

トレースアナリシスにおける問題点

The Problems in Trace Analysis

毛利 孝明

Takaaki MOURI

I はじめに

近年、分析機器の発達（フレイムレス原子吸光、ICP-MS等）により、金属類についてはppb, pptレベルの分析が可能になってきたが、濃度が低くなればなるほどppmレベルの分析では気づかなかった多くの問題が生じることがわかってきた。尿、血清中のCr濃度が20年で数桁低くなった¹⁾とか、海水中のFe, Alが1万分の1になった²⁾とかこうした例は数多くあるようでこの原因として測定法の感度不足と試料採取及び分析の際のコンタミネーションがあげられている。筆者は、フレイムレス原子吸光及びICP-MSを用いて食品、産業廃棄物処分場排水、水道水、温泉等の金属類の微量分析を行ってきたが、その際気づいた問題点・注意点についてさまざまな角度から書いてみたい。また参考文献としてトレースアナリシス、フレイムレス原子吸光、ICP-MSに関する専門書^{3)~7)}を紹介してあるので参考にして頂きたい。

II トレースアナリシスにおける一般的注意点

トレースアナリシスを行うにあたって最も重要な点はコンタミネーション（汚染）をいかにして減らすかということである。ブランク値が高い状態で測定を行ってもコンタミを測っているようなもので、正しい値が得られるはずがない。トレースアナリシスの勘所は、一にコンタミ、二にもコンタミ、三・四がなくて五に干渉と言ってもよいくらいである。コンタミネーション（汚染）の原因には、主に次のようなものがある。

①試薬（酸、塩析剤等）

②器具・容器（試験管、ピペット、分液ロート等）

③雰囲気（実験室の空気中の粉塵、エアロゾル）

分解に用いる酸は、目的によって有害金属分析用、超高純度分析用試薬を使い分ける必要がある。廃水中のppbレベルの金属を湿式分解法で分析する場合は有害金属分析用で十分である。しかし、食品中のppbレベルの金属をマイクロウェーブで分解する場合は試料の量が1g程度しかとれないため、超高純度分析用試薬を用いなければならない。塩析剤（硫酸アンモニウム）、クエン酸アンモニウム、塩酸ヒドロキシルアミンなどは高純度の試薬がないため、自分で精製する必要がある。

ppmレベルの分析では、器具の洗浄などに特別配慮する必要はないが、ppbレベルの分析では、分析する元素にもよるが、器具類は酸類に浸せきしなければまず使えないと思ったほうがよい。また、酸類につけても吸着している金属類がすべて除去されるわけでもない。ppmレベルの濃度の金属を保存した場合は、酸洗浄を行ってもなかなか除去できないことが多い。分析に使用する器具・容器は汚染を受ける機会を減らすため、できる限り少なくする、前処理を行う時はなるべく操作を少なくする等の工夫が必要である。また、微量分析に使用するガラス器具は専用とし、他の目的には使用しないことが原則である。ppbはガラス器具が使用できる限界の濃度である。（Na, K等アルカリ金属はppmが限界）サブppbになると、もはやガラス器具は使用できず、ディスポーザブルプラスチック器具の使用が必須となる。ガラス製ピペットは容積に比べて表面積が非常に大きく汚染の原因となりやすいので、なるべく使用せずマイクロピペットを使うほうが望ましい。マイクロピペットのチップは密閉した状態で保管してあれば、特に超微量分析をする以外は、共洗いを

する程度で酸洗浄をしなくても使用できるようである。マイクロピペットは誰が操作しても同じ値が出ると思われがちだが、そうではない。マイクロピペットとチップの接続が緩かったり、急激なピペット操作をした場合は誤差を生じる場合があるので注意が必要である。

実験室の空気からの汚染が最もやっかいである。汚染の原因は、室内外の粉塵やドラフト内のエアロゾルによると考えられる。理想はクリーンルームの設置だが、地方の研究機関にクリーンルームを持つはずもない。ppbから%オーダーまで同じ場所で分析しているくらいだから、微量分析のコーナーを設けることさえ困難である。どうすれば汚染を減らせるか工夫するしかない。マイクロウェーブで分解している間は密閉系なので汚染を受ける心配はないが、分解後酸を蒸発させる段階が問題である。酸の蒸発も密閉系でできれば問題ないのだが、装置が大がかりになってしまうため、やむなく開放系で酸を蒸発させているので、コンタミは避けられない。セラミック製ドラフト内でマイクロウェーブ分解容器に超高純度硝酸AA-100 6 ml, 超高純度過酸化水素AA-100 3 mlを入れ、220℃のホットプレート上で2～3時間かけて蒸発させた場合、どれくらいの汚染があるか調査した結果を表1に示す。これを見ると、Al, Ni, Cu, As, Sr, Mo, Sn, Sb, Ba, Pbなどの汚染が比較的高いようである。特に食品中のPb

を分析する場合はその濃度が非常に低いため、汚染の影響は深刻である。バックグラウンドが低い状態で分析しなければ正しい値を得ることはできない。清浄空気を通して陽圧にした専用の蒸発容器を用いる等の工夫をすれば汚染を1/10程度に減少させることは十分可能であると考えられる。一般的に言って、試薬による汚染は補正が可能だが、器具・容器・雰囲気による汚染は補正ができない。2 out of 3あるいは3 out of 4といった方法で異常値を除外するしかない。しかし、これを実際に行うのはたいへんな作業になるので、当所では2系列の並行試験を行い両方の分析値に大きな差がある場合のみ再試験を行っている。

分解が終わった後はいよいよ分析であるが、プラスチック容器中の保存でも、汚染・吸着等何が起こるかわからないのでなるべく早く分析したほうがよい。できれば分解当日のほうが望ましいが、それが困難な場合は遅くとも翌日には分析したほうが良い。分析によって得られた値が正しいかどうかは、添加回収実験及び標準試料 (NIST, NRC等) の分析により確認しなければならない。標準試料には、保証値と参考値が表示されているが、参考値はあまり当てにならない場合が多い。保証値であっても、中には「何じゃこれは」というものもあるので注意が必要である。

Ⅲ フレームレス原子吸光について

フレームレス原子吸光が普及し始めた今から約20年前は、変動係数 (C. V.) は10%以上あるのが普通であり、学会でもフレームレス原子吸光を使った発表があると、なぜそのような不正確な分析法を採用したのかという質問が出される程であった。その後、ゼーマン法によるバックグラウンド補正、光高温計による炉の急速加熱、プラットホーム加熱法、マトリックスモディファイヤー等の新しい技術によって再現性は急速に良くなり、今ではC. V. で0.5%を切るところまで来たと言われている。しかし、これはクリーンルームにおいてオートサンプラーを用いた無人運転を行うなどの極めてクリーンな環境で十分に整備された機器を用いて分析した結果であって、

表1 室内空気からの汚染

元素	濃 度	元素	濃 度
Li	0.005~0.014	Mo	0.006~0.023
Be	0.006~0.015	Ag	0.003~0.008
Al	0.60 ~1.50	Cd	0.004~0.024
Co	0.000~0.002	Sn	0.11 ~0.26
Ni	0.04 ~0.15	Sb	0.010~0.024
Cu	0.04 ~0.17	Cs	0.002~0.012
Ga	0.002~0.004	Ba	0.02 ~0.08
Ge	0.002~0.007	Tl	0.001~0.004
As	0.010~0.020	Pb	0.042~0.14
Rb	0.002~0.007	Th	0.003~0.010
Sr	0.005~0.019	U	0.001~0.003

(0.5NHNO₃ 20ml中の濃度 μg/ml)

表2 各種の前処理法の評価

前 処 理 法	操作性	所要時間	費 用	回収率	汚染の多少	妨害の有無	感 度	チューブの寿命
イオン交換法	×	×	○	○	△	△	○	△
キレート樹脂法	×	×	△	○	△	△	○	△
キレートディスク法	○	○	×	○	△	△	○	△
共沈法	△	○	○	○	×	△	○	△
溶媒抽出法	○	○	○	○	△	○	△	◎

普通の部屋での手動分析を行った場合はC. V. 1～2%程度が限界であろう。ゼーマン法も完全ではなく、分光干渉は補正可能だが化学干渉は補正できない、感度が低下する等の欠点がある。マトリックスモディファイヤーを使用した場合、それが残存し他の分析に影響を与える場合がある。マトリックスモディファイヤーについてはあまり経験がないのでこれについては成書³⁾をみていただきたい。ゼーマン法、光高温計、プラットホーム、マトリックスモディファイヤーを組み合わせれば、「鬼に金棒」で完璧であると言う人がいるが、本当かどうかかわからない。マトリックス濃度があまりにも高い場合は何らかの方法で除去したほうが良いのではないだろうか。その方法としては、イオン交換法、キレート樹脂法、キレートディスク法、共沈法、溶媒抽出法等がある。これらの方法については、多くのバリエーションがあり一概に断定することはできないが、それぞれ一長一短がある。これらの一般的方法の得失についてまとめたのが表2である。イオン交換法、キレート樹脂法は安価であるが、操作が煩雑で時間がかかる。それに対し、キレートディスク法は操作が簡便であるが、やや高価なのが欠点である。共沈法は比較的簡便であるが、試薬のロットにより不純物の濃度が大きく異なる、共沈剤によってはPやSiが共沈し妨害となる場合がある、ろ過などの操作によるコンタミを受けやすい等多くの欠点がある。また、同時に共沈した多量成分の影響によると思われる微量成分の信号抑制を経験したこともある。溶媒抽出法をフレイムレス原子吸光に適用している人は少ないが、目的によっては非常に有効であるので紹介してみたい。溶媒抽出法以外の分離法は、アルカリ金属、アルカリ土類金属と目的元素の分離はできるが、廃水や環境水のように高濃度のFe、Mnが含まれている場合はいっしょに濃縮されてしまい干渉

検水100ml

+H₂SO₄ 1 ml
+HNO₃ 10ml

湿式分解

+0.5NHCl

20ml定容

1 ml分取 (25ml試験管)

+25% クエン酸二アンモニウム 0.4ml
+20% 塩酸ヒドロキシルアミン 0.2ml
+メタクレゾールパープル
+NH₄OH

中 和

+0.01% ジチゾントルエン溶液 1 ml

振とう

トルエン層

フレイムレス原子吸光

図1 ジチゾン法による金属類の分析方法

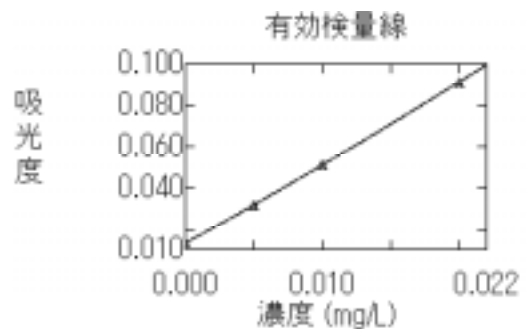


図2 ジチゾン法によるPbの検量線

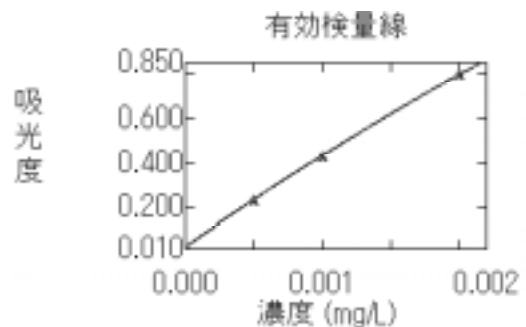


図3 ジチゾン法によるCdの検量線

を受けてしまうことになる。この場合ジチゾン法が適用可能である。図1にそのフローシートを示す。

図2にPb, 図3にCdの検量線を示す。この方法でPb, Cd, Cu, Ni, Co等の同時分析が可能である。この方法の定量下限はPbで1 ppb, Cdで0.01ppbであり, 高濃度のFe, Mnがあっても全く影響を受けることはない。ただ, 酸濃度により抽出率が若干変化するように, BI試料を標準系列に加えることで補正を行っている。この方法は, Zn, Cu等ジチゾンに抽出される金属が多く含まれる場合は適用困難であり, その場合はDDTC-酢酸nブチル抽出法によらなければならない。溶媒抽出法の欠点は水溶液に比べて感度が約1/2になることであるが, 適当な抽出系を選べば目的の金属を選択的に分析できる優れた方法であると考えられる。また, 酸を使用しないのでグラファイトチューブの寿命が非常に長くなり1年以上も使用可能になるという利点もある。ただ, 抽出試薬によっては灰化時に硝酸を添加しなければ分解しない場合もある。グラファイトチューブは各使用者及び各元素専用とし, 酸あるいは有機溶媒用によっても使い分けたほうが良い。履歴のわからないチューブを使うと思わぬ誤差や妨害, 干渉を受ける場合がある。いつも使っているチューブであっても測定の前には5~10回のならし運転が必要である。ならし運転によってチューブ中に残留している金属が減少し, 再現性も良くなる。グラファイトチューブは生き物と同じであり, 自分が使用するチューブは自分できちんと世話をしないということを聞いてくれない。同じメーカーでもグラファイトチューブの改良によってチューブの品質が変わることがあり, 以前の条件では測定できなくなることもある。メーカーや機器が違えばグラファイトチューブ, 高温炉の性質は大きく異なっており, 特定の機器での測定条件がそのまま他の機器で使えるわけではない。

IV ICP-MSについて

ICP-MSは高感度で多元素同時分析が可能ということで数年前から急速に普及している。感度はフレイムレス原子吸光よりも1~2桁以上高くpptレベルの分析が可能である。そのため, コンタミネーションにはフレイムレス原子吸光の操作以上の注意を払わなければならない。コンタミネーションにつ

いてはこれまで詳しく書いてきたので省略し, ここでは主として干渉の問題について触れてみたい。干渉にはスペクトル干渉と非スペクトル干渉がある。

スペクトル干渉

- ・同重体による干渉
- ・酸化物による干渉
- ・2価イオンによる干渉
- ・多原子(分子)イオンによる干渉

非スペクトル干渉

- ・物理干渉
- ・イオン化干渉
- ・マトリックス干渉

スペクトル干渉は, 目的イオンのm/zと同じm/zをもつ原子または分子によるものであり, m/z80以下では程度の差はあれ, ほとんどの質量数において干渉が存在する。その中で特に顕著なものとして検討の中で気がついたものを表3に示す。脂肪の多い食品を分解した場合, 未分解の炭素が残り, COOHとしてScの妨害となることがある。Scは内標準として良

表3 スペクトル干渉イオンとその強度

m/z	元素	干渉イオン	干渉強度
45	Sc	¹² C ¹⁶ O ¹⁶ OH	—
51	V	³⁵ Cl ¹⁶ O	0.5/10
52	Cr	³⁵ Cl ¹⁶ OH	0.05/5
53	Cr	³⁷ Cl ¹⁶ OH	0.5/5
58	Ni	⁵⁸ Fe	0.6/0.1
60	Ni	⁴⁴ Ca ¹⁶ O	3/50
62	Ni	²³ Na ₂ ¹⁶ O, ³¹ P ³¹ P?	0.3/100, 1/20
63	Cu	⁴⁰ Ar ²³ Na, ³¹ P ¹⁶ O ¹⁶ O	0.5/500, 0.5/100
69	Ga	¹³⁷ Ba ²⁺ , ¹³⁸ Ba ²⁺	1/0.01
71	Ga	⁴⁰ Ar ³¹ P	0.2/20
72	Ge	⁴⁰ Ca ¹⁶ O ₂ , ⁵⁶ Fe ¹⁶ O	0.01/10, 0.3/1.0
73	Ge	⁵⁷ Fe ¹⁶ O	0.1/1.0
75	As	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl	0.5/70
77	Se	⁴⁰ Ar ³⁷ Cl	0.5/70
80	Se	⁷⁹ BrH	—
82	Se	⁸¹ BrH	0.7/0.1

干渉強度は, /の上段が測定元素の濃度(ppb), /の下段が干渉元素の濃度(ppm)で表してある。例えば, Vについて10ppmのClが, V0.5ppbの信号強度となるという意味である。

く使用されるので注意が必要である。V, CrはCl濃度が低いところでも干渉がある。特にCrはCl以外の干渉が存在するらしく、1 ppb以下の分析は水、食品とも困難であり、フレイムレス原子吸光での分析が必須である。Niはm/z58, 60, 62のいずれにおいても干渉が認められ、干渉の度合いを考慮しながら測定するm/zを選択しなければならない。Ca, Na, Pのすべての濃度が高い場合はお手上げで、何らかの前処理をするか希釈して測定するしかない。AsではClの、SeではCl, Brの顕著な干渉がある。スペクトル干渉の対策としてEPAによりいくつかの元素について干渉補正式が提示されている。これは干渉値を別のm/zによって計算し補正する方法であるが、補正に使うm/zにもまた別の干渉を受けている場合もあり、そう単純にはいかないのではないだろうか。環境試料を測定している人から、Asの分析でEPAの補正式を使うととんでもない値が出るということを知り追試をしたところ、過補正となり確かに大きな負の誤差が認められた。他の元素の補正式については検討していないが、使用する機器、使用条件によって異なると考えられ、EPAの補正式は「適用できる場合もある」くらいに考えておいたほうが無難であろう。なお、Cl濃度が高い試料でも硝酸、過酸化水素で分解し、硝酸を揮散させればClはHClとして揮散してしまい、Cl濃度が%レベルのものでも試料液中の濃度は1 ppm程度となり、補正式を用いる必要は全くなくなってしまふ。硝酸を揮散させる際、添加したppbレベルの元素の損失はないことは確認済みである。(ただし、B, Hgは除く)

非スペクトル干渉は、試料の粘性や試料中の共存元素によって目的元素の信号強度が変化する現象でこれもまたなかなかやっかいである。この対策としては内標準による補正やマトリックスマッチングによる方法がある。目的元素の濃度が高ければ単なる希釈で解決する場合もある。より完全にマトリックスを除くにはキレート樹脂で前処理をしてアルカリ金属、アルカリ土類金属を除去する方法もあるが、ルーチン分析に使うには煩わしく汚染の問題もある。水試料の場合はキレート樹脂を詰めたミニカラムを使ってオンラインでICP-MSに導入する方法もあるが、六方バルブ等で装置を自作しなければならない。

表4 食品中金属の分析に使用する内標準

内標準	目的元素
Sc	Be
In	Li, Al, V, Co, Ni, Cu, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, U
Bi	Pb, Th

できれば、内標準による補正ですませたいのだが、これがなかなかうまくいかないのである。内標準としては、測定元素と質量やイオン化エネルギーが近く、試料にはあまり含まれていない元素(Sc, In, Y, Bi等)がよく使用される。日常食品中の分析(Total Diet Study)で検討を行った結果、表4のような内標準を使った干渉補正で比較的良好な結果が得られたことがある。「得られたことがある」というのはおかしな表現であるが、その後の検討では添加回収率がこれとは異なる結果になってしまうのである。これは、サンプリングコーン・スキマーコーンの消耗や汚染によって干渉の度合いが変化したためと考えられる。スペクトル干渉・非スペクトル干渉は、使用する機器はもちろん、使用条件(周波数、高周波出力、各種ガス流量)、サンプリングコーン・スキマーコーンの材質や消耗度、ネブライザーの種類、内標準の種類や濃度によって大きく変化すると考えられ、得られた結果はその装置でのその時点での結果に過ぎないということである。専門書や論文でこの元素についてはこれこれこういう干渉があったという報告があっても参考程度にしかならないと考えるべきであろう。

もう一つの問題はメモリー効果である。メモリー効果とは高濃度の試料の導入により、その元素が装置内に長期間残存し後の分析に影響を及ぼすことである。メモリー効果の大きな元素としては、B, Ga, Zr, Sb, Au, Hg, Tl, Th等の元素がある。これらの元素を測定する時は、装置の洗浄時間を長くするなどして、バックグラウンドのレベルが低くなった状態で分析しないと大きな誤差を招くことになる。特にZr, Thのメモリー効果は著しいものがあり、1 ppb程度の標準を測定した後でさえ2 NHNO₃による洗浄を何度も行ってもバックグラウンドはなかなか下がらない。これらの元素で低濃度の試料を測定

する時は、BIの測定の後、試料を先に測定し、その後で標準を測定するなどの工夫をしなければ分析は難しいと思われる。

現在のICP-MSではまだまだ未解明の点が多く残されており、よくわからない現象がしばしば見られるが、今後装置の発展の中で解決されることを期待したい。

V おわりに

金属類の微量分析を行う際の問題点・注意点について述べてきたが、不十分な点をご容赦頂きたい。フレイムレス原子吸光及びICP-MSの干渉は装置・使用条件による差が非常に大きく、ここに書いたことはあくまで参考であり、それぞれの装置の干渉については各自で検討して頂きたい。なお、当所で使用している機器は、島津AA-6700 (GFA-6500) 及び島津ICPM-8500である。

文 献

- 1) 不破敬一郎, 角田欣一: 微量元素と分光分析. 最近の話題, 薬学雑誌, 106(11), 951, (1986)
- 2) 中山英一郎: 海洋化学における痕跡物質の分析法, ぶんせき, 6, 475, (1999)
- 3) 保田和雄: 原子スペクトル分析の実際, 講談社サイエンティフィック, (1993)
- 4) 保田和雄: 原子吸光分析の実際, 講談社サイエンティフィック, (1980)
- 5) 水池敦: トレースアナリシス, 東京化学同人, (1968)
- 6) 河口広司, 中原武利: プラズマイオン源質量分析, 学会出版センター, (1994)
- 7) 原口紘玉, 寺前紀夫, 古田直紀, 猿渡英之 (C. Vandecasteele, C. B. Block): 微量元素分析の実際, 丸善株式会社, (1995)