

ICP-MS とインテグレート試料導入システムを用いたディスクリートサンプリング (ISIS-DS) によるお茶の浸出液中の 13 種類の微量元素の直接分析

アプリケーションノート

食品検査・農業

著者

Raquel F. Milani, Leandro I. Peron, Elisabete S. Saron, Marcelo A. Morgano Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas SP, Brasil

Fabio F. Silva
Agilent Technologies, Brasil, São Paulo, SP, Brasil

Solange Cadore
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil



はじめに

葉、花、根の浸出液で入れるお茶は、消費の拡大、酸化防止活性、ミネラル/フラボノイド/カテキンなどのいくつかの微量栄養素の存在のために、大きな科学的関心を呼んでいます [1]。これまでの調査から、無機の混入異物などのハーブ中の潜在的に有毒で蓄積される物質の存在が示されています [2]。これらの混入異物は、ハーブ茶の製造プロセスのさまざまな側面に由来し、土壌、水、化学肥料、空気中の工業排出ガスなどの供給源を含んでいます [3]。濃度と潜在的に有毒な元素により、肝臓や腎臓の機能障害から発がんまで人の健康に害を及ぼす可能性があります。しかし、お茶の浸出液にすべての混入異物が残っているわけではありません。ほとんどの残留毒物はきわめて少量であり、お茶の摂取と関連付けられるリスクは低いものです。

Verified for Agilent
7800 ICP-MS



Agilent Technologies

お茶の浸出液サンプルに含まれる複数の微量元素の濃度を評価する一般的なメソッドの1つは、サンプルを分解した後に行う ICP-MS 元素測定があります。このメソッドには高周波分解システムと高濃度の酸や酸化剤などの試薬が必要です。希釈係数はプロセス全体で 10 ~ 100 倍に達する場合があります。この手法では長い分析時間と過剰な試薬が必要で、このためにメソッド検出下限が悪化することも少なくありません。一方、直接分析の場合も、精度、長期にわたる安定性、残留物の蓄積、メンテナンスの増加など性能パラメータについて譲歩します。

7700x/7800 ICP-MS 用の Agilent インテグレート試料導入システム (ISIS) アクセサリは、ディスクリットサンプリング (DS) モードを搭載し直接分析に対応します。正確なサンプル使用量を提供することで、ICP-MS サンプル導入システムによる不必要なサンプル曝露を防止します。さらに、DS モードでは機器性能を維持でき、ORS³ およびコリジョンガスを He とする独自の機能と組み合わせて使用すると、高速分析が可能です。

不活性なセルガス (ヘリウム) によって効率的に動作するコリジョンセルとディスクリットサンプリングとの相乗効果が、測定される検出下限、精度、スループットに優れた性能をもたらします。このアプリケーションノートでは、ヘリウムコリジョンモードとディスクリットサンプリングを組み合わせる利点を解説し、お茶の浸出液中の 13 種類の元素を測定するための使いやすい多原子干渉がないメソッドを開発して評価します。

実験方法

Agilent 7700x ICP-MS システムを、標準サンプル導入システムを搭載した Agilent インテグレートオートサンプラ (I-AS) と組み合わせて使用しました。このシステムには、MicroMist ガラス製同軸ネブライザ、石英製ダブルパススプレーチャンバ、希釈ポート付コネクタチューブ、内径 2.5 mm の石英製トーチ、標準ニッケルコーンが含まれています。ディスクリットサンプリング (DS) は、1 個のペリスタルティックポンプと 1 個の 6 ポート切り替えバルブでセットアップされる ISIS アクセサリで実行されます。DS は ICP-MS に繋がれ、必要量のサンプルのみを提供し、生産性を向上させ、さらに長期的なマトリックス耐性を強化し、同時に分析時間を短縮してサンプル曝露を可能な限り低減することができます。ISIS-DS 用に構成済みの ISIS チューブキットを使用すると簡単にセットアップでき便利です。

図 1 に、ISIS-DS システムがどのように動作するかを図で示します。内部標準とキャリア溶液が連続的に流れる一方、サンプルは 6 ポートバルブのロード位置でループを充填します。その後、バルブは注入位置に切り替わり、サンプルループを通してキャリア溶液を送液しサンプルをネブライザに押し込みます。

ISIS-DS 動作の詳細な説明は、以前の文書に記載されています [4, 5]。

7700x チューニングは、ICP-MS MassHunter ソフトウェアを使用した食品および臨床アプリケーション用のプリセットメソッドを基に実行しました。このメソッドではノーガス、He、HEHe モードを使用しました。チューニング条件を表 1 に示します。

キャリブレーション用に 13 種類の元素すべてを 2 つのグループに分けました。1 つは As、Cd、Cr、Cu、Hg、Ni、Pb、Se を含む低濃度範囲 (0、0.1、0.5、1、5、10、100 µg/L) のグループ、もう 1 つは Al、Ba、Fe、Mn、Zn を含む高濃度範囲 (0、10、100、250、500、1,000、2,000 µg/L) のグループです。両方の分析曲線を HNO₃ 0.2 % v/v で作成しました。このメソッドではマトリックスマッチングや再キャリブレーションは不要でした。Sc、Ge、Y をそれぞれ 250 µg/L 含む溶液をオンライン内部標準として使用しました。

初期キャリブレーションの後に 10 回の分析ブランクを連続して実行し、標準偏差を確認し、検出下限 (DL = 3 x s) および定量下限 (QL = 10 x s) を計算しました。再現性は、変動係数を使用して計算しました (CV、n = 16)。このマトリックスには認証標準物質がないため、スパイク後の分析対象物の回収率によって真度を評価しました。どちらの場合 (精度と真度) も、浸出液サンプルは異なる濃度でスパイクされました。As、Cd、Cr、Cu、Hg、Ni、Pb、Se は 10 および 50 µg/L で、Al、Ba、Fe、Mn、Zn は 250 および 500 µg/L でした。

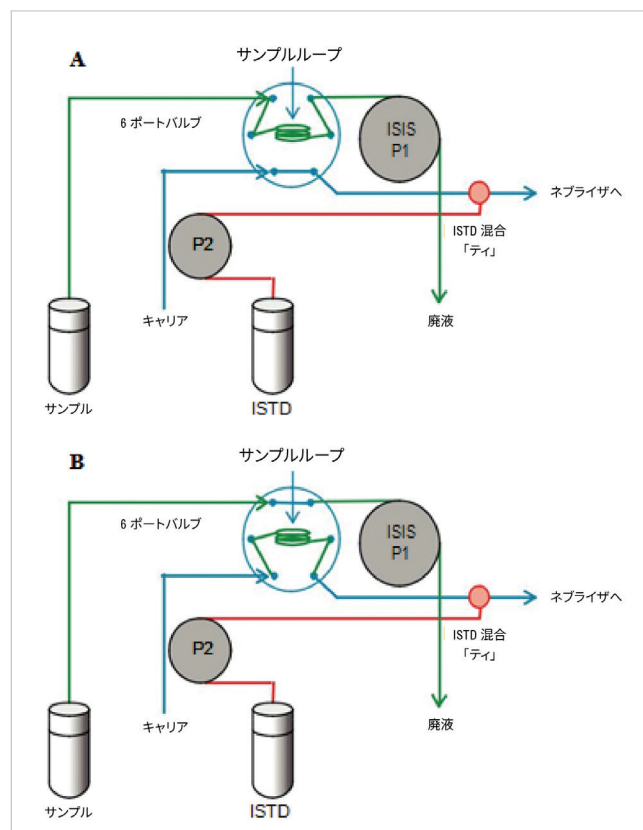


図 1. DS モードでの ISIS 動作: ロード位置 (A) および注入位置 (B) のバルブ

表 1. Agilent 7700x ICP-MS と ISIS-DS の使用条件

Agilent 7700x のパラメータ	
RF パワー	1,550 W
キャリアガス流量	1.1 L/min
元素の数/内部標準の数	13/3
繰り返し/ピークパターン/スイープ	3/3/100
測定時間	60 秒
セルチューニングモード	ノーガス/He/HEHe
モード間のシフト時間 (ノーガス/He/HEHe)	5 秒
HEHe モードでの He セル流量	10 mL/min
HEHe モードでの運動エネルギー弁別	7 V
He モードでの He セル流量	5 mL/min
He モードでの運動エネルギー弁別	5 V
Agilent ISIS-DS のパラメータ	
ループの容量とサイズ	150/30 (μL/cm)
取り込み時間	20 秒
測定遅延時間	20 秒
洗浄時間	測定中に先行洗浄

メソッド性能の評価には、表 2 の 4 種類のお茶を使用しました。調査では、4 種類それぞれのお茶について、最寄りの市場 (2013 カンピーナス、サンパウロ州、ブラジル) にあった 3 つの異なるブランドをテストし、各ブランドについて 3 つの浸出液を用意しました。浸出液は、200 mL の脱イオン水 (18.2 MW/cm) と 1.5 g のサンプル (市販のティーバッグ 1 つに相当) を 3 分間沸騰させて用意しました。冷却後、浸出液を酸性化し (HNO₃ 0.2% v/v)、250 μm ポリマーメンブレンでろ過してオートサンプリャバイアルに移しました。

表 2. メソッドアプリケーションで使用したお茶のサンプル

レモンバーム	Melissa officinalis, L. の葉
ウイキョウ	Pimpinella anisum, L. の果実
花と果実	りんごの果実 - Pyrus malus L. ハイビスカスの花 - Hibiscus sabdariffa, L. 野ばらの果実と花 - Rosa canina, L. オレンジの皮 - Citrus aurantium, L. レモンの皮 - Citrus Limonum, (L.) オスベックスティビアの葉 - Stevia rebaudiana, Bert
紅茶	Stems and leaves of Camellia sinensis (L.) Kuntze (カメリアシネンシス) の茎と葉

結果と考察

このアプリケーションのルーチンメソッドには、高スループット、低DL、低CVが必要です。これらすべての性能指数については、以降で説明します。

生産性と安定性

分析プロセスにおいて、最も時間を要する段階の 1 つはサンプル前処理です。従来の分解を直接試料導入に置き換えることで劇的に分析時間が短縮します。MicroMist ネブライザ、ペルチェ冷却式ダブルパスプレーチャンバ、高マトリックス導入 (HMI) システム、広い口径の (内径 2.5 mm) トーチインジェクタ、ソリッドステート RF (27 MHz) ジェネレーターなどの Agilent 7700/7800 ICP-MS のいくつかの標準機能は、今回の調査対象などの分析が困難なマトリックスで信頼性の高い性能を得るために重要です。これらの機能により、CeO⁺/Ce⁺ 比が 1.5 % 未満のきわめて優れたロバストプラズマを実現します。このロバストプラズマ性能であっても、お茶のサンプルでの直接注入の長いルーチンは、コーンへの蓄積や内部標準の不安定性を生じさせます。このため、いくつかのサンプル導入パーツのクリーニングや交換のためにメンテナンス停止が必要です。ISIS-DS では、ICP-MS サンプル曝露を 1/3 ~ 1/4 に低減することによって、これらの問題を解決し、システム全体の安定性をもたらします。図 2 に示すように、2 時間の内部標準プロファイルの分析からシステムの安定性を推定することが可能です。

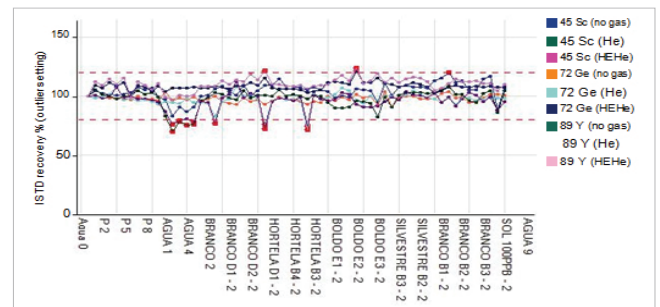


図 2. すべてのサンプルについてキャリブレーションブランクで正規化された内部標準の回収率

サンプル別に全分析時間 (サンプル取り込み、安定化、測定、リンスの時間) を比較し、DS-ICP-MS では従来の ICP-MS よりもサイクル時間を 30 % 削減 (197 秒から 136 秒) することができました。この分析時間の削減は ISIS の DS モードでのみで達成されました。さまざまなモード (通常 He モードと HEHe モード) で He のみを使用してほとんどすべての多原子干渉を解消できるため、ORS³ の寄与も考慮しなければなりません。そして少量のためノーガス、He、HEHe モード間を約 5 秒でシフトすることができます。そのため、分析者は分析時間を大幅に増大させずに 2 つ以上のセルモードを同じメソッドで選択することができます。

食品品質管理の観点から、元素には、Al、As、Ba、Cd、Hg、Ni、Pbなどの有毒な混入異物、Fe、Mn、Znなどの栄養素、Cu、Cr、Seなどの有毒な混入異物かつ栄養素であるものがあります。通常、混入異物はサンプル中に低濃度で存在し、栄養素は高濃度で存在しています。これは食品の分析で直面する困難な課題です。1つのメソッドにおいても1つの機器においても異なる濃度範囲を結合することが難しいためです。Agilent 7700/7800 ICP-MS デュアルステージ検出器は、異なる濃度範囲で0.9999を超える直線性 (R^2) の検量線をすべての元素について得ることができます。

検出下限、精度、回収率

お茶のサンプルの直接分析はサンプルハンドリングを最小限に抑え、化学物質のハンドリングによる汚染および危険な状況のリスクを低下させます。さらに、このメソッドでは希釈が不要なため、検出下限が向上します。セルモード間的高速シフトにより、3種類の異なるチューニングモードでの分析が可能になり、それぞれから最適なものを選ぶことができます。例えば、 $^{52}\text{Cr}^+$ は $^{12}\text{C}^{40}\text{Ar}^+$ から強い干渉を受けますが、このアプリケーションではCrはHeモードで容易に定量することができ、一方、 $^{202}\text{Hg}^+$ にはお茶の浸出液分析で観察される多原子干渉は見られず、ノーガスモードで分析することができます。この機能により、検出下限が下がります。検出下限を下げる上での別の課題は、コントロールされていない環境下での汚染の可能性です。これは、Al、Cu、Mn、Znなどの元素に影響を与えます。表3に、DLやQLなどの性能、調査対象サンプルに最適な分析条件を示します。

このメソッドが提案する条件を使用し、精度の値を20%未満に、2つの濃度での回収率を82~121%の間に維持することができました。

表3. 分析条件と性能測定値

同位体	セル	ISTD	下限 ($\mu\text{g/L}$)		精度 (%)	回収率 (%)	
			DL (3s)	QL (10s)		濃度 1	濃度 2
^{27}Al	He	^{72}Ge	6	20	13	103 ± 5	99 ± 3
^{52}Cr	He	-	0.09	0.29	17	85 ± 1	91 ± 1
^{55}Mn	He	^{72}Ge	0.11	0.38	11	87 ± 4	89 ± 6
^{56}Fe	HEHe	^{72}Ge	0.66	2.2	8	85 ± 4	92 ± 3
^{60}Ni	He	-	0.63	2.1	10	82 ± 1	89 ± 1
^{63}Cu	-	^{72}Ge	0.51	1.7	2	95 ± 5	92 ± 1
^{66}Zn	He	^{72}Ge	10	35	15	95 ± 6	95 ± 3
^{75}As	HEHe	^{89}Y	0.14	0.46	4	96 ± 2	104 ± 2
^{80}Se	HEHe	-	0.15	0.50	3	106 ± 2	110.5 ± 0.4
^{111}Cd	-	^{72}Ge	0.016	0.053	4	99 ± 1	100 ± 1
^{138}Ba	He	^{72}Ge	0.60	2.0	12	110 ± 8	111 ± 3
^{202}Hg	-	^{45}Sc	0.10	0.34	9	111 ± 4	121.0 ± 0.4
^{206}Pb	HEHe	^{72}Ge	0.12	0.39	6	112 ± 3	113 ± 2

サンプル分析

分析条件を最適化しメソッド性能を評価した後、4種類の選択されたお茶から3つのサンプルを3回分析し、実際のサンプル分析でメソッドの性能を確認しました。その結果を表4に示します。

このデータは、ディスクリットサンプリングシステム ISIS-DS (サンプル希釈なし) を使用し、人の健康にリスクを与える元素 (As、Cd、Cr、Hg、Pb など) を含め、きわめて低い濃度で含有されるいくつかの元素を定量する、メソッドの能力を示しています。

異なる種類のお茶の浸出液を比較した場合、結果は濃度がさまざまであることを示しました。紅茶の浸出液は他のお茶よりも、Al、As、Cr、Mn、Ni、Pbの濃度が高いことがわかりました。しかし、決議12/11で規定した最大値、つまり、600 $\mu\text{g As/L}$ 、600 $\mu\text{g Pb/L}$ 、400 $\mu\text{g Cd/L}$ を超える値を示すサンプルはありませんでした [7]。

表 4. 平均の結果と分析したお茶の浸出液の濃度範囲

元素	平均の結果と範囲 (n = 3, µg/L)			
	レモンバーム	ウイキョウ	花と果実	紅茶
Al	ND < 20	32 (31-34)	28 (24-32)	954 (882-1,033)
As	ND < 0.46	ND < 0.46	0.18 (ND < 0.46-0.53)	0.76 (ND < 0.46-1.8)
Ba	16 (8.2-21)	7.7 (7.0-8.1)	103 (89-111)	15 (13-20)
Cd	0.093 (ND < 0.053-0.21)	ND < 0.053	0.021 (ND < 0.053-0.063)	ND < 0.053
Cr	ND < 0.29	ND < 0.29	0.33 (ND < 0.29-0.53)	0.66 (0.58-0.74)
Cu	7.7 (5.2-9.2)	21 (19-22)	9.8 (6.1-13)	6.3 (4.5-9.7)
Fe	18 (11-24)	53 (27-70)	91 (70-102)	65 (47-81)
Hg	ND < 0.34	ND < 0.34	ND < 0.34	ND < 0.34
Mn	509 (157-896)	56 (47-62)	405 (357-434)	1020 (951-1,131)
Ni	ND < 2.1	ND < 2.1	3.2 (2.1-4.5)	19 (16-22)
Pb	0.43 (ND < 0.39-0.86)	ND < 0.39	0.22 (ND < 0.39-0.65)	0.78 (ND < 0.39-1.3)
Se	ND < 0.50	ND < 0.50	ND < 0.50	ND < 0.50
Zn	21 (ND < 35-62)	42 (37-46)	ND < 35	30 (ND < 35-45)

*ND = 不検出

結論

このアプリケーションノートでは、ISIS-DS による直接分析手法を使用してお茶の浸出液中の 13 種類の潜在的毒物と栄養素の全濃度を測定する分析手法の開発と評価を解説しています。このメソッドは、サイクル時間の短縮とサンプルハンドリングの低減において大きな利点があります。13 種類すべての微量元素の量が、発表されている規制値よりも低いことが示されました [7]。

このメソッドは、お茶の浸出液の高い精度および真度でのモニタリングに使用でき、コーヒーや果実ジュースなどの他の飲み物でも採用することができます。

参考文献

1. R. Bunkova, I. Marova, M. Nemeč “Antimutagenic properties of green tea” *Plant Foods for Human Nutrition* 60:25-29, 2005.
2. T. Karak, R.M. Bhagat “Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review *Food Research International* 43: 2234-2252, 2010.
3. W.Y. Han, M.A.L.F. Shi Yz, J.Y. Ruan “Arsenic, cadmium, chromium, cobalt, and copper in different types of Chinese tea” *Bulletins of Environmental Contamination and Toxicology* 75: 272-277, 2005.
4. S. Wilbur and C. Jones “Maximizing Productivity in High Matrix Samples using the Agilent 7700x ICP-MS with ISIS Discrete Sampling: EPA 6020A Compliant Analysis in Less Than 2 Minutes per Sample” Agilent Technologies publication 5990-5437EN
5. S. Wilbur, T. Kuwabara, and T. Sakai, “HighSpeed Environmental Analysis Using the Agilent 7500cx with Integrated Sample Introduction System – Discrete Sampling (ISIS-DS)” Agilent Technologies publication 5990-3678EN
6. FAO/WHO Summary Evaluation Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Maastricht, The Netherlands, 2012.
7. Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, Regulamento Técnico MERCOSUL, Resolução 012/2011. Assunção, Paraguai, 2011.



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・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2017

Printed in Japan, July 3, 2017

5991-3252JAJP



Agilent Technologies