

## 生物体標準物質中のアルミニウム分析

加藤 洋, 佐藤武雄<sup>1)</sup>, 山本好男<sup>2)</sup>, 後藤保正, 山本恵三

首都大学東京健康福祉学部  
116-8551 東京都荒川区東尾久 7-2-10

<sup>1)</sup>東京都神経科学総合研究所  
183-0042 東京都府中市武蔵台 2-6

<sup>2)</sup>滋賀医科大学法医学教室  
520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

### 1 はじめに

我々は、生体組織試料中の多元素分析を目的に、その基礎的検討を行い、信頼性・感度・非破壊性・多元素同時分析などに優れた機器的中性子放射化分析 (Instrumental Neutron Activation Analysis: INAA) 法を適用してきた<sup>1,2)</sup>。しかし、INAA 法の適用には解決すべき問題点を有する元素としてアルミニウム (Al) が挙げられる。通常の生体試料中にはリン (P) が数千から数万 ppm, ケイ素 (Si) は数百から数千 ppm 存在しており、中性子照射時の速中性子による  $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$ ,  $^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$  反応により  $^{28}\text{Al}$  が生成され、本来の Al の分析 ( $^{27}\text{Al}(n,\gamma)^{28}\text{Al}$ ) の妨害となる。さらに、INAA 法では P や Si の直接的分析は不可能であり、妨害係数を求めるに留まるのが現状である。

これらについては、水本ら<sup>3)</sup> や Speziali ら<sup>4)</sup> の検討例があるが、生体試料への応用的な検討例はほとんど見あたらない。そこで、我々は INAA 法以外に PIXE 法を併用し P や Si の定量を試みているが、今回は核的方法論の一つとして、中性子照射された試料を PIXE 法試料調整同様に硝酸灰化し、液体シンチレーションカウンタ (Liquid Scintillation Counter: LSC) で P の定量を試みた。本報告では、LSC による P の分析に関しての問題点について検討したのでその結果を述べる。

### 2 試料および方法

検討に供した生物体標準物質 (18 種) を表 1 に示す。標準物質 (約 50mg) および比較試料の中性子照射は京都大学原子炉実験所の照射孔 Pn-1 (熱中性子束:  $1.93 \times 10^{13} \text{n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) で 40 秒行った。照射試料の  $\gamma$  線スペクトロメトリは、測定中の  $^{28}\text{Al}$  の減衰や不感時間を考慮し、検討した結果から live time で 100 秒が最適と判断した。INAA 法の Al 分析には原子吸光用標準溶液 (Al: 1000ppm 硝酸溶液) を 30 $\mu\text{l}$  ろ紙に滴下した比較試料で定量した。さらに、P および Si による妨害係数の評価および LSC 比較試料として、リン酸水素二アンモニウム (( $\text{NH}_4$ )<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 酸化ケイ素 (SiO), 塩化カリウム (KCl), L-システイン (HSCH<sub>2</sub>CH(NH<sub>2</sub>)COOH) も標準物質と同様に照射した。

中性子照射した標準物質および比較試料は PIXE 分析用試料調整法と同様に硝酸灰化し、灰化溶液 200 $\mu$ l+水 300 $\mu$ l+アンモニア水 300 $\mu$ l で中和した後、全量を乳化シンチレータに混和した。測定時間は 30 分/バイアルとし、減衰を見るために長期間繰り返し測定した。更に標準物質中の P および Si の分析は PIXE 法も適用した。

表 1 標準物質

	標準物質名	供給先	番号
1	Algae	International Atomic Energy Agency	391
2	Algae	International Atomic Energy Agency	392
3	Algae	International Atomic Energy Agency	393
4	Animal Bone	International Atomic Energy Agency	H-5
5	Animal Muscle	International Atomic Energy Agency	H-4
6	Bovine Liver	National Bureau of Standard	1577
7	Bovine Liver	National Institute of Standards and Technology	1577a
8	Bowen's Kale		
9	Dogfish Muscle	National Research Council Canada	DORM-2
10	Horse Kidney	International Atomic Energy Agency	H-8
11	Lobster Hepatopancreas	National Research Council Canada	TORT-1
12	Lobster Hepatopancreas	National Research Council Canada	TORT-2
13	Milk Powder	International Atomic Energy Agency	153
14	Mussel Tissue	Community Bureau of Reference	278R
15	Orchard Leaves	National Bureau of Standard	1571
16	Pig Kidney	Community Bureau of Reference	186
17	Pine Needle	National Institute of Standards and Technology	1575a
18	Whey Powder	International Atomic Energy Agency	155

### 3 結果および考察

照射孔 Pn-1 における速中性子による P および Si からの Al への妨害係数は、各々  $1.0 \times 10^{-3}$  (C.V.; 0.3 %) ,  $3.1 \times 10^{-3}$  (3.0 %) であり、照射ごとの妨害係数の変動は 3% 以内であった。また試料封入材 (ポリエチレン) 中の不純物は前回の報告で最も少ない材料を使用したため、Al への寄与はほとんど無視できる。

各種標準物質中の P および Si の PIXE および LSC (0-2000 CH の全計数) で得られた値を表 2 に示す。ここで、PIXE による値は SAPIX<sup>5)</sup> で得られた値ではない。検出器 1 による内部標準のインジウム (In) のピークカウントを  $P_{In}$ 、検出器 2 の P および Si のピークカウントを  $P_P$  および  $P_{Si}$  とする。標準物質の Whey Powder は P および Si の保証値は十分他の標準物質より高いことから基準と考え、例えば他の標準物質の P の元素存在度  $V_P(SRM)$  を以下の式から求めた。

$$V_P(SRM) = \frac{P_P(SRM)}{P_P(WP)} \times \frac{P_{In}(WP)}{P_{In}(SRM)} \times V_P(WP)$$

表 2 で PIXE と LSC で得られた P の値は Reference の値とほぼ同様の結果となったが、TORT-1、Mussel Tissue および Whey Powder は PIXE と LSC とで大きく異なっている。この LSC で求めた P の値は中性子照射後 14 日目の測定で得たものである。そこで、PIXE と LSC との差異を検証するため長期間繰り返し LSC で測定した計数率変化を追跡した。照射後 14 日目の計数率に対する比を示

したものを図1に示す。

表2 PIXEおよびLSCで得られた各種標準物質中のPおよびSi濃度と保証値

標準物質	P (μg/g dry weight)				Si (μg/g dry weight)	
	PIXE	LSC	LSC-Corr.	Reference	PIXE	Reference
Algae (391)	12400	11900	11500	<sup>a)</sup> 14200	1000	<sup>a)</sup> 93
Algae (392)	4530	4900	4500	<sup>a)</sup> 5490	1000	<sup>a)</sup> 164
Algae (393)	17200	14300	13700	<sup>a)</sup> 15600	3000	<sup>a)</sup> 224
Animal Bone	—	71400	68400	102000	—	—
Animal Muscle	6270	10000	5190	<sup>a)</sup> 9500	ND	—
Bovine Liver (1577)	13500	9900	8980	<sup>b)</sup> 10500	ND	<sup>b)</sup> 16.8
Bovine Liver (1577a)	12500	9490	8550	11100	ND	—
Bowen's Kale	4220	4960	3840	<sup>a)</sup> 4880	1500	—
Dogfish Muscle	9610	8860	7510	—	ND	—
Horse Kidney	11600	11800	9200	11200	1960	—
Lobster (TORT-1)	5690	15700		8790	310	—
Lobster (TORT-2)	11000	8910	5940	—	1360	—
Milk Powder	7430	9850	7320	<sup>a)</sup> 10100	1500	—
Mussel Tissue	5740	14600	7900	<sup>b)</sup> 6070	1000	—
Orchard Leaves	1530	2040	1550	2100	3790	<sup>b)</sup> 610
Pig Kidney	12800	12100	9910	12200	1330	—
Pine Needle	1120	950	820	1070	47100	—
Whey Powder	16200	22100	8340	16210	5000	<sup>a)</sup> 4960

a)参考値, b)文献値

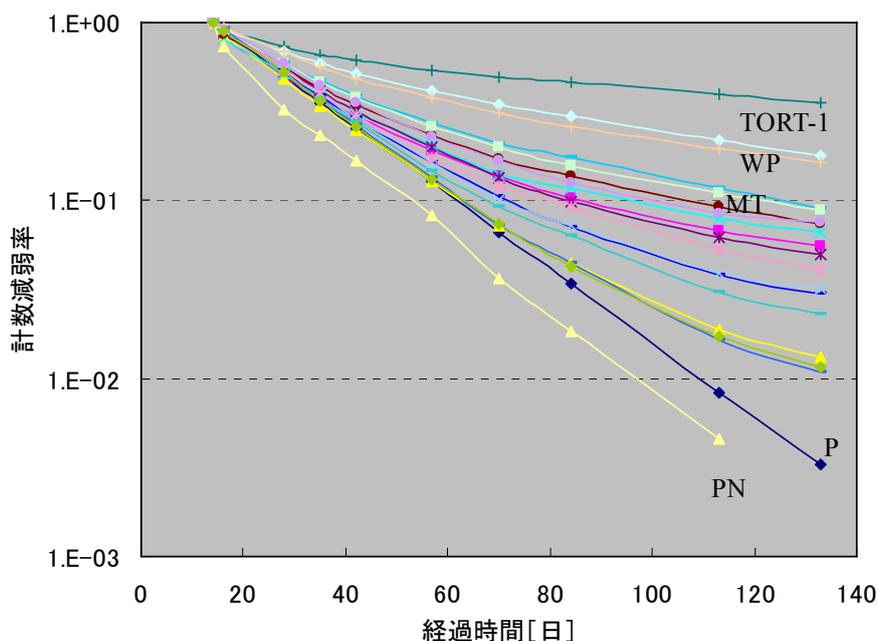


図1 各種標準物質および比較試料の計数減弱率

LSC 試料調整で硝酸灰化を行ったが、水およびアンモニア水を加え中和処理した後に乳化シンチレータに混入した。しかし中和したとはいえ、強酸および強アルカリを混入した事による化学ルミネッセンスが考えられる。そこで、中性子照射していない TORT-1, Mussel Tissue および Whey Powder を照射試料同様の試料調整を行い LSC で測定したが、化学ルミネッセンスの兆候はみられなかった。

ゆえに図 1 の減弱曲線から  $^{32}\text{P}$  以外の未知放射性核種の存在が考えられる。生物体標準試料中の各種元素濃度から表 3 に示す核反応が考えられ、特にイオウ (S) および塩素 (Cl) から生成される  $^{35}\text{S}$  の影響が大きいと思われる。この  $^{35}\text{S}$  による計数率上昇を補正する際、 $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$  および  $^{47}\text{Ca}$  の半減期から中性子照射後 133 日目ではほとんどそれらの核種は減衰していると考えられる。従って、133 日目の計数率は  $^{35}\text{S}$  によるものと考え、それぞれの測定日の計数率から  $^{35}\text{S}$  の減衰補正した計数率を減算し、図 1 と同様に 14 日目を基準とした減弱曲線を描いた (図 2)。

表 3 標的核種および生成核種の核データ

標的核種	存在度 [%]	核反応	生成核種	半減期 [d]	$\beta$ 線最大エネルギー [MeV]
$^{31}\text{P}$	100	(n, $\gamma$ )	$^{32}\text{P}$	14.26	1.711
$^{32}\text{S}$	95.02	(n,p)	$^{32}\text{P}$	14.26	1.711
$^{33}\text{S}$	0.75	(n,p)	$^{33}\text{P}$	25.34	0.249
$^{34}\text{S}$	4.21	(n, $\gamma$ )	$^{35}\text{S}$	87.51	0.167
$^{35}\text{Cl}$	75.77	(n,p)	$^{35}\text{S}$	87.51	0.167
$^{35}\text{Cl}$	75.77	(n, $\alpha$ )	$^{33}\text{P}$	25.34	0.249
$^{46}\text{Ca}$	0.004	(n, $\gamma$ )	$^{47}\text{Ca}$	4.536	0.695

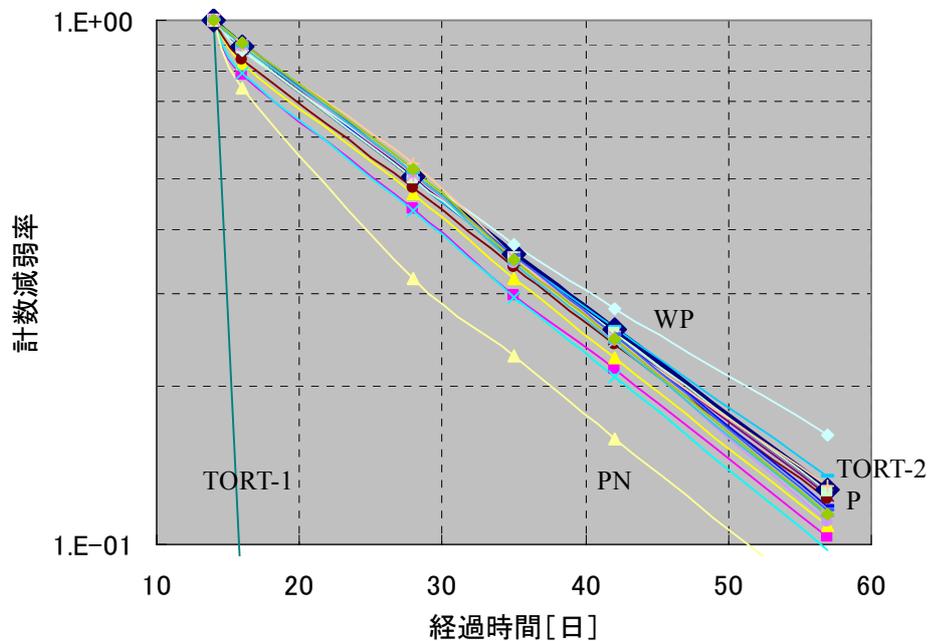


図 2 計数率から  $^{35}\text{S}$  の減衰補正計数率を減算した減弱曲線

図 2 ではほとんどの標準物質が  $^{32}\text{P}$  の減衰曲線と一致していることが確認される。ここで、Pine Needle は計数率が低く、統計誤差からほとんど意味がないと判断される。また、TORT-1 は他の減弱曲線とは異なっており、更に長期間の測定を行う必要がある。Whey Powder および TORT-2 は  $^{32}\text{P}$  の減弱曲線より上方に、他の標準物質は下方にある。この理由として、長時間繰り返し測定したにも関わらず、いまだ  $^{35}\text{S}$  のみの減弱曲線とはなっていない事によると考えられる。従って、減算するための減衰補正計数率が過大評価になっているものと思われる。逆に上方にある Whey Powder および TORT-2 は過小評価になっていると思われる。

本報告時点で  $^{35}\text{S}$  による計数率を減算した補正計数率で P を評価したものを表 2 中に示した。先に述べた TORT-1, Mussel Tissue および Whey Powder の LSC と PIXE の値の差異は TORT-1 および Mussel Tissue では解消されたが、Whey Powder はまだ検討しなければならず、やはり長期間経過後の測定が必要と考える。さらに、これらの標準物質は他の標準物質に比べ Cl が高濃度であることに由来している可能性がある。LSC 測定で  $^{32}\text{P}$  の  $\beta$  線最大エネルギーは 1.711MeV で他の核種は 0.25MeV 以下であることからエネルギー分離測定が十分可能であるが、クエンチングにより低エネルギー側に大きくシフトしているため全計数測定としている。さらに、LSC 測定の全計数測定で P, S および Cl の単位重量当たりの計数率は  $8.70 \times 10^2$ ,  $1.74 \times 10^1$  および  $1.63 \times 10^4$  [cpm/mg] と比較試料から算出された。従って、試料中に Cl が高濃度の場合には注意が必要である。しかし、INAA 法で Cl は高感度で定量出来るため、予め減弱曲線の形が予測できることになる。

以上のことから、生物体試料中の  $^{32}\text{P}$  および  $^{35}\text{S}$  を LSC で測定するには注意が必要である。中性子照射後、長期間繰り返し測定し、 $^{35}\text{S}$  は照射後 160 日以上での計数率から判断される。 $^{32}\text{P}$  は照射後 30 日前後の計数率から照射後 160 日以上経過した  $^{35}\text{S}$  の半減期補正された計数率を減算することにより P を求めることが可能と考える。

## 参考文献

- 1) Katoh Y, Sato T and Yamamoto, *Biol Trace Element* 90, 57-70, 2002.
- 2) Katoh Y, Sato T and Yamamoto, *Arch Environ Health* 58(10), 655-661, 2003.
- 3) 水本良彦, 岩田志郎, 他, *Radioisotopes* 33, 10-16, 1984.
- 4) Speziali M, Casa MD, Orvini E, *Biol Trace Element* 17, 271-284, 1988.
- 5) Sera K, Yanagisawa T, *et al.*, *International Journal PIXE* 2(3), 325-330, 1992.

## Aluminum analysis in biological standardized reference materials

Y Katoh, T Sato<sup>1)</sup>, Y Yamamoto<sup>2)</sup>, Y Gotoh and K Yamamoto

Faculty of Health Sciences, School of Radiology, Tokyo Metropolitan University 7-2-10, Higashi-Ogu, Arakawa-ku, Tokyo 116-8551, Japan

\*1) Tokyo Metropolitan Institute Neuroscience  
2-6, Musashidai, Fuchu-shi, Tokyo 183-8526, Japan

\*2) Department of Legal Medicine, School of Medicine, Shiga University of Medical Science  
Seta-tsukiwa-cyo, Otsu-chi, Siga 520-2192, Japan

### Abstract

We have investigated the multi-elemental abundances in biological materials by Instrumental Neutron Activation Analysis (INAA). The application of INAA for the Al determination has some problems: 1) the biological material includes P (several  $10^3$  to a few  $10^4$  ppm) and Si (several  $10^2$  to a few  $10^3$  ppm). 2) P and Si interfere with the Al determination due to  $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$  and  $^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$  reactions.

In this study, P in biological standardized reference materials (SRMs) was determined by Liquid Scintillation Counter as a nuclear method. After being irradiated, the SRMs and comparative standards were treated using the ordinary nitric acid method. The samples were measured recurrently for a long-term. The determination of  $^{35}\text{S}$  count rate in samples must be done post-160 day post-irradiation. Subtracting the decay-corrected  $^{35}\text{S}$  count rate of post-160 day irradiation from that of the post-30 day post-irradiation,  $^{32}\text{P}$  count rate in sample is capable of determining.