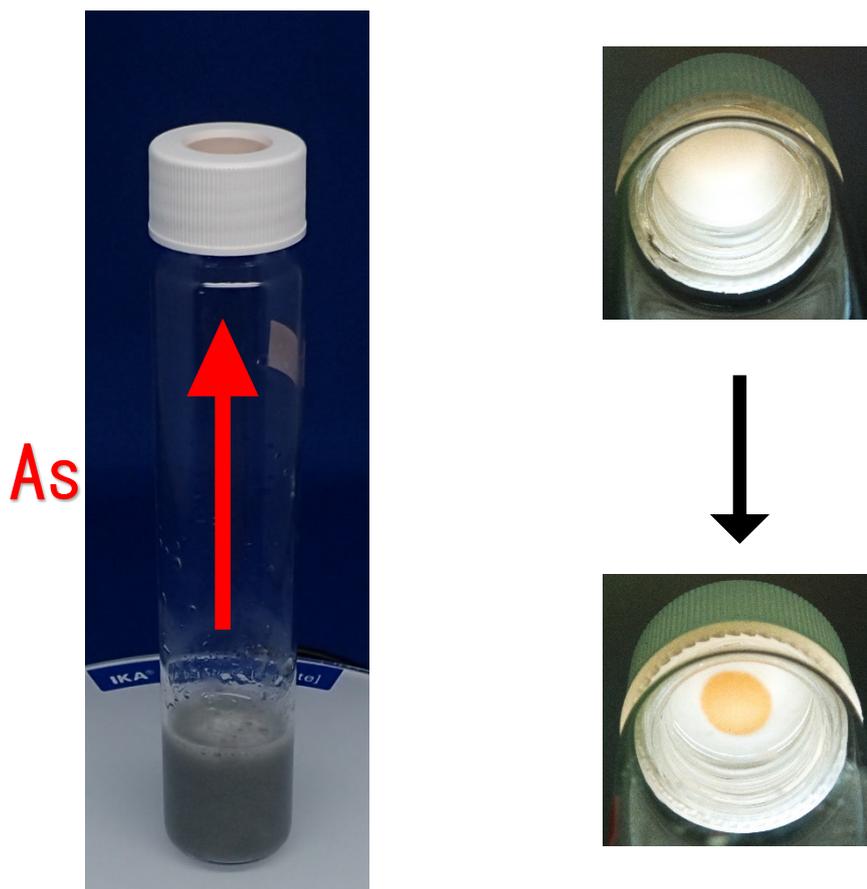


# 【標準操作手順書】

## コメ中無機ヒ素の簡易分析法



Ver. 1.1

2019年11月

農研機構 農業環境変動研究センター

## はじめに

コーデックス委員会において玄米並びに精米に含まれる無機ヒ素の最大基準値がそれぞれ 0.35 mg/kg、0.2 mg/kg と決められたことを受け、今後、国内基準値が設定されることも考えられるため、コメ生産者並びに関連事業者、行政当局においては、コメ中無機ヒ素を把握する必要性が増大していくだろうと予想される。現状ではコメ中無機ヒ素の分析は十分な知識・技能を有した分析者による高価で高度な機器を用いた分析法しかなく、分析ができる機関も限られている。このため、より安価、より現場に近いところで分析が可能な方法が求められている。

本簡易分析法はコメ粉末から抽出した試験溶液中の無機ヒ素を還元水素化したアルシingasにより円形ろ紙に塗布した硝酸銀を発色させ、その発色をスキャナーで読み取り定量化するという簡単なもので、一般的な実験室で実施でき、1 検体当たり 100 円程度の費用で分析が可能である。

本簡易分析法の利用にあたっては本標準操作手順書を理解した上でご利用いただき、不明な点は問い合わせさせていただきたい。

# 変更履歴

2019年11月13日

- ・バージョン

Ver 1.0 ➡ Ver 1.1

- ・変更内容

20ページの分析スキーム中の塩酸濃度の修正

誤：1 mol/L 塩酸

正：2 mol/L 塩酸

# 目次

1. 試薬・器具等・検量線作成用溶液・分析用試料	1
2. 器材の準備	3
3. 試薬の調製	4
4. 分析手順	5
5. 色見本を用いた検量線の作成	15
6. 円形ろ紙の画像解析	16
7. コメ中無機ヒ素含量の定量	18
8. 廃棄物の処理	18
9. 分析スキーム	20
付録. 分析法の妥当性確認データ	21

1. 試薬・器具等・検量線作成用溶液・分析用試料

(1) 試薬 (**太字**は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い)

- ① 超純水 (18 MΩ 以上)
- ② 2 mol/L 塩酸\* (例: **和光純薬 容量分析用 2 mol/L 塩酸**)  
\*ヒ素分析用濃塩酸を希釈し作成しても良い
- ③ 30%過酸化水素\* (例: **関東化学 原子吸光分析用過酸化水素**)  
\*30% 過酸化水素は劇物扱いになるので、6wt%以下の過酸化水素を用いることもできる。
- ④ **消泡剤 (和光純薬 消泡剤 PE-M 販売元コード 010-17211 または 012-17215)**
- ⑤ **モリブデン酸ナトリウム** (例: **関東化学 特級モリブデン (V I) 酸二ナトリウム二水和物**)
- ⑥ **タングステン酸ナトリウム** (例: **関東化学 特級タングステン (V I) 酸二ナトリウム二水和物**)
- ⑦ **亜鉛粉末 (和光純薬 ひ素分析用亜鉛粉末 販売元コード 266-00901 または 268-00905)**
- ⑧ 0.1 mol/L 硝酸銀溶液\* (例: **和光純薬 容量分析用 0.1 mol/L 硝酸銀溶液**)  
\*より高濃度の硝酸銀溶液を用いても良い
- ⑨ 濃塩酸 (分析には不要だが、器具洗浄の際にあると便利、一般グレードで十分)
- ⑩ エタノール (分析には不要だが、器具洗浄の際にあると便利、一般グレードで十分)

(2) 器具等 (**太字**は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い)

- ① 60 mL 揮発性有機化合物分析用 (VOA) **バイアル (クリア)**
- ② 円形ろ紙 (**GE ライフサイエンス社の 3MM Chr プロットイングろ紙**を 22 mm のサークルカッターやポンチにより円形にカットして用いること)
- ③ 10-15 mL PP 丸底試験管 (スクリュウふた付き) \*  
\*抽出に使用する。PP 遠沈管 (スクリュウふた付き) でも代用可であるが丸底推奨。
- ④ **スターラー\***及び回転子 (15 mm)  
\*複数の試験を同時並行で進めるなら多連スターラーを推奨する。強 (磁) カスターラーなら複数の試験を 1 個のスターラーで実施できるが、各試験において十分な攪拌が得られない場合があると共に回転子が暴れやすいため事前の検討が必要。磁力が弱いスターラーの場合、試験数だけスターラーが必要。
- ⑤ **ピペットチップ (5 μL、100 μL、1000 μL を採取できるもの) \***

\*5 mL チップがあると便利だが無くても良い

- ⑥ ピペッター（上記チップに対応のもの）100  $\mu$ L を採取できるピペッターは2本必要。
- ⑦ 薬包紙（中または大サイズのもの）
- ⑧ 薬さじ
- ⑨ ブロックヒーター及びブロック（使う試験管に合った形状・サイズのもの）\*  
\*ホットプレートとブロックの組み合わせでも代用できるが温度の確認が必要。また、恒温乾燥器の利用も可能だが設置場所によって温度ムラが非常に大きいいため事前の検討が必要。
- ⑩ 遠心機（無くても可、あれば便利）
- ⑪ ストップウォッチ（時計でも代用可）
- ⑫ 天秤\*  
\*最低限 0.01 g まで読み取れ、1 g 前後の重量が測れれば良い。小数点以下の表示桁数がより多くても良い。
- ⑬ 500 mL ガラスビーカー\*  
\*1 台の強カスターラーで複数の分析を同時に実施する場合のみ必要
- ⑭ 2 mL ガラスバイアル（内側がテフロン製のセプタムのスクリーフ付）
- ⑮ 100 mL、1 L の PP ボトル\*  
\*ボトルの大きさは調製する試薬量に応じて変更して良い。
- ⑯ 超音波洗浄器（無くても可、分析後のガラスバイアルの洗浄にあれば便利）

(3) 画像解析の器材（太字は指定のものを使用、それ以外は同等品で良い）

- ① **色見本（本標準操作手順書作成者より入手）\***  
\*色見本を使わない場合は、ヒ酸標準溶液と低無機ヒ素コメ粉末から検量線を作成するので、作成方法については本標準操作手順書作成者に問い合わせること。
- ② **フラットベッドスキャナー\***  
\*専用機でなくてもスキャナー機能の他に印刷やコピー機能などを有した複合機も使うことができる。国内では主にエプソンかキャノンが安価なフラットベッドスキャナーを販売している。また、測色計を利用しても良い（測定径が 5 mm 以下のもの）。
- ③ **画像解析できるソフト**  
オープンソースの GIMP または Adobe Photoshop Elements 等
- ④ **検量線作成に使うための表計算ソフト**  
Microsoft Excel やオープンソースの OpenOffice 等

#### (4) 分析用試料

コメ粉末（微粉末で粒状感のないもの）、50%体積粒径で 200 μm 以下を目安とする。理化学用の高価なミルでなくても、安価な家庭用のミキサーミル\*や抹茶用ミルを用いることができる。

\*例：Iwatani フレッシュミルサー スペシャルセット FR15（メーカー希望小売価格 12,778 円、平成 31 年 1 月時点）

## 2. 器材の準備

### (1) 画像解析ソフトのインストール

- ① GIMP の HP (<https://www.gimp.org/>) からプログラムをダウンロードし、ファイルを実行後、画面の指示に従いインストールをおこなう。インストールの途中でインストール時の言語の選択が可能だが、English のままで良い。

### (2) スキャナーの接続と設定

使用する PC でスキャナーを初めて使用する場合は、スキャナーの説明書に従い使用できる状態にしておくこと。スキャナーの設定は以下の通りだが、使用するスキャナーの型式、使用しているドライバやスキャナーソフトのバージョンにより表示が異なっている可能性がある。

- ① 出力解像度…300 dpi
- ② 画像補正……全て無し
- ③ 保存形式……TIFF
- ④ 色の設定……

Epson 製スキャナーの場合：EPSON Scan において環境設定（図 1 左）を開き、カラータブから ICM を選択し、ソース（スキャナー）には Epson 標準、ターゲットには sRGB を選択する。

Canon 製スキャナーの場合：ScanGear において詳細設定（図 1 右）を開き、色の設定タブからカラーマッチングを選択し標準に戻すボタンを押す。出力プロファイルを sRGB IEC61966-2.1 に変更する。

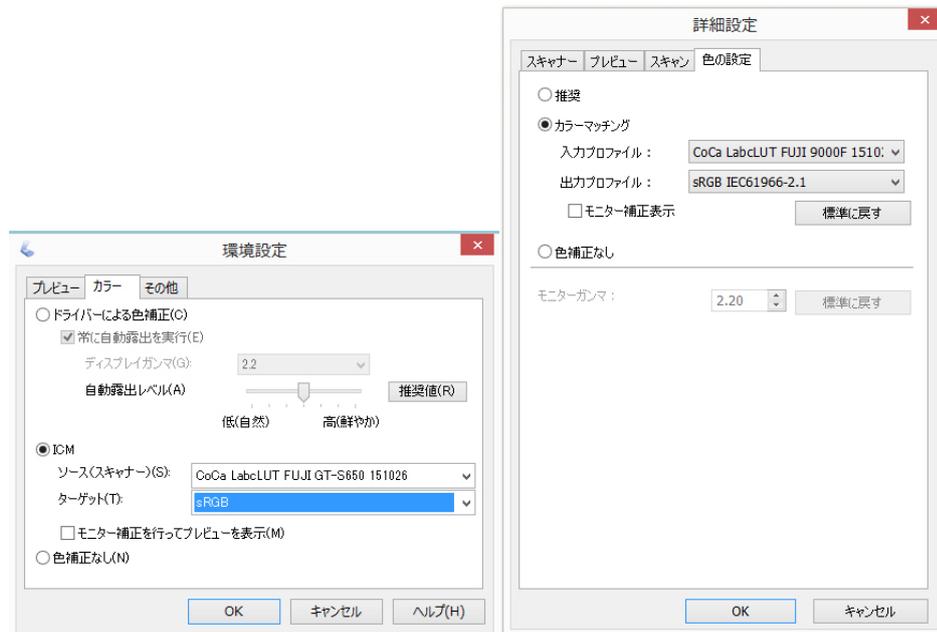


図 1. スキャナーの色設定

### (3) 新品 VOA バイアルの洗浄

ふたのできる PP 製ボトル等にバイアルを入れ希塩酸をバイアルが浸るまで注ぎふたを閉め、一昼夜放置後バイアルを取り出し超純水で数回すすぐ。新品の VOA バイアルからは分析に支障が出るほどのヒ素が溶出する場合がありますので、必ず酸洗浄すること。洗浄したバイアルは一度、コメ抽出液の代わりに超純水を用いて空試験をおこないバイアルからの汚染が無いことを確認する。

## 3. 試薬の調製

調製する試薬量や容器の大きさは必要に応じて変更して良い。

### (1) 0.40 mol/L 過酸化水素の調製

1 L PP ボトルに 30%過酸化水素（メーカーにより 30 g/100 mL の場合と 30 g/100 g の場合がある。ここでは 30 g/100 g とする。）を 45.35 g 秤量し、超純水を加えて 1.00 kg とし、ふたを閉め良く振り混ぜる（0.40 mol/L 過酸化水素の比重を 1 g/mL と見なす）。使いやすいように適当なサイズの PP ボトルに分取して使用する。調製後、冷暗所で保管し、使用期限は 1 年以内とする。劇物に該当しない 6wt%以下の過酸化水素を利用する場合は 0.40 mol/L とするよう混合割合を調整する。

### (2) 還元助剤の調製（0.020 mol/kg モリブデン酸ナトリウムと 0.010 mol/kg タングステン酸ナトリウムを含む水溶液）

1L PP ボトルにモリブデン（V I）酸二ナトリウム二水和物 4.84 g とタング

ステン（V I）酸二ナトリウム二水和物 3.30 g を秤量し、超純水を加えて 1.00 kg とし、ふたを閉め良く振り混ぜる。

使いやすいように PP 試験管に分取して使用する。調製後、常温で保管し、使用期限は 1 年以内とする。

(3) 0.050 mol/L 硝酸銀水溶液

2 mL ガラスバイアルにピペッターで超純水 0.8 mL と 0.1 mol/L 硝酸銀水溶液 0.8 mL を加え、ふたを閉め良く振り混ぜる。より高濃度の硝酸銀水溶液から調製する場合は、0.050 mol/L となるように混合割合を調整する。冷暗所で保管し、使用時に薄黄色がかかった変色が見られた場合や灰黒色の不溶物が生じていた場合は調製し直す。

(4) 消泡剤

PP 試験管に分取して使用する。

#### 4. 分析手順

亜鉛添加後は毒性のアルシンガスが発生する。密閉容器内での反応であるためアルシンガスの臭気を感じることは無いが、ドラフト内あるいは風通しのよい場所で試験すること。また、直射日光により硝酸銀が徐々に変色するので、直射日光を避け室内で試験すること。

(1) 使用する抽出用試験管に適用できるサイズのブロックヒーター\*を準備し、110 °C に加熱しておく。

\*ブロックヒーターが無い場合はホットプレートとブロックの組み合わせが利用できる。但し、温度を実測により確認すること。

(2) コメ粉末 1.00 g を秤量し試験管に加える。

(3) ブロックヒーターが 110°C で安定しているのを確認する。

(4) 試験管を傾けて試験管の底が一部見える程度までコメ粉末を片側に寄せる（図 2）。試験管の底に向けて抽出液として 0.40 mol/L 過酸化水素 4 mL (1 mL × 4)\*をピペッターで勢いよく加える（液体をコメ粉末に浸透しやすくするため）。加え終えたらふたをしっかりと閉める。

\*4 mL を一度に勢いよく加えると内容物があふれるので、1 mL × 4 回にすること。



図 2. 過酸化水素の添加

- (5) 分析検体数だけ抽出液を加えたら、慎重にふたを弛めてガスを抜く\*

\*コメ中カタラーゼによる過酸化水素の分解が抽出液添加直後から始まり (図 3)、発生した酸素で試験管内は加圧状態になっている。玄米にカタラーゼが多いので玄米の方が発泡する。検体数が多いと加熱までに過酸化水素がほとんど消費されてしまうので、抽出液添加後から 10 分以内に加熱を開始できる程度の検体数にすること。10 分以上置くと抽出後にコメが底に固まっている場合があり、その場合は再試験が必要。

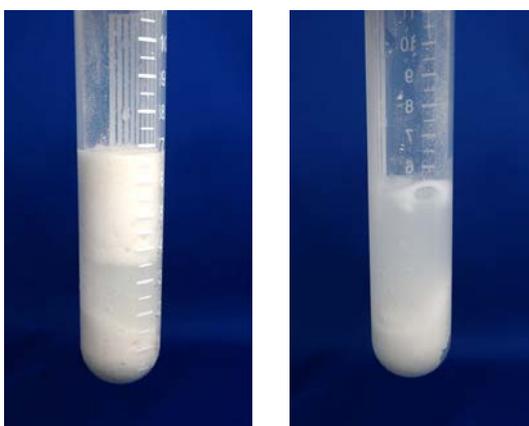


図 3. 過酸化水素添加後 (左) 玄米、(右) 精米

- (6) 試験管のふたを再度しっかりと閉め、コメ粉末に液体が十分しみ渡るまで手で勢いよく振る。
- (7) 試験管をブロックヒーターにセットし 3 時間 (精米の場合 4 時間)、110°C\*で加熱し無機ヒ素を抽出する (図 4) \*。抽出が一番時間のかかる工程なので、分析前日に抽出まで終了し、以降は翌日に作業しても良い。

\*抽出液は 97°C~99°C になっている。110°C を超える設定は PP の耐熱を超えてしまうので不可。



図4. 加熱抽出\*

\*写真のブロックでは隣接する試験管のふた同士が干渉するので、写真のように互い違いにセットしている。

- (8) 加熱終了後(図5)\*、手で握れる程度まで放冷し、ふたを開けて超純水を6 mL 加える。ふたを開けた際にねじ口の外側に垂れた液は拭きとっておく。熱いうちは試験管が膨張しており、ふたを持って引き抜こうとするとふたが緩み加圧になっていた内容物が吹きこぼれることがあるので確実に放冷後抜きとること。まだ熱いうちに引き抜く場合は、ふたを持って、ふたが閉まる方向に捻りながら引き抜くとうまく引き抜くことができる。

\*抽出後の色はベージュから濃黄色まで試料によって異なる。写真の試料においては玄米抽出液(3時間抽出)と精米抽出液(4時間抽出)の色はほぼ同じ。一般に同じ抽出時間なら玄米抽出液の方が同じコメの精米抽出液より色は濃い。



図5. 加熱終了後 (左) 玄米、(右) 精米

- (9) 再度ふたを閉め、手で激しく試験管を振った後 3000 rpm (約 1500 G) で 10 分間遠心する。遠心機が無い場合は試験管を 30 分程度静置し残渣がある程度沈むのを待つ (図 6) (多少不溶物が上澄みにあっても構わない)。

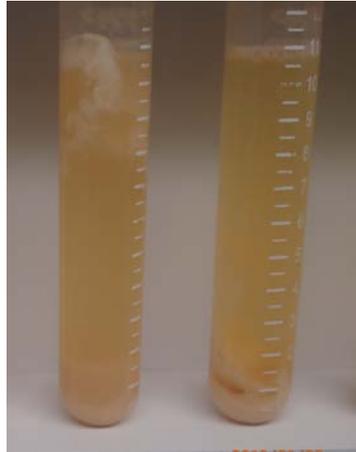


図 6. 不溶物沈降後の様子 (左) 30 分静置後、(右) 遠心後

- (10) 複数検体を同時並行で分析する場合は次の (11) から (17) の各段階において検体数だけ操作する。
- (11) 15 mm 回転子を 60 mL VOA バイアルに入れ超純水で数回すすぐ。回転子が落ちないようにマグネットを利用すると便利。
- (12) 抽出液の上澄み 5 mL を VOA バイアルにピペッターで加える (図 7)。図 7 の 30 分静置後の玄米のように多少不溶物が混入しても良い。

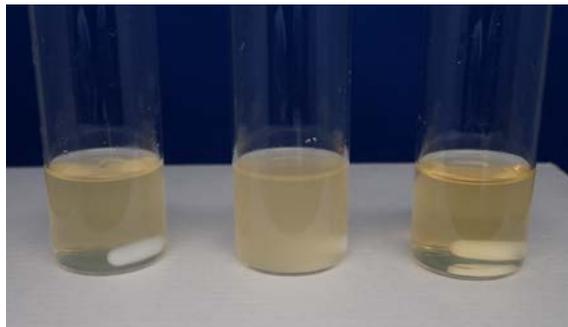


図 7. 抽出液の上澄み

(左) 遠心後の玄米、(中) 30 分静置後の玄米、(右) 遠心後の精米

- (13) 2 mol/L 塩酸 5 mL を VOA バイアルにピペッターで加える。
- (14) 亜鉛粉末 1.00 g を 1 つの対角線のみ折り目を入れた\*薬包紙上に薬さじで秤量しておく (図 8)。

\*後で円錐状に丸めやすくするため

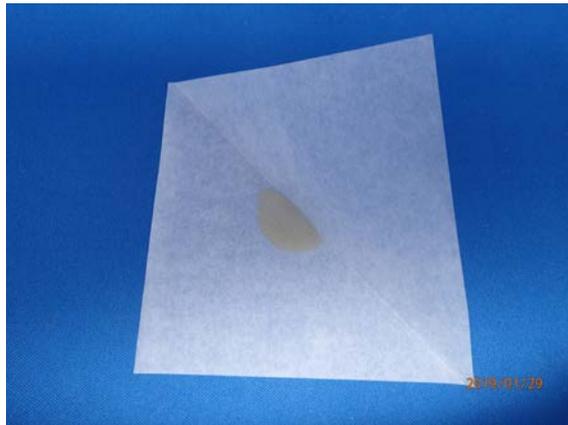


図 8. 亜鉛粉末の準備

- (15) 10  $\mu\text{L}$  チップを装着したピペッターを 1 本、100  $\mu\text{L}$  チップを装着したピペッターを 2 本用意しておく\*。  
\*それぞれ 5  $\mu\text{L}$  の硝酸銀溶液、100  $\mu\text{L}$  の還元助剤、5 滴の消泡剤用である。消泡剤は粘性が非常に高いので 5 滴分より容量の大きなチップでないと操作が困難である。
- (16) スターラーの電源を入れ 1200 rpm\*に設定しておく。  
\*強力スターラー 1 台で多検体を分析する場合は、1200 rpm だと回転子が暴れるので 800 rpm~1000 rpm 程度でも良い。回転数が確認できない場合は、VOA バイアルねじ口部まで液跳ねが生じず、亜鉛粉末が十分分散する程度の回転数に調整する。
- (17) 検体数分の VOA バイアルキャップの上に円形ろ紙を置き、硝酸銀溶液塗布のための準備をしておく (図 9)。以下、(18) から (23) までの操作は 1 検体ずつ進めること。



図 9. 硝酸銀溶液塗布の準備

(左) バイアルキャップ、(右) バイアルキャップ上に置かれた円形ろ紙

- (18) VOA バイアルをスターラー上に置き還元助剤を 100  $\mu\text{L}$  ピペッターで加える。

内壁に付着した場合はバイアルを傾け反応液と合わせること。

- (19) 消泡剤を 100  $\mu\text{L}$  チップを装着したピペッターで 5 滴滴下する\*。  
\*粘性が高いので 5 滴滴下できる分より多めに吸引する。
- (20) 還元助剤添加約 60 秒後に 0.050 mol/L 硝酸銀溶液 5  $\mu\text{L}$  をピペッターで取り、円形ろ紙の中央部にチップの先端を軽く接触させ、ゆっくり液を押し出す(図 10)。反対の手でチップ上部を支持すると狙いがつけやすい。



図 10. 円形ろ紙への硝酸銀溶液の塗布

- (21) 硝酸銀塗布面と反対側の面がセプタムと接触するように、円形ろ紙をバイアルキャップ内にはめ込む(図 11)。



図 11. 円形ろ紙のバイアルキャップへのセット  
(左) 円形ろ紙をはめ込む前のバイアルキャップ、  
(右) 円形ろ紙をはめ込んだ後のバイアルキャップ

- (22) 量り取っておいた亜鉛粉末を還元助剤添加約 90 秒後に VOA バイアルに加える(図 12)\*。

\*薬包紙を円錐状に丸めて液面に近いところから亜鉛粉末を静かに落とすこと。VOA バイアルの上部から亜鉛粉末を落とすと粉末が舞い円形ろ紙に付着してしまい、付着量が多い場合には画像解析に支障が出る。

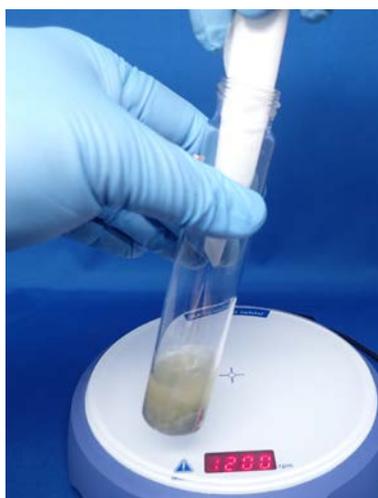


図 1 2. 亜鉛粉末の添加

(23) 亜鉛粉末添加後数秒おいてから\*円形ろ紙をセットしたバイアルキャップを閉め、スターラーで攪拌する(反応開始)(図 1 3)\*\*。多検体を同時に分析する場合は多連スターラー(図 1 4)を推奨するが、1 台の強カスターラーを用いることもできる。1 台の強カスターラーを用いる場合は全ての回転子がスムーズに回転することは難しいが、亜鉛粉末が分散していれば良い。攪拌時の振動によるバイアル同士の接触のためバイアルが不安定になるが、500 mL ビーカーをスターラー上に置きその中にバイアルを立てるとバイアルの転倒を防ぐことができる(図 1 5)。

\*亜鉛粉末添加後すぐにバイアルキャップを閉めると、亜鉛粉末が付着することがある。

\*\*VOA バイアル内で硝酸銀塗布面は反応液面に向き合っていることになる。発生するアルシンガスが漏出しないようにしっかりと閉めておく。

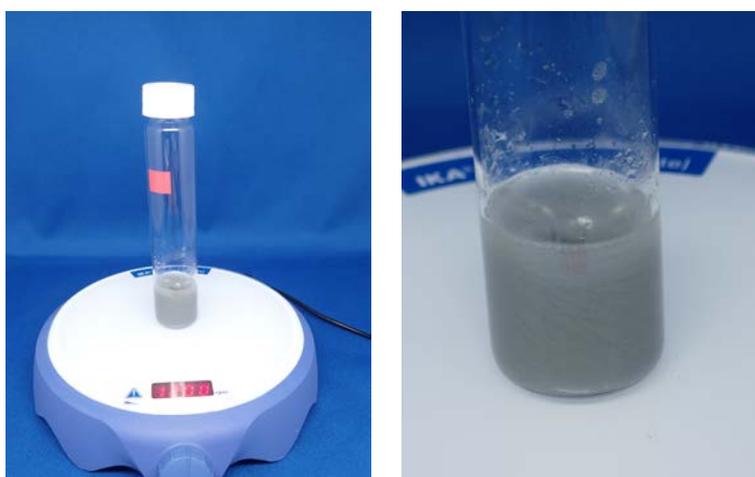


図 1 3. スターラーで攪拌



図 1 4. 多連スターラーの利用



図 1 5. 1 台の強カスターラーによる多検体分析

(24) 亜鉛粉末添加後、約 5 分、約 10 分、約 20 分の 3 回（厳密にこの時間でなくて、それぞれ数分ずれても良い）、バイアルを傾けてバイアル内壁に付着した液滴を反応液と合わせる（図 1 6、図 1 7）\*。

\*発生したアルシンが内壁の液体に溶け込み生じた無機ヒ素を反応液中に戻すと同時に反応中に生じた泡の泡切れをよくするためである。この際に、傾けすぎて円形ろ紙を濡らしてしまわないこと。傾けすぎて円形ろ紙を濡らした場合は、再試験が必要である。



図 1 6. 反応途中のバイアルを下から覗いた時

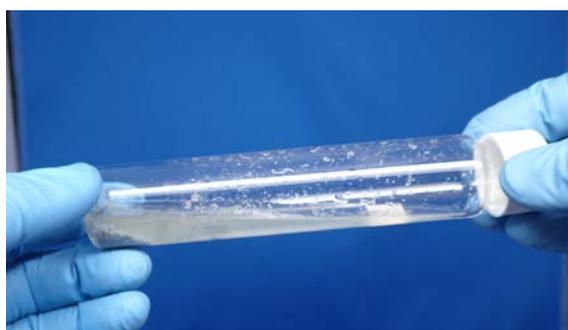


図 1 7. バイアル内壁の付着した液と反応液との混合

- (25) 亜鉛粉末添加 40 分後に VOA バイアルからバイアルキャップを外し、円形ろ紙を取り出す（反応終了）\*。

\*円形ろ紙を取り出しにくい場合はセプタムを円形ろ紙とは反対側から指で押すとセプタムごと取り出せる（図 1 8）。未反応のアルシンガスが漏出する恐れがあるので、ふたを外す際は特に換気に留意し、反応後のバイアル内の臭いを直接嗅ぐなどはしないこと。なおアルシンには独特なニンニクのような臭気があるとされている。



図 1 8. バイアルキャップから円形ろ紙の取り出し

- (26) 取り出した円形ろ紙のスキャナー画像を設定済みの条件で直ちに\*取得し画像ファイルを保存する（p16 円形ろ紙の画像解析を参照）。

\*呈色は徐々に変色するので、反応終了後から遅くとも 5 分以内にはスキャンを開始すること。

- (27) (18) から (23) までを手際よくおこなった場合、例えば次の表 1 のようなタイミングで 5 検体を同時に分析できる。もちろん、個々のバイアルに対する操作のタイミングが合っていれば、この表に従う必要は無い。各検体で操作のタイミングが重なる場合は、液滴を合わせる時間の方をずらす。

はストップウォッチ計測開始から 30 秒後に最初のサンプルに還元助剤を加える場合。操作に慣れてくると 9 検体程度まで同時に分析ができる。

表 1. 5 検体を分析する際の操作タイミング

検体番号	還元助剤と消泡剤の添加	硝酸銀塗布	亜鉛添加(反応開始)	液滴を合わせる (1 回目)	液滴を合わせる (2 回目)	液滴を合わせる (3 回目)	反応終了
1	0.5 分	1.5 分	2 分	7 分	12 分	22 分	42 分
2	2.5 分	3.5 分	4 分	9 分	14 分	24 分	44 分
3	4.5 分	5.5 分	6 分	11 分	16 分	26 分	46 分
4	6.5 分	7.5 分	8 分	13 分	18 分	28 分	48 分
5	8.5 分	9.5 分	10 分	15 分	20 分	30 分	50 分

**分析後のバイアル洗浄方法：**バイアル洗浄の際、ガラス表面を傷つける恐れがあるため、**ブラシは使用しないこと**。回転子を取り出す必要は無いが、廃液用ポリタンクに落ちないようにマグネットを利用しながら洗浄作業すると良い。

- ① 反応後のバイアルは内容物を廃液用ポリタンクに廃棄し\*、水でよくすすぎ残渣をなるべく除く。

\*廃液用ポリタンクの投入口にロートを置き、台所用ゴミ取り不織布を被せると亜鉛だけ分離できる。亜鉛ごと廃液用ポリタンクに投入するとポリタンク内で酸と反応し水素ガスが発生し危険であるので注意すること。

- ② 超音波洗浄器があれば水をバイアルのネック部分まで加えて超音波洗浄器で 5 分間超音波洗浄する。内容物を廃液用ポリタンクに廃棄後、水でよくすすぎ洗液は廃液用ポリタンクに捨てる。超音波洗浄器が無ければ②を省略し③に。
- ③ 濃塩酸をバイアルのネック部分まで加え数分放置し内壁に付着した亜鉛を剥離させ落とす。劇物の濃塩酸を使いたくない場合は 10wt%塩酸を用いて洗浄すること。その場合、濃塩酸よりも洗浄時間が長くなる。
- ④ 濃塩酸を適当な PP ボトルに回収し（洗浄用として濃塩酸は使いまわす、多少亜鉛が入っていても構わない）、バイアルは水で 2 回すすぎ、洗液は廃液タンクへ捨てる。洗浄しても白い汚れがガラス内壁に残る場合は、濃塩酸を新しいものに交換すること。
- ⑤ エタノールをバイアルのネック部分まで加えた後、回収する（洗浄用としてエタノールは使いまわす）。
- ⑥ 超純水で内部を数回すすぎ、水をよく切った後に内部に埃が付かないようにラップでくるむか、チャック付きポリエチレン袋などの袋に入れて次の利用まで保管する。乾燥過程で埃が付着するので完全に乾燥させる必要は無い。

## 5. 色見本を用いた検量線の作成

スキャナー本体の変更、スキャナーのソフトやドライバのバージョン変更、スキャン条件の変更をしない限り毎回検量線を作成する必要は無い。スキャナーの利用環境にもよるが1年に1回程度の頻度で作成すれば良い。なお、使用するGIMPやExcelのバージョンによっては下記の手順と異なることもある。

- (1) 設定済みの条件で色見本(図19)のスキャナー画像を取り込み保存する。



図19. 色見本

- (2) GIMPを立ち上げ保存した画像ファイルをGIMPから読み込む。「RGB作業スペースに変換しますか?」と問われた場合は、「変換しない」を選択する。
- (3) 「ツール」もしくは「ウィンドウ」から「ツールボックス」を選択、さらに「ウィンドウ」から「ドッキング可能なダイアログ」を選択し「ツールオプション」と「ヒストグラム」を選択し表示させる。ツールボックスの中の「ズーム」ボタンをクリックし色見本の呈色部分を適当に拡大した後、「ツールボックス」の中の「楕円選択」を選ぶ。「ツールオプション」の中から「値を固定」を選択し、「サイズ」とする。サイズは75×75と変更する。呈色部分にカーソルを移動させクリックすると直径75ピクセルの円形に選択される。選択は境界付近部分を外し、中心付近を含むように選択する(図20)。
- (4) 「ヒストグラム」の「チャンネル」から「青」を選択し、「平均」の値(RGB表色系で色を表現した際の平均B値)を記録する\*。  
\*GIMP 2.10のバージョンからB値が直接数値としては表示されなくなったが、表示される数値に255を乗じるとB値が得られる。
- (5) 色見本の各色に対してB値を記録する。
- (6) Excel等の表計算プログラムにおいて、例えばB値をA2セルからA12セルに入力し、コメ中無機ヒ素濃度(mg/kg)をB2セルからB12セルに入力し、B値をX軸にコメ中無機ヒ素濃度をY軸として、Excelで散布図を描画する。図21に例を示した。
- (7) 散布図から四次の多項式近似を用いて近似曲線を作成する。この際に数式及び $R^2$ も同時に表示させる。
- (8) Excelの場合だと、四次の多項式近似( $y=ax^4 + bx^3 + cx^2 + dx + e$ )における、各係数(a, b, c, d, e)を適当な空いているセルにINDEX及びLINEST関数を用いて取得する。例えばD2セルからD6セルに次の式を入力する。

=INDEX(LINEST(B2:B12, A2:A12^{1, 2, 3, 4}), 1, 1) …… a を取得する入力式  
 =INDEX(LINEST(B2:B12, A2:A12^{1, 2, 3, 4}), 1, 2) …… b を取得する入力式  
 =INDEX(LINEST(B2:B12, A2:A12^{1, 2, 3, 4}), 1, 3) …… c を取得する入力式  
 =INDEX(LINEST(B2:B12, A2:A12^{1, 2, 3, 4}), 1, 4) …… d を取得する入力式  
 =INDEX(LINEST(B2:B12, A2:A12^{1, 2, 3, 4}), 1, 5) …… e を取得する入力式

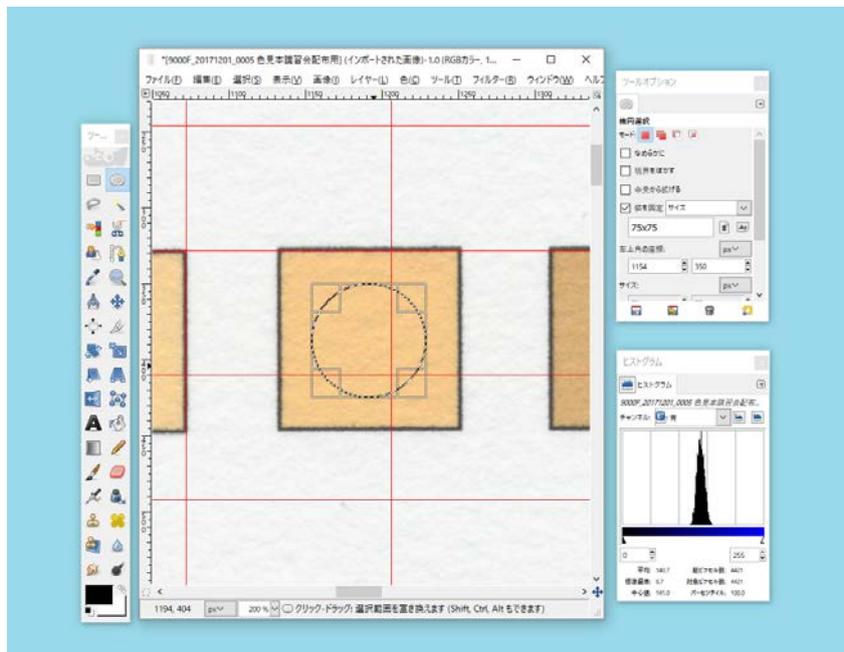


図 2 0. 色見本からの B 値の取得

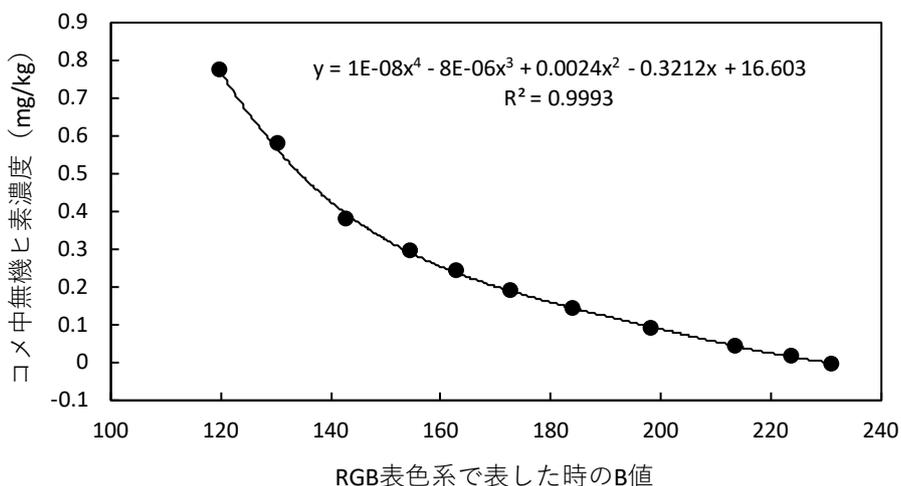


図 2 1. 色見本から作成された検量線例

6. 円形ろ紙の画像解析 (図 2 2 参照)

- (1) 保存した画像ファイルを読み込む。

- (2) 色見本と同様手順で直径 75 ピクセルの円で円形ろ紙中央部を選択する。
- (3) 選択部の平均 B 値を記録する。

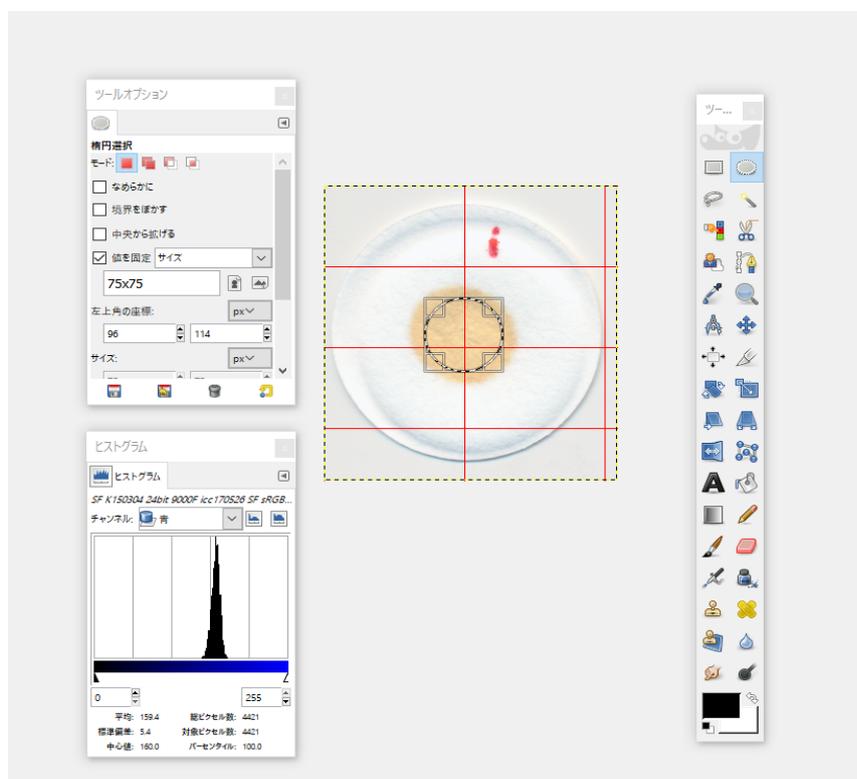


図 2 2. 画像解析画面

- (4) 図 2 3には通常の呈色された円形ろ紙と共に、円形ろ紙の呈色に異常が見られた場合の例を示した。例①から③は通常の呈色された状態である。例④では灰色の斑点は垂鉛粉末が付着した部分である。この程度ならそのまま解析して問題は無い。一部に多量の垂鉛粉末が付着したなら、例⑤、例⑥のように小さな円を使って垂鉛粉末部分を避けると良い。例⑤では中心付近の色が薄い、これは反応液が跳ねたためである。このまま赤破線で示す直径 75 ピクセルの円を使って定量すると 10~15%低く定量される。このような場合は、色の薄い範囲を避けた小さな円（赤実線）を使って定量すると良い。呈色全体の半分を超えて色が薄いような場合は再分析する。例⑥も反応液が跳ねた例である。一部が完全に白く色抜けしている。このような場合も例⑤と同様に小さな円を使って定量すると良い。

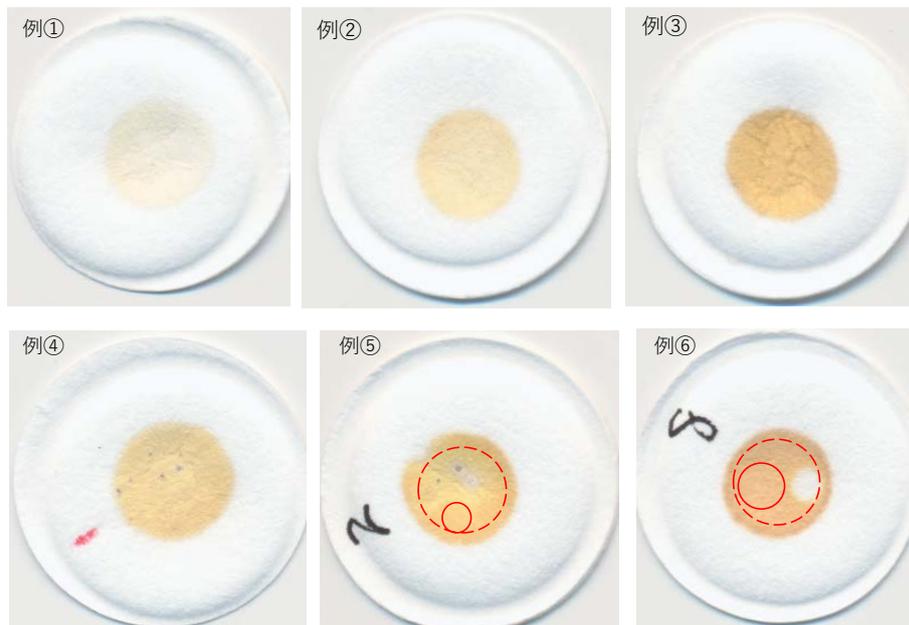


図 2.3. 呈色した円形ろ紙の例

## 7. コメ中無機ヒ素含量の定量

コメ抽出液から得られた B 値と検量線の多項式から抽出液中無機ヒ素含量を得る。

- (1) Excel の適当な空のセルに任意の B 値を適当に入力する（例えば F2 セルに入力）。
- (2) Excel の適当な空のセル例えば G2 セルに、5. (8) で得られた多項式と (1) で入力した B 値（F2 セルに入力されているとする）から無機ヒ素含量を計算する式を入力する。

例えば 5. (8) の例のように多項式の各係数 a、b、c、d、e が D2 セルから D6 セルに取得されているとすると、

$$=D\$2*F2^4+*D\$3*F2^3+D\$4*F2^2+D\$5*F2+D\$6$$

を計算し、コメ中無機ヒ素濃度を求めることができる。

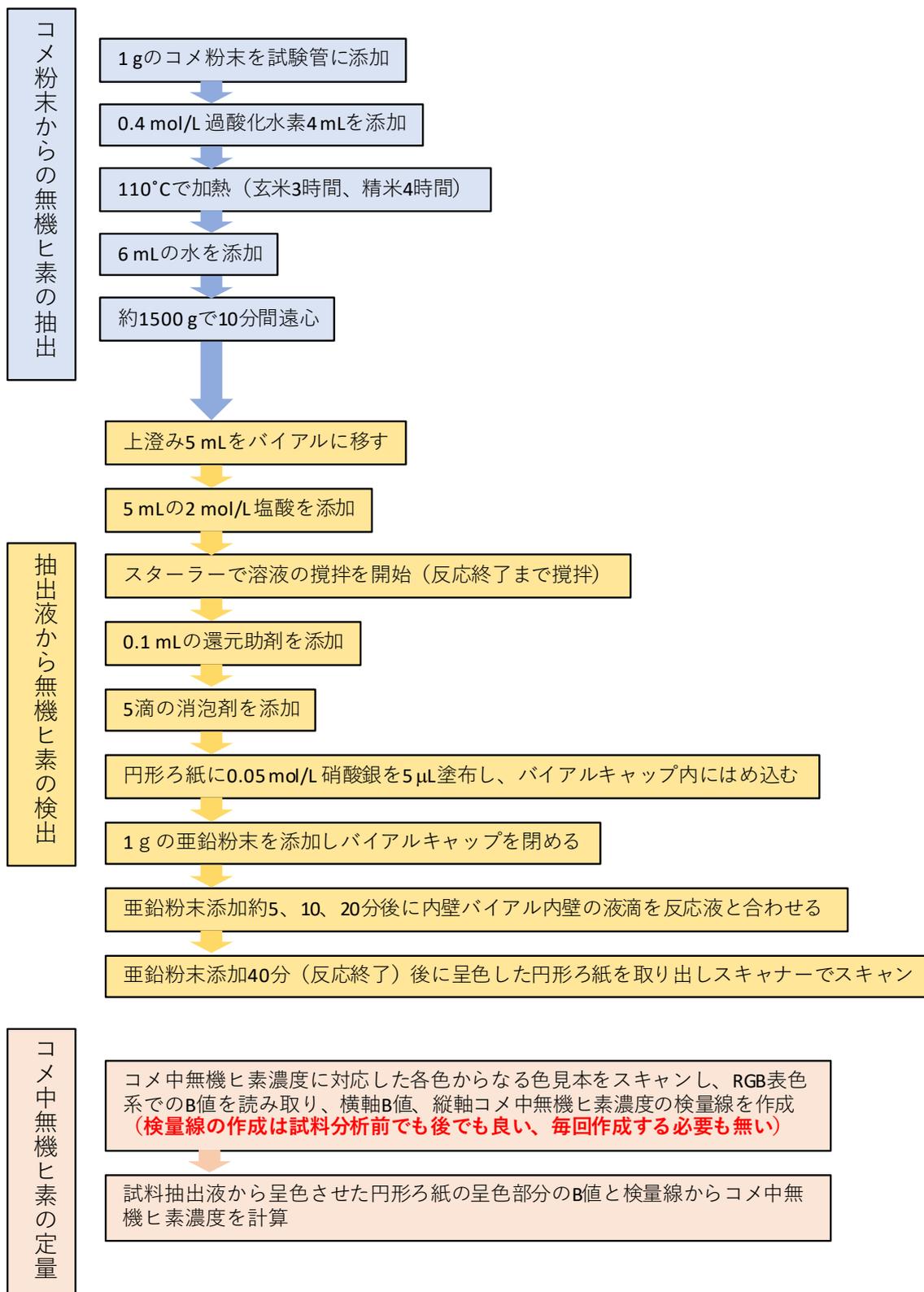
## 8. 廃棄物の処理

処理の方法は利用者の所属する組織のきまりに従い処理することになるが、例として下のような処理になる。

- (1) 使用済み垂鉛粉末はバイアル内溶液と分離し（p14 分析後のバイアル洗浄方法を参照）、回収し 1 カ所に集めて保管する（ポリ瓶でもガラス瓶でも良い）。量がまとまったら産業廃棄物として処理する。
- (2) 硝酸銀が塗布された円形ろ紙は 1 カ所に集めて保管し（厚手のポリ袋でもポリ瓶でもガラス瓶でも良い）、量がまとまったら産業廃棄物として処理する。

- (3) 廃液は亜鉛を高濃度に含む 1 mol/L 塩酸が主であり、微量の消泡剤（ポリエーテル系）とモリブデン、タングステンを含む。重金属（酸性）の廃液タンクにまとめて保管し、量がまとまったら産業廃棄物として処理する。

## 9. 分析スキーム



付録. 分析法の妥当性確認データ

表 1. 添加試験\*における回収率、併行標準偏差、室内標準偏差、定量下限

	無機ヒ素 添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	相対併行 標準偏差 (%)	相対室内 標準偏差 (%)	検出限界 (mg/kg)**	定量下限 (mg/kg)**
玄米***	0.07	92	7.3	18.1		
	0.175	97	4.3	3.5	0.03	0.09
	0.35	91	3.3	9.4		
精米***	0.04	97	6.2	9.0		
	0.1	91	1.6	3.1	0.01	0.05
	0.2	93	2.6	2.4		

\*各試験日において2併行、5日間試験を行った。

\*\*検出限界並びに定量下限は最低濃度の添加回収試験計10回の標準偏差の3倍、10倍を与える濃度とした。

\*\*\*添加試験には高速液体クロマトグラフ—誘導結合プラズマ質量分析法 (HPLC-ICPMS) での定量下限 0.002 mg/kg 未満のヒ素を含む試料を用いた。

表 2. コメ認証標準物質の分析

認証標準物質	無機ヒ素認証値 (mg/kg)	簡易分析値 (mg/kg)	認証値に対する 比率(%)
NIST 1568b	0.092	0.092	101
NMIJ 7532a	0.298	0.279	94
NMIJ 7533a	0.530	0.511	96

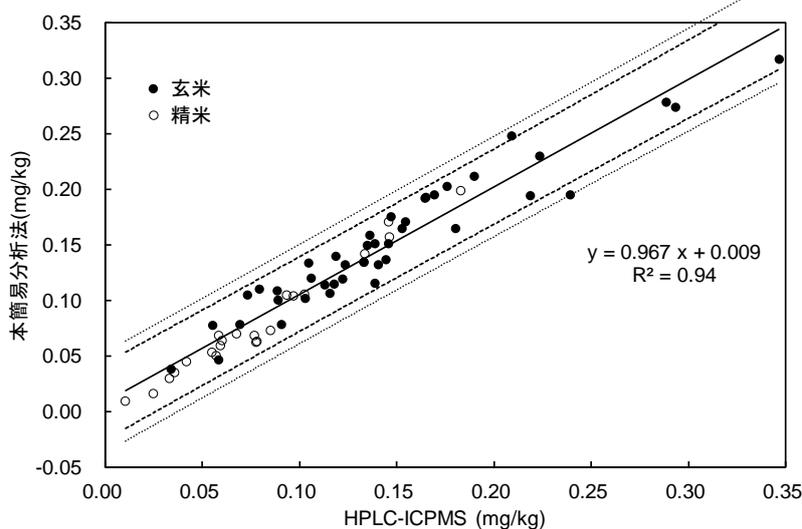


図 1. コメ中の無機ヒ素分析  
機器分析 (HPLC-ICPMS) と簡易分析の比較  
破線 : 95%予測区間、点線 99%予測区間

本標準操作手順書は、農林水産省委託プロジェクト研究「食品の安全性と動物衛生の向上のためのプロジェクト」（平成25～29年度）の成果の一部を利用し、農研機構農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域の責任において作成したものです。

プロジェクトリーダー：加藤直人（農研機構農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

研究担当：川崎晃（農研機構中央農業研究センター）・阿部薫（農研機構農業環境変動研究センター物質循環研究領域）・馬場浩司（農研機構農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

標準操作手順書執筆：馬場浩司（農研機構農業環境変動研究センター有害化学物質研究領域）

【標準操作手順書】コメ中無機ヒ素の簡易分析法

Ver. 1.1（2019年11月）

編集・発行：農研機構農業環境変動研究センター

〒305-8604 茨城県つくば市観音台3-1-3

問い合わせ先：有害化学物質研究領域 馬場浩司

E-mail: kojibaba@affrc.go.jp

Tel: 029-838-8191