ノート

ICP-MS による調製粉乳中ミネラルの迅速一斉分析

(平成 23 年 3 月 9 日受理)

藤崎 浩二* 藤田 治子 松本 宏志 箸本 弘一 鍵 裕明

Rapid and Simultaneous Determination Method for Analysis of Minerals in Infant Formula Using ICP-MS

Koji FUJISAKI*, Haruko FUJITA, Hiroshi MATSUMOTO, Koichi HASHIMOTO and Hiroaki KAGI

Analytical Research Center, Morinaga Milk Industry Co., Ltd.:

5-1-83 Higashihara, Zama-shi, Kanagawa 252-8583, Japan;

* Corresponding author

A rapid and simultaneous method by using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was developed for determination of 19 elements in infant formula. Fast and efficient sample digestion was achieved by a microwave-assisted nitric acid procedure. An acetic acid was added to both these treated solutions and standard solutions as a countermeasure for carbon charge transfer in As, Se elements. The observed calibration curves showed good linearity ($r^2 > 0.9993$) and the quantification limit was low. The recoveries of elements were 95.0–108% and the relative standard deviations (RSD) of this method were 0.3–4.2%. The analyzed values were in good agreement with the certified values in a NIST standard reference material. This study showed that the ICP-MS method is useful for major to trace multi-elemental determination in infant formula.

(Received March 9, 2011)

Key words: 迅速一斉分析法 rapid and simultaneous method; ICP 質量分析装置 ICP-MS; 主要元素 major element; 超微量元素 trace element; 炭素の電荷移動 carbon charge transfer

緒 言

食品は多くの元素を含有しており、比較的含有量の多い主要元素から超微量なもの、ある量を超えて含まれれば有害なものまで多種多様である。それらは生理作用¹⁾や酵素活性^{2), 3)}、代謝などに密接にかかわっており、従来は不要かつ有害と考えられてきたヒ素やカドミウムなども動物の生命活動にとっての必須性が近年、明らかにされてきている^{4)~7)}。このような趨勢の中で、食品に含まれる栄養素としてのミネラル成分や有害元素に対する社会的関心が高まり、食品中の主要から超微量まで多種多様な元素の分析需要が今後ますます増加するのは必至であり、より簡便、迅速、かつ精確な分析法が強く求められる状況にある。そのような中で、調製粉乳においては、日本乳業協会の調製粉乳における鉛の自主基準設定や、消費者の安全意識の高まりを反映した有害元素の測定需要の増加など、迅速かつ簡便な一斉分析法が必要とされている。近年において、食品中の元素の分析にICP-MSが用いられるようになってき

たが、一部元素において炭素の電荷移動 (carbon charge transfer) に起因する増感現象が生じ、多種類の元素を一斉に分析することが困難な場合が見られた。

そこで本研究では、主として調製粉乳等を対象として、carbon charge transfer による増感現象の補正と、それを用いた主要元素から ppb レベルの超微量元素に至る、比較的分析需要の大きい計 19 元素の迅速一斉分析法の確立を目的とした検討を行った。

その結果、所期の分析法を確立するとともに、その有用性を確認できたのでここに報告する。

Table 1. Operating conditions for ICP-MS

ICP-MS 7500ce	
Plasma condition	
RF power	1.55 kW
Plasma gas flow rate	15 L/min
Makeup gas flow rate	0.3 L/min
Carrier gas flow rate	0.8 L/min
Sampling depth	8.0 mm
Data acquisition	
Data point	3 point/peak
Dwell time	100 msec/point
Repetition	3 times

* 連絡先: E-mail: k-fujisaki@morinagamilk.co.jp
森永乳業株式会社・分析センター: 〒252-8583 神奈川県座間市東原 5-1-83

実験方法

1. 装置

元素の定量には Agilent Technologies 社製 ICP-MS 7500ce を用いた。測定条件を Table 1 に示した。内部標準元素として、コバルト (Co), イットリウム (Y), タリウム (Tl) を用いて補正を行った。試料から測定検液を調製する際の前処理装置として Analytik Jena Japan 社製 TOP wave マイクロ波試料前処理装置を用いた。

2. 試薬

測定検液の調製および希釈には、すべて日本ミリポア (株) 製の Milli-Q Gradient A10 で製造した比抵抗値 18 MΩ・cm 以上、TOC 値 5ppb 以下の超純水を用いた。硝酸は関東化学 (株) 製 Ultrapur-100 を、酢酸は関東化学 (株) 製の 原子吸光分析用を用いた。分析対象元素標準液は、リン (P) の標準液において Aldrich 社製 Phosphorus atomic absorption standard solution (1,000 mg/L) を使用した以外は、すべて関東化学 (株) 製 分析化学用 (1,000 mg/L) を用いた。

3. 試料

標準試料として NIST SRM1849 infant/adult nutritional formula, NIST SRM1549 non-fat milk powder (両標準試料の分析対象である認証元素数は 14 種) を用いた。添加回収試験用試料として調製粉乳、流動食、ヨーグルトを用いた。

4. 標準溶液の調製

定量に用いた標準溶液は各元素標準液をそれぞれ混合希釈して調製した。実際の測定検液は 6.9% の硝酸と 3.0% の酢酸を含有するため、混合標準溶液もこれに合わせて 6.9% の硝酸、3.0% の酢酸を含有するように調製した。混合標準溶液中の各元素濃度を Table 2 に示した。水銀 (Hg) についてはメモリー効果による経路の残留汚染防止上の観点から、他の超微量元素より低濃度での調製とした。調製した混合標準溶液を 2 倍、10 倍に希釈し、ブランク溶液とともに検量線の作成に用いた。

5. 試料液の調製

試料約 1g を専用試料容器に精秤し、硝酸 5 mL を加え

て密封した。その後マイクロ波試料前処理装置に装着、分解プログラムを実行した。試料分解は、120°C (5 分)、150°C (3 分)、180°C (3 分)、220°C (20 分)、50°C (5 分) の 5 段階で行った。分解終了後、容器を開封し酢酸 1.5 mL を加え、超純水にて 50 mL に定容したものを測定検液とした。

6. 添加回収試験

調製粉乳、流動食、ヨーグルト 1g に各元素標準液を 0.001~10 μg/g となるよう添加した。その後、上記 5 と同様の操作により測定検液を調製し、ICP-MS にて測定を行った。回収率は、添加試料の含有量から未添加試料の含有量を差し引くことにより算出した。

結果と考察

1. ヒ素 (As), セレン (Se) の増感現象対策

ICP-MS で測定を行う場合、As, Se には carbon charge transfer に起因する増感現象の存在が知られており、19 元素一斉分析系を構築するうえで、この問題の解決が必要不可欠である。特に食品中には炭素が多量に存在しているが、前処理によって測定に影響を与えない程度にまで測定検液中の炭素量を減らすことは難しい。そのため、測定検液中に残存する炭素量にばらつきが生ずる結果、増感の程度もまちまちとなり、安定した定量結果が得られにくい。そこで、測定検液ならびに対象標準溶液に一定過剰量の炭素源をあらかじめ加えておけば、もともと測定検液中の炭素量のばらつきによる定量性の低下を防ぐこ

Table 2. Multi-element standard solutions for ICP-MS measurements

Elements	Concentration
K, Ca	200 (μg/mL)
Na, P	100 (μg/mL)
Mg	50 (μg/mL)
Fe, Zn	5 (μg/mL)
Cu, Mn	0.5 (μg/mL)
Cr, Mo, Pb, Cd, Al, Sn, Ni, Se, As	10 (ng/mL)
Hg	1 (ng/mL)

Fig. 1. Dependence of the enhancement factor of As and Se on the concentration of acetic acid
The concentration of 0% was assumed to show no enhancement (enhancement factor of 1).

Table 3. Analytical characteristics and quantification limits

Element	<i>m/z</i>	Gas-mode	IS ^{a)} (<i>m/z</i>)	Linearity <i>r</i> ²	QL ^{b)} (ng/mL)
Na	23	H ₂	Co (59)	1.0000	30
Mg	24	H ₂	Co (59)	1.0000	7.0
Al	27	He	Co (59)	0.9999	0.3
P	31	He	Co (59)	0.9993	7.0
K	39	H ₂	Co (59)	1.0000	50
Ca	40	H ₂	Co (59)	0.9999	30
Cr	53	He	Co (59)	1.0000	0.03
Mn	55	H ₂	Co (59)	0.9999	0.02
Fe	57	H ₂	Co (59)	1.0000	0.9
Ni	60	He	Co (59)	0.9999	0.05
Cu	63	He	Co (59)	0.9998	5.0
Zn	66	H ₂	Co (59)	0.9999	1.0
As	75	H ₂	Co (59)	0.9998	0.01
Se	78	H ₂	Co (59)	0.9999	0.007
Mo	95	He	Y (89)	0.9999	0.02
Cd	111	He	Y (89)	1.0000	0.01
Sn	118	He	Y (89)	0.9997	0.1
Hg	201	H ₂	Tl (205)	0.9999	0.02
Pb	208	He	Tl (205)	0.9999	0.4

a) Internal standard

b) Quantification limit: 10 σ

とができると同時に、炭素による増感効果も享受できる可能性が考えられる。

こうした考え方に基づく補正方法として、メタノールなどの有機溶媒を検量線作成用標準液と試料検液に添加する方法が試みられているが、一方でプラズマの不安定化、機器の損傷、特定質量数への干渉などの懸念も指摘されている⁸⁾。

また最近、酢酸添加による ICP-MS での Se の感度向上が報告されており⁹⁾、メタノールに代えて酢酸添加による As および Se の定量性向上を試みた。さらに、得られた知見を実際に As, Se を含む 19 元素一斉分析系に組み込むことの可否を検討した。

Fig. 1 に酢酸添加濃度を変化させた際の、標準溶液の As, Se 増感率を示した。標準溶液の As, Se の感度は 3% まで上昇が続いているが、3% 以上では感度に変化がなかった。この結果から、標準溶液、測定検液共に酢酸を 3% 加えることにより補正が可能であると判断し、以降の実験を行った。

2. 検量線および定量下限

各元素の測定対象質量数、および使用ガスモードは Table 3 に示した。検量線の直線性については $r^2 = 0.9993 \sim 1.0000$ と良好な結果が得られ、検量線への酢酸添加の影響がないことが確認された。ブランクを 7 回繰り返し測定した結果の標準偏差の 10 倍の値を定量下限とした。

3. 標準試料を対象とした各元素の定量分析

酢酸添加による方法を用いて、認証値付き粉乳標準試料: NIST SRM1849 および NIST SRM1549 の分析を行った ($n=7$)。結果は測定平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。NIST SRM1849 には有害とされる元素が含まれておら

Table 4. Analytical results of standard reference materials NIST SRM1849 and NIST SRM 1549

Element	NIST SRM1849 Certified value (mg/kg)	Measured (mg/kg) ($n=7$)
Na	4,150 $\pm$ 140	4,047 $\pm$ 116
Mg	1,578 $\pm$ 69	1,604 $\pm$ 53
P	3,782 $\pm$ 36	3,800 $\pm$ 61
K	8,860 $\pm$ 130	8,771 $\pm$ 154
Ca	4,900 $\pm$ 130	4,702 $\pm$ 48
Cr	1.09 $\pm$ 0.21	1.00 $\pm$ 0.04
Mn	51.00 $\pm$ 0.53	50.47 $\pm$ 0.85
Fe	177.1 $\pm$ 3.3	178.0 $\pm$ 2.6
Cu	20.29 $\pm$ 0.43	20.82 $\pm$ 0.53
Zn	152.3 $\pm$ 5.1	157.0 $\pm$ 4.4
Mo	1.62 $\pm$ 0.15	1.63 $\pm$ 0.03
Se	0.889 $\pm$ 0.057	0.867 $\pm$ 0.03
Hg	0.0003 $\pm$ 0.0002*	0.0003 $\pm$ 0.0002
Pb	0.019 $\pm$ 0.003*	0.019 $\pm$ 0.002

* NIST1549 non-fat milk powder.

ず、対象元素も 12 種と少ないため、それらを補うかたちで NIST SRM1549 を用いた。両標準試料に含有量が認証されている 14 元素について、分析値との比較を行った (Table 4)。14 元素すべてについて測定値の平均が、認証値の不確かさの範囲内もしくは中央値の $\pm 5\%$ 以内を示した。測定値の標準偏差も小さく、良好な結果が得られた。ただし、標準試料に含まれなかった元素に対しては、添加回収試験にて 19 元素一斉分析法への適用の確認を行った。

4. 添加回収試験

調製粉乳 ($n=7$)、流動食 ($n=4$)、ヨーグルト ($n=4$) を対象に、添加回収試験を行った。結果は平均回収率 $\pm$ 標準偏差で示した。すべてのサンプルを測定した結果、全 19 元

Table 5. Recovery of major-to-ultratrace elements in infant formula, liquid diet and yogurt

Element	Spiked level ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (%)		
		Infant formula ($n=7$)	Liquid diet ($n=4$)	Yogurt ($n=4$)
Na	10	97.1 ± 1.7	94.4 ± 1.6	97.2 ± 0.6
Mg	10	96.9 ± 1.9	96.0 ± 0.9	95.9 ± 1.3
Al	0.01	103 ± 4.2	94.9 ± 3.5	100 ± 2.4
P	10	97.0 ± 2.1	98.7 ± 4.1	97.1 ± 2.8
K	10	98.4 ± 2.9	95.2 ± 2.3	99.4 ± 3.4
Ca	10	95.0 ± 2.8	93.0 ± 1.3	96.2 ± 2.4
Cr	0.01	97.7 ± 1.0	99.2 ± 2.1	97.0 ± 1.4
Mn	0.1	105 ± 0.9	104 ± 1.3	105 ± 0.8
Fe	1	102 ± 1.2	102 ± 1.4	102 ± 1.0
Ni	0.01	98.1 ± 1.7	98.0 ± 2.0	95.2 ± 3.2
Cu	0.1	108 ± 1.7	109 ± 1.0	109 ± 2.4
Zn	1	105 ± 1.7	104 ± 1.6	105 ± 1.7
As	0.01	101 ± 1.4	96.1 ± 1.5	98.6 ± 2.9
Se	0.01	103 ± 1.7	101 ± 2.9	101 ± 2.7
Mo	0.01	103 ± 1.0	99.5 ± 2.4	102 ± 2.0
Cd	0.01	99.7 ± 1.2	98.3 ± 2.1	100 ± 1.9
Sn	0.01	104 ± 3.3	101 ± 2.5	102 ± 3.1
Hg	0.001	101 ± 3.0	94.4 ± 1.7	97.5 ± 2.7
Pb	0.01	97.3 ± 0.3	96.5 ± 1.0	97.3 ± 0.5

素について平均回収率は 93.0～109%, 標準偏差は 0.3～4.2%と良好な結果が得られた (Table 5). また, As, Se においてもたいへん良好な回収率が得られ, 3%酢酸添加により増感現象を補正できることが確認できた. なお, 酢酸添加による他元素測定上の問題などは特に認められず, 他元素を含めた一斉分析系に適用できることが分かった.

本分析法において, 調製粉乳を対象とした主要から超微量の元素までの一斉分析が可能であることが確かめられただけでなく, 雑多なマトリクスを含む広範囲な食品への適用可能性が示された.

ま と め

調製粉乳において, 主要元素から超微量元素までの 19 元素一斉分析法の検討を行った. その結果, 標準溶液と測定検液に 3%の酢酸添加を行うことにより, As, Se に対して増感を起こしていた carbon charge transfer に対する影響を補正することができた. 検量線の直線性, 定量下限においても良好な結果が得られ, 標準物質を用いた検証や添加回収試験においても良好な結果を得ることができた. 同様に流動食, ヨーグルトにおいても良好な結果が得られた.

以上のことから本法は調製粉乳中の主要元素から有害超微量元素までの迅速一斉分析法として有用であると考えられ, 広範囲な食品への適用可能性も示唆された.

謝 辞

本研究において(財)日本食品分析センター 無機試験部長の西村 勉氏, 多摩研究所無機試験部の中田裕二氏, 高橋文人氏, 松本衣里氏に多くの助言をいただきました. ここに感謝の意を表します.

文 献

- 1) Johnston, C. C., Miller, J. Z., Slemenda, C. W., *et al.* Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N. Engl. J. Med.*, **327**, 82-87 (1992).
- 2) Linder, M. C. Nutrition and metabolism of the trace elements. *Nutritional Biochemistry and Metabolism with Clinical Applications*, 2nd edition, 215 pp, Elsevier Science Publishing Inc., New York (1991).
- 3) Fletcher M. P., *et al.* Trace element deficiencies and immune responsiveness in humans and animal models. *Nutrition and Immunology*, 215 pp, Alan R. Liss, Inc., New York (1988).
- 4) Anke, M., *et al.* Proceedings of 21st Annual Conference on Trace Substances in Environmental Health, p. 556-566, University of Missouri (1987).
- 5) Uthus, E. O., Nielsen, F. H. Effects in rats of iron on lead deprivation. *Biol. Trace Element Res.*, **16**, 155-164 (1988).
- 6) Eder, K., Reichlmayr-Lais, A. M., Kirchgessner, M. Activity of Na-K-ATPase and Ca-Mg-ATPase in red blood cell membranes of lead-depleted rats. *Journal of Trace Elements & Electrolytes in Health & Disease*, **4**, 21-24 (1990).
- 7) Schwart, K., Milne, D. B., Vinyard, E. Groth effects of tin compounds in rats maintained in a trace element-controlled environments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **4**, 22-29 (1970).
- 8) Larsen, E. H., Sturup, S. Carbon-enhanced inductively coupled plasma mass spectrometric detection of arsenic and selenium and its application to arsenic speciation. *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 1099-1105 (1994).
- 9) 稲和三, 高津章子, 鎗田 孝, 岡本研作, 千葉光一. 同位体希釈-誘導結合プラズマ質量分析法による底質中微量元素の全量及び化学形態別分析. *分析化学(Bunseki Kagaku)*, **58**, 175-184 (2009).