

レーザー質量分析法による最先端元素分析

～宇宙から微生物までの元素代謝を紐解く～

Elemental Analysis using Laser Ablation-Plasma Mass Spectrometry

平田 岳史

Takafumi HIRATA

東京大学大学院理学系研究科地殻化学実験施設

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

TEL: 03-5841-4621

E-mail : hrt1@eqchem. s.u-tokyo.ac.jp

無機質量分析法 (Inorganic Mass Spectrometry) は、狭義には原子あるいは無機成分 (H_2O 、 CO_2 、 SO_2 等) から得られたイオンを質量電荷比に応じて分離・検出するものであり、これまで原子力、地球化学、環境化学等の学術研究分野で活用されてきた。最近の分析装置の飛躍的な性能向上にともない、イオン源から検出器までのイオン透過効率が 20% を超える超高感度な装置や、10 桁を超える広いダイナミックレンジ (信号出力直線性) での元素分析、さらには百万分の 1 程度のごくわずかな同位体組成変化を正確に捉える信号計測技術も実用化されている。さらに強力なプラズマイオン源とレーザー試料導入法を組み合わせることで、数 cm レベルの大面积試料から高速・高感度で元素イメージング情報を取得する技術も実用化されており、無機質量分析法はこれまでの研究分野にくわえ、生命科学研究への応用も加速しており、新たなオミクス研究の基盤技術となりつつある。そこで本発表では、無機質量分析法、特にレーザー試料導入法を組み合わせたプラズマ質量分析計に焦点をあて、その動作原理と、高感度・精密分析性能を活かした最新の分析応用例を通じて、無機質量分析計が持つ分析汎用性および拡張性を議論したい。

1. プラズマイオン源質量分析計 (ICP-MS)

ICP 質量分析計 (ICP-MS) はイオン源に大気圧高温プラズマ (ICP) を用いた高感度かつ迅速な元素分析法である。イオン源が大気圧高温プラズマであることから、様々な試料導入法が応用でき、これが ICP-MS が高い分析拡張性をもつ理由となっている。最も普及している試料導入法は、溶液試料噴霧法 (図 1(a)) であり、水溶液中の微量元素分析や同位体分析が可能である。一方で水溶液試料分析では、試料を酸等で分解・溶液化処理する必要があるうえ、化学処理の過程で分析元素が汚染する可能性

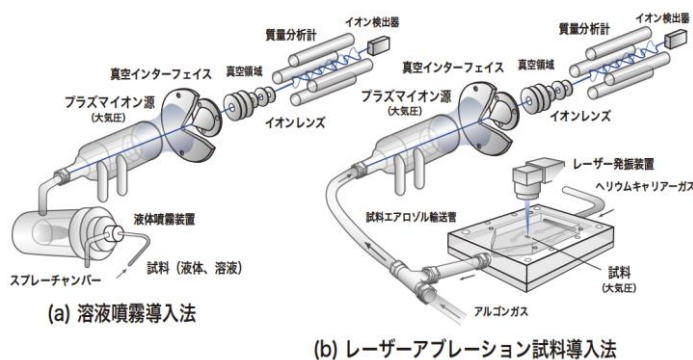


図 1. プラズマイオン源質量分析法の試料導入法

があり、クリーンルーム等の特殊な実験室環境が必要となる。さらに溶液試料噴霧法では、溶媒である水がプラズマに導入されるため、プラズマの温度の低下により、イオン化効率の低下や多原子イオンによる質量スペクトル干渉の発生（例えば $^{56}\text{Fe}^+$ に対して $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ の多原子イオンが、また $^{32}\text{S}^+$ に $^{16}\text{O}_2^+$ が干渉する等）が問題となる。さらに最近ではセラミックス、機能性高分子、レアメタル等の難分解性試料に含まれる超微量元素を迅速かつ低汚染で分析する分析要請が高まりつつある。こうした背景を受け、固体試料を直接分析できるレーザーアブレーション法が注目されている。

2. レーザーアブレーション試料導入法

高エネルギー密度のレーザー光を固体試料表面に照射すると、レーザー光は試料内部にまで侵入し試料内部でエネルギーを放出する。レーザー照射部分の試料温度は 10,000 °C を越え、固体構成元素の気化（一部の元素はイオン化）と試料破片の爆発的放出がおこる。これがレーザーアブレーション (Laser Ablation) 現象であり、固体試料を気化あるいはエアロゾル化することができる。これを ICP 質量分析法 (ICP-MS) の試料導入法として活用したものがレーザーアブレーション—ICP-MS 法 (LA-ICP-MS 法) である (図 1(b))。レーザー光を用いていることから、試料表面を導電性膜でコーティングする必要がなく、試料前処理時の元素汚染が低減できる。また試料は大気圧下で分析されるため、試料交換が容易であり、さらに生体試料等の水分含有量の多い試料の分析にも対応できるという特徴を有する。また、レーザー照射径を絞り込むことで固体試料の特定部位 (2~60 μm 程度の領域) の化学組成・同位体組成の分析が可能であり、最近では、微小鉱物の元素・同位体分析や、固体試料中の元素の偏在を可視化する元素イメージング分析の手法としても活用され始めている。

レーザーアブレーションでは試料構成元素のイオンや蒸気 (気体)、これらの一部が再凝縮した固体粒子、さらには試料から直接放出された大小様々な試料破片 (エアロゾル) が生成される。レーザーアブレーションは複雑なプロセスであり、固体試料の化学組成と、実際に ICP-MS により計測される化学組成は必ずしも一致しない。これを元素分別効果とよび、元素・同位体分析の系統誤差の主因となっている。元素分別の原因は、(a) 固体試料からの揮発性の高い元素の選択的気化、(b) 生成した試料エアロゾルへの気化成分の沈着、(c) ICP 内での分析元素の不完全なイオン化等に起因すると考えられている。元素分別効果の低減には、固体試料に対する熱付加の低減 (元素の揮発性の違いに由来する元素分別の低減) に加え、気化した元素の再沈着の抑制、試料エアロゾルの微細化によるプラズマ内でのイオン化効率の改善などが必要である。こうしたアブレーションの実現には、短波長レーザーの活用や、パルス幅の短いレーザー (フェムト秒レーザー) の活用等で目覚しい改善が図られている。

3. LA-ICP-MS 法の応用 1：元素イメージング分析

ICP-MS の高感度化にともない、分析に必要な試料量のダウンサイジングが可能となり、レーザー照射径をより小さく絞り込むことが可能となった。最近では $1\sim 2\ \mu\text{m}$ 領域から元素・同位体組成情報を引き出すことも可能となっている。こうした LA-ICP-MS 法の高い定量性と分析感度、空間分解能を利用して、微量元素の二次元分布分析（イメージング分析）も急速に普及しつつある。LA-ICP-MS 法を用いた元素イメージング分析では、固体試料表面に対し点分析（スポット分析）を繰り返す方式（マルチスポット方式）と、レーザー走査を用いた直線分析（ラインプロファイル分析）を繰り返す方式（走査方式）の 2 つが用いられる。マルチスポット方式は得られるイメージング画像の分解能が縦と横で一致する利点があり、一方で走査方式は大面積試料のイメージング分析を短時間で行える利点がある。

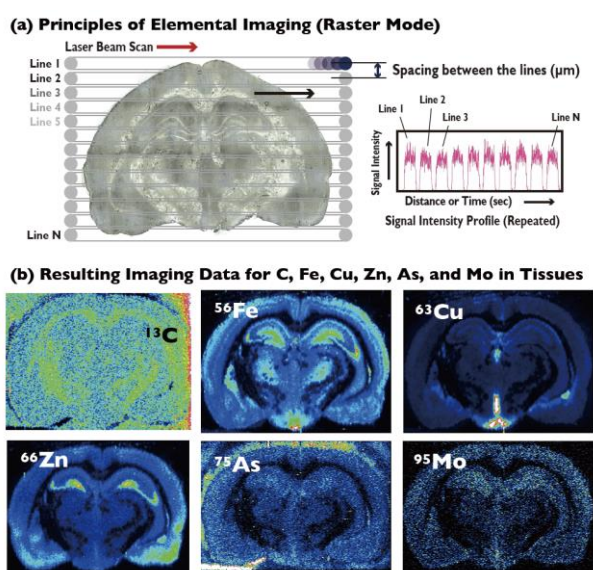


図 2. LA-ICP-MS 法を用いた元素イメージング

ICP-MS 装置の性能の向上により、主成分から ppb レベル (ng/g レベル) の微量元素の多元素イメージング分析が可能となっており、金属代謝研究や毒性学への応用展開も進んでいる。一方で ICP は強力なイオン源（高い励起温度と運動温度をもつ）であるため、有機化合物はほぼ定量的に分解され、原子あるいは簡単な多原子イオン (MO^+ あるいは MAr^+ 等：M は元素を表す) にまで分解される。したがって LA-ICP-MS で得られるイメージング情報は、一般的には試料構成元素の濃度あるいは同位体組成情報となる。一方で生体内での金属の機能や代謝機構を知るためには、分析対象元素がどのような生体分子（タンパク質、核酸など）と相互作用あるいは結合しているかを知ることが重要であり、金属元素の分布と関連する生体分子の分布を同時に把握したいという学術的要請は高い。

生体分子のイメージングに対しては MALDI 法（マトリックス支援レーザー脱離イオン化法）を組み合わせた質量分析法が広く用いられている。MALDI 法は、揮発性が低く、またイオン化時に分解（フラグメント化）されやすい大分子量の生体分子の高感度検出に広く活用されている。したがって同一組織試料から、MALDI 法による生体分子イメージング分析と LA-ICP-MS 法による金属元素のイメージング分析を同時に行うことで、金属の代謝や生体機能に関するよ

り正確な情報を引き出すことが可能である。一方で、MALDI 分析と LA-ICP-MS 分析を同一切片試料に対して行うためには、分析あるいは分析前処理が、相互に分析結果に影響することに配慮しなければならない。まず、MALDI 分析を LA-ICP-MS 分析にさきがけて行う場合は、マトリックスに含まれる元素（マトリックスの材質にもよるが、C、Mg、Fe、Cu、Zn などが含まれる）の汚染により、LA-ICP-MS での元素イメージングの SN 比（信号ノイズ比）が低下する。MALDI 分析を先行する場合には、マトリックス素材から分析対象元素がどの程度混入するかを予め把握しておく必要がある。しかし MALDI 分析に先行して LA-ICP-MS 法による元素イメージング分析を行う場合にも注意が必要である。LA-ICP-MS を用いた元素イメージング分析では試料表面にレーザーを照射する。レーザーの紫外線化（短波長化）や、短パルス化（例えばフェムト秒レーザーの活用等）により、試料に対する加熱効果を大幅に低減することができる。しかし、これらのレーザーを用いた場合でも、過度に高いエネルギー条件や高い発振周波数（1 秒間のレーザーショット数）条件でレーザーアブレーションを行うと、レーザー照射点の温度が上昇する。この熱的付加の影響により、MALDI 分析で対象となる生体分子が分解（フラグメント化や開環）あるいは揮散する。このように LA-ICP-MS 分析と MALDI 法を同一切片で行うためには、相互干渉に気をつけるべきである。

最近では、LA-ICP-MS 法と免疫反応（イムノアッセイ）を応用して、生体分子イメージングを行う試みも行われている。ドイツの Becker らは抗原抗体反応を用いてアミロイド β に Ni をラベルし、LA-ICP-MS 法を用いて Ni のイメージング分析を行うことで、間接的にアミロイド β のイメージングに成功している。この手法ではマトリックス塗布等の試料前処理が不要なうえ、ICP-MS の高い定量性を活かした定量的イメージングに期待できる。さらに ICP-MS では元素の同位体を区別して検出・計測できるため、様々な元素や安定同位体を用いることで一度に 50~100 種類程度のラベル化した生体分子の検出が可能である。一方で注意点もある。イムノアッセイ法を組み合わせた LA-ICP-MS 法での生体分子イメージングでは、抗原抗体反応が 1 対 1 反応であることが前提となるうえ、試料調製時には抗体やラベルした金属元素が試料前処理（乾燥凍結あるいはパラフィン埋包処理）等を通じて本来の位置から移動してしまうことにも注意を払わなければならない。今後、細胞内元素分布など、ミクロンサイズの空間分解能で元素イメージング分析を行う場合には、元素の移動を抑えた試料の前処理法の確立も今後の課題である。

4. LA-ICP-MS 法の応用 2 : 超高感度元素分析

レーザーアブレーション法は最近のレーザー技術の飛躍的な進歩やレーザー照射法の多様化を受け、分析感度や繰り返し再現性が向上している。特にフェムト秒パルスレーザーの登場により、これまで精密な元素分析が困難であった金属・鉄鋼試料からも、主成分から ppb (ng/g) レベルの微量元素までを同時に分析できるようになってきている。我々の研究グループでは、LA-ICP-MS 法のさらなる分析性能の向上

および汎用性の拡大を目的に、ガルバノ光学系を用いた高速多点アブレーション法の実用化を進めてきた。ガルバノ光学系は可動鏡を組み込んだ光学系で、可動鏡の角度を精密に制御することでレーザー照射位置を高速で移動できる。ガルバノ光学系は、レーザー精密加工、リモート溶接、マーキングに応用され、さらに共焦点顕微鏡や 3D プリンタの進歩を支える基幹的レーザー技術の一つとなっている。

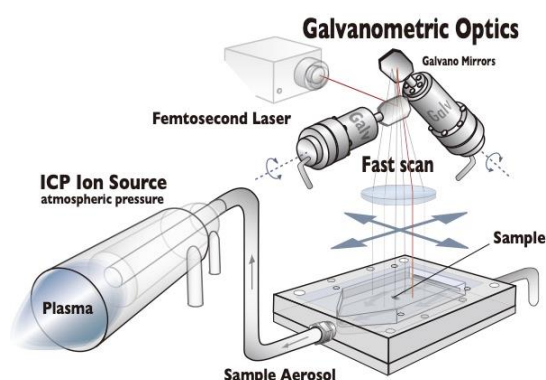


図 3.ガルバノ光学系を応用したレーザーアブレーション試料導入法

ガルバノ光学系を応用することで、レーザー照射位置を高速で移動させる、いわゆる「高速多点アブレーション」が可能となる。高速多点アブレーションは分析化学的には大きな意義をもっており、従来の LA-ICP-MS 法では困難であった様々な応用分析が実現できる。高速多点法の最大の特長は、短い時間間隔 (1 ミリ秒以下) で複数の固体試料を同時にアブレーションできる点である。この高速多点アブレーション法を用いることで、複数の固体試料を任意の割合で混合したり、内標準元素を添加する、あるいは分析元素を希釈することが可能となる。これは、水溶液試料では日常的に行っている「溶液の混合」や「元素の添加」さらには元素の「希釈」などの操作が、固体試料でも行えることを意味し、検量線法だけではなく、内標準法や標準添加法などの様々なプロトコルを応用した定量分析が可能となる。

さらに高速多点アブレーションの特徴は、これまでにない大面積を短時間で一気にアブレーションできる点にある。最近では、60 kHz の高繰り返しレーザー (1 秒間に 6 万回のレーザー発振が可能なレーザー) を用いることで、10×10 mm 角の大面積を数秒程度でアブレーションできる。これまでも固体試料表面の直径 1 mm 領域をアブレーションできるレーザー装置も市販されていたが、一度に大きな面積をアブレーションした場合、ICP-MS で観測される元素信号が不安定となり、測定 of 繰り返し再現性が低下するなどの問題があった。一方で、高速多点法では、10~15 ミクロンサイズの領域を高速でアブレーションするため、

信号が安定化するうえ、大量の試料を短時間でプラズマに導入できるため、元素検出感度が飛躍的に改善できる。高速分解能調整機能（特定の元素・同位体のみ質量分析計のイオン透過効率を低下させ、計数率の高い元素に対しても正確な計測が可能となる）や広いダイナミックレンジ計測システムを有するイオン検出器をもった ICP-MS を用いることで、数重量パーセント（wt%）の主成分元素から、数十 ppb（ ng g^{-1} ）レベルの微量元素までを同時に測定が可能となっている。測定例として高純度銅（4N 品位）中の不純物をモニターした信号プロファイルを示す。図 4 は、1 mm 各面積を 20 秒にわたり高速アブレーションし、ICP-MS で観測された信号強度の時間変化を示している。銅は熱伝導が高く、また融点が低いため、安定した信号を得るのが難しい素材であるが、フェムト秒レーザーを用いた高速多点分析により安定した信号が得られていることがわかる。さらに、銅中の主要不純物である Ag や Bi から、サブ ppm レベルの微量元素（殆どは親銅元素）が同時に観測できている。例えば、Au、Te、Sn、Mo、Cd、Pd などは、容易に沈澱あるいは容器内壁への吸着が問題となるため、溶液の液性に注意が必要なうえ、実験室環境からの汚染を防ぐことが困難である。こうした元素に関しても短時間で正確な信号強度を取得できるのも高速多点アブレーションを用いた LA-ICP-MS 法の利点といえる。

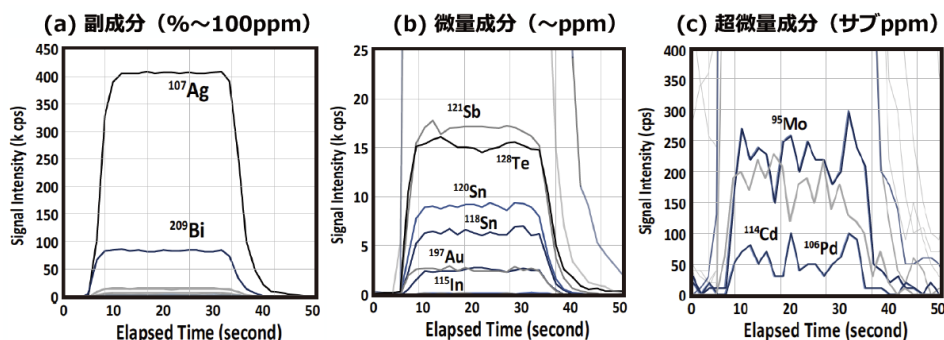


図 4.高純度銅（4N）中の直接微量元素分析

5. LA-ICP-MS法の応用3：ナノ粒子のイメージング分析

ナノ粒子は比表面積が大きく、特異的な反応性・物性を示すため新素材としての応用研究が拡大している。Ag ナノ粒子は、抗菌剤、癌治療剤などに、また銅ナノ粒子やニッケルナノ粒子は積層コンデンサの内部電極材料として、さらに金ナノ粒子はインフルエンザウイルスやタンパク質センサーとして活用されるなど、幅広い分野で活用されている。一方で、金属ナノ粒子や金属ナノ粒子の溶解により生成したイオンによる急性毒性の報告もあり、ナノ粒子の生体系あるいは環境への影響にも関心が高まっている。これまでナノ粒子の検出には動的散乱法や電子顕微鏡（透過型電子顕微鏡）が広く用いられてきたが、前者は粒子の構成成分が特定できず、また後者は分析前処理が複雑であり、生体試料ある

いは環境試料への迅速分析には問題があった。こうした問題から、最近では ICP-MS を用いたナノ粒子の高感度かつ迅速な分析法が注目されている。

ICP-MS を用いたナノ粒子分析では、水相に分散させたナノ粒子を通常の液体噴霧導入法（図 1(a)）により ICP に導入する。導入されたナノ粒子は ICP 内でイオン化され、質量分析計によりイオンが選別・検出される。ナノ粒子から得られる信号は非常に過渡的なものであるため（0.2～0.6 ミリ秒程度。ナノ粒子 1 個から得られた信号をイベントという）、その正確な計測には高時間分解能（積分時間を 10～100 μsec 程度にまで短くする）が必要となる。各イベント毎のイオンの総数からナノ粒子のサイズを、さらに各信号イベントの数から水相中でのナノ粒子の個数濃度を決定できる。講演者らの研究グループでは、高感度 ICP-MS を用い、さらにイオン源のダイナミックレンジを拡張し、さらにノイズと信号の弁別に工夫を加えることで、金のナノ粒子の場合、およそ 5～400 ナノメートルレンジのナノ粒子計測が可能となっている（通常の ICP-MS では、測定可能レンジが 20～100 ナノメートル程度）。

一方で、レーザーアブレーション試料導入法（図 1(b)）を用いることで、ナノ粒子のマッピング分析（イメージング分析）が可能である。講演者の研究グループでは、レーザー出力を抑えることでナノ粒子の破碎を防いでおり、ナノ粒子の位置情報とサイズ情報を同時に計測している。さらに講演者等の研究グループでは、信号プロファイルの形状（信号強度の時間変化）から、分析成分がナノ粒子として存在するのか、あるいは溶存成分（塩あるいはイオン状）として存在するかを区別することにも成功している。この技術を用いることで、ナノ粒子分析において、位置、サイズ、形態（粒子状か溶存状態か）に関する 3 要素を同時に取得することができる（3 要素同時イメージング法：Triad Imaging Technique）。この 3 要素同時イメージング法によりナノ粒子の細胞あるいは生体試料中での動態や、ナノ粒子の代謝・排出機構に関する情報を引き出せるものと期待している。

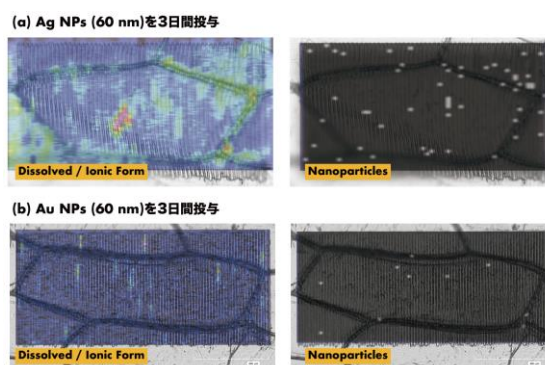


図 5. タマネギ細胞中のナノ粒子および溶存成分のイメージング分析（Yamashita et al., Anal. Chem., 91 (7), 4544–4551）

6. 今後のLA-ICP-MS法の応用展開

レーザー発振技術の進歩と ICP-MS 装置の分析性能の向上により、LA-ICP-MS 法を用いた元素イメージングは高速化・高分解能化が進んでいる。さらにソフトアブレーション法による定量的イメージングについても定量結果の信頼性の改善も進められている。LA-ICP-MS 法はサンプリング（レーザーアブレーション）

とイオン化が独立した、いわゆる「ポストイオン化 (post ionization)」方式を採用しているため、分析条件の最適化が容易であり、他のプローブ分析法と比べて定量性が高い。LA-ICP-MS 法の利点は、大気圧下で元素イメージング分析が可能な点と、大型試料 (cm サイズ) を高速でイメージング分析できる点にある。さらに本稿で述べた通り、最近では LA-ICP-MS 法はナノ粒子のイメージングに応用されている。これまでの ICP-MS では、単一の元素のナノ粒子の分析しかできなかったが、最近では高時間分解能イオン検出器を複数個有する多重検出器型 ICP-MS を用いることで、ナノ粒子から複数元素の同時計測や同位体分析などがおこなわれるようになってきている。こうしたナノ粒子の高速イメージング分析は、他のプローブ分析法では実現できておらず、今後はナノ粒子の毒性評価や環境動態を調べる基盤分析技術になるものと期待できる。

本稿を作成するにあたり、東京大学大学院の山下修司、槇納好岐、鈴木敏弘、クー・フィーシンに協力をいただいた。また、サーモフィッシャーサイエンティフィックの黒木康夫氏、ST ジャパンの安田憲生氏には数々の技術的助言をいただいた。感謝の意を表す。

【参考文献】

本講演で紹介した分析法の基本動作原理については最近の総説にまとめてある。さらに詳細な情報、特に技術的な情報に関しては以下の文献を参照されたい。

- 平田岳史、槇納好岐、山下修司 (2019) レーザーアブレーション ICPMS による元素およびナノ粒子のイメージング、ぶんせき、8、334-341.
- 山下修司、鈴木敏弘、平田岳史 (2019) レーザーアブレーションICP質量分析計によるナノ粒子の粒径・分布分析法の開発、分析化学、68、1-8.
- 平田岳史、山下修司、鈴木敏弘、石田未来 (2019) 多重検出器型ICP質量分析計を用いたナノ粒子の元素・同位体分析、分析化学、68、81-88.
- 山下修司、鈴木敏弘、平田岳史 (2019) 二重収束型 ICP 質量分析計によるナノ粒子の高感度分析、質量分析学会誌、67、142-146.
- 平田岳史・槇納好岐・藤本万寿人・黒木 康生・高橋けんし (2019) レーザーアブレーション-ICP質量分析法による鉄鋼試料の元素分析、質量分析学会誌、67、160-166.
- 槇納好岐、クー フィーシン、黒木 康生、鈴木 敏弘、平田岳史 (2019) 高速多点レーザーアブレーション-ICP質量分析法を用いた多元素同時分析、質量分析学会誌、67、154-159.