

〔資料〕

## 魚介類中の総水銀分析法の妥当性確認

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 中田 宏伸・山森 泰大・竹田 正美

### 〔和文要旨〕

当センターで採用している魚介類中の総水銀分析法は操作が煩雑かつ時間を要するという問題点があったため、環境省の「水銀分析マニュアル」(平成16年3月)を参考に分析法を検討し妥当性を評価した。定量下限値の向上・精度の安定のため、試料量を増やし、分解に必要な硝酸・過塩素酸(1+1)量の検討を行った。検討した方法で添加回収試験及び「タラ魚肉粉末認証標準物質」を用いた妥当性の評価を行ったところ、全ての項目で「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」の目標値を満たしていた。今回検討した検査法は操作が簡便で所要時間が短く、かつ魚介類の総水銀の測定に用いる試験として十分な妥当性を有することが確認された。

キーワード：総水銀, 魚介類, 妥当性確認

### 1 はじめに

魚介類中の水銀の規制値については、「魚介類の水銀の暫定的規制値について」(昭和48年7月23日付け環乳第99号)<sup>1)</sup>により、暫定的規制値が総水銀0.4ppm、メチル水銀0.3ppmと定められている。当センターでは魚介類中の総水銀分析法として同通知で示された方法(以下、「通知法」という。)を標準作業書として定めているが、試験溶液の調製における操作が煩雑かつ時間を要するという問題点があった。そこで、環境省の「水銀分析マニュアル」(平成16年3月)<sup>2)</sup>(以下、「水銀分析マニュアル」という。)を参考に試験溶液の調製法を検討し、検討した総水銀分析法の妥当性を「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>3)</sup>(以下、「ガイドライン」という)に基づいて評価したので、その結果を報告する。

### 2 材料と方法

#### 2.1 試料

金沢市内で購入したカレイ及び国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センターより入手した「タ

ラ魚肉粉末認証標準物質 NMIJ CRM 7402-a」(以下、「認証標準物質」という。)を試料とした。

カレイは可食部を分取し、細切均一化したものを使用した。

#### 2.2 試薬

水銀標準液(Hgとして1000mg/L)は富士フィルム和光純薬(株)製を用いた。硫酸、硝酸、過塩素酸は有害金属測定用、りん酸トリブチルは特級、5%過マンガン酸カリウム溶液は排水試験用、0.1N水酸化ナトリウム水溶液は容量分析用(全て富士フィルム和光純薬(株)製)を用いた。塩化すず(Ⅱ)溶液は水銀分析用(関東化学(株)製)を用いた。精製水は超純水(MilliQ-水)を用いた。

水銀標準液を0.05mol/L硫酸で段階希釈し、添加用標準液(1.0μg/mL)を作成した。

#### 2.3 装置

ホットプレート：(株)東洋製作所製HTP452AA

水銀測定装置：平沼産業(株)製HG-150P

#### 2.4 試験溶液の調製

試験溶液の調製は水銀分析マニュアルに準じて湿式灰化法により行った。試料1.0gを100mL短形メスフラスコにはかりとり、精製水1mL、硝酸・過塩素酸(1+1)

Validation of Analytical Method for Total Mercury in Fish and Shellfish. by NAKADA Hironobu, YAMAMORI Yasuhiro and TAKEDA Masami (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Total Mercury, Fish and Shellfish, Validation Study

3mL及び硫酸5mLを加え、200～230℃のホットプレート上で、30分間加熱分解し、冷却後精製水で100mLに定容したものを試験溶液とした。

### 2・5 総水銀の測定

試験溶液50mLを100mL比色管に分取し、塩化すず(Ⅱ)溶液10mL、消泡剤としてりん酸トリブチル1～2滴を加え、ただちに水銀測定装置で測定した。

検量線用標準液(Hg添加量5～200ng)は、100mL比色管に硫酸(1+19)50mLに分取し、添加用標準液(1.0μg/mL)を正確に加え調製した。

### 2・6 妥当性評価

妥当性評価には、本県で過去に総水銀検査の対象としていた魚種であるカレイを用いることとした。試料1.0gに対し、添加用標準液(1.0μg/mL)を0.2mL(0.2μg/g、暫定的規制値の1/2の総水銀量に相当)添加し、分析者3名が1日2併行、2日間の枝分かれ試験を行った。添加試料の総水銀量から、あらかじめ測定した試料由来の総水銀量を差し引いて求めた回収率より真度、併行精度及び室内精度を算出した。

また、認証標準物質(認証値0.61μg/g)1.0gを秤量し、5回繰り返し測定して認証値に対する回収率から真度及び併行精度の評価を行った。

## 3 結果と考察

### 3・1 試験溶液の調製法の検討

水銀分析マニュアルで示された方法は還流冷却器が不要かつ通知法に比べ加熱時間が短く簡便であると思われた。しかし、試料採取時の操作性や試料量が少量であることによる精度の低下、定量下限値の上昇など懸念される事項もあったため、試験溶液の調製法について検討を行った。

#### (1) 試料分解容器の検討

水銀分析マニュアルでは試料分解容器として50mL容パイレックス製肉厚メスフラスコ(全高150mm、口内径13mm)を用いているが、試料採取時の操作性が悪かったため、全高が短く、口内径の大きい100mL短形メスフラスコ(全高137mm、口内径19mm)を用いることを検討した。しかし、100mL短形メスフラスコは50mL容パイレックス製肉厚メスフラスコに比較し全高が短く、加熱中に水銀の揮散が懸念されたことから、精製水と試薬のみを用いて次の方法により試験溶液を調製し、添加回収試験を行い、水銀の揮散が生じていないか確認した。100mL短形メスフラスコに精製水2mL、添加用標準液100μL(総水銀として100ng)、硝酸・過塩素酸(1+1)2mL及び硫酸5mLを加え、200～230℃のホットプレート上で、30分間加熱分解し、冷却後精製水で100mLに定容したものを試験溶液とし、試験溶液のうち50mL

を分取し、総水銀を測定した。測定の結果総水銀の値は104.4ng、回収率104%で、水銀の揮散は生じていないことが確認できた。よって、試料の分解容器は50mL容パイレックス製肉厚メスフラスコ(全高150mm、口内径13mm)に代えて操作性が優れている100mL短形メスフラスコ(全高137mm、口内径19mm)を使用することとした。

#### (2) 試料量、酸添加量の検討

通知法では試料量5gであるが水銀分析マニュアルでは試料量が0.5g以下(湿重量)と少量であり、水銀分析マニュアルは通知法に比較して精度の低下及び定量下限値への影響が懸念された。そこで試料量を水銀分析マニュアルの最大量の2倍である1.0gに設定することとした。また、試料量の増により酸分解が十分に行われなことが懸念されたため、適切な酸分解条件の検討を行った。

水銀分析マニュアルでは酸分解にあたり硝酸・過塩素酸(1+1)を2mL添加することとしていることから、まずはこの酸量で試料が十分に酸分解されているか確認し、不十分な場合には添加する硝酸・過塩素酸(1+1)を増やすこととした。酸分解の終点の確認及び酸の増量は熊谷ら<sup>4)</sup>の方法を参考に実施した。加熱分解液に5%過マンガン酸カリウム1mLを加え、紫色が1分以上持続する点を分解終点とした。未分解の場合にはさらに硝酸・過塩素酸(1+1)を1mL加え、20分間加熱分解を行った。カレイ1.0gを試料として試験を実施したところ、硝酸・過塩素酸(1+1)2mLでは分解が不十分であったため、さらに硝酸・過塩素酸(1+1)を1mL追加して20分間加熱分解を行ったところ、酸分解が完了したことを確認できた。以上より、カレイを用いて試料量1.0gで妥当性評価を行う際は硝酸・過塩素酸(1+1)を3mL加えることとした。

また、異なる魚種を測定する場合には、この方法により添加する硝酸・過塩素酸(1+1)の量を検討することで、最適な酸分解条件を設定することが可能である。

### 3・2 総水銀の測定

水銀測定装置の測定時、試験溶液に通気する際に泡立ちが強く容器の上部に液が達することがあった。このため、肥料等試験法<sup>5)</sup>を参考に消泡剤としてりん酸トリブチルを数滴加えたところ泡立ちを抑制できた。よって、水銀測定装置で測定する際は、試験溶液及び検量線用水銀標準溶液にりん酸トリブチル1～2滴を加えることとした。

作成した検量線を図1に示した。5～200ngの範囲で良好な直線性を得た。本分析法の定量下限を検量線の最も低い濃度である0.01μg/g(水銀量5ng)とした。

### 3・3 妥当性評価

妥当性評価を実施するにあたり、ガイドラインに従っ

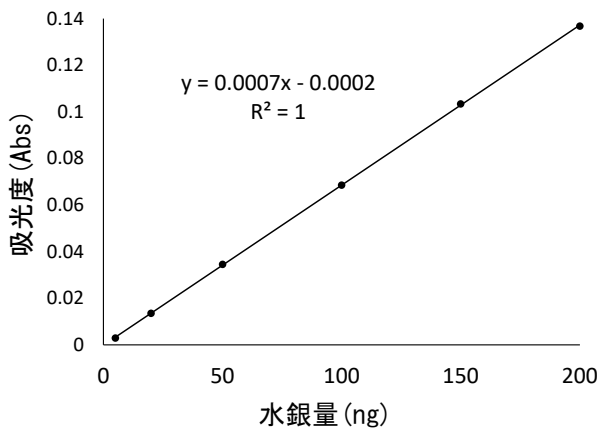


図1 検量線

て、添加回収試験に用いるブランク試料中の水銀濃度が基準値の1/2以下であるかどうかを確認した。前項までで検討した総水銀分析法で今回使用したカレイ中の水銀濃度を測定した結果、0.0549~0.0649 $\mu\text{g/g}$  (6 試行)、平均値0.0607 $\mu\text{g/g}$ であり、暫定基準値 (0.4 $\mu\text{g/g}$ ) の1/2以下であったため、ブランク試料として用いた。

添加回収試験の結果を表 1 に示す。全ての項目でガイドラインにある目標値を満たした。

表 1 妥当性評価結果

試料名	真度 (%)	精度 (RSD%)	
		併行精度	室内精度
カレイ	97.1	1.20	3.65
目標値 (添加濃度: 0.1 <~ ≤ 1 $\mu\text{g/g}$ )	80~110	10 >	15 >

認証標準物質を用いて測定した結果を表 2 に示した。こちらの評価法においても真度及び併行精度についてガイドラインの目標値を満たしていることが確認できた。

添加回収試験による妥当性評価及び認証標準物質の繰り返し測定による評価を行ったところ、どちらも良好な結果が得られ、本法は魚介類の総水銀の測定に用いる試験として十分な妥当性を有することが確認された。また、

表 2 認証標準物質の測定結果

試行 No.	測定結果 ( $\mu\text{g/g}$ )	回収率 (%)
1	0.50	82.0
2	0.45	73.8
3	0.51	83.6
4	0.47	77.0
5	0.52	85.2
真度 (%)	80.3	
併行精度 (RSD%)	5.9	

認証標準物質：タラ魚肉粉末 (NMIJ CRM 7402-a)

認証値：0.61 $\mu\text{g/g}$  (不確かさ 0.02 $\mu\text{g/g}$ )

入手先：国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター

本法は従来の通知法に比べ操作が簡便であり所要時間が短く、多検体の処理も容易であることから、魚介類中の総水銀分析として有用であると考えられる。

#### 4 まとめ

魚介類中の総水銀の分析法の検討及び妥当性確認を行った。

(1) 「水銀分析マニュアル」の方法を参考とした方法を検討し、試料分解容器として100mL 短形メスフラスコを用いることで試料採取時の操作性が向上した。

精度の上昇、定量下限値への影響の低減のため、試料量を1.0gへと増やし、酸分解に必要な酸の量を予め確認する試験を行うことにより、魚種等に応じて最適な酸分解条件を設定可能とした。

(2) 検討した方法について添加回収試験による妥当性評価及び認証標準物質の繰り返し測定による評価を行ったところ、どちらも良好な結果が得られ、本法は魚介類の総水銀の測定に用いる試験として十分な妥当性を有することが確認された。

(3) 本法は従来の通知法に比べ操作が簡便かつ所要時間が短く、魚介類中の総水銀分析として有用と考えられる。

#### 文 献

- 1) 厚生省環境衛生局長通知環乳第99号：魚介類の水銀の暫定的規制値について、昭和48年7月23日
- 2) 環境省、水銀分析マニュアル、平成16年3月
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知食安発第0926003号：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
- 4) 熊谷洋、佐伯清子：魚介類総水銀定量における迅速湿式灰化法、食品衛生学雑誌、17、200-203 (1976)
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター、肥料等試験法 (2023)