

## ICP-MS を用いたペットフード中の 1 族及び 2 族金属元素の定量

小林 淳<sup>1,2)</sup>, 寺田 宙<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科

<sup>2)</sup> 国立保健医療科学院 生活環境研究部

**要 約** 誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用いた金属の一斉分析法について検討した。これら金属の中で、ナトリウム、マグネシウム、カリウム、カルシウムは、人に必須の元素であり、血液等の生体試料や海水等の環境試料中に比較的高濃度に存在している。これらの濃度を測定することは、人の健康状態の把握・疾病の予防、環境汚染の探査、食品の品質管理において重要と考えられる。最も一般的な測定方法は、炎光光度法や原子吸光光度法 (AAS) である。しかしこれらの元素に留まらず、重金属なども同時に測定する必要性が多く存在する。その場合には、ICP-MS などの多元素同時分析装置の利用が望まれるが、残念ながら上記の元素と重金属とは試料中に存在する濃度レベルが大きく異なり、1つの分析機器のみで同時分析することは通常困難である。今回、複数の機器使用による操作の煩雑さ解消のため、1台の ICP-MS (日立 P-5000 型) で 1 族及び 2 族金属元素と重金属との同時分析法について検討し、MS 部へのイオン導入量を変更することによって、良好な結果を得た。

キーワード：ICP-MS, アルカリ金属・アルカリ土類金属, 同時定量

日獣生大研報 64, 28-33, 2015.

### はじめに

金属元素の中で、1族、2族に分類されるナトリウム (Na)、マグネシウム (Mg)、カリウム (K)、カルシウム (Ca、以下、この4元素を主要ミネラルと略す) は、人に必須の元素と考えられ、血液等の生体試料や海水・河川水等の環境試料中に %-ppm (g/kg-mg/kg) レベルと比較的高濃度に存在する<sup>1,2)</sup>。それ以外の同属元素のリチウム (Li)、ベリリウム (Be)、ルビジウム (Rb)、ストロンチウム (Sr)、セシウム (Cs)、バリウム (Ba) 等は、必須性が推測されているものもあるが未だ証明されておらず、重金属と同様に ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) レベル以下しか存在しない。従来から主要ミネラルは、人の健康状態の把握、疾病の予防、環境汚染の探査、食品の品質管理など多くの状況下でその濃度計測が重要と考えられてきた<sup>3)</sup>。また最近では、農作物の産地判別などにも使用されている<sup>4)</sup>。この主要ミネラルの測定は、生体試料を用いた臨床検査では主にイオン選択電極法や蛍光キレート剤を用いた鏡検法によって、血中濃度の定量や細胞内の局在化・濃度分布が調べられるが、その他の分野も含めて最も一般的な分析方法は、炎光光度法や原子吸光光度法 (AAS) である<sup>2,5,6,7)</sup>。

ところで産地判別や汚水の起源特定、毒性評価などでは、主要ミネラルに留まらず銅 (Cu) などの重金属を含めた

多元素を同時に測定し、基準とする元素との比率や相関を取ることで、その解析を行うことがある<sup>4,6,8,9)</sup>。その場合、対象元素の濃度が ppm レベルと近ければ、多元素同時分析装置である誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-OES) が、ppb-ppt レベルであるならば誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) が現在は汎用されている<sup>4)</sup>。特に後者はより高感度であり、前濃縮や干渉物質の除去等の前処理を行わなくても、一部の実試料では直接分析可能である場合があり、有力な手段となる。しかしながら実際の試料中の元素はそれらの濃度範囲を交差して存在することが多く、一般的には濃度レベルに合わせて方法を複数使い分けて分析することが通例である。このことは複数の高価な測定機器を手元に用意し、測定時に備えて定期的に調整を行い、試料もそれぞれの測定法に合わせて酸濃度などを調製し、機器の立ち上げや測定時間の延長など手間を要することを意味する。近年多くの分析手法における報告は、感度を補うための濃縮や装置改良によるものが主であり、高濃度の測定対象が含まれる試料を高感度分析法で測定することは、通常行なわれない。しかし、前述の複数の機器使用による煩雑さを解消し、効率的に分析を行うことに役立つと考えて、本研究では、濃度レベルの異なる主要ミネラルと Cu などの重金属類の多元素を1つの分析装置で同時測定することを目指して、1族、2族金属元素の ICP-MS 測定条件

の基礎的検討を行った。

## 実 験

### 試薬

アルカリ (Na, K) 及びアルカリ土類金属 (Mg, Ca) の標準品として、和光純薬工業 (大阪) 製の原子吸光光度法用標準液を使用し、それぞれ 10 ppm 以下に 0.1 N 硝酸で希釈して用いた。重金属の標準品としては、Spex 社 (ニュージャージー州, アメリカ) 製の ICP 用混合標準液 XSTC-13 (Li, Be, Na, Mg, アルミニウム (Al), K, Ca, バナジウム (V), クロム (Cr), マンガン (Mn), 鉄 (Fe), コバルト (Co), ニッケル (Ni), Cu, ガリウム (Ga), ヒ素 (As), セレン (Se), Rb, Sr, 銀 (Ag), カドミウム (Cd), インジウム (In), Cs, Ba, 水銀 (Hg), タリウム (Tl), 鉛 (Pb), ビスマス (Bi), トリウム (Th), ウラニウム (U) の 30 種混合) と XSTC-331 (Li, Be, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, 亜鉛 (Zn), Ga, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Tl, Pb, Bi, Th, U の 29 種混合) を使用し、前者は 100 ppb 以下に 1 N 硝酸で希釈することで標準溶液として使用した。後者は機器メーカーが推奨するように 10 ppb に調製後、Cs, Bi, U のみを対象として ICP-MS 装置の感度調整に使用した。1 N 硝酸は、濃硝酸を超純水で希釈することにより調製し、濃硝酸は、和光純薬工業製の有害金属分析用を使用した。超純水は、Merck-Millipore (マサチューセッツ, アメリカ) 製の Elix 3/Milli-Q Element System を用い、比抵抗値 18 M $\Omega$  · cm 以上になるまで精製したものである。

### 装置

今回の実験で金属分析に用いた装置は、P-5000 型 ICP-MS 装置 (日立製作所 (茨城)) である。今回用いた元素によらない共通の装置条件を Table 1 に示した。トーチ位置・サンプリング位置の調整によって、トーチ内のイオン化密度が異なり、イオンの種別ごとの質量分析計への導入量の多少、感度の変更可能であったが、本研究では様々な核種の一斉分析を目的としたため、イオン質量に関係なく、同水準の感度となる様に、毎日機器使用前に感度調整を行った。

### 直線性の得られる測定条件

XSTC-13 重金属標準溶液に含まれる元素に関し、0-100 ppb の範囲で直線検量線の得られる条件を検討した。その条件に基づき、主要ミネラルイオンが 0-10 ppm の範囲で直線性が得られる条件に変更した。

### 実試料測定を試み

ペットフード 3 種 (No.1-3) を実試料として用い、測定を試みた。マイクロウェーブ分解装置 ETHOS TH (マイルストーンゼネラル, 川崎) を用いた硝酸分解後に、主要ミネラルと重金属類の ICP-MS による同時分析を試みた。マイクロウェーブ分解装置の使用条件 (A-C の 3 種) は、Table 2 に示す。分解後の溶液を 1 N 硝酸酸性にするために、超純水で 50 mL に希釈したものを ICP-MS 測定に供した。

### ストラテジー

今回用いた ICP-MS は、イオントラップデバイスを有する。これは各々の核種イオンの質量分析計 (検出部分) への取り込み量を個別に大幅に変更可能であることを意味する。各核種イオンの質量分析計への導入量は、それぞれのデータ収集電圧 (FNF (filtered noise field の略で、ある質量数範囲を設定し、その範囲以外に共鳴する周波数をかけ、そのエネルギーによって質量分析計からイオンを排除するもの) の範囲以外に印加する電圧の大きさ)、イオンレベル (質量分析計に入ったイオンに対し、低質量数のイ

Table 1. Basic instrumental parameters of the ICP-MS

High-power output	1.3 kW
Plasma gas flow rate	14 L/min
Auxiliary gas flow rate	1.2 L/min
Carrier gas flow rate	1.3 L/min
Detector voltage	-2.1 kV
Horizontal torch position	(1.5 mm)
Vertical torch position	(1.2 mm)
Sampling position	(1.0 mm)
Ion collection time	100 ms

For the torch and sampling positions, it needs daily adjustment by ICP elemental mixture of 10ppb (for example, XSTC-331 of Spex).

Table 2. Decomposition conditions of the real samples

Conditions	A	B	C
Amount of sample	1.0 g	0.3 g	0.5 g
Acid used	8 mL nitric acid	8 mL nitric acid	8 mL nitric acid
Decomposition conditions	50°C (2 min) → 30°C (3 min) → 180°C (25 min) → 150°C (1 min) → 180°C (19 min)	70°C (2 min) → 50°C (3 min) → 200°C (35 min)	70°C (2 min) → 50°C (3 min) → 180°C (35 min)

オンを排除するパラメーター), FNF とガイド電圧 (FNF に印加する電圧の大きさ) により, 機器調節可能である。従って基本的に, FNF などの条件検討の結果, 直線検量線の描画が可能となれば, イオン取り込み量 (データ積算時間) を調節することで, 検量範囲を移動させることが可能であると思われた。サンプリング位置を変更しても高濃度な主要ミネラルの測定が実現できる可能性があるが, Table 1 に示すものは, 一斉分析時に共通化して使用しなければならないものであり, 元素 (核種) ごとに条件変更できない。またある核種が高感度に測れるように調整しても, 数倍程度の感度上昇しか見込めないと予想される。

また炎光光度法やフレーム AAS などは, 長時間の運転による機器応答の変化は一般的に少ないが, ICP-MS では比較的变化が大きい為, それを補うために内部標準元素の使用も検討課題となった。

## 結果及び考察

### 直線性の得られる条件

Table 3 に示すような各核種用の条件を用いることで, 0-100 ppb の範囲で, 重金属標準溶液に含まれる主要ミネラル以外の元素 (Li, Be を除く) は, 相関係数 (r) 0.995 以上の良好な検量線を描画できた。Li, Be については, 軽重量の核種のためイオントラップが難しく, r が 0.8 以下と低かったため, 今回の分析対象からは除くことにした。

### イオン取り込み時間の検討

これまでの検討結果を基に, 主要ミネラル元素について質量分析計へのイオン取り込み時間を変更し, 10 ppm 以下の範囲で直線検量線の描画が可能かどうかを検討した。この 10 ppm は AAS などで汎用される濃度範囲である。検討の結果, イオン取り込み時間を 100 ms から 1 ms に

Table 3. Measurement conditions of each element

Elements	Mass number	Data collection voltage (V)	Ion level	FNF	Guide voltage (V)
Li	7	1.0	4.9	6.0-8.0	1.0
Be	9	1.3	6.3	8.0-10.0	1.0
Na	23	3.5	16.1	22.0-24.0	5.0
Mg	24	3.0	16.8	23.0-25.0	5.0
Al	27	4.5	18.9	26.0-28.0	5.0
K	39	5.0	27.3	38.0-40.0	10.0
Ca	44	3.0	35.0	43.0-45.0	20.0
V	51	5.0	35.7	50.0-52.0	50.0
Cr	52	5.0	36.4	51.0-53.0	50.0
Mn	55	3.5	38.5	54.0-56.0	50.0
Fe	56	3.5	39.2	55.0-57.0	50.0
Co	59	5.0	41.3	58.0-60.0	50.0
Ni	60	3.0	42.0	59.0-61.0	50.0
Cu	63	5.0	44.1	62.0-64.0	50.0
Ga	69	5.0	48.3	68.0-70.0	50.0
As	75	5.0	52.5	74.0-76.0	50.0
Se	80	5.0	57.0	79.0-81.0	50.0
Rb	85	5.0	59.5	84.0-86.0	50.0
Sr	88	5.0	61.6	87.0-89.0	50.0
Ag	107	5.0	74.9	106.0-108.0	50.0
Cd	114	3.0	79.8	113.0-115.0	50.0
In	115	5.0	80.5	114.0-116.0	50.0
Cs	133	5.0	93.1	132.0-134.0	50.0
Ba	138	3.0	96.6	137.0-139.0	50.0
Hg	202	5.0	141.4	201.0-203.0	50.0
Tl	205	5.0	143.5	204.0-206.0	50.0
Pb	208	5.0	145.6	207.0-209.0	50.0
Bi	209	5.0	148.0	208.0-210.0	50.0
Th	232	5.0	162.4	231.0-233.0	50.0
U	238	3.0	166.6	237.0-239.0	50.0

Table 4. A example of real sample measurement

Measurement elements	Concentration ( $\mu\text{g/g}$ )	CV (%)
Na	1.89*	4.14
Mg	79.1	14.89
Al	2.31	19.38
K	2.18*	2.19
Ca	2.84*	29.48
V	0.244	3.63
Cr	0.211	4.41
Mn	11.5	5.78
Fe	35.7	12.33
Co	0.108	14.40
Ni	0.467	14.66
Cu	12.5	21.73
Ga	0.0985	17.10
As	0.171	23.72
Se	0.286	27.99
Rb	1.81	6.56
Sr	2.30	25.80
Ag	0.0562	30.89
Cd	0.114	52.64
In	0.0107	22.89
Cs	0.0419	7.47
Ba	0.332	43.00
Hg	0.112	3.66
Tl	0.00747	110.35
Pb	0.0940	13.88
Bi	0.00246	45.21
Th	0.0335	13.32
U	0.0227	19.84

\*Only Na, K and Ca are shown in units of mg/g. The sample of No.2 and decomposition condition A in Table 2 were used. n=3.

変更するだけで、他の条件を変更しなくても  $r \geq 0.995$  の良好な直線検量線を描画できることが分かった。時間変更によるデータのバラつきも、変更前と差は認められなかった。

#### 内部標準元素の検討

長時間安定した測定値を得るため、内部標準元素の添加について検討した。内部標準に用いる元素としては、1) 水溶性が高く濃度が長時間一定し、2) 濃度と機器応答が比例し、3) 試料中に含まれることが少なく、4) 測定対象にならない、ことが必要となり、測定対象とする核種と同様の挙動を取ることが望まれる。先行研究において、Ga(質量数 69, 71), Cs (133), Tl (203, 205), Bi (209), Th (232) 等が内部標準として汎用され、Tl と Bi が 1) 2) の条件を満たすことが分かっている<sup>10)</sup>。しかし今回ここに挙げた5元素とも XSTC-13 に含まれる核種で、今回の研究では測定対象としているため、用いることができなかった。アンチモン (Sb, 質量数 122) が内部標準元素として使用されることもあるが<sup>11)</sup>、6 N 塩酸などの高濃度の酸溶液中でないと、安定して存在できない。そこで本研究では、ICP-

MS の機器応答の減少が起きる時間について検討し、トーチ点灯後2時間までは連続使用していても応答値が変わらないことを事前に確認した。このため、特に内部標準元素は使用せず、一度に1.5時間までしか連続分析しないことにして、以下の検討を行った。

#### 実試料の測定

実試料を3つのマイクロウェーブ分解条件で分解し、測定した結果を、1つのサンプル・分解条件を例として Table 4 に示す。Na, K, Ca は、mg/g オーダーでペットフード内に含まれていたのに対して、Mg は、 $\mu\text{g/g}$  オーダーでしか存在せず、Fe や Cu と同レベルで存在していた。今回のデータは、主要ミネラルや Al, Mn, Fe など最大で1000倍試料希釈して得た結果である。一方非常に低濃度で検出された重金属は、測定濃度のバラつきも大きかった。これらは今回の方法論で改善できるものではないが、マイクロウェーブ分解時に一度に使用する試料を増やしたり、キレート樹脂などでの前濃縮の行程を追加するなどの対策が必要かもしれない<sup>10)</sup>。

Tables 5, 6 には、少数の核種について再現性 (日内、

Table 5. Metal measurement in pet foods (intra-day reproducibility)

Samples	Measurement elements	Decomposition condition A		Condition B		Condition C	
No.1	Mg	2.34	4.28	1.84	38.52	2.67	11.89
	V	0.40	2.57	0.38	30.40	0.31	12.47
	As	0.23	21.03	0.08	54.79	0.12	62.66
No.2	Mg	79.08	14.89	55.49	20.00	68.36	7.35
	V	0.24	3.63	0.50	8.13	3.63	4.64
	As	0.17	21.63	0.26	54.79	0.26	62.66
No.3	Mg	0.14	18.98	0.12	20.59	0.12	14.64
	V	0.02	128.68	ND	—	ND	—
	As	0.15	9.88	0.02	97.55	0.01	173.30

The average value and the CV (%) are shown to the left and right side of the column, respectively.

Units of measurements are mg/g only for Nos.1 and 3 of Mg, and the others are  $\mu\text{g/g}$ .

ND shows that it is less than the lower limit of quantification.

n=3.

Table 6. Metal measurements in pet foods (between-day reproducibility)

Samples	Measurement elements	Decomposition condition A		Condition B		Condition C	
No.1	Mg	1.99	12.35	2.06	7.63	2.28	11.94
	V	0.52	17.21	0.72	33.72	0.67	38.12
	As	0.22	4.26	0.25	0.72	0.23	0.04
No.2	Mg	79.68	0.53	63.77	9.18	37.90	50.82
	V	0.16	36.15	0.09	325.80	0.08	210.40
	As	0.14	21.12	0.17	22.90	0.13	41.93
No.3	Mg	0.10	28.86	0.08	27.87	0.08	40.06
	V	0.06	48.96	0.07	70.71	0.08	70.71
	As	0.11	11.61	0.13	9.63	0.13	4.16

The average value and the CV (%) are shown to the left and right side of the column, respectively.

Units of measurements are mg/g only for Nos.1 and 3 of Mg, and the others are  $\mu\text{g/g}$ .

n=3.



日差) を調べた結果を示した。3つの分解条件のうち、1回の分解時に試料をより多く利用できたもの(分解条件 A)が、測定結果のバラつきが比較的小さかった。この測定結果のバラつきは、機器由来のみでなく試料の不均一さも反映しているため、その結果が悪くても必ずしも方法が劣るとは言えないが、同様の試料を分解後に ICP-MS で測定した結果であるので、その精度がより優れているということは、信頼が高いと考えることができる。このような結果が得られたのは、調製した試料中の金属濃度が高いためと思われた。ただし今回の同時分析において、主要ミネラルの濃度は sub-% レベルと大幅に高く、構築した方法では元素種により試料希釈の必要性が生じ、この改善は、今後の検討課題として残された。

### ま と め

イオントラップデバイスを備えた ICP-MS 装置を用いて、Na や Ca などのアルカリ・アルカリ土類金属を、Cu などの重金属類と同時に分析する方法について検討した。質量分析計へのイオン導入量を測定したい濃度に応じて変更することで、一斉分析が可能となった。

現在我々は、ペットフード安全法(2008年6月成立、2009年6月施行)の改訂に関心を持っており、今回の方法で As, Cd, Pb などの有害重金属の測定ができるばかりでなく、必須性の他元素への応用拡大も必要である。ペットフードの品質管理を目的として<sup>38)</sup>、本方法の活用は大変重要である。

### 参 考 文 献

- 1) 和田 攻:6. マグネシウム, 1985, 金属とヒト-エコトキシコロジーと臨床-, 朝倉書店, p.145-151.
- 2) 谷口無我, 穴澤活郎:干渉抑制剤共存下での AAS による  $\text{Ca}^{2+}$  定量に及ぼす酸添加の影響, 分析化学, 62 (8), 701-705 (2013).
- 3) 寺地智弘, 舟場正幸, 土井花織, 湯浅一之, 松井 徹:ネコにおいてフード中水銀濃度が被毛中水銀濃度に及ぼす影響, ペット栄養学会誌, 15 (2), 80-84 (2012).
- 4) 有山 薫:元素及び重元素同位体組成による農産物の産地判別技術, 分析化学, 63 (3), 205-220 (2014).
- 5) 中村 進, 久保田正明:高温炉原子吸光法におけるアルカリ金属及びアルカリ土類金属塩の影響, 分析化学, 35, 961-965 (1986).
- 6) 飯盛啓生, 飯盛和代, 飯盛喜代春:化学分析による佐賀平野南部地域の地下水の挙動の解明, 分析化学, 60 (1), 45-50 (2011).
- 7) 三浦和代, 山本和子, 米谷 明, 白崎俊浩:ゼーマン分裂補正方式原子吸光度法による食品中セシウムの定量, 分析化学, 62 (1), 37-41 (2013).
- 8) 寺地智弘, 西浦 誠, 舟場正幸, 松井 徹:ICP-MS 半定量法によるキャットフード中有害金属類の同時分析, ペット栄養学会誌, 16 (1), 13-17 (2013).
- 9) Cimi ILMIAWATI, Takehiko YOSHIDA, Toshihiro ITOH, Yoshihiko NAKAGI, Yasuaki SAIJO, Yoshihiko SUGIOKA, Mineshi SAKAMOTO, Akihiko IKEGAMI, Masanori OGAWA, Fujio KAYAMA: Biomonitoring of mercury, cadmium, and lead exposure in Japanese children: a cross-sectional study, Environ. Heal. Prev. Med., 20, 18-27 (2015).
- 10) 小林 淳, 寺田 宙, 杉山英男, 松川岳久, 千葉百子, 横山和仁:ICP-MS による環境試料中のビスマス定量とビスマス化合物の細胞毒性に関する基礎的検討, 分析化学, 60 (4), 357-362 (2011).
- 11) Atsuko SHINOHARA, Takehisa MATSUKAWA, Momoko CHIBA, Toshio KUMASAKA, Jun KOBAYASHI, Kenji TAKAMORI, Shozo ICHINOSE, Kazuhito YOKOYAMA: Comparative Study of Behavior of Inhaled Samarium and Cerium in Mice, J. Rare Earths, 28, 507-509 (2010).

## Quantitative Determination of Alkaline and Alkaline Earth Metals in Pet Foods by ICP-MS

Jun KOBAYASHI<sup>1,2)</sup>, Hiroshi TERADA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> School of Veterinary Nursing and Technology, Faculty of Veterinary Medicine,  
Nippon Veterinary and Life Science University

<sup>2)</sup> Department of Environmental Health, National Institute of Public Health

### Abstract

We have studied inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) of alkaline and alkaline-earth metals. Of these metals, sodium, magnesium, potassium and calcium are essential elements for humans and are present on relatively high concentrations in environmental samples such as sea water, and biological samples such as blood. Measuring the concentration in these samples, is considered important for the grasp of human health, prevention of diseases, investigation of environmental pollution, and the quality control of foods. The common methods of measurement are the flame photometry and the atomic absorption spectrophotometry (AAS). However, not only these elements, there is a need to measure heavy metals at the same time. In that case, the use of multi-element simultaneous analytical instrument, such as ICP-MS is desired. Unfortunately, the concentration level present in the sample is significantly different between the above elements and heavy metals. Therefore, it is usually difficult to analyze simultaneously only by one analytical device. As an alternative to the measurement method, it is common to carry out the measurements for the same concentration level species by a multi-element simultaneous analytical device or measured for each individual element by the single-element measuring instrument, such as AAS. In this study, in order to eliminate the complexity, we were examined simultaneous analytical method using only one ICP-MS (P-5000. Hitachi). As a result, by changing the ion introduction rate into the MS part, it becomes possible to simultaneously analyze.

**Key words :** ICP-MS, Alkaline and alkaline earth metals, Simultaneous determination

Bull. Nippon Vet. Life Sci. Univ., **64**, 28-33, 2015.