

Agilent 4200/4210 MP-AES による カリフォルニアワイン中の総ヒ素の ルーチン分析

アプリケーションノート
食品安全性

著者

Courtney Tanabe^{1,2}, H. Hopfer^{1,2,3}, Greg Gilleland⁴, A. Liba⁴, S.E.Ebeler^{1,2} and Jenny Nelson^{1,2,4}

1. Dept. Viticulture & Enology, University of California, Davis, CA, USA

2. Food Safety and Measurement Facility, University of California, Davis, CA, USA

3. Dept. Food Science, The Pennsylvania State University, University Park, PA, USA

4. Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA



概要

ヒ素 (As) は、世界中で検出される天然の元素です。As の環境濃度は、火山活動などの天然の発生源と、製錬など的人為的発生源が原因となって増加しています。生態系に対して As が継続的に放出されているため、食物連鎖中でこの元素が蓄積されてきました。

ワインは世界中で消費されている飲料であり、ワインにおける As の総濃度は国によって $100 \sim 200 \mu\text{g L}^{-1}$ の範囲で規制されています [1]。しかし、米国などのように、ワイン中のすべての元素の濃度を規制しない国もあります。そのため、米国で生産されたワインの総 As 濃度を調査して、他国で規制されている濃度を超える潜在的な汚染を特定する必要があります。

Verified for Agilent
4210 MP-AES



Agilent Technologies

さまざまな分光分析手法を用いてワイン中の総ヒ素濃度を測定する場合、この元素はイオン化ポテンシャルが比較的高いため、通常は感度が不十分になります。ただし、気化手法を用いて As の揮発形態を形成すると、As 検出の感度を高めることができます。

今回の実験では、カリフォルニア地方で製造されたワインサンプル中の総 As の測定のために、Agilent 4200 マイクロ波プラズマ原子発光分光分析装置 (MP-AES) をマルチモードサンプル導入システム (MSIS) アクセサリと組み合わせて使用した場合について調査しています。このアプリケーションは、アジレントの 4210 MP-AES でも適用可能です。

MP-AES は感度が高く、フレイム原子吸光分光分析と比較して優れた性能を示します。この機器は、大気から抽出 (窒素ジェネレータを使用) されたか、または窒素ポンベを通じて供給された窒素を用いてプラズマを維持します。MP-AES は、可燃性ガスを必要としないため、アセチレンをベースとする機器と比較して大幅に安全に分析できます。運用コストも大幅に削減できます。MSIS アクセサリを追加することで、液体から分離されてプラズマに導入される水素化物を生成しやすくなり、従来のネブライザを使用した場合よりも性能が向上し、検出限界は低くなります。

実験方法

使用機器

MSIS アクセサリ、MicroMist ガラス製ネブライザ、および Easy Fit トーチを装着した Agilent 4200 MP-AES を用いてすべての測定を実施しました。

As 188.979 nm ラインを分析に使用し、機器を制御する使いやすい MP Expert ソフトウェアで読み取り時間を最適化しました。機器の動作とメソッドの設定を表 1 に示します。

Agilent MP Expert ソフトウェアによって、バックグラウンドの干渉とスペクトル干渉を補正できます。10 % の HCl と 5 % のエタノールの溶液ブランクを干渉物質としてモデルを作成することによって、複雑な構造のバックグラウンドを補正するために、Fast Linear Interference Correction (FLIC) バックグラウンド補正 (図 1 を参照) を使用しました。

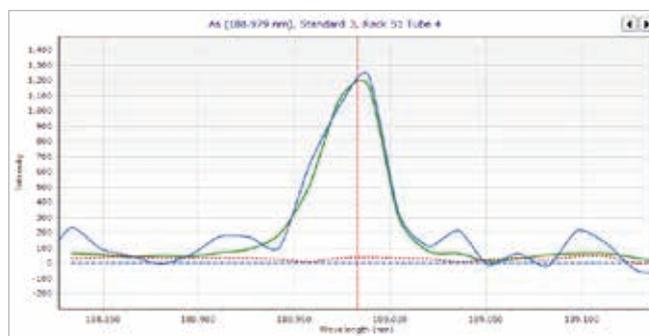


図 1. As (188.979 nm) キャリブレーション標準に FLIC バックグラウンド補正を適用。バックグラウンドおよび分析対象のピーク (青い線)、バックグラウンドおよび分析対象のピークに FLIC モデルを適用 (緑の線)。

表 1. Agilent 4200 MP-AES の動作とメソッドの条件。

パラメータ	設定
As 波長 (nm)	188.979
ポンプ速度 (rpm)	20
サンプルポンプチューブ	黒・黒
水素化物試薬チューブ	黒・黒
MSIS 廃液チューブ	黒・白
読み取り時間 (秒)	20
繰り返し回数	3
サンプル取り込み遅延 (秒)	40
ネブライザ流量 (L/min)	0.45
取り込み中の高速ポンプ	オン
安定化時間 (秒)	20
バックグラウンド補正	FLIC
検量線タイプ	一次関数
窒素ガス供給源	Agilent 4107 窒素ジェネレータ

サンプル

今回の調査では、カリフォルニアのさまざまな地域で生産された 40 種の市販のワインを分析しました (表 2)。使用したワインの種類は、ピノノワール、メルロー、カベルネソーヴィニオン、ロゼ、シャルドネ、ホワイトジンファンデル、ソーヴィニオンブラン、ホワイトブレンド、スパークリングワイン、およびポートスタイルワインです。

表 2. 調査で使用したワインのサンプルと、対応するサンプル番号および生産地域。

サンプル番号	ワインの種類	地域
1	カベルネソーヴィニオン	サウスコースト
2	カベルネソーヴィニオン	ソノマ郡
3	カベルネソーヴィニオン	ローダイ/ウッドブリッジ グレーブ委員会
4	カベルネソーヴィニオン	サウスコースト
5	カベルネソーヴィニオン	シェラフットヒルズ
6	カベルネソーヴィニオン	ナバ郡
7	カベルネソーヴィニオン	シェラフットヒルズ
8	カベルネソーヴィニオン	ナバ郡
9	カベルネソーヴィニオン	グレーターベイエリア
10	カベルネソーヴィニオン	ノースコースト
11	カベルネソーヴィニオン	ノースコースト
12	カベルネソーヴィニオン	サウスセントラルコースト
13	カベルネソーヴィニオン	グレーターベイエリア
14	カベルネソーヴィニオン	ソノマ郡
15	カベルネソーヴィニオン	ローダイ/ウッドブリッジ グレーブ委員会
16	カベルネソーヴィニオン	ノースセントラルコースト
17	カベルネソーヴィニオン	サウスセントラルコースト
18	カベルネソーヴィニオン	サウスコースト
19	カベルネソーヴィニオン	サウスセントラルコースト
20	カベルネソーヴィニオン	ソノマ郡
21	カベルネソーヴィニオン	シェラフットヒルズ
22	カベルネソーヴィニオン	サウスセントラルコースト
23	カベルネソーヴィニオン	ノースセントラルコースト
24	カベルネソーヴィニオン	ノースコースト
25	カベルネソーヴィニオン	グレーターベイエリア
26	カベルネソーヴィニオン	ナバ郡
27	カベルネソーヴィニオン	シェラフットヒルズ
28	ピノワール	セントラルコースト(産地)
29	ホワイトブレンド	サンホアキン郡
30	ロゼ	コントラコスタ郡
31	ロゼ	ローダイ/サンホアキン郡
32	シャルドネ	サンタバーバラ郡
33	ホワイトジンファンデル	ナバおよびソノマ
34	シャルドネ	セントラルコースト
35	シャルドネ	ナバ郡
36	メルロー	ナバ郡
37	ホワイトジンファンデル	ナバおよびローダイ
38	ソーヴィニオンブラン	オークビル/ナバ郡
39	カリフォルニアブリュット スパークリングワイン	ソノマ郡
40	プティシラーポートスタイルワイン	クラークスバーク/ヨロ郡

サンプル前処理

すべてのワインのサンプルは、Millipore 超純水 (Milli-Q™ 純水装置、ドイツ、ダルムシュタット) によって 3 倍に希釈してから、塩酸 (34 ~ 37.5 %、環境グレード、Alfa Aesar 社、米国、マサチューセッツ州ワードヒル) でさらに希釈し、酸の総濃度が 10 % となるようにしました。これで、最終的にワインを 3.3 倍に希釈しました。サンプル 37 を除き、それぞれのワインは 3 回繰り返してサンプルを前処理しました。サンプル 37 は残留糖の含有量が多いため、5 回繰り返して前処理しました。

4 種のワインサンプルを選択して、追加分析のために添加したサンプルとして前処理しました。低濃度と高濃度の添加を $10 \mu\text{gL}^{-1}$ および $50 \mu\text{gL}^{-1}$ で使用し、3 回繰り返して前処理しました。

標準溶液と試薬

As の $1,000 \mu\text{gL}^{-1}$ の単元素キャリブレーション標準 (VHG Labs 社、米国、ニューハンプシャー州マンチェスター) を使用して、5、10、25、50、および $100 \mu\text{gL}^{-1}$ の作業標準を前処理しました。SPEX CertiPrep 社 (米国、ニュージャージー州メアチエン) の As (III) および As (V) キャリブレーション標準をチェック用標準として使用して、メソッドをそれぞれ $20 \mu\text{gL}^{-1}$ で検証しました。すべてのキャリブレーション標準について、10 % の塩酸 (34 ~ 37.5%、環境グレード、Alfa Aesar、米国、マサチューセッツ州ワードヒル) および 5 % のエタノール (v/v) (200 プルーフ、Gold Shield Distributors 社、カリフォルニア州ハイワード) 溶液とのマトリックスマッチングを実施しました。

水素化物発生のために 2 種の別個の溶液を作成しました。1 つ目は、Millipore 超純水 (Milli-Q™ 純水装置、ドイツ、ダルムシュタット) 中に 1.2 % のホウ化水素ナトリウム (NaBH_4 、98 %、J.T. Baker 社、米国、ペンシルベニア州センターバレー) および 1.0 % の水酸化ナトリウム (NaOH 、ACS グレード、EMD Chemicals Inc.、ニュージャージー州ギブスタウン) という構成です。2 つ目は、HCl (34 ~ 37.5 %、環境グレード、Alfa Aesar 社、米国、マサチューセッツ州ワードヒル) および Millipore 超純水 (Milli-Q™ 純水装置、ドイツ、ダルムシュタット) の 1:1 の溶液です。

分析の前に As 種を削減するために、25 % (w/v) のヨウ化カリウム (ACS グレード、BDH Chemicals 社、ペンシルベニア州ウェストチェスター) を使用しました。As (III) および As (V) は、ワイン中で最も多く見られる As の形態です。この削減ステップは、As の原子価状態を As (V) から As (III) に変えることを目的としています。As (V) が金属水素化物を容易に形成しないためです。ヨウ化カリウム溶液を、最終濃度が 1 % となるように、すべてのサンプルと標準溶液に添加しました。分析の少なくとも 3 時間前に添加すると、最良の結果が得られました。

今回の分析の MSIS (気化モード) の設定を図 2 に示します。ペリスタルティックポンプの後にT字フィッティングによってサンプルと 50 % の HCl 溶液を混合し、結合されたサンプル/HCl ラインを MSIS の底部に接続しました。還元剤である NaOH/NaBH₄ 溶液のラインを MSIS の最上部に接続しました。従来のネブライザは不要であったため、ネブライザへの使用しないサンプルラインは、分析中はブロックしました。

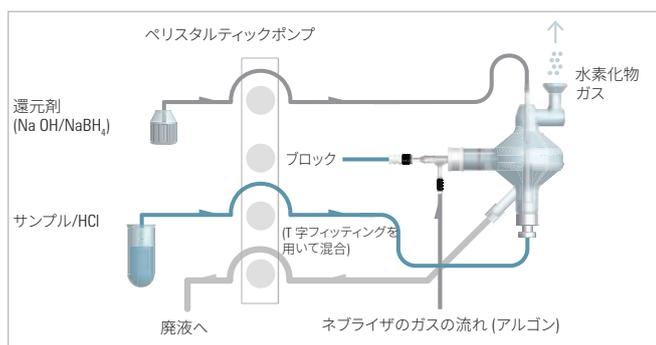


図 2. 気化モードの MSIS 設定

結果と考察

キャリブレーション

5 個のポイントがある As (188.979 nm) の検量線を図 3 に示します。相関係数が 0.999 を超え、各キャリブレーションポイントの誤差が 6 % を下回るという、優れた直線性を示しています。



図 3. 5 ~ 100 µg/L の範囲の濃度で優れた直線性を示す As 188.979 nm の検量線 (機器の分析範囲の広さを示している)。

メソッド検出下限

ブランク溶液の 10 回繰り返し測定分析から、As のメソッド検出下限 (MDL) を判別しました。表 3 に示す結果は、As について計算された MDL (信頼区間 99.5 %) が 0.34 µg/L⁻¹ であったことを示しています。

表 3. As 188.979 nm について計算された MDL および標準偏差の結果。

元素	濃度 (µg/L ⁻¹)
平均 (n = 10)	0.01
SD	0.10
MDL (0.995)	0.34
MDL (0.99)	0.29
MDL (0.95)	0.19

メソッドバリデーション

メソッドの有効性をチェックするために、キャリブレーション後と、分析全体を通じて、品質管理 (QC) サンプルを分析しました。定期キャリブレーションチェック (CCV) および定期キャリブレーションブランク (CCB) を、10 個のサンプルごとに測定しました。初期キャリブレーションチェックのブロックには、20 µg/L⁻¹ の As (III) および As (V) サンプルが含まれていました。分析の前に、キャリブレーションを検証し、As (V) から As (III) への KI 削減ステップの効率を確認するために、これを実行しました。すべての CCV 回収率は、実際の指定値の ± 10 % の範囲内でした (表 4)。

表 4. CCB, CCV、および 20 µg/L⁻¹ の As (V) および As (III) サンプルの QC 回収率。

溶液	濃度 (µg/L ⁻¹)	回収率 (%)
CCB (平均, n=7)	0.46	-
25 µg/L ⁻¹ CCV (平均, n=7)	23.94	96
20 µg/L ⁻¹ As (V)	20.59	103
20 µg/L ⁻¹ As (III)	19.92	99.6

ワインのサンプルの分析

上記のメソッドを、40 種のカリフォルニアワインのサンプルの分析に適用しました。サンプルごとに得られた結果は、3 回の繰り返し分析の平均です。これを標準偏差および相対標準偏差 (RSD (%)) と共に表 5 に示します。ワインサンプル中の As 濃度は、MDL 未満から 48.81 µg/L⁻¹ までの範囲となり、多くの国の規制で定められた 100 ~ 200 µg/L⁻¹ の範囲を大幅に下回っていました。

表 5. 4200 MP-AES を用いた 40 種のカリフォルニアワイン中の総 As (188.979 nm) 濃度の定量結果。

サンプル	平均濃度 (μgL^{-1}) (平均、n=3)	標準偏差	相対標準偏差 (%)
1	1.03	0.88	0.85
2	<MDL	0.71	N/A
3	1.48	2.12	1.43
4	1.43	0.84	0.59
5	<MDL	0.21	N/A
6	<MDL	0.40	N/A
7	<MDL	0.77	N/A
8	<MDL	0.74	N/A
9	<MDL	0.74	N/A
10	43.81	1.13	0.03
11	2.92	3.55	1.22
12	<MDL	1.17	3.95
13	<MDL	3.91	1.90
14	6.63	1.14	0.17
15	6.09	1.45	0.24
16	3.24	1.89	0.58
17	<MDL	0.22	N/A
18	2.33	1.33	0.57
19	<MDL	2.11	14.06
20	<MDL	1.52	6.70
21	0.75	0.92	1.23
22	<MDL	2.51	N/A
23	10.16	1.15	0.11
24	<MDL	1.63	N/A
25	<MDL	1.74	N/A
26	<MDL	1.66	N/A
27	<MDL	0.22	N/A
28	3.96	0.52	0.06
29	1.37	1.16	0.85
30	<MDL	0.71	N/A
31	<MDL	0.47	N/A
32	27.04	1.21	0.04
33	31.17	4.72	0.15
34	4.53	0.37	0.08
35	9.86	0.23	0.02
36	3.44	0.46	0.13
37	17.84 (平均、n=5)	0.63	0.04
38	11.23	0.28	0.02
39	9.76	0.24	0.02
40	2.64	0.90	0.34

<MDL = メソッド検出下限を下回る

添加したワインサンプルの分析

さまざまな総 As 濃度の典型となる 4 種のワインを、添加回収率の調査の対象として選択しました。サンプルごとに、 $10 \mu\text{gL}^{-1}$ および $50 \mu\text{gL}^{-1}$ の添加を実施しました。これは、サンプル中の $33 \mu\text{gL}^{-1}$ および $165 \mu\text{gL}^{-1}$ の添加に相当します。各添加の回収率は、回収率が 111 % であった 1 つを除いて $\pm 10\%$ の範囲内でした。表 6 に示す結果から、MP-AES を使用すると、低い μgL^{-1} 濃度でも高い μgL^{-1} 濃度でも優れた As 回収率を実現することが分かります。

結論

Agilent 4200 MP-AES を MSIS アクセサリと組み合わせて使用すると、ワイン中の総 As を容易に、かつ正確に分析できます。MSIS テクノロジーにより、1 桁の μgL^{-1} よりも低い濃度まで感度が向上しました。結果として MDL は、直接噴霧を使用した場合と比較しておよそ 100 分の 1 になります。分析した 40 種のワインすべてのサンプルは、世界中のほとんどの国の規制濃度よりも As の濃度が低いことが分かりました。

キャリブレーションおよびサンプルでの複雑なバックグラウンドは、アジレントの Fast Linear Interference Correction (FLIC) によって容易に補正することができ、分析の正確さが向上しました。

Agilent 4107 窒素ジェネレータを使用して窒素が供給される場合、窒素ベースのプラズマを使用すると、大幅に運用コストが削減されます。ジェネレータは、圧縮空気から窒素を抽出します。ボンベから窒素を供給することもできます。

MSIS アクセサリを装着した Agilent 4200 MP-AES は、ワイン中の総 As を定量する場合に高い信頼性とコスト効率を示す機器であることが実証されました。

表 6. 10 μgL^{-1} および 50 μgL^{-1} で添加した 4 種のワインサンプルの As 回収率の結果 (%). 個々に示す結果は、希釈係数を考慮して計算された、元のサンプル中の濃度を表します。

サンプル番号	添加濃度 (μgL^{-1})		測定された添加濃度 (μgL^{-1})	測定された無添加濃度 (μgL^{-1})	回収率 (%)
8	33	平均	32.25	-1.53	102.36
		RSD (%)	0.03	-0.48	
8	165	平均	153.26	-1.53	93.82
		RSD (%)	0.01	-0.48	
23	33	平均	42.76	10.16	98.81
		RSD (%)	0.01	0.11	
23	165	平均	164.79	10.16	93.72
		RSD (%)	0.01	0.11	
28	33	平均	39.54	3.96	107.82
		RSD (%)	0.01	0.06	
28	165	平均	161.48	3.96	95.46
		RSD (%)	0.04	0.06	
32	33	平均	57.63	27.04	92.68
		RSD (%)	0.00	0.04	
32	165	平均	211.12	27.04	111.56
		RSD (%)	0.01	0.04	

参考文献

C. K. Tanabe, H. Hopfer, G. Gilleland, A. Liba, S. E. Ebeler and J. Nelson. Total arsenic analysis in Californian wines with hydride generation – microwave plasma – atomic emission spectroscopy (HG-MP-AES). *J. Anal. At. Spectrom.*, 2016

**Verified for Agilent
4210 MP-AES**



本文献の結果は 4200 を用いて得られた
ものですが、4210 MP-AES を用いて確認
されています。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2016

Printed in Japan, September 1 2016

5991-7053JAJP



Agilent Technologies