

総合論文*

プラズマイオン源質量分析法によるヒト試料の
微量元素分析

吉 永 淳**

(1995 年 6 月 20 日受付)

プラズマイオン源質量分析法によるヒト試料の微量元素分析について概説した。ヒト試料は一般的に微量元素の濃度レベルが低く、それに対してマトリックスのレベルが大きいため、マトリックス効果及び分子イオンによる干渉を避けながら高感度かつ正確な分析を行うことが難しい場合が多い。特に分子イオンによる干渉が多い低質量領域の元素の分析が困難である。四重極誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) を用いた場合、分子イオンによる干渉が少ない高質量領域の元素の分析が比較的容易であり、血清・尿中 I の分析や、フローインジェクションや同位体希釈といった手法を用いた頭髪中 Hg, Tl の分析例を紹介した。血清中のサブ ppb レベルの微量元素の分析には高分解能 ICP-MS が、これまでの ICP-MS では分析の難しかった Se の分析には窒素マイクロ波誘導プラズマ (MIP)-MS が、それぞれ有効な方法であった。

1 はじめに

医学、薬学、保健学、毒性学、栄養学など、ヒトの健康をとりまく科学の分野で微量元素が注目を集めるようになって久しい。これらの分野では必須微量元素の欠乏や有害微量元素暴露による集団、臨床、分子、遺伝子レベルでの健康障害が中心関心の的である。ヒトにとっての必須微量元素として、現在のところ、Fe, I, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Se, Cr (必須性の証明された順番) の 9 元素が知られている。このほか、As, Ni, Si などの必須性が疑われているが、現在のところまだ証明はされていない。Cd, Hg, Pb など典型的な汚染重金属の生体影響に加え、Li や貴金属錯体 (Au, Pt) などの薬理作用、Al 過剰摂取による脳症や骨軟化症、更には特に先端産業の産業保健の現場における各種希土類元素などの過剰摂取による生体影響など、様々な微量元素とヒトの健康との関連が取りざたされるようになっている¹⁾²⁾。

これらヒトの健康に関する諸科学分野で微量元素の問題を取り扱うときも、分析がすべての研究の基本となる。これまで常に新しい分析手法を取り入れながら研究

が進んできているのは他の分野と同じである。誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を中心とする、プラズマイオン源質量分析法 (プラズマ MS) もその例外ではない。プラズマ MS によるヒト試料の分析例は近年増加しつつある。微量元素分析における、血液、尿などの生体試料の特徴という点、①一般に分析元素の濃度が低いこと、②それに対してアルカリ金属、アルカリ土類、炭素、窒素、塩素などの主成分元素の濃度が高いこと、③試料が少量しか得られない場合が多いこと、を挙げることができる。もう一つの特徴を挙げるならば、分析をすることの多い元素、例えば必須微量元素、の多くが低質量領域にあることがある。これらの特徴はすべてプラズマ MS による分析の困難さと関連している。

本稿では、以上のような問題点を認識したうえで、プラズマ MS を用いてヒト試料の微量元素分析を行った結果について概説する。

2 マトリックスの影響

2・1 マトリックス効果

ヒト試料に限らず実試料をプラズマ MS で分析する際に、マトリックスに由来する誤差要因について調べておく必要がある。ICP-MS におけるマトリックス効果については、Olivers ら³⁾、Tan ら⁴⁾による詳細な報告があり、分析元素とマトリックス元素の原子番号とイオン

* 関東支部創立 40 周年記念

** 環境庁国立環境研究所: 305 茨城県つくば市小野川 16-2

化ポテンシャルとが相互に関連する結果であることが見いだされている。ヒト試料の場合、マトリックスとなるのは、C, P, S, Cl など比較的軽い元素であり、イオン化ポテンシャルも高いために、マトリックス効果は顕著でないと予想されるが、これらについて詳細に調べた報告はなかった。そこで確認の意味を含めて実験を行った⁵⁾。

実験は高純度の硝酸塩、アンモニウム塩あるいは標準液を用いてマトリックスを調製し、市販の原子吸光用 1000 ppm 標準液から調製した 60 元素の混合標準液を用いて行った。測定は、0.1 M HNO₃→10 ppb 標準液→(洗浄)→マトリックス溶液/0 ppb→マトリックス溶液/10 ppb→(洗浄)→10 ppb 標準液、という順序で各マトリックス濃度で行った。各元素に対し、マトリックス溶液/0 ppb のカウント (分子干渉あるいは試薬不純物による) をマトリックス溶液/10 ppb のカウントから差し引き、2 回の 10 ppb 標準液のカウントの平均値と比較した。測定は横河電機 PMS-2000 で行った。

Fig. 1 にマトリックス濃度が ~1000 ppm のときの Li, Pb のイオンカウントを示した。予想どおり、C, P, S, Cl によるマトリックス効果は観察されないか、あっても Na, K, Ca 等にと比べてごく軽いものであった。この結果からヒト試料をプラズマ MS で分析する際には、アルカリ、アルカリ土類元素の濃度が 50 ppm を超えないよう注意を払えばよいことが明らかになった。

この実験結果はプラズマ MS で実試料量を分析する際の、適当な内標準元素の選択にも指針を与えてくれる。実験に用いた 60 元素は、マトリックス効果の程度がそれぞれ異なり、とても二、三の元素を内標準として全元素を正確に測れるものでないことが明白であった。

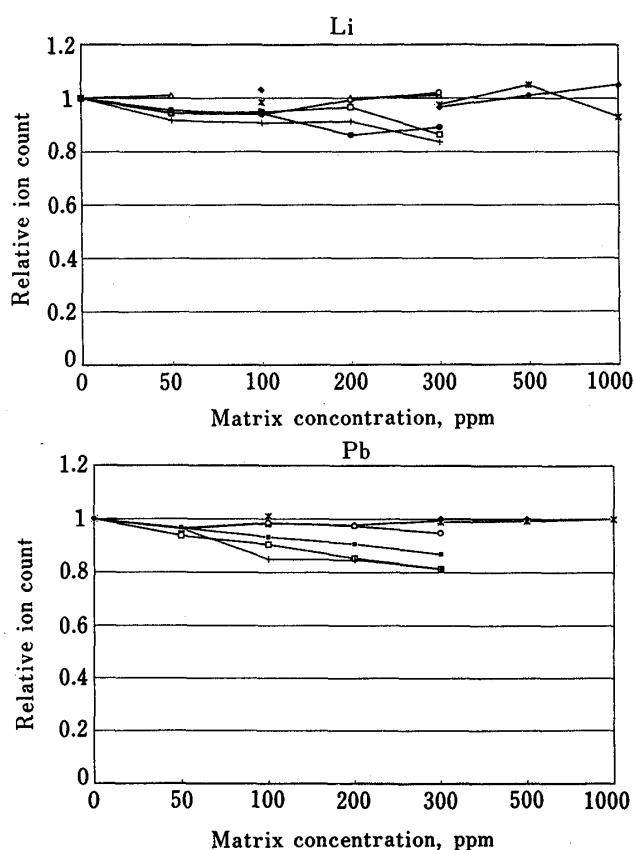


Fig. 1 Relative ion count of Li and Pb as a function of matrix element concentration

◆: C; □: Na; △: P; ○: S; ×: Cl; ■: K; |: Ca

2.2 分子干渉

上記の実験のうち、マトリックス溶液/0 ppb のイオンカウントから、マトリックスに由来する分子イオンの干渉レベルについても見積もることができる。生物試料

Table 1 Levels of interference from matrix elements and normal values of interferents in human serum

Matrix element	Matrix concentration, ppm	Interference		Reported [†] value, ppb
		Isotope	Level, ppb equivalent	
Na	3000	Cu (63)	30	820~1750
K	200	Mn (55)	0.02	0.57~1.76
Ca	100	Co (59)	0.6	0.11~0.46
		Ni (61)	60	2.6~7.5
P	100	Ti (47)	250	
Cl	4000	V (51)	20	0.024~0.047
		As (75)	3	1.7~15
C	40000	Cr (52)	1200	0.12~2.1

[†] Data compiled by Iyengar (1985) and by Versieck & Cornelis (1980).

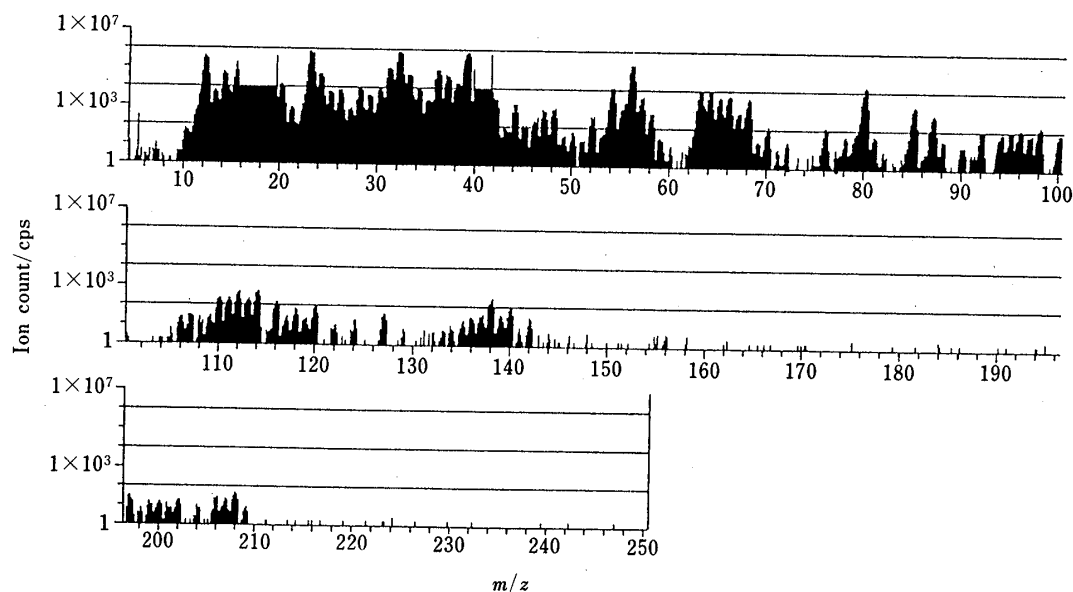


Fig. 2 ICP-MS spectrum of human liver

におけるこの種の干渉については、最近 Vanhoe らによる詳細な報告がなされている⁶⁾。ここでは血清試料に含まれる平均的なマトリックス元素の濃度と、それに由来すると予想される分子イオンによる見掛け上のレベル、そして血清中のそれら元素の“正常値”と信じられているレベル⁷⁾⁸⁾を比較してある (Table 1)⁵⁾。Co, Ni, V, As, Cr に予想される干渉は“正常値”に比べ許容できないほどのレベルであると考えられる。同様に、これらの元素に対する干渉は、尿、母乳においても許容できないと予想された。これらの元素の分析にはマトリックスを分離することが必須であると結論できる。但し、本検討は、マトリックス溶液/0 ppb のイオンカウントにマトリックス調製に用いた試薬からの不純物が寄与していない、という仮定のもとで行ったものであり、ここでの検討結果は高めに評価している可能性がある。

3 ヒト臓器などの多元素同時分析

職業的暴露のない、一般公衆 (general population) の体内の微量元素レベルについては、過去に幾つかの体系的な報告があるものの、必ずしも十分ではない。各種微量元素のレベル、ある元素について臓器間のレベルの関連、ある臓器内での異なる微量元素間の関連など、検討すべき課題は多い。プラズマ MS の高感度な多元素同時分析能がどんな情報—どのような元素がどれくらいのか—を含まれているのか—を新たにもたらしうるのか、幾つかの主要な臓器について検討した。

3・1 多元素同時分析

日本人の臓器中各種微量元素レベルに関する情報を得る目的で、ICP-MS によるヒト臓器の多元素同時分析を行った⁹⁾¹⁰⁾。試料は東京周辺で事故等により急死し、法医学解剖に付された 42 人の日本人から採取した大脳、小脳、心臓、肝臓、じん臓 (髄質・皮質)、ひ臓である。テフロンポンプと硝酸を用いて分解し、ICP-MS (PMS-100, 横河電機) により分析した。分析値の正確さは、標準試料 (NIST SRM 1577a, Bovine Liver), 及び ICP 発光分析 (ICP-AES) 法など他の方法との比較によりチェックした。

分析の結果、多くの元素が検出された。Fig. 2 に肝臓の質量スペクトルを示す。検出下限は低質量側で ppm オーダー (臓器中濃度として) になることがあったが、これは装置の不安定性、試薬などからの汚染のためと考えられた。中質量以上では典型的には数十～数 ppb で、希土類では ppb 以下となった。ICP-AES で定量し得た Na, Mg, P, K, Ca, Fe, Cu, Zn に加え、Mn, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Cs, La などが定量できた。Fe, Zn, Cd については、ICP-AES による分析値とよく一致したが、Mg, Sc, Ti, Ge, As, Se, Hg などでは分子干渉、分解時の損失などの理由で得られた結果は許容できるものではなかった。酸分解-希釈だけの簡便な前処理法で、ICP-AES との併用でヒト臓器中の 20 元素が定量できたことになる。

人骨は様々な元素を濃縮していると考えられている。

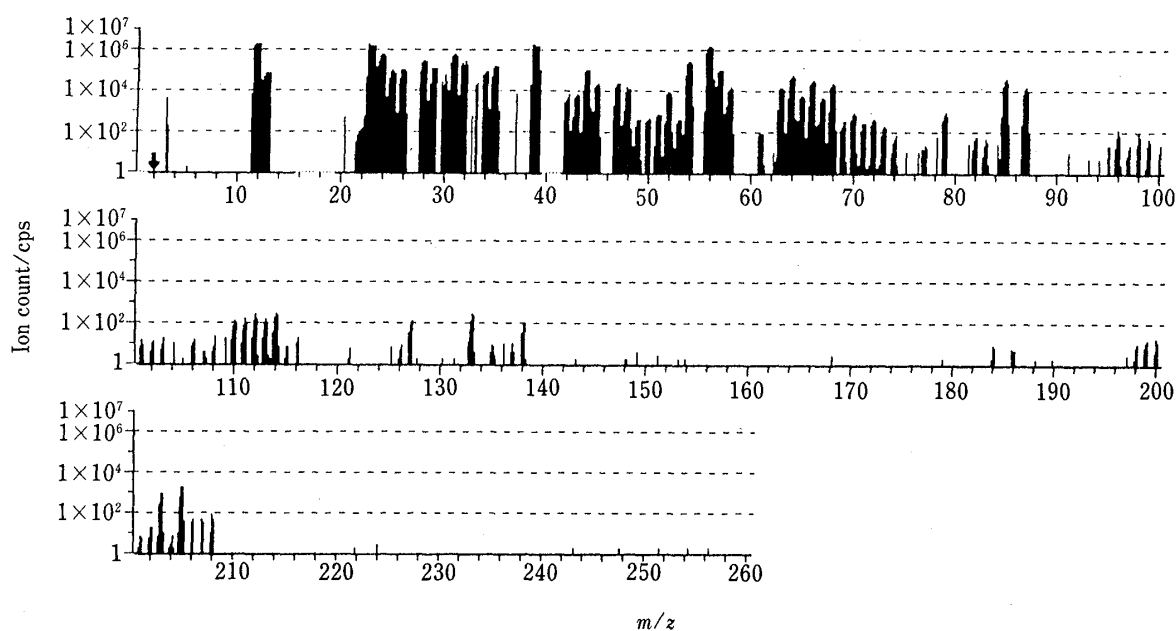


Fig. 3 ICP-MS spectrum of blood from a Tl poisoned patient

人骨の主たるマトリックスは Ca と P であり、マトリックス効果を避けるためには最低でも 4000 倍の希釈が必要になる（このとき Ca 濃度は 60 ppm）。東京都内の老人病院で死亡し、病理解剖の際に採取したろっ骨をテフロンポンプと硝酸で分解し、希釈して定量し得たのは Zn, Sr, Cd, Sn, Ba, Pb にとどまった⁽¹⁾。このうち Zn, Sr については ICP-AES で抽出などの操作なしで定量可能である。そのほか 18 元素が検出されたが、いずれも検出下限（骨中濃度として数～数十 ppb）付近の値で精度のよい定量には至らなかった。

母乳についても多元素分析を行っている⁽²⁾。ICP-AES で定量できた元素（Na, Mg, P, S, K, Ca, Cu, Zn）以外には、Rb, Mo, Cs, Ba があるくらいで、新しい情報は少なかった。

以上のように、ヒト試料を多元素同時分析したとき、予想に比べて新たに得られる情報は多くはなかった。臓器の多元素分析が最も多くの情報をもたらしてくれたが、これは、臓器の主たるマトリックスは Na, P, K で、そのレベルはおよそ 2000 ppm であり、マトリックス効果を考えても 100 倍希釈で十分であったためであろう。人骨の例のように、マトリックスに比べて微量元素の濃度が低い場合、マトリックス効果を避けるために希釈倍率をあげる必要があり、ICP-MS の感度が高いといっても足りなくなる。これはプラズマ MS による実試料の多元素同時分析の、ある意味での限界を示す例で、より低い検出下限を達成するためには、マトリク

スからの分離、フローインジェクションなどにより元素数を絞って丁寧に測定する必要がある。

3・2 定性分析

高速の質量走査ができることが四重極 MS の利点である。これを利用した定性分析は、中毒物質の検索などに有効である。Fig. 3 は Tl 中毒患者の血液を酸分解して測定した ICP-MS スペクトルで、 $m/z=203$, 205 に Tl のピークがはっきり見える⁽³⁾。このような機能は臨床中毒学、法医学などの分野で利用価値が高いと考えられる。なおこの患者の死後、採取された諸臓器の Tl の定量分析結果を Table 2 に挙げておく⁽³⁾。

4 血清試料の分析

4・1 高分解能 ICP-MS による分析

疾患などのない、健康な集団での血液中各種微量元素レベルの代表値、いわゆる“正常値”がどれくらいであるかについて多大な関心が払われている。“正常値”が分らないと、実際に測定された値が疾患などによる偏りの結果か否かが明らかにならないからである。ところが既に Table 1 でも示したように、血清中の V, Cr, Ni, As などの分析は、Cl, C, Ca などに由来する分子イオンの干渉により、精度のよい分析は不可能である。高分解能 ICP-MS (ICP-HRMS) の使用が一つの解決策と考え、血清分析を行った⁽⁴⁾⁽⁵⁾。

血清中 V, Cr, Mn の分析に用いた試料は、サンブ

Table 2 Tl concentrations (ppm wet) in organs from poisoned patient determined by ICP-MS

	Tl concentration
Brain	0.47
Heart	1.0
Lung	0.44
Spleen	0.79
Liver	0.68
Kidney	1.1
Muscle	0.58
Blood	0.26
Sciatic Nerve	0.14

リング時の汚染に注意しながら成人男子より採取したものである¹⁴⁾。すなわち、通常の採血用シリンジではなく、留置針（ステンレス製注射針にテフロン製カバーがついたもの）をひじ静脈に挿入後、ステンレス針のみを引き抜き、3 ml ほど血液をぬいて、テフロンカバー内部を洗う。シリンジを硝酸洗浄したものにかえて、10 ml ほど血液を採取する。血液は硝酸洗浄したポリプロピレン製試験管に移し、抗凝固剤をいっさい使わずに血球成分が凝固するのを待ち、遠心分離を3回繰り返して血清を分離する。この血清を2本の100 ml のテフロン製瓶に2 g ずつ採り、1本にはV, Cr, Mn 標準液を5 ng ずつ添加してサブボイリング水で100 g に、もう1本には何も添加せずに100 g にした。測定に用いた装置はJEOL PLASMAX-1である。Fig. 4には添加サンプルのICP-HRMSスペクトルを示した。 $m/z=51$ 近傍には $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ が、 $m/z=52$ 近傍には $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ が、 $m/z=55$ 近傍には $^{40}\text{Ar}^{14}\text{NH}^+$ 、 $^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}^+$ 、 $^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+$ が、それぞれ妨害ピークとして存在する。これら妨害の分離には、分解能4000が必要であった。標準添加により求めたV, Cr, Mnの濃度は、それぞれ、60, 240, 530 pptであった。これら元素の“正常値”は、それぞれ60, 70, 700 ppt付近と考えられており、Crがやや高いほかはよく一致している。Crは採血道具からの汚染の可能性が捨てきれない。

血清中のAl濃度については、アルツハイマー、透析脳症等との関連から極めて多くの分析例があるが、“正常値”がどれくらいなのかよく分かっていない。おそらく10 ppb以下であると考えられるが、血清中Alの“正常値”を決めることは極めて重要である。ICP-MSの感度からすれば、血清中で数ppbのものならば、希釈の必要はあるにせよ定量できるはずであるが、ここで

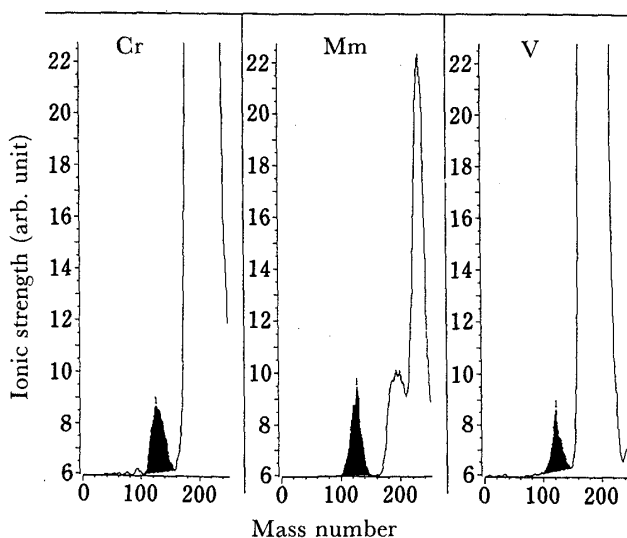


Fig. 4 High resolution (resolution: 4000) ICP-MS spectrum of spiked serum

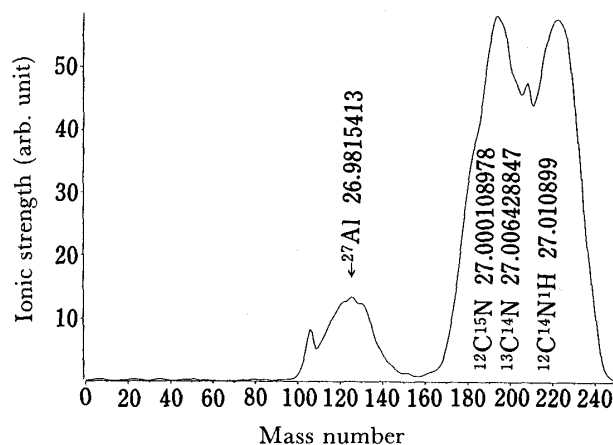


Fig. 5 High resolution (resolution 1500) ICP-MS spectrum of unspiked serum standard reference material (NIST SRM 1598)

もCやNに由来する妨害があり、分析を困難なものにしている。ICP-HRMSを用いた“正常値”レベルの血清中Alの定量分析の正確さについて検討した¹⁵⁾。試料はNISTの標準試料Bovine Serum (NIST SRM 1598)で、サブボイリング水で20倍希釈（血清0.8 gを16 gに）し、標準添加法で測定した。Fig. 5は分解能1500でとった血清（Al未添加）のスペクトルである。Alのピークの近傍にはCN, CNHに由来する巨大なピークがある。四重極ICP-MSではこれらの妨害を込みで測定することになり、false positiveな結果は避けられない。定量分析の結果は、3.5 ppbで、保証値 $(3.7 \pm 0.9$

ppb) とよい一致が得られた。なおこのときの検出下限は 10 ppt であった。

以上のように、ICP-HRMS を用いることで、血清試料中の ppb レベル以下の微量元素の定量が可能であることが分かった。血清試料のように有機物、塩類とも多い試料を、分解することなく直接導入して分析する上で、マトリックス効果やシグナルの安定性など検討することはまだまだ多いが、血清中微量元素の「正常値」を探るというような目的に、現時点で最も適した分析法であると考え、もちろん汚染のない血液のサンプリング法が確立されることが前提である。

4.2 ICP-MS によるヨウ素の分析

血清中の多くの遷移金属が分子干渉のため、あるいは感度不足のために四重極 ICP-MS を用いても分析が困難であるのに対し、質量数の大きい元素は比較的容易に分析可能なケースがある。血清、尿など体液中の I 分析がそのよい例である。I は甲状腺ホルモンの構成成分として、古くから知られている必須微量元素である。日本ではあまり問題にならないが、地球的規模でみると、I 欠乏は内陸部の発展途上国を中心として大きな問題になっている。罹患者数はアジアだけで 4 億人と見積もられている¹⁶⁾。I の栄養状態の指標として、尿中 I 濃度がよく用いられる。I の定量には、これまで Ce (IV)-As (III) 触媒法が主であり¹⁷⁾、感度的にはともかく操作は極めて煩雑なものであった。I 栄養状態の評価は多くの場合、集団レベルで調査され、数百のオーダーの試料を分析しなければならないことが多い。そこで ICP-MS による血清・尿中 I の分析法について、日常分析法の確立を念頭におき、検討を加えた¹⁸⁾。

ICP-MS による I の分析には $m/z=127$ を用いるが、この領域には分子干渉がないと考えられる。問題点としては、尿の分析ではマトリックスである Na, K などのレベルが試料によりまちまちであり、マトリックス効果の補正法が重要になる。もう一つがメモリー効果の管理である。酸性側で分析すると、I の酸化により揮発性の I_2 が生成し、これがスプレーチャンバーなどに付着するためと考えられている。後者の問題点はアルカリ側で分析することで容易に解決できる。すなわち尿や標準液の希釈に、0.1% (v/v) のアンモニア水を用いるだけでメモリー効果は問題とならなかった。ICP-MS による I の検出下限は 25 ppt で、尿、血清分析には十分なものであった。

マトリックス効果の補正には操作の簡便さを考え、まず内標準法を検討した。Allain ら¹⁹⁾ は Eu を、

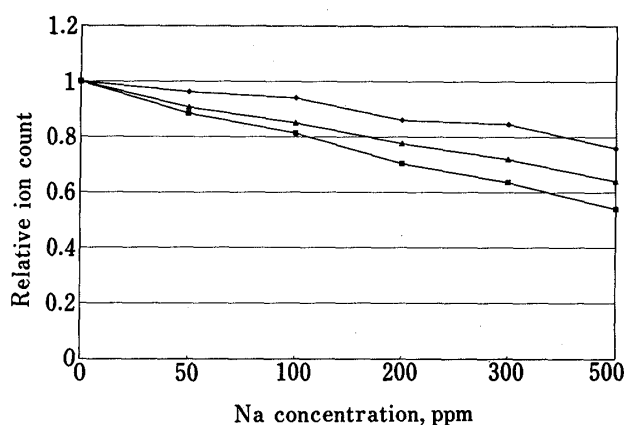


Fig. 6 Relative ion count of Sb, I and Te as a function of Na matrix concentration

◆: Sb; ■: Te; ▲: I

Baumann²⁰⁾ は Te をそれぞれ内標準として、ICP-MS による I の定量を行っている。質量数、イオン化ポテンシャル、ヒト試料にあまり含まれていないこと、などを考慮して、 ^{121}Sb , ^{130}Te を選び、Na マトリックスに対する挙動を I と比較した。その結果、マトリックス効果の程度は 3 元素の間で異なり、どちらも I の内標準として適当でないことが判明した (Fig. 6)¹⁸⁾。又、1・1 項で述べた実験結果から、Eu も適当ではないことが判明している。I の内標準として適当な元素は現在のところ見いだされていない。おそらく ICP-MS の装置により、又同じ機種でも分析条件によりマトリックス効果の程度は異なるものと考えられる。日常分析としてはやや煩雑になるが、標準添加による方法が最良であると判断した。

この方法により研究所の職員 (27~36 歳、男性) 7 人の血清分析をしたところ、平均±標準偏差は 63.2 ± 8.0 ppb であり、正常値 (40~80 ppb) の範囲内であった。又、29 歳男性から連続 4 日間、24 時間尿をサンプリングして求めた I の 1 日排せつ量は、120~845 μg と極めて変動の幅が広いことが判明した。

5 頭髪分析

頭髪の微量元素分析例は数多いが、外部からの汚染除去法が確立されていない、頭髪と他の臓器、特に標的器官におけるレベルの間の関連が確認されていない (これ前者と密接にかかわる場合がある) などの問題から、頭髪分析がなんらかの意味をもつ元素は、Hg, Zn, Se, As など、かなり限られている。但し通常ヒトの頭髪にはごくごく低いレベルでしか存在しないような元素で、

なんらかの暴露があった場合などはこの限りではない。

5・1 頭髪標準試料の同位体希釈分析

国立環境研究所では環境・生物標準試料 (NIES CRM) を作製、配布している。頭髪中の Hg, 特にメチル水銀分析の正確さ評価のために、最近 NIES CRM No. 13 として、頭髪標準試料の作製を行った²¹⁾。国立環境研究所では既に NIES No. 5 として 1985 年に頭髪標準試料を作製した²²⁾が、在庫切れとなった現在も要望が高いことを考慮し、新たに作製したものである。

NIES CRM の保証値は共同分析によって決定されるが、絶対分析法である同位体希釈分析による分析値は、正確さという点で格別の重みが与えられている。国立環境研究所では原子吸光法や ICP-AES に加え、プラズマ MS による同位体希釈分析を行ってきており²³⁾²⁴⁾、NIES No. 13 の分析においても積極的に活用している。

NIES No. 13 は前述のようにメチル水銀をターゲットとして調製されたものではあるが、Hg そのほかの元素の総量についても保証値を定めるべく分析を進めた。Hg の分析には ^{202}Hg をスパイクとして用いた同位体希釈 ICP-MS を行った²⁵⁾。NIES No. 5 及び No. 13 を 20~30 mg 採り、 HNO_3 (1 M) に溶解した既知量の ^{202}Hg スパイクを添加した後、高純度 HNO_3 1 ml を加え、テフロン二重容器ポンプ法²⁶⁾により 140°C, 4 時間分解した。分解液中 Hg の安定化のため、0.2% (w/v) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ を 0.5 ml 加えてから MQ 水で 10 g にした。横河電機 PMS-2000 により $^{200}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ 比を測定し、サンプル中の Hg 濃度を算出した。その結果を Table 3 に示す。NIES No. 5 の分析値は保証値とよくあっている。NIES No. 13 の分析値 (4.31 ± 0.08 ppm) は、加熱酸化、還元酸化原子吸光法、放射化分析法、還元酸化原子蛍光法による共同分析結果とよい一致が見られた。

同標準試料中の Se の分析には、マイクロ波誘導窒素プラズマ質量分析法 (MIP-MS) による同位体希釈分析を行った²⁷⁾。ICP-MS では Ar に由来する分子イオンにより Se の主要な同位体は干渉を受けるので、水素化物発生法などを用いる必要があるが、プラズマガスに N_2 を使用している MIP-MS では、Se の同位体に干渉がなく、通常のネブライザーによる試料導入でも高感度な分析が行える²⁸⁾。

^{78}Se スパイクを種々の生物標準試料に添加し、テフロン二重容器ポンプ法で分解後、日立 P-7000 MIP-MS により $^{80}\text{Se}/^{78}\text{Se}$ 同位体比を測定し、試料中の Se 濃度を算出した結果が Table 4 である。分析値は保証値と極めてよい一致を示し、同時に精度もよく、同位体希釈

Table 3 Total mercury content (ppm dry) of NIES human hair CRMs determined by isotope dilution ICP-MS

	Measured	Certified
NIES No. 5	4.44 ± 0.10 ($n=3$)	4.4 ± 0.4
NIES No. 13	4.31 ± 0.08 ($n=5$)	—†

† Not certified. Certification on going.

Table 4 Selenium concentration in biological reference materials determined by isotope dilution MIP-MS

	Measured†	Certified	Unit
Bovine Serum (NIST 1598)	45.2 ± 1.4	42.4 ± 3.5	ppb
Human Urine (NIST 2670)	0.461 ± 0.002	0.46 ± 0.03	ppm
Bovine Liver (NIST 1577a)	0.709 ± 0.025	0.71 ± 0.07	ppm
Pig Kidney (BCR 186)	10.5 ± 0.06	10.3 ± 0.5	ppm
Human Hair (BCR 397)	2.02 ± 0.02	2.00 ± 0.08	ppm

† Mean $\pm$ SD of 3 analyses.

分析法によって得られる結果の正確さ、精度のよさが再確認された。この方法によって得られた NIES No. 13 中の Se 濃度 (1.83 ppm) は、放射化分析、原子吸光、ICP-MS などで得られた値とよく一致していた。

5・2 1本の頭髪の長さに沿った分析

頭髪の魅力的な点は、その時々暴露/摂取レベルを記録しながら成長し、近い過去の歴史を保存しているところである。頭髪試料の長軸方向の元素分布分析はこの観点から有効である。成長期の頭髪は月に約 1 cm ずつ成長するが、生えている頭髪のうち約 10% は成長を休止しているといわれている²⁹⁾。頭髪の長軸方向の元素分布を、時間軸上に精度よく対応づけるには、成長期の毛髪を選び出し、毛根を含めて分析をする必要がある。

TI 中毒により死亡した患者から採取した頭髪を用いて、生前の TI 暴露評価を行うことを目的とした ICP-MS を行った³⁰⁾。成長期の頭髪サンプルが 2 本しかなく、又できる限り時間分解能のよい分析をするために 1 本の頭髪をミリメートルオーダーに切断する必要があるが、微小試料の前処理と高感度分析がこの分析のポ

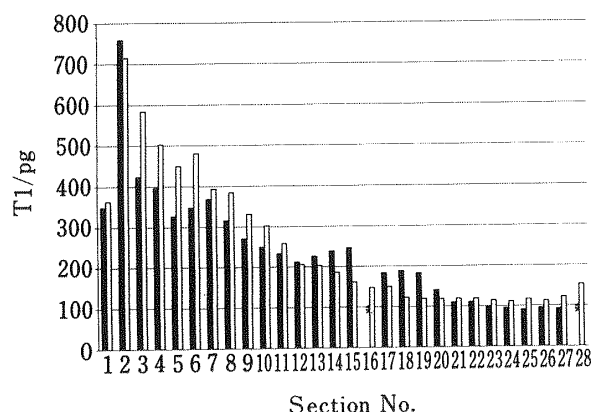


Fig. 7 Tl distribution along single strands of hair
Section 1: follicle; Section 27/28: distal end; NA: not analyzed. ■: sample 1; □: sample 2

イントであった。

1本の頭髮，約8cmを実体顕微鏡下で3mmずつ27セクションに切り分けた。後で各セクションの正確な長さを計測するために，スケールとともに写真に納めた。各セクションは1.5ml容のポリプロピレン製チューブに採り，50 μ lの高純度HNO₃を加えて室温で1晩放置する。放置後は頭髮セクションは溶解していて，目に見える不溶物は存在しなかった。これをサブボイリング水450 μ lで希釈して，フローインジェクション法で50 μ lをICP-MSを導入してTlを定量した。

この頭髮の長軸方向のTl分布をFig. 7に示す。分析は2本の頭髮（毛根の形態からどちらも成長期のものである）についてそれぞれ行った。セクション1が毛根側で，27が先端側である。縦軸は各セクション中のTl絶対量を表す。この結果によると，2本の頭髮とも，セクション2のTl量が最も多い。頭髮が1月に1cm成長するとすれば，3mmのセクションは約10日間に成長したものということになる。従ってこの中毒患者は頭髮採取の10～20日ほど前に大量のTl暴露があったことを本結果は示唆している。この時期はちょうどこの患者の入院時期と一致している。更にこの2本の頭髮は，セクション2をピークとするものの，全セクションにTlが検出されている。mmレベルの頭髮の重量を正確に測定することが困難なため，1本の頭髮全部の重量と各セクションの長さからTl濃度を推定したところ，ピークのセクションで約35ppm，一番低いセクションでも3ppmであった。暴露のない対象者の頭髮中Tl濃度は10ppbという報告がある³¹⁾。この患者においてはTl暴露が少なくとも8か月前から持続的に続いて

いたことを示している。

その後この患者から得られた休止期の頭髮を同様の方法で分析したところ，得られた長軸方向のTl分布パターンはFig. 7と全く同じであった³²⁾。このことはTl暴露により頭髮の成長がなんらかの影響を受けた可能性を示している。

6 結 語

ヒト試料の場合マトリックスに比して相対的に微量元素のレベルが低いことが多く，プラズマMSによる分析に制限がある。血清分析がその最も顕著な例である。現時点で最適の選択は，希釈倍率を上げず，標準添加法を用いてマトリックス効果を補正し，ICP-HRMSで分子干渉を除きながら測定する方法であろう。この条件では多元素同時分析は実用的でなく，元素数を絞ることになる。又適当な方法によりマトリックスから分離してマトリックス効果と分子干渉をとともに除いてプラズマMSで測定することも有効な方法であろう。但し単一の条件で分離可能な元素数が限られること，試薬類/雰囲気からの汚染の機会が増すこと，などが問題点となろう。分析元素によってはICPだけでなく，他のイオン源（例えばN₂-MIP）を使い分ける方法もある。

プラズマMSが質量分析法であることの特徴を生かした同位体の分析は今後ますます発展していくと考えられる。同位体希釈分析をはじめとして，ここでは述べなかったが，天然同位体比分析あるいは安定同位体をスパイクした代謝の研究など応用範囲は広く，既にヒト試料への適用が始まっている。

文 献

- 1) G. V. Iyengar: "Elemental Analysis of Biological Systems", Vol. 1, (1989), (CRC press, Boca Raton).
- 2) W. Mertz: "Trace Elements in Human and Animal Nutrition", 5th ed., (1986), (Academic Press, Orlando).
- 3) J. A. Olivers, R. S. Houk: *Anal. Chem.*, **58**, 20 (1986).
- 4) S. H. Tan, G. Horlick: *J. Anal. At. Spectrom.*, **2**, 745 (1987).
- 5) J. Yoshinaga: *Biomed. Res. Trace Elements*, **3**, 67 (1992).
- 6) H. Vanhoe, J. Goossens, L. Moens, R. Dams: *J. Anal. At. Spectrom.*, **9**, 177 (1994).
- 7) J. Versieck, R. Cornelis: *Clin. Chim. Acta*, **116**, 217 (1980).
- 8) G. V. Iyengar: "Concentration of 15 Trace Elements in Some Selected Adult Human Tissues and Body Fluids of Clinical Interest from Several Countries: Results from a Pilot Study for the Establishment of Reference Values",

- Institute of Medicine, Juelich Nuclear Research Center (1985).
- 9) J. Yoshinaga, M. Nakazawa, T. Suzuki, M. Morita: *Anal. Sci.*, **5**, 355 (1989).
 - 10) J. Yoshinaga, N. Matsuo, H. Imai, M. Nakazawa, T. Suzuki, M. Morita: *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **41**, 27 (1990).
 - 11) J. Yoshinaga, T. Suzuki, M. Morita, M. Hayakawa: *Sci. Total Environ.*, **162**, 239 (1995).
 - 12) J. Yoshinaga, J.-Z. Li, T. Suzuki, K. Karita, M. Abe, H. Fujii, J. Mishina, M. Morita: *Biol. Trace Elem. Res.*, **31**, 159 (1991).
 - 13) 吉永 淳, 森田昌敏: 未発表.
 - 14) 伊藤裕康, 吉永 淳, 植弘崇嗣, 柴田康行, 森田昌敏, 岩永光恭, 大塚紀一郎: 第 54 回分析化学討論会講演要旨集, p. 365 (1993).
 - 15) 吉永 淳, 柴田康行, 植弘崇嗣, 森田昌敏, 金子恒顕, 岩永光恭, 大塚紀一郎: *Biomed. Res. Trace Elements*, **5**, 259 (1994).
 - 16) B. S. Hetzel, G. F. Maberly: "Trace Elements in Human and Animal Nutrition", 5th ed., Edited by W. Mertz, p. 139 (1986), (Academic Press, Orlando).
 - 17) G. B. Belling: "Quantitative Trace Analysis of Biological Materials", Edited by H. A. McKenzie, L. E. Smythe, p. 519 (1988), (Elsevier, Amsterdam).
 - 18) J. Yoshinaga, M. Morita: *Biomed. Res. Trace Elements*, **2**, 143 (1991).
 - 19) P. Allain, Y. Mauras, C. Douge, L. Jaunault, T. Delaporte, C. Beaugrand: *Analyst* (London), **115**, 813 (1990).
 - 20) H. Baumann: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **338**, 809 (1990).
 - 21) 吉永 淳, 森田昌敏, 岡本研作: 第 54 回分析化学討論会講演要旨集, p. 727 (1993).
 - 22) K. Okamoto, M. Morita, H. Quan, T. Uehiro, K. Fuwa: *Clin. Chem.*, **31**, 1592 (1985).
 - 23) K. Okamoto: *Sci. Total Environ.*, **107**, 29 (1991).
 - 24) K. Okamoto: *Spectrochim. Acta*, **46B**, 1615 (1991).
 - 25) 吉永 淳, 森田昌敏, 岡本研作: 未発表.
 - 26) K. Okamoto, K. Fuwa: *Anal. Chem.*, **56**, 1758 (1984).
 - 27) J. Yoshinaga, T. Shirasaki, K. Oishi, M. Morita: *Anal. Chem.*, **67**, 1568 (1995).
 - 28) K. Oishi, T. Okumoto, T. Shirasaki, T. Iino, M. Koga, N. Furuta: *Spectrochim. Acta*, **49B**, 901 (1994).
 - 29) H. C. Hopps: *Sci. Total Environ.*, **7**, 71 (1977).
 - 30) J. Yoshinaga, Y. Shibata, M. Morita: *Clin. Chem.*, **39**, 1650 (1993).
 - 31) J. Schoer: "Handbook of Environmental Chemistry", Vol. 3, Part 3, Edited by O. Hutchinger, p. 143 (1986), (Academic Press, New York).
 - 32) J. Yoshinaga: *Biomed. Res. Trace Elements*, **5**, 47 (1994).



Analysis of trace elements in clinical samples by plasma ion source MS. Jun YOSHINAGA (National Institute for Environmental Studies, Onogawa 16-2, Tsukuba-shi, Ibaraki 305)

Application of plasma ion source mass spectrometry (ICP-MS, ICP-high resolution MS, and N₂-MIP-MS) to trace element analysis of clinical samples was described. Multi-element analysis of human organs by ICP-MS provided fairly abundant information on the levels of various trace elements. However, enormous Ca and P matrices of human bone hampered sensitive determination of trace elements in this matrix. Analysis of metals in human serum by ICP-quadrupole MS was thought to be difficult because of the low levels involved and matrix-related problems, *i.e.*, spectral interference and matrix effect, although this did not hold true for the analysis of I in human body fluids. Use of ICP-high resolution MS was found to be promising for sensitive determination of Al, V, Cr and Mn in human serum at their normal levels. Isotope dilution analysis by plasma ion source mass spectrometry was an accurate and precise analytical method and it has been used for the certification of Hg and Se concentrations in a candidate reference material (human hair). Micro sampling followed by flow injection ICP-MS revealed that the distribution profile of Tl along single strands of hair allows reconstruction of the recent past history of exposure in a poisoned patient.

(Received June 20, 1995)

Keywords

plasma ion source MS; serum; organ; hair; trace element.