

6 乾牧草及び稲わら中のカドミウムの原子吸光光度計による定量法への湿式分解追加に係る妥当性確認

元木 太郎^{*1}, 板橋 葵^{*2}, 門屋 日菜^{*2}

Validation Study for Addition of Wet Decomposition to Determination Method of Cadmium in Grass Hay and Rice Straw by Atomic Absorption Spectrometer

MOTOKI Taro^{*1}, ITABASHI Aoi^{*2} and KADOYA Hina^{*2}

(*1 Fertilizer and Feed Inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC)
(Now Kanto Regional Agricultural Administration Office, Ministry of Agriculture,

Forestry and Fisheries of Japan),

^{*2} Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC)

We have made a validation study for addition of wet decomposition to the determination method of cadmium in grass hay and rice straw. The method, which uses an atomic absorption spectrometer, has been listed in the Feed Analysis Standard of Japan.

Having heated a sample at 400 °C for 8 hours by an electric furnace, nitric acid and perchloric acid were added to the residue. The residue was further heated by sand bath. With the addition of water and hydrochloric acid, the residue was further heated. The heated solution was diluted with water, and then filtered. Cadmium in the filtrate was quantified by an atomic absorption spectrometer.

Recovery tests were conducted on timothy hay and rice straw. Cadmium was added at the levels of 0.1 and 1 mg/kg for timothy hay and 0.2 and 1 mg/kg for rice straw. The resulting mean recoveries ranged from 84.6 % to 101 % for timothy hay, and 86.2 % to 112 % for rice straw. The repeatability in the form of the relative standard deviations (RSD_r) was less than 7.0 % for timothy hay and less than 4.0 % for rice straw. After the sample amount reduction to prevent bumping, the limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of rice straw were reevaluated, and determined as 0.05 mg/kg and 0.2 mg/kg, respectively.

Key words: cadmium; atomic absorption spectrometer; rice straw; glass hay

キーワード：カドミウム；原子吸光光度計；稲わら；乾牧草

1 緒 言

飼料中のカドミウムは、配合飼料で 0.8 mg/kg, 乾牧草等で 1 mg/kg, 魚粉, 肉粉及び肉骨粉で 3 mg/kg の管理基準が定められている¹⁾。

カドミウムの分析法としては、試料の灰化後、酸による溶解を行い、原子吸光光度計により測定する方法が飼料分析基準²⁾（以下「飼料分析基準法」という。）に記載されている。しかし、令和元年度の野村ら³⁾による誘導結合プラズマ質量分析計法の妥当性確認を行う過程で、稲わらの飼料分析基準法での定量値が真値よりも低い可能性が示唆され、令和3年度に林ら⁴⁾の検討で、飼料分析基準法における灰化温度が高いと稲わらの定量値及び添加回収試験による回収率が低下すること

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部, 現 農林水産省関東農政局

^{*2} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

が判明した。このとき、400 °C での灰化後、硝酸及び過塩素酸を用いて湿式分解する方法（以下「湿式分解追加法」という。）で、定量値及び回収率の向上が確認された。

そこで今回は、稲わら及び乾牧草について、飼料分析基準法への湿式分解の追加に係る妥当性確認を実施したので、その概要を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

稲わら及び乾牧草（アルファルファ乾草，チモシー乾草及びスーダングラス乾草）を目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉碎機で粉碎し、分析用試料とした。

2.2 試薬

1) 塩酸，硝酸及び過塩素酸は有害金属測定用（富士フィルム和光純薬製）を用いた。水は Milli-Q Integral 5（Merck Millipore 製）により精製した超純水（JIS K0211 の 5218 に定義された超純水）を用いた。

2) カドミウム標準液

カドミウム標準原液は、カドミウム標準液（Cd 100）（富士フィルム和光純薬製，保証値 100.6 µg/mL，JCSS 対応）を用いた。使用に際して，カドミウム標準原液の一部を，塩酸（1+10）で正確に希釈し，1 mL 中にカドミウムとしてそれぞれ 0.02，0.04，0.08，0.2 及び 0.4 µg を含有する各標準液を調製した。

2.3 装置及び器具

1) 粉碎機：SM 100 Retsch 製（1 mm スクリーン，回転数（仕様）1500 rpm）

2) 偏光ゼーマン原子吸光光度計：Z-2310 日立製作所製

2.4 定量方法

1) 試料溶液の調製

i 飼料分析基準法

飼料分析基準第 4 章第 1 節の「12 カドミウム」の「12.2 簡易法」に従った。詳細は以下のとおり。

分析試料 5.0 g を量って 100 mL のトールビーカーに入れ，電気炉中で穏やかに加熱し炭化させた後徐々に昇温し，480 °C で 15 時間加熱して試料を灰化させた。残留物に少量の水及び塩酸 10 mL を徐々に加え，更に水を加えて 30 mL とし，トールビーカーを時計皿で覆い，ホットプレート上で数分間煮沸した後放冷した。この液を水で 100 mL の全量フラスコに移し，更に標線まで水を加えた後，ろ紙（6 種）でろ過し，試料溶液とした。

ii 湿式分解追加法（飼料分析基準法との相違点を下線で示した。）

分析試料 5.0 g を量って 200 mL（稲わらの場合は試料 2.5 g 又は 5.0 g を 500 mL） のトールビーカーに入れ，電気炉中で穏やかに加熱し炭化させた後徐々に昇温し，400 °C で 8 時間加熱した。 残留物に硝酸 5 mL（稲わらの場合は 15 mL）及び過塩素酸 5 mL を加え，時計皿で覆い，ほとんど乾固するまで砂浴上で加熱分解した。 なお，黒い残留物が残った状態で液量が減少した場合は砂浴から下ろし，放冷後，硝酸 1 mL 程度を加え，砂浴上で更に加熱を続けた。 分解が進み，黒い残留物がなくなり液色が薄くなった後，時計皿をはずし，ほとんど乾固するまで濃縮した後放冷した。 残留物に少量の水及び塩酸 10 mL を徐々に加え，更に

水を加えて 30 mL とし、トールビーカーを時計皿で覆い、ホットプレート上で加熱した後放冷した。この液を水で 100 mL の全量フラスコに移し、更に標線まで水を加えた後、ろ紙（6種）でろ過し、試料溶液とした。

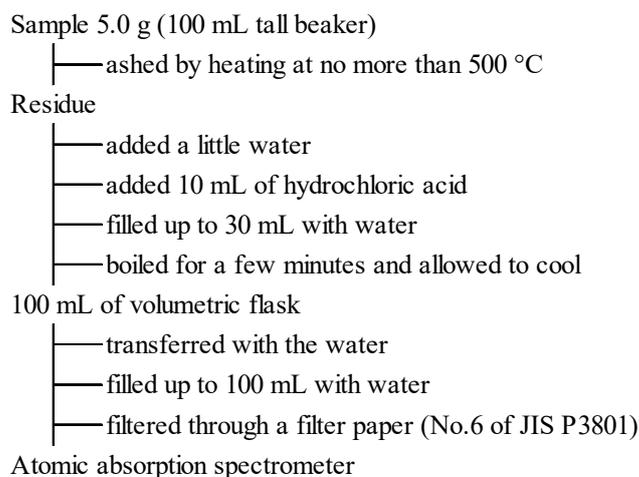
2) 原子吸光光度計による測定

試料溶液及び各標準液を原子吸光光度計によるアセチレン-空気フレーム中で波長 228.8 nm の吸光度を測定した。

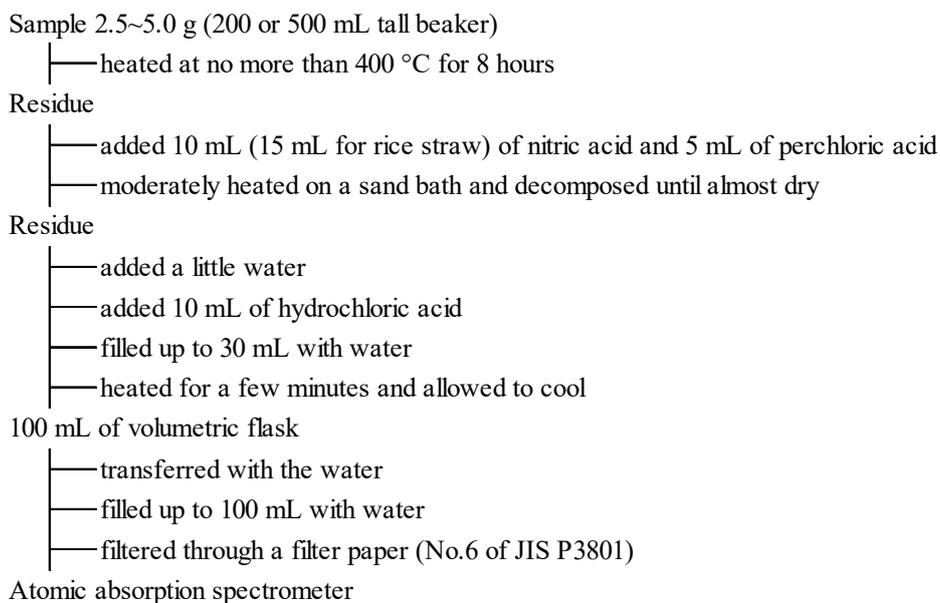
3) 計算

得られた吸光度から検量線を作成し、試料中のカドミウム量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 及び 2 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure (Analytical Standards of Feeds)



Scheme 2 Analytical procedure (method of wet decomposition)

2.5 添加回収試験

2.2 の 2) のカドミウム標準原液を添加に用いた。

乾牧草（アルファルファ乾草，チモシー乾草及びスーダングラス乾草）にカドミウムとして 0.1 及び 1 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 10 及び 50 ng/mL），稲わらにカドミウムとして 0.2 及び 1 mg/kg 相当量（同 10 及び 25 ng/mL）となるように添加し，2.4 に従って定量し，平均回収率及び繰返し精度を求めた。ただし，稲わらに 0.2 mg/kg 相当量添加する場合は分析試料の採取量を 5.0 g とし，1 mg/kg 相当量添加する場合は 2.5 g とした。なお，乾牧草における湿式分解追加法での 0.1 mg/kg 相当量の添加回収試験については，砂浴上での加熱分解以降の工程を半量にダウンスケールして行った。

また，同時にカドミウムを添加しない試料ブランク溶液を調製し，回収率は試料ブランク溶液の値を差し引いて算出した。

3 結果及び考察

3.1 添加回収試験

2.5 により添加回収試験を実施した。

1) 飼料分析基準法

480 °C で灰化を行ったときの回収率は，アルファルファ乾草で 94.8 %，チモシー乾草で 69.8 %，スーダングラス乾草で 47.0 %，稲わらで 55.4 %となり，令和 3 年度に林らが検討した稲わらと同様に一部の乾牧草においても回収率が低くなることが確認された。

2) 湿式分解追加法

1) で回収率の低下が認められた試料のうち，チモシー乾草及び稲わらについて湿式分解を追加し，平均回収率及び繰返し精度を求めた。なお，硝酸及び過塩素酸での加熱分解の過程において，トールビーカー内の残留物の突沸により試料がトールビーカー外へ飛散するおそれがあるため，トールビーカーは 200 又は 500 mL 容のものを用い，試料採取量は 2.5 又は 5.0 g とした。

その結果，Table 1 のとおりの成績が得られ，平均回収率及びその繰返し精度の相対標準偏差（RSD_r）はそれぞれ，乾牧草で 84.6~101 %及び 7.0 %以下，稲わらで 86.2~112 %及び 4.0 %以下であり，飼料分析基準別表 3 の試験法の妥当性確認法ガイドライン（以下「妥当性確認法ガイドライン」という。）に定められた真度及び併行精度の目標値（以下）を満たしていた。

1) 真度：70 %以上 120 %以下

2) 精度：22 %以下（添加濃度 0.1 mg/kg），20 %以下（同 0.2 mg/kg），16 %以下（同 1 mg/kg）

Table 1 Recoveries for cadmium in method of wet decomposition

Feed types	Blank ^{a)} (mg/kg)	Spiked level (mg/kg)	Recovery ^{b)} (%)	RSD _r ^{c)} (%)
Timothy hay	ND	0.1	84.6	7.0
		1	101	5.2
Rice straw	0.377	0.2	112	1.8
		1	86.2	4.0

a) Mean ($n = 3$)b) $100 \times (\text{mean of the five samples} - \text{natural contamination}) / \text{spiked level}$

c) Relative standard deviation of repeatability

ND: Not detected

3.2 定量下限及び検出下限の検討

飼料分析基準法においてカドミウムの定量下限は 0.1 mg/kg と規定されているが、湿式分解追加による稲わらについては、湿式分解時の突沸による試料の飛散を防ぐため試料採取量の上限を引き下げる必要があることから、定量下限及び検出下限について改めて検討を行った。

0.2 mg/kg 相当量（最終試料液中濃度 10 ng/mL 相当量）における添加回収試験を実施したところ、3.1 の 2) のとおり結果は良好であり、かつ、標準偏差の 10 倍は当該濃度を超えていなかった。従って定量下限の濃度は 0.2 mg/kg とした。

また、検出下限は、先の標準偏差に自由度 4、片側有意水準 0.05 の Student の t -値を乗じた値の 2 倍の値 (= 0.047) から 0.05 mg/kg とした。

設定した定量下限及び検出下限は、乾牧草等のカドミウムの管理基準値に対してそれぞれ 1/5 及び 1/20 であり、妥当性確認法ガイドラインに定められた基準値に対する目標値（定量下限：1/5 以下、検出下限：1/10 以下）を満たしていた。

4 まとめ

乾牧草及び稲わら中のカドミウムの定量法について、飼料分析基準法への湿式分解の追加に係る妥当性確認を実施したところ、以下の結果が得られた。

- 一部の乾牧草及び稲わらについて飼料分析基準法に基づき添加回収試験を行うと回収率が低くなることが確認された。そこで、乾牧草にカドミウムとして 0.1 及び 1 mg/kg 相当量、稲わらにカドミウムとして 0.2 及び 1 mg/kg 相当量を添加した試料について湿式分解追加法で添加回収試験を実施し、平均回収率及び繰返し精度を求めたところ、妥当性確認法ガイドラインに定められた目標値を満たしていた。
- 稲わらについては、突沸による試料の飛散防止のため試料採取量を減らす必要があったことから、定量下限及び検出下限の再検討を行ったところ、定量下限は 0.2 mg/kg、検出下限は 0.05 mg/kg であった。設定した定量下限及び検出下限は、妥当性確認法ガイドラインに定められた目標を満たしていた。

文 献

- 1) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準の制定について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 3) 野村 昌代，伊藤 紗織，田端 麻里：飼料及び愛玩動物中の砒素，カドミウム，鉛及び水銀の迅速・多元素同時定量法の開発，飼料研究報告，45，67-83 (2020).
- 4) 林 菜月，元木 太郎：飼料及び愛玩動物用飼料中の砒素，カドミウム，鉛及び水銀の誘導結合プラズマ質量分析計による迅速・多元素同時分析法の開発，飼料研究報告，47，73-86 (2022).
- 5) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター飼料分析基準研究会，飼料分析法・解説，I，95-100 (2009).