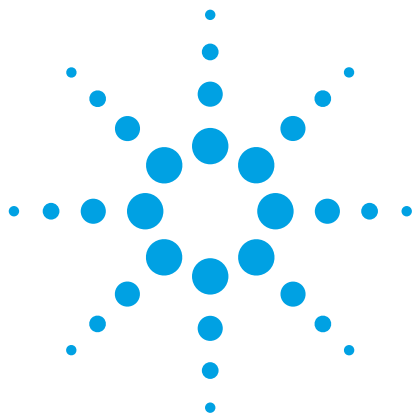




食品中のヒ素およびセレンの 高精度・高感度分析

Agilent 8800 トリプル四重極 ICP-QQQ による
二価 REE 干渉物の除去

アプリケーションノート

食品検査と農業

著者

Brian Jackson
Dartmouth College
Hanover, NH
USA

Amir Liba, Jenny Nelson
Agilent Technologies, Inc.

はじめに

日常食品に潜む有毒な元素や化合物が人々の健康におよぼす影響に対する懸念から、新たな規制指針策定への動きが本格化しています。例えば、無機形態のヒ素 (As) は、ヒトに対する毒性や発がん性が知られていますが、食品および飲料がその暴露源となるおそれがあります [1]。アメリカ食品医薬品局 (FDA) は 2013 年、食事から摂取される無機 As の低減を目指し、リンゴジュースに含まれる無機 As の最大許容レベルを 10 µg/L とする新たな指針案を打ち出しました [2,3]。また、世界保健機関 (WHO) では、CODEX Committee on Contaminants in Food の第 8 回会議を踏まえ、精米中の無機 As 濃度を 0.2 mg/kg とする指針を提案しています [4]。

このような規制の動きに適応していくためには、食品および飲料製品に含まれるこれらの汚染物質の濃度を正確に測定できる信頼性の高いスクリーニングメソッドが必要です。WHO が提示する 0.2 mg/kg という上限濃度は、分解残渣濃度 2 µg/L に相当することから (100 倍の分解希釈を想定)、このメソッドには低い検出下限が求められます。分析メソッドの精度および真度のわずかな誤差が、食品が安全であるという誤判定につながるおそれがあるからです。一方、セレン (Se) は必須微量栄養素ですが、Se に乏しい土壌で生産される食用作物は Se に乏しく、食事で十分な量を摂取できない可能性があります。食品の栄養状態を評価するには、食品中の Se を正確に定量することが必要です。



Agilent Technologies

微量濃度で存在する As および Se を従来型の四重極 ICP-MS で正確に定量するのは容易ではありません。これは、表 1 に示すように、分析に役立つすべての同位体が複数のスペクトル干渉を受ける可能性があるからです。As および Se に干渉する可能性のある化合物には、希土類元素の二価イオン (REE^{++}) や、マトリックスおよびプラズマ由来の多原子イオンがあります。四重極質量分析装置では、質量電荷比 (m/z) にもとづいてイオンが分離されます。 REE^{++} イオンは実際の半分の質量数で検出されるため、分析対象物である As および Se の一価イオンとオーバーラップします。一般に、食品サンプル中の REE 含有量は微量ですが、REE が豊富な土壌で育った農作物はこれらの元素を高い濃度で吸収している可能性があり [5,6]、これが As および Se の偽陽性判定につながります。今回の実験では、Agilent 8800 トリプル四重極 ICP-QQQ を MS/MS リアクションモードで動作させ、As および Se に干渉する REE^{++} などの除去能力を評価しました。

サンプルとして、米国国立標準技術研究所 (NIST) の 2 種類の標準物質 (SRM)、NIST 1547 モモの葉および NIST 1515 リンゴの葉を使用しました。これらの SRM は、低 $\mu\text{g/kg}$ レベルの As および Se と、 mg/kg レベルの REE を含有しています。As および Se を定量するための一部の標準メソッドでは、二価イオンを数学的方程式により補正することが推奨されています [7]。ところが、複雑な天然サンプルにおいては、このような補正式は誤差を生じやすく、干渉のない状態での m/z による定量より真度に劣ります。今回の実験では、As および Se の測定に対する二価 REE の影響を徹底的に調査するために、2 種類の NIST SRM をさまざまな手法で分析しました。具体的には、シングル四重極 ICP-MS でヘリウムコリジョンモードおよび水素リアクションモードを用いた手法、および ICP-QQQ で酸素/水素リアクションガスによるマスシフトモードを用いた手法により検証しました。

表 1. 分光分析における As および Se の同位体への干渉物

As および Se の同位体			干渉物		
元素	質量数	アバundance (%)	二価イオン	マトリックス	二量体
As	75	100	$^{150}\text{Sm}^{++}$ 、 $^{150}\text{Nd}^{++}$	$^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$ 、 $^{40}\text{Ca}^{37}\text{Cl}^+$	
Se	77	7.63	$^{154}\text{Sm}^{++}$ 、 $^{154}\text{Gd}^{++}$	$^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$ 、 $^{40}\text{Ca}^{37}\text{Cl}^+$	
	78	23.77	$^{156}\text{Gd}^{++}$ 、 $^{156}\text{Dy}^{++}$	$^{41}\text{K}^{37}\text{Cl}^+$	$^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ 、 $^{39}\text{K}^{39}\text{K}^+$
	80	49.61	$^{160}\text{Gd}^{++}$ 、 $^{160}\text{Dy}^{++}$	$^{32}\text{S}^{16}\text{O}$ 、 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3$ 、 $^{40}\text{Ca}^{40}\text{Ar}$ 、 $^{45}\text{Sc}^{35}\text{Cl}^+$	$^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ 、 $^{40}\text{Ca}^{40}\text{Ca}^+$
	82	8.73	$^{164}\text{Dy}^{++}$ 、 $^{164}\text{Er}^{++}$	$^{45}\text{Sc}^{37}\text{Cl}^+$	

実験

サンプル前処理

すべてのサンプルは、MARS 6 密閉容器マイクロ波分解システム (CEM 社、米国ノースカロライナ州マッシュューズ) により、ランプ時間 20 分、ホールド時間 20 分で、 200°C で酸分解しました。サンプルとして用いた NIST (米国メリーランド州ゲイサースバーグ) の SRM 1547 モモの葉および 1515 リンゴの葉に対し、次の前処理を 3 回繰り返しました。まず、0.25 g のサンプルを 2.5 mL の 9:1 $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ 酸混合液中で分解し、その分解物を希釈して最終重量 25 g にしました。サンプルと標準液の有機プラズマ負荷を等しくするために、内部標準混合液にブタノール (5 %) を加えました。NIST 1547 および 1515 には、低 $\mu\text{g/kg}$ 濃度の As および Se (表 1) と高濃度の REE が含まれています。ネオジム (Nd)、サマリウム (Sm)、およびガドリニウム (Gd) の参照値 (未認証値) はそれぞれ、NIST 1547 では 7、1、および 1 mg/kg 、NIST 1515 では 17、3、および 3 mg/kg です。

使用機器と測定条件

分析には、同軸ネブライザとペルチェ冷却式ダブルパススプレーチャンバを装着した Agilent 7700x ICP-MS および Agilent 8800 ICP-QQQ を使用しました。どちらの機器にも、干渉を抑制するための、オクタポールで構成されるコリジョンリアクションセル (CRC) が搭載されています。7700x ICP-MS は、ヘリウム (He) コリジョンモードと水素 (H_2) リアクションモードで動作させ、各メソッドで最適なセルガス流量 4.5 mL/min および 6 mL/min を使用しました。8800 ICP-QQQ は、MS/MS マスシフトモードで動作させ、リアクションガスとしてガス流 35 % O_2 の O_2/H_2 を使用しました。これは、合計流量 1.35 mL/min に対し、 O_2 が 0.35 mL/min、 H_2 が 1 mL/min であることを示します。このメソッドでは、As の検出に $^{75}\text{AsO}^+$ (m/z 91) を、また Se の測定に $^{78}\text{SeO}^+$ (m/z 94) を使用しました。

ジルコニウム (Zr) またはモリブデン (Mo)、あるいはその両方が含まれる可能性のある複雑なマトリックスサンプルには、ICP-QQQ マスシフトメソッドが有効です。このマスシフトモードを従来型の四重極 ICP-MS で使用した場合、マトリックスや、 $^{91}\text{Zr}^+$ および $^{94}\text{Mo}^+$ などの共存イオンがブロダクトイオン AsO^+ および SeO^+ とオーバーラップする可能性があります。8800 ICP-QQQ の MS/MS モードなら、これらの化合物による干渉を防ぐことができます。分析対象物のブロダクトイオンと同じ質量数で存在するイオンが、CRC の前に位置する四重極 (Q1) で排除されるからです。

キャリブレーション

どちらの機器のキャリブレーションも、NIST のトレース可能な標準物質とトレース可能なセカンドソースのキャリブレーションチェックを用いて実施しました。測定値の 95 % 信頼区間が、NIST 証明書に記載の 95 % 信頼範囲と重なった場合、その測定値を許容可能と見なしました。

結果と考察

運動エネルギー弁別と反応性ガスは、どちらも ICP-MS で多原子干渉を低減するために広く使用されています。ただし、二価イオン干渉物に対する効果については、あまり報告されていません。今回の実験では、NIST SRM 1547 および 1515 に含まれる As と Se を測定しました。測定には、7700x ICP-MS を He および H_2 ガスモードで、また 8800 ICP-QQQ を O_2/H_2 マスシフトモードで使用しました。その結果を表 2 に示します。2 種類の SRM を 7700x ICP-MS で測定した As の測定結果は、どちらのガスモードを用いた場合も認証値をはるかに上回りました。このことは、これらのガスモードが一般的な多原子干渉物

(ArCl^+ 、 CaCl^+) には有効でも、オーバーラップする二価イオンの除去に効果がないことを示しています。二価イオンの影響を補正するために、数学的方程式が必要となりました。

As の測定値に干渉補正式を適用すると、He および H_2 モードで測定したどちらの SRM 標準物質についても正確な結果が得られました。He モードで得られた NIST 1515 中の As の濃度値は、補正前は 0.25 mg/kg であり、米に含まれる無機 As の指針提案値 0.2 mg/kg を上回っています。これは、二価干渉物が存在すると、偽陽性として判定される可能性が高くなることを示しています。製品に対して不正に不合格の判定が下されたり、無機 As 含有量の分析を不要に繰り返すことにもなりかねません。干渉補正式の適用後、He モードでの As の測定結果は、認証値に大きく近づきました。ただし、As 濃度が最も低く、REE 含有量が最も多い NIST 1515 の平均測定結果では、繰り返し測定値の RSD が非常に高くなりました。これは、分析対象物ではなく干渉物が測定信号のほとんどを占める場合に、補正式を適用することの問題点を示しています。 H_2 リアクションモードにより得られた As 濃度値についても、補正後の値と認証値に大きな差はありませんでした。ただし、その値は各 SRM の信頼区間の上限にあたり、NIST 1547 および 1515 の回収率はそれぞれ 132 % と 124 % でした。

He モードでは、Se 濃度についても、両方の SRM について正確な結果を得るために干渉補正式が必要でした。NIST 1515 中の Se 濃度の補正後の値は 0.013 mg/kg でしたが、%RSD は 150 % と許容できないほど高いものでした。ここでも、干渉物が信号のほとんどを占める場合に、補正式を適用することの問題点が露呈しています。この分析で Se に干渉したのは、SRM 中に高濃度で存在する (3 mg/kg) 二価 Gd です。NIST 1515 中の Se が低濃度であること、また He モードの Se 感度が低いことから、その影響が顕著に現れたものと考えられます。

表 2. NIST 1547 および 1515 中の $^{75}\text{As}^+$ および $^{78}\text{Se}^+$ を ICP-MS の He モードおよび H_2 モード (補正前および補正後のデータを記載) とトリプル四重極 ICP-QQQ の MS/MS モードで分析した結果。濃度の単位はすべて mg/kg です。サンプル分解物の 3 回の平均測定値を「平均 ± 標準偏差」として示しています。

						トリプル四重極 ICP-MS の O ₂ /H ₂ マスシフト
SRM	認証値	ICP-MS の He モード		ICP-MS の H ₂ モード		補正前
		補正前	補正後	補正前	補正後	
As (mg/kg)						
NIST 1547	0.060 ± 0.018	0.170 ± 0.016	0.068 ± 0.003*	0.113 ± 0.004	0.079 ± 0.004*	0.065 ± 0.002*
NIST 1515	0.038 ± 0.007	0.250 ± 0.016	0.026 ± 0.021*	0.126 ± 0.005	0.047 ± 0.004*	0.032 ± 0.002*
Se (mg/kg)						
NIST 1547	0.120 ± 0.009	0.394 ± 0.04	0.113 ± 0.02*	0.119 ± 0.009*	0.119 ± 0.009*	0.127 ± 0.006*
NIST 1515	0.050 ± 0.009	0.808 ± 0.04	0.013 ± 0.04*	0.050 ± 0.003*	0.050 ± 0.003*	0.047 ± 0.006*

* 95 % 信頼区間が認証値の濃度範囲と重なったもの

H₂ モードでは、両方の SRM 中の Se 濃度について、正確かつ精密な測定値が得られました。これは、このガスモードの Se 感度が高く、二価干渉物の濃度が低かったためです。水素は、Gd 造影剤を使用した MRI 検査後の患者血中 Se に対する二価 Gd の干渉除去に有効なことが示されています [8]。

両方の SRM 分解物を、今度は 8800 ICP-QQQ でリアクションガス O₂/H₂ を用いて分析しました (表 2)。以前の調査から、セルに H₂ が存在すると、Se と O₂ の反応が促進されることがわかっています [9]。NIST 1547 および 1515 中の As および Se の測定値は、どちらの SRM についても認証値の濃度範囲に十分収まっていました。この結果は、8800 ICP-QQQ の O₂/H₂ MS/MS モードで REE⁺⁺ 干渉物が十分に排除されたことを示しています。また、補正式は必要ありませんでした (すなわち結果は未補正)。

MS/MS メソッドを、高濃度の Zr および Mo を含むサンプルにも適用できることを確認するために、NIST 1547 サンプルに 1 mg/L の Zr と Mo (1,000 ppm) を添加しました。結果を表 3 に示します。As (*m/z* 91 の ⁷⁵As¹⁶O⁺) および Se (*m/z* 94 の ⁷⁸Se¹⁶O⁺) の測定値は、Zr および Mo 無添加のサンプルと同じでした。この結果から、MS/MS モードが、マスシフトにより生成された新たな分析対象イオンと同じ質量数の同重体の排除にも有効なことが実証されました。

結論

NIST 1547 モモの葉および NIST 1515 リンゴの葉の分析により、Agilent 8800 トリプル四重極 ICP-QQQ の MS/MS モードが、高濃度の REE 存在下で微量の As および Se を測定することのできる最適なメソッドであることがわかりました。O₂/H₂ セルガスと MS/MS マスシフトモードを使用することで、*m/z* 75 の As および *m/z* 78 の Se の測定に影響する二価 REE 干渉物やマトリックス由来の多原子干渉物をすべて排除することができました。このメソッドでは、マスシフトにより As から生成されたプロダクトイオン AsO⁺ を *m/z* 91 で、また Se から生成された SeO⁺ を *m/z* 94 で測定しました。さらに、*m/z* 91 および *m/z* 94 でオーバーラップする可能性のある ⁹¹Mo⁺ および ⁹⁴Zr⁺ イオンも Q1 で排除されました。

食品中に存在する REE の範囲および濃度に関する研究はまだ十分になされていません。ただし、分析時に Nd⁺、Sm⁺、および Gd⁺ の存在を *m/z* 150 および 156 でモニタリングすれば、二価 REE の生成が問題となるサンプルかどうかを判断することができます。ヘリウムモードで動作するシングル四重極 ICP-MS は、REE 濃度が比較的低い一般的なルーチンサンプルタイプに含まれる As および Se の分析に適しています。水素モードは、二価化学種の低減に有効です。また、トリプル四重極 ICP-QQQ は、シングル四重極メソッドの 1/10 の検出下限を実現できるため、複雑なサンプルマトリックス中に低濃度で存在する As および Se の分析に特に適しています。

表 3. トリプル四重極 ICP-MS による、1 mg/L Zr および Mo 無添加/添加時の NIST 1547 中の As および Se の測定結果。補正方程式は適用していません。

SRM NIST 1547	認証値	トリプル四重極 ICP-MS の O ₂ /H ₂ マスシフト	
		無添加 (n = 3)	1 mg/L の Zr および Mo を添加 (n = 1)
As (mg/kg)	0.060 ± 0.018	0.065 ± 0.002	0.063
Se (mg/kg)	0.120 ± 0.009	0.127 ± 0.006	0.13

関連情報

本アプリケーションの詳細については、以下の論文をご覧ください。
Brian P. Jackson, Amir Liba, and Jenny Nelson, Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods. *J. Anal. At. Spectrom.* **2015**, 30, 1179-1183

謝辞

Brian Jackson より、本書掲載の調査にご支援いただいた NIEHS P42 ES007373、NIEHS P01 ES022832、EPA RD83544201 に謝意を表します。

References

1. *Toxicological Profile for Arsenic, 2007*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Washington, DC.
2. *Guidance for Industry. Arsenic in apple juice: Action level, 2013*. U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC.
3. Anon. FDA sets limit for arsenic in apple juice. *Chemical & Engineering News*, **2013**, 91, 21.
4. *Report of the Eighth Session of the Codex Committee on Contaminants in Foods, 2014*. CL 2014/11-CF. FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.
5. Sucharova, J. Optimisation of DRC ICP-MS for determining selenium in plants. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **2011**, 26, 1756-1762.
6. Wang, R-Y.; Hsu, Y-L.; Chang, L-F.; Jiang, S-J. Speciation analysis of arsenic and selenium compounds in environmental and biological samples by ion chromatography-inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometer. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 590, 239-254.
7. *FDA Elemental Analysis Manual for Food and Related Products, 4.7 ICP-MS Multi-element in Food, Ver. 1.0; 2013*. U.S. Food and Drug Administration, Washington, DC.
8. Harrington, C. F.; Walter, A.; Nelms, S.; Taylor, A. Removal of the gadolinium interference from the measurement of selenium in human serum by use of collision cell quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry (Q-ICP-MS). *Ann. Clin. Biochem.* **2014**, 51 (3), 386-91.
9. Sugiyama, N. The accurate measurement of selenium in twelve diverse reference materials using on-line isotope dilution with the 8800 Triple Quadrupole ICP-MS in MS/MS mode; Application note, Agilent Technologies, Inc. Publication number 5991-0259EN, **2012**.

詳細情報

本書に記載されたデータは典型的な結果です。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様などは予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2015

Printed in Japan

May 7, 2015

5991-5860.JAJP



Agilent Technologies