

[ノート]

玄米中のカドミウム定量における簡易塩酸抽出法の妥当性評価

赤松 成基* 林 幸子 小林 直子 三橋 隆夫

Validation of a Simple and Rapid Extraction with Hydrochloric Acid Solution for the Determination of Cadmium in Brown Rice

Shigeki AKAMATSU*, Sachiko HAYASHI, Naoko KOBAYASHI
and Takao MITSUHASHI*Life Science Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan*

An atomic absorption spectrometry (AAS) method was described for determination of cadmium in brown rice using an extraction with hydrochloric acid (HCl). Compared with an official method, the sample preparation was simple, high throughput, safe and low cost. The method had a good linearity ($r^2 > 0.999$) in the concentration range 0-0.4 $\mu\text{g/mL}$. The recovery was 91.4 %, and the relative standard deviation (RSD) for intraday precision and interday precision were 4.6 % and 10.5 %, respectively. The proposed method met criteria for metal analysis in food (Notification by Ministry of Health and Welfare, Japan).

The method can be applied to routine screening test for monitoring the cadmium content in brown rice.

I はじめに

カドミウムは、鉱物中や土壌中など、天然に広く存在する重金属であり、鉱山開発や精錬などによって環境中へ排出され、土壌や河川が汚染されることがある。カドミウムは、米、野菜、果実、肉、魚など多くの食品に含まれているが、我が国においては米から摂取する割合が最も多く、日本人のカドミウムの1日摂取量の約4割は米に由来するものと推定されている¹⁾。

米中のカドミウム濃度については食品衛生法において基準値が設定されており、従来は「1.0 mg/kg未満」であったが、平成22年4月に国際基準 (CODEX規格) と同様の「0.4 mg/kg以下」に改正された(平成23年2月施行)²⁾。

兵庫県においては、平成22年2月に学校給食用の米から0.79 mg/kgが検出されており、食の安全・安心を確保する上で、米中のカドミウム濃度の監視は重要である。

玄米中カドミウム試験の公定法³⁾は、硫酸-硝酸法による湿式灰化後、キレート剤としてジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC)、抽出溶媒にメチルイソブチルケトン (MIBK) を用いてカドミウムをキレート錯体としてフレイム原子吸光度計 (AAS) で定量する方法となっている (Fig. 1(A))。しかし、加熱分解時の強酸や有機溶媒使用による試験者の健康被害のほか、操作が煩雑かつ複雑であること等の問題がある。

一方、中島らは前処理が簡易な塩酸抽出法によるStat(補助バーナースリットセル) 装着型AAS定量分析法 (以下、中島法) を報告している⁴⁾。この方法では、特殊な装置を用いることで高感度を実現しているが、一般的なフレイムAAS装置において、基準値付近の低濃度では適用に問題があると考えられる。このため本研究では、汎用フレイムAAS分析のために、塩酸抽出法の改良を検

健康科学部

*別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29
兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センター
健康科学部 赤松 成基

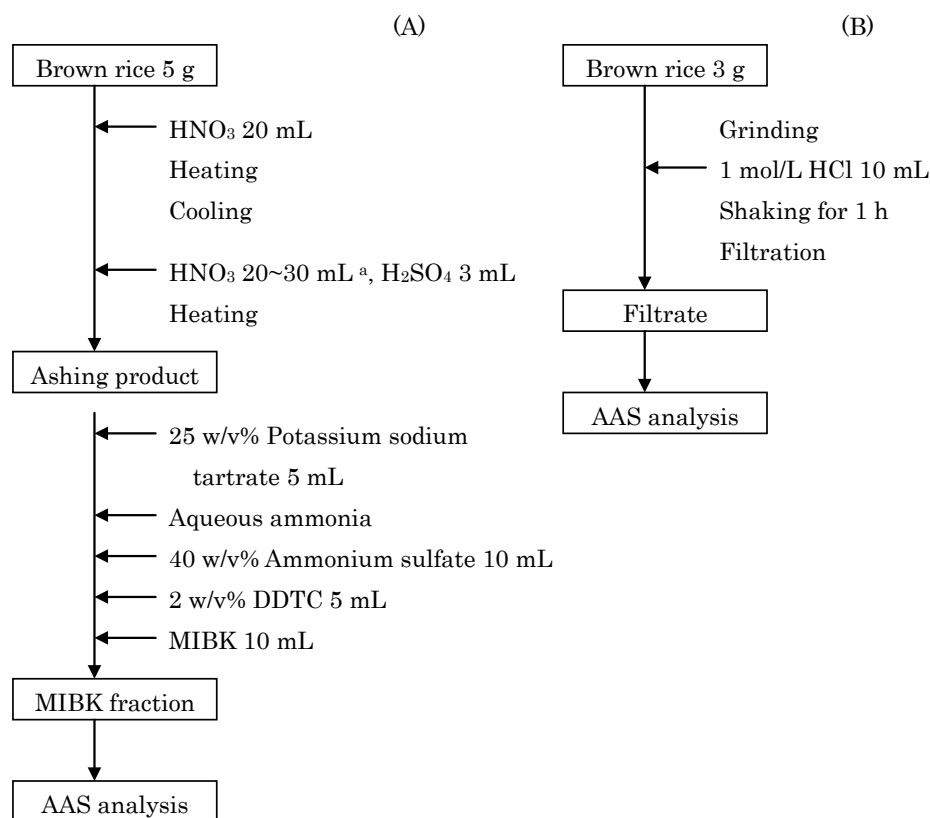


Fig.1 Sample preparation for determination of cadmium in brown rice using the official method (A) and the proposed method (B). A lower-case letter (a) indicates that each 2 mL of HNO₃ is added until transparent.

討し、測定値等について公定法と比較した。また、「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」(以下、ガイドライン)⁵⁾により改良法の妥当性を評価した。さらに、本法を県内産の玄米中のカドミウム検査(行政検査)に用い、適用性を確認した。

II 材料と方法

1. 試料

1.1 試験法の検討用米粉

当所が毎年実施している食品衛生外部精度管理調査の際に、財団法人食品薬品安全センター秦野研究所から配布された米粉試料(2010,2011年度の2検体)を用いた。カドミウム含有量は、調査参加機関(2010年, 113機関;2011年, 107機関)の定量平均値(Zスコア処理後)とした。

1.2 県内産の玄米

平成23年10月から11月に県内健康福祉事務所が収去した新米35検体を用いた。

2. 試薬

カドミウム標準品は、和光純薬工業(株)製100 mg/L標準

液を用いた。硝酸、硫酸およびアンモニア水は、和光純薬工業(株)製有害金属測定用を用いた。DDTC、硫酸アンモニウムおよびMIBKは和光純薬工業(株)製、酒石酸カリウムナトリウムは関東化学(株)製の原子吸光分析用を用いた。なお、塩酸抽出用の1 mol/L塩酸は和光純薬工業(株)製容量分析用を用いた。

3. 装置

フレイムAASは、島津製作所(株)製AA-6200を用いた。公定法の湿式灰化には、VIDREX(株)製の電気灰化装置VIDREX27500を用いた。また、玄米の粉碎に使用したミキサーは、岩谷産業(株)製IFM-700Gで、振とう機は、タイテック(株)製SR-II、遠心分離機は、久保田商事(株)製KUBOTA8700を用いた。

4. フレイムAASの測定条件

使用ガス：可燃性ガス；アセチレン(1.8 L/min)
支燃性ガス；圧縮空気(10 L/min)
ランプ：中空陰極ランプ(10 mA)
測定波長：228.8 nm
バックグラウンド補正：重水素ランプ

5. 試験溶液の調製

5.1 公定法 (硫硝酸法)

Fig. 1(A) にフローチャートを示した. 常法³⁾に準じて硫酸-硝酸で加熱分解し, 得られた分解液に水を加えて全量を50 mLとしたものを試料溶液とした.

試料溶液50 mLを分液漏斗にとり, 25 % (w/v) 酒石酸ナトリウムカリウム溶液5 mLを加え, アンモニア水で中和した. これに40 % (w/v) 硫酸アンモニウム溶液10 mLを加えた後, 水で100 mLとした. 続いて2 % (w/v) DDTC溶液5 mLを加えて静置し, MIBK 10 mLを加えて激しく振とう後, MIBK層を分取したものを試験溶液とした.

5.2 塩酸抽出法

あらかじめミキサーを用いて粉碎した試料3.0 gを精密に量りとり, 1 mol/L塩酸10 mLを加え, 振とう器を用いて1時間抽出した. 3000 rpmで5分間遠心分離し, 得られた上清をろ紙 (5A, Advantec) でろ過したものを試験溶液とした (Fig. 1(B)).

6. 検量線

6.1 公定法

カドミウム標準液を1 %硝酸で希釈し, 0~0.4 µg/mLになるように検量線用標準液を調製した (50 mL). この液を試料溶液と同様にDDTC-MIBK抽出を行い, 各MIBK層のフレイムAAS測定で得られた吸光度を基に検量線を作成した.

6.2 塩酸抽出法

検量線用標準溶液は, カドミウム標準液を1 mol/L塩酸で希釈して0~0.4 µg/mLになるよう調製し, 各液の測定で得られた吸光度を基に検量線を作成した.

7. 妥当性評価

ガイドライン⁵⁾に従い以下の項目について塩酸抽出法の妥当性を確認した.

7.1 選択性

カドミウムを含有しないブランク試料を用いて定量の妨害がないことを確認した.

7.2 真度および精度

枝分かれ実験計画により, 分析者1名がカドミウム含有調査試料を1日2回, 5日間測定した. 真度 (回収率) は, 得られた分析値と調査参加機関の平均値の割合から求めた. また精度は, 一元配置の分散分析により併行精度および室内精度を算出した.

III 結果および考察

1. 抽出条件の検討

中島法では, 2 gの試料に対して1 mol/L塩酸20 gで抽出を行っているため, 試験溶液は試料として約0.1 g/mLの濃度となる. この調製法を適用すると, 当所で使用している汎用AASでは, 定量限界 (10σ) がカドミウム濃度で0.016 µg/mL (玄米中カドミウム濃度で0.16 mg/kg相当) であり, 食品衛生法の基準値 (0.4 mg/kg) を考慮すると感度は不十分である. そこで, 高感度分析を可能にするため, 濃縮等の操作を追加せずに, 試料濃度を高めることを検討した.

1 mol/L塩酸の用量は10 mLに固定し, 試料量を1 g, 2 g, 3 gと増量して抽出し, 回収率を求めたところ (n=2), すべてがガイドラインの示す80~110 %の回収率を満足した. ただし, 試料量が3 gを超えると, 抽出液の粘性が増し, ろ紙ろ過が困難となった. このため試料量として3 gを選択した.

2. 検量線

公定法及び塩酸抽出法において, 0~0.4 µg/mLの濃度範囲の検量線用標準溶液を測定したところ, 検量線は直線性を示し, 両法ともに相関係数 (r) は0.999以上であった.

Table 1. Comparison of cadmium measurements between the proposed method and official method

Sample	Cadmium content (mg/kg) ^{a)}		
	Quality assessment ^{b)}	Official method	Proposed method
The 2010 survey sample	0.377 ± 0.030 (n=113)	0.351 ± 0.005 (n=5)	0.333 ± 0.010 (n=6)
The 2011 survey sample	0.428 ± 0.039 (n=107)	0.436 ± 0.010 (n=7)	0.391 ± 0.039 (n=10)

a) The mean ± SD.

b) The mean values among the participating testing institutions.

Table 2. Accuracy and precision of the proposed method

	Accuracy (%)	Intraday precision (RSD%)	Interday precision (RSD%)
The 2011 sample	91.4 ^{a)}	4.6	10.5
Criteria ^{b)}	80~110	< 10	< 15

a) The mean value (n=10)

b) Content: 0.1 < ~ ≤ 1

3. 塩酸抽出法と公定法との比較

Table 1に、本分析法と公定法による精度管理用試料の測定値を示した。本分析法による測定値は、公定法よりも値が5~10%程度低くなる傾向が見られた。この原因として、公定法の湿式分解法に比べ穏和な条件であることによる抽出効率の低下のほか、マトリックス成分による干渉が影響していると考えられた。

なお所要時間で比較すると、本分析法では、試験溶液の調製時間は約90分と公定法の1/5程度であり、定量操作は大きく簡素化された。

4. 塩酸抽出法の妥当性評価

4.1 選択性

塩酸抽出法によりブランク試料を測定したところ、カドミウム測定波長における吸光度はほぼ0であり、マトリックス中の他の金属等による妨害は認められなかった。

4.2 真度および精度

平成23年度精度管理用試料を用いて、枝分かれ実験を実施し、得られた真度、併行精度、室内精度をTable 2に示した。すべてのパラメータで基準(真度, 80~110%; 併行精度, 10%未満; 室内精度, 15%未満)を満たしており、本分析法は公定法と同等と判断できた。

5. 行政検査への適用

本分析法を用いて県内産玄米35検体を測定した結果をFig. 2に示した。カドミウム濃度は0.05 mg/kg未満が最も多く、0.2 mg/kg以上が2検体あったが、基準値の0.4 mg/kgを超えるものはなかった。なお0.2 mg/kg以上の2検体について、本分析法と公定法での測定値を比較した。その結果、本分析法ではそれぞれ0.27, 0.28 mg/kg, また公定法では0.30, 0.31 mg/kgと本分析法の測定値が若干低いもののスクリーニングには有効であることが確認された。

IV 結論

カドミウムは自然環境中に存在し、一次産物を汚染するため、農水産物の生産段階でできるだけ汚染を防止す

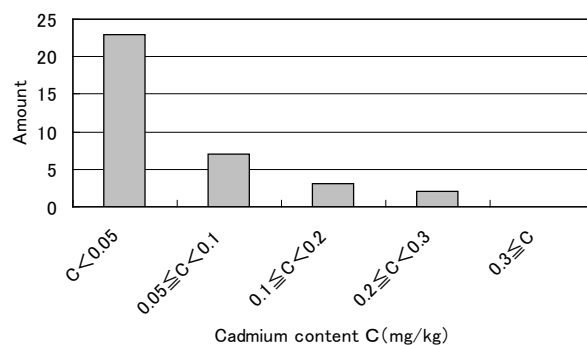


Fig. 2 The distribution of cadmium content in brown rice from Hyogo Prefecture (2011). The total amount of sample is 35. The cadmium content was determined by the proposed method.

ることが望まれる。一方、日本人の摂取実態は耐容週間摂取量の7 μg/kg体重/週よりも低いレベルであり、食品からのカドミウム摂取が健康に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

しかし、一部カドミウム濃度が高い食品が存在することも事実であり、米についても土壌浄化対策や吸収抑制・移行抑制対策が研究されている。このため、簡易かつ迅速なカドミウム分析は必要であり、ガイドラインに適応した本分析法は有用であると考えられる。

兵庫県は毎年、収穫された新米のカドミウム測定を実施しており、流通上の観点からもできるだけ早く測定結果を提出することが求められる。本分析法をまずスクリーニング法として利用し、基準値付近の検体については再度公定法で行う2段階検査体制とすることで、迅速な食の安全・安心の確保に貢献できると考えられる。

謝辞

本調査の遂行にあたり、協力していただきました健康福祉部生活消費局生活衛生課、各健康福祉事務所の関係者の方々に深謝いたします。

文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部:「食品に含まれるカドミウム」に関するQ&A. 平成22年7月改訂, <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2003/12/h1209-1c.html>
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品,添加物等の規格基準の一部を改正する件について. 平成22年4月8日, 食安発0408第2号
- 3) 米谷民雄:食品衛生検査指針2005. p.384-386, 社団法人日本食品衛生協会, 東京 (2005)

- 4) 中島秀治：1molL⁻¹塩酸抽出・Stat装着型原子吸光分析法による玄米中カドミウムのプロセス定量分析. 日本土壤肥科学雑誌, **73**, 449-452 (2002)
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: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0926001号