

# 化学分析における基礎技術の重要性 (3)

## Importance of Basic Technique on Chemical Analysis (3)

### — 微量分析における汚染源の特定とその対策 —

関東化学株式会社 草加工場 検査部 井上 達也  
TATSUYA INOUE

Department of Inspection, Soka Factory, Kanto Chemical Co., Inc.

#### 1. はじめに

ISO 17025や各種GLPなどの認定取得において、試験データの信頼性が問われることが最近一般的になりつつある。妥当性確認をされた公定試験法であっても、それを用いる試験所ごとにデータの信頼性が異なることが多い。一般的に、データの信頼性は使用する設備機器の性能とその保守管理、試験要員の熟練度、使用する試薬類の純度とその管理、それぞれの取扱いやサンプリング、器具洗浄などの作業標準類等いわゆる4Mのレベルに左右される。特に微量分析の場合、汚染源の特定とそれらへの対策がきわめて重要な課題となる。本稿では、我々が今までに経験した汚染源に関する情報を紹介し、微量分析の基礎技術習得の一助となることを期待する。

#### 2. 試験室に運び込まれる汚染

試験室に運び込まれる汚染は、汗や唾液等の人体が発する物質、衣服に付着している物質、化粧品を介して持ち込まれる物質及び靴底に付着して持ち込まれる物質等が主流である。

##### 2.1 人体が発する汚染物質

人体が発する汚染物質の代表は、汗と唾液であるが、ナトリウム等これらに多く含まれる元素はほぼ定常的に検出される。しかし、それ以外の元素は分析結果が毎回大きく異なり、摂取した食品の影響も強く受ける。

化粧品の類による汚染では、次のような経験がある。

ある試験要員の試験結果が、常にナトリウムと亜鉛の2項目で他者に比べ高い値を示したことがあった。その試験要員の動作を一部始終観察したが、当初は他者と異なる操作は認められなかった。しかし、何回か観察するうちに頭を指で搔く癖があることに気付き、その試験要員の髪を超純水で洗い、その洗浄液を筆者自身のそれと比較した結果、亜鉛が高いことが判明した。この試験要員の整髪料や洗髪料等を調査したところ、シャンプーに亜鉛が含まれていることが明らかとなった。この他にも制汗剤に含まれる銀をはじめとして様々な化粧品に含まれる金属化合物の汚染事例があるが、これらの汚染要因は服装や操作、こまめな手の洗浄等の規制によりある程度防止することができる。

表1. 吸着マットに吸着された金属元素

元素	ng/cm <sup>2</sup>	元素	ng/cm <sup>2</sup>
Fe	1800	Mn	28
Na	1500	Cr	27
Ca	930	Sr	22
Zn	870	B	15
Al	400	Cd	<10
Mg	260	Co	<10
Si	200	Li	<10
Cu	81	Bi	<10
Ni	73	Mo	<10
Ba	58	V	<10
Pb	49	Be	<10
K	33		

## 2.2 靴底に付着して持ち込まれる汚染物質

最近では、試験室の入り口に靴底の汚れを室内に持ち込ませないため吸着マットのが設置が普及している。試験室入り口に設置したゴム製吸着マットに吸着された元素の測定例を表1に示す。

サンプリングは、使用済みのマットの中央部分10cm四方を被検試料とし、事前に酸で洗浄し超純水を染込ませたる紙(5種C)で拭きとることにより行った。そのろ紙を酸で洗浄して金属を抽出し、ICP発光分析で定量した。こうしたデータを解析することで汚染源を特定することが可能となる。表1の場合、多く捕獲された元素はセメントの成分である $\text{SiO}_2$ 、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ 、 $\text{CaO}$ 、 $\text{MgO}$ あるいは天井材として使用される石膏ボード成分、アルミサッシ成分等と一致する傾向にある。また、塗料の成分である亜鉛もしばしば検出される。鉄については意外な盲点があり、シューズボックスが汚染源である場合がある。試験室に入る際、通常室外履きと室内履きを履き替えるが、同じシューズボックスに両方を入れる場合、金属製のシューズボックスでは、雨に濡れた室外履きを入れておくとかなり早い時期から錆が発生し、室内履きに金属汚染が伝播してしまうので無視できない対策点といえよう。一方、陰イオンについて検証したところ、表2に示す陰イオンが検出された。

表2. 吸着マットに吸着されたイオン

イオン	ng/cm <sup>2</sup>
$\text{Cl}^-$	7000
$\text{NO}_3^-$	3500
$\text{SO}_4^{2-}$	5700

サンプリングは、使用済みのマットの中央部分10cm四方を被検試料とし、事前に超純水で洗浄し超純水を染込ませたる紙(5種C)で拭きとることにより行った。そのろ紙を超純水で洗浄しイオンを抽出して、イオンクロマトグラフで定量した。

観測されたイオンは、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ など最も一般的なイオンばかりであった。これらの実験は、いずれもマット洗浄後5日間放置後のデータである。

以上のように、試験室には常に外部からの汚染が侵入する危険性があるため、試験要員は可能な限り汚染物質を持ち込まないよう心掛けることが重要である。吸着

マット等の使用は大変効果的であるので、分析施設の各所入口に設置されるよう推奨したい。

## 2.3 新設のクリーンルームやクリーンベンチから発生する汚染物質

一般の試験室のみならずクリーンルームでも室内で表1の上位7元素が観測される。過去の経験では、新設したクリーンルームでは稼働当初にこれらの元素が顕著に観測されることが多い。例えば、エアークリーン・パーティクル・カウンタでは何らの異常も検出できないが、放置法で金属汚染を調査すると前記の元素が観測され、日を追うごとに減少するもののその速度が極めて遅いといった現象に遭遇することがある。即ち、エアークリーン・パーティクル・カウンタでは検出できない更に微細な塵埃が室内に残留しているため、このような状態がしばしば見られる。設置工事中に飛散したコンクリートや金属等の極微粉末が壁に付着し、これらが徐々に剥がれ落ちてくるものと考えられ、その対処として壁を洗浄したり拭き掃除すれば汚染レベルを劇的に下げることができる。

図1は、クリーンルーム設置後運転を開始し、室内のカルシウムが低下していく過程を測定したグラフである。初回の測定値を100として放置法により経時変化を追った。Caの低下が遅いため、15日目に壁の洗浄を実施したところ顕著な効果が認められ、Ca汚染が壁に付着した成分に起因していることが判明した。

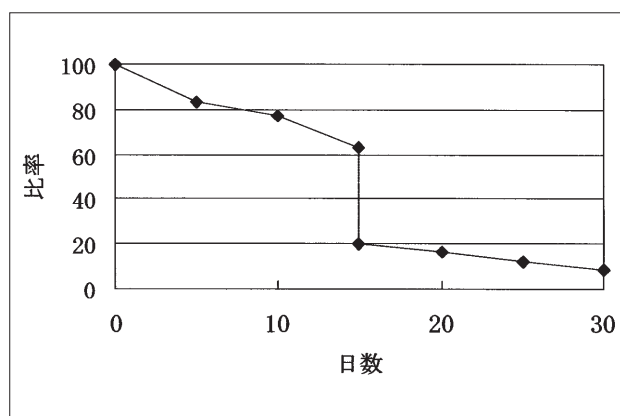


図1. 新設クリーンルーム内のCaの変化

同時に他の成分も似た挙動を示した。この結果は、ICP質量分析装置が、クリーンルームに1台設置されている状況下での観測例であり、室内に各種装置、機器が更に設置されている場合には、更に複雑な観測結果とな

ろう。クリーンルームだから安心して運用できるわけではないという事例であるが、施設の適合性評価がいかに重要であるかお分かりいただけます。

### 3. 室内で発生する汚染

我々の試験室では、試薬の分析を中心とした試験を実施している。試薬の試験では塩酸、硝酸を用いた比色、比濁分析あるいは加熱分解、蒸発乾固等の操作が頻繁に行われている。当然のことながら、これらの酸による室内汚染が気になる点である。そこで300 mLのガラス製ビーカーに酸性ガスの吸収液として超純水300 mLを入れ、試験室に放置した後その吸収液をイオンクロマトグラフで分析し、その経時変化を追った。

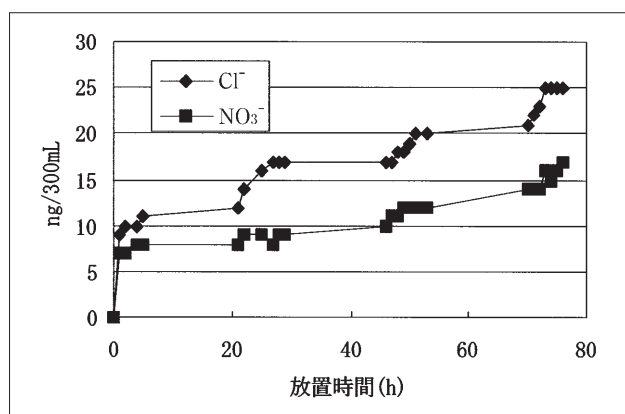


図2. 試験室内の陰イオンの変化

図2にその結果を示す。Cl<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>の吸収量、即ち室内の塩酸や硝酸ガスによる汚染は、時間の経過と共に進行していることが分かる。この汚染は作業時間帯(日中)に集中し、作業をしていない時間帯(夜間)では少ない様子が伺える。

図2中、初期の段階では、イオン吸収量が多く認められたが、これはハングリーウォーター(炭酸を含めイオンを含まない水)の効果によるものと思われる。

また、試験室のガラスは、長らく清掃を怠ると白くなることがある。溶剤を多く使用する試験室では別であるが、ほとんどの場合、試験室で使用した塩酸、硝酸、酢酸のアンモニウム塩が付着していることが多い。図3はガラスの付着物を超純水で洗い、その液をイオンクロマト

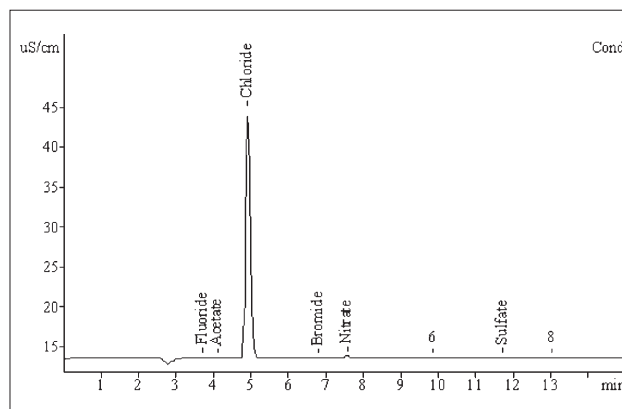


図3. ガラスに付着した成分のイオンクロマトグラム

グラフで分析した結果である。先にも述べたように試薬の試験では塩酸とアンモニア水の使用が多く、その状況によく一致した結果が得られた。

また、稀にはあるが、分析機器間での汚染も起きる。実際にイオンクロマトグラフのすぐ脇にpH計を設置した場合、塩化物イオンのブランクが上昇するケースがある。これは、pH電極の内部液及び保管液が塩化カリウム溶液であることに起因する。塩化カリウムは、乾燥再結晶化の際、温度条件及び空調(気流)によっては綿菓子のような軽い結晶となり飛散しやすくなる。試験室において分析装置間の交差汚染にも注意を払う必要があり、その際には空調(気流)と配置を関連付けて考慮しなければならない。

### 4. 各種材質からの汚染

上述の各項では、環境からの汚染について述べたが、容器や器具等試料及び試薬と接触する材質からの汚染は、それを上回るインパクトを与える。最近では頻繁に使

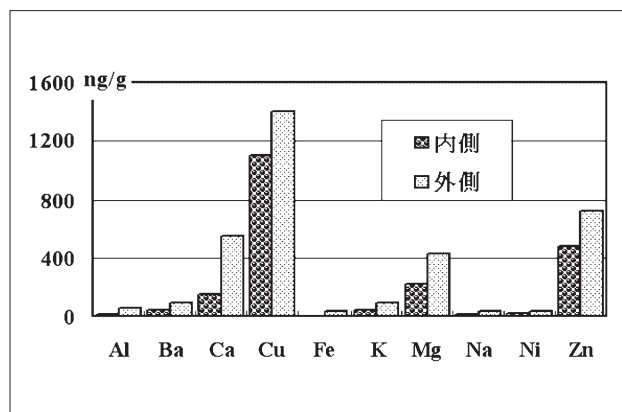


図4. 市販のPFAボトルの金属不純物測定例

用されるようになったPFAに代表されるふっ素樹脂製の容器は、清浄な材質と錯覚されやすいが、実際には多くの不純物を含んでいる。

図4は、市販のPFA製ボトルの側面を切り取り、切り取った試料を表面側と裏面側に二分して切り離し、それぞれを分解処理しICP質量分析で金属を測定した結果である。

一般的にふっ素樹脂製容器は真鍮製の金型で成型されるため、その成分である銅及び亜鉛を取り込んでしまう。特にボトルの外側に多く残存していることがわかる。さらにPFAは多孔質であるためガス透過性が強く、容器の内側だけを洗浄しても外側付近に残存する金属不純物であっても容器の内側に取り込まれる可能性が残り、信頼できる清浄度を維持しにくい傾向を有している。

表3. 容器成型前のPFA粉末に含まれる金属不純物測定例

元素	ng/g	元素	ng/g
Al	7	Li	<5
Ba	<5	Mg	28
Ca	110	Mn	<5
Cd	<5	Na	22
Co	<5	Ni	5
Cr	21	Pb	<5
Cu	6	Sr	<5
Fe	23	Tl	<5
Ga	<5	V	<5
K	<5	Zn	9

表3は、成型前のPFA粉末の測定例であるが、図4の成型された市販品の測定結果と比較すると、成型時の汚染の状況が良く理解できよう。

これらの汚染状況は、金型の管理や成型品のバリ取り

でどのような処理がなされているかなど、複数の要因に支配されている。したがって、ふっ素樹脂製容器は、購入後の洗浄が不可欠な要素である。例えば、マイクロウェーブ分解装置の分解容器はPFAが主流であり、 $\mu\text{g/g}$ レベルの分析には重宝であるが、 $\text{ng/g}$ 付近からの高感度分析では、図4に示すようなブランクの高さを示すので、なかなか信頼性のあるデータが得られず苦労することが多い。その模範として、pptレベルで金属不純物を保証している市販の超高純度酸では、PFA容器に充填して供給されている事例が挙げられるが、このようなテフロン汚染データを踏まえ、大変高度な容器の洗浄技術が投入され、品質が維持されているということがよく理解できよう。一方、ポリエチレン製容器では各種の添加剤が使用され、それらが汚染の要因となることが知られている。

表4にポリエチレン容器に含まれる金属不純物の測定例を示す。カルシウム及びマグネシウムが最も多く含まれ、またアルミニウム及びけい素もしばしば検出される。即ちチグラナーナター系の重合触媒(けい素担体にアルミニウム及びチタン化合物を含む触媒)の残留やさらには着色剤として用いられる銅フタロシアニン(青)、チタン(白)、クロム(緑)等の影響によるものである。これら一連のデータは、各材質に含まれる不純物の例であるが、分析に各種材質の容器や器具を用いる場合、こうした背景を理解し、適切な処理や目的にあった使い方が肝要である。

また、分析の前処理に用いる白金製のろつぼ及び蒸発皿では、しばしば研磨剤による汚染が問題となりやすい。もともと白金器具は成型加工の直後では市販品ほどの輝きは無く、これを研磨して仕上げられるため、研磨剤の残留が分析結果に影響を及ぼす場合がある。アルミニウムのブランクがなかなか下がらないという状況に悩まされた方も多いかと推察しますが、白金器具でもこのような影響の除去を考慮しなければならない。

表4. 市販のポリエチレン容器に含まれる金属不純物測定例

ng/g	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Al	650	93	200	70	1700	40000	2200	29000	1100	12000
Ca	100	90	110	230	200	320	6700	540	310	16000
Fe	100	66	47	33	54	52	77	91	34	120
Mg	53	30	320	88	1500	44000	2400	41000	1400	5200
Na	10	10	200	200	500	450	900	580	430	3700
Si	150	120	190	730	920	930	390	1700	290	1200

さらには加熱器具からの汚染も無視できない事例がある。熱伝導型のホットプレート市販品の多くは本体がアルミニウムで作られており、非常に細かい錆が徐々に発生し、特に本体内部にファンを装備している場合では、微量の汚染を噴出するような状態で引き起こしやすい。こうした場合、金属部の表面を樹脂等でコーティングしたり、本体の材質を樹脂製のものに換えるなど、また表面がガラスセラミック製の赤外線ホットプレートやハロゲンランプホットプレートなどに換えることで、より汚染の少ない分析が可能となる。

## 5. 分析による汚染

水酸化ナトリウムなどのナトリウム塩中の金属不純物を測定する場合、主成分を除去せずに各種の試料をICP質量分析装置に導入することがあるが、そのような場合白金製のスキマーコーンを使用すると、熱伝導の関係で2時間ほどでスキマーコーンの穴がナトリウム塩で塞がれてしまう。その対策としてニッケル製のスキマーコーンを使用することとなるが、この場合、ニッケル製スキマーコーンをステンレス製スキマーベースと組み合わせると銅の汚染が発生し、時として銅の測定が困難となることがあり、このような場合にはスキマーベースを真鍮製にすると汚染が発生しなくなる。このように装置自身の部品の材質によって特異な汚染があるので配慮を要する。また導入系からスキマーベースに至る部品を新しいもので交換し次の測定を実施すれば、効果的に前の試料の影響を除くことができるほか、ICP発光分析の場合では、試料導入前に界面活性剤を注入して汚れを落とす等のテクニックも効果があるので推奨したい。

## 5. おわりに

分析は、常に汚染との戦いといった一面を持っており、その目的を達成するためにいかなる環境下でどのような器具や試薬を用い、いかなる方法で行なうかを確実なものとするのが望ましい。しかし、実際の分析では予期できない汚染に直面することも多く、それらをどれだけ多く認識できるかが重要なポイントとなる。さらには、試験方法の妥当性確認を実施し、かたよりのない結果が得られることを事前に確認しておくことも大切である。

## 高感度アンモニア測定試薬の開発 ※16ページより続く

に、平成16年10月からは専用の検体前処理試薬(シカリキッドNH<sub>3</sub>除蛋白液)を加えて販売中である。

酵素サイクリング法は本稿で紹介した以外にもELISA<sup>10)</sup>やバイオセンサー<sup>11)</sup>などへの応用が検討されている。また、近年盛んに研究されている $\mu$ -TASのような微小空間での微量試料の分析にも有効と思われる。このように酵素サイクリング法は超高感度検出法の一つとして応用性が高いと考えている。

最後に、本試薬の開発にあたり、ご懇篤なるご指導を頂いた旭化成株式会社 診断薬事業部(現旭化成ファーマ株式会社)の皆様に厚くお礼を申し上げます。

## 参考文献

- 1) 上代淑人監訳: ハーパー・生化学 原書25版, 343-350, 2001, 丸善.
- 2) Medical Practice編集委員会編: アンモニア窒素 臨床検査ガイド2001~2002, 234-236, 2001, 文光堂.
- 3) 伏見了, 国沢貴久美, 林長蔵: 採血後のアンモニア上昇に対する研究, 臨床化学, **8**: 311-319, 1979.
- 4) 奥田拓道, 藤井節郎: 血中アンモニア直接比色定量法, 最新医学, **21**: 622-627, 1966.
- 5) 伏見了, 木下憲明, 林長蔵: ドライケミストリーの原理とその評価, Medical Technology, **15**: 984-986, 1987.
- 6) Mondzac A, Ehrlich G E, Seegmiller J E: An enzymatic determination of ammonia in biological fluids, *J Lab & Clin Med*, **66**: 526-531, 1965.
- 7) 山田満廣, 小味渕智雄: 新しい酵素反応系を用いた液状による血液中アンモニアの測定法に関する評価, 日本臨床検査自動化学会誌, **25**: 207-212, 2000.
- 8) 美崎英生: 酵素サイクリング法による高感度測定法の原理, 検査と技術, **27**: 973-980, 1999.
- 9) 加藤尚彦: 基礎生化学実験法(阿南功一ら編) vol 6 生化学的測定, 101-146, 1976, 丸善.
- 10) Johannson A, Stanley C J, Self C H: A fast high sensitive colorimetric enzyme immunoassay system demonstrating benefits of enzyme amplification in clinical chemistry, *Clin Chem Acta*, **149**: 119-124, 1985.
- 11) Hasebe Y, Uchiyama S: Chemically amplified adrenal medulla hormone sensor, based on substrate recycling using tyrosinase and l-ascorbic acid, *Anal Sci*, **9**: 855-857, 1993.