

再録論文

006 放射化分析による生体試料中のヒ素の測定\*

木村雄一郎, 森嶋弥重, 古賀妙子, 本田嘉秀,  
河合広, 木村絃三郎\*\*, 宮口耀一郎\*\*, 西脇安\*\*\*

*Determination of Arsenic in Biological Materialt by Activation Analysis*

Yuichiro KIMURA, Hiroshige MORISHIMA,  
Taeko KOGA, Yoshihide HONDA, Hiroshi KAWAI,  
Kozaburo KIMURA\*\*, Yoichiro MIYAGUCHI\*\*, and  
Yasushi NISHWAKI\*\*\*

RADIOISOTOPES Vol, 16, 537-542 (Oct. 1967)

The modified Gutzeit method for separation of arsenic was combined with neutron activation analysis of arsenic in biological materials.

The modified Gutzeit method often used for determination of arsenic in biological materials in Japan is relatively simple, but it is difficult to determine microamounts of arsenic less than  $3\mu\text{g}$  and the errors according to this method are sometimes quite large. Therefore, the authors attempted the quantitative determination of arsenic by activation method.

The samples were first irradiated with thermal neutron at a flux of about  $4 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup>/sec for 1 hour and then digested with nitric-sulfuric acid.

Activated arsenic as arsine evolved by modified Gutzeit method was collected on a mercuric bromide paper strip and then the radioactivity was measured.

The minimum detectable amount of activated arsenic on the mercuric bromide paper strip in this method was of the order of  $10^{-3}\mu\text{g}$  and the mean recovery was about 80% with the standard deviation of less than 10%.

The authors attempted the quantitative determination of arsenic in human head hair with this method.

ヒ素の分離法としてグトツァイト変法を放射化分析法に併用し、微量ヒ素の定量分析を行なった。生体試料などのヒ素の公定分析法として用いられているグトツァイト変法は比較的簡便に定量できるが、 $3\mu\text{g}$  以下の微量ヒ素の定量は非常に困難であり、またときには誤差がかなり大きい。そこで筆者らは放射化分析によるヒ素の定量をこころみた。まず熱中性子束、 $4 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup>/sec で1時間照射した試料を湿式灰化し、グトツァイト変法に従って発生するヒ化水素を臭化第二水銀紙に捕集し、その放射能を測定して、微量のヒ素を定量した。

本法で定量される分析感度、および回収率を検討

した結果、分析感度は  $10^{-3}\mu\text{g}$  のオーダーであり、回収率は約80%で、そのバラツキは10%以内であった。さらに本法により人頭毛髪中の微量ヒ素の定量を行なった。

\* 本論文の要旨は第3回理工学における同位元素研究発表会(昭和41年4月東京)において発表し、RADIOISOTOPES vol. 16, No. 10 (Oct. 1967) に投稿した。

\*\* 近畿大学理工学部 (Faculty of Science and Technology, Kinki University)

\*\*\* 東京工業大学 (Tokyo Institute of Technology)

## 1 ま え が き

ヒ素は無機物質中、最強の有毒化合物である亜ヒ酸の主成分であり、また発がん性が知られていることから、衛生化学的あるいは法医学的または公衆衛生学的立場から毒物学的微量検出ならびに微量分析についていろいろと研究されているが、現在医薬品、食品添加物および生体試料などの微量ヒ素の公定分析法としてグトツァイト変法がある。これには発生させたヒ化水素を臭化第二水銀のストリップにその長軸に沿って着色させる方法<sup>1)</sup>と、円形型に着色させる方法<sup>2)</sup>がある。円形型着色は吸光度測定によって検出感度の上昇が認められているが、これらは着色部の比色によるもので感度が高い割に精度が低い難点が指摘されている。近年高い分析感度をもつ放射化分析が種々の元素の微量分析法として多く開発され応用されているが、ヒ素についてもこれまで多くの報告がある<sup>3)-7)</sup>。これらは $\gamma$ 線エネルギー分析により、また遊離金属ヒ素ないしは沈殿固体試料あるいは液体試料としてその放射能の測定を行っている。われわれは臭化第二水銀紙のストリップを用いるグトツァイト変法をそのまま併用し、臭化第二水銀紙に捕集された $^{76}\text{As}$ の放射能を通常の端窓型G-M計数装置、あるいは薄窓型低バックグラウンド放射能計数装置を用いて測定した。その結果、ほぼ満足すべき感度と精度が得られた。そこで同法によって、健康成人女子の頭髮および治療の目的で含ヒ素有機化合物であるネオアルゼノベンゾールナトリウムの注射を受けた女子患者の頭髮中のヒ素の定量を行なった結果、感度よく、かつ簡便に測定された。

## 2 実 験

### 2.1 試薬および試料

ヒ素標準液：特級亜ヒ酸（ヒ素として0.1g）を20%水酸化ナトリウム液2.5mlに溶かし、炭酸ガスを飽和したのち、新たに煮沸した蒸留水で100mlに希釈して標準液とした。これを適宜うすめて比較液として使用した。

$^{76}\text{As}$ 比較液：ポリエチレン容器（8mm $\phi$ ×30mm）に封入し、京都大学原子炉の熱中性子束 $4 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup>/secで1時間照射された特級亜ヒ酸（ヒ素として0.1g）を水酸化ナトリウム液に溶かしヒ素標準液の場合と同様にして、 $^{76}\text{As}$ の比較液を調整した。 $^{76}\text{As}$ の

生成はつぎの反応による。すなわち、



そのほかのグトツァイト変法に用いた試薬はすべて衛生試験法註解<sup>1)</sup>に従った。

人頭髮試料：細切ののち、蒸留水、エタノール、ついでエチルエーテルで洗浄、37°Cの恒温器中で乾燥した。

### 2.2 中性子照射

上記の洗浄、乾燥した試料の一定量（～50mg）をポリエチレン容器（8mm $\phi$ ×30mm）に封入し、また標準試料として特級亜ヒ酸（～10mg）を同様のポリエチレン容器に封入し、これをさらに照射用のポリエチレン外箱に収めて京都大学原子炉で熱中性子束 $4 \times 10^{12}$  n/cm<sup>2</sup>/secで1時間照射した。

### 2.3 放射能測定

$\gamma$ 線エネルギーの測定は試料をポリエチレン袋に封入し、ウエル型検出器を用いてRCL-512チャンネル波高分析器により行ない、 $\beta$ 放射能は臭化第二水銀紙を長さ約25mmに切断し、通常の試料皿に収めて、端窓型G-M計数装置（神戸工業製）あるいは薄窓型低バックグラウンド放射能計数装置（神戸工業製）により測定した。

### 2.4 試料の分解および化学分離操作

#### 2.4.1 試料の分解

試料～50mgをケルダールフラスコに採取し、濃硝酸5ml、濃硫酸10mlおよび担体として亜ヒ酸（ヒ素として10 $\mu$ g）を加えて加熱分解する。液が淡黄色透明になったならばいったん冷却し、少量の水および飽和シュウ酸アンモニウム液5mlを加え、ふたたび加熱して窒素酸化物を駆逐する。無水硫酸の白煙が現われ始めると加熱を止め、冷却後、水で正確に25mlにうすめる。

#### 2.4.2 化学分離操作

グトツァイト変法<sup>1)</sup>により行なった。ヒ素の分離と捕集に使用した装置をFig. 1に示す。グトツァイト変法ガス発生装置をA, B, Cに分けて、Aの発生ビンに上記の方法で湿式灰化した検液の一定量（<30ml）を入れ、濃塩酸5ml、15%ヨウ化カリウム水溶液5ml、40%塩化第一スズ塩酸溶液4滴、亜鉛粒5gを加え、Bには酢酸鉛を含んだ海砂、ガラス綿を入れ、Cには臭化第二水銀アルコール溶液に浸した口紙を挿入し、装置を細管Cの先端から2.5cmの部分まで20～25°Cに保った水浴中に浸し、約1.5時間水素発

生を行なう。その反応原理はヒ素化合物が還元，水素化されてヒ化水素を生じガラス細管Cに挿入した臭化第二水銀紙に捕集され，ヒ素量に応じて黄色から黄褐色に着色する。

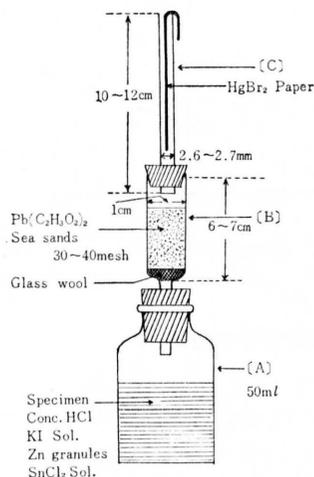


Fig. 1. Apparatus for arsenic test. (Modified Gutzeit method)

### 3 結果および考察

#### 3.1 グトツァイト変法

ヒ化水素による臭化第二水銀紙の着色反応を利用するグトツァイト変法は，たとえ微量のヒ化水素が臭化第二水銀紙に捕集されたとしても可視的な着色には至らないのできわめて微量の検出は不可能である。

写真1はヒ素量に応じて着色した臭化第二水銀紙を示した。この方法ではヒ素量が  $3\mu\text{g}$  以下における着色部の長さの測定は非常に困難である。Fig. 2はこの着色部の長さを縦軸に，ヒ素量を横軸に目盛った検量線である。数回の平均値とその標準偏差を示したが誤差がかなり大きいことが認められる。

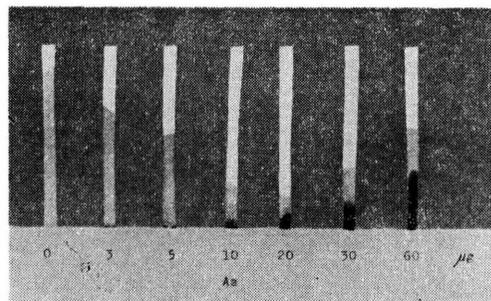


Plate 1. Colored  $\text{HgBr}_2$  paper by arsenic. (Modified Gutzeit method)

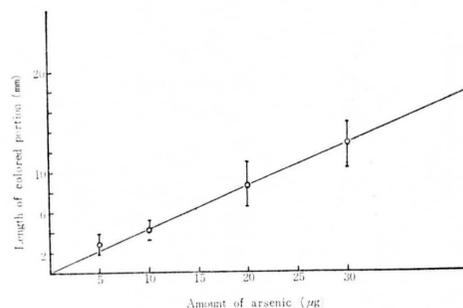


Fig. 2. Quantitative determination of arsenic by color test.

Table 1 Recovery of  $^{76}\text{As}$  by modified Gutzeit method

Run No.	Amount of As calcd. ( $\mu\text{g}$ )	$^{76}\text{As}$ Activity		
		In reaction mixture (cpm)	In $\text{HgBr}_2$ paper (cpm)	Recovery (%)
1	0.02	$273.5 \pm 10.4$	$234.2 \pm 4.9$	$85.6 \pm 3.7$
2	0.02	$273.5 \pm 10.4$	$234.5 \pm 4.9$	$85.7 \pm 3.7$
3	0.02	$273.5 \pm 10.4$	$228.0 \pm 6.7$	$83.4 \pm 4.0$
Average (1~3)				$*84.9 \pm 2.2$
4	0.03	$435.5 \pm 15.6$	$372.7 \pm 6.2$	$85.6 \pm 3.4$
5	0.03	$435.5 \pm 15.6$	$350.7 \pm 6.0$	$80.5 \pm 3.2$
6	0.03	$435.5 \pm 15.6$	$369.1 \pm 8.4$	$84.8 \pm 3.6$
Average (4~6)				$*83.6 \pm 2.0$

\* Mean value and standard deviation.

### 3.2 放射化分析

放射化分析法の場合は、前記の着色法に比較して、より少量の試料を用いて、分析精度および感度の上昇が期待される。そこで中性子照射により生成した微量の放射性ヒ素を前記のグットツァイト変法で分離する場合、どの程度定量的に臭化第二水銀紙に捕集されるかは重要な問題である。そこで  $^{76}\text{As}$  の比較液を用いて、臭化第二水銀紙へのヒ素の捕集率を検討した結果を Table 1 に示した。 $^{76}\text{As}$  の捕集率は約 85%であった。Fig. 3 は比較試料として照射した亜ヒ酸の  $\gamma$  線スペクトルである。 $^{76}\text{As}$  のエネルギー 0.56 MeV [31%], 1.21 MeV [16%] にピークが認められ、ほかの放射性核種のエネルギーピークは認められなかった。また、この試料の放射能減衰から求めた半減期も  $^{76}\text{As}$  の物理的半減期 26, 5 時間に一致したことから生成された  $^{76}\text{As}$  の放射化学的純度は満足すべきものと思われる。実際の生体試料の場合はヒ素のキャリア

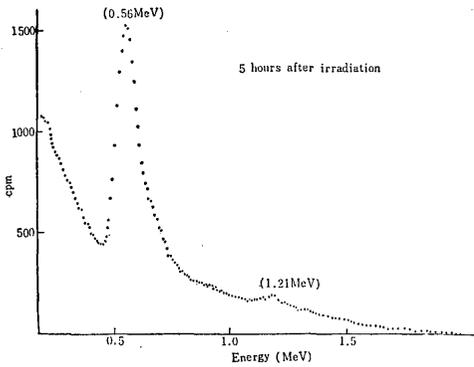


Fig. 3 Gamma-ray spectrum of irradiated  $\text{As}_2\text{O}_3$ .

$10\ \mu\text{g}$  を加え、湿式灰化後、硫酸を 25% 水酸化ナトリウム液で中和するため硫酸ナトリウムができる。このことを考慮してそれと相当量の硫酸ナトリウムを加えて水素発生を 3 時間行ない、その捕集率を検討した結果、約 80% であった。硫酸ナトリウムを加えることによって、水素発生速度に変化が認められ、ヒ素の捕集率に影響をおよぼしたと思われる。また、未照射頭髪の湿式灰化試料に既知量の  $^{76}\text{As}$  を添加し、定量を行った結果、その捕集率も同じような結果が得られた。すなわち、 $^{76}\text{As}$  の臭化第二水銀紙への捕集率は約 80~85% であった。そして本法により、微量ヒ素を定量しうる分析感度は Fig. 4 に示す検量線から、照射後 10 時間における測定で約  $10^{-3}\ \mu\text{g}$  のオーダーであることがわかる。この数値は Lenihan および

Smith ら<sup>11)</sup> が熱中性子束  $10^{12}\ \text{n/cm}^2/\text{sec}$  の照射で示した感度  $2 \times 10^{-3}\ \mu\text{g}$  とオーダーは一致した。

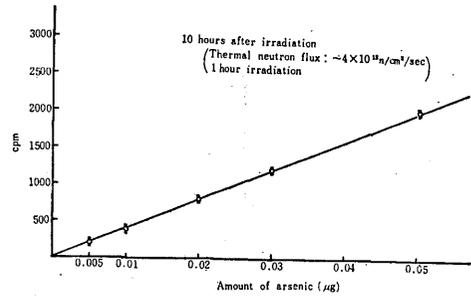


Fig. 4 Quantitative determination of arsenic by induced activity.

### 3.3 人頭毛髪中のヒ素量

以上の基礎的検討の結果に基づき、年齢 20 才の健康成人女子の頭髪および約 3 年半の間に治療の目的でヒ素剤としてネオアルゼノベンゾールナトリウムを 17.25 g (ヒ素として約 3.45 g) の注射を受けている年齢 20 才の女子患者の頭髪試料について前記の方法でヒ素の放射化分析を行なった。健康成人女子の頭髪および女子患者の頭髪照射試料(未処理)の  $\gamma$  線スペクトルを Fig. 5, Fig. 6 に示した。それぞれ、 $^{24}\text{Na}$ ,

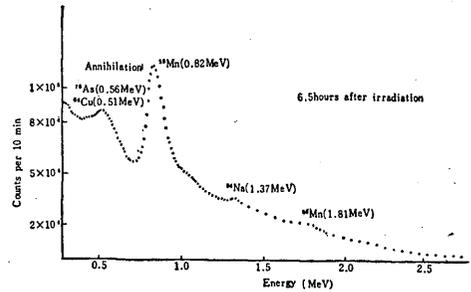


Fig. 5 Gamma-ray spectrum of irradiated human head hair. (Normal female)

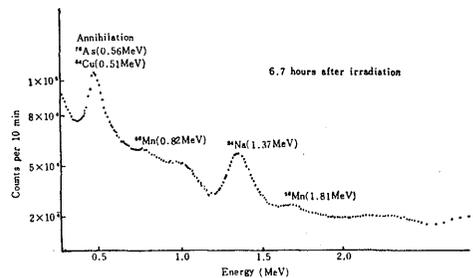


Fig. 6 Gamma-ray spectrum of irradiated human head hair. (Female patient, Neo-arsenobenzol injected)

$^{64}\text{Cu}$ ,  $^{56}\text{Mn}$ ,  $^{76}\text{As}$  などのエネルギーピークが認められた。これらの試料を湿式灰化後、グトツァイト変法により、ヒ素を分離し、その $\gamma$ 線スペクトルをそれぞれ、Fig. 7, Fig. 8 に示した。両者ともに  $^{76}\text{As}$  の $\gamma$

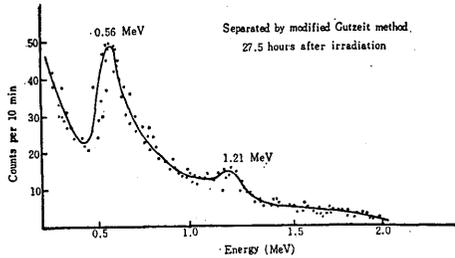


Fig. 7 Gamma-ray spectrum of irradiated specimen. (Normal female head hair)

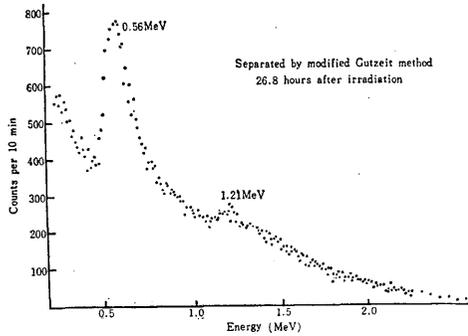


Fig. 8 Gamma-ray spectrum of irradiated specimen. (Female patient head hair)

線エネルギー 0.56, 1.21 MeV にピークがみられるが Fig. 8 においては 0.56 MeV に明瞭なピークが認められた。これらの放射能減衰を Fig. 9 に示した。 $^{76}\text{As}$  の物理的半減期 26.5 時間と一致し、ほかの核種の混在が認められなかった。これらの結果から、ヒ素の分離がかなり純粋に行なわれていると思われる。放射化分析で求めた試料頭髪中のヒ素量は健康成人女子の試料で 0.35 ppm, 患者試料で 7.25 ppm であった。この実験で定量された健康成人女子のヒ素量は従来報告されている、健康成人頭髪中の数値 (0.4 ppm)<sup>15)</sup> とほぼ等しい値であった。なお、照射にさいしての熱中性子の自己しゃへいの問題に関しては、炭石、いん石試料について 1.5g ぐらいまではその影響を無視しうることが報告<sup>18)</sup> されている。本実験の試料は 50mg であり、炭素、酸素、窒素、水素などを主成分とする乾燥試料であるから、自己しゃへいによる中性子束の減少の影響はほとんど無視できると思われる。

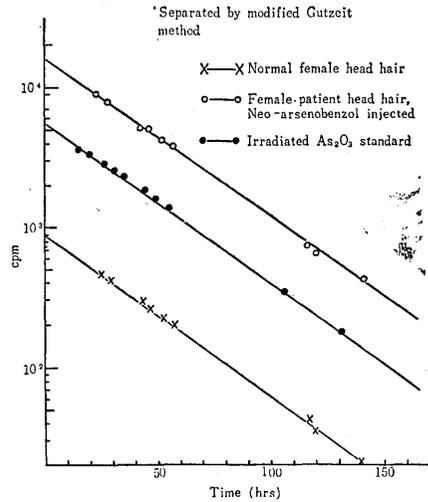


Fig. 9 Radioactive decay curve of irradiated specimens.

### 3.4 干渉元素の影響

頭髪中のヒ素を放射化分析によって、定量するさい、考慮すべき干渉元素としては、Se, Br, Ge などがある。このうち、Se, Ge から生ずる  $^{77}\text{As}$  ( $^{77}\text{Se} + n \rightarrow ^{77}\text{As} + p$ ,  $^{76}\text{Ge} + n \rightarrow ^{77}\text{Ge} \xrightarrow{\beta^-} ^{77}\text{As}$ ) の $\beta$ 線 (最大エネルギー 0.68 MeV) についてはアルミニウム吸収板 (266 mg/cm<sup>2</sup>) によって除外する必要があるが、Fig. 10 は試料をグトツァイト変法で処理後の $\beta$ 線吸収曲線である。 $^{76}\text{As}$  の $\beta$ 線最大エネルギー 2.98 MeV (50%) と一致し、 $^{77}\text{As}$  の影響は無視でき

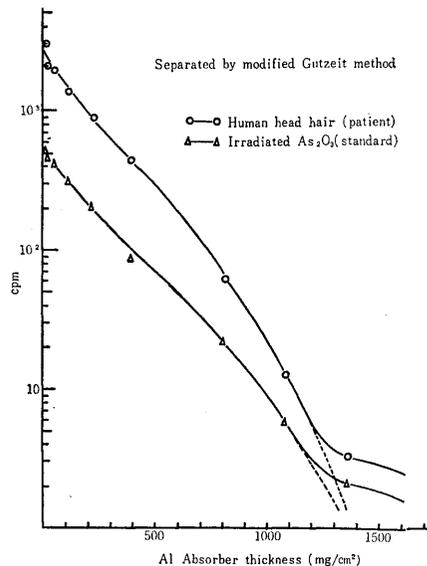


Fig. 10 Absorption curve of beta rays.

る。さらにグトツァイト変法においては、ヒ素とともにリン ( $^{32}\text{P}$ )、アンチモン ( $^{122}\text{Sb}$ ) など臭化第二水銀紙に捕集されるが、その存在は減衰曲線の半減期および  $\beta$  線最大エネルギーからも認められなかった。

#### 4 む す び

ヒ素の公定分析法として採用されている臭化第二水銀紙ストリップを用いるグトツァイト変法を放射化分析に併用して、微量ヒ素の定量について検討した。その結果は放射性ヒ素の臭化第二水銀紙への捕集率は約80%でそのバラツキは10%以内であった。また、定量感度はヒ素量として約  $10^{-3}\mu\text{g}$  オーダーであった。さらに本法により、正常人の頭髪中の微量ヒ素の定量を行なった結果、文献値とほぼ一致した値を得た。このストリップ口紙式グトツァイト変法の併用により、生体試料中の微量ヒ素の定量が感度よく、かつ簡便に行なわれるものと思われる。

稿を終るにあたり中性子照射にさいして、多大のご援助を受けた京都大学原子炉実験所筒井天尊教授および木村捷二郎氏に深く感謝致します。

#### 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法注解，136 金原出版，東京 (1957)
- 2) 末永泉二：衛生化学，11，101 (1965)
- 3) Griffon, H. and Barbaud, J. C. R.: Acad. Sci. Paris, 232, 1455 (1951)
- 4) Smales, A. A. and Pate, B. D.: Anal. Chem., 24, 717 (1952a)
- 5) Griffon, H.: Ann. Pharm. Franc., B, 258 (1955)
- 6) Dewar, W. A. and Lenihan, J. A. Z.: Natur. Forsch., 10B, 343 (1956)
- 7) Kohn-Abrest, M. E.: Ann. Fals et Fraudes, 49, 407 (1956)
- 8) Michon, R.: Ann. Fals et Fraudes, 49, 284 (1956)
- 9) Jervis, R. E.: A. E. C. L., No. 301 (1956)
- 10) Heyndrickx, A. and Schanvliege, F.: Meded. Land bouw. Opzoeiking, 23, 795 (1958)
- 11) Lenihan, J. M. A. and Smith, H.: Proc. 2nd UN conf. on peaceful uses of atomic energy, Geneva, 26, 238 (1958)
- 12) Dale, B. M.: Diss. Abstr., 20, 472 (1959)
- 13) Smith, H.: Anal. Chem., 31, 1361 (1959)
- 14) 浜口博，黒田六郎，細原匡一：日本原子力学会誌，2，317 (1960)
- 15) Bowen, H. J. M. and Gibbons, D.: Radio-activation Analysis, Clarendon Press, Oxford (1963)
- 16) Perkons, A. K. and Jervis, R. E.: ICAA-11/54 (1965)
- 17) Lenihan, J. M. A. and Thomson, S. J.: Activation Analysis, 191, Academic Press, Lond. (1965)
- 18) Hamaguchi, H., Reed, G. W. and Turkevich, A.: Geochim. Cosmochim. Acta, 12, 337 (1957)