

2.63 誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法

誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法は、誘導結合プラズマ(ICP: Inductively Coupled Plasma)を励起源又はイオン源として利用する元素分析法である。

ICPは、高周波誘導結合法により得られるアルゴンプラズマの高温の熱エネルギーを有する励起源である。このプラズマ中に試料溶液を噴霧導入すると、試料溶液中に含有される原子が励起され、このとき生じる原子発光スペクトルの波長及び強度を測定して、元素の同定や定量分析を行う方法をICP発光分光分析法という。ICPは良い励起源であると同時に良いイオン化源でもあることから、検出器として質量分析計を用い、ICPによりイオン化された元素を m/z 値ごとに分離してイオンのピーク強度を測定することにより、定性分析及び定量分析を行う方法をICP質量分析法という。

原子に外部から高エネルギーを与えると、最外殻電子が軌道遷移を起こし、励起状態になる。この励起状態の原子は、基底状態に戻る際に励起によって得られたエネルギーを光として放出する。このとき発生する光は、各元素に固有の振動数 ν 又は波長 λ を持っており、 h をプランクの定数、 c を光速とすれば、そのエネルギー ΔE は、次式により表される。

$$\Delta E = h\nu = hc/\lambda$$

最外殻電子の軌道遷移のエネルギー準位と放出エネルギーの組合せは、多数あることから、通常、一つの元素からの発光線は強弱合わせると数多く存在する。しかし、紫外・可視領域にあって、元素の定性・定量分析に必要な検出感度を有する発光線は限定される。原子発光スペクトルは、各元素に固有の振動数又は波長を有することから、分光器により検出されるこのスペクトルの波長を解析することにより、試料溶液中に含まれる各元素を同定することができる。また、このスペクトル線の強度から、試料溶液中の各元素の定量分析を行うことができる。この原理を利用したのが、ICP発光分光分析法である。

ICP質量分析法は、原子吸光度法やICP発光分光分析法などの光学的な分析法に代わる元素分析法である。プラズマによって元素をイオン化させた後、 m/z 値により分離、計測するという本法は、ICP発光分光分析法に比べ、高感度、同位体分析ができるなどの特長を持つ。

ICP発光分光分析法及びICP質量分析法は、原薬又は製剤中の無機不純物又は共存元素に対する特異的な微量分析法として優れており、アルカリ・アルカリ土類金属、重金属類だけでなく、医薬品の安全性を確保するために適切な管理が必要とされる多くの元素の定性・定量分析が可能である。また、多数の元素の同時分析が可能ことから、無機元素のプロファイル分析を行うことにより、原薬などの品質確保を図ることができる。

1. 装置

1.1. ICP発光分光分析計の装置構成

ICP発光分光分析計は、励起源部、試料導入部、発光部、分光部、測光部及びデータ処理部で構成される。

励起源部は、発光部に電気エネルギーを供給・制御するための高周波電源、制御回路及びガス供給部からなる。試料導入部

は、試料溶液を発光部に導入する部分で、試料溶液を霧化するネブライザー及び噴霧室(スプレーチャンバー)などから構成される。

発光部は、試料溶液中の元素を原子化・励起・発光させるための部分で、トーチ及び高周波誘導コイルなどからなる。トーチは、三重管構造をしており、中心の管から試料溶液が導入される。プラズマの生成及び試料溶液を搬送するためのガスとしてアルゴンガスを用いる。発光部から放射される光の観測方式には、プラズマの側面の光を観測する横方向観測方式及びプラズマの中心の光を観測する軸方向観測方式がある。

分光部は、発光部から放射された光をスペクトル線に分離するための部分で、集光系及び回折格子などの光学素子からなる。分光器には、波長走査形分光器(モノクロメーター)と波長固定型の同時測定形分光器(ポリクロメーター)がある。なお、190 nm以下の真空紫外領域のスペクトル線を測定する場合、分光器内は、真空排気を行うか、アルゴンガス又は窒素ガスにより、空気を置換する必要がある。

測光部は、入射した光をその強度に応じた電気信号に変換する部分で、検出器及び信号処理系からなる。検出器としては、光電子増倍管又は半導体検出器が用いられる。

データ処理部は、データ処理を行い、検量線及び測定結果などを表示する。

1.2. ICP質量分析計の装置構成

ICP質量分析計は、励起源部、試料導入部、イオン化部、インターフェース部、イオンレンズ部、質量分離部、イオン検出部及びデータ処理部で構成される。

励起源部、試料導入部及びイオン化部は、それぞれICP発光分光分析計における励起源部、試料導入部及び発光部と同一の構造である。

インターフェース部は、大気圧下でプラズマにより生成されたイオンを高真空の質量分離部に導入するための境界部分でサンプリングコーン及びスキマーコーンより構成される。

イオンレンズ部は、インターフェース部を介して導入されたイオンを収束させ、効率良く質量分離部に導くための部分である。

質量分離部は、多くの装置で四重極型の質量分析計が採用されている。なお、コリジョン・リアクションセルと呼ばれる室(セル)を真空内の質量分離部の前に配置し、水素、ヘリウム、アンモニア又はメタンなどのガスを導入することにより、後述の多原子イオン類による干渉を抑制できる。

イオン検出部は、検出器内に到達したイオンを、増倍管により増幅した後、電気信号に変換し、データ処理部で、得られた電気信号をデータとして処理し、検量線及び測定結果などを表示する。

2. 試料の前処理

医薬品原薬などの有機物を試料とする場合は、通例、乾式灰化法又は湿式分解法により有機物を灰化又は分解した後、残留物を少量の硝酸又は塩酸に溶かして試料溶液を調製する。別に、難分解性試料の場合、密閉式の加圧容器中、マイクロ波分解装置を用いて分解することもできる。少量の有機溶媒を含む液体試料は、前処理なしで装置に導入することができるが、有機溶媒中の炭素がトーチやインターフェース部に沈着することを防ぐため、助燃ガスとして酸素を導入する方法もある。

105 3. ICP発光分光分析計の操作

106 アルゴンガスを所定の流量に設定し、高周波電源を入れ、プラ
107 ズマを生成する。プラズマの状態が安定していることを確認
108 した後、医薬品各条に規定された方法で調製した試料溶液及び
109 標準溶液などを導入し、定められた分析線における発光強度を
110 測定する。また、確認又は同定のための定性試験を行う場合、
111 分析対象元素について、定められた複数の分析線が含まれる波
112 長範囲で発光スペクトルを測定する。

113 3.1. 分光器の性能評価

114 波長校正は、各装置に特有な方法があることから、それぞれ
115 に指示された方法・手順に従って、適切に実施する必要がある。

116 波長分解能は、通例、特定元素の分析線スペクトルの半値幅
117 が一定値(nm)以下として規定される。低波長側から高波長側
118 まで、通例、ヒ素As (193.696 nm)、マンガンMn (257.610
119 nm)、銅Cu (324.754 nm)及びバリウムBa (455.403 nm)の発
120 光線が選択される。

121 3.2. 操作条件の最適化

122 操作条件は、通例、次による。

123 装置は、15～30分の暖機運転により、プラズマの状態を安
124 定させた後、操作条件の最適化を図る。通例、高周波出力は
125 0.8～1.4 kW、アルゴンガスの流量は、冷却ガス(プラズマガ
126 ス) 10～18 L/分、補助ガス0～2 L/分、キャリアーガス0.5～2
127 L/分とする。プラズマの測定位置は、横方向観測方式の場合、
128 誘導コイルの上端より10～25 mmの範囲であり、溶液の吸い
129 上げ量は0.5～2 mL/分とする。一方、軸方向観測装置の場合
130 は、測定される発光強度の最大値が得られるように光軸の調整
131 を行う。また、積分時間は、測定される発光強度の安定性を考
132 慮し、1～数十秒の範囲内で設定する。

133 本試験を医薬品各条で規定する場合、分析線(nm)、高周波
134 出力(kW)、アルゴンガス流量(L/分)など、必要な試験条件を記
135 載するが、それぞれの装置及び観測方式などにより、操作条件
136 の最適化を図る必要がある。

137 3.3. 干渉とその抑制又は補正

138 ICP発光分光分析法における干渉とは、測定に際して、共存
139 成分又はマトリックスが測定結果に影響を与えることの総称で
140 ある。種々の干渉を大別すると、物理干渉及びイオン化干渉な
141 どの非分光干渉と分光干渉があるが、適切な抑制法又は補正法
142 の適用により、その影響を排除又は軽減することができる。

143 物理干渉とは、試料溶液と検量線用標準溶液の粘性、密度、
144 表面張力などの物理的性状が異なる場合、発光部への試料溶液
145 の噴霧効率に差異が生じることから、測定結果がその影響を受
146 けることをいう。この種の干渉の影響を排除又は軽減するため
147 には、干渉の生じない程度まで試料溶液を希釈すること、試料
148 溶液と検量線用標準溶液の液性とをできるだけ一致させること
149 (マトリックスマッチング法)のほか、定量法として内標準法(強
150 度比法)又は標準添加法の適用もその有力な補正法となる。

151 イオン化干渉とは、試料溶液中に高濃度の共存元素が存在す
152 る場合、それらの元素のイオン化により発生する電子により、
153 プラズマ内の電子密度が増加し、イオン化率が変化することに
154 よる影響を指す。イオン化干渉に対する抑制法又は補正法は、
155 基本的には物理干渉の場合と同様である。別に、光の観測方式、
156 観測高さ、高周波出力及びキャリアーガス流量などの選択及び
157 調節により、イオン化干渉の少ない測定条件を確保することが
158 できる。

159 分光干渉とは、分析対象元素の分析線に種々の発光線や連続
160 スペクトルが重なり、分析結果に影響を及ぼすことを指す。こ
161 の干渉を回避するためには、分光干渉を受けない別の分析線を
162 選択する必要があるが、適当な分析線が得られない場合、分光
163 干渉補正を行う必要がある。なお、有機物試料の前処理が不十
164 分な場合、試料溶液中の窒素、酸素、水素、炭素に起因する分
165 子バンドスペクトル(NO, OH, NH, CHなど)が分析対象元
166 素の分析線に近接し、干渉することがある。

167 4. ICP質量分析計の操作

168 プラズマの状態が安定していることを確認した後、装置の最
169 適化を行い、システムの適合性を確認する。医薬品各条に規定
170 された方法で調製した試料溶液及び標準溶液などを導入し、定
171 められた m/z 値における信号強度を測定する。また、確認又
172 は同定のための定性試験を行う場合、分析対象元素について、
173 定められた m/z 値の範囲で、マススペクトルを測定する。

174 4.1. 質量分析計の性能評価

175 質量分析計の性能評価項目として、質量真度と質量分解能が
176 ある。質量真度は、操作条件の最適化用の標準溶液を用いて標
177 準となる元素の m/z 値と質量分離部の質量軸を一致させるこ
178 とにより調整する。四重極型質量分析計の場合には、 ± 0.2 以
179 内であることが望ましい。質量分解能は、測定ピークの10%の
180 高さにおけるピーク幅が0.9以下であることが望ましい。

181 4.2. 操作条件の最適化

182 限度試験又は定量試験を行うときは、あらかじめ次に規定す
183 る感度、バックグラウンド、並びに酸化イオン及び二価イオン
184 の生成比の最適化を行い、装置の稼働性能が適切であることを
185 を確認しておく。操作条件の最適化の実施に際しては、通常、
186 適切な濃度に調整した、 ${}^7\text{Li}$ 、 ${}^9\text{Be}$ 、 ${}^{59}\text{Co}$ 、 ${}^{89}\text{Y}$ 、 ${}^{115}\text{In}$ 、 ${}^{140}\text{Ce}$ 、
187 ${}^{205}\text{Tl}$ 及び ${}^{209}\text{Bi}$ などの環境中から汚染し難い、低質量数、中質
188 量数及び高質量数を代表する元素の標準溶液を用いる。

189 感度は、積分時間1秒当たりのイオンカウント数(cps)で判定
190 する。限度試験又は定量試験を行うときは、低質量数、中質量
191 数及び高質量数において、各元素濃度1 $\mu\text{g/L}$ (ppb)当たり数万
192 cps程度あることが望ましい。

193 バックグラウンドは、天然には存在しない元素の m/z 値、
194 例えば m/z が4、8又は220などで測定した場合、10 cps以下
195 であることが望ましい。

196 酸化イオン及び二価イオンの生成比は、 ${}^{140}\text{Ce}$ などの溶液
197 を用い、それぞれの酸化イオン(${}^{140}\text{Ce}$ の場合 ${}^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$ 、 m/z
198 156)、二価イオン(${}^{140}\text{Ce}^{2+}$ 、 m/z 70)及び一価イオン(${}^{140}\text{Ce}^+$ 、
199 m/z 140)のカウント数を測定し、酸化イオン及び二価イオン
200 のカウント数を一価イオンのカウント数で除して求める。酸
201 化イオン生成比、すなわち ${}^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+ / {}^{140}\text{Ce}^{2+}$ が0.03以下、及び
202 二価イオン生成比、すなわち ${}^{140}\text{Ce}^{2+} / {}^{140}\text{Ce}^+$ が0.05以下となる
203 ことが望ましい。

204 4.3. 干渉とその抑制又は補正

205 測定に際しては、スペクトル干渉及び非スペクトル干渉に注
206 意する必要がある。

207 スペクトル干渉には、同重体干渉並びに多原子イオン及び二
208 価イオンのマススペクトルの重なりによる干渉がある。同重体
209 干渉とは、測定対象元素と原子量が近接している同重体イオン
210 による干渉をいう。例として、 ${}^{40}\text{Ca}$ に対する ${}^{40}\text{Ar}$ 、 ${}^{204}\text{Pb}$ に対
211 する ${}^{204}\text{Hg}$ の重なりがある。多原子イオンは、イオン化源とし
212 てアルゴンガスを使用しているため、例えば、Arに起因する

213 $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$, $^{40}\text{Ar}_2$ などの多原子イオンが形成され、
214 それぞれ ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{80}Se の測定に干渉を生じる。コリジョ
215 ン・リアクションセルが付属している装置では、セル内でこれ
216 らの多原子イオンを減少させることができる。二価イオンとは、
217 当該の一価イオンの $1/2$ の m/z 値にピークを持つイオンのこ
218 とで、試料溶液中に測定対象元素の2倍の質量数の同位体を持
219 つ元素が共存する場合に干渉を生じる。

220 非スペクトル干渉には、ICP発光分光分析法の場合と同様に、
221 物理干渉及びイオン化干渉のほか、ICP質量分析法特有のもの
222 としてマトリックス干渉がある。マトリックス干渉は多量の共
223 存元素が存在すると測定対象元素のイオンカウント数が一般的
224 に減少する現象である。この傾向は、共存元素の質量数が大き
225 く、その濃度が高いほど、また、測定元素の質量数が小さいほ
226 ど顕著に表れる。非スペクトル干渉は、未知試料に対して既知
227 量の測定対象元素を添加することで、その回収率から干渉の程
228 度を確認できる。回収率が低く、分析の信頼性が確保されない
229 と判断される場合には、内標準法又は標準添加法によって補正
230 を行う。ICP質量分析法では特に同位体希釈法を用いると非ス
231 ペクトル干渉の影響を低減できる。

232 5. システム適合性

233 本法を用いて限度試験又は定量試験を行うときは、あらかじめ
234 め次に規定するシステム適合性試験を行って、装置の稼働性能
235 が適切であることを確認しておく必要がある。

236 5.1. 検出の確認及び直線性の評価

237 分析対象元素を含まない溶液及び分析対象元素の規格限度値
238 の濃度に相当する標準溶液を調製し、それぞれブランク溶液及
239 びシステム適合性試験用溶液とする。ブランク溶液及びシステ
240 ム適合性試験用溶液につき、各装置により最適化された試験条
241 件の下で、スペクトルを測定し、システム適合性試験用溶液に
242 はブランク溶液と比較して、定められた波長又は m/z 値の範
243 囲に分析対象元素のピークが明確に観察されることを確認する。
244 ただし、規格限度値の濃度は定量限界(10 σ)以上の濃度である
245 こと。なお、定量試験においては、検出の確認は不要である。

246 直線性については、「6.2. 定量分析」において作成した検
247 量線の相関係数が0.99以上であることを確認する。なお、
248 「6.1. 定性分析」及び「6.2. (iv) 同位体希釈法」におい
249 ては直線性の確認は不要である。

250 5.2. システムの再現性

251 各装置により最適化された試験条件の下、最低濃度の検量線
252 用標準溶液を用いて、試験を6回繰り返すとき、別に規定する
253 もののほか、分析対象元素のスペクトル強度の相対標準偏差は
254 一定値以下(例えば、定量試験では3%以下、純度試験では5%
255 以下)であることを確認する。

256 6. 定性及び定量分析

257 6.1. 定性分析

258 ICP発光分光分析法では、試料溶液中に含まれる元素由来の
259 複数の発光線の波長及び相対的な発光強度が、標準溶液に含
260 まれるこれら元素の発光線の波長及び相対的な発光強度に一致
261 するとき、これら元素の含有を確認することができる。なお、
262 標準溶液に替えて、各装置に付属のライブラリー又はICP発光
263 スペクトルの波長表を利用することもできる。ICP質量分析法
264 では、短時間に全元素の質量数領域をスキャンするため、試料
265 溶液のスペクトル中のピークの m/z 値から試料溶液中に含ま
266 れる元素を定性分析できる。

267 また、試料中に不純物として混在が想定される金属触媒、無
268 機元素及び安全性の観点より常時監視しておく必要のあるヒ素、
269 鉛などの分析対象元素を定め、原薬の製造管理の一環として、
270 これら分析対象となる無機性不純物のプロファイル分析を行う
271 ことができる。

272 なお、各元素標準溶液は、別に規定する各元素の許容限度値
273 を考慮して、適切な濃度に調製する。

274 6.2. 定量分析

275 試料溶液中の無機元素の定量的評価は、一定時間の積分によ
276 って得られた発光強度あるいはイオンカウント数から、通例、
277 次のいずれかの方法により行う。

278 (i) 検量線法：分析対象元素について、4種類以上の異なる
279 濃度の検量線用標準溶液を調製する。この検量線用標準溶液を
280 用い、ICP発光分光分析法においては分析線における発光強度、
281 ICP質量分析法においては測定 m/z 値におけるイオンカウン
282 ト数と濃度との関係を作図し、検量線とする。この検量線を用
283 いて発光強度又はイオンカウント数に対応する試料溶液中の分
284 析対象元素の濃度を求める。

285 (ii) 内標準法：一定濃度の内標準元素を含み、分析対象元素
286 について、4種類以上の異なる濃度の検量線用標準溶液を調製
287 する。この検量線用標準溶液を用い、内標準元素に対する分析
288 対象元素の発光強度比又はイオンカウント数比と濃度との関係
289 を作図し、検量線とする。試料溶液の調製に際しても、検量線
290 用標準溶液中の濃度と同一となるように内標準元素を添加する。
291 この検量線を用いて、内標準元素に対する分析対象元素の発光
292 強度比あるいはイオンカウント数比に対応する試料溶液中の分
293 析対象元素の濃度を求める。

294 なお、本法の適用に当たっては、添加する内標準元素が試料
295 溶液中に含まれないことを確認しておく必要がある。また、内
296 標準元素としては、ICP発光分光分析法においては、測定条件
297 や溶液の液性などによる発光強度の変化が、分析対象元素と類
298 似していること、及び分析線に対して分光干渉を生じない発光
299 線を選択するなどの必要がある。一方、ICP質量分析法におい
300 ては、測定対象元素と、スペクトル干渉を起こさず、同程度の
301 イオン化効率及び質量数を有する元素が望ましい。

302 (iii) 標準添加法：同量の試料溶液を4個以上とり、分析対象
303 元素を添加しないもの、及び分析対象元素を3種類以上の異な
304 る濃度で添加した検量線用標準溶液を調製する。それぞれの溶
305 液の発光スペクトル又はマスペクトルから、分析線における
306 発光強度又は測定 m/z 値におけるイオンカウント数と濃度と
307 の関係を作図し、得られる回帰直線の横軸(濃度)切片の絶対値
308 より、試料溶液中の分析対象元素の濃度を求める。

309 この方法は、ICP発光分光分析法においては、試料溶液中の
310 共存物質による非分光干渉を補正する点で有効であり、分光干
311 渉がないか、又はバックグラウンド及び分光干渉が正しく補正
312 され、かつ発光強度と濃度の関係が良好な直線性を保つ場合に
313 のみ適用できる。一方、ICP質量分析法においては、試料溶液
314 中の共存物質による非スペクトル干渉を補正する点で有効であ
315 り、スペクトル干渉が正しく補正され、かつイオンカウント数
316 と濃度の関係が低濃度域まで良好な直線性を保つ場合のみ適用
317 できる。

318 (iv) 同位体希釈法：同位体希釈法は、ICP質量分析法に適用
319 可能な方法で、天然と異なる既知の同位体組成を持つ濃縮同位
320 体を試料溶液に添加することにより、測定対象元素の同位体組

321 成比の変化から濃度を求める方法である。同位体分析を行うた
322 め、天然に二つ以上の安定同位体が存在する元素に適用するこ
323 とができる。濃縮同位体の添加量と濃縮同位体混合試料溶液の
324 同位体比の測定のみで定量が可能であるため、分析精度が高く、
325 非スペクトル干渉の影響を受けないことが特長である。

326 7. 注意

327 本試験に用いる水及び試薬類並びに標準溶液は、次による。
328 (i) 水は、ICP分析用水を用いる。なお、その水に含まれる
329 不純物が分析対象元素に干渉しないことを確認しておく必要が
330 ある。ここで、ICP分析用水とは、電解質及びコロイド状の無
331 機物並びに有機物を含まず、その導電率が $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (25℃)以
332 下の水とする。
333 (ii) 試薬類は、ICP分析に適した高品質のものを用いる。
334 (iii) アルゴンガスは、液化アルゴン又は圧縮アルゴンのい
335 れを用いても良いが、純度99.99 vol%以上のものを用いる。
336 (iv) 標準溶液は、日本薬局方標準液若しくは公的機関又は学
337 術団体などにより濃度の確認された標準液などを、ICP分析用
338 水などを用いて規定された濃度に希釈して調製する。ただし、
339 干渉を受ける場合は、標準溶液の液性は試料溶液と合わせるこ
340 とが望ましい。
341 (v) 複数元素を含む標準溶液を調製する場合は、沈殿及び互
342 いに干渉を生じないような試液及び元素の組合せを選択する。

343

344

345 注意事項：当試験法の日本薬局方一般試験法収載に伴い、参考
346 情報「誘導結合プラズマ発光分光分析法」を削除します。

347

348