

技術論文

誘導結合プラズマイオントラップ質量分析計を用いる 生体試料中の鉄、銅、亜鉛、セレン及びヒ素の定量

横山 恵信¹, 佐藤 啓市¹, 古田 直紀^{®1}

イオントラップ型質量分析計を採用している誘導結合プラズマ三次元四重極質量分析計を用いて、生体試料中の Fe, Cu, Zn, As 及び Se のうち存在量の最も大きい同位体に関するスペクトル干渉を低減し、生体試料中の Fe, Cu, Zn, As 及び Se の定量を行った。三次元四重極質量分析計 (3DQMS) の装置条件と FNF (filtered noise field) を最適化することで、解離エネルギーが低い $^{56}\text{Fe}^+$ に対する $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{63}\text{Cu}^+$ に対する $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$, $^{75}\text{As}^+$ に対する $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ 及び $^{80}\text{Se}^+$ に対する $^{40}\text{Ar}_2^+$ のスペクトル干渉は低減できた。また、解離エネルギーが比較的高い $^{56}\text{Fe}^+$ に対する $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{64}\text{Zn}^+$ に対する $^{32}\text{S}_2^+$ 及び $^{80}\text{Se}^+$ に対する $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ のスペクトル干渉は FNF に加え CID (collision induced dissociation) 機能を最適化することで、低減できた。CID の最適条件はそれぞれ 0 V, 500 ms であった。装置条件, FNF 及び CID の最適条件の下で、生体標準物質中の Fe, Cu, Zn, As 及び Se の定量を行った結果、誤差範囲内で保証値と一致した。また、実試料としてヒト血清を定量した。

1 緒言

著者らの研究グループはこれまで誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) にイオントラップ型の三次元四重極質量分析計 (3DQMS) を用いることにより、イオントラップ内で多原子イオンの衝突解離及びバッファーガスと反応させることでスペクトル干渉の低減が可能であること¹⁾、また、従来型の四重極型質量分析計 (QMS) と比べて、高精度な同位体比分析が可能であること²⁾を評価してきた。

イオントラップ型質量分析計 (IT-MS) は有機化合物の分析においては、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) 及び液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC/MS) 等によく用いられている。しかし、無機化合物の分析への応用は限られている。近年、無機イオンの分析への応用も検討されるようになってきている^{3)~6)}。イオントラップ型質量分析計は、イオンを電場により特定の空間に閉じ込めることができる。この特徴を生かして、著者らのグループは、3DQMS を用いて、質量の異なるイオンを特定の空間に同時に閉じ込め検出することにより、従来型の四重極質量分析計では成し得られなかった 0.1% 以下の高精度な鉛同位体比測定を行えることを報告した²⁾。

また、ICP-MS を用いた分析の際に生じる問題点の一つであるスペクトル干渉に対しても、原因となる多原子イオ

ンを 3DQMS 内部に導入したバッファーガスである He と衝突解離及び反応を用いて低減できる可能性を持つことを報告した¹⁾。

ICP-MS における典型的なスペクトル干渉として、Fe を測定する際に最も存在比が大きい $^{56}\text{Fe}^+$ における $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, Se を測定する際に最も存在比が大きい $^{80}\text{Se}^+$ における $^{40}\text{Ar}_2^+$ といったスペクトル干渉が挙げられる。

この Fe 及び Se は人体を構成するのに必要とされる必須元素であると知られている⁷⁾。また、どの必須元素にも至適範囲が存在しており、至適範囲より摂取量が多くと少なくとも身体に悪影響を与えるため、生体中の必須元素の測定には正確な測定が求められている。しかしながら、上で述べたように、従来型の QMS では、Fe 及び Se を測定する際にプラズマガスである Ar 起因の干渉を受けるため、最も天然同位体比が大きい $^{56}\text{Fe}^+$ 及び $^{80}\text{Se}^+$ では実用的測定は不可能である。また、Ca, Br などの元素を多く含む生体中の Fe, Se 等の必須元素を測定する際にはマトリックス起因の干渉 ($^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ 等) を受けるため、QMS を用いて分析することが困難である。

スペクトル干渉を低減するその他の方法としては、高分解能質量分析計を用いる方法⁸⁾、コリジョンセル又はリアクションセルを質量分析計の前段に設置する方法⁹⁾¹⁰⁾等が提案されてきた。高分解能質量分析計は、分解能を高くしようとすると、感度が減少してしまうことと高価であるという欠点をもつ。コリジョンセル及びリアクションセルでは、CaO などの試料中に含まれるマトリックスに起因す

¹ 中央大学理工学部応用化学科: 112-8551 東京都文京区春日
1-13-27

る酸化物については、完全には除去することができない。また、バッファガスとして H_2 を使用する際には、コリジョンセル内で水素化物が生成されてしまい正確な定量には計算による補正が必要となることなどの問題点がある¹¹⁾。

3DQMS は、コリジョン・リアクションセルと異なり、数 ms から数秒のオーダーでイオンを閉じ込めることが可能で、衝突解離及び反応の時間を自由に制御できる特徴を持つ。この特徴を生かして、コリジョン・リアクションセルでは困難なマトリックスに起因する酸化物や水素化物からのスペクトル干渉を低減し、生体試料中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As の正確な定量を行った。

本研究では、ICP-3DQMS を用いて、QMS では測定が困難な生体中の必須元素である Fe, Cu, Zn, Se 及び人体に有害な元素で知られる As に注目し、スペクトル干渉の低減についての検討を行い、生体試料中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As の定量に応用した。

2 実 験

2.1 実験装置

本研究では、日立 P-5000 型質量分析計 (ICP-3DQMS; Hitachi High-Technologies 製) を用いた。この装置は大きく分けてイオン源及びインターフェース部、イオンレンズ及びイオン輸送部、3DQMS 及び検出器部の 3 つの部分から成る。

イオントラップ型質量分析計では、閉じ込め条件を満たすすべてのイオンの中から特定の m/z を有するイオンを選択し、エネルギーを与えることが可能である。この技術は FNF (filtered noise field) と呼ばれ、注目するイオンの m/z に対応する周波数の高周波電圧をエンドキャップ電極に印加する方法である。FNF を用いることにより、測定対象となる m/z のイオンだけを選択して内部に残し、それ以外のイオンを排除することができる。例えば、ICP-MS では大量の Ar^+ が生成されるが、この技術を利用することによって Ar^+ をイオントラップ型質量分析計内部から排除することができる。

また、このイオントラップ型質量分析計には CID (collision induced dissociation) と呼ばれる多原子イオンを衝突解離する機能も備えている。これは測定対象のイオンが持つ m/z に対応する周波数の高周波電圧をエンドキャップ電極に印加する方法である。電界ポテンシャルの内部で加速されたイオンは、導入された He バッファガス分子との衝突を繰り返す。加速されたイオンのうち分子イオンは、多数回の衝突で内部エネルギーが徐々に増大し解離する。しかしながら、分析目的の原子イオンも衝突によって損失するおそれがある。したがって、CID を用いる場合は FNF によって干渉を低減させることが困難な場合に用

いるのが望ましく、CID と、FNF によるアイソレーションの技術を組み合わせることにより、閉じ込めた複数のイオンから、特定の質量数のイオンを選択した後、イオントラップ型質量分析計の内部で分子イオンを衝突解離し、スペクトル干渉を低減することが可能になる。

ICP-3DQMS との検出限界を比較するために、ICP-QMS である HP4500 (Agilent Technologies 製) を用いた。ICP-QMS の装置条件は以前の研究と同じ条件を用いた¹²⁾。

試料の前処理に用いた酸分解装置は Milestone Model 1200 microwave 酸分解装置 (Socisole Inc., Italy) である。装置の最大出力は 1000 W で、低圧用 (最大圧力 30 気圧) の TFM 製密閉分解容器 (内容積 100 ml) を使用した。

2.2 分析条件

分析目的元素である Fe, Cu, Zn, Se, As 及び内標準元素である Ga, In に対し、装置条件の最適化を行った。装置条件を様々に振って検討した上で、ノイズが最小になり、かつ信号強度が最も高くなる条件を本研究で用いる装置条件とした。装置条件を Table 1 に示す。イオンレンズ系の各電極に印加する電圧は、 $m/z = 50 \sim 80$ 付近の透過率が最大になるように最適化した。イオンレベルとはイオントラップ内にトラップするイオンの質量 (amu) の下限値を決定するパラメーターである。予備実験より、イオンレベルを Ar の質量である 40 以上に設定することにより、 Ar^+ をイオントラップ型質量分析計内部から排除することで、Ar 起因のスペクトル干渉を低減できる。また、特定イオンの選択を行う FNF を最適化しなければ、イオントラップ内での取り込み・閉じ込め・排出の際に、分析目的元素が共存元素によってクーロン斥力の影響を受ける。その結果、分析目的元素の軌道が乱れて射出孔から射出できないイオンが生じ、分析目的元素が減感してしまう。FNF についても、Table 1 に示した最適値を用いてそれぞれの分析目的元素の定量を行った。

2.3 測定試料

2.3.1 試薬 検量線用溶液は Fe, Cu, Zn, Se 標準液 (1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 原子吸光用, 関東化学製) 及び As 標準液 (1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, SPEX 製) を所定の濃度に希釈調製した。Na, Br, Ca, S, Cl を含むマトリックス模擬溶液を調製するときには NaCl, KBr, $CaCO_3$ (Suprapur, Merck 製), 硫酸 (H_2SO_4 , 96%, 特級, 関東化学製), 塩酸 (HCl, 37%, 電子工業用, 関東化学製) を所定の濃度に希釈調製した。検量線用溶液及び模擬溶液の希釈調製にはすべて超純水 (Milli-Q エレメント超純水製造装置システム, 日本ミリポア製, 比抵抗 $> 18 M\Omega \cdot \text{cm}$) にて 0.1 M に調製した硝酸 (HNO_3 , 70%, 電子工業用, 関東化学製) を用いた。また希釈調製する際、内標準元素として Ga,

Table 1 Operating conditions for ICP-3DQMS instruments

Instrumental parameters					
RF power	1400 W				
Plasma Ar flow	14 l min ⁻¹				
Auxiliary Ar flow	1.2 l min ⁻¹				
Nebulizer Ar flow	1.3 l min ⁻¹				
Uptake rate	0.4 ml min ⁻¹				
Buffer gas	He				
Buffer gas pressure	2.5 kgf/cm ²				
Measurement times	5 times				
Ion trap parameters					
Isotope	⁵⁶ Fe	⁶³ Cu	⁶⁴ Zn	⁷⁵ As	⁸⁰ Se
Trapping time/ms	5	50	100	100	300
Ion level/amu	42.0	45.0	45.0	53.0	56.5
Filtered noise field/amu	55.5~56.5	62.5~63.5	63.5~64.5	74.5~75.5	79.5~80.5
FNF voltage/V	3.8	5.0	4.5	5.5	5.0

In 標準液 (1000 µg/ml, 原子吸光用, 関東化学製) を所定の濃度になるように添加して用いた. 希釈調製及び内標準元素の添加は質量ベースで行い, 0.1 mg まで計量を行った.

また, 試料前処理には硝酸及び過酸化水素 (H₂O₂, 30%, 電子工業用, 関東化学製) を用いた.

2.3.2 標準物質 分析操作の妥当性を評価するために生体標準物質を用いた. 用いた標準物質は, 牛肝臓標準物質として Bovine Liver (NIST SRM 1577a, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), ヒト血清標準物質として Seronorm Trace Elements No.0371 Human Serum (STE 0371, "Sero As", Bllingstad, Norway), 尿標準物質として Seronorm Trace Elements Human Urine 2524 (STE 2524 "Sero As", Bllingstad, Norway), NIES CRM Human Urine No.18 (NIES CRM 18, National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan) 及び NIST 2670 Elevated Level Urine (NIST 2670, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) であった.

2.4 試料前処理

NIST SRM 1577a の試料前処理として, 実験装置の項で示した酸分解装置を用いて, 酸分解を行った. 牛肝臓標準物質 (NIST SRM 1577a) を 0.25 g 取り, 直接分解容器の中に入れた後, 3 ml の HNO₃ と 1 ml の H₂O₂ を加えた. そして分解容器を酸分解装置に設置した後, 加熱プログラムを始動した. 酸分解のプログラムは, (1) 250 W, 5 min, (2) 0 W, 1 min, (3) 250 W, 5 min, (4) 400 W 5 min, (5) 600 W, 5 min を用いた. 最終的に, 酸によって分解した試料溶液をポリプロピレン容器の中に移し, 0.1 M HNO₃ で 10 g に希釈した. なお, 希釈の際に内標準元素として Ga と In をそれぞれ 10 ng/g になるように添加し

た.

尿及び血清標準物質及びヒト血清の実試料は, 超純水を加えて溶解した後ポリプロピレン容器の中に移し, 内標準元素 (Ga, In: 10 ng/g) を加え, 0.1 M HNO₃ で 10 g に希釈した後に分析を行った.

2.5 定量方法

微量元素の定量は, 標準液を 0.1 M 硝酸で希釈して調製した検量線用溶液 (Cu, Zn, Se, As: 0, 1, 3, 5 ng/g, Fe: 0, 5, 10, 30 ng/g) を用いて行った. ICP-QMS 及び ICP-3DQMS の測定条件と検出下限の比較を Table 2 に示す. Table 2 から, ArO⁺, Ar₂⁺からのスペクトル干渉を受ける Fe, Se に関しては ICP-3DQMS のほうが検出下限は良いことが分かる. また, Cu, Zn, As に関しては QMS のほうが検出下限は良いが, これは 3DQMS のイオントラップ内のバッファーガスである He と衝突の影響で分析目的イオンが損失するためである.

生体試料中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As について存在量の大きい同位体及び定量する際に問題となると一般的に指摘されているスペクトル干渉を Table 3 にまとめた. それぞれ元素について同位体存在量の最も大きい ⁵⁶Fe⁺ においては ⁴⁰Ar¹⁶O⁺ 及び ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, ⁶³Cu⁺ においては ⁴⁰Ar²³Na⁺, ⁶⁴Zn⁺ においては ³²S₂⁺ 及び ³²S¹⁶O₂⁺, ⁷⁵As⁺ においては ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺, ⁸⁰Se⁺ においては ⁴⁰Ar₂⁺, ⁷⁹Br¹H⁺ 及び ³²S¹⁶O₃⁺ のスペクトル干渉が問題となる. 今回測定に用いた標準物質は, 牛肝臓, ヒト血清及びヒト尿である. Table 4 に牛肝臓, ヒト血清及びヒト尿の主要元素濃度を示した. 今回測定に用いた標準物質に含まれる Br, Ca, S, Cl 及び Na の濃度はそれぞれ 10, 100, 1100, 4400 及び 2500 µg/g 程度であるので, 実際に分析を行う場合, Br 及び Ca 濃度は希釈なしでも装置に影響は与えないが, S, Cl 及び Na のような濃度が高い元素に対しては装置に悪影響 (検出器

Table 2 Comparisons of measurements conditions and detection limits (DL) using ICP-3DQMS and ICP-QMS

Isotope	ICP-3DQMS			ICP-QMS	
	Trapping time/ms	Accumulation times/times	DL/ ng g ⁻¹	Integration time /s	DL/ ng g ⁻¹
⁵⁴ Fe	5	30	1.8	0.3	10.6
⁵⁶ Fe	5	30	1.8	0.3	— ^{a)}
⁶³ Cu	50	30	0.14	0.3	0.002
⁶⁴ Zn	100	30	0.28	0.3	0.066
⁷⁵ As	100	30	0.09	0.3	0.006
⁸⁰ Se	300	30	0.01	0.3	4.7
⁸² Se	300	30	0.02	0.3	0.17

a) No data

Table 3 Probable spectral interferences on the determination of Fe, Cu, Zn, As, and Se in biological samples by ICP-QMS

isotope	Abundance, %	Interference
⁵⁴ Fe	5.85	⁴⁰ Ar ¹⁴ N
⁵⁶ Fe	91.75	⁴⁰ Ar ¹⁶ O, ⁴⁰ Ca ¹⁶ O
⁵⁷ Fe	2.12	⁴⁰ Ar ¹⁶ O ¹ H, ⁴⁰ Ca ¹⁶ O ¹ H
⁶³ Cu	69.2	⁴⁰ Ar ²³ Na
⁶⁵ Cu	30.8	³³ S ³² S, ³³ S ¹⁶ O ₂
⁶⁴ Zn	48.6	³² S ₂ , ³² C ¹⁶ O ₂
⁶⁶ Zn	27.9	³⁴ S ³² S, ³⁴ S ¹⁶ O ₂
⁷⁵ As	100	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl
⁷⁷ Se	7.63	⁴⁰ Ar ³⁷ Cl, ⁴⁰ Ar ³⁶ Ar ¹ H
⁸⁰ Se	49.61	⁴⁰ Ar ⁴⁰ Ar, ⁷⁹ Br ¹ H, ³² S ¹⁶ O ₃
⁸² Se	8.73	¹² C ³⁵ Cl ₂ , ³⁴ S ¹⁶ O ₃ , ⁴⁰ Ar ₂ ¹ H ₂ , ¹ H ⁸¹ Br

Table 4 Concentrations of major elements in bovine liver (NIST SRM 1577a), human serum (STE 0371) and human urine (STE 2524) standard materials and their Interferences

Element	Bovine liver (NIST SRM 1577a)/ μg g ⁻¹	Human serum (STE 0371)/ μg g ⁻¹	Human urine (STE 2524)/ μg g ⁻¹	Polyatomic ion interferants
Br	10	0.6	10	⁷⁹ Br ¹ H (⁸⁰ Se ⁺) ^{b)}
Ca	120	120	100	⁴⁰ Ca ¹⁶ O ⁺ (⁵⁶ Fe ⁺) ^{b)}
S	— ^{a)}	1300	1100	³² S ₂ + (⁶⁴ Zn ⁺) ^{b)}
Cl	2600	— ^{a)}	4400	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl ⁺ (⁷⁵ As ⁺) ^{b)}
Na	2400	3800	2500	⁴⁰ Ar ²³ Na ⁺ (⁶³ Cu ⁺) ^{b)}

a) No data; b) Target elements in biological samples

への負荷やサンプリングコーンの目詰まりなど)を与える可能性があるため、5倍希釈を想定して、各10、100、200、1000及び500 μg/gに調製した模擬溶液を用意し、マトリックス元素に起因するスペクトル干渉の低減に関する実験を行った。

3 結果及び考察

3・1 模擬溶液に対するスペクトル干渉の低減の検討

3・1・1 FNFを用いた際のスペクトル干渉の低減 生

体標準物質を測定する前に、希釈を考慮せずに生体標準物質中の主要元素濃度に似せた模擬溶液を用い、FNF機能を使用した際スペクトル干渉の低減が起こるかについて調べた。以前の研究で、本実験条件でプラズマ起因の干渉である⁴⁰Ar¹⁶O⁺及び⁴⁰Ar₂⁺はFNFのみで完全に低減できることが報告されている¹³⁾。

本実験から、模擬溶液中に含まれる元素から生じる多原子イオンのうち、⁴⁰Ar²³Na⁺及び⁴⁰Ar³⁵Cl⁺についてはFNFを用いるのみで完全に低減できることが分かった。⁴⁰Ar³⁵Cl⁺

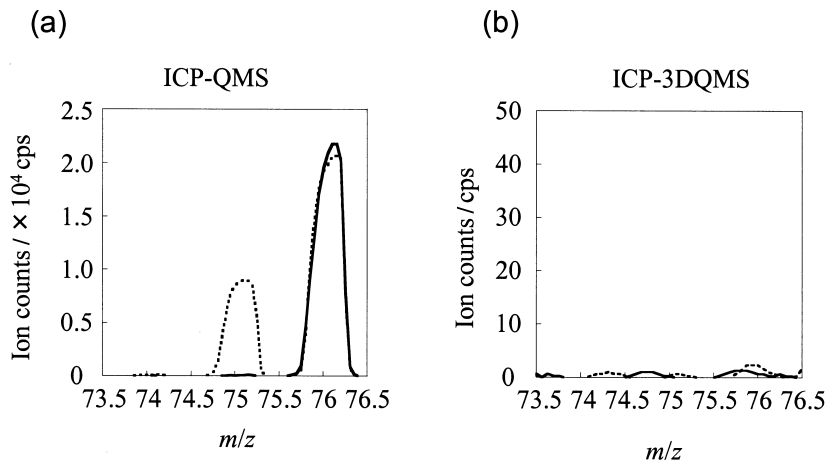


Fig. 1 Mass spectra of 4400 µg/g Cl in 0.1 M HNO₃ solution using (a) ICP-QMS and (b) ICP-3DQMS

Broken lines indicate mass spectra of 4400 µg/g Cl in 0.1 M HNO₃ solution, and solid lines indicate mass spectra of blank (0.1 M HNO₃) solution

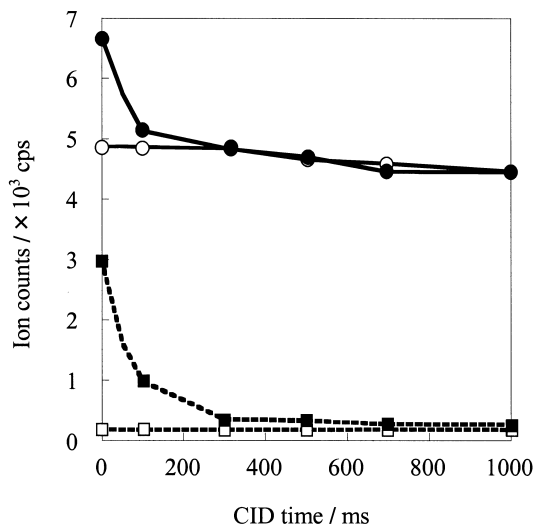


Fig. 2 Plots of $m/z = 64$ signal intensities vs. CID time by using the CID Function of 3DQMS

●: 10 ng g⁻¹ Zn and 200 µg g⁻¹ S solution, ○: 10 ng g⁻¹ Zn solution, ■: 200 µg g⁻¹ S solution, □: 0.1 M HNO₃ solution; CID voltage: 0 V, trapping time: 100 ms, accumulation times: 30 times

に関して, ICP-QMS 及び ICP-3DQMS で干渉を比較するため, Cl 4400 µg/g の溶液を調製し, それぞれの装置で $m/z = 75$ のスペクトルを測定した. 結果を Fig. 1 に示す. Fig. 1 より, ICP-QMS では $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ の干渉が見られたが, ICP-3DQMS では完全に干渉が低減できていることが分かった. 一方, 模擬溶液を用いた場合では FNF のみで $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ 及び $^{32}\text{S}_2^+$ は低減できなかった.

3.1.2 CID を用いた際の $^{32}\text{S}_2^+$ のスペクトル干渉の低減

次に FNF と並んで多原子イオンのスペクトル干渉の低減に用いられる CID による Br, Ca, S, Cl 及び Na の低減について調べた. Fig. 2 に CID 時間を変化させたときの $m/z = 64$ の信号応答性を示す. それぞれ, Zn 10 ng/g と S 200 µg/g の混合溶液, Zn 10 ng/g 溶液, S 200 µg/g 溶液, 0.1 M 硝酸溶液を分析したときの結果を示している.

以前の研究より¹³⁾ CID の電圧が 0 V のとき, 分析目的元素の減感が最も小さかったため, 本実験ではこの値を最適値として用いた. 空試験 (0.1 M 硝酸) 溶液及び分析目的試料を含む溶液の両方について, CID 時間 0 ms のとき S を含む試料は S を含まない試料の信号強度よりも大きくなっている. これはイオントラップ内において $^{32}\text{S}_2^+$ が生成されているためであると考えられる. CID 時間を長くすることにより $^{32}\text{S}_2^+$ が解離し, S を含む試料と S を含まない試料の信号強度は一致する傾向にあった. CID 時間 500 ms のとき, $^{32}\text{S}_2^+$ は十分に解離し, それぞれの試料における Zn の信号強度は最も良い一致を示した. このときの CID 条件 0 V, 500 ms を最適条件とし, 生体標準物質中の微量元素の定量分析を行った.

また, BrH^+ , CaO^+ に関しては, 以前の研究結果から, CID 0 V 500 ms を用いることで完全に低減できることが明らかにされている¹³⁾.

これまでの結果及び今回の実験の結果をまとめると Table 5 のようにまとめられる. プラズマガスである Ar 起因の多原子イオン ($^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}_2^+$, $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$, $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$) については Table 5 で示したように, 解離エネルギーが比較的低いことから, FNF によって質量選別することでこれらの干渉を低減することができる. しかし, マトリックス起因の多原子イオン ($^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$,

Table 5 Feasibilities of reduction of polyatomic ions by FNF and CID

	Ar-based interferants		Matrix-based interferants				
	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ (^{56}Fe) ^{a)}	$^{40}\text{Ar}_2^+$ (^{80}Se) ^{a)}	$^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$ (^{63}Cu) ^{a)}	$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ (^{75}As) ^{a)}	$^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ (^{80}Se) ^{a)}	$^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ (^{56}Fe) ^{a)}	$^{32}\text{S}_2^+$ (^{64}Zn) ^{a)}
Dissociation energy/eV ^{b)}	0.5	1.25	0.2	0.72~2.2	4.07	3.57	6.46
Reduction by FNF	○	○	○	○	△ ^{c)}	△ ^{c)}	△ ^{c)}
Reduction by CID	—	—	—	—	○	○	○

a) Target elements in biological samples; b) Ref. 14); c) Depending on concentrations of interferants

Table 6 Determinations of Fe, Cu, Zn, As and Se in bovine liver (NIST SRM 1577a) and human serum (STE 0371) standard materials

Element	Bovine liver (NIST SRM 1577a)		Human serum (STE 0371)	
	Found/ $\mu\text{g g}^{-1}$	Certified/ $\mu\text{g g}^{-1}$	Found/ ng g^{-1}	Certified/ ng g^{-1}
Fe	273 ± 8	270 ± 20	1960 ± 60	1910 ± 120
Cu	193 ± 8	193 ± 10	2390 ± 50	2600 ± 200
Zn	142 ± 4	130 ± 10	900 ± 100	920 ± 70
As	N.D.	(0.055) ^{a)}	— ^{b)}	— ^{b)}
Se	1.05 ± 0.03	1.1 ± 0.1	134 ± 8	136 ± 9

a) Reference value; NIST SRM 1577a: 1000-fold dilution, STE 0371 100-fold dilution, Using only the FNF function, accumulation times: 30 times; b) No data

$^{32}\text{S}_2^+$) については, Ar 起因の多原子イオンと比べて解離エネルギーが高く FNF のみでは完全に干渉が低減できなかったため, FNF に加え, 更に CID によって衝突解離を行うことでこれらの干渉を低減することができる。ただし, マトリックス濃度が希釈により薄まると, $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{32}\text{S}_2^+$ についても FNF のみで測定可能である場合もある。

3.2 生体標準物質の定量

3.2.1 牛肝臓標準物質の定量 標準物質として, 牛肝臓標準物質 (NIST SRM 1577a) を使用した。また, 分析目的元素濃度が非常に高かったため, 0.1 M 硝酸溶液を用いて 1000 倍希釈してから定量を行った。また, CID を用いると信号損失が生じるので, まずは, FNF のみで牛肝臓の定量を行った。定量結果を Table 6 に示す。

牛肝臓標準物質に含まれる必須微量元素は FNF 機能を用いるだけで保証値と良い一致を示した。これは 1000 倍希釈をしたため, マトリックス起因の干渉が生じず FNF 機能のみを用いることで保証値と一致したと思われる。しかし, As に関しては元の濃度が低く, この分析条件では検出下限を下回ったため定量できなかった。

3.2.2 ヒト血清標準物質の定量 標準物質として, ヒト血清標準物質 (STE 0371) を使用した。また, この標準物質もそのままでは分析目的元素濃度が高いため 0.1 M 硝酸溶液を用いて 100 倍希釈してから FNF のみで定量を行った。定量結果を Table 6 に示す。

ヒト血清標準物質について, As は保証値がなかったた

め定量を行わなかったが, その他の元素に関しては, FNF 機能を用いるだけで保証値と良い一致を示した。

3.2.3 尿標準物質の定量 標準物質として, ヒト尿標準物質 NIST 2670 (NIST 2670 Elevated Level Urine), NIES CRM 18 (NIES CRM 18 Human Urine No.18) 及び STE 2524 (Seronom Trace Elements Human Urine 2524) を使用した。また, 尿標準物質はそれぞれ 50, 10 及び 10 倍希釈してから FNF のみで定量を行った。定量結果を Table 7 に示す。

NIST 2670 に関しては, 保証値のある Cu, As 及び Se, 参考値のある Zn に関してはそれぞれ良い一致を示した。しかし, NIES CRM 18 及び STE 2524 の Se に関しては, 保証値より高い値を示した。これは NIST 2670 の 50 倍希釈と比べ, 希釈倍率が 10 倍と低かったために BrH^+ の干渉が生じてしまったことが考えられる。

そこで, NIES CRM 18 及び STE 2524 に関して FNF に加え, CID を用いて Se の定量を行った。定量結果を Table 7 に示す。CID 0 V, 500 ms を用いて定量を行った結果, 保証値と良い一致を示した。このことから, 両ヒト尿標準物質は, CID を行うことで BrH が解離されたため, 正確な定量ができたと考えられる。

3.3 ヒト血清の実試料の定量

各標準物質は, ICP-3DQMS を用いることで保証値と良い一致を示したので, 本実験では応用として, ヒト血清実試料の定量を行った。ヒト血清は, 標準物質 (STE 0371) において Fe, Cu, Zn 及び Se が保証されており, かつ良

Table 7 Determination of Cu, Zn, As and Se in human urine standard materials

Element	Human urine (NIST 2670)		Human urine (NIES CRM 18)		Human urine (STE 2524)	
	Found/ ng g ⁻¹	Certified/ ng g ⁻¹	Found/ ng g ⁻¹	Certified/ ng g ⁻¹	Found/ ng g ⁻¹	Certified/ ng g ⁻¹
Cu	371 ± 11	370 ± 30	— ^{a)}	— ^{a)}	— ^{a)}	— ^{a)}
Zn	741 ± 29	(500 ~ 1500) ^{b)}	612 ± 42	620 ± 50	— ^{a)}	— ^{a)}
As	520 ± 30	480 ± 100	144 ± 4	137 ± 11	83.8 ± 2.6	83 ± 7
Se	462 ± 18	460 ± 30	71.7 ± 1.1	59.0 ± 5.0	21.9 ± 0.8	14.4 ± 2.3
Se (CID) ^{c)}	— ^{a)}	— ^{a)}	60.7 ± 1.5	59.0 ± 5.0	12.8 ± 0.8	14.4 ± 2.3

a) No data; b) Reference value; c) CID function besides FNF function; NIST 2670: 50-fold dilution, NIST CRM 18: 10-fold dilution, STE 2524: 10-fold dilution, CID Voltage: 0 V, CID time 500 ms, trapping time: 500 ms, accumulation times: 30 times, The FNF function is used for all urine standard samples.

Table 8 Determination of Fe, Cu, Zn and Se in human serum

Element	Sample A	Sample B
	Found/ng g ⁻¹	Found/ng g ⁻¹
Fe	3290 ± 90	2990 ± 130
Cu	1730 ± 50	1410 ± 30
Zn	1250 ± 20	1370 ± 70
Se	170 ± 10	176 ± 12

Sample A, B: 100-fold dilution, Using only the FNF function, accumulation times: 30 times

い一致を示したので, 実試料として選択した. 標準物質の定量の際と同様に 100 倍希釈をした上で, 最適条件を用いてヒト血清の実試料の定量を行った. 2 人からの異なるヒト血清試料が得られたので, それぞれ試料 A 及び B とした. 定量結果を Table 8 に示す. ヒト血清標準物質 (Table 6) と希釈倍率, 測定条件とも同一条件にして定量を行ったので, 実試料の分析値は信頼できるものと判断した.

4 結 論

3DQMS の FNF を最適化することにより, ⁶³Cu⁺ 及び ⁷⁵As⁺ に対する ⁴⁰Ar²³Na⁺ 及び ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ のスペクトル干渉は低減できた. しかし, ⁵⁶Fe⁺ に対する ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, ⁶⁴Zn⁺ に対する ³²S₂⁺ 及び ⁸⁰Se⁺ に対する ⁷⁹Br¹H⁺ のスペクトル干渉は, 完全には低減できなかった.

しかし, FNF に加え 3DQMS の CID 機能を使用することにより ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, ³²S₂⁺ 及び ⁷⁹Br¹H⁺ のスペクトル干渉を低減できた. 各干渉の CID の最適条件は 0 V, 500 ms であった.

FNF, CID の最適条件の下で, 牛肝臓, ヒト血清及びヒト尿標準物質中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As を定量した結果, 誤差範囲内で保証値と一致した.

標準物質の測定で得た最適条件の下で, ヒト血清の定量を行い, 分析結果の妥当性を確認した.

本法を用いることで, 生体試料中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As に関するスペクトル干渉の低減を可能とし, 生体試料中の Fe, Cu, Zn, Se 及び As を定量する際に, 存在量の最も大きい同位体を用いて正確な定量ができた.

文 献

- 1) N. Furuta, A. Takeda, J. Zheng, T. Nabeshima: "Evaluation of Inductively Coupled Plasma-Ion Trap Mass Spectrometry", in Plasma Source Mass Spectrometry, edited by G. Holland, S. D. Tanner, p. 90 (2001), (Royal Society of Chemistry, London).
- 2) 西村康宏, 大畑昌輝, 古田直紀, 鍋島貴之: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **53**, 527 (2004).
- 3) G. C. Eiden, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 317 (1996).
- 4) D. W. Koppenaal, C. J. Barinaga, M. R. Smith: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 1053 (1994).
- 5) G. C. Eiden, C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 1161 (1996).
- 6) C. J. Barinaga, D. W. Koppenaal: *Rapid Comm. Mass Spectrom.*, **8**, 71 (1994).
- 7) 北條舒正, 白井汪芳, 金子正夫編: "生体と金属イオン", (1994), (学会出版センター).
- 8) M. Moldovan, E. M. Krupp, A. E. Holliday, O. F. X. Donard: *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 815 (2004).
- 9) D. W. Koppenaal, G. C. Eiden, C. J. Barinaga: *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 561 (2004).
- 10) S. D. Tanner, V. I. Baranov, D. R. Bandura: *Spectrochim. Acta*, **57B**, 1361 (2002).
- 11) L. H. Reyes, J. M. M. Gayon, J. I. G. Alonso, A. Sanz-Medel: *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**, 11 (2003).
- 12) 金子順恵, 大畑昌輝, 古田直紀, 久保裕也, 稲葉次紀: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 633 (2002).
- 13) 堀込 純, 古田直紀: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **54**, 373 (2005).
- 14) W. G. Mallard, P. J. Linstrom (Ed.): "NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69", (2005), (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD).

Determination of Fe, Cu, Zn, Se and As in Biological Samples Using ICP-Ion Trap Mass Spectrometer

Yoshinobu YOKOYAMA¹, Keiichi SATO¹ and Naoki FURUTA¹

¹Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering, Chuo University, 1-13-27, Kasuga, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8551

(Received 13 March 2006, Accepted 15 May 2006)

The spectral interferences of polyatomic ions on ^{56}Fe , ^{63}Cu , ^{64}Zn , ^{75}As and ^{80}Se in biological samples were eliminated by an inductively coupled plasma three-dimensional quadrupole mass spectrometer (ICP-3DQMS) equipped with an ion-trap mass spectrometer. Also Fe, Cu, Zn, As and Se in biological samples were determined. The spectral interferences of weak-bonded polyatomic ions, such as $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ (^{56}Fe), $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$ (^{63}Cu), $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ (^{75}As), and $^{40}\text{Ar}^{2+}$ (^{80}Se), were eliminated by optimizing the filter noised field (FNF) function and other operating conditions of 3DQMS. On the other hand, the spectral interferences of strong-bonded polyatomic ions, such as $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ (^{56}Fe), $^{32}\text{S}_2^+$ (^{64}Zn) and $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ (^{80}Se), were eliminated by optimizing the collision-induced dissociation (CID) function of 3DQMS coupled with optimization of the FNF function. The optimum conditions of the CID voltage and the CID duration time were 0 V and 500 ms, respectively. Under the optimum conditions for the FNF, CID and other operating conditions, Fe, Cu, Zn, As and Se in biological standard materials were determined. It was demonstrated that the analytical results were consistent with the certified values within the standard error. Finally, Fe, Cu, Zn, As and Se in the sampled human serum were determined.

Keywords : inductively coupled plasma ; ion-trap mass spectrometer ; spectral interferences ; collision induced dissociation ; biological samples.