との間でシグナル強度の変化は10%未満であり、水銀測定の選択性が保たれていることを確認した(表5)。

## 4 まとめ

金属元素測定のための前処理法として亜臨界水処理について検討を行い、試料の分解が短時間でできることを確認した。

亜臨界水処理、ICP-MSによる多元素一斉分析を行った元素では、測定した10元素のうちAs, Cd, Znの3元素について、真度、併行精度が金属ガイドラインの目標値を満たした。

水銀分析においては、水銀測定装置を用いることにより、

表 5 水銀選択性の評価

元素名:	Hg	ブランク	ブランク +添加	試料	試料 +添加
試料量 (g)		0	0	0.1	0.1
標準添加量 (ng)		0	20	0	20
Hg (ng/ml)	8.1	197	197	134	331
総Hg (ng)	0.8	19.7	19.7	13.4	33.1
回収量 (ng)			18.9		19.9
回収率 (%)			95		100

均質化した試料の分析が短時間で実施できた。枝分かれ試験による試験法の妥当性評価を実施したところ、選択性、真度、併行精度、室内精度は、金属ガイドラインの目標値を満たした。本研究では、As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Sn, Znの8元素を対象とした分析法の開発を目的としていたが、このうちAs, Cd, Hg, Znの4元素で良好な真度と精度が得られた。

## 謝辞

本研究を実施するにあたり、亜臨界水処理について、助言と指導をいただいた宮城県産業技術総合センター、今野政憲総括研究員に感謝いたします。また、ICP-MSの使用について、助言と指導をいただいた大気環境部、小泉俊一技術主査に感謝いたします。

## 参考文献

- 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について、食安発0408第2号、平成22年4月8日
- 魚介類の水銀の暫定的規制値について、環乳第99号、昭和48年7月23日
- HACCP 関連情報データベース、[http://www.shokusan.or.jp/haccp/hazardous/2\\_8\\_ziyukin.html](http://www.shokusan.or.jp/haccp/hazardous/2_8_ziyukin.html)
- 有機材料中の重金属分析技術の開発、宮城県産業技術総合センター研究報告No.3,2005
- 食品中の金属試験法に関する妥当性評価ガイドラインについて、食安発第0926003号、平成20年9月26日