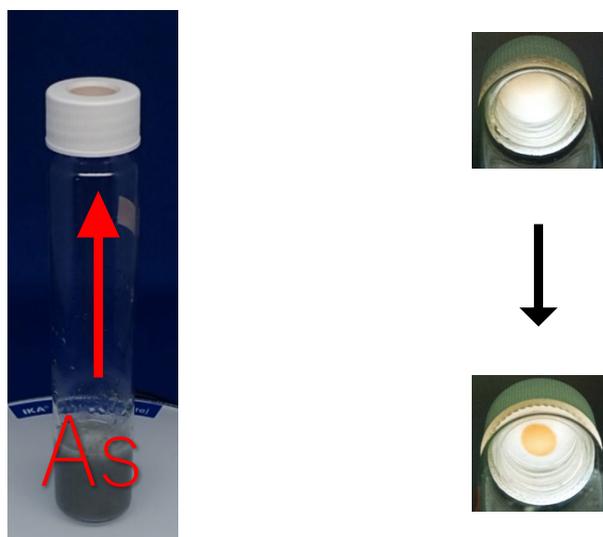


コメ中無機ヒ素の簡易分析 標準作業手順書

公開版

(これはサンプル版です)



目次

はじめに	1
免責事項	3
I. コメ中無機ヒ素分析の基礎知識	4
1. コメ中ヒ素の概要	4
2. コメ中無機ヒ素の機器分析	3
3. 無機ヒ素の簡易分析	5
II. コメ中無機ヒ素の簡易分析法	7
1. 分析の適用範囲	7
2. 分析法の概要	7
3. 安全上の配慮	10
4. 分析の手順	10
(1) 試薬・器具等・検量線作成用溶液・分析用試料	10
(2) 器材・器具の準備	14
(3) 試薬の調製	17
(4) 分析手順	18
(5) 色見本を用いた検量線の作成	32
(6) 円形ろ紙の画像解析	38
(7) コメ中無機ヒ素濃度の定量	39
(8) 分析後のバイアル洗浄と廃棄物の処理	40
III. 分析法の妥当性確認データ	43
IV. 想定される普及対象	45
V. 経済効果	45
参考資料	47

はじめに

ヒ素はヒトにとって有害な元素であることはよく知られていますが、自然環境中に広く存在しており、濃度は様々ですが土や水、生物にも含まれています。そのため、ヒトは主に飲料水や農畜産物、水産物といった食品を通じてヒ素を摂取しています。自然界には様々な化学構造をもったヒ素化合物が知られていますが、化学構造の中でヒ素原子と炭素原子の間に化学結合の無い無機ヒ素化合物（以下、無機ヒ素と呼びます）が、ヒ素原子と炭素原子の間に化学結合のある有機ヒ素化合物（以下、有機ヒ素と呼びます）に比べて毒性が高いとされています。この無機ヒ素に関して、食品からの摂取におけるコメからの寄与が大きいことから、コーデックス委員会*において、玄米並びに精米の最大基準値が、それぞれ 0.35 mg/kg、0.2 mg/kg と決められています。今後、国内における基準値が設定されることも考えられることや、コメの輸出促進の点から、コメ生産者並びに関連事業者、行政当局においては、コメ中の無機ヒ素含量を把握する必要性が増大していくと予想されます。現状では、コメ中無機ヒ素の分析は、十分な知識・技能・経験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が専ら利用されていますが、その分析ができる機関は限られています。このため、より現場に近いところで、より安価かつ迅速に分析できる方法が求められています。水銀化合物を使った簡易分析法も近年報告されていますが、2017 年の水俣条約発効もあり、毒性の高い水銀化合物を必要としない代替法が求められています。

本標準作業手順書は、2019 年から公開していた技術マニュアル**を農研機構 SOP のフォーマットに合わせて再構成したものであり、公開以降、利用者からいただいた意見を参考に一部改良を加えています。簡易分析の主な手順は、過酸化水素水溶液でコメ粉末から抽出した無機ヒ素を還元水素化し、得られたアルシンガスを円形ろ紙に塗布しておいた硝酸銀に反応させ、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、一般的な理化学試験が可能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す。また、水銀化合物も利用しません。

本簡易分析法は、公設農業試験研究機関、農業団体検査機関、コメ卸業者、コメ加工業者、受託分析機関への普及が想定されます。利用にあたっては、予め本標準作業手順書を理解いただき、不明な点については問い合わせ願います。

*コーデックス委員会

コーデックス委員会は、消費者の健康の保護、食品の公正な貿易の確保等を目的として、1963年にFAO及びWHOにより設置された国際的な政府間機関であり、国際食品規格（コーデックス規格）の策定等を行っています。

<https://www.maff.go.jp/j/syouan/kijun/codex/outline.html>

**コメ中無機ヒ素の簡易分析法

https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/pamphlet/tech-pamph/121228.html

■ 免責事項

- 農研機構は、利用者が本作業手順書に記載された技術を利用したこと、あるいは技術を利用できないことによる結果について、一切責任を負いません。
- 農研機構は、利用者が本作業手順書に記載された技術を利用したことによる健康上の被害について、一切責任を負いません。
- 本手順書中の図表、写真、イラストには農研機構が著作権を保有しているもの、第三者から転載・引用の許諾を得て掲載しているものが含まれます。複製には許諾が必要となります。

I. コメ中無機ヒ素分析の基礎知識

1. コメ中ヒ素の概要

コメを含めた食品中のヒ素に関する基礎情報、食品からのヒ素の摂取量、食品に含まれるヒ素の実態調査については農林水産省のホームページにおいて詳細に解説されています（参考資料 1）。

一部内容を紹介すると、

- ① 日本人の無機ヒ素の摂取は 3 分の 2 程度がコメ由来。
- ② 日本の玄米中ヒ素の 9 割程度は無機ヒ素（2012 年度産平均値）。
- ③ 日本の玄米に含まれる無機ヒ素の実態は 0.15 mg/kg 程度（2018 年産）。
- ④ 日本の精米に含まれる無機ヒ素は玄米対比で中央値 64 %（2017 年産と 2018 年産の 2 年分を対象にした中央値）。
- ⑤ 2017 年から 2019 年産の玄米においては 99%以上がコーデックス基準値（0.35 mg/kg）未満。

2. コメ中無機ヒ素の機器分析

コメ中無機ヒ素の定量は主に、微量元素分析装置である誘導結合プラズマ質量分析装置（ICPMS）に化合物を分離する高速液体クロマトグラフィー（HPLC）やイオンクロマトグラフィー（IC）を組み合わせた、HPLC-ICPMS あるいは IC-ICPMS により実施されています。図 I-1 に HPLC-ICPMS による分析の 1 例を示しました。HPLC-ICPMS の導入には 3,000 万円近く必要であり、維持費用やランニングコストも安価とは言えません。より安価な装置である原子吸光分光分析装置や誘導結合プラズマ発光分光分析装置でも定量は可能ですが、水素化物発生装置と組み合わせて使用する必要があり、熟練の分析者による十分な条件検討が必要です。

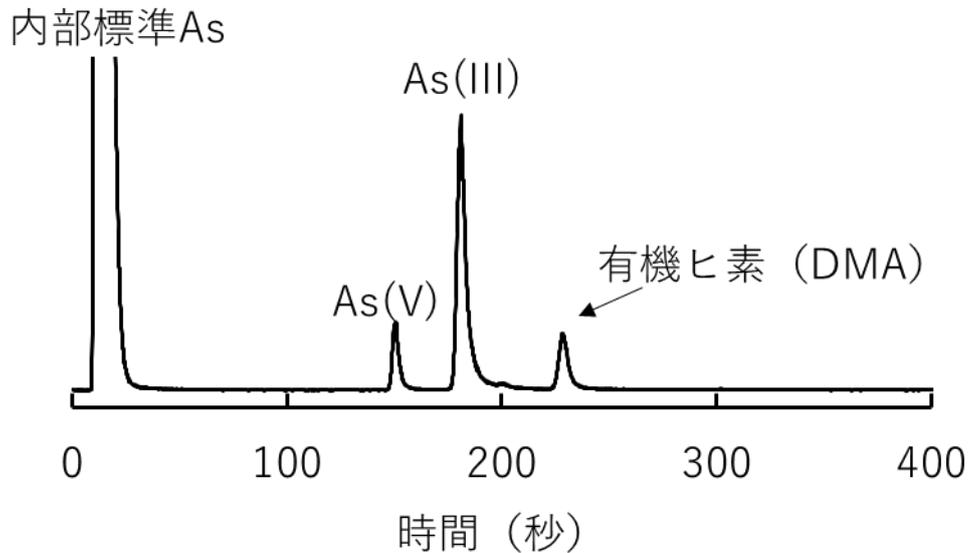


図 I-1 コメ中無機ヒ素の機器分析 (HPLC-ICPMS)

コメでは亜ヒ酸 (As(III)) やヒ酸 (As(V)) といった無機ヒ素が主であり、中でも亜ヒ酸の割合が高くなっています。ただし、抽出過程で一部のヒ酸は亜ヒ酸に還元されますので、コメ中の亜ヒ酸とヒ酸の正確な定量はできず、亜ヒ酸とヒ酸を合計した無機ヒ素として評価されます。内部標準 As は長時間分析の際に、As の感度変動を補正するために、外部バルブを経由して導入されているものであり、コメに含まれているものではありません。有機ヒ素の 1 つであるジメチルアルシン酸 (DMA) も検出されることが多い化学種です。

3. 無機ヒ素の簡易分析

水溶液試料に含まれる無機ヒ素を簡易に検出する方法として、Gutzeit 法が古くから利用されています。検液中の無機ヒ素を還元剤により還元し、アルシン (水素化ヒ素、 AsH_3) にして気化させ、アルシンと呈色反応する試薬と反応させて、その色の変化 (黄色の程度) から無機ヒ素濃度を評価します (図 I-2)。

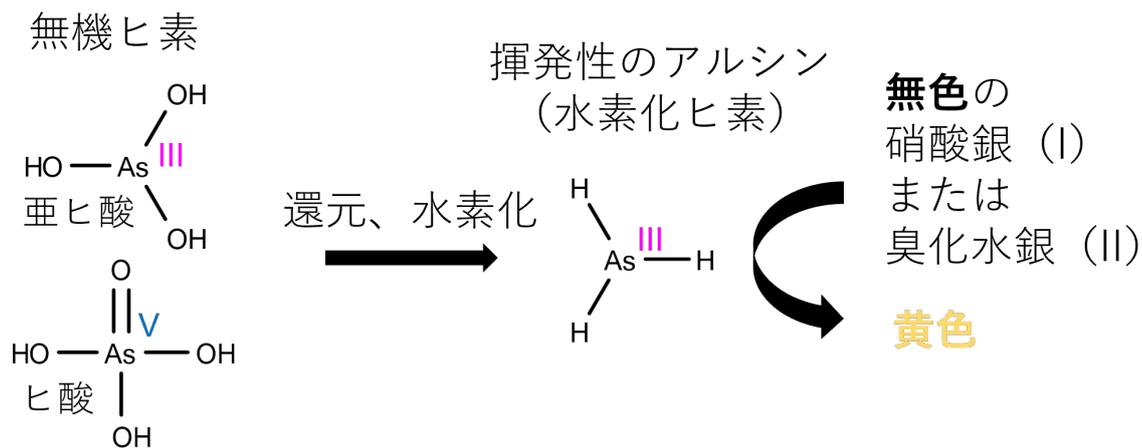


図 I-2 Gutzeit 法による無機ヒ素の分析

発色の濃さから、目視または分光光度計等を用いて無機ヒ素濃度を評価します。

II. コメ中無機ヒ素の簡易分析法

1. 分析の適用範囲

- (1) 分析対象はコメ（玄米及び精米）粉末です。
- (2) 分析種は無機ヒ素であり、亜ヒ酸とヒ酸をあわせたものです*。

*有機ヒ素も無機ヒ素の 10 分の 1 程度の感度で呈色に寄与します。すなわち、無機ヒ素と有機ヒ素の割合が 1 : 1 程度の場合は、本来の無機ヒ素濃度より 1 割程度高濃度に評価してしまいます。ただし、I.1.で紹介した実態調査では無機ヒ素は総ヒ素の 9 割程度ですので、有機ヒ素による無機ヒ素濃度への影響は 1 %程度となります。外国産米には有機ヒ素が無機ヒ素より高濃度なコメも報告されていますので、外国産米への適用に関しては注意が必要です（参考資料 2）。

- (3) 分析濃度範囲はヒ素の濃度として 0.1 mg/kg から 0.5 mg/kg の範囲です*。

*2017 年から 2019 年に実施された農林水産省実態調査の 1,500 試料中、0.5 mg/kg を超過した試料は 2 点でした。

2. 分析法の概要

本簡易分析法において無機ヒ素を含む溶液からヒ素を検出する基本的原理は I.3.で紹介した Gutzeit 法によります。ただし、コメからの抽出液に適用できるように Gutzeit 法の手順を変更し、抽出方法についても最適化しています。本簡易分析法では国内で入手可能な器具、試薬のみを用いて、水銀化合物を用いることなく、コメ中無機ヒ素の定量ができる簡易分析という点で既存の方法に比べて優れています（参考資料 3）。

分析全体の流れを図 II-1 に示しました。コメ粉末に過酸化水素水溶液を加えて無機ヒ素を加熱抽出し（図の青の部分）、得られた抽出液に消泡剤と還元助剤を加えたのち、

塩酸と亜鉛により無機ヒ素を還元、水素化、気化させ、生成したアルシンを試験紙に塗布した硝酸銀と反応させ呈色させます（図の橙色の部分）。スキャナーで色を読み取り、色見本から作成した検量線によりコメ中無機ヒ素濃度を求めます（図の肌色の部分）。

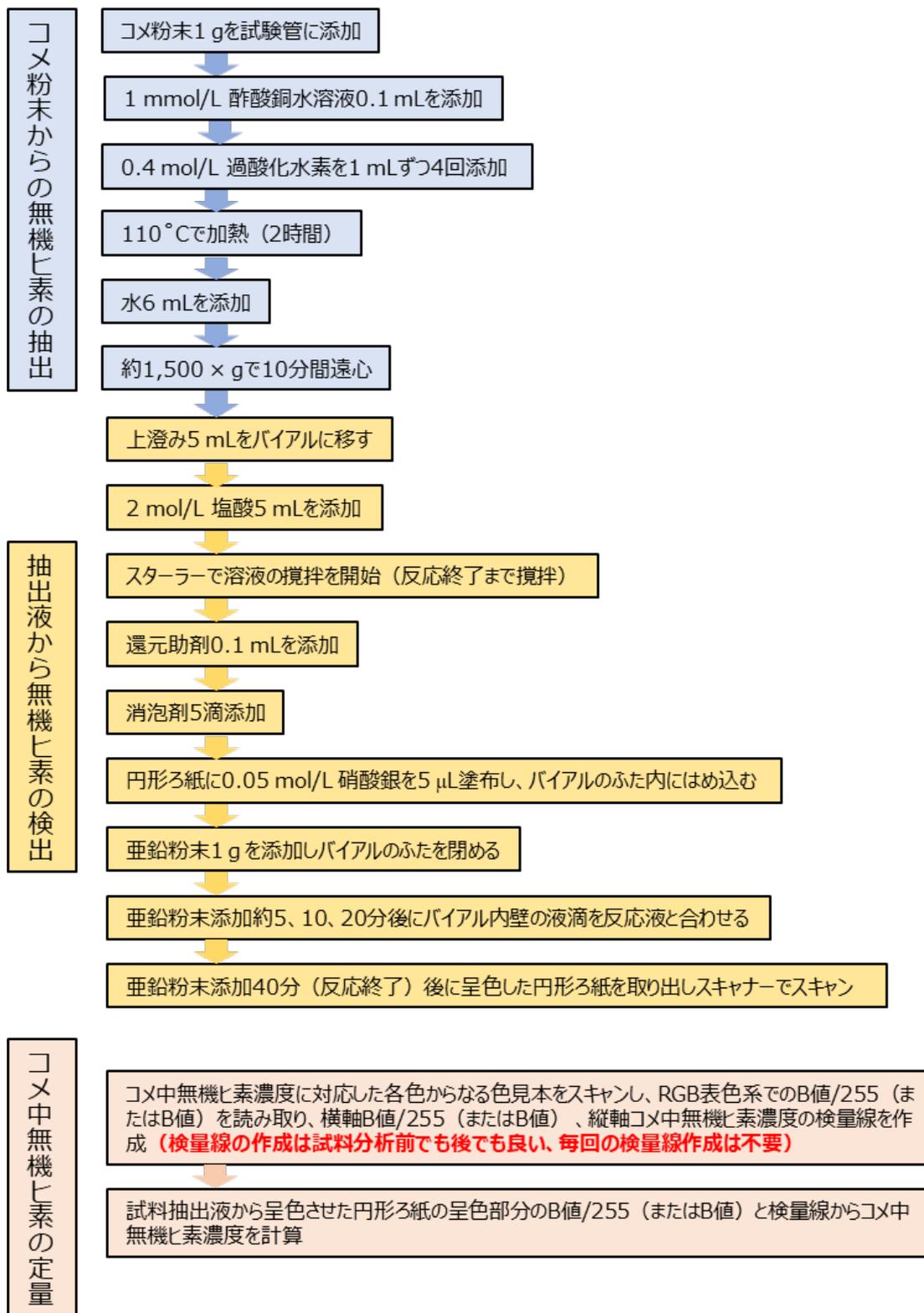


図 II-1 コメ中無機ヒ素の簡易分析法の流れ

Ⅲ. 分析法妥当性の確認データ

表 III-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 日間試験を行いました。添加試験には高速液体クロマトグラフー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、Codex 基準値、基準値の 1/2、基準値の 1/5 となるように亜ヒ酸溶液を添加しました。

**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ました。

表 III-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 回収率(%)
NIST 1568b	0.092	0.092	101
NMIJ 7532a	0.298	0.279	94
NMIJ 7533a	0.530	0.511	96

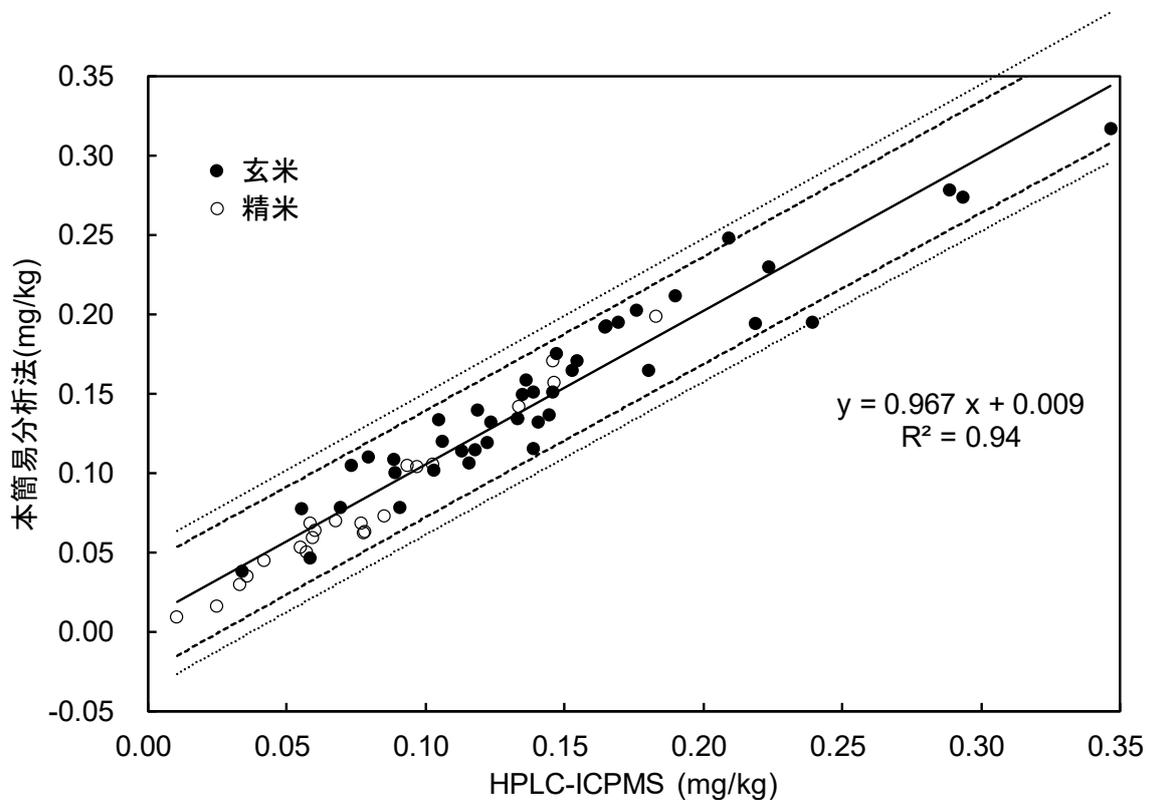


図 III-1 市場に流通しているコメ中の無機ヒ素
簡易分析と機器分析 (HPLC-ICPMS)

破線 : 95 %予測区間、点線 99 %予測区間

IV. 普及対象

本技術は、公設農業試験研究機関、農業団体検査機関、コメ卸業者、コメ加工業者、受託分析機関への普及が想定されます。分析の実施者には、分析時に使用するピペッターや電子天秤、ブロックヒーター、（使用する場合は）遠心機、表計算ソフトの使用経験を有することが望ましいです。使用経験がない機器、ソフトウェアについては分析を実施する前に、本簡易分析法でおこなう操作に関して各機器、ソフトウェアの取扱説明書にて確認し、予め操作に習熟された上で分析を実施してください。

V. 経済効果

本簡易分析に必要な消耗品や初期費用の試算を表 V-1 に示します（2016 年時の価格に基づく試算です）。機器分析を行う受託分析機関では 1 検体の価格が 10,000 円から 20,000 円となっています。一方、簡易分析では 1 検体当たりの消耗品は、日常的に理化学試験を行う機関で 100 円前後です。また、必要な器具・備品等を既に機関で有している場合、初期費用は抑えられると考えられます。

表 V-1 本簡易分析に係る消耗品及び初期費用

1 検体当たりの消耗品

品目	円	備考
試薬一式	21	使用量と価格・内容量から計算
超純水	88	使用量（分析に約 10 mL、使用前の洗浄に約 50 mL）と価格・内容量から計算
消耗品（薬包紙、ろ紙、ピペットチップ、抽出用試験管）	61	使用量と価格・内容量から計算
試薬 + 消耗品	82	ラボに超純水製造装置がある場合
試薬 + 超純水 + 消耗品	170	ラボに超純水製造装置が無い場合

初期費用

15 mm スターラーチップ	1,800	10 個
VOA バイアル（ふた込み）	20,000	72 本入（洗浄後再利用）
塩酸 500 mL	1,100	洗浄用（使い捨てせず再利用）
エタノール 500 mL	2,110	洗浄用（使い捨てせず再利用）
合計	25,010	

必要な実験器具（価格は一例）

アルミブロック	25,000	
ブロックヒーター	112,000	ホットプレートとアルミブロックの組み合わせでも代用可
フラットヘッドスキャナー	10,000	家庭用の安いもので十分、複合機でも良い
分析用天びん	59,000	最小表示 0.01 g か、それ以下を表示できるもの
ピペッター一式（容量 4 種）	148,000	1 mL、100 μ L、200 μ L、5 または 10 μ L 用があれば十分
スターラー	86,900	5 検体連続で分析を進める想定として 5 連スターラーか 1 台の強磁カスターラー

あると便利な実験器具（無くても問題ない、価格は一例）

遠心機	140,000～	抽出液の遠心に使用。無ければ静置でも良い
超純水製造装置	500,000～	消耗品費としては超純水費が半分近くを占める

担当窓口、連絡先

外部からの受付窓口：

農研機構 基盤技術研究本部 研究推進室 www_kiban@ml.affrc.go.jp



「農研機構」は、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構のコミュニケーションネーム（通称）です。