

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：82613

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750033

研究課題名(和文) 金属元素を指標とした栄養機能成分の基原判別法の開発と評価

研究課題名(英文) Development and evaluation of the discrimination method of nutrition functional component characterized by metallic elements

研究代表者

松本 輝樹 (MATSUMOTO, Teruki)

独立行政法人国立健康・栄養研究所・食品保健機能研究部・室長

研究者番号：70455418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：食品表示における不確かさを解消することは、食品の安全性を確保するために重要である。本研究では、炭酸カルシウムの基原(生物殻、合成物、鉱物など)を明らかとするために、試料に含まれる第2族元素の含有量とそれらの安定同位体比を、誘導結合プラズマ質量分析装置にて測定した。その結果、炭酸カルシウムは、生物殻とそれ以外の物に分別可能であること、合成物と鉱物由来の検体を分別可能であることが、それぞれ示唆された。

研究成果の概要(英文)：Improving the reliability of food labeling is vital to guaranteeing the safety of our food. In order to determine the origins of calcium carbonate (e.g., the shells of living organisms, synthetic materials, and minerals), in this study we used inductively coupled plasma mass spectrometry to measure the amounts of group 2 elements in our samples, as well as their stable isotope ratios. Our results indicated two things about calcium carbonate. First, that it is possible to distinguish between calcium carbonate which derives from the shells of living organisms and other kinds of calcium carbonate. Second, that it is possible to distinguish between samples which derive from synthetic materials and those which are from minerals.

研究分野：食品分析

キーワード：基原判別 ICP-MS 第2属元素

1. 研究開始当初の背景

これまで食品の安全性は、食経験によって判断することが慣例の一つとなっていたが、国際的には、食の安全に絶対はなく、リスクの存在を前提に評価、コントロールすることが重要であると考えられている。国内における食品添加物のうち、指定添加物は、安全性と有効性を確認した後、厚生労働大臣が指定したものであるが、既存添加物は例外的に使用が認められており、その安全性に関しては、順次食品安全委員会において評価されているものの、未検討のものが多数存在する。

一般に、食品添加物の基原は、定義に記載されているものもあるが問われておらず、確認方法も規定されていない。しかし、いわゆる健康食品では、「天然素材(既存添加物)=安全」とのうたい文句が散見されることや、基原表示についての法的な規制がないことから、安全性に関して担保されているとは言いがたい。

消費者が食品を購入する際、判断基準として表示された情報も選択肢となるため、その不確かさは率先して解消すべき問題であると考えられる。特に、いわゆる健康食品や機能表示のなされた食品に広く使用される成分に関しては、一般食品成分よりも摂取する頻度や量が多くなることも予想されることから、事故を未然に防ぐためにも原材料等の基原の判別方法を明らかとすることは重要である。

2. 研究の目的

食品の品質と安全性の確保には、表示の適正化も重要であるが、基原の明らかな原材料を常に使用することが重要であり、品質規格に適合していても、基原が異なっている場合は、商品として妥当であるとは言えない。また、原材料の形態によっては、製造業者でも基原の確認が困難な場合もあることから、その担保には、何らかのツールが必要であると考えられる。そこで、本研究では食品の安全性確保を目的とした、カルシウム強化剤として広く使用される炭酸カルシウム(CaCO₃)の基原判別の可否について、既存添加物の未焼成カルシウムを中心に、誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)を用いた第2族元素(Be, Mg, Ca, Sr, Ba)の安定同位体の含有量と同位体比の測定により評価することとした。

3. 研究の方法

CaCO₃の基原判別方法として、ICP-MSによって得られた第2族元素(Be, Mg, Ca, Sr, Ba)の定量値と安定同位体比を関式化することにより、同一基原の物がグループとして収束するか否かについて評価を行った。

(1) 試料

試験試料として、CaCO₃は、サンゴ由来6点(うち1点はドロマイト)、ホタテ由来2点、卵(鶏卵)由来2点、海洋生物由来2点、牡

蠣由来1点、真珠由来1点、鉱物由来3点、化学試薬2点(うち1点は合成品)、化学合成品2点(うち1点は天然成分由来原料による)の、計21点を用いた。

同位体比測定の標準物質には、アメリカ合衆国国立標準技術研究所(NIST)から提供されているSRM 915b (calcium carbonate, normalizing ratio, Ca-42/ Ca-44= 0.31221)¹⁾、SRM 980 (isotopic standard of magnesium, absolute abundance ratio, Mg-25/ Mg-26= 0.90891)及びSRM 987 (strontium carbonate, absolute abundance ratio, Sr-87/ Sr-86= 0.71034)を用いた。

(2) 試薬

金属標準液(Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ga, In)は、原子吸光分析用(1000 µg/mL、関東化学株式会社)を、硝酸は、金属濃度0.1 ng/mL以下の超高純度試薬(Ultrapur-100、関東化学株式会社)を用いた。

(3) 装置

ICP-MSは、標準ネブライザを搭載したパーキンエルマー製NexION 300Dを用いた。ICP-MSの測定パラメーターは、以下の通りである。試験溶液導入速度(0.4 mL/min)、Radio frequency パワー(1.6 kW)、プラズマガス(18 L/min, Ar)、キャリアガス(1.2 L/min, Ar)、メイクアップガス(1.02 L/min, Ar)。

(4) 試験溶液の調製

試料約50 mgを全量フラスコに精密に量り、金属定量用にはGa及びInをそれぞれ終濃度200及び100 ng/mLとなるよう添加後、3% HNO₃で50 mLに定容し、試験溶液とした。

(5) 定量

試験溶液は適宜希釈し、Be、Mg、Ca、Sr及びBa濃度を、内標準法により定量した。検量線溶液(1、3、10、30、100、300及び1000 ng/mL)は、各標準液を3% HNO₃で希釈し、Ga及びInをそれぞれ終濃度200及び100 ng/mLとなるよう添加し、調製した。定量限界(LOQ)は、内標準を含むブランク溶液を10回測定し、そのイオンカウント比の平均値の10倍とした。

ICP-MSによる測定には、KEDモード(5.2 mL/min, He, RPq= 0.25)を用い、測定質量数⁹Be、²⁴Mg、⁴⁴Ca、⁸⁸Sr、¹³⁷Ba、⁶⁹Ga及び¹¹⁵Inを3回反復測定で行った。

(6) 同位体比

認証標準物質試験溶液は、全て金属濃度として2.5 µg/mL溶液を用いた。

ICP-MSによる測定には、HeガスによるKEDモードを用い、以下のパラメーターを使用し、測定反復回数は5回以上とした。Ca(5.4 mL/min, RPq= 0.6)、Mg(5.2 mL/min, RPq= 0.5)、Sr(5.2 mL/min, RPq= 0.4)。

標準試料は、測定試料4検体ごとに1回測定し、装置の信号強度から得られた同位体比の測定値が認証値になるよう、それぞれのマスバイアス係数 (K, $K = \text{認証値} / \text{実測値}$) についても推定した。

同位体比 (δ) は、以下の計算式から算出した。

$$\delta M (\%) = \left\{ \left(\frac{{}^{XX}M / {}^{YY}M_{\text{sample}}}{{}^{XX}M / {}^{YY}M_{\text{reference}}} \right) - 1 \right\} \times 1000$$

4. 研究成果

(1) 第2族元素の定量化とその結果に基づいた分別化

本検討において、各元素のLOQは、 ${}^9\text{Be} = 0.01$ 、 ${}^{24}\text{Mg} = 11$ 、 ${}^{44}\text{Ca} = 12$ 、 ${}^{88}\text{Sr} = 0.3$ 及び ${}^{137}\text{Ba} = 0.7 \text{ ng/mL}$ と推定され、Mg及びCaは検量線の範囲内となっていたことから、下限値をLOQ値に変更し評価を行った。

試験溶液は、 $25 \mu\text{g/mL CaCO}_3$ 溶液を用いた際、Mg及びSrの測定において十分な感度が得られた。他方、Be及びBaは、 ${}^9\text{Be}$ 及び最も天然存在比の高い ${}^{137}\text{Ba}$ を測定対象とし、試験溶液濃度を上げても十分な感度が得られなかったため、原料での存在量が少なくないと判断し、測定を断念した。

${}^{24}\text{Mg}$ 含有量は、化学試薬においては検出されなかったが、サンゴ、卵及び鉱物、サンゴ以外の海洋産物の順に含有量が低くなる傾向が示されたものの、明確に分類化することはできなかった。

${}^{44}\text{Ca}$ 含有量は、 ${}^{24}\text{Mg}$ とは逆に、合成及び鉱物由来、卵、サンゴ以外の海洋産物、サンゴの順に含有量が低くなる傾向が示された。

${}^{88}\text{Sr}$ 含有量は、サンゴ、サンゴ以外の海洋産物、卵、合成及び鉱物由来の順に含有量が低くなる傾向が示された。

以上の事から、含有量に一定の傾向が示された ${}^{44}\text{Ca}$ 及び ${}^{88}\text{Sr}$ 含有量を図式化したものが Fig. 1 である。

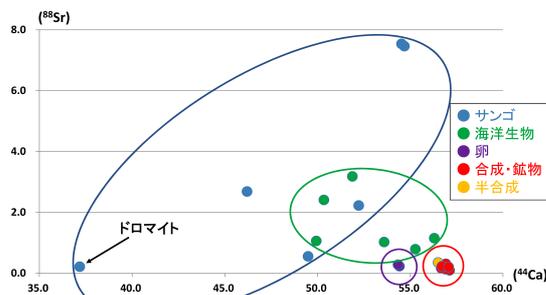


Fig. 1 ${}^{44}\text{Ca}$ 及び ${}^{88}\text{Sr}$ 含有量による炭酸カルシウムの分類化

サンゴ由来の物は、他の物に比べて分布が広がっているが、うち一検体はドロマイト (Caの一部がMgに置換されたもの) であり、明らかに組成の異なることが影響していると考えられる。海洋産物に分類したのものには、ホタテ由来2種を含むが、卵由来のように収束することはなかった。

サンゴ由来とサンゴ以外の海洋産物の検体分布に重なりがあるものの、今回検討した CaCO_3 は概ね4つの型に分類でき、鉱物・合成由来と生物由来に関しては、明確に分類化できることが示唆された。

(2) 第2族元素の安定同位体比測定とその結果に基づいた分別化

安定同位体比の測定にあたっては、含有量の違いによる感度差が大きいため、予め対象元素を分画、濃縮することを検討したが、Mgにおいては、分画前後の同位体比が一致しなかった。よって、Mg及びSr同位体比測定は、試料を溶解させたものを直接測定に用いた ($25 \mu\text{g/mL CaCO}_3$)。

マスバイアスの補正は、対象となる認証標準物質をそれぞれ用い、マスバイアス係数 (K) は、 $K_{\text{Mg}} = 1.03716$ (RSD 1.3%)、 $K_{\text{Ca}} = 1.00969$ (RSD 1.3%)、 $K_{\text{Sr}} = 0.94411$ (RSD 0.3%) と求められた。各元素共、係数はほぼ1に近い値であり、RSD値もほぼ1%に収まっており、測定条件及び再現性にも優れていることが示された。

Mg安定同位体比 (${}^{25}\text{Mg}/{}^{26}\text{Mg}$) は、サンゴ由来の物の同位体比が高く、鉱物由来、サンゴ以外の海洋産物由来と順に同位体比が減少する傾向にあった。また、解析にあたって、Mgの存在しなかった化学試薬2種に関しては、 $\delta\text{Mg} = 0$ とした。

Ca安定同位体比 (${}^{42}\text{Ca}/{}^{44}\text{Ca}$) は、合成及び鉱物由来、サンゴ以外の海洋産物由来、サンゴ由来の順に同位体比が減少する傾向にあった。

一方、Sr安定同位体比 (${}^{87}\text{Sr}/{}^{86}\text{Sr}$) は、Mg及びCa安定同位体比の検討結果のように、基原に基づいた傾向は示されなかった。

以上の事から、同位体比に一定の傾向が示された Mg 及び Ca 同位体比を図式化したものが Fig. 2 である。

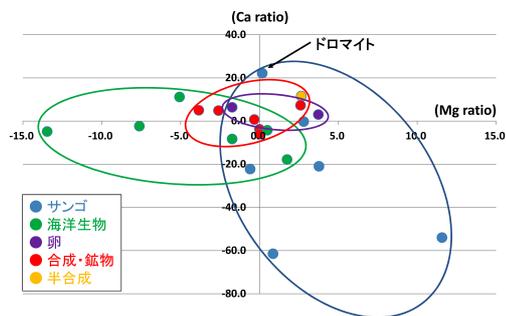


Fig. 2 Mg 及び Ca 同位体比による炭酸カルシウムの分類化

同位体比による分類化は、含有量を基準としたグラフ (Fig. 1) に比べ、各グループとも分布が広がり、合成及び鉱物由来と卵由来の検体は、他の検体と明確に分類化出来なかった。サンゴ由来の物は、ドロマイトを含むことによって分布が広がっているが、これを除くことにより合成及び鉱物由来と海洋産

物由来の物とは重なりが少なくなり、識別化できる可能性が示唆された。

また、合成及び鉱物由来の物は、Mg 同位体比のみを考慮した際、前者は正の値を、後者は負の値をそれぞれ有しており、Y 軸上に存在している Mg を含まない化学試薬 2 種を除外すれば、識別化できる可能性も示唆された。

同位体比による分別化は、対象となる元素が含まれていることが前提となる。今回の Mg のように、不純物として含まれる元素が評価の指標となる場合、含まれていないものを同等に扱うことにより、正確な評価とならない可能性もあるが、他の分別化との比較のため採用した。

(3) 第 2 族元素の定量値と安定同位体比による分別化

これまでの検討結果から、ある程度分類化の指標となり得ることが示唆された Ca 及び Sr 含有量と、Mg 及び Ca 同位体比の組み合わせによる分類の可否について検討を行った。

その結果、Ca 含有量と Ca 同位体比の図式化により Fig. 1 様の分類化ができたが、Fig. 1 ほど収束した結果は得られなかった（データ不記載）。また、他の組み合わせについても検討を行ったが、明確な分別化は出来なかった。

ただし、Sr 含量と Ca 同位体比を図式化した際、各グループを明確に識別できないものの、ホタテ由来の物が特徴的に収束することが明らかとなった（Fig. 3）。

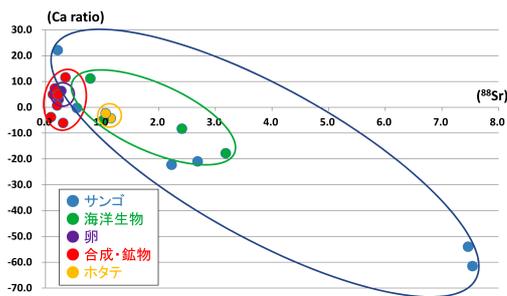


Fig. 3 ^{88}Sr 含有量と Ca 同位体比による炭酸カルシウムの分類化

本検討結果から、 CaCO_3 の基原判別法として、

^{44}Ca と ^{88}Sr を測定することにより、生物殻とそれ以外の物に分別可能である。

Mg 同位体比を測定することにより、合成品と鉱物由来の検体を分別可能である。

Sr 含有量と Ca 同位体比を測定することにより、選択的にホタテ由来の物を識別できる。

ことが、それぞれ示唆された。

現状では、分別化に用いた検体数が少なく、一部グループにおいては、偶発的に結果が導かれたことも否定できない。よって、分別精度を向上させるためには、より多くの検体を

用いた評価を行う必要があると考えられる。特に、 CaCO_3 の用途は食品以外にも医薬品（生薬を含む）としての応用もある。基原の推定方法を確立することは、これらの安全性担保においても重要であり、一定の成果が得られたことは、注目に値する。

今回は、直接 CaCO_3 を検討に用いたが、今後食品における安全性を評価するためには、食品中の CaCO_3 を評価する必要がある。しかし、そのためには解決しなければならない問題がいくつかある。 CaCO_3 を Ca の補給を目的として使用した際、効果的なミネラル摂取のため Mg を添加することが慣例となっている。結果として CaCO_3 以外からの Mg の影響が増えるため、正確な Mg の評価につながらないだけでなく、Mg に Ca が混入していた場合、Ca も正確に評価できない可能性がある。また、有機化合物のカウンターイオンとして、Ca や Mg は使用されることもある。概ね水溶性の成分として存在するため、不溶性の CaCO_3 とは分離できる可能性もあるが、分離操作前後で測定結果に影響を与えないことが条件となる。今後、これらの問題を解決することで、本分別方法の実用性も向上するものと考えられる。

なお、本研究課題により得られた結果については、今後雑誌論文及び学会等で発表を行う予定である。

<引用文献>

1) Russell W, Papanastassiou D, Tombrello TA. Ca isotope fractionation on earth and other solar-system materials. *Geochim. Cosmochim. Acta.* (1978) **42**, 1075–90.

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 輝樹 (MATSUMOTO, Teruki)
独立行政法人国立健康・栄養研究所・食品保
健機能研究部・室長

研究者番号：70455418

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：