

毒物混入食品個別分析法の検討データのまとめ

出口夫美子¹，伴埜行則¹，筒井達也¹，塩見哲生¹，米田昌裕¹，
伴創一郎¹，和田好生¹，稲田眞之助¹，川勝剛志¹

Studies on analysis methods for the poison contaminated foods

Fumiko DEGUCHI , Yukinori BANNO , Tatsuya TSUTSUI , Tetsuo SHIOMI , Masahiro KOMEDA ,
Soichirou BAN , Yoshio WADA , Shinnosuke INADA , Tsuyoshi KAWAKATSU

Abstract : In this institute, a simple test kit is used for the detection of cyanide , arsenic , nitrate and nitrite ions for the purpose of emergency inspection of poison-contaminated foods. When positive, analysis for each compound is necessary to confirm the results. The individual analysis method requires accuracy, sensitivity and rapidity. We report here that our procedures are appropriately useful for such purposes.

Key words : 青酸化合物 Cyanide , ヒ素 Arsenic , 硝酸イオン Nitrate ion , 亜硝酸イオン Nitrite ion

はじめに

当部門では、毒物等による健康危機管理事例の発生時に対応する迅速分析法について、継続して検討を行っている。現在は、簡易検査キットを用いた検査を最初に行い、必要に応じて個別分析法で確認をするという形で対応している。緊急時の検査はその性質上、精度、感度のみならず、簡便で使用可能な機器で迅速に行えることも重要なポイントである。個別分析法の有用性について、今までに検討を行った青酸化合物、ヒ素、硝酸イオン・亜硝酸イオンの検討データを取りまとめたので報告する。

方法

1. 使用装置

1) 青酸化合物

- ・コンウェイ拡散皿
- ・ふ卵器：ヤマト科学(株) IS-61型
- ・分光光度計：島津製作所 UV-1600型

2) ヒ素

- ・マイクロウェーブ分解装置：マイルストーンゼネラル社製 ETHOS PLUS
- ・高周波プラズマ発光分析装置(以下 ICP-AES)：島津製作所 ICPS-1000 型

3) 硝酸イオン・亜硝酸イオン

- ・イオンクロマトグラフ：島津製作所 LC-10型

2. 標準原液

1) 青酸化合物

- ・シアン標準原液；シアン化カリウム2.5g を水に溶かし1Lとし、標定を行った。(約1mgCN/ml)

2) ヒ素

- ・ヒ素標準原液；1,000mg/L(市販品)

3) 硝酸イオン・亜硝酸イオン

- ・硝酸性窒素標準溶液(イオンクロマトグラフ用)；1,000mgN/L(市販品)
- ・亜硝酸性窒素標準溶液(イオンクロマトグラフ用)；1,000mgN/L(市販品)

3. 試薬

1) 青酸化合物

- ・ピリジン・ピラゾロン試液
- ・クロラミン T 溶液
- ・リン酸ナトリウム水溶液
- ・クロラミン T・リン酸混液
- ・0.1M 水酸化ナトリウム水溶液
- ・希硫酸
- ・p-ジメチルアミノベンジリデンローダニン溶液
- ・0.1N 硝酸銀

2) ヒ素

- ・硝酸：有害金属測定用
- ・過酸化水素：有害金属測定用
- ・硫酸：有害金属測定用
- ・6 mol/L 塩酸
- ・20%ヨウ化カリウム溶液

¹ 京都市衛生公害研究所 生活衛生部門

- ・水酸化ナトリウム：試薬特級
 - ・2%水素化ホウ素ナトリウム溶液
 - ・5N 塩酸
- 3) 硝酸イオン・亜硝酸イオン
- ・固相カートリッジ (Alltech 製 IC-RP)
 - ・4-ヒドロキシ安息香酸
 - ・Bis-Tris
 - ・フェニルボロン酸
 - ・CyDTA
 - ・0.45 μmメンブランフィルター
4. 添加用試料
- ・オレンジジュース
 - ・栄養ドリンク
 - ・缶コーヒー
 - ・カレー
 - ・ごはん
5. 方法
- 1) 青酸化合物¹⁾

液状試料はそのまま、固形試料は10倍量の超純水で抽出した液を試験溶液とした。まず、コンウェイ拡散皿の内室に0.1M 水酸化ナトリウム水溶液を2.0ml 入れた。次に外室の一部に試験溶液1.0ml を入れ、これに1M アスコルビン酸溶液30 μlを添加後、試験溶液に触れないように外室の一部に希硫酸（試料に酸化剤が存在する場合は酢酸ナトリウム水溶液）を0.5ml 入れ、速やかに密閉した。外室の2液を混合し、37 °Cのふ卵器内で15分放置後、内室の水酸化ナトリウム水溶液1.0ml を試験管に採取した。試験管を氷冷しながらクロラミン T・リン酸混液0.2ml を加え、緩やかに攪拌し、ピリジン・ピラゾロン試液 3 ml を加え37 °Cふ卵器内で15分放置した後、620~630nm の吸光度を測定した。標準液の希釈溶液についても同様の発色操作を行い、検量線を作成した。

2) ヒ素²⁾

(1) マイクロウェーブ分解装置による前処理(分解)

硝酸洗浄済み分解用テフロン容器に試料1.0g を採取した。硝酸 5 ml, 過酸化水素 1 ml を加え、分解用ローターにセットした後、下表のプログラムにより分解を行った。

表1 液体の分解プログラム

STEP	TIME	POWER	Temp1
1	50min	1,000watt	180
2	5min	1,000watt	180

表2 固体の分解プログラム

STEP	TIME	POWER	Temp1
1	2min	1,000watt	50
2	3min	0watt	30
3	25min	1,000watt	200
4	1min	0watt	170
5	4min	1,000watt	200
6	15min	1,000watt	200

(2) マイクロウェーブ濃縮装置による前処理(濃縮)

分解後のテフロン容器に、硫酸0.5ml を添加し、エバポレーションキットをセットした後、表3のプログラムにより濃縮を行った。

乾固手前まで濃縮出来ていることを確認した。

表3 濃縮プログラム

STEP	TIME	TEMP	POWER	VENT
1	25min	0	500watt	10min

(3) 予備還元

内容液を精製水で洗いこみながら50ml 容メスフラスコに移した。この時、試料とは別に標準系列も作成した。試料、標準系列ともに6 mol/L 塩酸10ml, 20%ヨウ化カリウム溶液 5 ml を加えて、精製水で50ml に定容し試験溶液とした。

(4) 測定

水素化法により ICP-AES で測定した。

(測定波長193.696nm)

3) 硝酸イオン・亜硝酸イオン

試料1.0g を100ml の遠沈管に採取し、超純水を加え50 ml に定容した。振とう器で10分間振とう後、2,500rpm で10分間遠心分離を行った。固形物や油分を含まないように注意して中間層の液を採取し、マニホールドにセットした固相カートリッジに負荷した。最初の溶出液 2 ml を捨て、次の溶出液 5 ml を採り、これを試験溶液とした。測定はイオンクロマトグラフで行った。測定条件は表4に示すとおりである。

表4 測定条件

カラム	Shodex IC NI-424, NI-G
流速	1.0ml/min
カラム温度	40
注入量	50 μl
移動相	8mM4-ヒドロキシ安息香酸 + 2.8mMBis-Tris + 2mMフェニルボロン酸 + 5 μM CyDTA

結果と考察

1. 青酸化合物

1) 検出下限

本試験法では試験溶液あたり0.1 µg/ml まで検出が可能であった。この濃度は簡易検査キットの最小検出濃度(1.0 µg/ml)の1/10である。直線性は R2 = 0.9999と良好であった。

表5 シアン標準測定結果

濃度(µg/ml)	ABS
0	0.001
0.1	0.039
1	0.422

2) 添加回収試験

5種類の試料につき試験溶液(液体試料はそのまま, 固体試料は10倍量の超純水で抽出した液) 1 ml に対して1 µgを添加し, 添加回収試験を行った。結果は表6に示すとおり良好であった。

表6 シアン添加回収試験

	回収率(%)
オレンジジュース	93.8
栄養ドリンク	87.0
缶コーヒー	84.1
カレー	96.3
ごはん	110.4

2. ヒ素

1) 検出下限

水素化法は感度が良く, 0.1 µg/g(試料中に換算した値)まで測定可能であった。この値は簡易検査キットの最小検出濃度(0.1mg/L)と同レベルである。直線性は R2 = 0.9996と良好であった。

表7 ヒ素標準測定結果

標準列濃度(µg/g)	強度
0	0.041897
0.1	0.071715
1	0.413264
10	3.680470
25	8.783130

2) 添加回収試験

5種類の試料ごとに試料ブランク(以下試料 BL), 低濃度添加試料(1 µg/g 添加), 高濃度添加試料(10 µg/g 添加)について添加回収試験を行った。結果を表8に示す。

低濃度添加試料の強度と試料 BL の強度には明らかな差が認められた。添加回収率は良好な結果が得られた。

表8 ヒ素添加回収試験

	添加量(µg/g)	強度	回収率(%)
オレンジジュース	試料 BL	0.045844	
	1	0.370351	86.2
	10	3.423860	95.8
栄養ドリンク	試料 BL	0.053727	
	1	0.413707	98.6
	10	3.363410	94.0
缶コーヒー	試料 BL	0.112167	
	1	0.443434	99.7
	10	3.572850	104.1
カレー	試料 BL	0.118764	
	1	0.510420	117.8
	10	3.441390	100.0
ごはん	試料 BL	0.105563	
	1	0.429463	97.4
	10	3.442140	100.4

3. 硝酸イオン・亜硝酸イオン

1) 検出下限

(1) 硝酸イオン

1 µg/g(試料中に換算した値)が測定可能であった。簡易検査キットの最小検出濃度(10mg/L)の1/10レベルまで確認できたことになる。直線性は R2 = 0.9991と良好であった。

表9 硝酸イオン標準測定結果

標準列濃度(µg/g)	面積
1	10368
5	18701
10	32695
20	69105
100	328201

(2) 亜硝酸イオン

1 µg/g (試料中に換算した値)まで確認できた。簡易検査キットの最小検出濃度は2 mg/L なので、本試験法での検出下限はその1/2レベルである。直線性は R² = 0.9992と良好であった。

表10 亜硝酸イオンの標準測定結果

標準列濃度(µg/g)	面積
0.2	0
1	2186
2	5716
4	11023
20	59986

2) 添加回収試験

5種類の試料ごとに、試料 BL, 添加試料(硝酸10 µg/g, 亜硝酸2 µg/g を添加)について添加回収試験を行った。硝酸イオンは一部の試料 BL から検出したため、この試料については試料 BL 値を差し引いた値で回収率を算出した。亜硝酸イオンは試料 BL から検出されなかった。表11に示すとおり、どれも良好な添加回収結果が得られた。また、図1にごはんの添加回収測定クロマトグラムを示す。

表11 硝酸イオン・亜硝酸イオン添加回収試験結果

	硝酸イオン 回収率(%)	亜硝酸イオン 回収率(%)
オレンジジュース	95.3	96.8
栄養ドリンク	92.5	78.3
缶コーヒー	91.6	106.0
カレー	90.2	86.0
ごはん	80.7	83.8

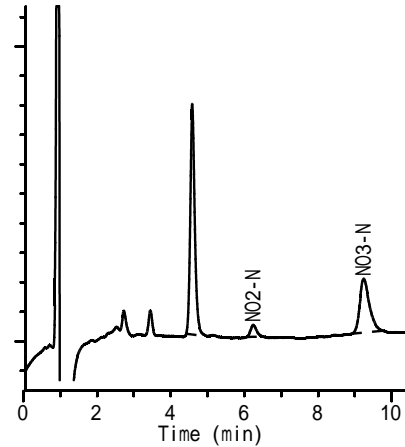


図1 ごはんの添加回収クロマトグラム

まとめ

通常、有症状時に行う検査は、精度及び感度が十分にあることに加え、短時間で結果が得られることも重要である。今回報告した個別分析法は、簡易検査キットを用いた試験と比較して、同等もしくはそれ以上の感度が確認でき、精度面でも添加回収試験において良好な回収率結果が得られた。また、検査に要した時間は全項目とも約3~5時間であり、ここに示した個別分析法は、緊急時の検査に使用可能な分析法であるといえる。

文献

- 1) 広島大学医学部法医学講座編：薬毒物の簡易検査法-呈色反応を中心として-, 3-20, じほう(株)
- 2) 日本薬学会編：衛生試験法・注解, 398-402, 金原出版(株)(2000)