

PIXE 分析による採卵鶏の卵・臓器および飼料中ヨード濃度測定の基礎的検討

土橋英理¹⁾，大山紀彦¹⁾，夏堀雅宏¹⁾，世良耕一郎³⁾，畠山 智²⁾，伊藤じゅん²⁾
横山次郎⁴⁾，両角能彦⁵⁾，佐野忠士¹⁾，二ツ川章二⁶⁾，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) 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

3) 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

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

6) 日本アイソトープ協会アイソトープ部

113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

I. 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をもたらされると報告されている。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。その有効物質を明らかにするための基礎的な検討として、普通卵産卵鶏および I 強化卵産卵鶏の鶏卵・臓器・鶏飼料中の I およびその他各種微量元素の含有量を明らかにしておくことは非常に有用なことであると考えられる。そこで本研究では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調製法および PIXE 分析法における I の添加回収率について検討した。

II. 材料と方法

1. 使用試料

PIXE 分析用試料として使用した試料はすべて日本農産工業株式会社にて採取・凍結乾燥処理されたものを用いた。これらの試料は予め液体窒素にて試料を完全に凍結させ、薬局方乳鉢および乳棒を用いて十分に均一化を行った。

1.1 ヨード測定のための最適な試料調製法の検討

測定に供した試料は鶏卵の試料として高濃度ヨード卵黄，産卵鶏臓器の試料として対照鶏臓器（甲状腺）を，産卵鶏用飼料の試料としてヨード卵生産用飼料を使用した。

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，高濃度 I 含有試料として高濃度 I 強化卵黄，その対照試料として水処理において 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. 試料調製法の検討

本研究ではホモジナイズ法，粉末内部標準法，硝酸灰化法，水処理法，アルカリ処理法（NaOH 処理法，KOH 処理法）の 6 つの方法を実施した。

2.1 ホモジナイズ法

ホモジナイズ法(Homogenized method ; HO)は，試料 50mg を瑪瑙乳鉢に量りとり，超純水 200 μ l を加えてよく混合した。これに内部標準としてパラジウム (Pd) 標準液 (原子吸光測定用標準液: 1,000ppm / 1N HCl , Factor 1.004, 和光純薬工業株式会社, 大阪) 50 μ l を加え，均一になるまで十分に混合した (終濃度: 約 1,000ppm)。この調製試料 5 μ l を，マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し，自然乾燥後，PIXE 照射ターゲットとした。

2.2. 粉末内部標準法

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 100 mg に粉末内部標準として 5%パラジウムカーボン (Palladium Carbon ; 5%, 和光純薬工業株式会社, 大阪) 20 mg を添加して十分均一になるまで混合した。この試料から 100 μ g を量りとり，ポリプロピレンフィルムに載せた。これにアルコールで 10%に希釈したコロジオン (Collodion, 和光純薬工業株式会社, 大阪) 1 滴を滴下し，微粉末試料をポリプロピレンフィルム上に固定し，これを PIXE 照射ターゲットとした。

2.3. 硝酸灰化法

硝酸灰化法(Nitric acid Ashing method ; NA)は試料 50 mg を量りとり，これに硝酸 (Nitric Acid, 特級, 1.38, 関東化学株式会社, 東京) 250 μ l を加え，これに内部標準として Pd 標準液 50 μ l を加え (終濃度: 約 1,000ppm)，均一になるまで十分混合し，硝酸湿式灰化処理を行った。この調製試料 5 μ l を，マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し，自然乾燥後，PIXE 照射ターゲットとした。

2.4. 水処理法

硝酸灰化法(Nitric acid Ashing method ; NA)は試料 50 mg を量りとり，これに硝酸 (Nitric Acid, 特級, 1.38,

関東化学株式会社,東京)250 μ lを加え,これに内部標準としてPd標準液50 μ lを加え(終濃度:約1,000ppm),均一になるまで十分混合し,硝酸湿式灰化処理を行った。この調製試料5 μ lを,マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し,自然乾燥後,PIXE照射ターゲットとした。

水処理法(Dissolve Water method ; DW)ではNA法で用いたものと同試料を50mg量り取り,超純水250 μ lのみで調製した。この調製試料5 μ lを,マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し,自然乾燥後,PIXE照射ターゲットとした。

上述の2つの方法を組み合わせるには,まずNA法にて調製を行ったものから濃度の安定である元素(FeやCa)を定め濃度を求める。その後,この元素を内部標準とみなしDW法についての元素の定量分析を行った。

2.5. アルカリ処理法

アルカリ処理法は試料50mgを量りとり,これにアルカリ溶液を加え,これに内部標準としてPd標準液50 μ lを加え,均一になるまで十分混合した(終濃度:約1,000ppm)。この調製試料5 μ lを,マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し,自然乾燥後,PIXE照射ターゲットとした。アルカリ溶液としてNaOH溶液(Sodium Hydroxide,特級,和光純薬工業株式会社,大阪)およびKOH溶液(Potassium Hydroxide,特級,和光純薬工業株式会社,大阪)を添加した。これらの溶液は,6規定のものおよび3規定のものを作成し,試料がより均一になる濃度のアルカリ溶液をそれぞれの試料に添加した。

3. PIXE分析法におけるヨード添加回収率の検討

本研究ではホモジナイズ法,水処理法,アルカリ処理法(KOH処理法)の3つの方法を実施した。ホモジナイズ法,アルカリ処理法(KOH処理法)で高濃度I含有試料として高濃度I強化卵黄に対する添加回収率を検討し,ホモジナイズ法,水処理法,アルカリ処理法(KOH処理法)でI含有量が10ppm以下と判断された普通卵黄試料に対する添加回収率を検討した。

3.1 ホモジナイズ法

ホモジナイズ法(HO)において試料に,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。

3.2 水処理法

水処理法(DW)では普通卵黄試料において,まずNA法にて調製を行った。試料50mgを量りとり,これに硝酸(Nitric Acid,特級,1.38,関東化学株式会社,東京)200 μ lを加え,これに内部標準としてPd標準液50 μ lを加え(終濃度:約1,000ppm),均一になるまで十分混合し,硝酸湿式灰化処理を行った。この調製試料5 μ lを,マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し,自然乾燥後,PIXE照射ターゲットとした。

次にDW法として,NA法で用いたものと同試料を50mg量り取り,超純水200 μ l加え,各濃度に調整したヨウ化カリウム(KI)溶液を添加した。この調製試料5 μ lを,マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に滴下し,自然乾燥後,PIXE照射ターゲットとした。

これらについて,NA法にて調製を行ったものから濃度の安定である元素(FeやCa)を定め濃度を求める。その後,この元素を内部標準とみなしDW法についての元素の定量分析を行い,I含有量を測定した。KI溶液はIの濃度としてそれぞれ200,100,80,50,0ppmに調整したものをを用いた。

3.3 アルカリ処理法 (KOH 法)

アルカリ処理法において高濃度 I 強化卵試料, 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)を添加したのについて PIXE 分析を行い, I 含有量を測定した。

アルカリ溶液として NaOH 溶液 (Sodium Hydroxide, 特級, 和光純薬工業株式会社, 大阪) および KOH 溶液 (Potassium Hydroxide, 特級, 和光純薬工業株式会社, 大阪) を添加した。これらの溶液は, 6 規定のものおよび 3 規定のものを作成し, 試料がより均一になる濃度のアルカリ溶液をそれぞれの試料に添加した。高濃度 I 強化卵黄には 6 規定の NaOH を, 普通卵には 3 規定の NaOH を添加した。KI 溶液は I の濃度としてそれぞれ 200, 100, 80, 50, 0ppm に調整したものをを用いた。

Ⅲ 結果と考察

1. ヨード測定のための最適な試料調製法の検討

1.1 使用する内部標準元素の比較

In・Pd・Fe を内部標準とした場合, Br・Fe・Zn の 3 元素は, In 群・Pd 群・Fe 群の 3 群全てにおいて同程度の測定値が得られた(図 1・表 1)。しかし, Pd 群および Fe 群の I 測定値と比べ, In 群の I 測定値は Pd 群の 45%, Fe 群の 37%と過小評価される結果となった。また Fe 群における I 測定値は, In 群や Pd 群よりも高値を示した。In 群の I 測定値は, CV 値および MEAN に対する SE の割合が共に 35%となったが, その他の結果は In 群・Pd 群・Fe 群の全てで CV 値および MEAN に対する SE の割合が 30%を超えるものは認められず, 最大でも 20%の範囲内であった。(表 1)

(表 1) 内部標準元素の違いにおける測定値の比較(高濃度 I 強化卵)

元素	IS(n)	MEAN(ppm)	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
I	In(4)	130	45	46	35	35
	Pd(6)	287	25	41.8	14.6	9
	Fe(4)	351	49	20	6	14
Br	In(4)	18	2	3	17	9
	Pd(6)	26	1.2	1.8	6.8	5
	Fe(4)	26	2	3	13	6
Fe	In(4)	145	9	13	9	6
	Pd(6)	130	5	4.3	3.3	4
	Fe(4)	144	5	11	7	3
Zn	In(4)	89	6	6	7	7
	Pd(6)	90	3	3.0	3.4	3
	Fe(4)	104	4	11	10	4

IS;Internal Standard SE;Standard Error

SD;Standard Deviation CV;CoefficientofVariation

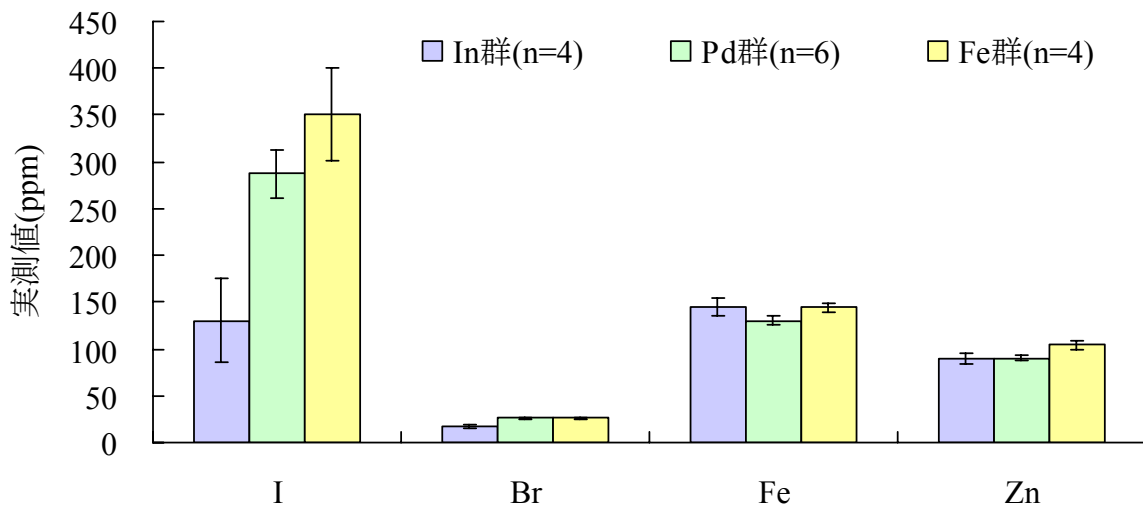


図1 内部標準元素の違いにおける測定値の比較(高濃度I強化卵)

Br, Fe, Zn の測定結果は In 群, Pd 群, Fe 群の全てでほぼ同程度の測定結果が得られたが, I の測定結果は In 群が Pd 群・Fe 群よりも過小評価される結果となった(図1・表1)。原因としては I-K α 線と In-K β 線のエネルギースペクトルが類似しているため, I の解析が阻害された結果と考えられた。よって試料中の I を測定するための内部標準元素に In を使用することは不適であると判断され, I 測定のためには I とエネルギースペクトルが類似せず, I の解析を阻害しないと考えられる元素(Pd, Ag, Y など)の使用が望ましいと考えられた。ただし Ag を内部標準元素として使用する場合, 試料中の元素と反応し, 吸着・沈殿などの反応を起こす場合があるとも報告されており, Ag 使用時のこれら反応について検討する必要がある。

In は通常, 生体試料に含まれることが少なく, また, 発生する特性 X 線のエネルギーの大きさが適当であることから, PIXE 分析に使用する内部標準元素として頻繁に用いられている元素である。今回, In 添加試料から求めた Fe 濃度を内部標準とみなして測定を行った。その結果は Pd を内部標準とした場合の結果と同程度となり, CV 値は最大でも 15%, MEAN に対する SE の割合は 14% という良好な測定精度が得られた(表1)。したがって In を使用して I を測定する場合, 今回の実験で行ったように, In 添加試料と In 未添加試料の2種類を作成し, In 添加試料から Fe, カリウム(K), カルシウム(Ca)などの含有量を求め, これらを内部標準とみなして In 未添加試料から I の測定を行うことも可能であると考えられた。

1.2. 試料調製法の比較

1.2.1. 高濃度I強化卵黄

高濃度 I 強化卵黄の測定結果において, 水処理法(DW)の測定値を 100%とした場合, 硝酸灰化法(NA) の I および Br の測定値は, それぞれ 9.7%(I), 40%(Br)となり, ハロゲン元素の含有量が過少評価された。ホモジナイズ法(HO)および水処理法(DW), アルカリ処理法(KOH)の I 測定値は HO 法で 287ppm, DW 法で 529ppm, KOH 法で 484ppm となり, DW 法が高値を示した(表2・図2-A)。また粉末内部標準法(PI)およびアルカリ処理法(NaOH)の I 測定値は, SD が他の調製法と比べ PI 法で最大で約 10 倍高い値, NaOH 法に至っては最大で約 38 倍高い値を示した(表2・図2-A)。変動係数(CV)は全ての調製法で 30%を超える結果は認められなかった(表2・図2-B)。また MEAN に対する SE の割合は, NA 法および PI 法, NaOH 法の I 測定値で 30%を超えたが, その他の結果では 30%を超えるものは認められなかった(表2・図2-C)。

表2 各調製法における測定値の比較

元素	調製法 (n)	MEAN ; ppm	SE	SD	CV (%)	SE/MEAN×100 (%)
I	NA (4)	51.4	29.1	11.8	23.0	56.6
	HO (6)	287	25.0	41.8	14.6	8.7
	PI (4)	435	148	93.3	21.5	34
	DW (4)	529	50.1	26.5	5.0	9.5
	NaOH (2)	2655	868	352	13.2	32.7
	KOH (3)	484	37.6	9.2	1.9	7.8
Br	NA (4)	13.4	1.1	0.1	0.8	8.2
	HO (6)	26.3	1.2	1.8	6.8	4.6
	PI (4)	18.0	1.9	2.3	13.0	10
	DW (4)	33.1	1.6	5.2	15.8	4.9
	NaOH (2)	112	13	6.0	5.4	11.6
	KOH (3)	33.0	1.8	0.3	1.0	5.5
Fe	NA (4)	158	1.1	31.6	20.0	4.1
	HO (6)	130	4.7	4.3	3.3	3.6
	PI (4)	197	7.0	14.3	7.2	3.5
	DW (4)	212	6.9	18.0	8.5	3.2
	NaOH (2)	552	24.5	12.5	2.3	4.4
	KOH (3)	125	4.8	7.9	6.3	3.8
Zn	NA (4)	123	5.1	17.2	14.0	4.1
	HO (6)	89.7	3.0	3.0	3.4	3.3
	PI (4)	109	4.2	8.5	7.8	3.9
	DW (4)	156	5.2	19.2	12.3	3.4
	NaOH (2)	464	20.5	12.5	2.7	4.4
	KOH (3)	105	3.9	2.5	2.4	3.7

NA ; 硝酸灰化法 HO ; ホモジナイズ法 PI ; 粉末内部標準法 DW ; 水処理法
NaOH; アルカリ処理法 (NaOH) KOH; アルカリ処理法 (KOH)

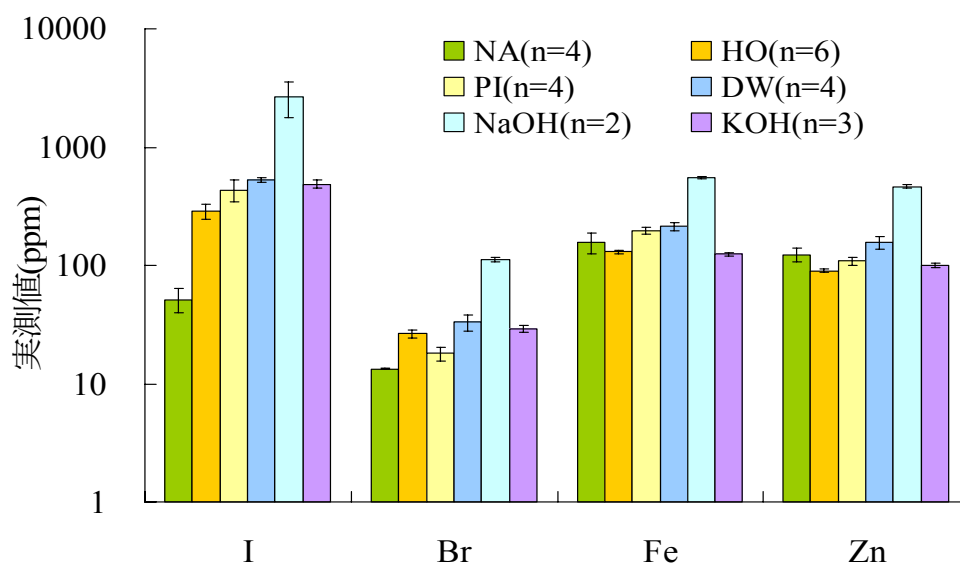


図2-A 各調製法における測定値の比較 (MEAN±SE)

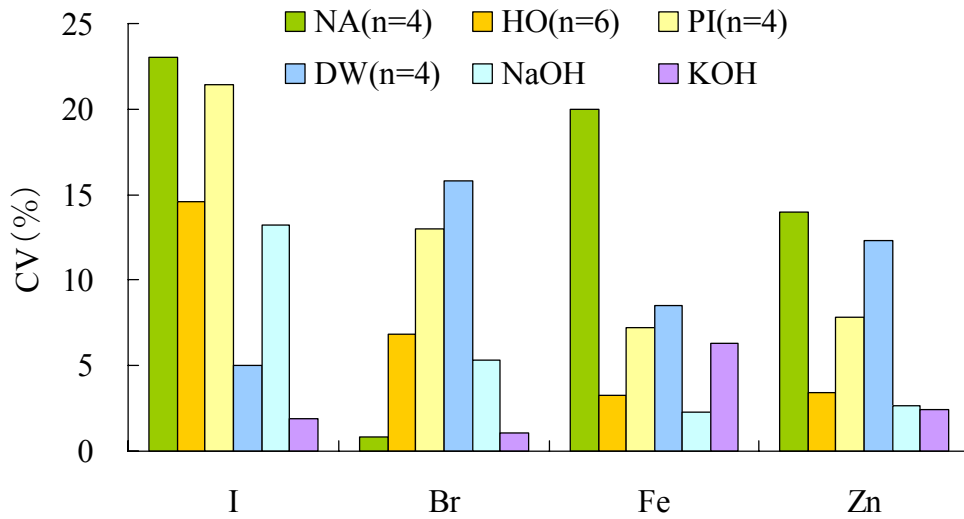


図 2-B 各調製法における測定値の変動係数(CV)

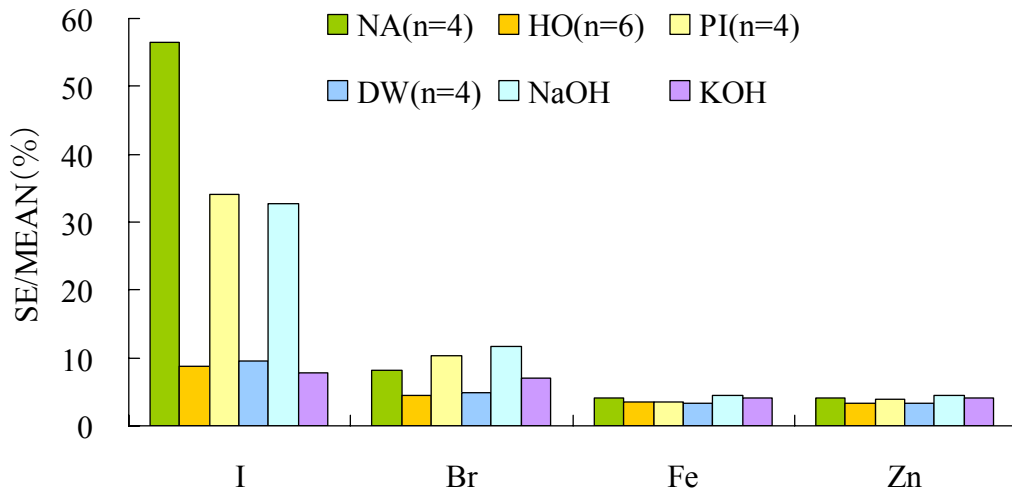


図 2-C 各調製法における測定値の MEAN に対する SE の割合

1.2.2. I 強化卵生産用飼料

I 強化卵生産用飼料の測定結果において、NA 法では I が検出されず、Br は DW 法の測定値と比べ約 78% 低い値を示し、高濃度 I 強化卵黄の結果と同様にハロゲン元素の含有量が過小評価された(表 3・図 3-A)。また PI 法における I 測定値は DW 法の測定値と比べ約 80%低い値を示した(表 3・図 3-A)。I の測定値は KOH 法で最も高い値 173.5ppm を示した(表 3・図 3-A)。CV 値は Br, Fe, Zn で 30%を下回ったが、I では KOH 法以外の全ての調製法で 30%を超える結果となり、HO 法で 56.7%、PI 法で 47%、DW 法で 45.9%、NaOH 法で 50%と測定精度の低下が認められた(表 3・図 3-B)。一方、MEAN に対する SE の割合は、大部分の結果で 30%を下回ったが、PI 法では 30%をはるかに超えた 379.5%、NaOH 法では 69.3%と高値を示した(表 3・図 3-C)。アルカリ処理法(NaOH)では I 測定結果において I, Br, Fe, Zn の 4 元素とも他のすべての調製法より大幅に高い値を示した(表 3・図 3-A)。これはアルカリ溶液として添加した NaOH 溶液中の Na 成分がヨードの特性 X 線に干渉したため過大評価された可能性があると考えられた。アルカリ処理法(KOH)では I 測定結果において、測定値が DW 法よりも 39.8ppm 高く、かつ CV 値が 23.9%、MEAN に対する SE の割合が 8.3%低い値とどの調製法よりも良好な結果が得られた(表 3・図 3-A-C)。

表 3 各調製法における測定値の比較

元素	調製法(n)	MEAN ; ppm	SE	SD	CV (%)	SE/MEAN×100 (%)
I	NA(4)	ND	-	-	-	-
	HO(6)	96.2	23.7	54.5	56.7	24.6
	PI(4)	26.2	99.3	12.3	47.0	379.5
	DW(4)	133.7	25.9	61.4	45.9	19.4
	NaOH(2)	398.0	276.0	199.0	50.0	69.3
	KOH(3)	173.5	19.3	38.2	22.0	11.1
Br	NA(4)	10.7	1.2	2.1	19.6	11.1
	HO(6)	23.7	1.5	1.6	6.8	6.2
	PI(4)	36.3	3.4	5.2	14.3	9.3
	DW(4)	48.7	2.0	1.9	3.9	4.1
	NaOH(2)	36.4	4.4	5.8	15.9	12.1
	KOH(3)	28.1	1.4	0.9	3.1	5.0
Fe	NA(4)	180.3	7.6	34.2	19.0	4.2
	HO(6)	140.8	5.3	14.8	10.5	3.8
	PI(4)	213.3	8.1	18.8	8.8	3.8
	DW(4)	305.0	9.3	10.3	3.4	3.1
	NaOH(2)	165.0	7.6	18.0	10.9	4.6
	KOH(3)	137.2	5.0	14.0	10.2	3.6
Br	NA(4)	84.5	3.7	2.1	2.4	4.4
	HO(6)	74.7	3.2	7.2	9.6	4.2
	PI(4)	114.1	5.1	32.7	28.7	4.4
	DW(4)	188.5	5.9	8.7	4.6	3.1
	NaOH(2)	127.0	5.7	20.0	15.7	4.5
	KOH(3)	88.1	3.2	0.8	0.9	3.6

NA ; 硝酸灰化法 HO ; ホモジナイズ法 PI ; 粉末内部標準法 DW ; 水処理法
NaOH;アルカリ処理法 (NaOH) KOH;アルカリ処理法 (KOH)

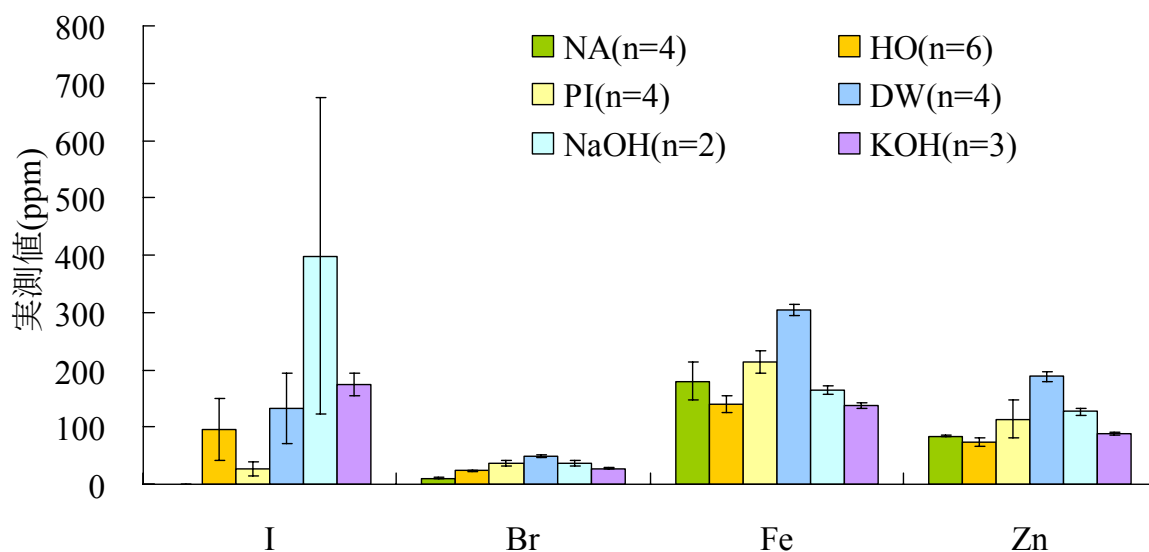


図 3-A 各調製法における測定値の比較 (MEAN±SE)

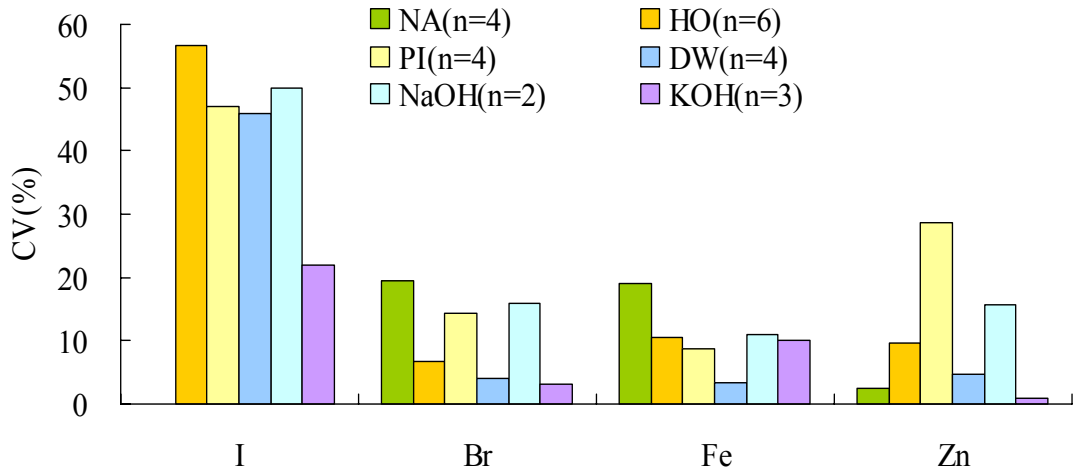


図 3-B 各調製法における測定値の変動係数(CV)

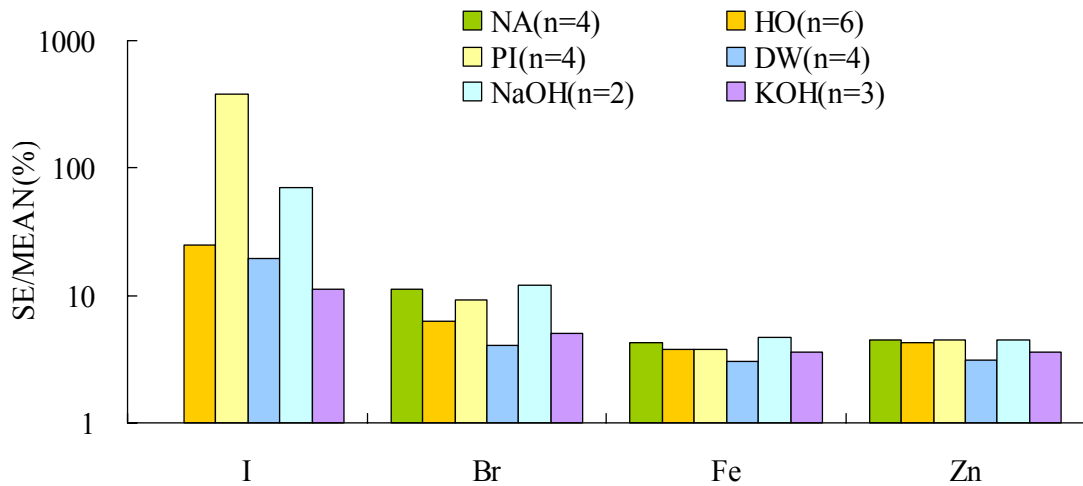


図 3-C 各調製法における測定値の MEAN に対する SE の割合

1.2.3. 対照鶏甲状腺

対照鶏甲状腺の測定結果において、PI法では測定不可能であった。NA法では高濃度I強化卵黄やI強化卵生産用飼料の結果と同様、ハロゲン元素の含有量が過小評価され、DW法の測定値よりも約78%(I)、約34%(Br)低い値を示した(表4・図4-A)。一方、FeおよびZnは、HO法およびDW法と同程度の結果が得られた(表4・図4-A)。またIの測定値はDW法で最高値を示した(表4・図4-A)。CV値は大部分の結果で30%以下となったが、HO法のBrとFeで30%を超える結果となった(表4・図4-B)。MEANに対するSEの割合で30%を超える結果は認められなかった(表4・図4-C)。NaOH法とKOH法での調製について今回はサンプル不足であったため、実施できていない。

表 4 各調製法における測定値の比較

元素	調製法 (n)	MEAN ; ppm	SE	SD	CV (%)	SE/MEAN×100 (%)
I	NA (4)	4955	271	303	6.1	5.5
	HO (6)	21886	967	1448	6.6	4.4
	PI	*	-	-	-	-
	DW (4)	22469	1399	2582	11.5	6.2
Br	NA (4)	15.9	1.3	1.6	10.1	8.5
	HO (6)	21.9	1.6	8.6	39.2	7.1
	PI	*	-	-	-	-
	DW (4)	24.1	2.4	3.0	12.4	10.2
Fe	NA (4)	66.0	3.0	2.6	4.0	4.6
	HO (6)	82.3	3.5	40.3	49.0	4.2
	PI	*	-	-	-	-
	DW (4)	109	6.5	24.0	22.0	5.9
Zn	NA (4)	35.2	1.9	2.7	7.6	5.3
	HO (6)	29.2	1.6	6.6	22.4	5.4
	PI	*	-	-	-	-
	DW (4)	66.8	4.5	8.1	12.2	6.7

NA ; 硝酸灰化法 HO ; ホモジナイズ法 PI ; 粉末内部標準法 DW ; 水処理法 * 調製不良により未測定

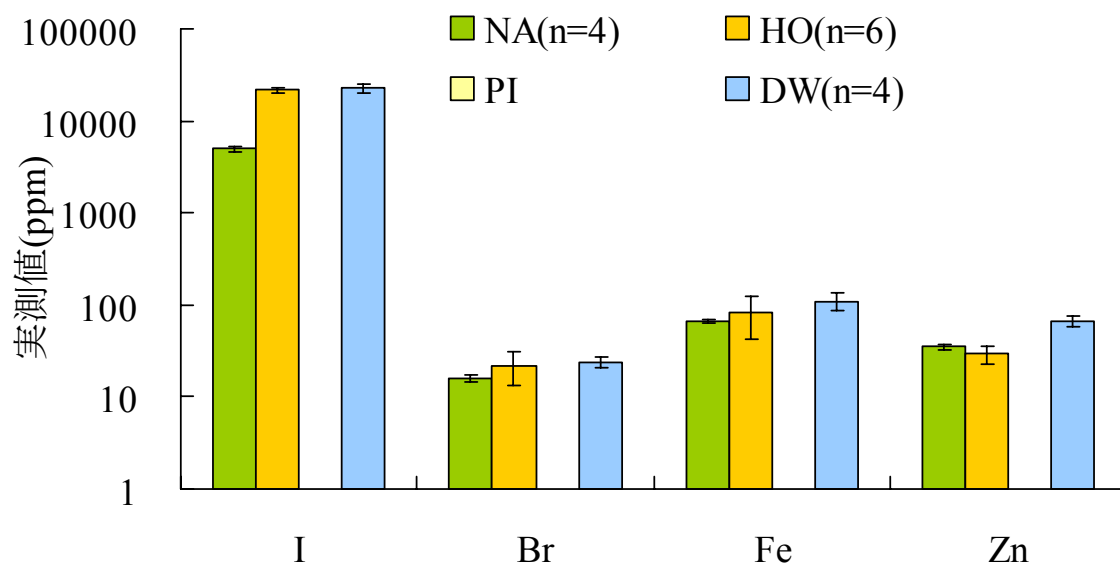


図 4-A 各調製法における測定値の比較 (MEAN±SE)

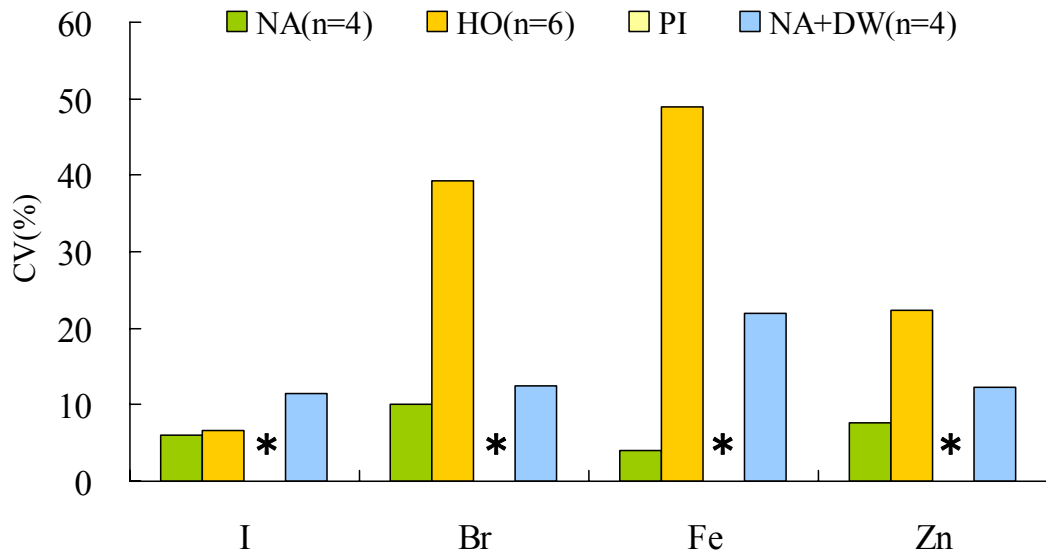


図 4-B 各調製法における測定値の変動係数(CV)

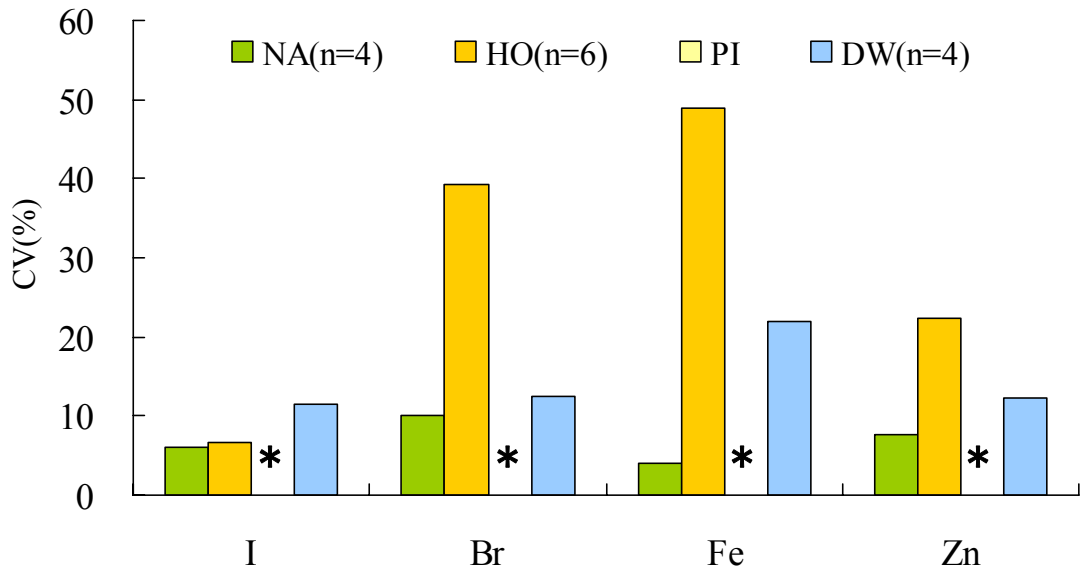


図 4-C 各調製法における測定値の MEAN に対する SE の割合

試料調製を硝酸灰化法(NA)で行った場合、今回使用した試料全てでハロゲン元素の含有量が過小評価された。ハロゲン元素は揮発性の元素であり、酸によって分解・飛散する性質がある。今回の実験でも濃硝酸による湿式灰化処理によって試料中の I や Br 等のハロゲン元素が飛散した事は容易に想像され、これが試料中のハロゲン元素含有量の過小評価につながったと判断された。生体試料を取り扱う Bio-PIXE では、取り扱う試料が血液や尿などのような液体試料であれば、試料と内部標準物質とを均一に混合させることは容易である。一方、取り扱う試料が臓器などの固体試料である場合、試料と内部標準物質の均一化は困難となる。NA法はこのような臓器などの固体試料を均一化した溶解液の状態として PIXE 照射ターゲットとすることを可能とする方法で、現在、PIXE に供される固形状の生体試料のほとんどが NA 法によって調製されている。NA

法の最大の利点は S/N 比が向上することであり、これによって測定精度・感度を高めることができ、より信頼性のある測定結果を得ること可能となる点である。また短時間で多種類の試料調製が可能であり、加える試薬が精密分析用硝酸と原子吸光測定用標準液のみであるため、不純物元素で汚染される可能性が少なくなることも利点として挙げられる。一方、最大の欠点は揮発性元素が飛散する点であり、今回の実験結果もこれを裏付ける結果となった。したがって I や Br などのハロゲン元素を測定する場合に、NA 法単独による調製では正確な I の定量は不可能であると判断された。

粉末内部標準法(PI)における I の測定結果は不良なものとなり、高濃度 I 強化卵黄では SD および MEAN に対する SE の割合の増加、I 強化卵生産用飼料では SE および MEAN に対する SE の割合の増加が認められ、また対照鶏甲状腺では調製不良のため測定不能となった(表 2,3,4)。PI 法は微粉末化した試料と粉末内部標準を均一化し、粉末状態のまま測定するものである。

Bio-PIXE に供される生体試料は凍結乾燥処理によって粉末状態にすることが可能であり、水と内部標準液を混合するホモジナイズ法が適用できないような試料に対して有効な調製法となる可能性がある。しかし生体試料の多くには特有の粘性があり、また試料によっては脂肪が多く含有している場合がある。これらが試料中の粉末内部標準の不均一性を招く要因となる。今回の実験でも試料調製時において試料に粘性が認められ、特に対照鶏甲状腺では頑固な粘性によって試料中の粉末内部標準の均一化が困難となり、調製不良となってしまった。したがってこのような要因が SE および SD の増加や MEAN に対する SE の割合の増加などのような測定精度の低下を引き起こしたと考えられた。このような結果から、PI 法は鶏卵・鶏臓器・鶏飼料中 I の測定には適していないと考えられた。

ホモジナイズ法(HO)および水処理法(DW)では高濃度 I 強化卵黄および対照鶏甲状腺の測定結果において I, Br, Fe, Zn の 4 元素とも良好な CV 値および MEAN に対する SE の割合が認められたが(表 2,4)、I 強化卵生産用飼料においては I の測定結果で CV 値が高値を示した。このような結果が生じた原因としては試料のホモジナイズの容易さの違いが考えられた。今回の実験における試料調製の際、高濃度 I 強化卵黄と対照鶏甲状腺は水となじみやすく、試料自体の均一化も容易であった。一方、I 強化卵生産用飼料は粒子が粗く、試料自体を均一化することが困難な上、水になじみにくいという印象も受けた。この性質の違いが測定精度の低下を招き、I 強化卵生産用飼料で CV 値が高くなったと考えられた(表 3)。したがって、高濃度 I 強化卵黄や対照鶏甲状腺のような水と均一になじみやすい(易溶性)試料の測定には HO 法や DW 法による調製で信頼性の高い測定値を得ることが可能であると考えられた。一方で、I 強化卵生産用飼料のような水となじみにくい(難溶性)試料では、調製時にさらに細かく粉末化させることで試料自体の均一化を改善する必要があると考えられた。HO 法や DW 法は PIXE 分析における試料調製に広く一般的に用いられている方法であり、その調製手順も HO 法では水を加えてよく混合し内部標準液を加える、NA 法では硝酸を用いて湿式灰化し内部標準液を加えるといった非常に簡便なものである。しかし PIXE 分析に最適な試料調製を行うためにはある程度の熟練した技術を必要とし、水(もしくは硝酸)を用いて試料と内部標準を十分均一に混合し、ペースト状にさせたものをポリプロピレンフィルム上に薄く、さらに均一に塗布しなければ信頼性のある結果を得ることは困難なものとなる。HO 法と DW 法における I 測定結果を比較すると、今回使用した 3 試料全てで DW 法の結果が HO 法よりも高い測定値を示した(表 2-4)。さらに前述した内部標準元素の検討結果では、Fe を内部標準とした場合の I 測定値が最も高い値を示した(表 1)。HO 法は水と内部標準液を加え調製を行ったものである。一方、DW 法および Fe を内部標準とする方法では、I の測定に供した試料には内部標準液を加えずに調製を行っている。内部標準液中には 1N の硝酸もしくは塩酸が含まれており、今回の結果はこの内部標準液中の酸によって I が飛散し、HO 法による I 測定結果が過小評価された可能性が考えられた。

アルカリ処理法(NaOH)では高濃度 I 強化卵黄および I 強化卵生産用飼料の I 測定結果において I 含有量は他のすべての調製法より大幅に高い値を示した(表 2,3)。これはアルカリ溶液として添加した NaOH 溶液中の Na 成分がヨードの特性 X 線に干渉したため過大評価された可能性があると考えられた。スペクトルグラフにおいて I のピークに着目してみても、Na による高エネルギー即発 γ 線によって高エネルギー領域の BG が非常

に高くなり、ヨードのピークは埋もれてしまった。その中で I の含有量を無理に算出したものであり、測定誤差についてもかなり高く調製法として信頼性はかなり低いものとなった。これらのことより、NaOH 法によって I 測定を行うことは不可能であると考えられた。

アルカリ処理法(KOH)では高濃度 I 強化卵黄の I 測定結果において、測定値は DW 法よりも 45ppm 低い値であったが、CV 値は 1.9%、MEAN に対する SE の割合は 7.8%とどの調製法よりも良好な結果が得られ(表 2)、I 強化卵産生用飼料の I 測定結果においても測定値が DW 法よりも 39.8ppm 高く、かつ CV 値が 23.9%、MEAN に対する SE の割合が 8.3%低い値とどの調製法よりも良好な結果が得られた(表 4)。また、KOH 法はアルカリ処理を行った後、内部標準液を加えるため内部標準における酸の影響を受けない方法であり、I の測定結果が過小評価されてしまう可能性はないと考えられた。

以上の結果から、鶏卵・鶏臓器中の I の測定には、今回測定に供した試料において良好な CV 値および MEAN に対する SE の割合を示した DW 法・KOH 法が最も適していると判断された。

また調製の際、注意すべき点として次のようなものが考えられる。一般に、PIXE 分析における測定結果を悪化させる要因としては、試料に照射するビーム自体のムラといった装置側の要因も挙げられるが、特に結果に大きく影響を与えるものとしては、作成した試料自体の不均一性、試料中の内部標準元素の不均一性、ポリプロピレンフィルム上に塗布する際の試料の厚さのムラによる特性 X 線の自己吸収など、試料調製時に生じる手技的要因である。さらに照射ターゲットの乾燥条件によっては試料中の内部標準元素の偏在化を招き、測定結果を悪化させると報告されている。試料調製時はこれらを念頭に置き、十分慎重に調製を行う必要がある。

2. I 添加回収率の検討および定量限界の推定

2.1. 高濃度 I 強化卵黄における定量限界の推定

2.1.1 HO 法 (高濃度 I 強化卵黄)

HO 法では実測値と回帰直線との間に有意な相関($R^2 = 0.9996$)が認められ、実測値と回帰曲線との間に有意な相関が認められた(図 5-A)。また CV 値および MEAN に対する SE の割合は、添加 I 濃度全段階で 30% を超えるものは認められなかった(表 5-A・図 5-B)。

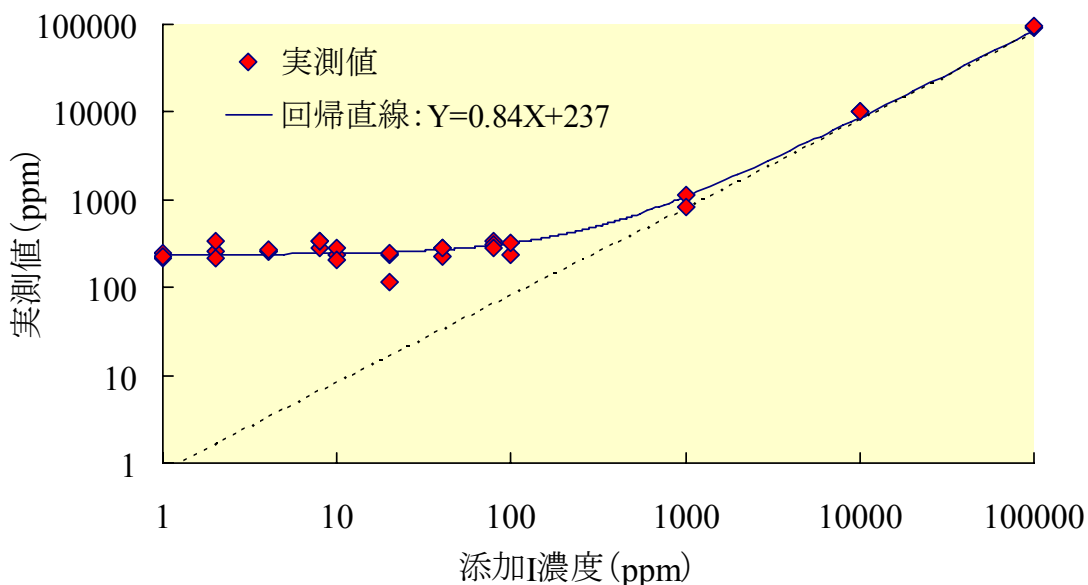


図 5-A 添加 I 濃度とそれらの測定値および回帰直線 (HO 法)

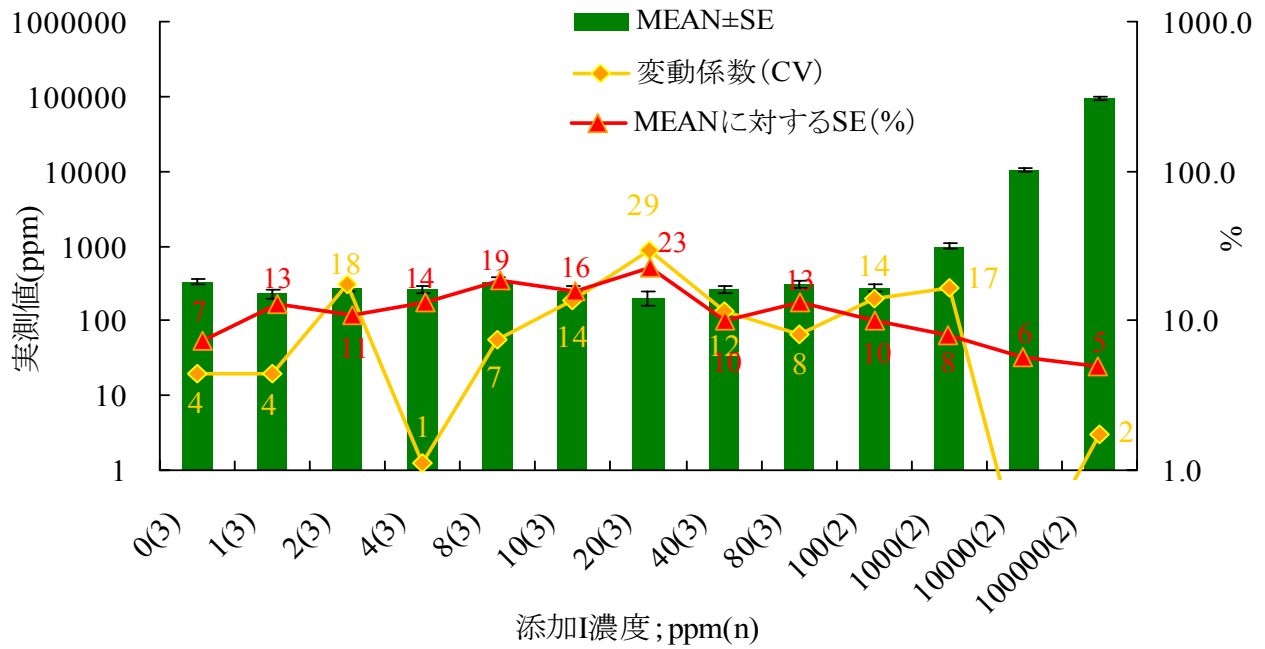


図 5-B 試料のばらつき度合い (HO 法)

表 5-A 各添加 I 濃度における測定値の比較

添加 I 濃度 ; ppm(n)	MEAN	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
0(3)	332	24	15	4.4	7.3
1(3)	229	30	10	4.4	13.0
2(3)	270	30	48	17.7	11.1
4(3)	262	35	3	1.1	13.5
8(3)	319	60	24	7.4	18.9
10(3)	244	39	34	13.8	15.8
20(3)	201	46	59	29.2	22.9
40(3)	266	27	31	11.6	10.2
80(3)	309	42	25	8.1	13.4
100(2)	278	28	40	14.2	10.1
1000(2)	978	79	164	16.8	8.1
10000(2)	10148	576	21	0.2	5.7
100000(2)	94337	4691	1618	1.7	5.0

SE ; Standard Error SD ; Standard Deviation CV ; Coefficient of Variation

2.1.2 KOH 法 (高濃度 I 卵黄)

KOH 法では実測値と回帰直線との間に有意な相関($R^2 = 0.9727$)が認められ、実測値と回帰曲線との間に有意な相関が認められた(図 5-C)。また CV 値および MEAN に対する SE の割合は、添加 I 濃度全段階で 30%を超えるものは認められなかった。(表 5-B・図 5-D)

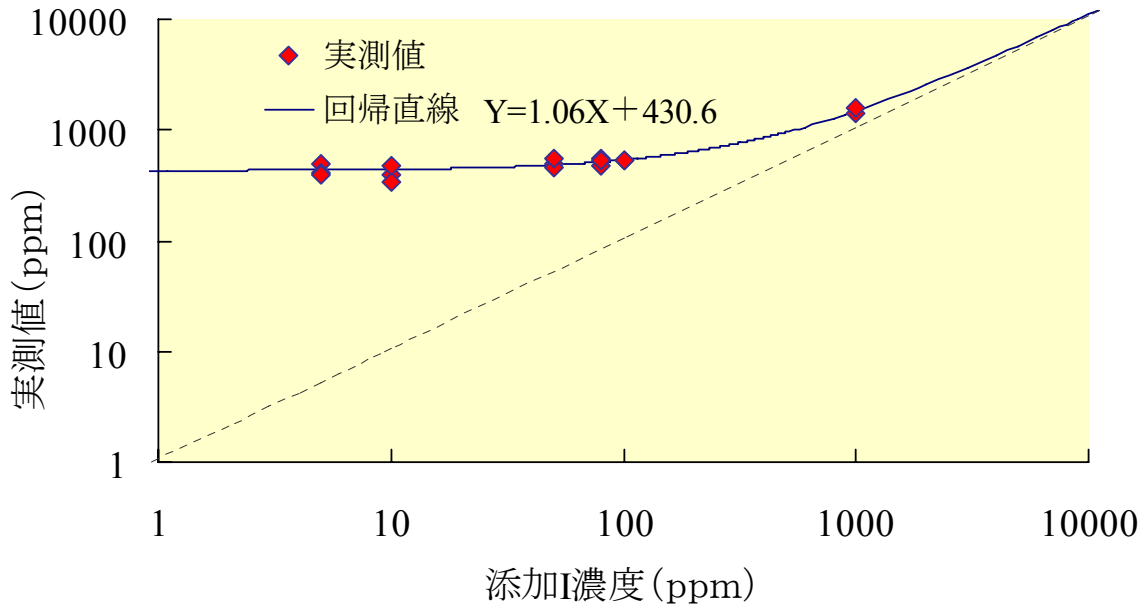


図 5-C 添加 I 濃度とそれらの測定値および回帰直線 (KOH 法)

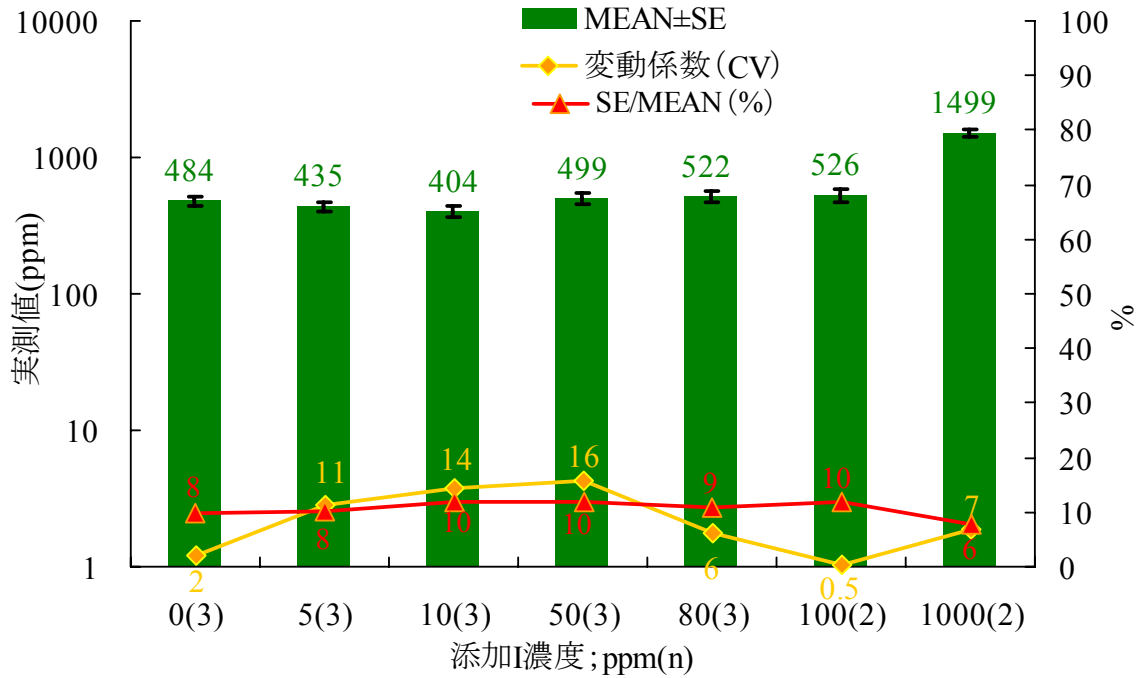


図 5-D 試料のばらつき度合い (KOH 法)

表 5-B 各添加 I 濃度における測定値の比較

添加 I 濃度 ; ppm(n)	MEAN	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
0(3)	484	38	9	2	8
5(3)	435	37	49	11	8
10(3)	404	40	59	14	10
50(3)	499	49	42	16	10
80(3)	522	46	31	6	9
100(2)	526	52	2	0.5	10
1000(2)	1499	92	104	7	6

ND ; Not Detected SE ; Standard Error SD ; Standard Deviation
 CV ; Coefficient of Variation

2.2. 普通卵黄における定量限界の推定

2.2.1 HO 法 (普通卵)

HO 法では添加 I 濃度 100ppm 以下となると実測値にばらつきが認められたものの、実測値と回帰直線との間には有意な相関($R^2 = 0.9918$)が認められた(図 6-A)。各添加 I 濃度における CV 値は、添加 I 濃度が 80ppm 以上の場合、1-21%と安定した結果が得られたが、添加 I 濃度が 80ppm 未満の場合では 34-69%となり、検出精度の低下が認められた(表 6-A・図 6-B)。また各添加 I 濃度における MEAN に対する SE の割合を見ると、添加 I 濃度が 100ppm 以上では 5-21%と安定した結果になったが、添加 I 濃度が 100ppm 未満では 32-634%となり、I 濃度が低濃度になるほど測定精度の低下が認められた(表 6-A・図 6-B)。さらに添加 I 濃度が 2ppm 以下の場合、I は検出されなかった(表 6-A)。

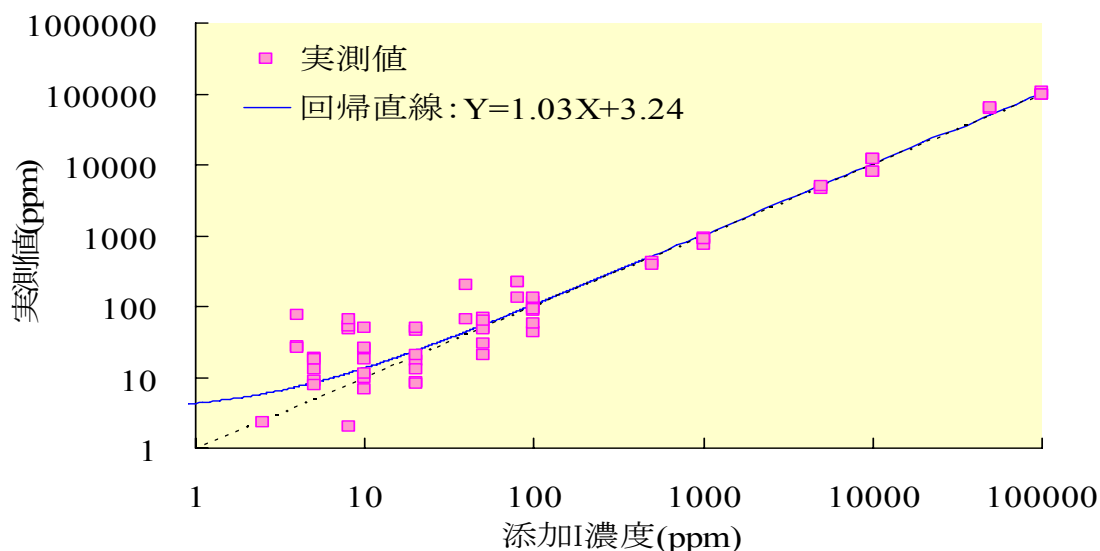


図 6-A 添加 I 濃度とそれらの測定値および回帰直線 (HO 法)

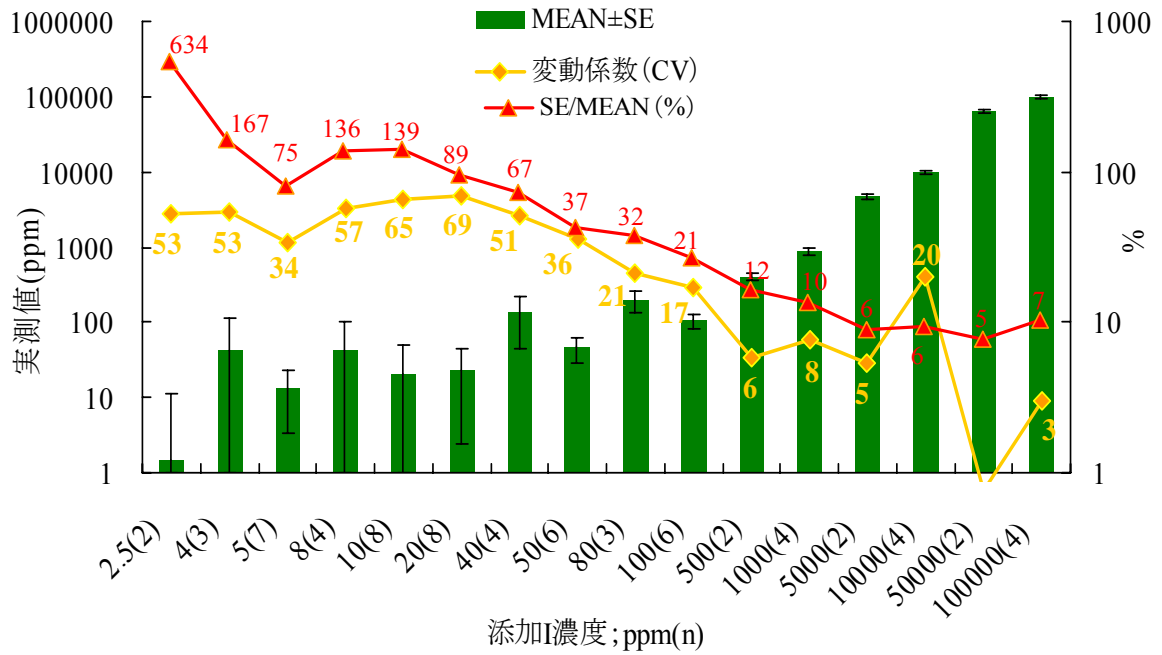


図 6-B 試料のばらつき度合い (KOH 法)

表 6-A 各添加 I 濃度における測定値の比較

添加 I 濃度 ; ppm(n)	MEAN	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
0(4)	ND	-	-	-	-
1(4)	ND	-	-	-	-
2(4)	ND	-	-	-	-
2.5(2)	1.5	10	1	53	634
4(3)	43	72	23	53	167
5(7)	13	10	5	34	75
8(4)	42	57	24	57	136
10(8)	21	29	14	65	139
20(8)	23	20	16	69	89
40(4)	135	90	69	51	67
50(6)	46	17	17	36	37
80(3)	192	61	41	21	32
100(6)	105	22	18	17	21
500(2)	405	51	24	6	12
1000(4)	872	87	67	8	10
5000(2)	4686	289	253	5	6
10000(4)	9942	644	2013	20	6
50000(2)	62893	3309	482	1	5
100000(4)	99830	7251	2974	3	7

ND ; Not Detected SE ; Standard Error SD ; Standard Deviation
CV ; Coefficient of Variation

2.2.2 DW法 (普通卵黄)

DW法では計測回数が少ないうえ、実測値にばらつきが認められた。実測値と回帰直線との間には有意な相関は認められたが、R2値は低い結果(R2=0.890302)となった(図6-B)。各添加I濃度におけるCV値は、添加I濃度が80ppm以上の場合、10-24%と安定した結果が得られたが、添加I濃度が80ppm未満の場合では49-54%となり、検出精度の低下が認められた。また各添加I濃度におけるMEANに対するSEの割合を見ると、添加I濃度が80ppm以上では13-20%と安定した結果になったが、添加I濃度が80ppm未満では59-159%となり、HO法と同様、I濃度が低濃度になるほど測定精度の低下が認められた。

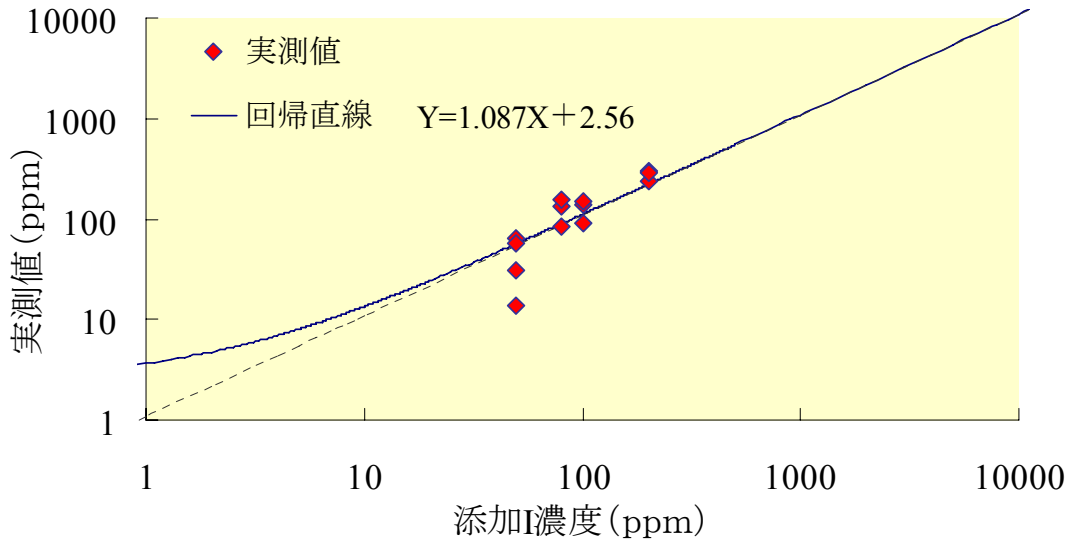


図6-C 添加I濃度とそれらの測定値および回帰直線 (DW法)

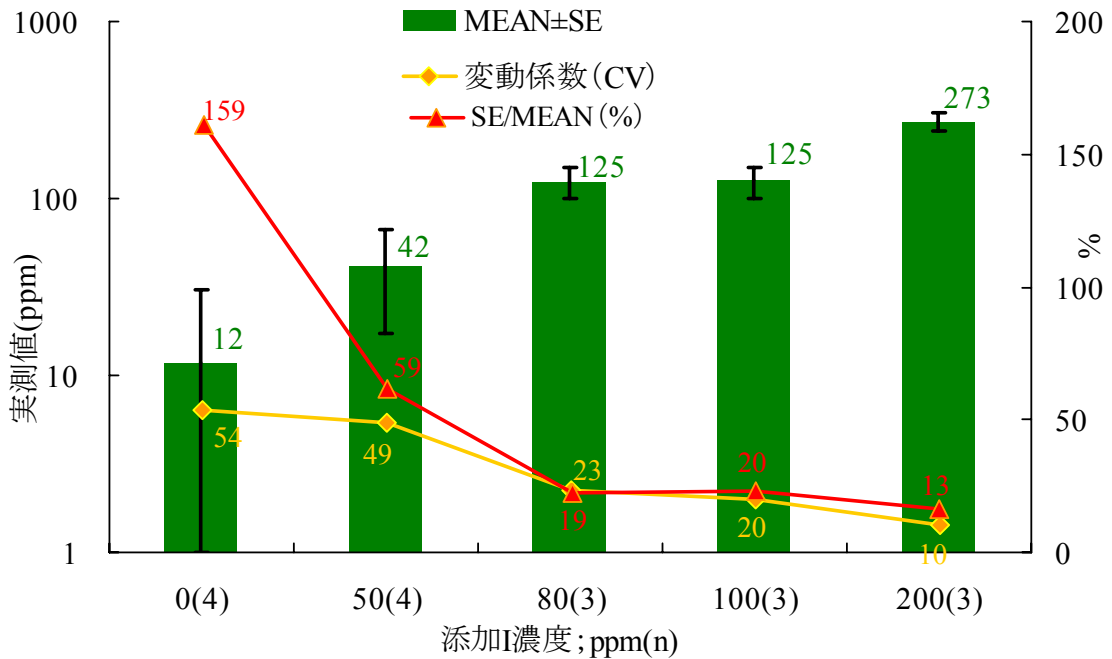


図6-D 試料のばらつき度合い (DW法)

表 6-B 各添加 I 濃度における測定値の比較

添加 I 濃度 ; ppm(n)	MEAN	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
0(4)	12	19	6	54	154
50(4)	42	25	20	49	59
80(3)	125	24	29	23	19
100(3)	125	25	25	20	20
200(3)	273	35	28	10	13

ND ; Not Detected SE ; Standard Error SD ; Standard Deviation

CV ; Coefficient of Variation

2.2.3. KOH 法 (普通卵黄)

KOH 法では計測回数が少ないうえ、実測値にばらつきが認められた(図 6-E)。実測値と回帰直線との間には有意な相関は認められたが、 $R^2(R^2=0.7693)$ はやや低くなった(図 6-E)。各添加 I 濃度における CV 値は、添加 I 濃度が 50ppm 以上で、14-25%と安定した結果が得られた(表 6-C・図 6-F)、それ以下の添加 I 濃度についてはまだ行っていないため不明であるが、各添加 I 濃度における MEAN に対する SE の割合については、添加 I 濃度が 50ppm 以上では 12-27%と安定した結果になった(表 6-C・図 6-F)。

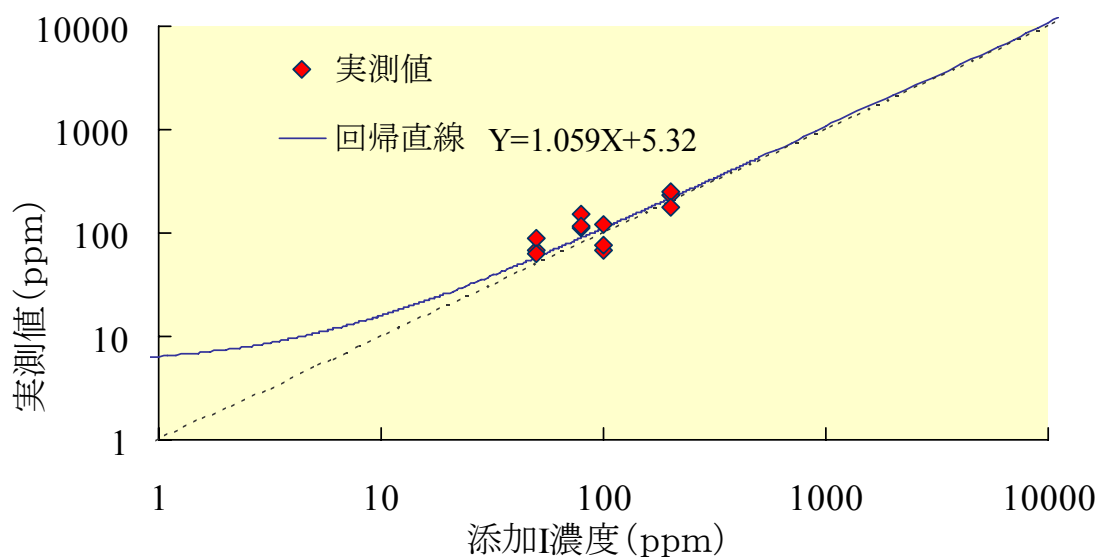


図 6-E 添加 I 濃度とそれらの測定値および回帰直線 (KOH 法)

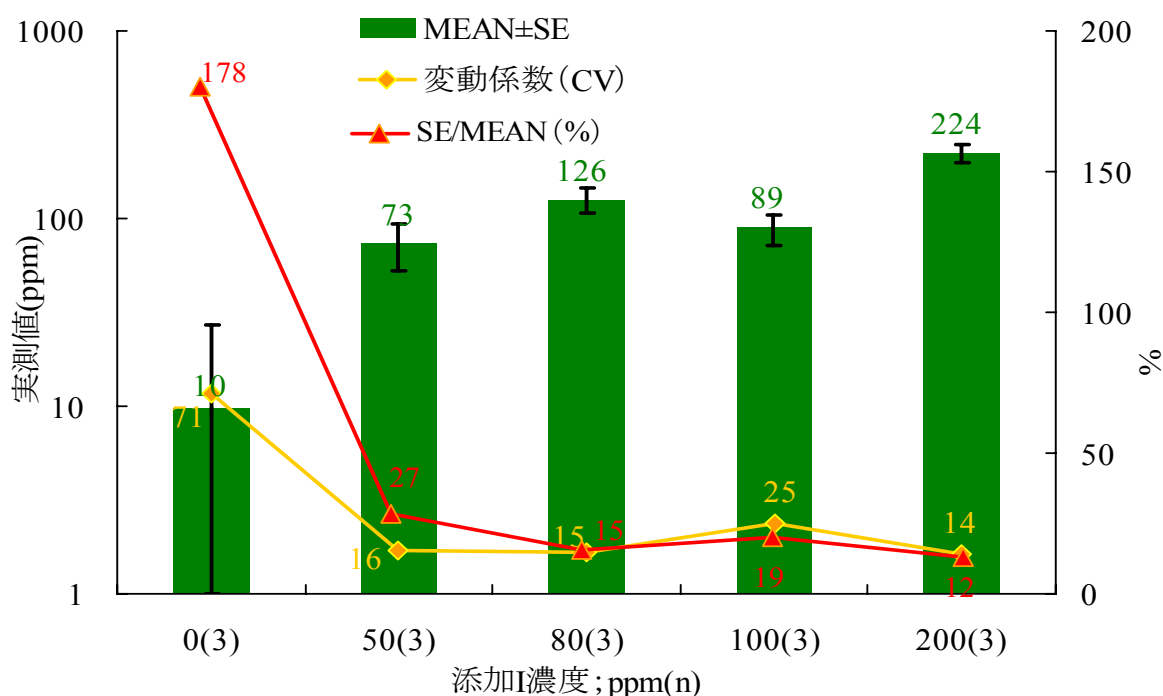


図 6-F 試料のばらつき度合い (KOH 法)

表 6-C 各添加 I 濃度における測定値の比較

添加 I 濃度 ; ppm(n)	MEAN	SE	SD	CV(%)	SE/MEAN×100(%)
0(3)	10	17	7	71	178
50(3)	73	20	11	16	27
80(3)	126	19	18	15	15
100(3)	89	17	22	25	19
200(3)	224	26	31	14	12

高濃度 I 強化卵黄および普通卵黄のいずれにおいても、実測値と回帰直線との間に有意な相関が認められた。以上のことから添加 I 濃度が低濃度の場合(100ppm 未満)、高濃度 I 強化卵黄では得られる実測値のばらつきは小さいが、普通卵黄では実測値のばらつきが大きくなることが示された。

高濃度 I 強化卵黄を測定に供した場合、CV 値や MEAN に対する SE の割合が 30%を超えるような結果は認められなかった。PIXE 分析により求められた元素の濃度が測定値として有意であると判断されるのは、測定値に対する誤差の割合が 30%以下の場合とすることが一般的である。今回の高濃度 I 強化卵黄の測定結果にこの基準を超えるものは認められなかったため、今回の結果は測定値としては有意な値であると判断された。したがって試料中に 200ppm 前後の I を含有しているような場合においては、PIXE 分析による I の定量は可能であることが示された。

一方、普通卵黄を測定に供した場合においても、添加 I 濃度 100ppm 以上の場合、CV 値および MEAN に対する SE の割合が 30%を超える結果は認められなかった。一方、HO 法では添加 I 濃度 80ppm 未満、DW 法では添加 I 濃度 50ppm 未満で、CV 値および MEAN に対する SE の割合は 30%を超えるようになり、測定精度の低下が認められた。したがって I 回収率の結果、各添加 I 濃度における CV 値および MEAN に対する SE の割合の結果、そして普通卵黄中に元来含有されている I 濃度の推定値の結果の全てを加味して考察すると、

今回の実験において HO 法では PIXE 分析における I 濃度の定量限界は 80-100ppm の間, DW 法では 50-80ppm の間にあると推定され, これ以上の I 濃度であれば測定精度の高い結果が得られると考えられた。KOH 法では 50ppm においても測定精度の低下は見られず, PIXE 分析における I 濃度の定量限界にはまだ 50ppm 以下の添加回収率について検討の余地があると考えられる。

一方, 添加回収の測定回数を多くとり, それらから回帰直線を求めれば, 誤差は大きくなるものの, 高濃度の I を含有するものについてはその I 濃度を推定することも可能であると考えられた。この方法で I 濃度を推定した場合, 高濃度 I 強化卵黄における推定値は, HO 法や KOH 法で求めた値と比較しても約 3% の誤差であったが, 普通卵黄では添加回収の結果から求めた推定値は測定誤差が非常に大きい結果となった。I 濃度の推定は低濃度の I 濃度の試料について行うことは不可能であるが高濃度の I 濃度の飼料に関しては可能であると考えられた。今回の I 添加回収実験は高濃度 I 強化卵黄, 普通卵黄について KOH 法, DW 法で添加 I 濃度 50ppm-200ppm を重点的に行った。したがって定量限界については今後 DW 法, KOH 法を用いて引き続き検討を行い, さらなる検出限界の低下が期待される。

IV. 要約

鶏飼料中のヨード(I)含量を強化した鶏卵(I 強化卵)はその摂取による様々な有効効果が報告されているが, これらをもたらす鶏卵中の I 関連物質の存在は未だ明らかにされていない。本研究では I 強化卵および普通鶏卵・産卵鶏の臓器・鶏飼料中の I および各種微量元素含有量の PIXE による定量分析を試みた。今回は特に I を PIXE 分析する際の最適な試料処理法と PIXE 分析における I 添加回収率を検討し, 可能なものについては I の定量限界を推定した。また鶏卵・産卵鶏臓器・鶏飼料中 I 濃度の測定を行った。

試料調製法の検討ではまず使用する内部標準元素について調べた。使用する内部標準元素としては In, Pd, Fe を選択し, I の測定結果を比較した。その結果 In を使用した場合, I とエネルギースペクトルが類似しているため I の解析が阻害され, I 含有量は過小評価された。一方, Pd 群・Fe 群では I とのエネルギースペクトルの類似は認められず, 良好な測定結果が得られた。従って I の測定に内部標準として In を使用することは不適であり, Pd や Fe などの I とエネルギースペクトルが類似しないとされる元素(Pd, Y など)の使用が望ましいと考えられた。

試料調製法は硝酸灰化法(NA), ホモジナイズ法(HO), 粉末内部標準法(PI), 水処理法(DW), アルカリ処理法(NaOH), アルカリ処理法(KOH)の6種類を試み, 測定に供した試料は高濃度 I 強化卵黄・I 強化卵生産用飼料・対照鶏甲状腺を用いた。NA 法では酸による灰化処理によって試料中のハロゲン元素の大部分が飛散してしまい, I 含有量が著しく過小評価され, NA 法単独での正確な I の定量は困難であると考えられた。また PI 法では生物試料特有の粘性や試料中の脂肪に起因すると考えられる, 試料中の粉末内部標準の分布の不均一性により I の測定精度が低下する結果となり, NA 法同様, 正確な I の定量は困難であると考えられた。一方, HO 法および DW 法では鶏飼料を除いて, 全般的に測定精度の良好な結果が得られた。また HO 法および DW 法の I 測定結果を比較すると, 同程度の測定精度でありながら, DW 法がより高値を示した。これは HO 法に用いた内部標準液中の酸による試料中 I への影響が考えられた。NaOH 法ではアルカリ溶液として添加した NaOH 溶液中の Na 成分がヨードの特性 X 線に干渉したためヨード含有量の値が過大評価された可能性があると考えられ, 正確な I の定量は困難であると考えられた。KOH 法では MEAN に対する SE の割合が一番小さく, 他どの調製法よりも測定精度が高い結果となった。以上のことから, 鶏卵・産卵鶏臓器中の I を PIXE 分析にて測定する際の精度良好な試料調製法は DW 法または KOH 法であると結論づけた。また鶏飼料についても, DW 法または KOH 法で MEAN に対する SE の割合が 30% を下回っていることから, 調製精度の向上を図り, これらの方法にて調製を行えば, 測定精度をより向上させることは可能であると考えられた。

I 添加回収率の検討および定量限界の推定には, I を添加する試料に高濃度 I 強化卵黄および普通卵黄を使用し, 調製法は高濃度 I 強化卵黄で HO 法, KOH 法の 2 つの方法で, 普通卵黄で HO 法, DW 法, KOH 法の 3 つの方法で行った。高濃度 I 強化卵黄では実測値と回帰直線との間に有意な相関が認められた。一方, 普通卵黄においても HO

法では実測値と回帰直線との間に有意な相関が認められた。また、DW法、KOH法におけるCV値およびMEANに対するSEの割合は、高濃度I強化卵黄では30%を超える結果は認められなかった。しかし普通卵黄では、HO法において添加I濃度が80ppm未満、DW法では添加I濃度が50ppm未満となるとCV値およびMEANに対するSEの割合が30%を超える結果となり、測定精度の低下が認められた。これはPIXE分析におけるIの定量限界と考えられ、その定量限界はI回収率の結果、CV値およびMEANに対するSEの割合の結果などを考慮すると、HO法では80-100ppmの間、DW法では50-80ppmの間にあると考えられた。一方、KOH法においては50ppmにおいてもCV値およびMEANに対するSEの割合が30%を超えることはなく、未だ50ppm以下についての測定を行っていないため検討の余地があると考えられた。

今回の実験のように多くのデータをとり、その回帰直線を求めれば、誤差も小さくが比較的高濃度のIを含有するものであればIを推定することは可能であると考えられ、実際、今回の添加回収結果で推定されたI濃度とHO法・KOH法でのI濃度がほぼ同程度であった。しかし、普通卵黄のような低濃度のIを含有するものでは測定誤差があまりにも大きくなってしまいうため、回帰直線からI含有量を推定することは不可能であると考えられた。

今後はDW法、KOH法においてヨード添加量がさらに低濃度の場合の詳細な回収率を検討し、PIXE分析におけるヨードの検出限界を明確にしていきたいと考えている。また、最も測定精度の高いと考えられた調製法において、飼料から産卵鶏臓器そして卵までのヨードの動態を測定していきたいと考えている。

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(7-9Months) 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, ニツ川章二, 畠山智, 齊藤義弘, 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, ニツ川章二, 畠山智, 齊藤義弘: 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, ニツ川章二, 畠山智, 齊藤義弘, 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)

Determination of iodine concentrations in organs, eggs and feed of laying hens by different sample preparations followed by PIXE

Eri Tsuchihashi¹⁾, Norihiko Oyama¹⁾, Masahiro Natsuhori¹⁾, Koichiro Sera³⁾
Satoru Hatakeyama²⁾, Jun Ito²⁾, Jiro Yokoyama⁴⁾, Takahiko Morozumi⁵⁾
Tadashi Sano¹⁾, Shoji Futatsukawa⁶⁾ and Nobuhiko Ito¹⁾

¹⁾ Kitasato University, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences
Higashi 23-35-1, Towada, Aomori 034-8628, Japan

²⁾ Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
Tomegamori 348-58, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

³⁾ Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
Tomegamori 348-58, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁴⁾ Nosan Corporation
Minatomirai Landmark Tower 46F, Nishi-ku, Yokohama, Kanagawa 220-8146, Japan

⁵⁾ ALVIS Inc.
Higashi-Ikebukuro 2-32-22 Toshima-ku, Tokyo 170-0013, Japan

⁶⁾ Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

Abstract

In this study, iodine (I) concentrations from biological samples including iodine enriched eggs, normal eggs, organs and feed of laying hens were determined to evaluate the different methods for sample preparation followed by PIXE. Application of internal standards (In, Pd, Fe) and recoveries of iodine from iodine spiked samples were also considered.

As an internal standard, addition of In underestimated I concentration due to the similarity of characteristic peaks of x-ray between I and In. Therefore Pd or intrinsic Fe was considered to be the better internal standard. For the sample preparation, 1) nitrate ashing (NA), 2) homogenizing (HO), 3) water processing, 4) powdered internal standard (PI), 5) NaOH processing (NaOH), and 6) KOH processing were chosen to evaluate. NA showed much lower concentration due to acid expel of iodine and other halogens. PI had the largest standard deviation in the determined values due to non-homogeneity in the micro environment of the powdered sample which was most affected by the higher viscosity, especially in fat-rich samples. On the other hands, HO and DW had relatively higher accuracy. The NaOH processing appeared to overestimate due to overlapping of the PIXE signal by significant amount of Na in samples. However considering overall results obtained, KOH processing had the best accuracy and recovery from the samples applied. The quantification limit of I in the samples are appeared to be less than 50 ppm. Therefore, further studies are needed to improve the condition of the sample preparation for the better determination of I by using PIXE.