

Agilent ICP-MS ジャーナル

2011 年 8 月 – 43 号と 44 号の合併号



本号の内容

- 2-3 さらに進化したヘリウムモードにより、
ICP-MS の干渉除去を向上
- 4-5 サクセスストーリー：
尿中微量元素の ICP-MS 分析で認定を取得した医療ラボ
- 6-7 HPLC-ICP-MS による臨床癌治療バイオマーカーの測定
- 8-9 Agilent 7700 シリーズ ICP-MS の新製品：
7700e ICP-MS および MassHunter ソフトウェア新リビジョン
- 10-11 HPLC-ICP-MS によるプラスチック中の臭素系難燃剤の測定
- 12 新しいアジレント原子分光装置
国際会議、ミーティング、セミナー
Agilent ICP-MS 文献



さらに進化したヘリウムモードにより、ICP-MSの干渉除去を向上

Ed McCurdy, Naoki Sugiyama

ICP-MS 製品マーケティング、
アジレント・テクノロジー

ICP-MSのヘリウムコリジョンモード

運動エネルギー弁別 (KED) を用いたヘリウム (He) モードは、CRC (コリジョン/リアクションセル) ICP-MS において、さまざまな多原子干渉を確実に効果的に除去できるモードです。水素やアンモニアといった反応性の高いセルガスは、特定の分析対象物の同位体から干渉を除去する際にはきわめて効果的ですが、サンプル組成が不明だったり、複雑だったりする実際のアプリケーションでは、すべての干渉を同時に除去することはできません。

しかし、これまで一部の元素では、優れた検出下限を得るために、反応性の高いセルガスを使用する必要がありました。その一例がセレンの低濃度分析です。この分析では、1桁レベルの ng/L (ppt) の検出下限を得るためには、反応ガス (通常は H₂) が必要でした。

ORS³のヘリウムモードによる性能の向上

Agilent 7700 シリーズ ICP-MS に導入された第3世代のオクタポールリアクションシステム (ORS³) では、He モードにおける干渉除去能力が大幅に向上しました。

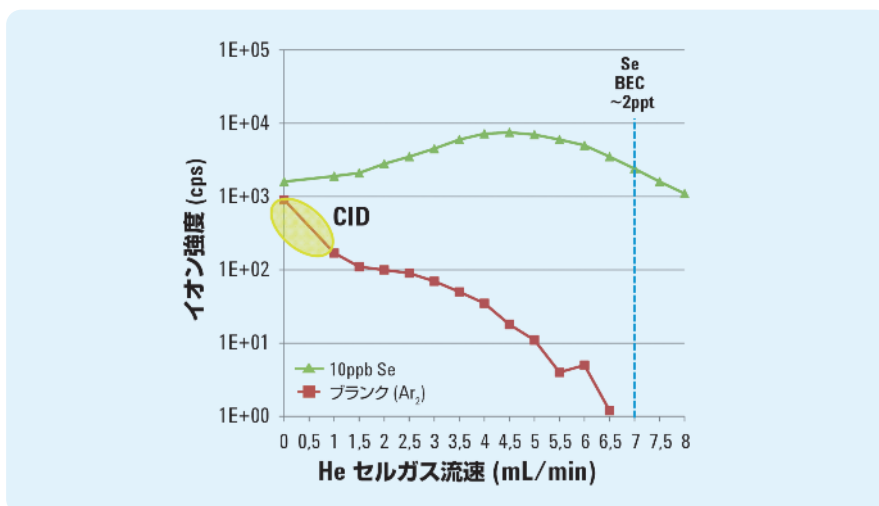


図 2. Ar₂ の解離 (CID) を示す He セルガス最適化プロット

これは、以下のような革新的な独自のセルデザインにより実現したものです。

- 長く、周波数の高いオクタポールにより、衝突頻度が増加
- セルガス流速を高くすることで、セル圧力が上昇
- 高いバイアス電圧と衝突エネルギー

こうした革新技術により得られる効果を、図 1 に示しています。この図では、旧モデルの Agilent ICP-MS CRC (ORS²) と、新モデル 7700 (ORS³) での、イオンエネルギーのオーバーラップを比較しています。ORS³ では、分析対象イオン (⁷⁸Se、緑) と干渉イオン (Ar₂、赤) のエネルギーのオーバーラップが大幅に小さくなっています。その結果、セル出口の運動エネルギーの差が大きくなり、多原子干渉と分析対象物の分解能が向上します。

さらに、7700 シリーズの ORS³ He モードでは、衝突エネルギーの増加により、多原子イオンとセルガスの衝突エネルギーが結合エネルギーよりも大きくなることから、これまで He モードでは排除できなかった結合エネルギーの大きい多原子イオンの衝突誘起解離 (CID) が可能になります。

Se における Ar₂ の干渉の例を表 1 に示します。この表を見ると、ORS³ における Ar₂ の衝突エネルギー (4.88eV) が、Ar₂ の結合解離エネルギー (1.33 eV) よりも高くなっていることがわかります。

	Ecm (第1衝突エネルギー) [eV]
Ar ₂ 結合解離エネルギー	1.33eV
従来の衝突 (Ei=20eV)	0.98 (<1.33)
ORS ³ の衝突 (Ei=100eV)	4.88 (>1.33)

表 1. 従来の衝突エネルギーと ORS³ の衝突エネルギーの比較
なお、Ecm は Center-of-Mass Collision Energy (重心系衝突エネルギー)

図 2 に示すように、ORS³ では、衝突解離に加えて、運動エネルギーによる多原子イオンの分離能が向上することから、⁷⁸Se のバックグラウンド相当濃度 (BEC) が大幅に低減 (約 2 ng/L (ppt)) します。

ORS³ で実現する He モードの性能は、きわめて優れたものです。図で示している Se の例では、検出下限が約 150 ppt (ORS²) から 5 ppt 未満 (ORS³ - 図 3) にまで向上しています。

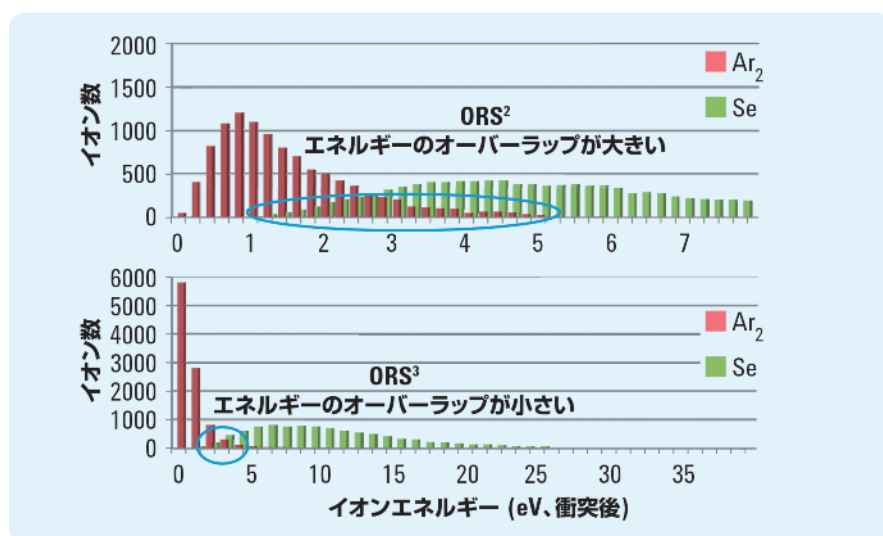


図 1. 7700 の ORS³ セル (下図) と旧 ORS² セル (上図) における分析対象物/多原子イオン分離能の比較

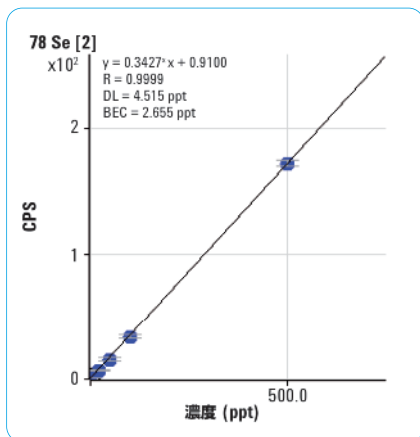


図 3. ORS³ He モードにおける ⁷⁸Se の検量線。
 DL 4.5 ppt、BEC 2.7 ppt

硫黄 (図 4) とリン (図 5) の検出下限も、ORS³ の He モードにより向上します。

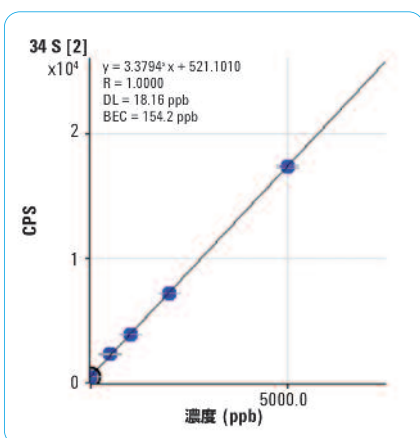


図 4. ORS³ He モードにおける ³⁴S の検量線。
 DL 18 ppb、BEC 154 ppb

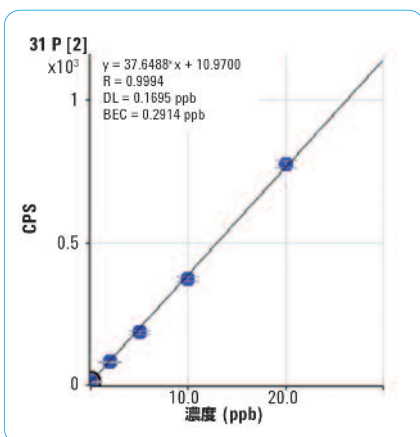


図 5. ORS³ He モードにおける ³¹P の検量線。
 DL 0.17 ppb、BEC 0.29 ppb

結論

He モードにおける ORS³ の干渉除去能力は、ORS² の性能と比べて、大幅に向上しています。

- Se の BEC は 2~3 ppt
- S の BEC は 200 ppb
- P の BEC は 300 ppt

こうした優れた性能は、これまで以上に効率の高い KED (運動エネルギー弁別) と、ORS³ の高エネルギー/高 He 流速による CID (衝突誘起解離) の促進により実現するものです。その結果、Se や S、P といった元素の測定でも、反応性の高いセルガスが不要になりました。

サクセスストーリー： 尿中微量元素の ICP-MS 分析で認定を取得した 医療ラボ

G.Deumer、B.Stockman、J.Casters、
G.Cinar、C.Vanderstocken、V.Haufroid

産業および環境毒物学研究所、
Cliniques Universitaires Saint Luc
(ベルギー・ブリュッセル)

組織について

Cliniques Universitaires Saint Luc (ベルギー・ブリュッセル) の産業および環境毒物学研究所は、職場や環境からくる化学物質の曝露に関する生物学的モニタリングを専門に行っています。同研究所では、全血、血漿、尿、その他のマトリックス (水、関節内液など) といったさまざまな生物学サンプルを対象に、毎年 2 万件を超える金属分析を実施しています。2010 年 6 月には、ISO 15189 認定を受けました。この認定は、医療分野の研究所を対象とし、尿などのマトリックスに含まれる 20 種類の金属の ICP-MS 分析に関するものです。また、同研究所では、Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology と密接に連携し、研究活動や臨床研究、環境研究などの分析メソッドを開発し、バリデーションを行っています。

金属分析の装置について

2005 年以前は、6 台のグラファイトファーン原子吸光分光装置 (GFAAS) と 1 台のフレイム原子吸光分光装置 (FAAS) を用いて、金属分析を行っていました。その後、分析感度とサンプルスループットを高めるために、最初の Agilent 7500ce ICP-MS をラボに導入し、尿などのマトリックスにおける金属分析専用に使っていました。0.5 % HCl/1 % HNO₃ でサンプルを 10 倍に希釈したのちに、ノーガスまたはヘリウムモードで Micro Mist ネブライザを用いて、22 種類の元素 (ベリリウム、アルミニウム、バナジウム、クロム、マンガン、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ヒ素、セレン、モリブデン、カドミウム、スズ、アンチモン、テルル、バリウム、白金、タリウム、鉛、ビスマス、ウラン) を一斉分析しています (ISO 15189 認定メソッド)。2008 年には、血液および血漿の分析に使用するために、2 台目の Agilent 7500cx ICP-MS を購入しました。全血中の Mn、Co、Cd、Hg、Tl、Pb はバビントンネブライザを用いて、血漿サンプル中の Al、Cu、Zn、Se、B は Micro Mist ネブライザを用いて測定しています。



Laboratory of Industrial and Environmental Toxicology located in Brussels (Rosalind Franklin Tower of Clinical Biology)

分析に先立ち、1-ブタノール (2 % w/v)、EDTA (0.05 % w/v)、Triton X-100 (0.05 % w/v)、NH₄OH (1 % w/v)、内部標準 (Sc、Ge、Rh、Ir)、MilliQ 水を混合した希釈液でサンプルを 10 倍に希釈します。

難溶性インジウム化合物への 職業上の曝露

インジウム (In) は、白金色をした柔らかい希少な金属で、亜鉛、銅、スズの鉱石中に含まれています。過去 15 年で、電子機器市場の成長に伴い、インジウムの需要は劇的に増加しています。インジウムのおもな最終用途は、インジウムスズ化合物 (ITO) の製造で、これが世界におけるインジウム消費の大部分を占めています。ITO 薄層コーティングは、各種のフラットパネル装置において、おもに導電性材料として用いられています。その代表的な例が、液晶ディスプレイ (LCD) です。その他の用途としては、低融点のはんだ合金、各種化合物、電子部品や半導体などがあります。世界最大級のインジウム精製所の 1 つが、ベルギーにあります。

世界中のインジウム加工労働者において、間質性肺炎の症例が報告されたことから、インジウム化合物の職業上の曝露を詳しく調査する必要ができました。最初のステップは、7500cx ICP-MS を用いて、尿および血漿中のインジウム濃度を測定するためのメソッドのバリデーションを行うことでした。ここで実施したパイロット試験では、インジウムインゴットの製造に携わり、三酸化インジウム (In₂O₃) や水酸化インジウム (In(OH)₃) といった難溶性インジウム化合物に曝露されている労働者の尿および血漿中のインジウム濃度を、曝露バイオマーカーとして用いることが可能かどうかを評価しました。パイロット試験には、曝露のない対照者 20 名も参加しました。

分析プロトコル

濃度 1000 ppm のインジウム原液を用いて、10 ppb~5 ppm までの 6 種類の濃度の標準原液を作成しました。その後、混合希釈液でこの溶液を 100 倍に希釈しました。混合希釈液は、1-ブタノール (2 % w/v)、EDTA (0.05 % w/v)、Triton X-100 (0.05 % w/v)、NH₄OH (1 % w/v)、内部標準、MilliQ 水を混合し、低密度ポリエチレンボトル内で調製したものです。サンプル (尿と血漿) は、この混合希釈液で 10 倍に希釈しました。In の定量は、ノーガスモードを用いて m/z 115 で行いました (In のスペクトル干渉はありません)。内部標準には Rh m/z 103 を用いました。

なお、サンプルの外部汚染を避けるために、細心の注意を払いました。すべての生体サンプルは、インジウム汚染エリアから隔離された部屋で採取しました。血液サンプルは、85.1160 ニードルと微量元素フリーチューブ (S-Monovette® Trace Element K₂EDTA, Sarstedt, D-51588, Nü mbrecht) を用いて、静脈穿刺により採取しました。血液を 1800 g で 10 分間遠心分離し、使い捨てのポリエチレンペットを用いて、血漿をポリエチレンチューブに移しました。また、清潔なポリプロピレンカップを用いて、スポット尿サンプルを採取しました。すべてのサンプルは、分析まで -20 °C で冷凍保管しました。

結果

分析の直線範囲は、1 ppb から 500 ppb までのサンプル濃度をカバーできました (図 1)。In の定量下限値 (LOQ) は、尿で 0.05 ppb、血漿で 0.08 ppb でした。

職場でインジウムに曝露されているすべての労働者では、尿と血漿からインジウムが検出されたのに対し、対照グループから採取したサンプルでは、定量下限値を上回る濃度のインジウムは検出されませんでした。対照グループの血漿の分析結果 (n=20/ すべて定量下限値以下) を、労働者のサンプルの平均値 (n=60/ 平均 4.91 µg/L) と比較すると、大きな差が見られます。尿サンプルでも同様のパターンが見られ、曝露のある労働者では平均 1.22 µg/g だったのに対し、対照グループでは定量下限値未満でした (図 2)。

結論

産業・環境毒物学研究所は、生物学サンプルに含まれる元素を日常的にモニタリングしているほか、Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology と連携した研究プロジェクトも行っています。

プロセスや手順を標準化し、分析結果の信頼性と精度を確保するという業務が高く評価され、同研究所は、尿などのマトリックスに含まれる 20 種類の金属の ICP-MS 分析に関する国際 ISO 15189 の認定を受けました。この認定を取得できた理由の 1 つとして、Agilent 7500ce を

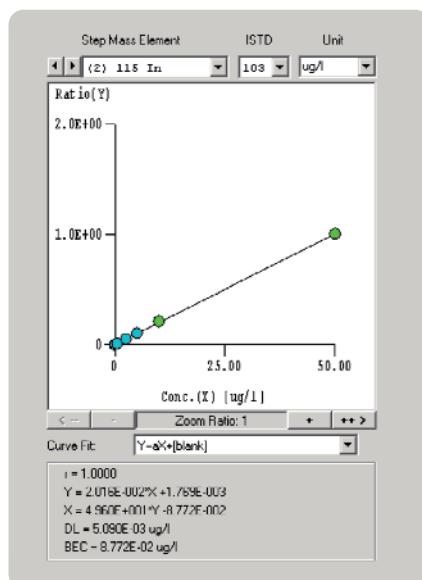


図 1. 0.1~50.0 ppb のインジウム定量の検量線 (10 倍に希釈した場合の 1~500 ppb のサンプル濃度に相当)

尿サンプル中の 22 元素のルーチンモニタリングに、Agilent 7700cx を全血および血漿分析に使用したことが挙げられます。

この記事で紹介した研究プロジェクトの例により、難溶性インジウム化合物 (In_2O_3 または $\text{In}(\text{OH})_3$) に曝露されている労働者の尿または血漿中のインジウムを測定する上で、7500cx ICP-MS が十分な感度を備えていることがわかります。職業上の健康管理におけるインジウムやその化合物の影響に関しては、さらなる調査により、インジウムの生物学的限界値を設定する必要があります。

謝辞

ICP-MS チームのメンバーである Françoise Uwambayinema 氏と Théo Seminck 氏に感謝します。また、ご協力いただいた Dominique Lison 教授と Perrine Hoet 教授に感謝します。

詳細情報

www.toxi.ucl.ac.be/mbi.htm

(フランス語)

ディレクター : Vincent Haufried 教授

Eメール:

vincent.haufroid@uclouvain.be

Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology (LTAP)

www.uclouvain.be/ltap,

ディレクター : Dominique Lison 教授

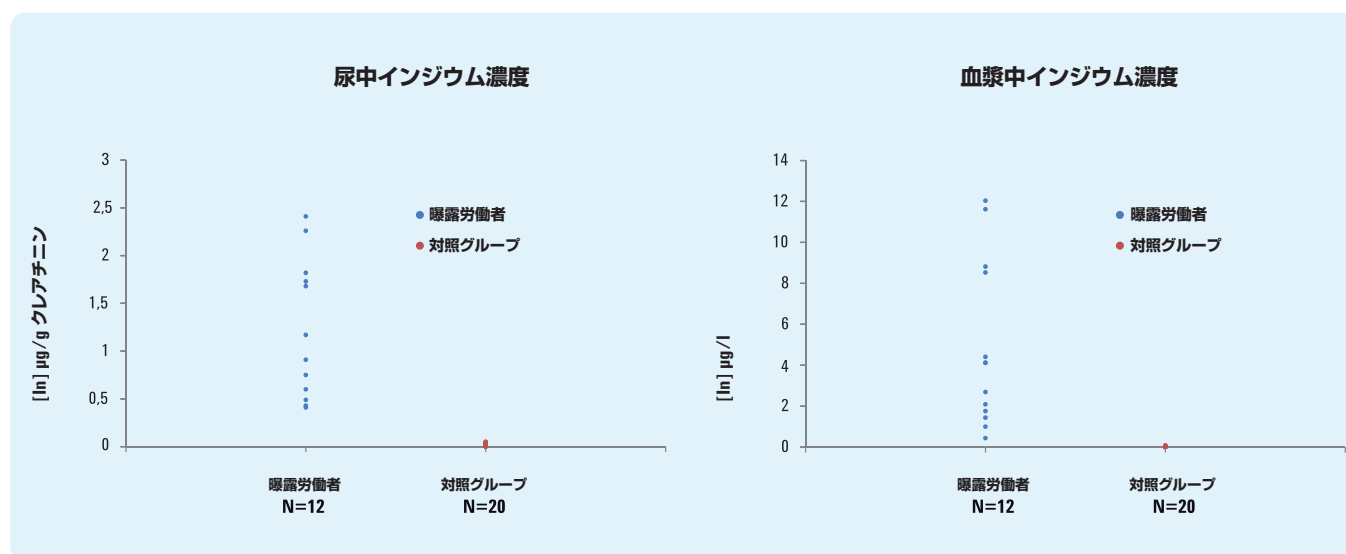


図 2. 難溶性インジウム化合物 (In_2O_3 または $\text{In}(\text{OH})_3$) に曝露されている労働者 12 人の尿中 (µg/g クレアチニン) および血漿中 (µg/L) のインジウム濃度 (各労働者 5 回のサンプリングの平均) と 20 人の対照との比較

HPLC-ICP-MS による 臨床癌治療バイオマーカー の測定

Chris F. Harrington、Rachel Le Pla¹、
George D. D. Jones¹、Anne L.
Thomas¹、Peter B. Farmer¹

超地域的アッセイ部門、微量元素研究所、
サリー大学 (英国ギルフォード)

¹ レスター大学 (英国レスター)

² レスター王立病院 (英国レスター)

はじめに

白金製剤は、癌治療に広く用いられています。シスプラチンは、プリン DNA 塩基の N7 ポジションに結合し、隣接する 2 つのグアニン (cis-Pt(NH₃)₂d(pGpG))、(1,2-GG) または隣接するアデニンとグアニン (cis-Pt(NH₃)₂d(pApG))、(1,2-AG) の間に、インターストランド架橋 (interstrand-crosslinks、同一鎖上の二つの塩基への結合) を形成します。その作用機序としては、DNA 付加体が形成されることにより、癌細胞が死滅 (アポトーシス) することがわかっています。しかし、各種の DNA 付加体による細胞死滅 (細胞毒性) 効果や、腫瘍細胞における付加体量と血液の関連性は、まだ解明されていません。そこで、白金 (Pt) 含有付加体をバイオマーカーとして利用すれば、化学療法に対する患者の反応を、薬剤の作用機構と直接関連付けることが可能になります。しかし、この種の分析には、患者から採取できる限られた量のサンプル中の DNA 付加体を測定できる検出下限を備えた、きわめて感度と特異性の高いメソッドが求められます。

この研究の目的は、シスプラチン治療を受けている患者の白血球に含まれる超低濃度のシスプラチン付加体を測定する分析メソッドを開発し、治療に必要な付加体量を予測する可能性を探ることです。シスプラチンと DNA で形成される 1,2-GG シスプラチンインターストランド架橋を直接測定するための、HPLC-ICP-MS を用いた分析手法を開発しました。この手法を、少量の血液サンプルから抽出した DNA にも応用しました。血液サンプルは、他の化学療法薬と並行してシスプラチン治療を受けている患者から、治療前と後に採取しました。

実験手法

2'-デオキシグアニリル (3'→5')-2'-デオキシグアノシン (dGpdG) および cis-ジアミンジクロロ白金 (II) (シスプラチン) は、Sigma-Aldrich (プール、英国) から購入しました。HPLC を用いて、dGpdG シスプラチンの付加体標準物質を調製および精製しました [1]。

精製した Pt 付加体を含む HPLC フラクションを、7500ce ICP-MS を用いて分析しました。ICP-MS システムは、Li、Y、Ce、Tl 各 1 ug/L を含むチューニング用溶液を用いて最適化し、酸化物生成比が 1.0 % 未満、二価イオン生成比が 1.5 % 未満になるようにしました。付加体標準物質の定量は Pt 測定により行い、インジウム (500 ug/L) を内部標準に使用しました。内部標準は、T 字コネクタを用いて、オンラインで導入しました。m/z 194、195、196 の同位体の和を用いた場合のトータル Pt 濃度のメソッド 検出下限値 (LOD) は、1.0 ng/L でした。

患者の血液サンプルおよび白血球の前処理

レスターシャー州研究倫理委員会から、この研究に対する倫理面での許可を得たうえで、研究実施前に、各患者から書面によるインフォームドコンセントを得ました。シスプラチン治療の直前と治療 1 時間後に、各種の癌の治療を受けている患者から、血液 (約 10 mL) を採取しました。

全血サンプルからの DNA の抽出には、Qiagen 製血液・細胞培養キット (Maxi Tip 500/G) を使用しました。

HPLC-ICP-MS 分析に用いる DNA 付加体の分離

DNA サンプルにおけるシスプラチン DNA 付加体の分離に用いた手法の詳細については、参考文献 1 を参照してください。

HPLC-ICP-MS 手法とデータ解析

研究に使用した HPLC-ICP-MS システムは、オートサンブラを備えたクォータリポンプ (Waters Alliance 2690 分離モジュール) と、各種の注入ループを備えたインジェクタで構成されています。ただし、研究をつうじて、注入量は 20 uL (DNA 20 ug に相当) で一定としました。内径 0.064 mm の PEEK チューブのショートピースを用いて、HPLC カラムを 7500ce コリジョンセル ICP-MS システム (Micro Mist ネブライザを使用) に接続しました。サンプルの分析には、シリカベースの逆相カラムを使用しました。クロマトグラムの解析には、ICP-MS クロマト解

析ソフトウェアを使用しました。その後、採取したデータを、Microsoft Office Excel を用いて処理し、付加体の検量線と最終濃度を算出しました。

結果と考察

1,2-GG シスプラチン標準物質の キャラクタリゼーション

リテンションタイム 26~30 分に C18 HPLC カラムから溶出した白金含有フラクションを採取し、ネガティブ ESI-MS/MS を用いて、化合物構造を測定しました。

HPLC-ICP-MS を用いて、他の白金含有成分が含まれているかどうかを調べ、存在する Pt 含有化合物は 1 種類のみであることを確認しました。AG 付加体はフラクション中に認められませんでした。このことから、使用した HPLC 精製条件により、2 つの化合物を効果的に分離できたことがわかります。ICP-MS 単体を用いてトータルの白金濃度を測定し、分離したフラクション中の付加体の濃度を測定しました。Pt 濃度が最も高かったフラクションを、検量線用標準溶液として、その後のサンプル分析に用いました。

メソッド再現性の評価

一般的に、臨床サンプルは 1 回の測定に使用できる量の DNA (100 ug) しか抽出できません。本実験では、治療後の患者から血液サンプルを採取し、付加体の抽出および臨床サンプルの測定メソッドの再現性評価に使用しました。このケースでは、抽出、付加体の分離、分析測定のプロセスをつうじて、5 つの 100 ug DNA サブサンプルを分析することが可能でした。サンプルにおける 1,2-GG シスプラチン付加体の平均濃度は、DNA 1 ug あたり Pt 203.9 fg で、分析値は DNA 1 ug あたり Pt 169~239 fg でした。つまり、DNA 1 ug あたりのふれ幅は、Pt 70 fg ということになります。この値は、このメソッドを用いて臨床サンプルにおける Pt 製剤の調査をするのに十分な再現性です。特に、使用したサンプル量が少なく、測定に伴うサンプル抽出および付加体分離の手法が複雑なことを考えれば、この再現性は良好なものといえます。ヒトサンプル (14 %) の繰り返し分析における精度 (CV %) は、前実験として本手法の評価に用いた CT-DNA (11~34 %) および細胞株 DNA (13~24 %) モデルの場合よりも、わずかに優れていました。CT-DNA は通常、塩基対の数が異なる DNA の混合物であり、塩基対の数の違いは、このモデルを用いた場合の変動に相当するものですが、抽出したばかりのヒト DNA は、実際はそれよりも均質です。

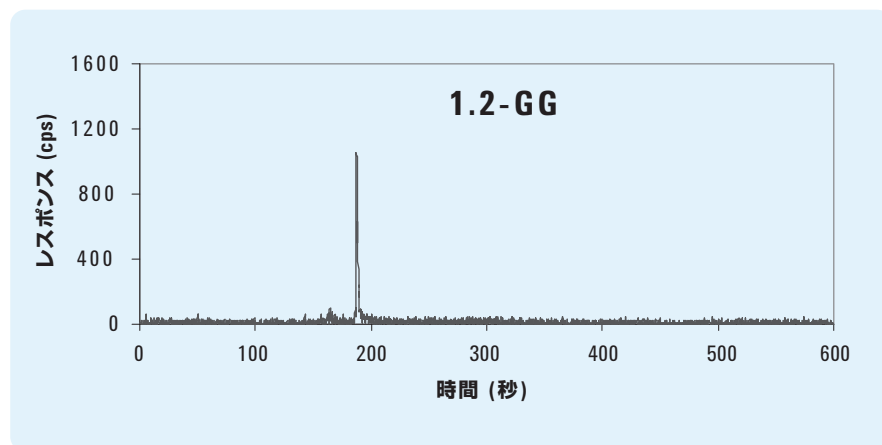


図 1. ヒトサンプル HR-A 中のシスプラチン DNA 付加体濃度を測定した HPLC-ICP-MS 結果。
シスプラチン治療 1 時間後にサンプルを採取。レスポンスは ^{195}Pt のもの

ヒト血液サンプル中の 1,2-GG シスプラチン付加体の測定

他の化学療法薬と併用してシスプラチン (60 mg m^{-2}) 治療を受けている 8 人の癌患者の同意を得て、分析用の血液サンプルを採取しました。サンプルは薬剤点滴前に 1 回、1 時間後に 1 回の計 2 回採取しました。血液サンプルは冷凍保存し、ただちに近くの研究所へ運び、そこで分析のための前処理を行いました。サンプル採取日に細胞核を分離し、 -80°C で一晩保存しました。翌日、核をバッファに再懸濁し、DNA 付加体を抽出および精製しました。すべてのサンプルの前処理が終わり、1 つのバッチとして HPLC-ICP-MS で分析できるようになるまで、患者の DNA 付加体サンプルを -80°C で保管しました。

治療前に採取したヒトサンプルにおける DNA 付加体の分析結果では、8 人の患者中 2 人で、LOD より低い濃度の微量の 1,2-GG 付加体が検出されました。その他のサンプルでは、1,2-GG シスプラチン付加体はまったく検出されませんでした。治療 1 時間後に採取したサンプルでは、8 人の患者すべてにおいて、検出可能な量の 1,2-GG シスプラチン付加体が含まれていました。患者サンプルの分析結果の一例を図 1 に示します。また、ヒトサンプル中の付加体濃度を表 1 に示します。この付加体の分析結果は、すべて LOQ (検出下限) 値を上回っており、このことは、本メソッドを臨床分野で使用できることを示しています。

サンプル	癌の種類	治療法	サンプル採取時期	1,2-GG シスプラチン、DNA 1 ug あたりの Pt [fg]
MD-A	胃癌	ECX	サイクル 1	113
DA-A	胃癌	ECX	サイクル 1	257
WH-A	胃癌	ECX	サイクル 1	1245
BM-A	胃癌	ECX	サイクル 2	343
DB-A*	胃癌	ECX	サイクル 3	146
CW-A	食道腺癌	ECX	サイクル 1	214
DD-A*	食道腺癌	ECF	サイクル 3	237
HR-A	初期の腺癌 (部位は不明)	ECX	サイクル 2	252

表 1. シスプラチン治療 1 時間後に採取したヒトサンプルにおけるシスプラチン DNA 付加体濃度 ($n = 1$)。星印 (*) は、治療前のサンプルで 1,2-GG シスプラチン付加体が検出された (ただしメソッド LOD 未満) 患者を示す。ECX 治療は、エヒルピシン (50 mg m^{-2})、シスプラチン (60 mg m^{-2})、カベシタピン (625 mg m^{-2}) によるもの。ECF 治療は、エヒルピシン (50 mg m^{-2})、シスプラチン (60 mg m^{-2})、5-FU (200 mg m^{-2}) によるもの

各患者のサンプル間では、明らかなばらつきが見られます。1, 2 および 3 サイクル目の治療を受けている患者 7 人においては、DNA 1 ug あたりの Pt 量は、113~343 fg でしたが、初めて治療を受けた 1 人の患者では、DNA 1 ug あたり Pt1245 fg という最大量の付加体が検出されました。シスプラチン点滴前に採取したサンプルに、検出可能な量 (ただしメソッド LOD 未満) の 1,2-GG 付加体が含まれていた患者 2 人 (DD-A および DB-A) は、いずれも 3 回目の治療サイクルの最中でした。

この研究の臨床上の重要性についてはまだ評価の途中ですが、本メソッドを使えば、1,2-GG シスプラチン付加体形成の状況をもとに、患者を区別できることがわかりました。さらなる研究により、精度の高い付加体測定手法と多数のサンプルを用いて、測定 of のばらつきを低減し、治療反応のある人とならない人を区別する性能を高めたいと考えています。

結論

白金ベースの化学療法薬の細胞毒性効果は、細胞 DNA と薬剤との反応から生まれるものです。この研究では、酵素分解と HPLC-ICP-MS 測定をもとに、再現性と特異性の高い、堅牢かつ高感度の分析メソッドを開発およびバリデーションしました。このメソッドを使えば、シスプラチン治療を受けている患者の白血球から抽出した 1,2-GG シスプラチンインターストランド架橋の検出および定量が可能です。

参考文献

1. Chris F. Harrington, Rachel C. Le Pla, George D. D. Jones, Anne L. Thomas and Peter B. Farmer. Chemical Research in Toxicology 2010 ; 23 (8) : 1313-21.

Agilent 7700 シリーズ ICP-MS の新製品： 7700e ICP-MS および MassHunter ソフトウェア 新リビジョン

Ed McCurdy、

ICP-MS プロダクトマーケティング、
アジレント・テクノロジー

新しいリビジョンの

**ICP-MS MassHunter ソフトウェアが
7700 シリーズ用にリリースされました。
使いやすさ、機能、生産性といった
多くのメリットを実現します。**

新しいリビジョンの ICP-MS MassHunter は、2010 年 10 月以降の新しい 7700 シリーズにインストールされています。また、既に 7700 シリーズをお使いのお客様もアップグレードして利用することができます。この新しいリビジョンは、機器の制御、メソッドの設定、自動分析の新しいインタフェースを提供します。このリビジョンはルーチン分析における使いやすさと機能に重点を置いて開発されました。製品構成として次の 2 つの異なるバージョンがあります。

- 7700e ICP-MS で標準として提供される「コア」バージョン
- 7700x および 7700s モデルで提供される「フル」バージョン

7700e は、7700 シリーズのラインアップに新たに加わったもので、高いレベルの自動化が必要となる多くのルーチンアプリケーションにコストパフォーマンスの高いソリューションを提供します。7700e に搭載される、コアバージョンの MassHunter は、シンプルで操作しやすいソフトウェアインタフェースを提供します。将来、ラボで高度なアプリケーション向けにさらなる拡張性が必要になった場合はフルバージョンにアップグレードすることができます。

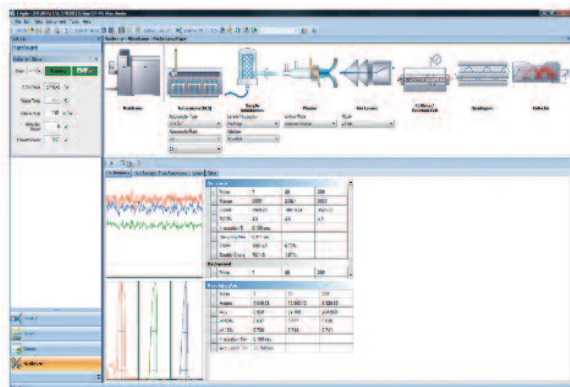


図 2. ハードウェア

MassHunter の主な特長

7700 シリーズ ICP-MS の最新バージョン MassHunter ソフトウェアは、新しいグラフィカルユーザーインタフェースを搭載しています。このインタフェースでは、システム操作の各段階で必要となる重要な情報が 1 つのウィンドウに一覧できるように表示されます。従来の MassHunter のデータ解析画面に加えて、新しいソフトウェアの主要なペイン (画面) には次のものがあります。

- **スタートアップ。** プラズマを点火したあとに、ハードウェアの最適化と性能チェックを実行することができます。
- **ハードウェア。** ハードウェア機能の設定および制御のための統合された 1 つのウィンドウを提供します。
- **バッチ。** バッチペインには、個々の分析またはサンプル分析に必要なすべての情報が含まれます。
- **キュー。** バッチの状態と現在のサンプル測定の状態をリアルタイムで表示します。

これらの各ペインの主な機能について、次に概要を説明します。

スタートアップ

新しい MassHunter ソフトウェアのスタートアップ機能によって、プラズマを点火したあとに自動的に実行できる、ユーザーが設定可能なハードウェア最適化タスクが提供されます。この自動化されたシンプルなアプローチにより、すべてのハードウェアシステムの最適な動作が保証され、機器の性能が継続的に記録されます。スタートアップを使用することで、常に一貫性のある、オペレータの経験に左右されない性能が確保されるため、この機能は多くの分析者が携わる稼働率の高いラボで特に有効です。

図 1 に示す例では、サンプル導入のルーチンメンテナンス後に実行する可能性のあるハードウェア最適化タスク用にスタートアップが構成されています。トーチ軸 (トーチの水平および垂直方向のアライメント) およびプラズマ補正の実行後にパフォーマンスレポートが生成されます。

図 1. スタートアップ

ハードウェア

ハードウェアペインには主要なシステムコンポーネントのグラフィックが含まれ、システム構成、個々のサブシステムの最適化およびメンテナンス、アーリーメンテナンスフィードバック (EMF)、診断、パフォーマンスレポート (図 2 を参照) など、すべてのハードウェア機能のユーザーインタフェースが表示されます。システム設定、メンテナンス、および診断のすべての機能に 1 つのユーザーインタフェースを使用することで、システムの動作に関するすべての情報にいつでも容易にアクセスすることができます。

パフォーマンスレポートには、主要なシステム性能パラメータ (感度、酸化物、バックグラウンド、質量キャリブレーション、分離能など) がグラフィック表示されます。レポートビューには履歴ビューも含まれ、システム性能の経過を監視することができます。システム性能に加えて、パフォーマンスレポートには現在のすべての調整および測定値も保存され、システムの動作パラメータの設定が記録されます。

異なるシステムハードウェアモジュール (別のオートサンプラや LC/GC モジュールなど) を選択すると、機器のグラフィックが自動的に更新されます。

バッチ

バッチペインには、ペリポンププログラム、チューンモード、取り込みパラメータ (図 3 を参照)、サンプルリスト、データ分析 (キャリブレーション) パラメータなど、サンプル分析に必要なすべての情報が一度に表示されます。これらのすべてのパラ

メータがバッチに保存され、以降のサンプル分析で使用するために呼び出すことができます。

バッチの概念により ICP-MS MassHunter プラットフォームの機能が大幅に向上されます。これは、ファイル管理が簡素化され、通常の、またはルーチンのサンプル分析に一貫性のある情報を使用することができるからです。新しいバッチは、ブランクのテンプレート、既存のバッチ、またはソフトウェアに付属の一連のプリセットメソッド (事前に設定されたメソッド) から作成することができます。プリセットメソッドは、多くの一般的なアプリケーションに関するすべての重要なパラメータをはじめから備えた MassHunter の優れた革新技術です。

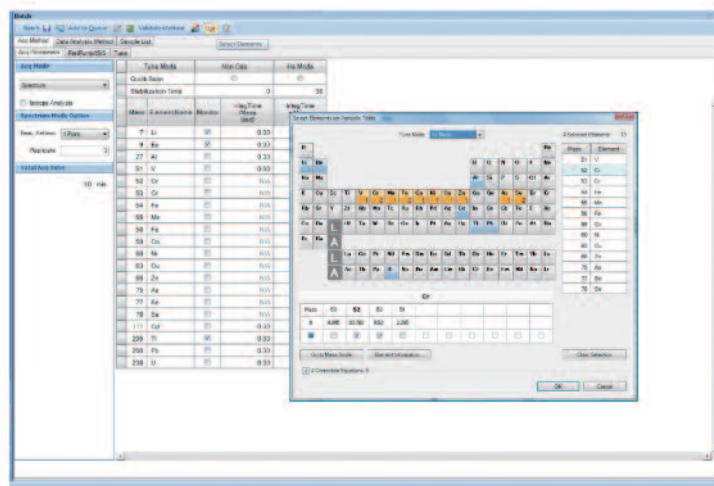


図 3. データ採取パラメータ

いくつかの質量の信号が、次の取り込みまでの期間に表示されます。目視によるリンスの確認に加えて、この機能により、

自動分析のどの時点でも、サンプルの途中追加など、現在のサンプルリストの編集が可能です。また、スケジュールされたタスクやキューで待機しているバッチを移動、編集、削除することもできます。

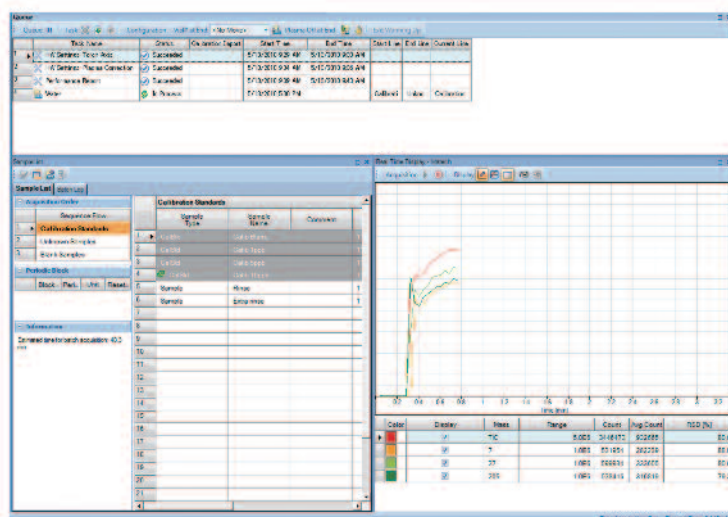


図 4. キューおよびシグナルモニタ

7700 のプリセットメソッド独自の機能として、プリセットプラズマ条件 (事前に設定されたプラズマ条件) の使用があります。各機器に合わせて自動的にキャリブレーションされた「プラズママップ」に基づいて、低/中/高マトリックスサンプルに適した設定を事前に選択し、繰り返し使用することができます。

次のサンプルが安定した信号状態に達したことを測定を開始する前に確認することができます。

データ解析

以前のバージョンの ICP-MS MassHunter ソフトウェアで搭載されたデータバッチテーブル画面は、新しいバージョンでも継承されています (図 5 を参照)。さらに、データ解析メソッドとバッチが統合されました。

最新リリースの MassHunter のデータ解析モジュールに追加されたもう 1 つの新機能として、クイックスキャン機能があります。クイックスキャンはバッチの各サンプルについて質量スペクトル全体を迅速に取り込むことができ、すべてのサンプルのすべての元素に関する半定量またはスクリーニングデータを自動採取します。これは、サンプル組成が未知の場合や、メソッドで定量されない元素の存在量を確認したい場合などに非常に便利な機能です。

キュー

キューには、個々のハードウェアタスク (起動時に実行される性能チェックなど) と、実行待ちのバッチのリストが含まれます。すべてのペインと同様に、キュー画面はユーザー構成が可能です。デフォルトのレイアウト (図 4 を参照) には、キュー (待ち行列) のリスト、現在のバッチのサンプルリスト、現在のサンプルのリアルタイムの表示が含まれます。

図 4 には新しいモニタ機能も含まれます。この機能によって、ユーザーが選択した

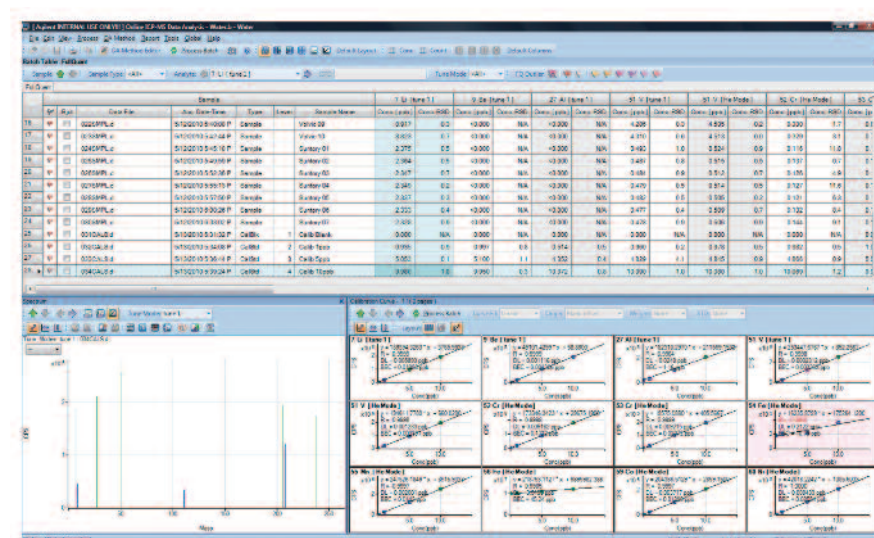


図 5. データ解析バッチビュー

HPLC-ICP-MS による プラスチック中の臭素系 難燃剤の測定

John Entwisle および Heidi Goenaga-Infante

LGC Ltd, イギリス, テディントン

はじめに

臭素系難燃剤 (Brominated flame retardants, BFR) は主要な難燃剤グループで、電気機器、織物、自動車の外装などのプラスチック/ポリマ材料に添加されてきました。BFR は、付加する臭素の数が異なるペンタ体、オクタ体、デカ体の混合標準液として販売されています。

ここでは、ポリ臭素化ビフェニル (PBB) とポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) の 2 種類の化合物グループが主に分析対象となります。化学的には、PBDE はジフェニルエーテルの水素原子が最大 10 個まで臭素原子と置換した芳香族化合物です。PBB は、PCB の塩素が臭素に置き換わった同族体です。

ヒトの神経に対する毒性および内分泌の攪乱の懸念があるとして、PBB と PBDE は有害物質規制 (RoHS) 指令 (2002/95/EC) および電気/電子機器の廃棄処理規制 (WEEE) 指令 (2002/96/EC) の対象となりました。欧州連合の委員会決定 2005/618/EC では、プラスチック中の PBDE と PBB の総量を 1 g/kg (0.1 %) までと指定しています [1]。

プラスチックに含まれる BFR を正確に測定するには、重大な課題がいくつもあります [2]。これらの課題としては、分析上妨害する化合物が抽出操作時に目的成分と一緒に抽出されてしまうことや、熱や紫外線によって BFR が分解するため、化合物の形態を維持しながら効率的に抽出を行う難しさなどが挙げられます。

最近実施された国際比較 (CCQM-P114) で、プラスチックに含まれる PBDE の測定手法を評価した結果 [3]、GC-MS 法は BFR 分析の最も一般的なメソッドですが、気相を分離する過程でわずかに脱臭素化される可能性があることが明らかになりました。

液体クロマトグラフィーでは分離を室温で行い、従って熱による脱臭素化を最小限に抑えることができるため、GC-MS の代替手法として使用できる可能性があります。

す。図 1 に、PBDE-209 の脱臭素化により PBDE-206 が生成されるメカニズムを示します。

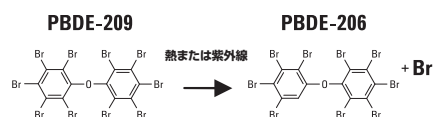


図 1. PBDE-209 の脱臭素化による PBDE-206 の生成

この実験では、高速溶媒抽出 (accelerated solvent extraction, ASE) メソッドを使用して、選択した BFR (PBDE 47、183、206、209 および PBB-209) をプラスチックから抽出しました。トルエンを抽出溶媒として使用し、HPLC-ICP-MS を使用して BFR を分離し、検量線法により定量しました。このメソッドは、欧州標準物質、ERM-EC591 により検証されています。

実験手法

サンプル前処理

ERM-EC591 (ポリプロピレンペレット) を、遠心ミル (タイプ 17-140 Glen Creston Ltd, イギリス, ロンドン) を使用して低温粉碎し、0.5 mm のふるいを通しました。この試料は -20 °C で褐色バイアルに保管しました。高速溶媒抽出には AS200 (Dionex Ltd, イギリス, キャンバリー) を使用し、90 °C で化合物を抽出しました。約 0.1 g のサンプルを 1 cm³ のセルを用いて正確に秤量しました。オタワ砂 (Fisher Scientific Ltd, イギリス, ロンドン) を分散剤として使用し、セルロースフィルタをセルの一端にセットしました。抽出溶媒としては、トルエン (Fisher Scientific Ltd, イギリス, ロンドン) を使用しました。さらに、ASE 抽出によって得られた試料を正確に秤量しました。

試薬および標準物質

PBDE 47、183、206、209、および PBB-209 の単体の 50 ug/mL 同族体標準溶液を LGC Standards Ltd (イギリス, テディントン) から購入しました。標準物質と ERM-EC591 の抽出物はそれぞれ、内部標準溶液 (社内で精製した 9-ブロモアントラセン、40 mg/kg) を使用し、体積比で 1:1 に希釈しました。

HPLC-ICP-MS 分析

HPLC-ICP-MS システムは、Agilent 1100 HPLC と Agilent 7500ce ICP-MS とを接続して構成しました。ICP-MS の測定条件を表 1 にまとめます。同族体の分離は、Phenomenex (イギリス, マックルズフィールド) 製の Luna フェニルヘキシルカラム (3 μm、内径 2 mm、長さ 100 mm) を用い、メタノールのグラジエント (82~93 % (v/v) MeOH、60 分間) を使用して、流速 0.18 mL/min で行いました。大量のメタノールを ICP に導入することで生じる問題 (コーンに対する炭素の沈着、プラズマの不安定性など) を最小限に抑えるために、スプレーチャンバを -5 °C に維持し、RF 電源の出力を上げ、オプションガスとして酸素を添加しました (表 1 を参照)。BFR の定量はピーク面積の和 (m/z 79+81) を用い、9-ブロモアントラセンを内部標準として検量線法で行いました。

ネブライザ	Agilent MFN
コーン	Pt サンプリングコーン、Pt スキマーコーン
RF パワー (W)	1540
キャリアガス、アルゴン (L/min)	0.66
メイクアップガス、アルゴン (L/min)	0.19
オプションガス流量	酸素 (100 mL/min) バルブを 5 % に設定
スプレーチャンバ温度 (°C)	-5
測定パラメータ	
m/z	79Br, 81Br
ポイントあたりの積分時間 (秒)	0.75
トータル測定時間 (分)	60

表 1. ICP-MS の分析条件

結果と考察

ERM-EC591 のトータル臭素含有量

PBDE-47 (純度は LGC にトレーサブル) を検量線用標準として使用し、臭素のピークをすべて合計することにより、抽出物の総臭素含有量を計算しました。認証値から、トータル臭素についての回収率は平均で 102 %, RSD 2.5 % (n=6) となりました (2.08 g/kg、拡張不確かさ (k=2) 0.07 g/kg)。

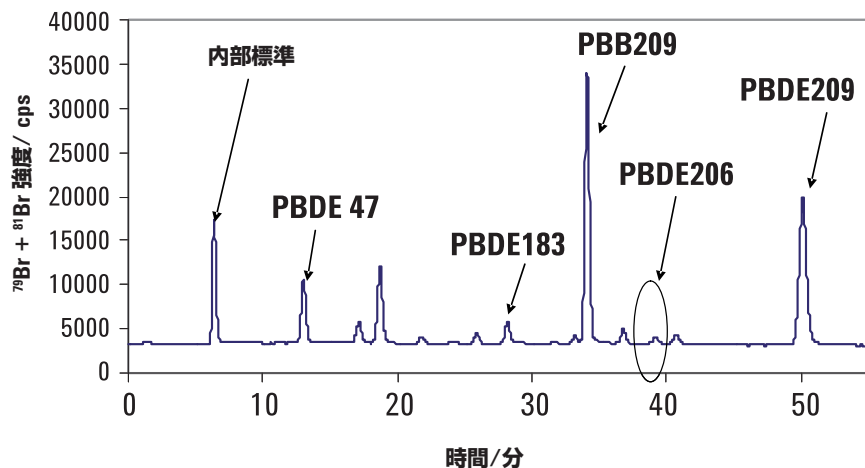


図 2. ERM-EC591 抽出物の HPLC-ICP-MS クロマトグラム

HPLC-ICP-MS による ERM-EC591 中 BFR の定量

以上に述べた手法により、ERM 標準物質中の PBDE 47、183、206、209、および PBB-209 の定量分析を行いました。図 2 に、ERM-EC591 抽出物の HPLC-ICP-MS クロマトグラムを示します。PBDE 47、183、209、および PBB-209 の回収率の平均値は、表 2 に示すように 93.6~105.6 % でした。ここで興味深いのは、PBDE-206 の回収率が比較的低いことです。この化合物については認証値がないため、回収率は、この物質の認定時に GC に基づく手法によって得られた参照値に基づいて計算されています。参照値はわずか 4 つのデータに基づいて計算され、平均値の広がりによる

関連する不確かさは 18 % となりました [3]。前述のように、GC による BFR の分離の際に、PBDE-209 の脱臭素化によって PBDE-206 が生成されます。これが、論文にある参照値 [3] と、ここで説明する LC に基づく方法によって PBDE-206 について得られた値の差の要因となります。

結論

高速溶媒抽出と、HPLC を使用した四重極 ICP-MS および外部検量線法による定量の手法について、開発および検証を行いました。その結果、本手法は数十~数百 mg/kg レベルでプラスチックに含まれる PBDE および PBB を正確に定量できる、便利で有望なツールであることがわかりました。

	PBDE 47	PBDE183	PBB209	PBDE206 ^a	PBDE 209
認証値 (g/kg)	0.245	0.087	0.748	0.030	0.78
認証不確かさ (g/kg)	0.023	0.008	0.08	0.011	0.09
測定値の平均 (g/kg)	0.259	0.081	0.725	0.021	0.793
標準偏差、n = 6 (g/kg)	0.006	0.006	0.034	0.001	0.021
平均回収率 (%)	105.7	93.1	96.9	70.0	101.6
標準偏差 (%)	2.4	6.8	4.5	3.3	2.7

表 2. ERM-EC591 中の BFR の結果。*EC591 の認証値ではない [3]。また、認証不確かさではなく s (n = 4)。

参考文献

1. Commission Decision 2005/618/EC. Off J. Eur. Comm. L., 2005, 214, 65.
2. T. P. J. Linsinger, S. Voorspoels, A. Liebich; Anal. Bioanal. Chem., 2008, 390, 399.
3. R. Zeleny et al. Anal. Bioanal. Chem., 2010, 369, 1501.

新しい アジレント原子分光装置



ICP-MS 市場をリードしてきたアジレントに、原子分光分析の分野において最高のソリューションが揃いました。2010 年に世界的に定評の高いバリアンの AA および ICP-OES 製品をラインナップに加えたことで、より充実した無機分析装置をお客様にお届けできるようになりました。詳細はホームページをご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

国際会議、ミーティング、セミナー

2011 分析展

2011 年 9 月 7 日～9 日、幕張メッセ、千葉

<http://www.jaimasis.jp/2011/index.html>

Agilent ICP-MS 文献

最新の資料の閲覧、ダウンロードは、www.agilent.com/chem/jp の「ライブラリ」から検索してください。

- PR 記事：7700x と HMI および ISIS-DS を用いた岩石分解物のハイスループット分析 (High Throughput Analysis of Rock Digests using the 7700x with HMI and ISIS-DS), 5990-6783EN
- PR 記事：ヘリウムモードの拡張により、ICP-MS の干渉除去を向上 (Enhanced Helium Mode Cell Performance for Improved Interference Removal in ICP-MS), 5990-6634EN
- PR 記事：7700 シリーズ ICP-MS 用の新しい MassHunter Workstation ソフトウェア。使いやすさ、生産性、性能 (New MassHunter Workstation Software for the 7700 Series ICP-MS. Ease-of-use. Productivity. Performance), 5990-6416EN
- PR 記事：Agilent 多変量解析ソフト(Mass Profiler Professional) を用いた 7700 シリーズ ICP-MS のデータ評価、5990-7577JA.JP

Agilent ICP-MS ジャーナル編集者

Karen Morton、アジレント・テクノロジー
E メール: icpms@agilent.com

本文書に記載の情報は、予告なく変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2011
Printed in Japan. August 31, 2011
5990-6875JAJP



Agilent Technologies