

報 文

ポリアミノカルボン酸型キレート樹脂固相抽出剤を
前処理に用いる誘導結合プラズマ質量分析法による
生体試料中の鉛同位体比分析田宮さやか^①, 吉永 淳¹

誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 計を用いて血液、歯など鉛暴露の指標であるヒト生体試料中の鉛の同位体比分析を行うために、ポリアミノカルボン酸型キレート樹脂による前処理法を検討した。血液標準物質 (RM)、骨認証標準物質 (CRM) を用いた検討において、鉛の空試験レベルは 0.5 ± 0.1 ng (試料中鉛量の 3% 未満)、pH 5~6 における回収率は骨 CRM で $94 \pm 6\%$ 、血液 RM で $89 \pm 4\%$ 、骨 CRM のカルシウムマトリックス除去率は $>99.9\%$ であり、ICP-MS による鉛同位体比分析の前処理として適切なものであると考えられた。また、基材樹脂にジビニルベンゼン/メタクリレート共重合体を用いたキレート樹脂のほうがメタクリレートを基材としたものよりも、有機物に富む血液からの鉛の分離で良好な結果が得られることが確認された。骨 CRM の鉛同位体比は $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 0.8201 \pm 0.0035$ 、 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 2.041 \pm 0.006$ ($n=6$) であり、文献値とよく一致した。本法の実試料への適用として、現代日本人小児 3 名の血液及び成人 4 名の骨中の鉛同位体比分析を行った結果、小児血中鉛同位体と成人骨中鉛同位体は明らかに異なる分布を示した。

1 はじめに

近年、低レベルの鉛暴露が小児の認知機能の発達に与える影響が世界的に問題視されており、小児の鉛暴露レベルの把握と暴露源の解析のために、生体試料中の鉛分析が行われている。血中鉛は鉛暴露アセスメント、過剰摂取のスクリーニング・診断などの用途に用いられている最も一般的な生体試料であり¹⁾、その生物学的半減期はおよそ 28~36 日であるため²⁾、最近の暴露を反映するものとして用いられている。一方、骨や歯などのハイドロキシアパタイトを主成分とする生体試料中の鉛の半減期は数年~数十年と長いために、長期にわたる鉛暴露評価のための媒体として有用である。特に乳歯は小児から非侵襲的に入手できるハイドロキシアパタイト試料であり、その採取・保存が比較的容易である上、形成時期ごとに判別可能な組織で構成されているために、各組織ごとの分析を行うことで出生前から乳歯の抜けるまでの数年間にわたる小児期の暴露指標とすることができる¹⁾。

生体試料中の鉛同位体比測定から、汚染の起源に関する研究が行われてきた^{3)~6)}。初期の研究で鉛同位体比の測定に用いられてきた表面電離型質量分析計 (TIMS) は、精度が極めて高いものの、試料から鉛だけを分離精製する必

要があるために煩雑な操作が必要であり、分析にも多くの時間を要する。近年では精度の点では TIMS に劣るものの、分析が簡便である誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法が多用されるようになってきた。

一般に ICP-MS を用いた鉛同位体比分析において、大気粉塵や土壌などの鉛濃度がマトリックス濃度に対してある程度高い試料の場合では、マトリックス元素の同位体比測定に与える影響はないと考えられるが⁷⁾、生体試料中の鉛の同位体比を測定する場合、鉛濃度は低い反面、アルカリやアルカリ土類元素などのマトリックス濃度が高いために、マトリックスからの影響を考慮しなければならない場合がある。例えば、血液 (全血) では平均的な鉛濃度が $30 \mu\text{g/L}$ であるのに対し、ナトリウム、カリウム濃度はそれぞれ 2000 mg/L 、鉄は 400 mg/L であり⁸⁾、歯では鉛濃度数 mg/kg に対しカルシウム濃度は 30% である⁹⁾。それぞれの試料を分解後、ICP-MS で同位体比測定を行う検液中濃度として一般的な $10 \sim 100 \mu\text{g/L}$ に鉛濃度を調製する場合、血液試料のナトリウム、カリウム濃度はそれぞれ約 200 mg/L 、鉄濃度は約 80 mg/L 、歯試料のカルシウム濃度は 3000 mg/L となる。このような多量の共存成分の導入は、インターフェースへの塩類の集積によるイオン透過率の低下など、測定自体に影響が生じる恐れがある。したがって、ICP-MS を用いる場合であっても、生体試料の場合は鉛を共存主成分元素から分離する必要がある。ただ

¹ 東京大学新領域創成科学研究科: 277-8563 千葉県柏市柏の葉 5-1-5

Table 1 Operating parameters for ICP-MS instruments

ICP-MS agilent 7500ce		
Plasma conditions		
Plasma power	1.6 kW	
Plasma gas flow rate	15.0 L/min	
Carrier gas flow rate	1.2 L/min	
Data acquisition		
Acquisition mode	Isotope analysis	Spectrum
Monitored m/z	204, 206, 207, 208	(206, 207) 208
Integration time	3 s/mass (1 s/point)	0.3 s/mass (0.1 s/point)
Dwell time	3 ms/mass (1 ms/point)	
Number of scans	1000	100
Number of measurements	5 times/sample	3 times/sample

し、TIMS で必要とされるほど完全に鉛のみを分離する必要はない。

キレート樹脂固相抽出法は比較的操作の単純な分離方法であり、様々な試料への適用例も多い。しかしながら、一般的なキレート樹脂であるイミノ二酢酸型キレート樹脂は、アルカリ金属元素の保持性はないがアルカリ土類金属の保持性があるため、菌のように試料中にアルカリ土類元素が多量に含まれると、これらは溶離液中にも高濃度で含まれることになる。そのため、通常は多量の酢酸アンモニウムを通液して樹脂を洗浄し目的元素とマトリックス元素の分離を行う方法が一般的に用いられている¹⁰⁾が、この結果、分離にかかる時間が増し、多量の酢酸アンモニウムによる汚染の可能性もある。

本論文では、アルカリ土類元素に対する吸着性の低いポリアミノカルボン酸型キレート樹脂を充填した市販のキレートディスクカートリッジを前処理に用いて生体試料中の鉛を分離し、ICP-MSによる鉛同位体比分析を行い、その適用性を検討した結果について報告する。

2 実験

2.1 ICP-MSによる同位体比測定精度の検討

今回鉛同位体比分析に用いたICP質量分析装置 (Agilent 7500ce, Yokogawa Analytical Systems 製) の鉛同位体比測定精度について調べた。高純度硝酸 (TAMAPURE-AA100, 多摩化学工業製) に溶解した鉛同位体比の標準物質 (NIST SRM 981) を純水を用いて希釈し、1~20 $\mu\text{g/L}$ の濃度の標準液を調製した (硝酸濃度 0.15 mol/L)。この標準液を用いて、Table 1 の条件で鉛同位体比の測定を行った。鉛同位体比は $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 及び $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ を測定対象とし、繰り返し3回で測定を行い、その相対標準偏差 (RSD, %) と標準液の鉛濃度との関係を求めた。用いた純水は Mili-Q Academic システム (日本ミリポア製) により精製したものであり、以下本実験ではすべてこの純水 (MQ 水) を使用した。

2.2 試料の前処理

2.2.1 分解液の作製 骨認証標準物質 (CRM, NIST SRM 1486 Bone Meal) は 50 mg を二重ポンプ法¹¹⁾により硝酸のみを用いて分解後、MQ 水を加え 50 g にした。血液標準物質 (RM, seronormTM trace element whole blood Level-1, SERO As 製) は 1 mL を二重ポンプ法により分解した後、MQ 水を加え 10 g にした。

2.2.2 固相抽出操作 鉛の固相抽出用に用いたキレートディスクカートリッジは日立ハイテクノロジー製 NOBIAS CHELATE-PA1 及び PB-1 である。PA-1 は基材樹脂に親水性メタクリレート、官能基はポリアミノカルボン酸型キレート官能基とイミノ二酢酸型キレート官能基を持つ混合型官能基構造となっており、樹脂充填量は 240 mg、交換容量は 0.25 mmol/g である¹²⁾。PB-1 は PA-1 と同じ構造の官能基を持つが、基材樹脂はジビニルベンゼン/メタクリレート共重合体であり、有機物を含む試料用に開発された。樹脂充填量は 240 mg、交換容量は 0.2 mmol/g である¹³⁾。そこで検討試料のうち、比較的有機物含量が高いことが予想される血液 RM については、PA-1 と PB-1 両方を用いて固相抽出を行い、鉛の回収率が高い方を選択するものとした。

キレートディスクカートリッジは使用前にアセトニトリル (高速液体クロマトグラフ用、関東化学製) 5 mL で膨潤後、MQ 水 10 mL で洗浄し、続いて硝酸 (電子工業用、関東化学製) から調製した 3 mol/L 硝酸 10 mL で洗浄後に MQ 水 10 mL で2回洗浄を行い、最後に酢酸アンモニウム (GR for analysis, Merck 製) から調製した 0.1 M 酢酸アンモニウム水溶液 5 mL を用いてコンディショニングを行った。なお、酢酸アンモニウム水溶液は所定濃度に調製し、硝酸で pH を 5.5 に調整した後、キレートディスク (EmporeTM Chelating Disk, 3M 製) を2昼夜浸漬して精製したものをを用いた。

骨 CRM 分解液及び血液 RM 分解液は酢酸アンモニウム水溶液及びアンモニア水を加えて pH 5~6 に調整した。酢酸アンモニウム水溶液は、骨 CRM には 0.1 mol/L を、

血液 RM には 1 mol/L を使用した。アンモニア水は高純度試薬 (Ultrapure, 関東化学製) を用いた。なお、分解液の pH 調整に用いる酢酸アンモニウム水溶液及びアンモニア水の必要量はあらかじめ同濃度の硝酸溶液に対して滴定実験を行って求めておき、本実験では所定量の酢酸アンモニウム水溶液及びアンモニア水を添加するのみとしたが、これは pH 計の使用によって電極からの鉛の汚染が起ることを避けるためである。試料溶液の pH は、キレートディスクカートリッジを通過した後の試料溶液を用いて確認を行った。

pH 調整を行った試料溶液はポリプロピレン製シリンジ (50 mL) を用いてキレートディスクカートリッジに流量 10 mL/min 以下で注入した。MQ 水 20 mL でキレートディスクを洗浄後、3 mol/L 硝酸 3 mL を通液し、捕集された鉛を溶離させ、溶離液は MQ を用いて 6 mL にした後、ICP-MS 測定用試料とした。

2.3 骨 CRM 及び血液 RM を用いた検討

2.3.1 カルシウムマトリックスからの鉛分離及び試料 pH の影響 検討試料として骨 CRM を、キレート樹脂固相抽出カラムは PA-1 を用いた。カラムに通液する試料溶液の pH は、目的元素の捕捉率に影響を与える。骨 CRM 分解液に鉛標準液を添加した上で、pH 1 から 8 までの溶液を調製し、固相抽出を行い、各試料溶液の鉛及びカルシウムの回収率を求め、至適 pH を検討した。

骨 CRM は 2.2.1 に従って分解液を作製し、そのうち 20 g を取り、これに多元素混合標準溶液 (XSTC-331 Custom Assurance Standard, SPEX CERTIPREP Inc., USA) を鉛の添加量として 25 ng になるよう加えて試料溶液とした。試料溶液は 2.2.2 に従って pH を調整した後で固相抽出を行い、溶離液は MQ を用いて 10 g にし、ICP-MS 測定用試料を作製した。本試料を用いて Table 1 の分析条件で鉛の定量を行った。ICP-MS 測定用試料の一部を更に 10 倍希釈し、ICP 発光分析装置 (P-4010, 日立製) によりカルシウムの定量を行った。鉛の認証値と添加量及びカルシウムの認証値の比較から鉛の回収率とカルシウムマトリックス除去率を求めた。

2.3.2 血液マトリックスからの鉛分離 検討試料は血液 RM を、キレート樹脂固相抽出カラムは PA-1 及び PB-1 を用いた。血液 RM は 2.2.1 に従って分解液を作製し、そのうち 8 g を取り、2.2.2 と同様に pH を調整した後で固相抽出を行い、溶離液は MQ を用いて 6 g にした。溶離液の一部を更に 2 倍希釈し、ビスマス内標を添加した後 ICP-MS により鉛の定量を行い、PA-1 と PB-1 の鉛回収率の比較を行った。

2.3.3 鉛同位体比測定 骨 CRM は 2.3.1 で作製した ICP-MS 測定用試料を用いて鉛同位体比の測定を行い、

文献値との比較から測定真度及び精度を評価した。

血液 RM は 2.3.2 で作製した溶離液を ICP-MS 測定用試料とし、鉛同位体比の測定に用いるものとした。その際、測定用試料中に濃度として約 60 mg/L 存在する鉄による同位体比測定への影響を調べるため、血液 RM からの鉛分離液と標準試料 (NIST SRM 981) の測定精度を比較し、評価を行った。鉛標準液 (NIST SRM 981 希釈液, 鉛濃度: 2.5 µg/L) と血液 RM からの鉛分離液 (鉛濃度: ~3.5 µg/L) の同位体比測定は繰り返し 4~5 回行い、標準液と鉛分離液の RSD (within-run precision, %) を比較するものとした。

2.4 実試料への応用

適用性の検討を行った分離方法を、実際のヒト骨及び血液に適用した。骨は、2004 年に死亡した 50~80 歳の日本人男女 4 名の遺骨 (火葬骨) を遺族より提供してもらった。四肢骨緻密質部分をめのう乳鉢と乳棒で粉碎後、2.2.2 に従って分解液を作製し、2.2.3 と同様に鉛の分離を行い ICP-MS 測定用試料を作製した。血液は、2005 年 10 月から 2006 年 3 月までに静岡県内の小児病院外来を受診した小児のうち、医師による説明の後保護者からインフォームドコンセントが得られた 137 名から採取した血液の中から無作為に抽出した 3 名分の血液試料について鉛の分離を行った。血液は 2.3.2 と同様に ICP-MS 測定用試料を作製した。なお、小児らの年齢は 2005 年 11 月の採血時で 2~4 歳であった。

3 結果と考察

3.1 鉛同位体比測定精度

測定に用いた ICP-MS において、前処理条件の最適化の上で重要なパラメーターと考えられる鉛濃度と同位体比測定精度との関係を調べた。Fig. 1 は鉛同位体比 $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ について、各標準液の測定 1 回につき 5 回行われる繰り返し測定 (Table 1) の RSD を 3 回分プロットしたものである。

本測定における同位体比測定の RSD は鉛濃度が高くなるにつれて小さくなる傾向を示し、鉛濃度が 5 µg/L 以上になると $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 及び $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ の同位体比測定精度はほぼ一定の値 (0.1~0.3%) となった。一般的に ICP-QMS の同位体比測定精度は 0.3~0.5% とされており¹⁴⁾、本論文で用いたものと類似の装置を用いた文献¹⁵⁾¹⁶⁾では、これと同程度の同位体比測定精度が報告されている。ICP-MS による鉛同位体比測定では、測定試料中の鉛濃度として >20 µg/L 程度が用いられてきた¹⁴⁾¹⁷⁾が、今回使用した ICP-MS では感度が高いために、5 µg/L で十分な同位体比測定精度を得られたと考えられる。したがって、今後の測定における試料液中の鉛濃度として 5 µg/L を得ることを

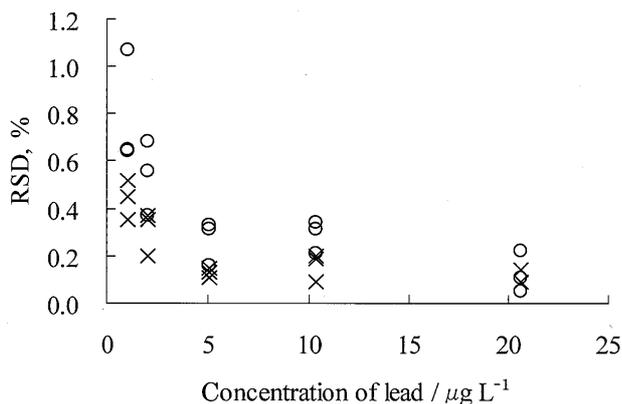


Fig. 1 Dependence of precision of isotope ratio measurement by ICP-MS on lead concentration ($\mu\text{g/L}$)

Each dot in this figure is the relative standard deviation (RSD, %) of 5 replicate measurements. \circ : $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$; \times : $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$

1つの目安とし、試料分解量、定容後の重量、分解液の負荷量などを設定した。

3.2 骨 CRM 及び血液 RM を用いた検討

3.2.1 空試験値 検量線作成用標準溶液の繰り返し測定を 10 回行い、標準偏差の 3 倍 (3σ) に等しいカウントを与える鉛濃度を検出下限 (IDL) として求めた結果、 $0.001 \mu\text{g/L}$ となった。

分解から分離までの全過程の操作空試験中の鉛量は $0.5 \pm 0.1 \text{ ng}$ ($n=6$) であった。この空試験鉛量は血液 RM 中の鉛量の 3% 未満であり、血中鉛同位体比の測定値に偏りを生じる量ではないと考えられた。

なお、空試験中の鉛の主要な汚染源を調べるため操作空試験の鉛を操作段階ごとに分けて定量した結果、分解空試験、固相カラムからの空試験 (コンディショニング済みの固相カラムに 3 mol/L 硝酸 3 mL を通液して得た)、試料溶液の pH 調整に用いた酢酸アンモニウム水溶液はそれぞれ $0.3 \pm 0.3 \text{ ng}$, $<0.02 \text{ ng}$, $<0.02 \text{ ng}$ であり、分解の過程の汚染が主であると考えられた。

3.2.2 試料 pH と鉛/カルシウム捕捉特性の変化 骨 CRM からの鉛回収率及びカルシウム除去率の pH 依存性を調べた結果を Fig. 2 に示す。試料 pH が pH 2 より高くなると鉛の回収率は増加し、pH 4~6.6 でおよそ 90% 以上となった。また、pH 6.6 を超えると鉛の回収率はばらつく傾向が見られたが、この pH 領域では試料液中のカルシウムが水酸化物の沈殿を生じており、試料溶液中の鉛が共沈して損失が生じたか、キレート樹脂への鉛の吸着が物理的に制限されたことが原因であると考えられた。

一方、カルシウムの回収率は $<\text{pH} 6.6$ では 0.1% 以下であったが、pH 6.6 を超えると増加した。pH 5~6 付近で

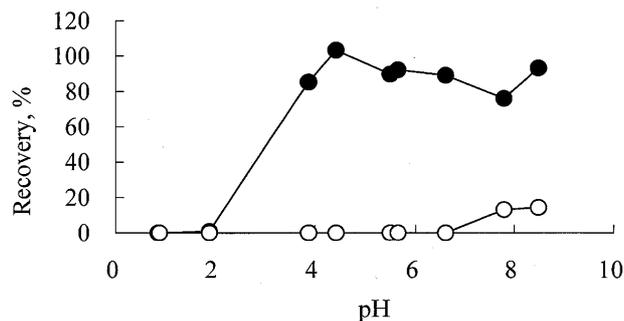


Fig. 2 Effect of sample pH on the recovery of Pb and Ca from bone digests

\bullet Pb; \circ Ca

は鉛の回収率が 90~100%、カルシウムの除去率が $>99.9\%$ であり、この pH 条件で骨中鉛の分離を行い、鉛同位体比測定用試料中の鉛濃度が $5 \mu\text{g/L}$ になるように調製を行った場合のカルシウム濃度はおよそ $50 \mu\text{g/L}$ 程度となるので、本研究で用いたキレート樹脂のカルシウム除去率は十分であると考えられた。

3.2.3 キレートカラム PA-1 と PB-1 による血液 RM からの鉛回収率 3.2.2 で示したように、PA-1 を用いた場合の骨 CRM 分解液からの鉛回収率は 90% 以上であったが、血液 RM 分解液からの回収率は $78.7 \pm 8.9\%$ ($n=5$) と低かった。一方、PB-1 による血液 RM からの鉛回収率は $89.0 \pm 4.0\%$ ($n=6$) と PA-1 より有意に高い回収率が得られた (t 検定, $p < .05$)。

これは PA-1 と PB-1 の基材樹脂の有機物との親和性の差によるものと考えられる。すなわち、キレート樹脂の至適 pH である pH 5 付近で鉛の一部は血液分解液中の未分解の有機物と錯体を形成し、これは有機物との親和性が高い PB-1 の基材樹脂部分には吸着されるが、PA-1 の基材樹脂には吸着されずにカラムを通過する、と考えれば説明がつく。したがって、分解後の残存有機物が骨や歯より多く含まれることが予想される血液試料では、PB-1 を用いることが適当であると考えられた。

なお、鉛のように原子量の大きい元素は、キレート樹脂による分離の際の回収率が 100% でなくても、ICP-MS による同位体比測定精度を超えて検出する同位体分別は起こらないと考えられる。したがって、同位体比を測定するのであれば、本研究で得られた回収率 (骨 $>90\%$, 血液 89%) で十分であると考えられる。

3.3 骨 CRM 及び血液 RM 中の鉛同位体比測定結果

ICP-MS を用いて骨 CRM 中の鉛同位体比の測定を行った結果 (Table 2) では、本測定結果と NIST の値 (文献 18 に引用; $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 0.8249$, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 2.0241$) はよく一致していた。また、併行分析の結果 RSD は $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$

Table 2 Analytical results of NIST SRM 1486 bone meal measured by the present methods

Isotope ratio	Measured ($n = 6$) ^{a)}	Information ^{b)}	CV, %
$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	0.8201 ± 0.0035	0.8209	0.43
$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	2.041 ± 0.006	2.0241	0.31

a) Mean and 1 standard deviation ; b) Measured by TIMS at NIST and cited in ref. 18

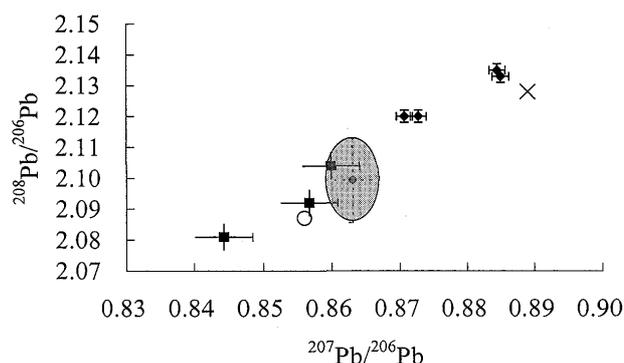


Fig. 3 Lead isotopic composition of contemporary bones, blood, and environmental samples

◆ : Contemporary Japanese bones (This study), ■ : Contemporary Japanese blood (This study), ○ : Japanese total diet (Yoshinaga *et al.*, 1999)²⁰⁾, × : Vehicle exhaust particulates (Mukai *et al.*, 1993)¹⁹⁾, ● : Airborne particulate matter collected in 7 cities in Japan (Mukai *et al.*, 1993)¹⁹⁾. Typical precision of isotope ratio measurement (2σ) is indicated by the cross bars in full line.

で0.43%, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ では0.31%であった。よって、本前処理方法～ICP-MS分析によって得られる骨中鉛の同位体比測定値の精確さは十分に良いことが示された。

血液RMからの鉛分離液について鉛同位体比の測定を繰り返し行った結果, $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ はそれぞれ 0.8621 ± 0.0025 , 2.092 ± 0.002 であり, within-run RSDは $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ で0.25～0.57%, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ では0.20～0.44%と, ほぼ同じ鉛濃度のSRM981のそれ(それぞれ0.23～0.48%, 0.31～0.46%)と同等の値であった。鉛分離液とSRM981において $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 共にRSDに有意差は認められず(U検定, $p < .05$), 血液分解液から鉛をキレート樹脂で分離した後, 試料溶液中に残存する鉄による鉛同位体比測定精度への影響はないと考えられた。

以上の結果から, 本キレートカラムによる鉛の分離とICP-MSによる同位体比分析を組み合わせるにより信頼性の高い同位体比が得られることが示された。

3.4 実試料の鉛同位体比測定結果

Fig. 3に本研究において測定を行った, 日本人の骨中鉛

同位体比及び血中鉛同位体比を示した。2001～2003年に生まれた小児の血中鉛同位体比は, 1920～1950年生まれの日本人の骨中同位体比とは大きく異なる分布を示した。本研究のデータと日本国内7都市でサンプリングされた大気粉塵の鉛同位体比(平均値±標準偏差)¹⁹⁾, 及び日本人の代表的食事の鉛同位体比²⁰⁾とを比較すると, 最近死亡した日本人の骨中に蓄積していた鉛の起源として, これらが主要なものではないことが明らかである。

今後は本研究で検討した鉛分離法とICP-MSをより多くの試料に対して適用し, 日本人の鉛暴露源について解析を行う予定である。

本研究を行うに当たり, ノビアスキレート®に関してご助言をいただきました(株)日立ハイテクノロジーズ白崎俊浩氏, 山本和子氏に感謝します。また, 遺骨を提供して下さった遺族の方々及びNPOりすシステムの松島如戒氏, 藤原英理氏に深謝します。

文 献

- 1) F. Barbosa, J. E. Tanus-Santos, R. F. Gerlach, P. J. Parsons : *Environ. Health. Perspect.*, **113**, 1669 (2005).
- 2) World Health Organization (1995) Biological indices of lead exposure and body burden. In : IPCS. Inorganic lead, Environmental Health Criteria 165, 114-8, WHO, Geneva.
- 3) Y. Yaffe, C. Flessel, J. Wesolowski, A. E. Rosario, G. Guirguis, V. Matias, T. DeGarmo, G. Coleman, J. Gramlich, W. Kelly : *Arch. Environ. Health.*, **38**, 237 (1983).
- 4) M. B. Rabinowitz : *Biol. Trace Element Res.*, **12**, 223 (1987).
- 5) R. H. Gwiazda, D. R. Smith : *Environ. Health. Perspect.*, **108**, 1091 (2000).
- 6) M. E. Finkelstein, R. H. Gwiazda, D. R. Smith : *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 3256 (2003).
- 7) 向井人史, 安部喜也 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **39**, 177 (1990).
- 8) G. V. Iyengar, W. E. Kollmer, H. J. M. Bowen : "The elemental composition of human tissues and body fluids", p. 7 (1978), (Verlag, Chemic, Weinheim-New York).
- 9) D. H. Retief, P. E. Cleaton-Jones, J. Turkstra, W. J. De Wet : *Arch. Oral Biol.*, **16**, 1257 (1971).
- 10) 隅田 隆, 中里哲也, 田尾博明 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **52**, 619 (2003).
- 11) K. Okamoto, K. Fuwa : *Anal. Chem.*, **56**, 1758 (1984).
- 12) 坂元秀之, 山本和子, 白崎俊浩, 井上嘉則 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **55**, 133 (2006).
- 13) 日立ハイテクノロジーズカタログ : "日立固相充填カラム ノビアス (NOBIAS) シリーズ", HTB-099R (2006. 7).
- 14) C. R. Quétel, B. Thomas, O. F. X. Donald, F. E. Grousset : *Spectrochim. Acta, Part B*, **52**, 177 (1997).
- 15) E. Margui, M. Iglesias, I. Queralt, M. Hidalgo : *Sci. Total Environ.*, **367**, 988 (2006).
- 16) 田村修一, 保倉明子, 大石昌弘, 中井 泉 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **55**, 827 (2006).
- 17) T. A. Hinnners, E. M. Heithmar : *Anal. Chem.*, **59**, 2658 (1987).
- 18) J. Yoshinaga, M. Yoneda, M. Morita, T. Suzuki : *Appl. Geochem.*, **13**, 403 (1998).

- 19) H. Mukai, N. Furuta, T. Fujii, Y. Ambe, K. Sakamoto, Y. Hashimoto: *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1347 (1993).
20) 吉永 淳: 人間と生活環境, **6**, 92 (1999).

Isotope Analysis of Lead in Biological Samples by ICP-MS with Pretreatment Using Polyamino-Carboxylic Chelating Resin Disk

Sayaka TAMIYA¹ and Jun YOSHINAGA¹

¹ Department of Environment Studies, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, 5-1-5, Kashiwanoha, Kashiwa-shi, Chiba 277-8563

(Received 1 August 2007, Accepted 20 November 2007)

Solid-phase extraction using a polyamino-polycarboxylic acid-type chelating resin was examined in order to separate lead from biological samples for an isotopic analysis of blood and teeth by inductively coupled plasma mass spectrometry. The recovery of lead from a digest of a bone certified reference material (CRM) (NIST SRM 1486 Bone Meal) was $94 \pm 6\%$, and $>99.9\%$ of the calcium matrix was removed. The average blank level was 0.5 ± 0.1 ng (less than 3% of the total lead amount of the samples). The recovery of lead from whole blood reference material ($89 \pm 4\%$) was somewhat lower than that of bone CRM, presumably because of the presence of undigested organic matter in the digest. The use of a chelating resin with a divinylbenzene/methacrylate base was more suitable than that with a methacrylate base for whole blood. The isotopic ratios of bone CRM after a lead separation were $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 0.8201 \pm 0.0035$, and $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb} = 2.041 \pm 0.006$, showing good agreement with the information value from NIST. The isotopic ratios of lead in blood samples from 3 children and those in 4 adult bone samples were analyzed with this procedure. We found that the values were clearly different between blood and bone, indicating different sources of lead in these two types of tissues through they were taken from contemporary Japanese.

Keywords : ICP-MS ; blood lead ; bone lead ; polyamino-carboxylic chelating resin ; matrix separation.