

採卵鶏の卵・臓器および飼料中微量元素の PIXE 分析

大山紀彦¹⁾、夏堀雅宏¹⁾、世良耕一郎²⁾、伊藤じゅん³⁾、二ツ川章二³⁾、横山次郎⁴⁾
川田道子⁴⁾、上野隆嗣⁴⁾、両角能彦⁵⁾、福英司⁵⁾、佐野忠士¹⁾、伊藤伸彦¹⁾

¹⁾北里大学獣医学部

034-8628 青森県十和田市東 23 番町 35-1

²⁾岩手医大サイクロトロンセンター

020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

³⁾日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター

020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

⁴⁾日本農産工業株式会社

220-81 横浜市西区みなとみらい 2-2-1

⁵⁾株式会社アルビス

170-0013 東京都豊島区東池袋 2-32-22

1 はじめに

鶏卵は古くから人間に食されてきた食品であり、良質な蛋白質・カルシウム・鉄分など人間にとって必要とされる栄養素をほとんど満遍なく含有している非常に優良な食品である。近年、この鶏卵中にある特定の栄養素を強化したいわゆる「特殊卵」が世間に広く流通している。産卵鶏飼料中に海草や無機ヨードを添加することによって鶏卵中のヨード(I)含有量を強化した、「ヨード強化卵 (以下、ヨード卵)」も特殊卵の一つである。このヨード卵の摂取によって、血中コレステロール改善作用・抗炎症作用・抗アレルギー作用・抗老化作用などの様々な有効効果がもたらされると報告されている^{1)~8)}。しかし一方で、このような効果をもたらしている I 物質は現在まで完全に明らかにはされておらず、その有効物質を明らかにすることが望まれている。そこで本研究ではその有効物質を明らかにするための基礎的な検討として、ヨード卵および普通鶏卵・産卵鶏の臓器・および鶏飼料中 I 含量の PIXE 分析による測定を試みた。今回は特に、これらの試料中の I 含有量を PIXE 分析法によって測定する際の最適な試料処理法および PIXE 分析法における I の添加回収率について検討した。また卵黄、飼料、臓器 (甲状腺・卵胞・血液) の測定結果についてもあわせて報告する。

2 材料と方法

2. 1 試料

2.1.1 試料処理法の検討

試料処理法の検討には、卵試料として高濃度ヨード卵黄および市販ヨード卵黄を使用した。また測定に供した試料は対照試料として普通卵黄、普通卵生産用飼料、対照鶏臓器（甲状腺・卵胞・血液）を、I 試料として市販ヨード卵黄、ヨード卵生産用飼料、ヨード鶏臓器（甲状腺・卵胞・血液）を使用した。これらの試料は日本農産工業株式会社において採取・凍結乾燥処理されたものを PIXE 分析用試料として使用した。

2.1.2 PIXE 分析法における I 添加回収率の検討

PIXE 分析法における I の検出限界の検討には、水処理において I 含有量が 10ppm 以下と判断された普通卵黄試料を使用した。

2. 2 試料処理法の検討

本研究では水処理、硝酸灰化処理、液体窒素による微粉末化処理の 3 方法を実施した。

2.2.1 水処理

メノウ製乳鉢に試料 100 mg を測り取り、超純水 400 μ l を加えよく攪拌した。これに内部標準として In 標準原液（原子吸光測定用標準液：1000ppm / 1NHNO₃、Factor 1.004）100 μ l を添加し十分に攪拌した。このうち 5 μ l をポリプロピレンフィルムに塗布・自然乾燥後、PIXE 分析用試料として使用した。また同試料について、In 無添加のものもあわせて作成した。

同様の操作を 2 回行い、1 回目と 2 回目の結果を比較した。

2.2.2 硝酸灰化処理

試料 100 mg をテフロン容器内に測り取り、硝酸 500 μ l を加え電子レンジにて加熱し、硝酸灰化処理を行った。これに内部標準として In 標準原液 100 μ l を添加してよく攪拌後、5 μ l をポリプロピレンフィルムに塗布・自然乾燥後、PIXE 分析用試料として使用した。また同試料について、In 無添加のものもあわせて作成した。

2.2.3 液体窒素による微粉末化処理

試料適量を薬局方乳鉢に取り、適量の液体窒素を加えて試料を完全に凍結後、乳棒を用いて細かくすりつぶし、微粉末試料を作成した。この微粉末試料 200 mg に粉末内部標準として 5%パラジウムカーボン 50 mg を添加して十分均一になるまで攪拌し、再現性を見る目的で同時に 4 枚のターゲットを作成し、結果を比較した。

2. 3 PIXE 分析法におけるヨード添加回収率の検討

水処理法において I 含有量が 10ppm 以下と判断された普通卵黄試料に、各濃度に調整したヨウ化カリウム (KI) 溶液を添加し、内部標準として Pd 標準原液(原子吸光測定用標準液:1000ppm/1NHCl, factor=1.01)を添加したものについて PIXE 分析を行い、I 含有量を測定した。

KI 溶液は I の濃度としてそれぞれ 100000、50000、10000、5000、1000、500、100、50、10、5ppm に調整したものをを用いた。ターゲットは各濃度につき二枚作成し、PIXE 分析を行った。

3 結果と考察

3. 1 サンプル処理法の検討

サンプル処理法はヨード(I)、鉄(Fe)、亜鉛(Zn)の 3 元素について検討した。

3.1.1 水処理法

水処理法による試料の PIXE 分析結果を図 1 に示した。内部標準として In を添加した試料では、I 含有量が過小評価された。これは In-K β と I-K α のエネルギースペクトルが類似していることによる競合の結果を反映

したものと考えられた。また In 標準原液中の酸によって I が飛散した可能性も考えられた。これらのことから PIXE 分析法によって I を測定する際、内部標準として In は適していないと考えられた。

内部標準として In を添加していない試料では実測値に多少のばらつきが認められるものの、比較的安定した値となった。今回の結果で認められたばらつきは試料をポリプロピレンフィルムに塗布する際の試料の厚さのムラによる自己吸収や、試料自体の不均一性など手技的な要因を反映したものと考えられた。さらに試料の中には、水処理ではポリプロピレンフィルムに塗布することが出来ない試料もいくつか認められた。

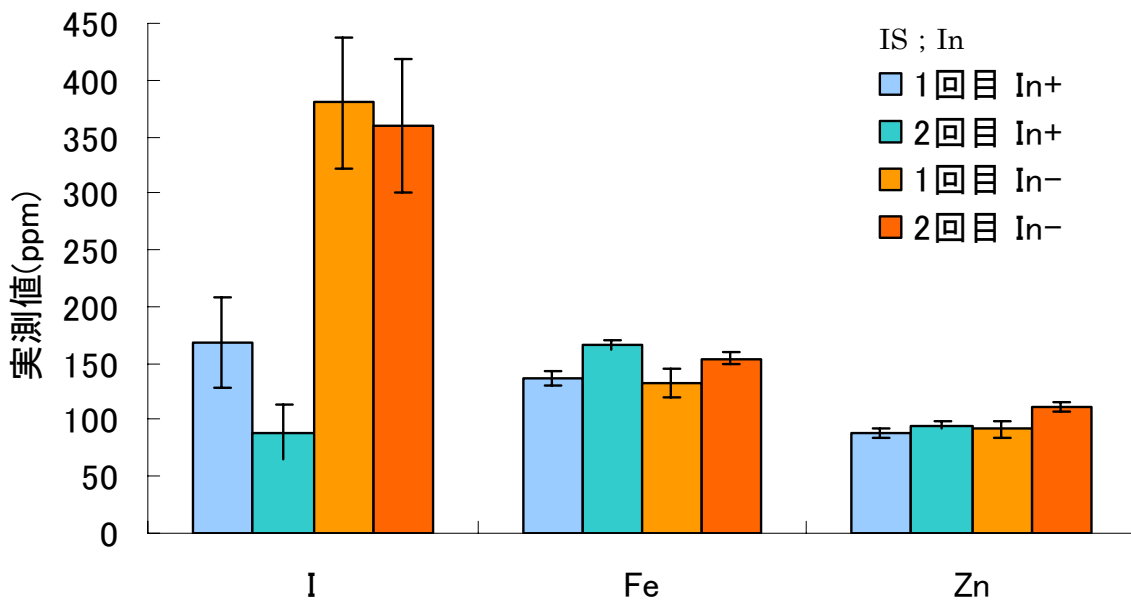


図1 水処理法の結果

3.1.2 硝酸灰化処理法

硝酸灰化処理法による試料の PIXE 分析結果を図2に示した。硝酸灰化処理では、水処理の結果と比較すると著しく I 含有量が過小評価された。これは試料中 I の大部分が酸による灰化処理によって飛散してしまった結果を反映しているものと考えられた。また水処理と同様に内部標準として In を添加した試料では I 含有量が過小評価される結果となった。以上のことから PIXE 分析法によって I を測定する場合の試料処理法に硝酸灰化処理法は適していないと考えられた。

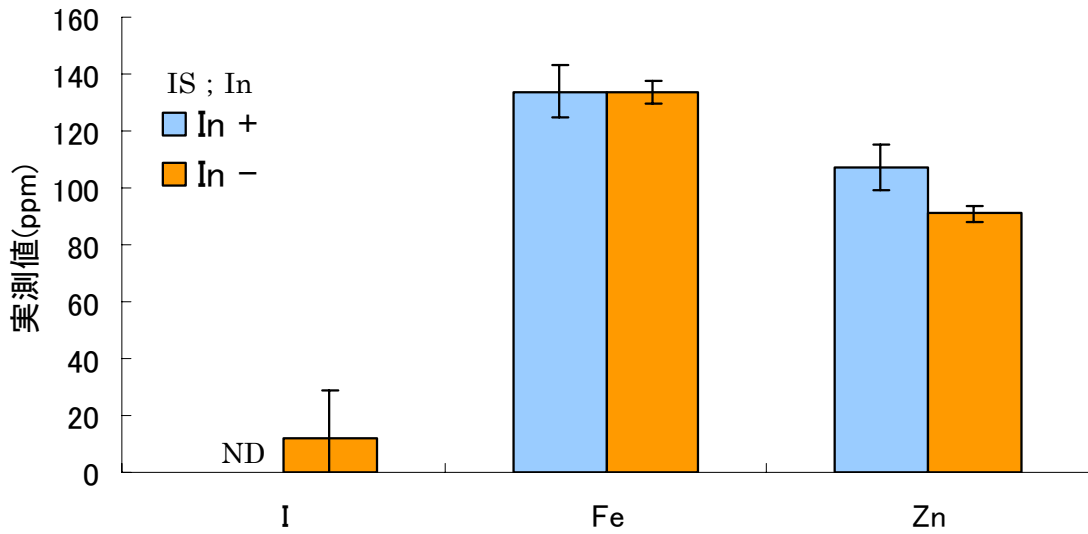


図2 硝酸灰化処理法の結果 (ND ; Not Detected)

3.1.3 微粉末化処理法

微粉末化処理法における試料の PIXE 分析結果を図3に示した。今回の結果ではI測定結果の再現性が著しく悪く、その他の元素の結果も測定結果にばらつきが認められた。これは微粉末試料と粉末内部標準の不均一性を反映したものと考えられ、手技的な要因以外にも、粘性など試料自体の性質(粘性など)も影響していることが考えられた。

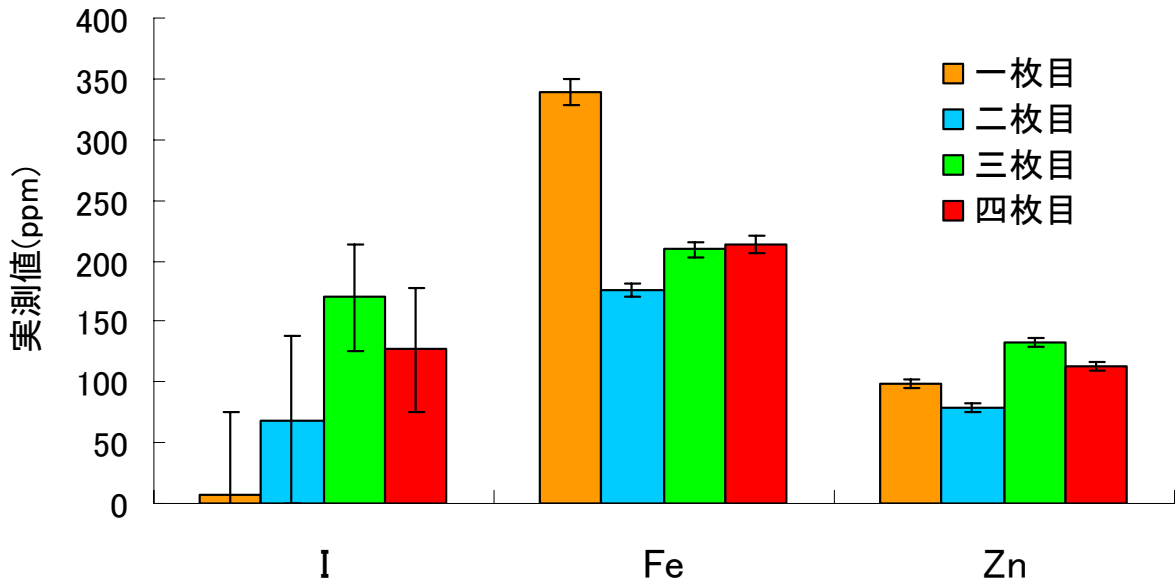


図3 微粉末化処理の結果

3.2 PIXE 分析法におけるI添加回収率の検討

各濃度の KI 溶液を添加した普通卵黄サンプルの PIXE 分析結果をグラフにプロットし、それらの点から近似曲線 $Y=0.94X+6.3$ を描いた (図4)。またこの近似曲線と今回用いた I 添加量から今回の測定で想定される I 添加回収率を求め、グラフを描いた (図5)。またあわせて実際の I 添加回収率を求めグラフにプロットした

(図 5)。今回の結果では $R^2=0.9854$ であり、近似曲線と実測値のプロットに良好な相関性が認められた (図 4)。また想定された I 添加回収率のグラフは今回使用した普通卵黄試料中に元々含有している I も考慮しているため、I 添加量が少ない場合には、その回収率は高い値を示した (図 5)。I 添加回収率は実測値と想定値との間でいくつかズレが認められた。このズレは試料と内部標準の不均一性やポリプロピレンフィルムへの塗布のムラによる自己吸収の影響など手技的な要因を反映したものと考えられるが、I 添加量が低濃度の場合、PIXE 分析における I の検出限界の存在もあわせて考慮しなければならないと考えられた。

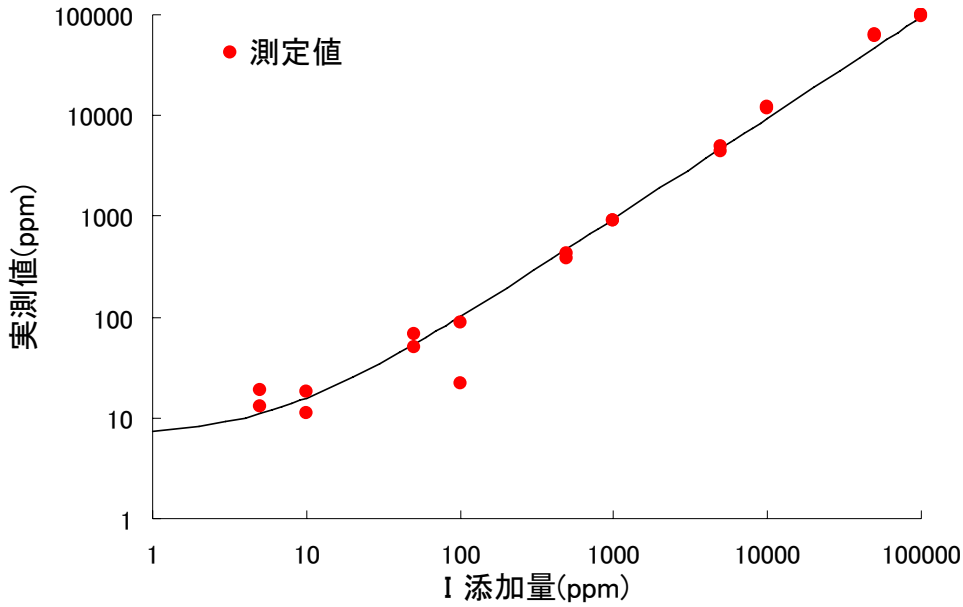


図 4 実測値と近似曲線

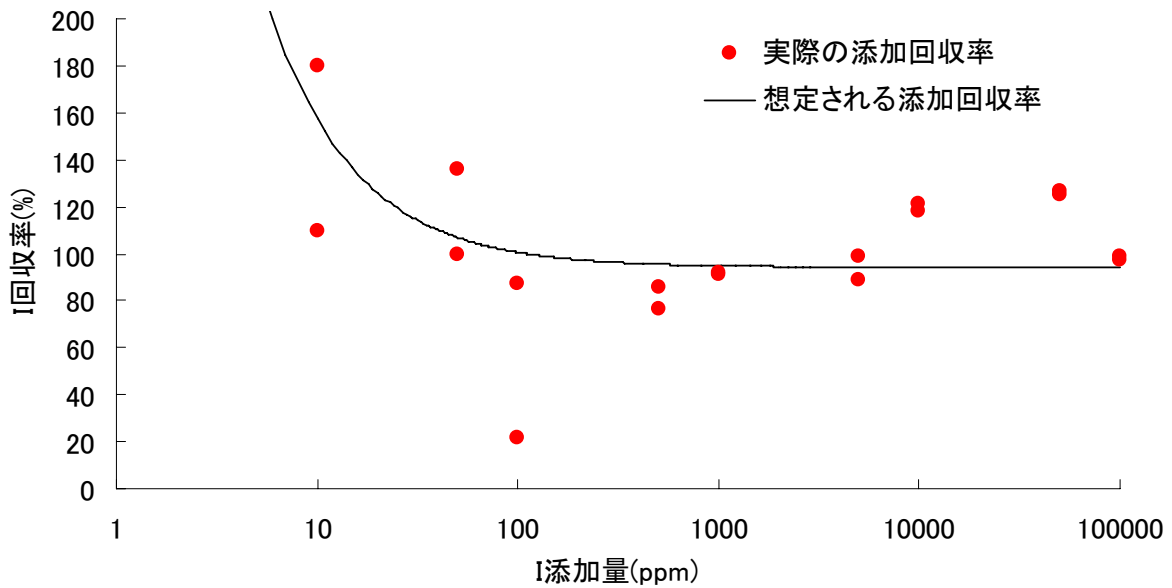


図 5 想定される I 添加回収率と実際の I 添加回収率

4 まとめ

本研究では試料中のI含有量をPIXE分析法によって測定する際の最適な試料処理法およびPIXE分析法におけるI添加回収率について検討した。試料処理法の検討では、(1)IをPIXE分析法によって測定する際の内部標準としてInは適していないこと、(2)酸による湿性灰化処理では、酸処理によるIの飛散により、I含有量が著しく過小評価されてしまうこと、(3)水処理・微粉末化処理(粉末内部標準法)のいずれにおいても、手技的要因や試料自体の要因による試料の不均一性によって測定値に差異が認められたことなどが明らかとなった。以上のように問題点はいくつか挙げられるが、現在までの試料の測定結果を図6に示した。結果は参考値であるが、全体的にヨード試料が対照試料に比較してI含有量が高い値となり、特に甲状腺では顕著に高い値を示した。

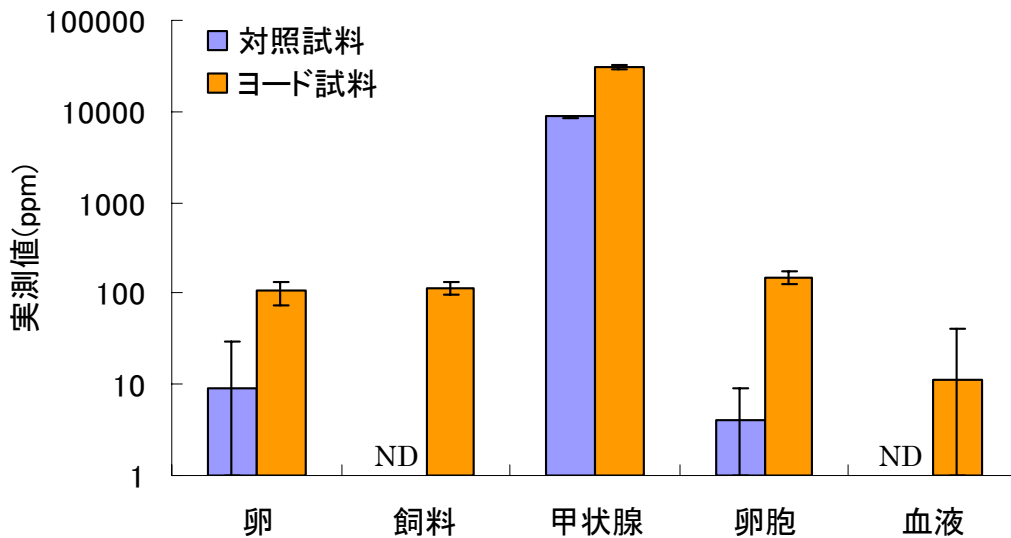


図6 対照試料とヨード試料の測定結果 (値は参考値、ND ; Not Detected)

I添加回収率の検討では想定値と実測値にいくつかズレが認められたが、これらを除けばある程度良好な回収率が得られたものと考えられた。今回の検討ではいくつかの問題点が明らかとなったため、今後の改善点について述べる。水処理では内部標準にInではなくIの解析を阻害しないPdに変更することが望ましいと考えられた。またPd標準原液中に酸が含有しているため、酸を添加した際のIの飛散について検討する必要がある⁹⁾。さらに測定値のばらつきが大きき要因と考えられる試料の不均一性やポリプロピレンフィルムに塗布する際の試料の厚さのムラを出来る限り最小限で抑えるためにも、試料処理の精度を高めていく必要があると考えられた^{10,11)}。微粉末化処理についても値のばらつきが大きき要因が微粉末試料と粉末内部標準の不均一性であると考えられるため^{9)~12)}、これらを十分均一に出来るよう試料処理の精度を高めていく必要があると考えられた。また手技的な要因以外にも試料自体の粘性が影響していることも考えられ¹¹⁾、このことに関しても処理法を改善していく必要があると考えられた。

I添加回収率の検討では、今回使用した普通卵黄試料中にIが含有していることが明らかとなり、正確なI添加回収率を検討することが困難となったため、今後はI非含有試料を用いて検討することが望ましいと考えられた。またI添加濃度が低濃度の場合の詳細な検討を今回の検討では行っていないため、今後は細かい検討を加え、最終的にはPIXE分析におけるIの検出限界を明らかにする必要があると考えられた。

参考文献

- 1) 加地喜代子、瀬山義幸、山下三郎：ヨード卵の抗高脂血症作用-スクリーニング法および有効画分の検索-、日薬理誌 (folia pharmacol. japon.) 83, 255-261 (1984)
- 2) 加地喜代子、瀬山義幸、山下三郎：ヨード卵の抗高脂血症作用-卵黄脂質画分中の有効画分の検索-日薬理誌 (folia pharmacol. japon.) 83, 325-329 (1984)
- 3) 加地喜代子、瀬山義幸、山下三郎：ヨード卵の抗高脂血症作用-作用機序の検討-、日薬理誌 (folia pharmacol. japon.) 83, 451-457 (1984)
- 4) 関本邦敏、増岡亨、南郷英明、井上肇：腎不全による人工透析患者の血中脂質代謝に及ぼすヨード卵の影響、栄養学雑誌 Vol. 49 No. 4 227-232 (1991)
- 5) 磯野恵美子、井上肇、安藤和正、久保田賢子、芋川英紀、石田寛友：アラキドン酸耳介炎症マウスに及ぼすヨード強化卵の影響、炎症 Vol. 11 No. 3 MAY (1991)
- 6) 河野浩行、瀬山義幸、山下三郎、荒牧元、井上肇、山田俊雄、山田和雄、石川正：ヨード卵のアレルギー性鼻炎に及ぼす効果-基礎的および臨床的検討-日薬理誌 (folia pharmacol. japon.) 88, 223-228 (1986)
- 7) S. Katamine, N. Hoshino, K. Totsuka and M. Suzuki : Effects of the Long-Term (7-9 Months) Feeding of Iodine-Enriched Egg on Lipid Metabolism of Rats, J. Nutr. Sci. Vitaminol., 29, 23-33 (1983)
- 8) S. Katamine, N. Hoshino, K. Totsuka and M. Suzuki: Effects of the Long-Term (17-19 Months) Feeding of High-Iodine Eggs on Lipid Metabolism and Thyroid of Function in Rats : J. Nutr. Sci. Vitaminol., 31, 339-353 (1985)
- 9) 世良耕一郎：PIXE法で定量分析可能な試料-PIXE 全国共同利用 10年の歩み-NMCC 共同利用研究成果報文集 10, 304-324 (2002)
- 10) 世良耕一郎、二ツ川章二、畠山智、斉藤義弘、松田和弘：NMCCにおけるPIXE多目的共同利用6年間の実績、NMCC 共同利用研究成果報文集 6, 159-173 (1998)
- 11) 世良耕一郎、二ツ川章二、畠山智、斉藤義弘：高Z元素マトリクス粉末試料の定量分析法の開発、NMCC 共同利用研究成果報文集 6, 142-158 (1998)
- 12) 世良耕一郎、二ツ川章二、畠山智、斉藤義弘、石山大三：試料内 X線自己吸収補正法を併用した粉末内部標準法の地質学、環境学、生物学試料への応用、NMCC 共同利用研究成果報文集 7, 218-236 (1999)