

報 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
試料中の鉄及びセレン測定時のスペクトル干渉の低減

堀 込 純¹, 古 田 直 紀^{®1}

Elimination of Spectral Interferences for the Determination of Fe and Se
in Biological Samples Using ICP-Ion Trap Mass Spectrometer

Jun HORIGOME¹ and Naoki FURUTA¹

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

(Received 25 November 2004, Accepted 1 March 2005)

An inductively coupled plasma mass spectrometer with an ion-trap mass spectrometer was used for the determination of Fe and Se in biological samples. The spectral interferences of Ar_2^+ , $^{31}\text{P}_2^{16}\text{O}^+$, $^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2^+$ and $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$ on $^{78}\text{Se}^+$, $^{80}\text{Se}^+$ and $^{82}\text{Se}^+$ were eliminated by optimizing the ion level and FNF (filtered noise field) function of 3DQMS (three dimensional quadrupole mass spectrometer). As a result of decreasing $^{40}\text{Ar}_2^+$, a linearity of 7 orders of magnitude from 100 ppt to 100 ppm and a limit of detection of 11 ppt were achieved at ^{80}Se . The spectral interferences of $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ and $^{81}\text{Br}^1\text{H}^+$ decreased by using the CID (collision induced dissociation) function of 3DQMS. The optimum conditions of CID obtained from the signal intensity and the isotopic ratio of Fe and Se were 0 V and 500 ms. Under the optimum conditions of the ion level, FNF and CID, Se in human urine standard materials (NIES CRM 18 and Seronorm 2524) was determined; the analytical results showed good agreement with reference values within the analytical error, and a recovery of 101% could be attained for Fe in human urine standard material (Seronorm 2524). The developed method enabled us to determine Se and Fe in biological samples by using the most abundant isotopes of ^{56}Fe and ^{80}Se .

Keywords : inductively coupled plasma; ion-trap mass spectrometer; spectral interferences; biological samples; ICP-3DQMS.

1 緒 言

誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) は、広範囲の元素を高感度多元素同時分析できる分析装置として、地球化学、半導体産業、環境分析など様々な分野において活躍している。しかしながら、従来用いられている四重極質量分析計 (QMS) では、スペクトル干渉を受ける元素を正確に定量することが困難であること、真の多元素同時分析ではないためイオン源である ICP の変動、ネブライザーの変動及び装置のドリフトの影響で高精度の同位体比分析

が困難であるという問題点がある。

著者らのグループは、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衝突解離及び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⁾、従来型の 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。

使用した装置は、3DQMS が用いられている日立 P-5000 型質量分析計 ICP-3DQMS である。イオントラップ型質量分析計は有機物イオン分析用の質量分析計として発展してきたが、最近になって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

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

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。この特性を応用して、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 QMS ではなし得られなかった 0.1% 以下の高精度な鉛同位体比測定を行える²⁾。スペクトル干渉の問題に対しては、イオンをトラップすることにより、スペクトル干渉の原因である多原子イオンを 3DQMS 内部に導入したバッファガスと衝突解離及び反応させることで妨害を低減できる可能性を持つ¹⁾。

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、現在、広く普及している QMS を用いる際には、低温プラズマを用いる方法^{7)~9)}、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¹⁰⁾¹¹⁾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。低温プラズマを用いた方法では、ICP の高周波出力を低下させることによってスペクトル干渉の原因となる多原子イオンの生成を抑制している。しかし、低温プラズマにするとイオン化効率が低下するため、イオン化エネルギーの高い元素を分析することが困難となる。また、高いマトリックスを含む試料では、プラズマのエネルギーがマトリックスのイオン化に使われるため、目的元素のイオン化効率が低下する。これに対して、コリジョンセル及びリアクションセルでは、プラズマ出力が高いため、高濃度のマトリックス試料に応用することができる。しかし、CaO などの試料中に含まれるマトリックスに起因す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 H₂ 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¹²⁾。

生体試料中の Fe を従来型の ICP-QMS を用いて定量する際、最も天然同位体比が大きい ⁵⁶Fe⁺ は、プラズマガスに起因する ⁴⁰Ar¹⁶O⁺ や生体内に多量に存在するマトリックス元素の Ca による ⁴⁰Ca¹⁶O⁺ の妨害を受ける。

また、生体試料中の Se を定量しようとすると、6 つの同位体すべてがプラズマガスである Ar や生体試料中のマトリックスに起因する多原子イオンのスペクトル干渉を受ける。そのため、従来型の ICP-QMS を用いて微量の Se を定量することは非常に困難である^{12)~18)}。

本報告では、ICP-3DQMS を用いて生体試料としてヒト尿中の Se 及び Fe に関するスペクトル干渉の低減を行い、生体試料中の Fe 及び Se の定量に応用した。3DQMS は、コリジョンセル及びリアクションセルと異なり、数 ms から数 s 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性を持つ。この原理を応用して、コリジョンセル及びリアクションセル

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閉じ込め時間などを制御することにより低減できる。

2 実 験

2.1 実験装置

本研究では、日立 P-5000 型質量分析計 (Hitachi High-Technologies Co. 製) を用いた。この装置は大きく分けてイオン源・インターフェース部、イオンレンズ・イオン輸送部及び 3DQMS・検出器部の 3 つに分けられる。

3DQMS 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 filtered noise field (FNF) と呼ばれ、注目するイオン以外の 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ことにより、不用なイオンを 3DQMS 内部から排除することができる。例えば、ICP-MS では大量の Ar イオンが生成されるが、この技術を利用することによって Ar イオンを 3DQMS 内部から排除することができる。

また、collision induced dissociation (CID) と呼ばれる多原子イオンを解離する機能も備えている。これは測定したいイオンの 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。電界ポテンシャルの内部で加速されたイオンは、3DQMS 内部に導入された 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。この FNF と CID の技術を組み合わせることにより、複数のイオンから特定のイオンを選択した後、3DQMS の内部で分子イオンを解離し、スペクトル干渉を低減することが可能になる。

2.2 分析条件

Fe と Se を測定する際の実験装置の最適化を行った。そのときの典型的な測定条件を 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。今回、3DQMS において、分析目的元素の閉じ込め効率の向上と多原子イオンからのスペクトル干渉の低減のために、イオンレベルと呼ばれるトラップするイオンの下限値を決定するパラメーターの最適化を行った。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 イオンを 3DQMS 内部から排除することで、Ar 起因のスペクトル干渉の低減につながる。Table 1 に示すように、それぞれの分析目的元素に対し最適なイオンレベルに調整した。また、特定イオン選択を行う FNF を最適化しなければ、分析目的元素が共存元素によって、3DQMS 内でイオンの取り込み、閉じ込め、排出の際、クーロン斥力の影響を受け、分析目的元

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	
up-take rate	0.4 ml min ⁻¹	
buffer gas	He	
buffer gas pressure	2.5 kg f/cm ²	
internal standard	⁵⁹ Co, ¹¹⁵ In	
measurement times	5 times	
Ion trap parameters		
	⁵⁶ Fe	⁸⁰ Se
ion level	42 amu	56 amu
filtered noise field	55.5~56.5 amu	79.6~80.5 amu
FNF voltage	4.4 V	5.0 V

Table 2 Spectral interferences on the determination of Fe and Se in biological samples by ICP-MS

Isotope	Abundance, %	Interferences
⁵⁴ Fe	5.85	⁴⁰ Ar ¹⁴ N, ³⁸ Ar ¹⁶ O, ⁴⁰ Ca 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
⁵⁸ Fe	0.28	⁴⁰ Ar ¹⁶ O ¹ H ¹ H, ⁴⁰ Ca ¹⁶ O ¹ H ¹ H
⁷⁴ Se	0.89	³⁷ Cl ₂ , ⁴⁰ Ar ³⁴ S
⁷⁶ Se	9.36	³⁶ Ar ⁴⁰ Ar, ³⁸ Ar ³⁸ Ar, ⁴⁰ Ar ³⁶ S, ³¹ P ₂ ¹⁴ N
⁷⁷ Se	7.63	⁴⁰ Ar ³⁷ Cl, ⁴⁰ Ar ³⁶ Ar ¹ H
⁷⁸ Se	23.78	³⁸ Ar ⁴⁰ Ar, ³¹ P ₂ ¹⁶ O
⁸⁰ Se	49.61	⁴⁰ Ar ⁴⁰ Ar, ³² S ¹⁶ O ₃ , ¹ H ⁷⁹ Br
⁸² Se	8.73	¹² C ³⁵ Cl ₂ , ³⁴ S ¹⁶ O ₃ , ⁴⁰ Ar ₂ ¹ H ₂ , ¹ H ⁸¹ Br

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の減感につながってしまう。Table 1 に示すように、FNF もそれぞれの分析目的元素に対し最適な値に調整した。

2.3 測定試料

2.3.1 試薬 Se 標準溶液 (1000 ppm, SPEX 製) 及び Fe 標準溶液 (1000 ppm, 関東化学製) は、超純水にて 0.1 M に調製した HNO₃ (70%, 電子工業用, 関東化学製) で希釈した。

尿中の Fe 及び Se を定量する際に問題となるスペクトル干渉を Table 2 に示す。最も天然同位体比が大きい ⁵⁶Fe⁺ に対しては ⁴⁰Ar¹⁶O⁺, ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, 一方, ⁷⁸Se⁺, ⁸⁰Se⁺, ⁸²Se⁺ に対しては, Ar₂⁺ をはじめ ³¹P₂¹⁶O⁺, ⁷⁹Br¹H⁺, ⁸¹Br¹H⁺, ³²S¹⁶O₃⁺, ¹²C³⁵Cl₂⁺ などのスペクトル干渉が問題となる。典型的な尿における Ca, Br, P, S 及び Cl の濃度はそれぞれ 100, 10, 610, 1100 及び 4000 ppm 程度であるので, それぞれの元素の濃度を考慮して作製した模擬

Table 3 Matrix solutions prepared for this study

Element	Conc./ppm	Interferences
Ca (CaCO ₃)	100	⁴⁰ Ca ¹⁶ O
S (H ₂ SO ₄)	1100	³² S ¹⁶ O ₃ , ³⁴ S ¹⁶ O ₃
Br (KBr)	10	¹ H ⁷⁹ Br, ¹ H ⁸¹ Br
C, Cl (HCl, CH ₃ COOH)	4000, 4300	¹² C ³⁵ Cl ₂
P (H ₃ PO ₄)	610	³¹ P ₂ ¹⁶ O

尿を用意し (Table 3), 模擬尿中の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。また, 0.1 M に調製した HNO₃ を空試験として, ⁴⁰Ar¹⁶O⁺, ⁴⁰Ar₂⁺ のスペクトル干渉の低減に関する実験を行った。

2.3.2 標準物質 用いた標準物質は, NIES CRM 18 human urine (National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan), Seronorm trace elements human urine 2524 (Sero As, Bllingstad, Norway), NIST bovine liver SRM 1577 a (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) である。

2.3.3 試料前処理 固体試料の分解には, Milestone MLS 1200 マイクロウェーブ酸分解装置 (Milestone, Sorisole, Italy) と中圧ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 容器を用いて, 固体試料の分解を行った。牛肝臓標準物質である NIST SRM 1577 を約 0.25 g ひょう量し, 容器中に入れた。3 ml の HNO₃ と 1 ml の H₂O₂ を加え, 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 50 ml のポリスチレンの容器に移し, 内標準元素を加えた後, 0.1 M HNO₃ にて, 約 10 g に希釈した。

ヒト尿標準物質である NIES CRM 18 及び Seronorm 2524 は証明書に説明しているとおり, 超純水を加えて溶解した後, 内標準元素を加え, それぞれ 5 倍及び 10 倍に希釈した。

3 結果及び考察

3.1 Se に関するスペクトル干渉の低減

3.1.1 Ar₂⁺ の低減 従来型の QMS を採用している HP-4500 (Agilent Technologies, Tokyo, Japan) で空試験を測定した際のマススペクトルを Fig. 1(a) に示す。従来型の QMS で得られたマススペクトルでは, プラズマ起因の ⁴⁰Ar₂⁺ と見られる 4 × 10⁶ cps という非常に大きなピークが観測された。

同様に 3DQMS で空試験を測定した際のマススペクトルを Fig. 1(b) に示す。3DQMS で得られたマススペクトルは, ⁴⁰Ar₂⁺ からのスペクトル干渉はバックグラウンドレベルである (10 cps 程度)。⁴⁰Ar₂⁺ を低減した結果, ⁸⁰Se⁺ に

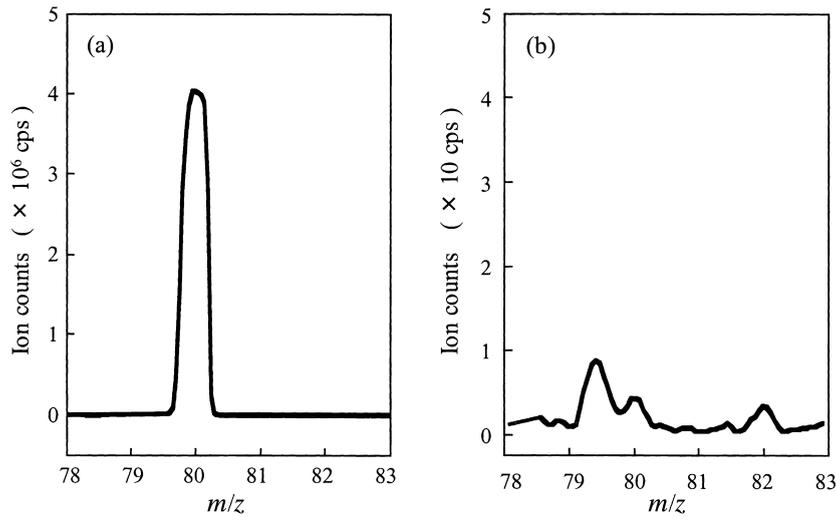


Fig. 1 Comparison of blank (0.1 M HNO₃) spectra obtained by ICP-QMS and ICP-3DQMS (a): ICP-QMS (HP4500); (b): ICP-3DQMS

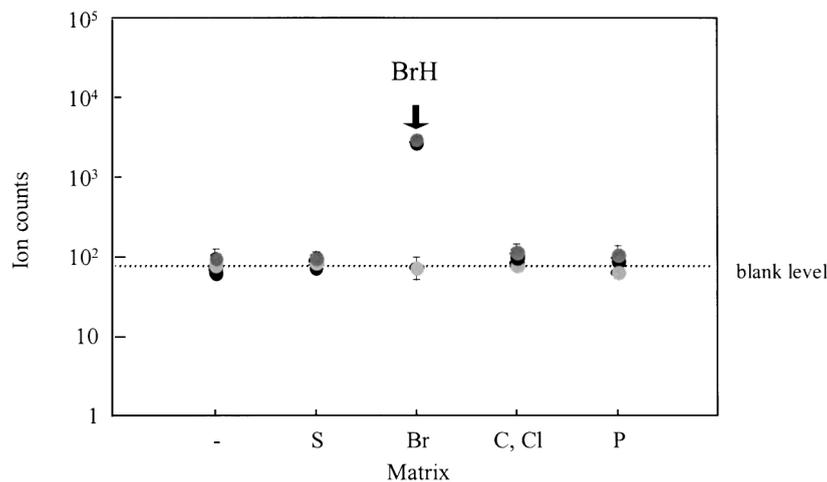


Fig. 2 Matrix effect on the background signal intensity (without Se; trapping time: 500 ms; accumulation times: 100 times)

●: $m/z = 78$; ●: $m/z = 80$; ●: $m/z = 82$

おけるダイナミックレンジは 100 ppt~100 ppm の 7 けたで直線性を得ることができた。その際の閉じ込め時間は、質量分析計内部の飽和を防ぐため、4 種類の値に変化させた (100 ppt~10 ppb, 100 ms; 100 ppb~1 ppm, 10 ms; 10 ppm, 1 ms; 100 ppm, 0.1 ms)。また、検出限界は 11 ppt を達成した。

$^{40}\text{Ar}_2^+$ から受ける干渉は、イオンレベル及び FNF の最適化を行うことにより低減することができた。イオンレベル及び FNF を適切に設定することにより、イオントラップ内に入る $^{40}\text{Ar}^+$ を排除したことから、イオントラップ内でバッファガスとの衝突により $^{40}\text{Ar}_2^+$ が解離したことから、 $^{40}\text{Ar}_2^+$ がほとんど検出されなかったと考えられる。

3・1・2 尿マトリックスから受けるスペクトル干渉

Fig. 2 に、Se を測定する際に問題となる多原子イオンを構成するそれぞれの元素を測定した際の $m/z = 78, 80, 82$ の信号強度を示す。この溶液に Se は含まれていない。Br を含む試料において、 $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ 、 $^{81}\text{Br}^1\text{H}^+$ のスペクトル干渉を確認した。また、他のマトリックス元素からのスペクトル干渉は空試験レベルで小さくて確認されなかった。BrH からのスペクトル干渉は、バックグラウンド相当濃度として、 $m/z = 80$ で 2 ppb、 $m/z = 82$ で 11 ppb であった。

P_2O^+ 、 SO_3^+ 、 CCl_2^+ は、3 原子以上で構成されていて衝突断面積が大きいので、イオンを取り込む際にバッファガスである He とほぼ完全に衝突解離をしたと考えられる。Br に起因する BrH^+ のスペクトル干渉が完全には低減

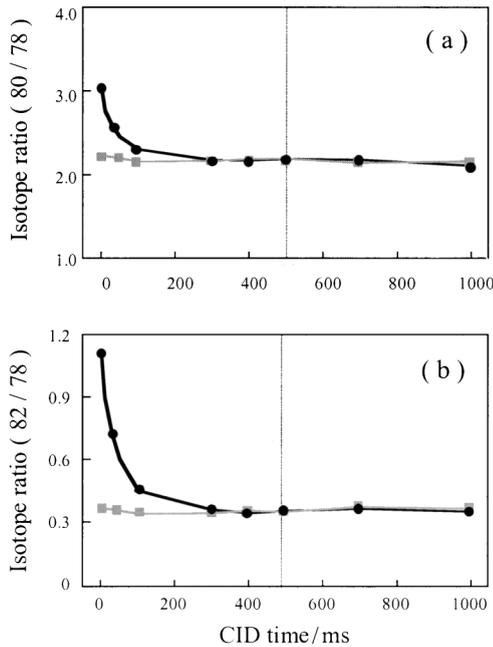


Fig. 3 Selenium isotope ratio as a function of CID time (CID: 0 V; Se: 10 ng g^{-1} ; trapping time: 500 ms; accumulation times: 50 times)

(a): 80/78; (b): 82/78; ■: without Br; ●: $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Br

できなかった理由として, 2 原子で構成されているため衝突断面積が小さく, 解離が十分に引き起こされなかったと考えられる。

3.1.3 CID 機能による BrH^+ のスペクトル干渉の低減
 ^{80}Se , ^{82}Se に対する BrH^+ のスペクトル干渉を低減するために 3DQMS の CID 機能を用いた。

Fig. 3 に CID による BrH^+ からのスペクトル干渉の低減を示す。本実験では, CID の電圧が 0 V のとき, 分析目的元素の減感が小さかったため, この値を最適値として適用した。CID 時間 0 ms のとき, Br を含んでいる試料は, BrH^+ の影響で Br を含んでいない試料の同位体比よりも大きくなっている。これは $m/z = 80$ と 82 において $^{79}\text{Br}^+\text{H}^+$ と $^{81}\text{Br}^+\text{H}^+$ が生成されているためである。CID 時間を長くすることにより BrH^+ が解離し, それぞれの同位体比は一致する傾向にある。 BrH^+ の減少は CID 時間に依存している。CID 時間 500 ms のとき, BrH^+ は十分に解離し, それぞれの試料における Se の同位体比は最も良い一致を示した。このときの CID 条件 0 V, 500 ms を用いてヒト尿標準物質中の Se の定量分析を行うこととした。

3.1.4 CID 機能を用いた標準物質中の Se の定量
 Table 4 に CID を行った際における標準物質中の Se の測定結果を示す。Se の定量値については, 内標準法で 5 回の測定を繰り返した時の平均値と標準偏差を示してある。標準物質は, ヒト尿 (CRM1: NIES CRM 18 及び CRM 2:

Table 4 Determination of Se in biological certified reference materials

	Found/ ng g^{-1}		Reference/ ng g^{-1}
	without CID	with CID	
CRM 1	21.9 ± 0.8	12.8 ± 0.8	14.9 ± 2.3
CRM 2	71.7 ± 1.1	60.7 ± 1.5	59.0 ± 5.0
CRM 3	1050 ± 30	—	1100 ± 100

CRM 1: Seronorm trace elements human urine 2524 (10-fold dilution); CRM 2: NIES CRM 18 human urine (10-fold dilution); CRM 3: NIST SRM 1577 bovine liver (40-fold dilution); CID: 0 V, 500 ms; Trapping time: 500 ms; Accumulation times: 30 times

Seronorm 2524), 及び比較のために牛肝臓標準物質 (CRM3: NIST SRM 1577) を用いた。CRM1, 2 の Se の定量値は, 3DQMS の CID 機能を用いることにより, 参照値と誤差範囲内で一致した。一方, CRM3 の牛肝臓標準物質は, Se の濃度が大きく, 含まれる Br の濃度も小さいため, CID 無しで測定することが可能であった。

3.2 Fe に関するスペクトル干渉の低減

3.2.1 3DQMS を用いて Fe を測定する際に問題となるスペクトル干渉 $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ からのスペクトル干渉の確認のために, 空試験値を用いた。また, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ からのスペクトル干渉の確認のために, 尿中に含まれている Ca の濃度を考慮して調製した Ca 100 ppm 溶液を用いた。3DQMS によって得られたマススペクトルを Fig. 4 に示す。

$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ のスペクトル干渉は, バックグラウンド相当濃度として 15 ppb, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ のスペクトル干渉は, バックグラウンド相当濃度として 45 ppb であった。また, Ca 100 ppm 溶液を測定した際には, $m/z = 57$ に $^{40}\text{Ca}^{16}\text{OH}^+$ も確認された。 $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ とともに, Ca からの $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ が測定の見害となっているため, 3DQMS の CID 機能を用いた。

3.2.2 CID 機能による ArO^+ と CaO^+ の低減 Fig. 5 に CID による $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ と $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ の低減を示す。縦軸は信号強度, 横軸は CID 時間である。グレーの実線は Fe 100 ppb, グレーの点線は空試験値, また, 黒の実線は, Fe 100 ppb に Ca 100 ppm を含む溶液, 黒の点線は, Ca 100 ppm 溶液となっている。

CID 時間 0 ms のとき, Ca を含む試料は $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ が生成されているため, Ca を含んでいない試料の信号強度よりも大きくなっている。CID 時間を長くすることにより $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ が解離し, それぞれの信号強度は一致する傾向にある。CID 時間 500 ms のとき, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ は十分に解離し, それぞれの試料における Fe の信号強度及びバックグラウンドの信号強度と最も良い一致を示した。

Fig. 6 に, 空試験値, Fe 100 ppb, Ca 100 ppm 及び Fe

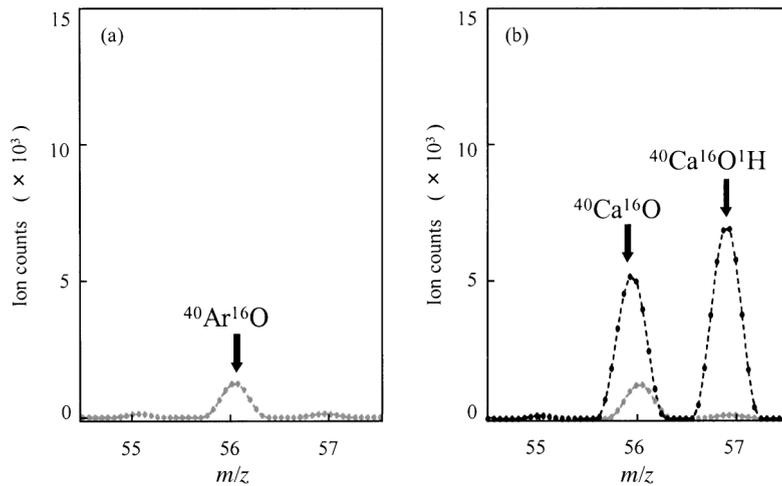


Fig. 4 Mass spectra obtained by ICP-3DQMS (trapping time: 50 ms; accumulation times: 100 times)

(a): blank (0.1 M HNO₃); (b): 100 µg g⁻¹ Ca; ●: blank (0.1 M HNO₃); ●: 100 µg g⁻¹ Ca

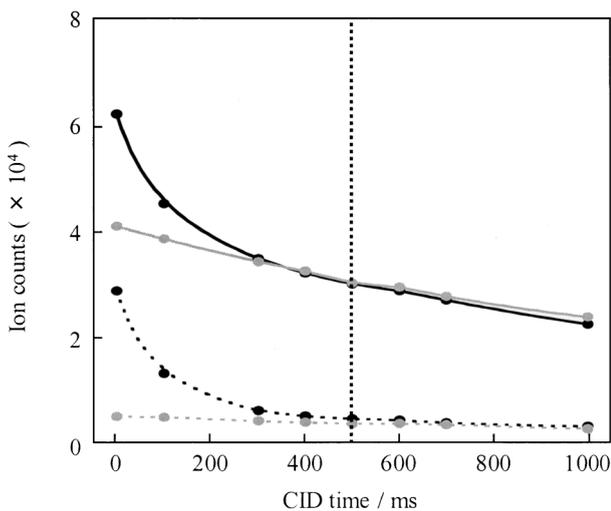


Fig. 5 Signal intensity of Fe as a function of CID time (CID: 0 V; trapping time: 50 ms; accumulation times: 100 times)

---○---: blank (0.1 M HNO₃); ---●---: 100 µg g⁻¹ Ca; —○—: 100 ng g⁻¹ Fe; —●—: 100 ng g⁻¹ Fe + 100 µg g⁻¹ Ca

100 ppb + Ca 100 ppm を測定した際の CID を行っていない条件で測定した際のマススペクトルと CID の最適条件である 0 V, 500 ms の条件で得られたマススペクトルを示す。CID を行うことで、⁴⁰Ca¹⁶O⁺ が完全に低減していることが見て取れる。また、解離した ⁴⁰Ca¹⁶O⁺ のうち約 20% が ⁴⁰Ca¹⁶OH⁺ に変化していることを確認した。この結果より、⁴⁰Ca¹⁶O⁺ の一部は、溶媒起因の水素と反応することで減少した機構が考えられる。こうして得られた CID 条件 0 V, 500 ms を用いてヒト尿標準物質中の Fe の定量分析

を行うこととした。

3・2・3 CID 機能を用いた標準物質中の Fe の定量
Fe の濃度が保証されているヒト尿の標準物質が手に入らなく、また他の論文などを探したが参照値がなかったために、Fe の添加回収実験を行った。

Table 5 に Seronorm 2524 中の Fe の測定結果を示す。Fe の定量値については、内標準法で 5 回、標準添加法で 5 回、合計 10 回の測定を繰り返したときの平均値と標準偏差を示してある。一方、回収実験については、内標準法で 5 回の測定を繰り返したときの平均値と標準偏差を示してある。

添加回収実験の結果、CID を行うことで ⁴⁰Ar¹⁶O⁺ と ⁴⁰Ca¹⁶O⁺ の干渉の影響を除去し、回収率ほぼ 100% を達成することができた。この条件で定量した Fe の濃度は 73.6 ppb となった。また、その際の分析値の精度は、それぞれ 3.1% と 5.1% であった。添加回収実験の結果と、尿中の Fe の適正值が 15~157 ppb であることから分析値は妥当な値であると考えられる。

4 結 論

3DQMS のイオンレベルと FNF を最適化することにより、⁷⁸Se⁺, ⁸⁰Se⁺, ⁸²Se⁺ に対する ³¹P₂¹⁶O⁺, ⁴⁰Ar₂⁺, ³²S¹⁶O₃⁺ 及び ¹²C³⁵Cl₂⁺ のスペクトル干渉は低減できた。しかし、⁵⁶Fe⁺ に対する ⁴⁰Ar¹⁶O⁺, ⁴⁰Ca¹⁶O⁺, 及び ⁸⁰Se⁺, ⁸²Se⁺ に対する ⁷⁹Br¹H⁺, ⁸¹Br¹H⁺ のスペクトル干渉は、完全には低減できなかった。

そこで、3DQMS の CID 機能を使用することにより、⁴⁰Ar¹⁶O⁺, ⁴⁰Ca¹⁶O⁺ 及び ⁷⁹Br¹H⁺, ⁸¹Br¹H⁺ のスペクトル干渉を低減した。Fe 及び Se の信号強度及び同位体比から求

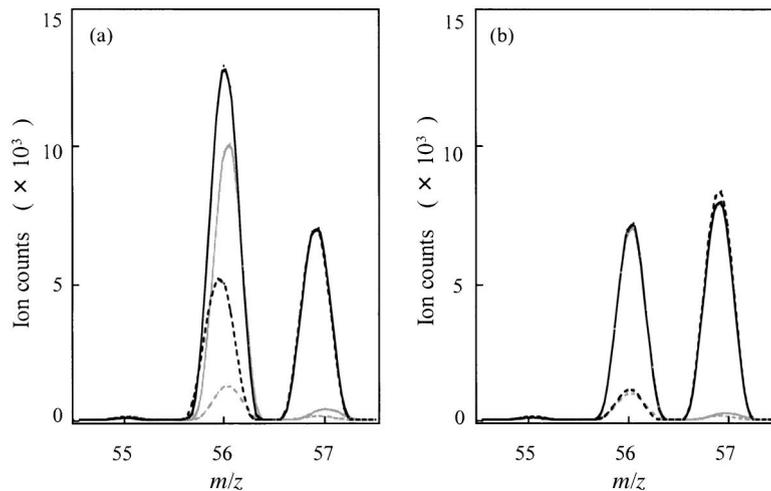


Fig. 6 Mass spectra obtained by ICP-3DQMS (trapping time: 50 ms; accumulation times: 100 times)

(a): without CID; (b): with CID 0 V, 500 ms; ----: blank (0.1 M HNO₃);: 100 µg g⁻¹ Ca; —: 100 ng g⁻¹ Fe; —·—: 100 ng g⁻¹ Fe + 100 µg g⁻¹ Ca

Table 5 Determination of Fe in Seronorm trace elements human urine 2524 and recovery test

	without CID	with CID
Fe concentration		
Before addition/ng g ⁻¹	90.5 ± 4.0	73.6 ± 2.9
Added/ng g ⁻¹	20	20
After addition/ng g ⁻¹	117.2 ± 2.6	93.8 ± 2.2
Recovery, %	133	101

CID: 0 V, 500 ms; Trapping time: 100 ms; Accumulation times: 30 times

めたCIDの最適条件は0 V, 500 msであった。

イオンレベル, FNF及びCIDの最適条件の下で, ヒト尿標準物質 (NIES CRM 18及びSeronorm 2524) 中のSeを定量した結果, 誤差範囲内で参照値と一致した。また, ヒト尿標準物質 (Seronorm 2524) 中のFeの添加回収実験を行った結果, 101%の回収率を得ることができた。

本法を用いることで, 生体試料中のFe及びSe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及びSeを天然同位体比の最も大きい⁵⁶Fe及び⁸⁰Seを用いて定量することができた。

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).
- 2) 西村康宏, 大畑昌輝, 古田直紀, 鍋島貴之: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **6**, 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) N. S. Nonose, N. Matsuda, N. Fudagawa, M. Kubota: *Spectrochimica Acta*, **49B**, 955 (1994).
- 8) K. Sakata, K. Kawabata: *Spectrochimica Acta*, **49B**, 1027 (1994).
- 9) S. D. Tanner: *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 905 (1995).
- 10) D. W. Koppenaal, G. C. Eiden, C. J. Barinaga: *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 561 (2004).
- 11) S. D. Tanner, V. I. Baranov, D. R. Bandura: *Spectrochimica Acta*, **57B**, 1361 (2002).
- 12) L. H. Reyes, J. M. M. Gayon, J. I. G. Alonso, A. Sanz-Medel: *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**, 11 (2003).
- 13) B. Gammelgaard, O. Jons and L. Bendahl: *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**, 339 (2001).
- 14) J. M. Marchante-Gayon, I. Feldmann, C. Thomas, N. Jakubowski: *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**, 457 (2000).
- 15) B. Gammelgaard, O. Jons: *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 867 (1999).
- 16) L. C. Clark, G. F. Combs, B. W. Turnbull, E. H. Slate, D. K. Charlker, J. Chow, L. S. Davis, R. A. Glover, G. F. Graham, E. G. Gross, A. Krograd, J. L. Leshner, H. K. Park, B. B. Sanders, C. L. Smith, J. R. Talor: *J. Am. Med. Assoc.*, **276**, 1957 (1996).
- 17) R. F. Burk, K. E. Hill, J. A. Awad, J. D. Morrow, T. Kato, K. A. Cockell, P. R. Lyons: *Hepatology*, **21**, 561 (1995).
- 18) M. S. Alaejos, C. D. Romero: *Clin. Chem.*, **39**, 2040 (1993).

要 旨

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 及び Se に関するスペクトル干渉を低減し、生体試料中の Fe 及び Se の測定を行った。三次元四重極質量分析計 (3DQMS) のイオンレベルと filtered noise field (FNF) 機能を最適化することにより、 $^{78}\text{Se}^+$ 、 $^{80}\text{Se}^+$ 、 $^{82}\text{Se}^+$ に対する Ar_2^+ 、 $^{31}\text{P}_2^{16}\text{O}^+$ 、 $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_3^+$ 及び $^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2^+$ のスペクトル干渉は低減できた。 $^{40}\text{Ar}_2^+$ を低減した結果、 ^{80}Se におけるダイナミックレンジは 100 ppt ~ 100 ppm の 7 けたで、検出限界は 11 ppt を達成した。3DQMS の collision induced dissociation (CID) 機能を使用することにより、 $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ 、 $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$ 及び $^{79}\text{Br}^1\text{H}^+$ 、 $^{81}\text{Br}^1\text{H}^+$ のスペクトル干渉を低減した。Fe 及び Se の信号強度及び同位体比から求めた CID の最適条件は 0 V, 500 ms であった。イオンレベル、FNF 及び CID の最適条件の下で、ヒト尿標準物質 (NIES CRM 18 及び Seronorm 2524) 中の Se を定量した結果、誤差範囲内で参照値と一致した。また、ヒト尿標準物質 (Seronorm 2524) 中の Fe の添加回収実験を行った結果、101% の回収率を得ることができた。本法を用いることで、生体試料中の Fe 及び Se を天然同位体比の最も大きい ^{56}Fe 及び ^{80}Se を用いて定量することができた。