

ダイナミックリアクションセルTM-誘導結合プラズマ質量分析法による糖尿病患者尿及び血清中の微量元素分析

Analysis of Trace Elements in Diabetic Human Urine and Serum by Dynamic Reaction CellTM Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

上田 寿¹, 手嶋紀雄¹, 酒井忠雄^{1*}, 加藤周司²

Hisashi UEDA¹, Norio TESHIMA¹, Tadao SAKAI¹ and Shuji KATOH²

Abstract To assess whether differences in concentrations of trace elements between diabetics and controls can be regarded as significant, V, Cr, Ni, Cu, As and Se in urinary and serum samples from diabetics and healthy volunteers were determined by dynamic reaction cell (DRCTM) inductively coupled plasma mass spectrometry. To obtain lower background of each element, DRCTM conditions such as ammonia used as reaction cell gas and rejection parameter q (RPq) were optimized for the measurement. This method with optimum conditions was validated by the analysis of standard reference materials of urine and serum. The results were in good agreement with the certified values. Urine samples supplied from patients ($n = 29$) with diabetes and from healthy volunteers ($n = 11$) were analyzed by this method, and the results were assessed by Students t -test at significance level of 0.05. As a result, no statistical significance was observed for urinary V, Ni, As and Se ($P > 0.05$). However, the concentrations of urinary Cu and Cr in the diabetic group were higher than those in healthy group ($P < 0.05$). On the other hand the concentration of Cr in serum ($n = 19$) from patients with diabetes was lower than reference value of serum Cr in controls.

1 緒 言

生体中には必須元素が存在し、生物の正常な生命活動を維持している。高等動物にとって必須微量元素と考えられている元素は、Fe, I, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Se, Cr, Sn, V, F, Si, Ni, As の 15 元素である¹⁾。これらに Sr, Pb を加えた 17 元素であるとの報告もある²⁾。血清中には Cu, Fe, Zn が 1 mg mL^{-1} 程度含まれており、著者のグループではフローインジェクション分析 (FIA) 法により、血清中のこれらの金属濃度を定量する方法を提案し³⁾⁴⁾、疾患 (肝硬変、癌等) との関連性について検討した。

糖尿病はブドウ糖との代謝異常が原因となって発症する疾患で、血糖値の上昇や糖尿病腎症を引き起こす。糖尿病患者数は、2000 年には世界中で 1 億 7100 万人であり、2030 年には 3 億 6600 万人に達すると言われている⁵⁾。近年 V がインスリン作用を示すことが注目され⁶⁾、V 錯体の抗糖尿病薬に関する報告もある⁷⁾。このような作用に着目して V を含有するミネラルウォーターが市販されており、価数別分析が行われている⁸⁾。

著者らは糖尿病患者から採取した尿中のアルブミンとグルコースのシーケンシャルインジェクション分析法による同時定量を報告した⁹⁾。また、糖尿病と微量元素に関する栄養学的研究も報告されている¹⁰⁾。近年、高感度な誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-AES) や誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) が開発され、多元素分析が展開されているが、各種疾患と微量元素との

¹ 愛知工業大学応用化学科 (豊田市)

² 朝日大学歯学部附属村上記念病院 (岐阜市)

関連を明らかにする研究はまだ少ない。Forte ら^{1 1)}はパーキンソン病患者の毛髪に含まれる Ca, Cu, Fe, Mg, Si, Zn 濃度を ICP-AES により, また Bocca ら^{1 2)}は尿, 血清, 全血, 脳脊髄液中の Al, Be, Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb, V を ICP-MS により測定し, 健常者群との有意差検定を行っている。またオクタポールリアクションセルを搭載した ICP-MS による 30 元素の尿分析が行われ, 成人と子供の相違が議論されている^{1 3)}。またダイナミックリアクションセル (DRCTM) -ICP-MS により血清中の ²⁷Al, ⁵⁹Co, ⁵²Cr, ⁵⁵Mn, ⁶⁰Ni, ⁷⁸Se が優れたシグナル/バックグラウンド比で測定されている^{1 4)}。

本研究で測定対象とした 6 元素はすべて高等動物の必須微量元素である。V は上述のようにインスリン類似作用を示すことから興味深く, Cr 欠乏はインスリンの作用低下による糖代謝の障害を引き起こす^{1 5)}。Ni は発癌性が報告されており^{1 6)}, As^{1 7)}と Se^{1 8)}は代謝による解毒機構に関する研究が行われているが, 十分な解明には至っていない。また, 尿中 Cu や血清 Cu は様々な疾患との関連が指摘されている^{1 9)}。そこで本研究では, 糖尿病患者の尿及び血清中の V, Cr, Ni, Cu, As, Se の 6 元素を DRCTM-ICP-MS により測定した。そして各元素について糖尿病患者群と健常者群の有意差検定を行い, 微量元素の存在特異性について検討した。

2 実 験

2.1 装置

本研究では, パーキンエルマージャパン社製の四重極誘導結合プラズマ質量分析装置 ELAN 6100 DRC II を使用した。サンプリングコーン (穴径 1.1 mm) 及びスキマーコーン (穴径 0.9 mm) は, ニッケル製のものを使用した。キャリアーガスとして高純度アルゴンガス (名古屋日酸, 99.996%) を 0.45 MPa で使用した。また, DRCTM 内のリアクションガスとして, 高純度アンモニア (昭和電工, 99.999%以上) を使用した。試料溶液は, ERAN 6100 DRC II 付属のペリスタポンプを用いて送液し, Meinhard 製の同軸型ネブライザーからサイクロン型のスプレーチャンバーに導入した。ICP-MS の最適化を行った際の一般的な条件を Table 1 に示す。

DRCTM-ICP-MS の測定条件の最適化には, パーキンエルマージャパン社製の PerkinElmer Pure (Ba を 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, Mg, Al, Cr, Mn, Cu, Rh, Cd, In, Ce, Pb 及び Th

を 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 含む 0.5%硝酸溶液) を使用した。オートレンズの最適化では, ²⁴Mg, ¹¹⁵In, ²⁰⁸Pb の同位体を選択し, 質量数に対するレンズ電圧の近似直線を求めた。標準モードでは, ネブライザーガス流量, レンズ電圧, ICP RF 出力, パルスステージ電圧の最適化を行った。DRCTM モードでは, ネブライザーガス流量, イオンレンズの最適化を行った。酸化物イオンの生成率 CeO^+/Ce^+ は 3% 以下, 2 価イオンの生成率 $\text{Ba}^{++}/\text{Ba}^+$ は 3% 以下であった。

実試料の前処理には, 遠心分離機 (KOKUSAN H-103N) を用いた。

Table 1 Operating conditions of ICP-MS

| | |
|------------------------|--------------------------------|
| Nebulizer gas flow | 1.04–1.07 mL min ⁻¹ |
| ICP RF power | 1300–1500 Watts |
| Lens voltage | 6.0–10.5 Volts |
| Pulse stage voltage | 1100 Watts |
| Dwell time | 150 ms |
| Sweeps | 3 times |
| Readings per replicate | 3 times |
| Flow rate | 0.75 mL min ⁻¹ |
| Sample preparation | 1:10 dilution |
| Diluent | 0.6% HNO ₃ |
| Internal standard | 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ Ga, Rh |

2.2 試薬

本研究では, すべて Elix-UV 超純水製造装置 (日本ミリポア) を用いて得られた超純水を使用した。V, Cr, Ni, Cu, As, Se の標準溶液は和光純薬工業製の原子吸光用標準溶液 (1000 ppm) を使用した。内標準元素は和光純薬工業製の原子吸光用 Ga 標準溶液 (1000 ppm) 及び Rh 標準溶液 (1000 ppm) を使用した。試料希釈のための 0.6%硝酸は, 関東化学製の微量分析用超高純度硝酸を用いて調整した。

Wang ら^{2 0)}の報告に基づいて人工尿を調製した。人工血清^{2 1)}は, 以下のように調製された。塩化ナトリウム 8g, 硝酸カリウム 0.13g, 硝酸カルシウム・四水和物 0.06g, 炭酸水素ナトリウム 0.35g, リン酸二水素ナトリウム 0.35g, 尿素 0.1g, 尿酸 0.015g をすべて水に溶かし, 全量を 1 L とした。Table 2 に調製された人工尿及び人工血清の化学組成を示す。

Table 2 Chemical constituents of artificial urine and artificial serum

| Urine ^{a)} | Concentration / mM | Serum ^{b)} | Concentration / mM |
|---------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|
| Na | 134 | Na | 146 |
| Cl | 122 | Cl | 137 |
| K | 67 | P | 25 |
| P | 20 | HCO ₃ ⁻ | 4.2 |
| Mg | 3.2 | Ca | 2.5 |
| Ca | 2.6 | Urea | 1.7 |
| Urea | 310 | Uric acid | 0.01 |
| Creatinine | 98 | | |

a) Reference 20; b) Reference 21

2・3 実試料

糖尿病患者の尿検体数は29, 血清検体数は19である。健常者の尿検体は, 研究室のボランティア 11 名より提供を受けた。採取された尿及び血清試料を-80°Cの冷凍庫で保存した。これらの試料は DRC™-ICP-MS の測定前に既報²⁾²⁾²⁾³⁾²⁾⁴⁾を参考にして前処理した。まず 5 分間の遠心分離 (3000 rpm) を行い, 上澄み液を希釈溶液 (5 µg L⁻¹ の Ga と Rh を含む 0.6%硝酸溶液) で 10 倍希釈した。

2・4 標準操作

尿試料分析を行う際の検量線溶液の濃度は, V, Cr, Ni, Cu, Se は 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 µg L⁻¹, As は 0, 0.5, 1, 5, 10, 50 µg L⁻¹とした。血清試料の場合では V, Cr, Ni, As は 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 µg L⁻¹, Se は 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 µg L⁻¹, Cu は 0, 1, 5, 10, 50, 100 µg L⁻¹とした。

ペリスタポンプの流速を 0.75 mL min⁻¹ (15 rpm) に設定し, 試料溶液を DRC™-ICP-MS へ導入した。得られた結果の解析に用いた各元素の同位体は, ⁵¹V, ⁵²Cr, ⁶⁰Ni, ⁶³Cu, ⁷⁵As, ⁷⁸Se とした。

3 結果と考察

3・1 DRC™の最適化

ICP-MS のスペクトル干渉を排除することを主目的とする様々なコリジョン/リアクションセルが開発されている²⁾⁵⁾。本研究では DRC™²⁾⁶⁾²⁾⁷⁾を用いて干渉する多原子イオンの除去を試みた。

人工尿及び人工血清溶液を用いて, リアクションガスとしてのアンモニアガス流量の検討を行った。まず, 人工尿及び人工血清溶液を 2・3 に記述した希釈溶液で 10 倍希釈し, これらをバックグラウンドの見積りに用いた。一方, 人工尿及び人工血清溶液に 6 元素の標準溶液を添加し, 希釈溶液で 10 倍希釈した。アンモニアガス流量を 0 から 1 mL min⁻¹に変化させ, これらの溶液を測定しシグナル強度を比較した。人工尿の結果を Fig. 1 に, 人工血清の結果を Fig. 2 に示す。

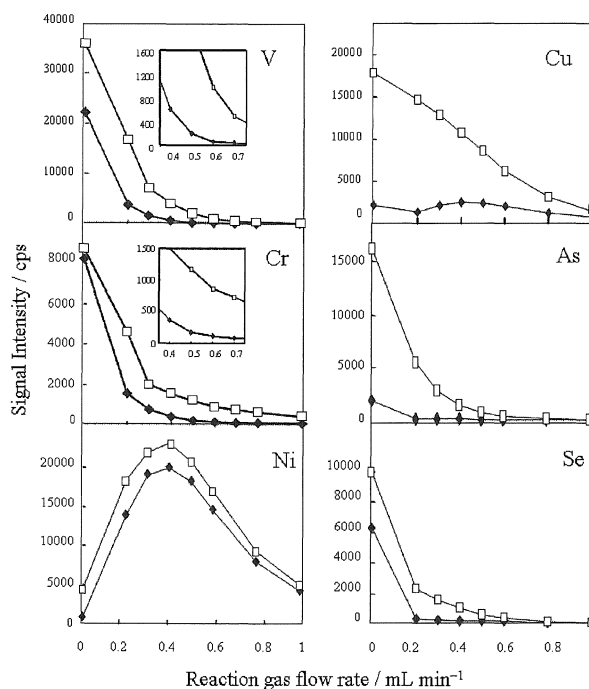


Fig. 1 Effects of flow rate of NH₃ as reaction gas on signal intensities for (◆) artificial urine and (□) spiked artificial urine.

バックグラウンドが十分に低く, かつ標準試料のシグナル強度の高さを考慮して, 各元素に対する最適なアンモニアガス流量を選択した (Table 3)。

DRC™ 内の四重極マスフィルターにおける RPq (Rejection Parameter q) 値を変化させることにより, 測定対象元素よりも低い質量のイオンを取り除くことができる。RPq 値は交流電圧に比例するパラメータである

26)27). RPq 値を 0.05 から 0.8 まで変化させたところ, 人工尿及び人工血清において Fig. 3 及び Fig. 4 に示す結果を得た. 各元素に対する最適な RPq 値を Table 3 に示す.

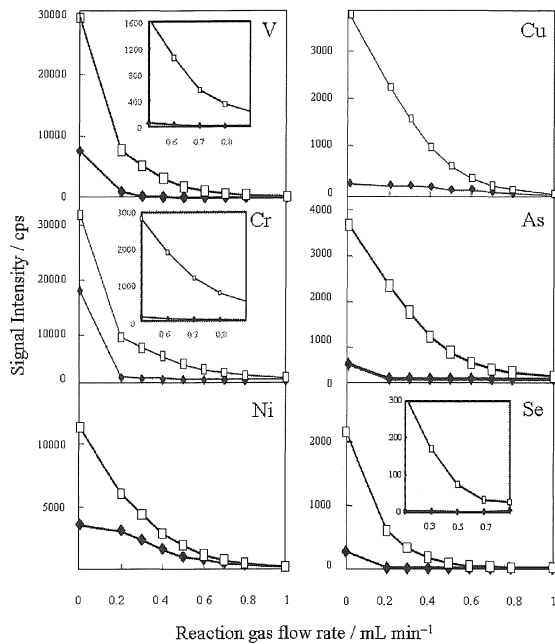


Fig. 2 Effects of flow rate of NH_3 as reaction gas on signal intensities for (◆) artificial serum and (□) spiked artificial serum.

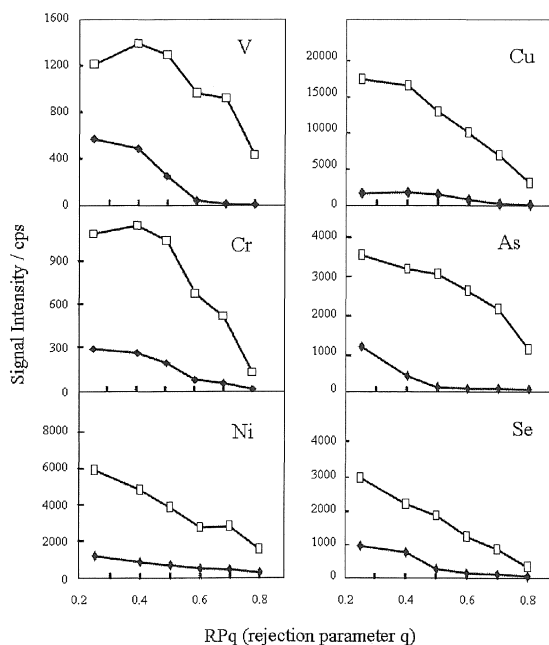


Fig. 3 Effects of RPq setting (low mass cut-off) on signal intensities for (◆) artificial urine and (□) spiked artificial urine.

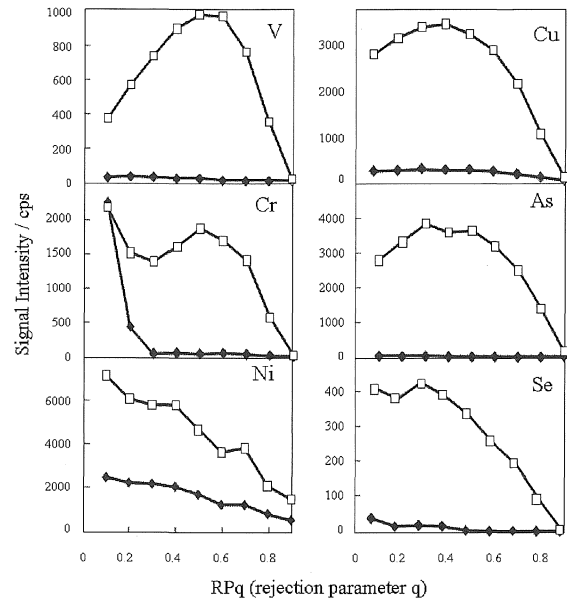


Fig. 4 Effects of RPq setting (low mass cut-off) on signal intensities for (◆) artificial serum and (□) spiked artificial serum.

Table 3 Dynamic reaction cell (DRCTM) conditions for urine and serum analyses

| Element | Artificial urine | | | |
|---------|---|-------------------|---|---|
| | Optimum | | LOD ^{b)} / $\mu\text{g L}^{-1}$ | LOQ ^{c)} / $\mu\text{g L}^{-1}$ |
| | NH_3 / mL min^{-1} | RPq ^{a)} | | |
| V | 0.6 | 0.7 | 0.0035 | 0.012 |
| Cr | 0.6 | 0.7 | 0.0044 | 0.015 |
| Ni | 0 | 0.7 | 0.0064 | 0.021 |
| Cu | 0.3 | 0.7 | 0.0016 | 0.005 |
| As | 0.3 | 0.6 | 0.0089 | 0.030 |
| Se | 0.3 | 0.6 | 0.060 | 0.20 |
| Element | Artificial serum | | | |
| | Optimum | | LOD ^{b)} / $\mu\text{g L}^{-1}$ | LOQ ^{c)} / $\mu\text{g L}^{-1}$ |
| | NH_3 / mL min^{-1} | RPq ^{a)} | | |
| V | 0.7 | 0.7 | 0.0048 | 0.016 |
| Cr | 0.7 | 0.7 | 0.0042 | 0.014 |
| Ni | 0 | 0.2 | 0.0009 | 0.0030 |
| Cu | 0 | 0.4 | 0.0004 | 0.0014 |
| As | 0.5 | 0.5 | 0.0069 | 0.023 |
| Se | 0.5 | 0.5 | 0.066 | 0.22 |

a) Rejection parameter q ; b) 3σ limit of detection; c)

10σ limit of quantitation

3.2 検出限界及び定量下限

最適条件下において、人工尿マトリックス及び人工血清マトリックスに対する検出限界 (3σ) 及び定量下限 (10σ) を求めた (Table 3). 得られた値は同じ装置を使用した D'Illio ら¹⁴⁾の結果と同様となり、低濃度域での定量が可能である。

3.3 添加回収実験

最適条件下で、人工尿及び人工血清を用いて添加回収実験を行った。得られた回収率を Table 4 に示す。尿で 91~105%、血清で 91~101%の回収率となり、良好な結果が得られた。

Table 4 Recovery test for spiked elements in artificial urine and serum

| Element | Artificial urine | | Artificial serum | |
|---------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------|-----------------|
| | Added / μg L ⁻¹ | Recovery / % | Added / μg L ⁻¹ | Recovery / % |
| V | 1 | 92 | 1 | 96 |
| Cr | 1 | 105 | 1 | 97 |
| Ni | 1 | 91 | 1 | 91 |
| Cu | 5 | 100 | 100 | 95 |
| As | 5 | 104 | 1 | 95 |
| Se | 5 | 105 | 10 | 101 |

3.4 標準試料の分析

標準尿試料及び標準血清試料を用いて定量分析を行った。標準尿試料は Seronorm™ Urine Blank (SERO 社)、標準血清試料は Seronorm™ Serum Level 1 (SERO 社) を用いた。凍結乾燥された粉末状の標準試料は、超純水を加えて溶解させた後、2.3 に記述した希釈溶液を用いて 10 倍希釈した。測定値と保証値はほぼ一致した (Table 5)。

3.5 尿及び血清試料中の 6 元素の定量

糖尿病患者 (n = 29) と健常者 (n = 11) の尿試料中

の V,

Table 5 Determination of reference materials of urine and serum

| Element | Seronorm™ urine blank | |
|---------|---|-----------------------------------|
| | Found ^{a)} / μg L ⁻¹ | Certified / μg L ⁻¹ |
| V | 0.52±0.06 | 0.53±0.08 |
| Cr | 0.49±0.01 | 0.56±0.15 |
| Ni | 2.5±0.3 | 2.4±0.6 |
| Cu | 18.6±0.4 | 18.6±2.1 |
| As | 92±2 | 85±5 |
| Se | 23.9±0.5 | 21.7±2.8 |
| Element | Seronorm™ serum level 1 | |
| | Found ^{a)} / μg L ⁻¹ | Certified / μg L ⁻¹ |
| V | 0.89±0.05 | 0.8±0.2 |
| Cr | 0.87±0.18 | 0.7±0.1 |
| Ni | 6.7±0.2 | 5.9±0.7 |
| Cu | 955±11 | 1060±63 |
| As | <LOQ ^{b)} | <0.1 |
| Se | 75.7±4.5 | 72.8±6.1 |

a) Three determinations; b) Less than 3σ limit of quantitation

Cr, Ni, Cu, As, Se を定量した。Table 6 に得られた各元素の平均値、濃度範囲、LOQ 未満の割合を示す。LOQ 未満の割合とは、例えば糖尿病患者群の V の測定結果において、試料数 29 の内 13 検体 (約 45%) が LOQ 未満であったということである。また、結果のパーセントイル値¹³⁾をプロットした (Fig. 5)。二つの群間における各元素の測定値を *t* 検定と比較した。有意水準は 0.05 とした。有意確率 *P* 値は、それぞれ V, 0.35, Cr, 0.04, Ni, 0.28, Cu, 0.001, As, 0.27, Se, 0.09 であった。従って V, Ni, As, Se については *P* > 0.05 であり、糖尿病患者群と健常者群で有意差はないと判断される。一方、Cr と Cu については *P* < 0.05 であり、有意差があると判断した。Cr と Cu 共に、Fig. 5 に示すように糖尿病患者群の濃度が高い結果を示した。Cr は糖代謝に重要な役割を果たすため¹⁵⁾、糖尿病患者では、Cr が尿に多く排泄されている可能性がある。また、Cu の排泄経路は胆管を通じて行われるため、胆管に閉塞をきたすような病変があると、腎や腸壁からの Cu 排泄が増加する¹⁹⁾。

糖尿病患者は感染症にかかり易いことがよく知られているので, 例えば胆嚢炎を併発すれば, 尿 Cu 排泄量が増加する可能性が考えられるが, 病態が不明のため明らかではない。

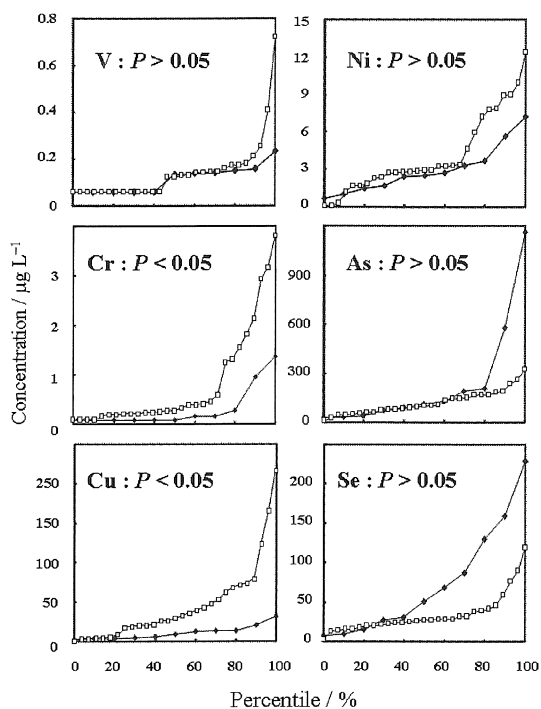


Fig. 5 Comparison of percentiles of urinary elements concentrations of (□) diabetics ($n = 29$) and (◆) healthy persons ($n = 11$).

一方, 血清試料は糖尿病患者群 ($n = 19$) のみの測定を行った。各元素の測定値の平均値, 25 及び 75 パーセントイル値, 濃度範囲, LOQ 以下の割合を Table 7 に示す。なお, Table 7 に示される健常者の V, Cr, Ni に対する濃度範囲及び 25, 75 パーセントイルの値は Bocca ら¹²⁾の文献値である。Cu の濃度範囲は Nischwitz ら²⁸⁾の文献値で, Se の濃度範囲は Cauwenbergh ら²⁹⁾の文献値である。Cr を除く 5 元素では, 本研究による糖尿病患者群の測定値と健常者の報告値でほとんど差が見られなかった。しかし, Cr は糖尿病患者群の測定結果が, 文献による健常者の値よりも低い結果となった。すなわち, Cr は, 糖尿病患者群と健常者群との間の高低関係が, 尿と血清では逆の結果となった。糖尿病患者の場合, 血中 Cr が尿に多く排泄されたと推測する。

Table 6 Comparison of urinary elements in diabetics and healthy persons

| Element | Diabetics ^{a)} | | |
|-------------------------------|---|-------------------------------|-------------|
| | Mean ^{c)} ±σ / µg L ⁻¹ | Range / µg L ⁻¹ | <LOQ / % |
| V | 0.14 ± 0.13 | LOQ – 0.72 | 45 |
| Cr | 0.77 ± 1.02 | LOQ – 3.80 | 14 |
| Ni | 3.9 ± 3.2 | 0.1 – 12.4 | 0 |
| Cu | 43 ± 50 | 0.3 – 216 | 0 |
| As | 115 ± 75 | 0.7 – 324 | 0 |
| Se | 36 ± 25 | 2 – 119 | 0 |
| Healthy persons ^{b)} | | | |
| | Mean ^{c)} ±σ / µg L ⁻¹ | Range / µg L ⁻¹ | <LOQ / % |
| | | | |
| V | 0.11 ± 0.06 | LOQ – 0.23 | 45 |
| Cr | 0.30 ± 0.44 | LOQ – 1.37 | 55 |
| Ni | 2.9 ± 2.0 | 0.6 – 7.2 | 0 |
| Cu | 11 ± 9 | 2 – 32 | 0 |
| As | 240 ± 343 | 26 – 1162 | 0 |
| Se | 74 ± 72 | 7 – 229 | 0 |

a) 29 samples; b) 11 samples; c) Concentration less than LOQ was estimated as LOQ/2

Table 7 Comparison of urinary elements in diabetics and healthy persons

| Element | Diabetics found by this work ^{a)} | | | | |
|---------|---|-------------|------|-------------------------------|-------------|
| | Mean ^{b)} ±σ / µg L ⁻¹ | Percentiles | | Range / µg L ⁻¹ | <LOQ / % |
| | | 25% | 75% | | |
| V | 0.092 ± 0.033 | <LOQ | <LOQ | LOQ – 0.19 | 89 |
| Cr | 0.28 ± 0.06 | 0.24 | 0.32 | 0.18 – 0.46 | 0 |
| Ni | 2.56 ± 1.27 | 1.9 | 2.7 | 1.6 – 6.7 | 0 |
| Cu | 851 ± 203 | 693 | 1025 | 531 – 1264 | 0 |
| As | 1.36 ± 0.55 | 1.1 | 1.6 | 0.6 – 2.5 | 0 |
| Se | 68.0 ± 17.6 | 55 | 84 | 46 – 105 | 0 |

Table 7 continued

| | Healthy persons found by other work | | | |
|----|-------------------------------------|------------------------|------|----------------------------|
| | Mean ^{b)} ±σ | Percentiles | | Range |
| | | /μg L ⁻¹ c) | | |
| | | 25% | 75% | |
| V | 0.15 ± 0.07 ^{e)} | 0.09 | 0.21 | NA |
| Cr | 1.79 ± 1.49 ^{e)} | 1.05 | 1.62 | NA |
| Ni | 3.37 ± 2.88 ^{e)} | 1.22 | 5.67 | NA |
| Cu | 993 ± 340 ^{d)} | NA | | 579 – 2044 ^{d)} |
| As | NA | NA | | NA |
| Se | 84.3 ± 9.4 ^{e)} | NA | | 51.4 – 121.7 ^{e)} |

a) 19 samples; b) Concentration less than LOQ was estimated as LOQ/2; c) Reference 12; d) Reference 28; e) Reference 29

4 結 言

本研究では、糖尿病患者の尿及び血清試料中における V, Cr, Ni, Cu, As, Se の定量を DRCTM-ICP-MS により行い、糖尿病患者群と健常者群を比較し、いくつかの微量元素の存在特異性が明かとなった。尿試料の結果は糖尿病患者群の Cr, Cu 濃度が高い結果となった ($P < 0.05$)。血清試料では糖尿病患者群の Cr 濃度が文献値と比べて低い結果となり、尿試料と反する結果が得られた。

本研究は、文部科学省学術フロンティア推進事業「21世紀を支えるための材料の開発—環境, エネルギー, 情報に資する材料開発のための基礎研究に基づく新規デバイスの開発と実用化—」(2007~2009年)によるものである。

文 献

- 1) 不破敬一郎編著: “生体と重金属”, p. 35 (1981), (講談社サイエンティフィク).
- 2) 原口紘丞: 東海化学工業会会報, **216**, 7 (2000).
- 3) S. Gotoh, N. Teshima, T. Sakai, K. Ida, N. Ura: *Anal. Chim. Acta*, **499**, 91 (2003).

- 4) N. Teshima, S. Gotoh, K. Ida, T. Sakai: *Anal. Chim. Acta*, **557**, 387 (2006).
- 5) S. Wild, G. Roglic, A. Green, R. Sicree, H. King: *Diabetes Care*, **27**, 1047 (2004).
- 6) C. E. Heyliger, A. G. Tahiliani, J. H. McNeill: *Nature*, **227**, 1474 (1985).
- 7) M. Hiromura, Y. Adachi, M. Machida, M. Hattori, H. Sakurai: *Metallomics*, **1**, 92 (2009).
- 8) J. Wei, N. Teshima, T. Sakai: *Anal. Sci.*, **24**, 371 (2008).
- 9) K. Watla-iad, T. Sakai, N. Teshima, S. Katoh, K. Grudpan: *Anal. Chim. Acta*, **604**, 139 (2007).
- 10) 小佐野美香, 藤原 薫, 鈴江緑衣郎: 昭和女子大学大学院生活機構研究科紀要, **7**, 15 (1998).
- 11) G. Forte, A. Alimonti, N. Violante, M. D. Gregorio, O. Senofonte, F. Petrucci, G. Sancesario, B. Bocca: *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **19**, 195 (2005).
- 12) B. Bocca, A. Alimonti, F. Petrucci, N. Violante, G. Sancesario, G. Forte, O. Senofonte: *Spectrochim. Acta, Part B*, **59**, 559 (2004).
- 13) P. Heitland, H. D. Köster: *Clin. Chim. Acta*, **365**, 310 (2006).
- 14) S. D'Ilio, N. Violante, S. Caimi, M. D. Gregorio, F. Petrucci, O. Senofonte: *Anal. Chim. Acta*, **573-574**, 432 (2006).
- 15) 木村正己, 小野 哲, 和田 攻: “環境汚染物質の生体への影響2 クロム・バナジウム”, p. 108 (1977), (東京化学同人).
- 16) 長橋 捷, 和田 攻: “環境汚染物質の生体への影響3 ニッケル”, p. 123 (1977), (東京化学同人).
- 17) 久永 明, 石西 伸: “環境汚染物質の生体への影響16 ヒ素”, p. 201 (1985), (東京化学同人).
- 18) 桜井治彦, 土屋健三郎: “環境汚染物質の生体への影響4 セレン”, p. 48 (1978), (東京化学同人).
- 19) 清水盈行: 日本臨牀, **43**, 550 (1985).
- 20) J. Wang, E. H. Hansen, B. Gammelgaard: *Talanta*, **55**, 117 (2001).
- 21) 化学大辞典編集委員会編: “化学大辞典 3”, p. 338 (1997), (共立出版).
- 22) D. E. Nixon, K. R. Neubauer, S. J. Eckdahl, J. A. Butz: *Spectrochim. Acta, Part B*, **57**, 951 (2002).
- 23) I. D. B. Bravo, R. S. Castro, N. L. Riquelme, C. T. Daíz, D. A. Goyenaga: *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **21**

-
- (Supplement 1), 14 (2007).
- 2 4) J.-P. Goullé, L. Mahieu, J. Castermant, N. Neveu, L. Bonneau, G. Lainé, D. Bouige, C. Lacroix: *Forensic Sci. Int.*, **153**, 39 (2005).
- 2 5) 高橋純一, 山田憲幸: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **53**, 1257 (2004).
- 2 6) V. I. Baranov, S. D. Tanner: *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 1133 (1999).
- 2 7) S. D. Tanner, V. I. Baranov, U. Vollkopf: *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**, 1261 (2000).
- 2 8) V. Nischwitz, A. Berthele, B. Michalke: *Anal. Chim. Acta*, **627**, 258 (2008).
- 2 9) R. V. Cauwenbergh, H. Robberecht, V. V. Vlaslaer, H. Deelstra: *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **18**, 99 (2004).