

ノ ー ト

誘導結合プラズマ質量分析法による生物試料中総スズの定量

佐伯 和利^{®*}, 中谷 暢丈^{**}, Thi Hai Le Le^{**}, 田辺 信介^{**}

Determination of the total tin in biological materials by ICP-MS

Kazutoshi SAEKI^{*}, Nobutake NAKATANI, Thi Hai Le Le and Shinsuke TANABE^{**}^{*} Faculty of Education, Oita University, 700, Dannoharu, Oita 870-1192^{**} Department of Environment Conservation, Ehime University, 3-5-7, Tarumi, Matsuyama-shi, Ehime 790-0905

(Received 28 July 1997, Accepted 13 November 1997)

The determination of the total tin in biological materials was studied using a calibration method involving ICP-MS. Prior to an ICP-MS determination, samples were subjected to microwave-digestion with HNO₃. The detected intensities for all tin isotopes increased along with an increase in the HCl concentration, while the intensities did not vary with the HNO₃ concentration. The addition of HNO₃ acted to control the interference by 0.02 M of HCl. The total tin concentrations in biological reference materials (NIES No.11, No.6, and No. 5) were examined by the present method, and agreed well with the reported reference values. In the case of preparing 100 mg of dry samples, and obtaining a final extract volume of 10 ml, the detection limit was 10 ng Sn/g-d.w. in the present study. Considering all of these results, it can be concluded that the present method is applicable with high accuracy and sensitivity for determining the total tin in biological samples.

Keywords : tin; ICP-MS; total tin; biological materials.

1 緒 言

現在, 世界各地で有機スズ化合物による海洋汚染が進行し, 海洋生態系の低次生物から高次生物までその残留が認められている^{1)~3)}. しかし, 海洋生物に対する有機スズ汚染を包括的に理解するためには, 無機スズを含めた生物中総スズ濃度を把握することが必要不可欠である. 現在, 生物試料中スズの定量には, 中性子放射化分析法⁴⁾⁵⁾, 水素化物生成/原子吸光法⁶⁾, 黒鉛炉原子吸光法⁷⁾が用いられているが, 検出感度や便宜性などの点から問題点が多い. 又, Okamoto は, 同位体希釈/誘導結

合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) で生体試料中の総スズの定量を試みている⁸⁾. しかし, 同位体希釈法では確かに精度よく定量できるが, 多数の試料を効率よく定量することには難点がある.

そこで本研究では, ICP-MS を用いて生物試料中スズの定量を行う際の基礎的な課題を検討し, 生物試料を硝酸-マイクロ波加熱分解で前処理した後, 検量線/ICP-MS 法で定量するより簡便で実用的な方法の確立を検討した.

2 実 験

2・1 試薬と標準試料

スズ標準溶液: 和光純薬製原子吸光光度用スズ標準溶液 (1000 mg/l) を 0.5 M 硝酸で希釈して使用した.

^{*} 大分大学教育学部: 870-1192 大分県大分市旦野原 700

^{**} 愛媛大学農学部: 790-0905 愛媛県松山市樽味 3-5-7

モリブデン及びカドミウム溶液: 和光純薬製原子吸光度用標準溶液 (1000 mg/l) を 0.5 M 硝酸で希釈して使用した。

硝酸: 和光純薬製精密分析用を使用した。

塩酸: Aldrich 製高純度塩酸を使用した。

超純水は、蒸留水を一次水として、日本ミリポア製超純水製造装置 Milli-Q SP TOC で製造したもの (比電気抵抗: 18 M Ω 以上) を用いた。

生物標準試料: 国立環境研究所 (NIES) 製 No. 5 Human Hair, No. 6 Mussel, No. 11 Fish Tissue を使用した。

2・2 装置と測定条件

誘導結合プラズマ質量分析装置は、Perkin-Elmer 製 ELAN 5000 (SCIEX) を使用した。測定条件を Table 1 に示す。試料溶液のプラズマへの導入はペリスタポンプを用い、ネブライザーはクロスフロー型を使用した。

^{116}Sn (存在比: 14.53%), ^{117}Sn (7.68%), ^{118}Sn (24.23%), ^{119}Sn (8.59%), ^{120}Sn (32.59%), ^{122}Sn (4.63%), ^{124}Sn (5.79%) の七つの安定同位体について測定を行った。又、測定されたイオン強度は、他の共存イオンによる同重体効果を避けるために、 ^{116}Sn は ^{111}Cd の、 ^{120}Sn , ^{122}Sn , ^{124}Sn は ^{125}Te 及び ^{129}Xe の測定イオン強度から装置内のプログラムで補正した。

2・3 生物試料の分解法

試料の分解は、北川らが用いた硝酸-マイクロ波加熱湿式分解法⁹⁾を改変した。分解操作では、三愛科学製テ

フロン二重密閉容器を使用した。テフロン (PFA) タフテナーバイアル (7 ml) に、乾燥試料約 100 mg をひょう取し、硝酸 1 ml を加えて密栓した。このバイアルを 1 M NaOH 2 ml が入ったテフロン (PTFE) 容器 (23 ml) に入れ、これを更にポリプロピレン製外筒に入れて密栓した。この分解容器を電子レンジ (東芝 ER-V11) に入れ、200 W で 6 分間加熱した。放冷後、硝酸 0.5 ml と水 1 ml を加え、再び 40 秒間加熱した。放冷後、超純水で希釈し、分析に供試した。

3 結果と考察

3・1 酸濃度と共存元素の影響

本研究では、生物試料を硝酸で分解し、溶液を ICP-MS に導入することを前提としている。又、この研究で使用したスズ標準原液は、塩酸で調整されている (SnCl_2 in 6 M HCl)。こうした酸は試料溶液のマトリックスとなり、ICP-MS による測定時に増感又は減感することが報告されている¹⁰⁾。

塩酸のみを添加した場合、その濃度上昇に伴い各同位体のイオン強度は増大した [Fig. 1(a)]。この現象は、スズのすべての同位体について見られたことから、単なる分子イオンによるスペクトル干渉とは考えられない。しかし、硝酸の場合、酸濃度の上昇に伴うスズイオン強度の変動は見られず、その値はほぼ一定であった [Fig. 1(c)]。硝酸溶液中で生じる不溶性のメタスズ酸の析出は、この濃度範囲では起きていないと考えられた。

次に、硝酸濃度を一定にし (0.5 M)、塩酸濃度を変化させた場合のイオン強度の変動を検討した [Fig. 1(b)]。その結果、塩酸濃度が約 0.02 M 以上の場合、イオン強度は減少したが、それ以下では一定であった。このことは、硝酸を添加することにより、塩酸によるイオン強度の変化が抑制できることを示している。よって、スズ標準原液に含まれる塩酸の影響は、調整時に硝酸で希釈すれば解消できると判断された。又、多量の酸によるイオン強度の減少は、溶液の粘性等が関与したマトリックス効果¹¹⁾と考えられる。

ICP-MS によるスズ測定時に、Cd, MoO, ZrO, In, Th^{2+} , U^{2+} , Te, Xe 等に由来する様々な原子イオンや分子イオンが干渉する可能性がある。中でも生物試料中に比較的多く含まれるカドミウムとモリブデンについて、干渉の有無を検討した (スズ標準溶液を 20 ng/ml に調製する際、カドミウム又はモリブデン濃度がそれぞれ 5000, 100 ng/ml の溶液となるよう添加し、スズの同位体を測定した)。その結果、カドミウムに干渉される ^{116}Sn 以外の同位体は影響を受けなかった。そ

Table 1 Operating and measurement conditions of ICP-MS

Mass spectrometer	Perkin-Elmer ELAN5000
RF power	1000 W
Nebulizer gas flow	0.9 l/min
Plasma gas flow	15 l/min
Coolant gas flow	0.8 l/min
ICP-MS interface	
Sampling cone	nickel, 0.045 inch
Skimmer cone	nickel, 0.035 inch
Cone-load coil distance	9.1 mm
Data acquisition parameters	
Scan mode	Peak hop
Dwell time	500 ms
Number of replicates	3 times
Points/spectral peak	3 points
Total integration time	1500 ms
Measured tin isotopes	^{116}Sn , ^{117}Sn , ^{118}Sn , ^{119}Sn , ^{120}Sn , ^{122}Sn , ^{124}Sn

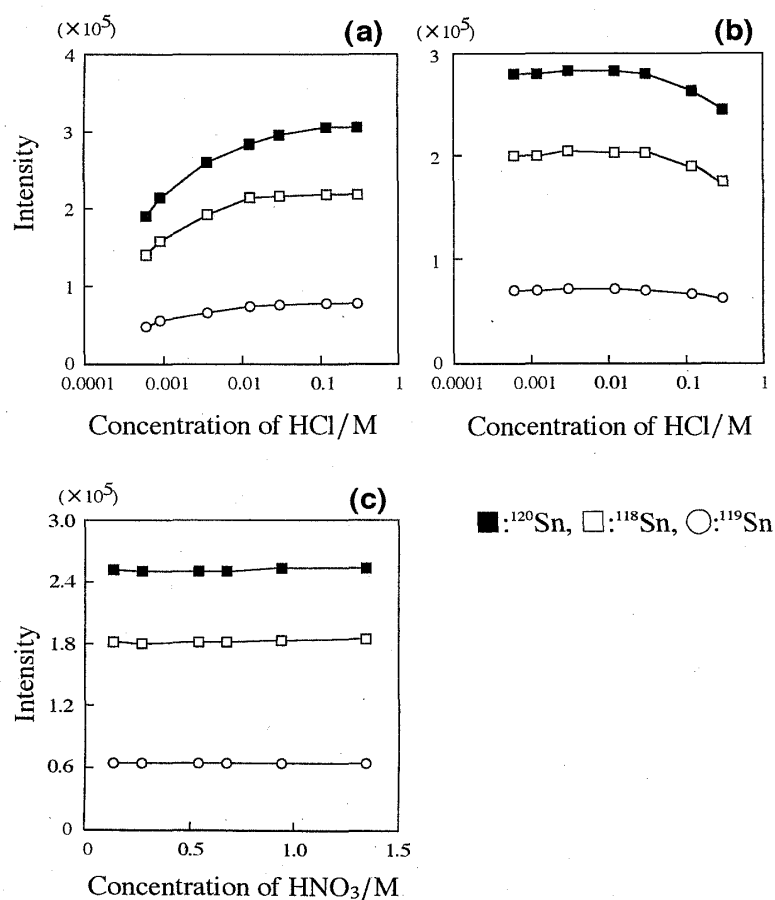


Fig. 1 Effects of hydrochloric acid (a) and nitric acid (c) on the ion intensity of tin (concentration: 100 ng/ml), and no effect of hydrochloric acid in 0.5 M nitric acid solutionb

ここで, ^{116}Sn を測定同位体から除外すれば, 支障なく測定できることが分かった。

3・2 検量線と添加回収試験

スズ標準原液 (1000 mg/l) を硝酸 (3% v/v, 0.4 M 相当) で希釈し, 0, 4, 10, 20 ng/ml の標準溶液を作製した (空試験溶液でゼロ点補正)。いずれの同位体の検量線も, 相関係数 $r=0.999$ 以上の良好な直線性を示した。検出限界値は, 最も感度がよかった ^{120}Sn の空試験イオン強度 (1000 count/s) の標準偏差 ($\sigma=40$) の3倍に相当するスズ量とし, その溶液濃度は 0.1 ng/ml であった。乾燥した生物試料 100 mg をマイクロ波分解後, 10 ml に定容して ICP-MS で測定した場合, その検出限界値は 10 ng/g-d.w. であった。

回収試験には, 沿岸性クジラ類スナメリ (*Neophocaena phocaenoides*) の肝臓を乾燥したものを供した。試料約 100 mg を正確にひょう取し, これにスズ標準溶液

(1000 ng/ml) を 1 ml 添加し, マイクロ波加熱を行った。同様に乾燥試料のみ, 標準溶液のみについてもマイクロ波分解した。これらの試料溶液を 10 ml に定容し, ICP-MS で測定した。結果を Table 2 に示す。標準溶液の添加回収率は, どの同位体を見ても 96.4~97.5% と良好であった。よって, ここで検討した条件及びこの種の試料では, スズ測定に対するマトリックスの影響は少ないと判断された。このスナメリ肝臓試料中の総スズ濃度は, 11.4 $\mu\text{g/g-d.w.}$ であった。

3・3 標準試料の測定結果と認証値との比較

環境標準試料の認証値あるいは文献値と本研究の検量線法で得られた値を Table 3 に示す。認証値が得られている NIES No. 11 Fish Tissue で本分析法によって得られたスズ濃度は良好な一致を示した。その他の環境標準試料の文献値と比較すると, Okamoto が同位体希釈/ICP-MS 法で得た値⁸⁾ とほぼ同じであったが, 中性

Table 2 Concentration and recovery of tin by microwave digestion for biological materials added with a standard solution (ng/ml, mean $\pm$ SD)

	^{117}Sn	^{118}Sn	^{119}Sn	^{120}Sn
Standard solution ^{a)}	19.9 $\pm$ 0.42	19.6 $\pm$ 0.54	19.6 $\pm$ 0.50	19.7 $\pm$ 0.40
Biological material ^{b)}	23.0 $\pm$ 0.26	22.7 $\pm$ 0.21	22.9 $\pm$ 0.19	22.8 $\pm$ 0.28
Standard solution and biological material	42.2 $\pm$ 0.24	41.8 $\pm$ 0.31	42.0 $\pm$ 0.46	41.8 $\pm$ 0.53
Recovery, %	96.5	97.4	97.5	96.4

a) Tin concentration: 20 ng/ml in 0.5 M HNO₃. b) Digested solution of finless porpoise liver

Table 3 Determination of tin in biological reference materials by the present method using ICP-MS

Materials	n	Analysed value/ $\mu\text{g g}^{-1}$	Reported value/ $\mu\text{g g}^{-1}$	Reference
NIES No. 11 Fish Tissue	5	2.54 $\pm$ 0.10	2.4 $\pm$ 0.1 ^{a)}	NIES
NIES No. 6 Mussel	6	1.07 $\pm$ 0.06	1.06 $\pm$ 0.10 1.28 $\pm$ 0.46 1.73 $\pm$ 0.35	8) ^{b)} 5) ^{c)} 12) ^{d)}
NIES No. 5 Human Hair	3	1.33 $\pm$ 0.10	1.40 $\pm$ 0.06 1.62 $\pm$ 0.37 1.57 $\pm$ 0.06	8) ^{b)} 5) ^{c)} 12) ^{d)}

a) Certified value, b) Isotope dilution/ICP-MS, c) Neutron activation analysis, d) Anion-exchange/spectrophotometry

Table 4 Total tin concentrations in the liver of cetaceans

Species	Location	Body length/ cm	Total tin/ $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight
Long-snouted spinner dolphin (<i>Stenella longirostris</i>)	Sulu Sea (Philippin)	180 181 192	0.21 0.54 0.50
Fraser's dolphin (<i>Lagenodelphis hosei</i>)	Sulu Sea (Philippin)	220 225 227	0.72 0.21 0.49
Finless porpoise (<i>Neophocaena phocaenoides</i>)	Ise bay Kyushu Seto Inland Sea (Japan)	139 116 162	8.9 5.2 46.7

子放射化法⁴⁾⁵⁾及び陰イオン交換/吸光光度法による値¹²⁾よりも低い値であった。これら方法のうち、スズの認証値がある標準試料で精度を確かめているのは、同位体希釈/ICP-MS法だけである。

以上の結果から、本研究で検討した検量線/ICP-MS法は、同位体希釈/ICP-MS法に比べ、より簡便に、十分な精度で生体試料中総スズを定量できると結論された。又、この方法で多数の試料を分析する必要がある環境分析作業に十分対応できることが分かった。

3・4 応用例

本定量法の応用例として、日本近海で捕獲された沿岸性のクジラ類スナメリ(*Neophocaena phocaenoides*)とフィリピンのスル海で捕獲された外洋性のクジラ類ハシナガイルカ(*Stenella longirostris*)、及びサラワクイルカ(*Lagenodelphis hosei*)の肝臓中スズを測定した(Table 4)。スズ濃度はクジラ種又は捕獲海域によってかなり変動することが分かった。又、低濃度が予想された外洋性のイルカ類でも

数百 ng/g-d.w.であることを考えると、本定量法は海生ほ乳動物中のスズ研究に十分適用できると推察された。

本研究は、文部省科学研究費の補助(課題番号: 09780480)及び日本生命財団の研究助成によって行われた。(1997年5月, 第44回日本分析化学討論会において一部発表)

文 献

- 1) H. Iwata, S. Tanabe, T. Mizuno, R. Tatsukawa: *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2959 (1995).
- 2) G. B. Kim, S. Tanabe, R. Iwakiri, R. Tatsukawa, M. Amano, N. Miyazaki, H. Tanaka: *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 2620 (1996).
- 3) T. Horiguchi, H. Shiraishi, M. Shimizu, M. Morita: *J. Mar. Biol. Ass. UK*, **74**, 651 (1994).
- 4) 鈴木章悟, 平井昭司: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **33**, 596 (1984).
- 5) 鈴木章悟, 平井昭司: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **37**, T83 (1988).
- 6) V. F. Hodge, S. L. Seidel, E. D. Goldberg: *Anal. Chem.*, **51**, 1256 (1979).
- 7) M. Chiba: *J. Anal. Toxicol.*, **11**, 125 (1987).
- 8) K. Okamoto: *Spectrochim. Acta*, **46B**, 1615 (1991).

- 9) 北川晋士, 田中秀治, 岡本研作, 江藤 徹, 松原
道夫: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **45**, 511 (1996).
- 10) 高橋純一: ぶんせき (*Bunseki*), **1990**, 136.
- 11) 中村 靖, 福田隆之: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*),
39, T17 (1990).
- 12) 黒田六朗, 林部 豊, 小熊幸一: 分析化学
(*Bunseki Kagaku*), **36**, 652 (1987).