

# IC-ICP-MSによるりんごジュース中のヒ素のスペシエーション分析

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

## キーワード

iCAP Q ICP-MS / ヒ素 / スペシエーション / イオンクロマトグラフィー / ICS-5000 / りんごジュース

## はじめに

米国では、一部のりんごジュースに高濃度のヒ素含有のおそれがあるとするメディアの報告が引き金となり、フルーツジュースのヒ素 (As) 種の測定が関心を呼んでいます<sup>1</sup>。フルーツジュースは特に幼児などが多く摂取するため、報告された値はフルーツジュースの安全性について深刻な懸念をもたらしました。しかし、実施された実験では、総ヒ素濃度が評価されただけで、ヒ素の化学形態について詳細な検討は行われませんでした。無機態のヒ素、すなわち亜ヒ酸 [As (III)] およびヒ酸 [As (V)] は毒性が高く、有機態 (例えば、アルセノペタイン) は毒性があるとはみなされないことから、化学形態の識別は重要です。通常りんごジュース中で検出されている総ヒ素濃度は、米国環境保護庁 (EPA) が飲料に定める最大汚染濃度 (MCL) 10 ng/g を下回るため、りんごジュースは一般に安全であると考えられ、現在規制対象にはなっていません<sup>2</sup>。しかし、米国食品医薬品局 (FDA) は現在データを見直しており、最終的に現行ガイドラインを厳格化する可能性があります。今回の研究では、りんごジュース試料を IC-ICP-MS で分析し、2種類の無機ヒ素種 (As (III) および As (V))、4種類の有機ヒ素種 (アルセノペタイン (AsB)、アルセノコリン (AsC)、モノメチルアルソン酸 (MMA)、ジメチルアルシン酸 (DMA)) の計6種類のヒ素種の濃度を測定しました。



## 装置

クロマトグラフィー分離は、Thermo Scientific Dionex ICS-5000 イオンクロマトグラフィーシステムを用いて実施しました。このシステムの試料経路は完全に金属フリーであるため、元素のスペシエーション研究に適しています。今回のメソッドには Thermo Scientific Dionex AS-7 陰イオン交換カラム (内径 2 mm × 長さ 250 mm) を用いました。このカラムは、陽イオン種と陰イオン種双方を分離できるため<sup>3</sup>、検討下のヒ素種の分離に非常に適しています。高感度かつ高選択性のヒ素検出器として、Thermo Scientific iCAP Qc ICP-MS を用いました。iCAP™ Qc は、弊社独自の 90° イオン光学 (RAPID レンズ) により、高感度と低バックグラウンドを実現する一方、QCell コリジョンセルでの He KED (運動エネルギー分別) モードを用いて、あらゆる種類の試料の多原子干渉を効果的に低減させ、高選択性を達成します。さらに独自の技術として、この QCell には低マスカットオフ機能があり、バックグラウンドノイズを最小化して、特に低濃度レベルでの定量分析に威力を発揮します。ヒ素には同位体が一つ ( $m/z$  75) しかないため、ヒ素の高感度分析には、汎用性が高く、 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  などの干渉を低減できる QCell He KED モードを採用しました。このモードを採用しなければ、さまざまな多原子干渉により、深刻な偽陽性が生じる可能性が考えられます。



iCAP Qc ICP-MS と ICS-5000 イオンクロマトグラフィーシステム

## 分析条件

クロマトグラフィー分離は、ICS-5000で、表1に示すパラメータで実施しました。さまざまなヒ素種の分離については、炭酸アンモニウム (20 ~ 200 mmol/L) のリニアグラジエントを用いた陰イオン交換クロマトグラフィーを選択しました。これらの条件下で、検出可能なすべてのヒ素種の溶出時間は15分未満であり、きわめて高いスループットのルーチンクロマトグラフィー分析が可能です。

カラム	Dionex AS-7 (2 mm ID × 250 mm)
溶離液	A: 20 mmol/L 炭酸アンモニウム B: 200 mmol/L 炭酸アンモニウム
グラジエント	20 ~ 200 mmol/L 15分
注入量	20 µL
測定所要時間	15分

表1: IC操作パラメータ

iCAP Qc ICP-MSの測定パラメータを表2に示します。ペルチエ冷却式PFAスプレーチャンバーと、PFA-LCネブライザー(ESI社製)を用いました。PFA-LCネブライザーは、デッドボリュームがきわめて小さく、LCフィッティングに適合するため、クロマトグラフィー分析に理想的です。また、セミデマンダブル式トーチには、内径2mmのインジェクターを装備しました。<sup>75</sup>As<sup>+</sup>の干渉を除去するため、コリジョンガスとして純Heを用い、コリジョン運動エネルギー分別(KED)モードで測定を実施しました。オートチューンプロトコルを用いて、He KEDモードの性能が最大になるよう、機器の最適化を行いました。

パラメータ	設定
ネブライザー	ESI PFA-LC ネブライザー
スプレーチャンバー	石英サイクロン
インジェクター	石英 2.0 mm φ
ネブライザーガス流量	0.80 L/分
高周波出力	1550 W
QCell He ガス流量	4.8 mL/分
QCell KED 設定電圧	2 V
積分時間	100 ms

表2: ICP-MS測定パラメータ

カラム出口とPFA-LCネブライザーとを直接接続し、iCAP Qの右側

面のI/Oポートにトリガーケーブルを接続して、双方向通信を確立しました。すべてのデータ評価は、Thermo Scientific Qtegraソフトウェアに標準装備のtQuant機能で行いました。

## 試料と検量線用標準液の調製

スーパーで購入した4種類のりんごジュースを分析しました。ジュース 1 mLに超純水7 mLおよび2%硝酸2 mLを加えて希釈後、最初に総ヒ素濃度を測定しました。ヒ素が検出されなかった1試料を対象に、さまざまな量の検討分析対象のヒ素種標準溶液を添加し、このジュースのマトリックスで添加回収率を評価しました。添加量は、容器入り飲料水についてFDAが定めた規制値 (10 ng/g) に合わせて10 ~ 20 ng/gとしました。ヒ素が検出された2試料については、次にスペシエーション分析を行いました。検量線用標準液と添加溶液はすべて、さまざまなヒ素種を含有する原液から毎日濃度1 mg/Lで調製しました。

## 結果と考察

分析化学者にとって、食品中のヒ素の分析は困難な課題です。ヒ素含有農薬など潜在的原因物質は30年以上前に段階的に廃止されたため、今日、食品中の総ヒ素濃度はきわめて低くなっています。さらに、ICP-MSによるヒ素の検出は、さまざまなマトリックスに由来する多原子種による干渉を受け、誤って高い検出結果をもたらす可能性があります。しかし、iCAP Q ICP-MSに用いられるHe KEDモードにより、多種多様な試料において、こうした多原子種干渉 (例えば<sup>75</sup>Asの場合の<sup>35</sup>Ar<sup>40</sup>Cl) の影響が顕著に低減されることが示されました。イオン透過効率の高い独自のRAPIDレンズにより、He KEDモードでは、sub ng/gのヒ素のスペシエーション分析が十分可能な感度を有します。

iCAP Qc ICP-MSのHe KEDモードの検出性能を示すため、6種類のAs種 (毒性がある無機As種としてAs (III)、As (V)、毒性がない有機As種としてアルセノベタイン (AsB)、アルセノコリン (AsC)、モノメチルアルソン酸 (MMA)、ジメチルアルシン酸 (DMA)) 各0.45 ng/gを含有する希HNO<sub>3</sub>試料を用いてモデル分離を実施しました。図1に示すとおり、すべてのヒ素種が15分未満で十分に分離されています。すべてのヒ素種について、保持時間の精度は4%未満、絶対ピーク幅は10 ~ 20秒の範囲でした。高機能のDionexイオンクロマトグラフィー技術により、ピーク幅が減少した結果、今回のメ

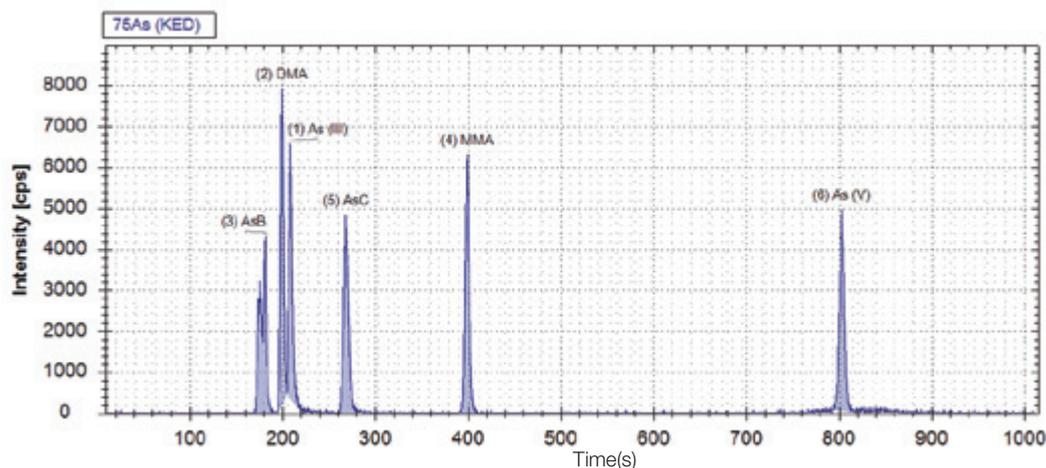


図1: 6種類のヒ素種の分離例 (それぞれ希HNO<sub>3</sub>中に0.45 ng/g含有)

ソッドの感度に著しく寄与し、低濃度のヒ素種でも、図のような高いシグナルノイズ比で容易に検出できます。DMAとAs(Ⅲ)は保持時間が近接して溶出していますが、Qtegra™ソフトウェアのピーク検出ルーチン、ピーク積分ルーチンにより、正確なピーク面積の測定が可能です。

測定した6種類のヒ素種について得られた、検量線を図2に示します。

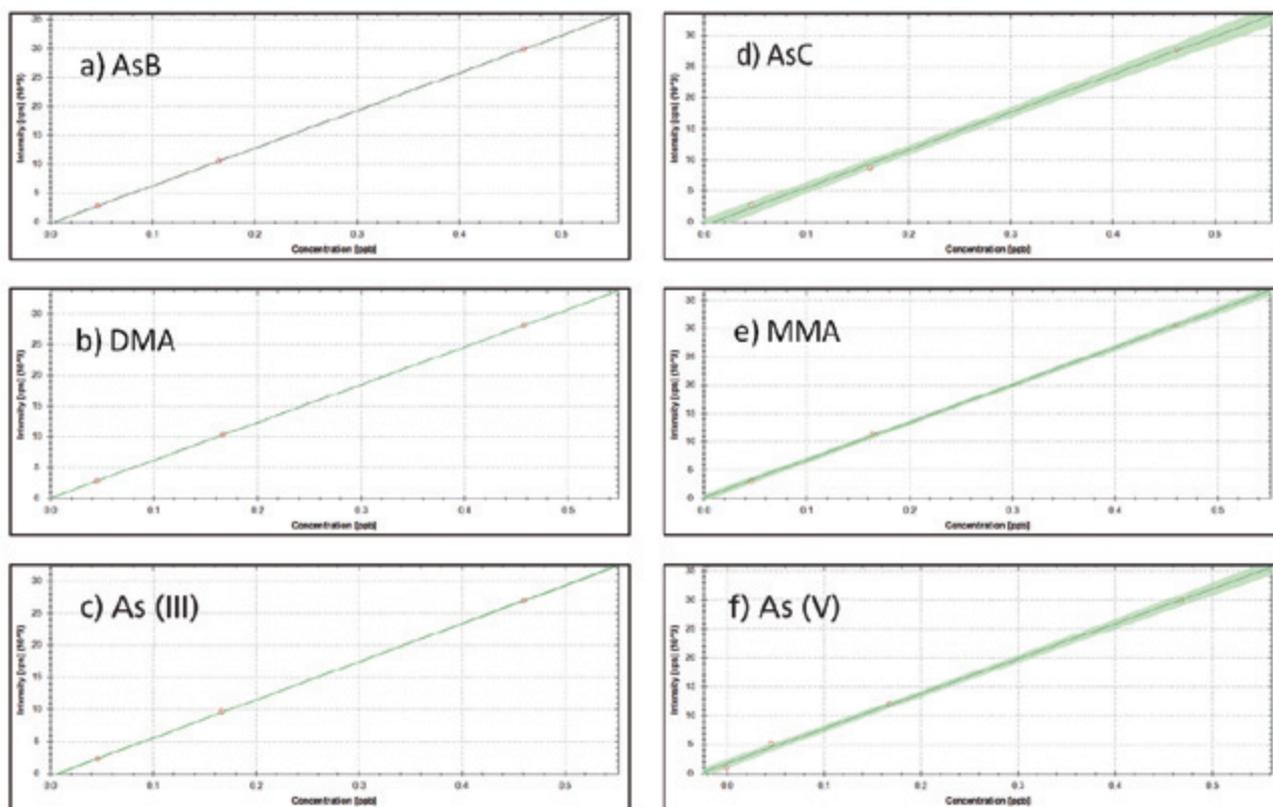


図2: IC-ICP-MSによる6種類のヒ素種の検量線 (0.045, 0.165, 0.45 ng/g)

4種類のりんごジュースのうち、ヒ素が検出された2種類の結果を表3に示します。各ヒ素種のメソッド検出限界 (MDL) はブランク注入を4回繰り返した場合の標準偏差の3倍から算出しました。2種類の試料についての総ヒ素濃度も表3に示します。

	AsB	DMA	As <sup>3+</sup>	AsC	MMA	As <sup>5+</sup>	(全 As 種合計)	総 As
MDL	0.002	0.004	0.005	0.004	0.011	0.001	—	0.005
ジュース 3	ND	ND	0.5 ± 0.01	ND	ND	0.7 ± 0.01	(1.2)	1.7 ± 0.05
ジュース 4	ND	0.4 ± 0.05	0.3 ± 0.01	ND	0.1 ± 0.05	0.7 ± 0.01	(1.5)	1.8 ± 0.05

表3: 分析したりんごジュース試料2種類のAs種濃度、メソッド検出限界 (MDL)、総ヒ素濃度 (濃度の単位はすべてng/g, NDは不検出を示す)

全ヒ素種の合計値は、測定した総ヒ素濃度よりやや低くなりました。この違いの原因として、検出限界 (LOD) 未満の濃度であったヒ素種の影響や、分析前のヒ素化合物の分解・変質などが考えられます。今回の研究で検出されたヒ素含有量は、米国食品医薬品局 (US FDA) が過去の研究で測定した通常のりんごジュースのヒ素濃度範囲 (2 ~ 6 ng/g) に相応しています<sup>3</sup>。

今回開発したIC-ICP-MSメソッドを評価するため、りんごジュース1試料に、検討した6種類のヒ素種をさまざまな量で添加して、IC-ICP-MSで分析しました。ジュースへの添加量は、容器入り飲料水についてFDAが定めた規制値(10 ng/g)に相当する適合する10~20 ng/gとしました。次にジュースを前述のとおり希釈し、本メソッドを用いて分析しました。得られた濃度と算出した回収率を表4に示します。

種	予測値 (ng/g)	測定値 (ng/g)	回収率 (%)
AsB	2.19	2.27	104
DMA	1.4	1.15	82
As (III)	1.35	1.38	102
AsC	1.94	1.87	94
MMA	1.09	1.13	104
As (V)	1.1	1.07	98

表4: りんごジュースに対する6種類のヒ素種の添加回収率

## まとめ

りんごジュース中の6種類のヒ素種を分離・定量するための新しいIC-ICP-MSメソッドを開発しました。フルーツジュース中の低濃度のヒ素種を検出する場合、ICS-5000イオンクロマトグラフィとiCAP Q ICP-MSとを連結したシステムが、強力なツールになることが示されました。AS-7陰イオン交換カラムと、高感度のiCAP Qc ICP-MSとを組み合わせることにより、非常に効率的な分離が達成され、シグナルノイズ比が向上し、検出限界が従来より大幅に改善します。AS-7カラムは容積が小さいため、最小限の試料で分析が可能で、移動相の量も抑えられますので、分析1回あたりの費用を削減できます。今回開発したメソッドは、試料のスループットを向上し、多数の試料を迅速に分析する必要がある食品分析分野に適しています。

現在、フルーツジュース中のヒ素種に対し法的な制限はありませんが、本メソッドにより得られる検出限界(約5 pg/g)は、例えば容器入り飲料水(FDAが定める制限は10 ng/g)などの基準を十分に満足しています。

## 参考文献

1. Letters from the FDA to the Dr. Oz Show Regarding Apple Juice and Arsenic  
(<http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm271746.htm>)
2. FDA arsenic in apple juice resources site:  
<http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm271595.htm>
3. FDA arsenic in apple juice results:  
<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/Metals/ucm272705.htm>
4. Dionex homepage  
(<http://www.dionex.com/enus/products/columns/icrfic/specialty-packed/ionpac-as7/lp-73274.html>)

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

- ここに記載されている会社名、製品名は各社の登録商標または商標です。
- ここに記載の内容は、改善のために予告なく変更することがあります。
- ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社  
分析機器に関するお問い合わせはこちら

☎ 0120-753-670 FAX 0120-753-671

〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9 C棟

〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル

E-mail: [analyze.jp@thermofisher.com](mailto:analyze.jp@thermofisher.com)

[www.thermoscientific.jp](http://www.thermoscientific.jp)

E1306

**Thermo**  
SCIENTIFIC

Part of Thermo Fisher Scientific