

1 M 硝酸抽出・ICP 発光分析による農作物中重金属等多成分の簡易同時分析法

八槇 敦

キーワード：農作物, 1 M硝酸, 抽出分析, 多成分同時分析, ICP 発光分析

I 結 言

これまで国内では食品衛生法において、玄米はカドミウムを 1mg/kg (精米では 0.9mg/kg) 以上含んではならないと定められてきた。一方、国際食品規格委員会 (コーデックス委員会) では、2005 及び 2006 年に精米は 0.4mg/kg 以下とするなどの穀物や野菜に関するカドミウムの基準値が設定された。これを受けて、2010 年 4 月に精米及び玄米の国内基準値が 0.4mg/kg 以下に改定され、野菜などの基準値の策定についても検討が進められている。

このような状況から、安全な農産物を供給するために、生産者はカドミウムの自主検査を迫られている。玄米中のカドミウムは、公定法では試料を強酸で加熱分解した後定量すると定められている。しかし、酸分解は、専用の装置や長時間の高温加熱を要するため、多点数の一括処理が困難である。米の出荷前検査などを広く進めていく上では、基準値を超過する恐れがあり公定法により精確に分析しなければならない試料を選別 (スクリーニング) するために、迅速に多点数を処理できる簡易な分析法の開発が望まれている。このため、作物体粉碎物を 1M 塩酸や 0.1M 硝酸で振とう抽出し、カドミウムを定量する方法が開発されている (中島, 2000 ; 中島, 2004 ; 中島・市川, 2008 ; 伊藤ら, 2010)。

一方、高周波誘導結合プラズマ (ICP) 発光分析装置は、原子吸光度計に比べて、高感度で分析可能元素数が多く、検量線が直線性を保つ濃度範囲が非常に広い (山崎, 1985)。さらに、多成分の同時分析が可能なることから、現在では元素分析において広く利用されている。土壌や作物体試料に関しても、カドミウムなどの重金属を含めた

各種成分の同時分析に ICP 発光分析を適用した事例が報告されている (小山・須藤, 1987 ; 池辺ら, 1990 ; 岩本ら, 後藤ら, 1991 ; 1992)。

食品中の多成分の含有実態を明らかにすることは、各種成分の相互関係の解明や栄養性あるいは有害性の評価の促進に有効であるといわれている (池辺ら, 1990)。また、農作物における養分過剰症あるいは欠乏症の判定においては、養分吸収の拮抗作用を確認するためにも、多成分の含量比較が重要である。

そこで、これまでにカドミウムを対象として開発された振とう抽出法を適用し、ICP 発光分析装置を用いて多成分を同時分析する方法の確立を試みた。抽出液の酸濃度や温度の影響を検討した結果、農作物試料中のカドミウム、マンガン、銅などの成分を、ICP 発光分析装置で精度高く同時分析できることが明らかとなったので報告する。

II 材料及び方法

1. 供試材料

抽出液の酸濃度の影響についての試験では、11 作物 45 点を、抽出温度の影響では、15 作物 31 点を、簡易同時分析法の試験では 17 作物、116 点を作物試料とした (第 1 表)。これら作物試料のうち、玄米、ラッカセイ、ムギ及びダイズは出荷時の水分状態で、それ以外は 70°C で乾燥後、超遠心粉碎機 (レッチェ製 ZM1, メッシュスクリーン穴径 0.5mm) で粉碎して分析試料とした。作物試料は乾燥前と乾燥後の重量差から乾物率を求め、分析試料は 135°C で 3 時間乾燥して含水率を求めた。

2. 抽出液の酸濃度の影響

抽出に用いた 1M 硝酸は、硝酸 (関東化学製 69~70% 特級) 100mL に蒸留水 140mL を加えて 6M 硝酸とし、この 6M 硝酸 100mL に蒸留水 500mL を加えて作成した。0.1M 硝酸は、市販の 1M 硝酸 (関東化学製) を蒸留水で 10 倍に

希釈したものを用いた。

分析試料 1g を容量 100mL のポリビン (サンブラテック製ポリプロピレン樹脂ボトル) に入れ, 30°C に加温した 1M 硝酸あるいは 0.1M 硝酸を 20mL 加えた。これを 30°C に設定した恒温振とう機 (高崎化学器機製 TA-20RS, 振幅 7cm, 振とう回数 100 回/分) で 60 分振とうした後, ろ過 (東洋濾紙製濾紙 No.5B を使用) した。この抽出液を ICP 発光分析装置 (バリアンテクノロジー ジャパン リミテッド製 710-ES) で, 軸方向測光によってカルシウム, カドミウム, 銅, 鉄, カリウム, マグネシウム, マンガン, リン及び亜鉛の 9 成分を同時分析した。分析に使用した波長は, カルシウムが 318.127nm, カドミウムが 226.502nm, 銅が 327.395nm, 鉄が 259.940nm, カリウムが 404.721nm, マグネシウムが 279.800nm, マンガンが 257.610nm, リンが 213.618nm, 亜鉛が 213.857nm であった。抽出液の成分濃度と, 乾物率, 含水率から, 作物試料の現物当たり各種成分含量を算出した。

3. 抽出温度の影響

抽出には 1M 硝酸を用い, 抽出液と恒温振とう機の温度を, 10°C, 20°C 及び 30°C に設定して, 酸濃度の影響の試験と同様に抽出, 分析し, 各種成分含量を算出した。

4. 簡易同時分析法

抽出に 1M 硝酸を用い, 抽出液と恒温振とう機の温度を

第1表 各試験に供試した試料

酸濃度の影響		温度の影響		簡易抽出分析法	
農作物	点数	農作物	点数	農作物	点数
玄米	20	玄米	4	玄米	52
ラッカセイ	6	ラッカセイ	4	ラッカセイ	10
ニンジン	6	トマト	3	ニンジン	9
ムギ	3	ニンジン	3	エダマメ	7
エダマメ	3	ムギ	3	ホウレンソウ	7
ダイズ	2	サトイモ	2	コカブ(葉)	6
バレイショ	1	ダイズ	2	コカブ(根)	6
ネギ	1	ネギ	2	トマト	4
トマト	1	ヤマトイモ	2	ムギ	3
ダイコン	1	コマツナ	1	サトイモ	2
サトイモ	1	ダイコン	1	ダイズ	2
		ナス	1	ネギ	2
		バレイショ	1	ヤマトイモ	2
		ブロッコリー	1	コマツナ	1
		ホウレンソウ	1	ダイコン	1
				バレイショ	1
				ブロッコリー	1
合計	45	合計	31	合計	116

30°C に設定して, 酸濃度の影響の試験と同様に同時分析し, 各種成分含量を算出した。

ただし, コカブの葉における抽出液のカルシウム濃度は, 他の分析試料に比べて著しく高く, ICP 発光分析に用いた標準液の濃度範囲を超えた。そのため, コカブの葉では, 抽出液を 5 倍に希釈し, カルシウムを単成分で分析した。

5. 硝酸分解法

分析試料 0.5g に硝酸 (69~70%) 8mL を加えて, マイクロウェーブ分解装置 (マイルストーンゼネラル製 ETOS900) を用いて分解後, 25mL に定容した。定容液の各種成分は, 簡易同時分析法と同様に ICP 発光分析装置で定量し, 現物当たりの含量に換算した。ただし, 定容液のカルシウム濃度は, 振とう抽出液における濃度に比べて低かったため, 分析波長は 422.673nm とした。

コカブの葉における分解液のカルシウムは, 簡易同時法の試験と同様に 5 倍に希釈し, 単成分で分析した。

III 結果及び考察

1. 抽出液の酸濃度の影響

1M 硝酸と 0.1M 硝酸を用いて, 30°C で抽出し, 抽出液の酸濃度の影響を調べた。同時分析した 9 成分について, 各試料において 1M 硝酸で抽出した成分含量に対する 0.1M 硝酸で抽出した値の百分率 (%) を求め, 45 試料の百分率を平均した (第2表)。この平均値はカルシウム, カドミウム, カリウム及びマンガンでは 99~101% であり, 1M 硝酸抽出と 0.1M 硝酸抽出の値に大きな差はなかった。一方, 銅, マグネシウム及び亜鉛の平均値は 93~95% でやや低く, 鉄とリンはそれぞれ 59% と 66% で特に低かった。

カドミウムでは, 1M 塩酸 (中島, 2000; 中島, 2004; 中島・市川, 2008) あるいは 0.1M 硝酸 (伊藤ら, 2010) のいずれかで抽出しても, 酸分解法とほぼ等しい値となることが報告されている。本報においても, カドミウムでは,

第2表 1M 硝酸で抽出した成分含量に対する 0.1M 硝酸抽出値の百分率 (%) の平均値 (n=45)

カルシウム (%)	カドミウム (%)	銅 (%)	鉄 (%)	カリウム (%)	マグネシウム (%)	マンガン (%)	リン (%)	亜鉛 (%)
100	101	93	59	99	95	99	66	93

抽出液の酸濃度の影響は小さかった。しかし、銅、マグネシウム、亜鉛、鉄及びリンでは、1M 硝酸抽出の値は0.1M 硝酸抽出に比べて高く、特に鉄とリンで酸濃度の影響が大きかった。このことから、同時分析に用いる抽出液には、硝酸分解法により近い値となる 1M 硝酸の方が適していると判断した。

2. 抽出温度の影響

抽出に及ぼす温度の影響を明らかにするために、抽出液と恒温振とう機を 10°C、20°C及び30°Cに設定して抽出した。各試料において、10°Cで抽出したときの成分含量に対する 20°C及び30°Cで抽出した値の百分率を求め、成分ごとに 31 試料の百分率を平均した（第 3 表）。20°C及び30°C抽出におけるこの平均値は、カルシウム、カドミウム、カリウム、マグネシウム、マンガン及び亜鉛では 101~103%であり、抽出に対する温度の影響はほとんどなかった。一方、銅では 20°C抽出の平均値が 105%、30°Cでは 107%、鉄ではそれぞれ 127%及び 166%、リンではそれぞれ 104%及び 107%で、抽出温度が高いほど値は高い傾向があった。

カドミウムでは、室温における抽出で、酸分解法とほぼ等しい値となることが報告されている（中島, 2000; 中島, 2004; 中島・市川, 2008; 伊藤ら, 2010）。本報では、カドミウムだけではなく、カルシウム、カリウム、マグネシウム、マンガン及び亜鉛は、抽出における温度の影響をほとんど受けなかった。しかし、銅、鉄及びリンでは、抽出温度が高いほど値は高い傾向があった。このことから、多成分を同時分析する簡易同時分析法においては、抽出温度を硝酸分解法により近い値が得られる 30°Cとすることとした。

3. 簡易同時分析法における各種成分含量

抽出液の酸濃度及び抽出温度の影響の結果をふまえて、116 点の分析試料を用いて 1M 硝酸、30°Cで振とう抽出してこれを簡易同時分析法とし、硝酸分解法と比較した。た

第 3 表 10°Cで抽出した成分含量に対する 20°C及び 30°C抽出値の百分率 (%) の平均値 (n=31)

抽出温度	カルシウム (%)	カドミウム (%)	銅 (%)	鉄 (%)	カリウム (%)	マグネシウム (%)	マンガン (%)	リン (%)	亜鉛 (%)
20°C	101	101	105	127	101	102	101	104	103
30°C	101	102	107	166	101	101	102	107	102

だし、コカブの葉 6 点のカルシウム含量は非常に高く、別途希釈分析したので、これらの値は除いた。

硝酸分解法と簡易同時分析法との間には、カルシウムでは $y=1.06x$, $R^2=0.95$, カドミウムでは $y=0.96x$, $R^2=0.99$, 銅では $y=0.92x-0.08$, $R^2=0.99$, 鉄では $y=0.46x+1.39$, $R^2=0.61$, カリウムでは $y=0.89x+0.53$, $R^2=0.91$, マグネシウムでは $y=0.89x-0.01$, $R^2=0.96$, マンガンでは $y=0.93x+0.04$, $R^2=0.99$, リンでは $y=0.87x-0.01$, $R^2=0.97$, 亜鉛では $y=0.79x+1.59$, $R^2=0.94$ の関係があった（第 1 図）。

これらの関係を、分析の精確さから第 4 表のように分類した。カドミウム、マンガン及び銅では、硝酸分解法と簡易同時分析法との関係式はほぼ原点を通り、決定係数が 0.98 以上であてはまりがよく、簡易同時分析法の値は硝酸分解法の 93~96%となる。リン、マグネシウム及びカルシウムでは、両者の関係式はほぼ原点を通り、決定係数が 0.95~0.97 であてはまりが比較的良好、簡易同時分析法の値は硝酸分解法の 87~106%となる。亜鉛及びカリウムでは、決定係数が 0.91~0.94 で、あてはまりがやや悪く、簡易同時分析法の値は 79~89%となる。一方、鉄では、決定係数が 0.62 であてはまりが悪く、簡易同時分析法により定量できない。

カルシウムに関して、希釈分析を行ったコカブの葉 6 点の値を含めると、硝酸分解法と簡易同時分析法との関係式は、 $y=1.04x$, $R^2=0.98$ となり、これらを除いた関係式と大きな差はなかった。

これまでに、1M 塩酸や 0.1M 硝酸を用いたカドミウムの簡易分析法が開発されてきた。本報では、抽出液を 1M 硝

第 4 表 硝酸分解法と比較した各成分の簡易同時分析法による分析精度

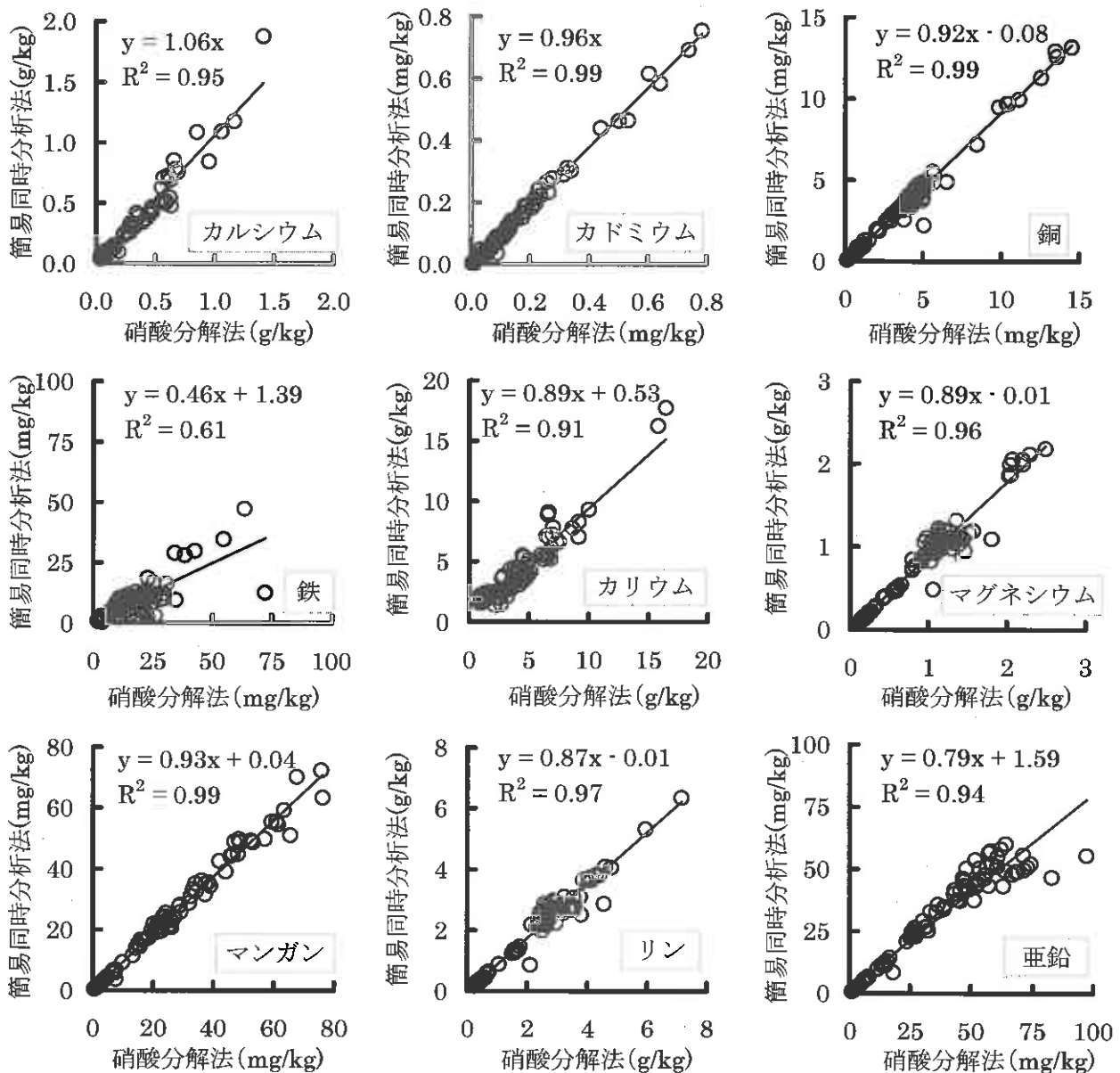
分析の精確さ	成分
決定係数が 0.98 以上であてはまりがよく、値が硝酸分解法の 93~96%となる	カドミウム マンガン 銅
決定係数が 0.95~0.97 であてはまりが比較的良好、値が硝酸分解法の 87~106%となる	リン マグネシウム カルシウム
決定係数が 0.91~0.94 であてはまりがやや悪く、値が硝酸分解法の 79~89%となる	亜鉛 カリウム
決定係数が低く、本法で定量できない	鉄

酸、抽出温度を30℃とすることによって、カドミウムだけではなく、マンガン、銅、リン、マグネシウム及びカルシウム（コカブの葉のように特に含量が高いものは別途希釈分析する）を硝酸分解法と同程度の精確さで、同時分析できることが明らかとなった。

鉄とリンでは抽出液の硝酸濃度をさらに高くすると、より分解法に近い値となることが期待される。しかしながら、高濃度の酸を用いることには、より慎重に分析操作を行うことが要求され、簡易性が損なわれる。また両成分では、抽出温度を30℃以上とすることによって、値が高くなると考えられる。しかし、鉄においては簡易同時分析法と硝酸

分解法との関係のばらつきが他成分に比べて大きい。これを改善するためには、抽出温度を大幅に上げる必要があると判断され、簡易性が損なわれることが予測される。なお、簡易同時分析法により同一試料を複数回分析したときの繰り返し誤差は、確認していない。亜鉛、カリウム及び鉄をのぞくと、硝酸分解法と関係における決定係数がかなり高く、繰り返し誤差は小さいことが推測される。いずれにせよ、簡易同時分析法の実用的で最適な抽出条件を見極めるため、精度を確認するためには、これら点に関して検証を進める必要がある。

さらに、試料の粉碎方法の違いが分析値に影響を及ぼす



第1図 各成分における硝酸分解法と簡易同時分析法との関係

注) カルシウムでは、コカブの葉6点の値を除いた

ことが想定される。カドミウムに関しては、簡易な小型粉碎機を用いた場合で、抽出法は酸分解法とほぼ等しい値となることが示されている(中島・市川, 2008)。しかし、硝酸分解法に比べて簡易同時分析法の値が低い亜鉛などでは、簡易な粉碎ではさらに値が低下する恐れがある。精度高く抽出分析するためには、超遠心粉碎機などを用いて、微細に粉碎する必要があると判断される。

本報で提示した簡易同時分析法は、多点数の処理が必要な出荷前におけるカドミウムのスクリーニング分析や、鉄を除く8成分に関しては、迅速な判断が必要な農作物の養分過剰症あるいは欠乏症の診断などに活用できる。

IV 摘 要

農作物の乾燥粉碎試料を硝酸で振とう抽出し、カドミウム、マンガン、銅などの成分を、ICP 発光分析装置で簡易に同時分析する方法の確立を試みた。

1. 試料を 1M 硝酸及び 0.1M 硝酸で抽出すると、カルシウム、カドミウム、カリウム及びマンガン含量では、両者の間に大きな差はなかった。しかし、銅、鉄、マグネシウム、リン及び亜鉛含量は、1M 硝酸抽出の方が高かった。
2. 10℃、20℃及び 30℃で抽出すると、カルシウム、カドミウム、カリウム、マグネシウム、マンガン及び亜鉛含量には、温度の影響はほとんどなかった。一方、銅、鉄及びリン含量は、抽出温度が高いほど値が高くなる傾向があった。
3. 1M 硝酸、30℃で抽出すると、カドミウム、マンガン、銅、リン、マグネシウム及びカルシウム含量は、硝酸分解法に近い値であった。亜鉛及びカリウム含量は、硝酸分解法との関係式のあてはまりがやや悪く、亜鉛含量は値がやや低かった。一方、鉄はこの簡易同時分析法では定量できない。

V 引用文献

- 後藤逸男・村本穰司・蛭木 翠 (1991) メタホウ酸リチウム溶融-ICP 発光分光分析法による土壌の主成分分析. 土肥誌. 62:521-528.
- 池辺克彦・西宗高弘・田中涼一 (1990) ICP 発光分析法による食品中の 17 金属元素量について-野菜類, 果実類, 芋類及びきのこ類-. 食衛誌. 31:382-393.
- 伊藤純雄・菊池 直・加藤直人 (2010) ホウレンソウ類のカドミウム吸収に関わる品種間差の生育条件による変動とそれに基づく吸収程度の相対的序列の推定. 中央農研研究報告. 14:1-15.
- 岩本京介・田村憲司・東 順三 (1992) ICP 発光分光分析法による土壌中の微量重金属元素の分析. ペドロジスト. 36:95-107.
- 小山雄生・須藤まどか (1987) ICP 発光分光分析法による土壌, 植物, 動物試料中の多元素同時定量. 土肥誌. 58:578-585.
- 中島秀治 (2000) 玄米中カドミウムのプロセス定量分析 - 1molL⁻¹ 塩酸抽出・ICP 法 -. 農及園. 75:1314-1318.
- 中島秀治 (2004) プロセス定量分析による大豆子実中カドミウムの定量 - 1molL⁻¹ 塩酸抽出法 -. 農及園. 79:910-917.
- 中島秀治・市川泰之 (2008) 野菜中カドミウム濃度のプロセス定量分析 - 1molL⁻¹ 塩酸抽出法 -. 農及園. 83:667-674.
- 山崎慎一 (1985) ICP 発光分光分析の理論と実際 (1) - 基礎とその背景 -. 土肥誌. 56:455-459.

A Simplified Simultaneous Analytical Method for Multicomponents Including Heavy Metals in Agricultural Products Using 1 M Nitric Acid Extraction – ICP Emission Spectrometry

Atsushi YAMAKI

Key words : agricultural product, 1 M nitric acid, ICP emission spectrometer, extraction analysis, simplified simultaneous analytical method

Summary

A simultaneous analytical method, using an ICP emission spectrometer, for components including cadmium, manganese, copper, etc. in agricultural products was investigated. Samples were dried, crushed, and extracted with nitric acid while being vibrated.

1. There was little difference between the calcium, cadmium, potassium, and manganese contents of samples extracted with 0.1M nitric acid and 1 M nitric acid; however, the copper, iron, magnesium, phosphorus, and zinc contents had higher values when samples were extracted with 1 M nitric acid.
2. There was little effect of extraction temperature (10°C, 20°C, and 30°C) in the calcium, cadmium, potassium, magnesium, manganese, and zinc content of samples. In contrast, the copper, iron, and phosphorus contents tended to have higher values as the extraction temperature was raised.
3. When samples were extracted with 1 M nitric acid at 30°C, the cadmium, manganese, copper, phosphorus, magnesium, and calcium contents had values close to those obtained by the strong nitric acid decomposition method. The contents of zinc and potassium deviated slightly from the correlation equation against the strong nitric acid decomposition method, the content of zinc being slightly lower. On the other hand, iron could not be determined quantitatively through this simplified simultaneous analytical method.