

マイクロウェーブ分解法と誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS法）

を用いた食品中の金属多元素迅速一斉分析法の検討

博多幸子, 中野 憲, 神尾典子, 高野美紀子¹, 安部幸雄, 片平大造, 伊藤岩夫²

理化学部 食品薬品科

はじめに

食品は多くの元素から構成されるが、なかでも金属元素成分は必須元素、微量元素、超微量元素、等様々であり、なかには有害元素等も含まれ多種多様である。近年では従来有害とされていた Zn, Cu や Mn 等も必須ミネラル元素として知られるようになった¹⁾。ほかの超微量元素についても生理活性が明らかになりつつあり、栄養面からの研究も重要性を増している^{2), 3)}。

また、有害化学物質による健康危機管理の観点からも食品中の金属元素成分の分布状況の把握と検査方法の確立は重要な課題である。

食品中の金属成分の分析には原子吸光光度法が一般化している¹⁾が、近年では誘導結合プラズマ発光分光分析法や、誘導結合プラズマ質量分析法（以下 ICP-MS 法）を用いて超微量レベルの元素の定量が可能となった^{4), 5)}。

ICP-MS 法では多元素の一斉迅速分析が可能であり、超高感度に分析が行われるが、分析環境中に存在する元素コンタミネーションが大きな問題となる⁶⁾。食品試料の分解は従来の湿式灰化法では元素コンタミネーションの問題があり⁷⁾ ICP-MS 法には不向きと考えられる。一方、マイクロウェーブ分解法は密閉系の中で食品などの試料を分解するもので、試料を分解するための酸の使用は少量ですみ、時間も大幅に短縮できる利点がある⁶⁾。

このマイクロウェーブ分解法と ICP-MS 法を用いて食品中の金属多元素の迅速一斉分析法を検討し、食品衛生対策及び健康危機管理の検査マニュアル作成の資料とすることを目的として若干の検討を行ったので報告する。

方 法

1. 試料

食品標準試料：NIST SRM 1568a（米粉）

2. 使用機器

1) マイクロウェーブ分解システム：MILESTONE MLS-1200MEGA (MDS-1000/6, 100ml TFM 分解容器 MCR-6E)

2) 測定機器：ICP-MS（誘導結合プラズマ質量分析装置）横河アナリテカルシステムズ社製 HP4500 システム

3. 試薬等

1) 標準液：ICP 用混合標準液 ICP-MS Quality Control Sample 2（EM サイエンス社製）（表 1）

表 1 ICP 用混合標準液に含有する 25 元素

（各 10 $\mu\text{g/ml}$ in 5% HNO_3 ）

元素	元素
Be（ベリウム）	Zn（亜鉛）
Na（ナトリウム）	As（砒素）
Mg（マグネシウム）	Se（セレン）
Al（アルミニウム）	Mo（モリブデン）
K（カリウム）	Ag（銀）
Ca（カルシウム）	Cd（カドミウム）
V（バナジウム）	Sb（アンチモン）
Cr（クロム）	Ba（バリウム）
Mn（マンガン）	Tl（タリウム）
Fe（鉄）	Pb（鉛）
Co（コバルト）	Th（トリウム）
Ni（ニッケル）	U（ウラン）
Cu（銅）	

2) 内部標準液：Ce（セリウム）および Y（イットリウム）の原子吸光分析用標準液（和光純薬製）

1000ppm 含有のものを両方合わせて希釈し、両元素それぞれ 0.1 $\mu\text{g/ml}$ (in 0.5% HNO_3) として調整した。

3) 試薬等：硝酸、過酸化水素水は超高純度試薬（関

¹ 現県北保健福祉事務所 ² 現県南保健福祉事務所

東化学社製)を使用し、濃度調整や洗浄に使用する水はMILLI-Q Labo (ミリポア・リミテッド)で製造した超純水を使用した。

4) 使用器具類:メスフラスコ,ピペット,ビーカー等はすべてテフロン製やプラスチック製のものを酸洗浄後,超純水を通してから使用した.分析準備や操作中はプラスチック手袋を使用するなど,元素のコンタミネーション防止に努めた.

4. 試験方法

測定元素項目はICP用混合標準液 Quality Control Sample 2に含有されている25元素とし,ICP-MS装置の測定条件は表2のとおりとした.

表2 ICP-MS装置の測定条件

高周波出力	:	1300W
プラズマガス流量	:	15L/min
補助ガス流量	:	1.0L/min
S/N温度	:	2°C
キャリアガス流量	:	0.85L/min
ブレンドガス流量	:	0.45L/min
ペリポンプ	:	0.08rps
サンプリング位置	:	8mm
積分時間	:	1.5sec
回数	:	3回

1) 検量線

ICP用混合標準液10 μ g/mlを希釈して0.1 μ g/ml (in 0.5% HNO_3)を調整し,さらに0.5% HNO_3 溶液で希釈して2, 5, 8, 10ng/mlとしたものを検量線標準溶液とした.これを絶対検量線法とし,さらに内部標準液100ng/mlを0.05ml加えたものを内部標準検量線法として検量線相関係数を比較した.

2) 測定試料

ICP-MS用測定試料はマイクロウェーブ分解システムを用い,図1のと通りの分解法を行い,最終希釈(最終希釈倍数:500倍)したものに内部標準液100ng/mlを0.05ml加え,測定試料溶液とした.

添加回収試験は食品標準試料0.3gにICP用混合標準液1 μ g/mlを1ml加え,同様に分解処理して測定した.

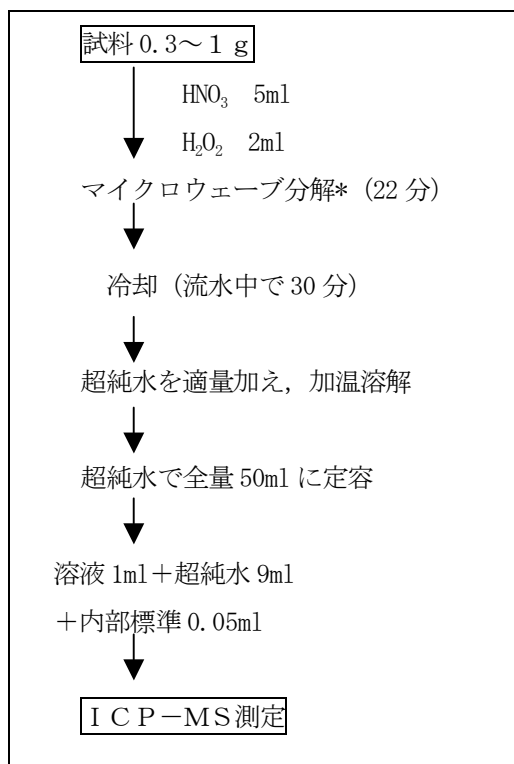


図1 測定試料の分解法フロー図

*マイクロウェーブ分解条件 (分解プログラム)

STEP	①	②	③	④	⑤	換気
出力(W)	250	0	250	400	500	0
時間(分)	1	1	5	5	5	5

結果および考察

1. 検量線

測定元素25種類について絶対検量線法と内部標準検量線法を行い,それぞれの相関係数を求めた結果を表3に示した.絶対検量線法において,Na, K, Fe, Th, Zn 5元素の相関係数が0.99以下を示したが,他の20元素については0.996以上の良好な相関係数が得られた.

また,CeとYによる内部標準法を行った結果,Na, K, Fe, Th, Znについても0.9939から1.0000と良好な検量線を得ることができた(図2)ので,以後の定量分析にはCeとYによる同様の内部標準法を行った.

表3 測定元素の測定質量数と検量線相関係数

測定元素	質量数 (m/Z)	絶対法	内標法
		相関係数(r)	相関係数(r)
Be	9	0.9999	1.0000
Na	23	0.9810*	0.9995
Mg	24	0.9959	1.0000
Al	27	0.9999	0.9999
K	39	0.9754*	0.9999
Ca	43	0.9968	0.9976
V	51	0.9998	1.0000
Cr	53	0.9999	1.0000
Mn	55	0.9996	1.0000
Fe	57	0.9879*	0.9939
Co	59	0.9995	1.0000
Ni	60	0.9996	1.0000
Cu	63	0.9996	1.0000
Zn	66	0.9933	1.0000
As	75	0.9998	0.9997
Se	82	0.9997	1.0000
Mo	95	0.9999	1.0000
Ag	107	0.9996	0.9999
Cd	111	0.9995	0.9999
Sb	121	0.9997	1.0000
Ba	137	0.9992	1.0000
Tl	205	0.9998	1.0000
Pb	208	0.9994	1.0000
Th	232	0.9850*	0.9997
U	238	0.9994	1.0000

*相関係数 0.99 以下

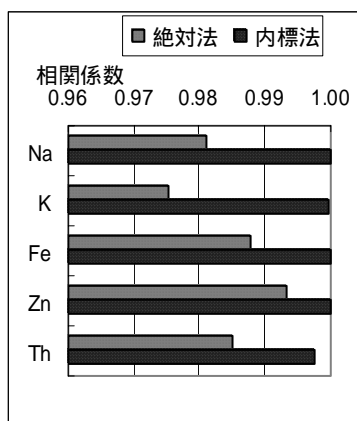


図2 絶対検量線法で相関係数 0.99 以下の 5 元素について内部標準法を行ったときの相関係数

2. 使用する水の種類と器具材質からの元素溶出量

ICP-MS は超高感度で測定するため、使用する試薬や水の種類および使用する器具類の材質などでも金属元素の溶出が認められ、試験結果に影響を及ぼす⁶⁾、⁷⁾。通常の蒸留水やガラス器具類を使用したときと超純水とポリプロピレン製試験管を使用し、元素コンタミネーションに気をつけて各元素の測定を行った場合の測定結果を表4に示した。ガラス製の器具の使用および通常の蒸留水では Se, Cd, U を除いては各元素の存在が認められた。超純水とポリプロピレン製試験管の使用は Th を除いては各元素の存在を 0.00ng/ml 以下のレベルにすることができた。

表4 水の種類と器具材質別の元素溶出量

測定元素	平均値 (ng/ml) n=3		
	蒸留水		超純水
	ガラス器具*	プラスチック器具	プラスチック器具
Be	0.02	0.02	0.00
Na	235.33	0.32	0.00
Mg	138.33	0.00	0.00
Al	109.33	0.00	0.00
K	48.00	0.00	0.00
Ca	70.00	0.00	0.00
V	0.37	0.00	0.00
Cr	2.83	0.00	0.00
Mn	0.33	0.00	0.00
Fe	45.67	0.00	0.00
Co	0.06	0.00	0.00
Ni	5.33	0.06	0.00
Cu	3.67	0.00	0.00
Zn	6.33	0.48	0.00
As	0.93	0.00	0.00
Se	0.00	0.00	0.00
Mo	0.07	0.26	0.00
Ag	0.04	0.01	0.00
Cd	0.00	0.00	0.00
Sb	0.83	0.12	0.00
Ba	94.33	0.00	0.00
Tl	0.10	0.00	0.00
Pb	1.50	0.00	0.00
Th	1.73	1.85	0.90
U	0.00	0.00	0.00

*ガラス器具：使用する分解試薬等は特級を用い、器具類は酸洗浄を行わなかった。

3. 操作ブランクと定量限界

超高純度試薬を使用し、十分に酸洗浄した容器やディスポの器具類を用いて、試料と同様のマイクロウェーブ分解操作を行って、操作ブランクを測定した。6回の操作を繰り返し、その測定の平均値と標準偏差を求め、表5に示した。各元素の標準偏差を10倍したものを定量限界とすると、NaとCaは20 μg/g前後、Mg、Al、K、Fe、Thは1~5 μg/gと高値を示した。また、Zn、As、Sbについては0.5 μg/g前後の値を示した。0.1 μg/g以下の元素は13元素であり、元素種類によって定量限界の値に大きな差があることがわかった。

表5 操作ブランクと定量限界 μg/g (n=6)

測定元素	avg	stdv	定量限界
			stdv×10
Be	0.019	0.001	0.01
Na	1.659	1.896	18.96
Mg	0.535	0.438	4.38
Al	0.109	0.157	1.57
K	0.313	0.186	1.86
Ca	2.286	2.042	20.42
V	0.000	0.001	0.01
Cr	0.000	0.003	0.03
Mn	0.000	0.001	0.01
Fe	0.205	0.260	2.60
Co	0.000	0.003	0.03
Ni	0.000	0.002	0.02
Cu	0.000	0.002	0.02
Zn	0.027	0.063	0.63
As	0.000	0.044	0.44
Se	0.000	0.019	0.19
Mo	0.000	0.019	0.19
Ag	0.000	0.010	0.10
Cd	0.000	0.001	0.01
Sb	0.018	0.050	0.50
Ba	0.000	0.003	0.03
Tl	0.000	0.009	0.09
Pb	0.000	0.005	0.05
Th	0.140	0.123	1.23
U	0.022	0.005	0.05

4. 水試料の25元素定量結果

0.5 μg/mlの標準溶液1mlをマイクロウェーブ分解し、測定溶液を調整して内部標準法により各元素を定量した結果を表6に示した。定量限界が0.5 μg/ml以上となる7元素(Na, Mg, Al, K, Ca, Fe, Th)については

回収率が112%から502%と高くなったが、Znは92.2%であった。定量限界以上の定量においてはSbの回収率が60.9%、Baが78.8%と低かったが、他は80%以上と良好な回収率が得られた。

表6 水に添加した25元素の回収率 (n=6)

元素	添加量 μg/g	回収率 (%)
Be	0.5	108.6
Na	0.5*	187.1
Mg	0.5*	192.0
Al	0.5*	200.8
K	0.5*	328.3
Ca	0.5*	502.4
V	0.5	96.7
Cr	0.5	95.5
Mn	0.5	97.0
Fe	0.5*	164.5
Co	0.5	93.1
Ni	0.5	91.8
Cu	0.5	99.1
Zn	0.5	92.9
As	0.5	83.1
Se	0.5	81.6
Mo	0.5	87.7
Ag	0.5	92.9
Cd	0.5	84.1
Sb	0.5	60.9
Ba	0.5	78.8
Tl	0.5	83.6
Pb	0.5	93.8
Th	0.5*	112.3
U	0.5	95.8

* 定量限界以下

5. 標準試料の25元素定量結果

食品標準試料：NIST SRM 1568a(米粉) (以下標準試料)をマイクロウェーブ分解し、内部標準法によりICP-MS分析を行い、25元素の測定を行った。一方、標準試料の各元素の保証値および参考値は原子吸光度法、発光分光分析法、ICP発光分光分析法などの測定方法が用いられているが、その保証値および参考値との比較を表7に示した。定量限界以上で測定したのはMg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cdの15元素であった。そのうち標準試料の保証値が表

表7 標準試料の ICP-MS 測定値と保証値および参考値との比較 (n=6)

元素	標準試料 測定値 ($\mu\text{g/g}$)	保証値または参考値 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)
Be	<0.01	—	
Na	<18	6.6 \pm 0.8	
Mg	530 \pm 19	560 \pm 20	94.7
Al	5.0 \pm 0.4	4.4 \pm 1.0	114.0
K	558 \pm 15	1280 \pm 8	43.6
Ca	128 \pm 11	118 \pm 6	108.3
V	0.03 \pm 0.00	—	
Cr	0.08 \pm 0.00	—	
Mn	20 \pm 1.3	20 \pm 1.6	100.1
Fe	6.2 \pm 1.3	7.4 \pm 0.9	84.4
Co	<0.03	0.018	
Ni	0.2 \pm 0.02	—	
Cu	2.6 \pm 0.1	2.4 \pm 0.3	106.9
Zn	21.0 \pm 1.1	19.4 \pm 0.5	108.3
As	0.27 \pm 0.06	0.29 \pm 0.03	94.6
Se	0.35 \pm 0.06	0.38 \pm 0.04	92.7
Mo	1.48 \pm 0.04	1.46 \pm 0.08	101.1
Ag	<0.10	—	
Cd	0.022 \pm 0.003	0.022 \pm 0.002	99.7
Sb	<0.50	0.0005	
Ba	<0.03	—	
Tl	<0.09	—	
Pb	<0.05	<0.010	
Th	<1.23	—	
U	<0.05	0.0003	

示されていた 12 元素について回収率を求めると、K は 43%と低い回収率であったが、他の 11 元素は 84～114%と良好であった。また、参考値表示のあった Co, Sb, Pb, U はいずれも定量限界以下であった。

6. 標準試料への添加回収試験

標準試料の測定と同時に標準試料に混合標準溶液を添加した標準試料もマイクロウェーブ分解を行い ICP-MS で測定した結果を表 8 に示した。標準試料中の含有量が定量限界以下であった Be, Na, Co, Ag, Sb, Ba, Tl, Pb, Th, U についても定量限界以上の添加量となるので回収率を計算した。その結果、Mg と K については標準試料中の含有量が大きいため回収量の方が少なくなった。また、標準試料中の含有量の高い Mn と Zn については回収率が 60.0%と 42.4%と低く、Al も

表 8 標準試料に ICP-MS 混合標準液を添加した添加回収率 (n=6)

元素	$\mu\text{g/g}$			回収率 (%)	CV (%)
	標準試料	添加量	回収量		
Be	0.0	3.3	3.3	100.0	12.1
Na	9.4	3.3	13.9	136.4	0.3
Mg	530.2	3.3	490.6	—	3.1
Al	5.0	3.3	6.6	48.5	1.6
K	558.3	3.3	495.8	—	0.9
Ca	127.8	3.3	130.9	93.9	1.0
V	0.0	3.3	3.3	100.0	12.3
Cr	0.1	3.3	3.4	100.0	10.1
Mn	20.0	3.3	22	60.0	11.1
Fe	6.2	3.3	8.6	72.7	1.5
Co	0.0	3.3	3.3	100.0	13.3
Ni	0.2	3.3	3.5	100.0	15.3
Cu	2.6	3.3	5.6	90.9	5.1
Zn	21.0	3.3	22.4	42.4	1.3
As	0.3	3.3	3.6	100.0	10.5
Se	0.4	3.3	3.8	103.0	9.5
Mo	1.5	3.3	4.8	100.0	16.5
Ag	0.0	3.3	3.2	97.0	18.3
Cd	0.0	3.3	3.4	103.0	13.1
Sb	0.0	3.3	3.3	100.0	2.1
Ba	0.0	3.3	3.5	106.1	12.7
Tl	0.0	3.3	3.3	100.0	16.5
Pb	0.1	3.3	3.4	100.0	5.7
Th	0.0	3.3	2.8	84.8	9.2
U	0.0	3.3	3.0	90.9	18.7

48.5%と低かった。また、Ca については標準試料含有量が高いにもかかわらず、回収率は 93.9%と良好であった。Fe は 72.7%で、Na は 136.4%であったが、他の元素においては 85%から 106%とほぼ満足できる回収率となった。とくに健康危機管理に関係する As, Cr, Pb の 3 元素については 100%と十分な回収率が得られた。

また、変動係数では 10%以上を示した元素が 13 元素あったが、超微量測定においては有効範囲と考えられた。

ま と め

1. 食品をマイクロウェーブ分解し、Be, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Ag, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb, Th, U の 25 元素を ICP-MS 装置で一斉分

析したが、操作ブランクと定量限界は元素種類により大きな差が認められた。

2. Be, V, Cr, Co, Ni, Cu, As, Se, Mo, Ag, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb, Th, U の 17 元素については本分析法が有用であり、健康危機管理検査に関する検査項目の As, Pb, Cr に適用するための資料とすることができた。
3. 食品中の主要構成元素である Na, Mg, Al, K, Ca, Fe は定量限界が高く (1.5~20.4 $\mu\text{g/g}$) , Mn と Zn は標準試料中の含有量が高いことがこれら元素の回収率不良の原因と考えられ、本分析法には適さないと考えられた。

文 献

- 1) 科学技術庁資源調査会編：五訂食品成分表，第一出版，平成 14 年 4 月
- 2) 鈴木泰夫：食品の微量元素含量表，第一出版，(2000)
- 3) 今井 弘：生体関連元素の化学，(1997)，培風館
- 4) H Haraguti: *Bull. Chem Soc. Jpn.*, **72**, 1163(1999)
- 5) 保倉明子，小栗佐知子，松浦博孝，原口紘丞：誘導結合プラズマ質量分析法および誘導結合プラズマ発光分析法による野菜試料の多元素定量分析，*BUNSEKI KAGAKU*, Vol. 49, No. 6, pp. 387-396(2000)
- 6) 山口武彦他：ICP-MS 法による水中微量元素測定時の前処理操作に関する基礎的検討，水道協会雑誌，第 64 巻第 8 号 (第 731 号)，47-54(1995)
- 7) 中村穰，福田政志：ppm レベルの亜鉛定量における空試験値変動の原因，分析化学，Vol. 27, pp. 59-75(1978)
- 8) 藤田久雄，田中さと子，毛利孝明，西岡千鶴，他：急性食中毒発生時の迅速分析法の検討 (II) - 誘導結合プラズマ質量分析法による食品中の有害金属の迅速定量，香川県衛生研究所報第 28 号，62-67 (2001)