

機関番号：32670

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20510029

研究課題名(和文) 爪・毛髪中鉛同位体比及び多元素マッピングによるヒト金属暴露評価法の開発

研究課題名(英文) The Development of Source Identification of Metal Exposure by Lead Isotopic Measurement and Multielement Mapping in the Human Nails and Hair

研究代表者

今泉幸子 (IMAZUMI YUKIKO)

日本女子大学・理学部・助手

研究者番号：10247091

研究成果の概要(和文)：ヒトの爪・毛髪の LA/ICP-MS による鉛同位体比測定改良及び多元素マッピングについて検討した。毛髪のままの鉛同位体比測定により時間変動を追跡する可能性が示唆された。爪の鉛同位体比測定は毛髪に比べ精度が劣った。毛髪と爪の補完的利用が有用だと考えられる。毛髪試料中 Mg、Al、S、Cr、Co、Cu、Zn、Se、Pb のマッピングが可能であった。脱脂乳試料を標準物質とする半定量は十分な結果には至らなかった。

研究成果の概要(英文)：The measurements of the lead isotopic ratio and the multielement mapping of human nails and hair by LA/ICP-MS were investigated. The possibility that the time fluctuation of lead isotopic ratio is followed by the measurement of the nondestructive hair along the growth direction was able to suggested. The lead isotopic ratio of nail was inferior to hair in precision. It seems to be useful when the human hair and nail are used complementary. Mapping measurement of Mg, Al, S, Cr, Co, Cu, Zn, Se, and Pb were possible in the hair sample. The determination of contents of these elements in the human hair was unsuccessful using the skim milk powder sample as a standard reference material.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：環境化学・分析化学

科研費の分科・細目：環境学・環境影響評価・環境政策

キーワード：鉛同位体比・多元素マッピング・LA/ICP-MS・爪・毛髪

## 1. 研究開始当初の背景

環境中重金属のヒトへの影響についての知見を得るため、ヒトの暴露した重金属発生源の識別、ヒト体内での移動や濃縮過程を知る手段として、生体試料中の鉛同位体組成及び生体内重金属マッピングが有用と考えた。鉛が他の金属と同様の挙動を示す場合、鉛の発生源を識別することで、他の金属の発生源も

推察可能だと考えられる。鉛の発生源識別には鉛同位体比が有用とされている。生体内重金属マッピングを併用することで、鉛と他の金属の挙動を確認できると期待される。しかし、当時、マッピングに関する研究例はまだ少なく、また、その多くが病理的分野であり、環境化学の分野ではほとんど行われていなかった。そこで、ヒトへの非侵襲性試料であ

り、また、時間的変化の追跡が可能である爪・毛髪を試料とし、固体状態のまま測定できる LA/ICP-MS による鉛同位体比測定及び多元素マッピング測定法の開発を目指した。

## 2. 研究の目的

ヒトの重金属暴露評価に利用するため、LA/ICP-MS による、生体試料中鉛同位体組成測定法及び重金属マッピング法の開発を目的とし、主に分析化学的検討を行った。目的は大きく 2 つに分かれる。

第 1 は LA/ICP-MS による毛髪、爪中の鉛同位体比測定の精度の向上である。試料調製及び装置のメモリー効果、コンタミネーションの低減及びレーザー発振の安定性の改善により、精度の向上を目指した。第 2 は試料中の重金属マッピング法の確立である。LA/ICP-MS による重金属マッピングについては、現在、ほとんど報告例がない。そこで LA/ICP-MS により、爪・毛髪試料を用いマッピング可能元素の特定を行い、定量法の確立を目的とした。

## 3. 研究の方法

採取した毛髪試料はアセトン、次いで超純水中で各 10 分間攪拌洗浄した。これを 3 回繰り返したのち、アセトンで 10 分間洗浄、自然乾燥した。毛髪をそのまま束ねて毛根から毛先方向を合わせ隙間ができないよう綿密にまとめ、テープあるいは石英ガラス上に固定し LA/ICP-MS 用測定試料とした。また、毛髪を 200°C で 1 時間灰化し、これを 5mg はかり取り、30kgf/cm<sup>2</sup> の圧力で 5sec 加圧調製しペレットとした。さらに毛髪を酸素高圧燃焼法で分解、試料溶液とし、ICP-MS により鉛同位体比を求めた。燃焼ボンブには吸収液として硝酸溶液を加え、試料を密閉容器中 3MPa の酸素下で瞬時に燃焼させ溶液試料とした。

爪試料はアセトン、次いで超純水中で洗浄後、自然乾燥させた。ハンドプレスで約 5 秒間加圧し、テープの粘着面に貼り付け、さらに両端をテープで固定した。鉛同位体比の規格化には NIST SRM 981 Lead を硝酸で加熱溶解し硫化鉛へと変換したものに、適宜グラファイトを加え、ペレットに調製したものをを用いた。また、マッピング元素の定量には、NIST SRM 1549 non-fat milk powder 0.2g を、錠剤成形器で 100kgf/cm<sup>2</sup> で 10 秒間加圧成形したペレット状試料を標準物質とした。ICP-MS は Agilent7500ICP-MS を用い、RF パワー 1400W、アルゴンガス流量 1.2~1.3L/min とした。またレーザーは CETAC LSX200、Nd:YAG レーザー (266nm) を用いた。LA/ICP-MS 測定はレーザーエネルギー 1.7~3.3mJ、スポットサイズ 100 μm、レーザー照射回数 20Hz で

行った。鉛同位体比 <sup>206</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb、<sup>208</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb、<sup>208</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb を求めた。測定値は NIST SRM 981 により、補正式を用いて規格化した。

## 4. 研究成果

### (1) 毛髪試料の鉛同位体比測定

採取した毛髪 1 本での測定を試みたが、カウント値が低く、バラツキも大きかった。感度向上のためにレーザーエネルギーとレーザー照射径を大きくすると毛髪が切れてしまった。そこで毛髪 10 本を隙間のないよう毛根部分から方向を合わせて綿密に固定し測定試料とした。成長方向に沿って 3 カ所で鉛同位体比を測定した。ペレットの場合は一定面積をスキャンして測定を行ったが、束にした場合はシングルポイント測定を行った。シングルポイント法は 1 カ所をレーザー照射するため測定の積算時間が短くなり、スキャン法に比べ、多少精度が劣った。毛根部分、中間部分、毛先部分の 3 カ所について、相対標準偏差 1.2~6.5% で、<sup>206</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb はそれぞれ 1.207、1.163、1.167、<sup>208</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb は 1.959、2.110、2.063、<sup>208</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb は 2.351、2.398、2.388 が得られた。年齢や環境の異なる試料についても同様の結果が得られた。測定の精度は毛髪試料の調製、固定法が影響した。成長方向に沿っての測定で有意な差は見出せなかった。

### (2) 爪試料の鉛同位体比測定

爪は厚みがあり、また、表には傷がつく場合もあるので、表裏両面の測定を行った。爪の測定可能部分はかなり狭く、中心部分を直線上にレーザー照射した。鉛同位体比は相対標準偏差 2~6.2% で、表、裏についてそれぞれ <sup>206</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb は 1.113、1.204、<sup>208</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb は 2.087、2.137、<sup>208</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb は 2.474、2.438 となり、爪の表裏とも有意な差は見られなかった。しかし、爪を試料とする場合、試料サイズが小片となり、測定は親指の爪などに限られた。

### (3) 爪と毛髪の鉛同位体比

毛髪、爪について居住地や年令の異なるヒト試料の鉛同位体比を求めた。まず同一人の毛髪を溶液、ペレット、そのまま束にした試料について、各方法の妥当性を確認した。相対標準偏差は溶液試料について 1~2%、灰化ペレット試料で 2~3%、分解せず 10 本を束にした試料で 2~6.5% および簡易プレスした爪試料で 2~6.2% となり、同位体比は <sup>206</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb はそれぞれ 1.148、1.142、1.141、1.169、<sup>208</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb は 2.162、2.118、2.086、2.130、<sup>208</sup>Pb/<sup>207</sup>Pb について 2.482、2.383、2.159、2.303 が得られた。4 種類の方法について鉛同位体比はほぼ同じ値を示した。毛髪標準試料を用い、溶液試料とペレット試料の

鉛同位体比は既に文献値とほぼ一致することが確かめられており、これらの方法の妥当性が確認された。束にして固定する方法はペレット法に比べ、手間、時間とも大幅に短縮できたが、精度は下がった。毛髪は同一人から同時期に数回分の試料採取が可能であるが、爪は限られた試料しか得られず、毛髪と爪の鉛同位体比の結果を補完的に用いることが妥当だと考えられる。毛髪を分解または灰化した試料の測定に比べ、毛髪そのままの測定精度は劣ったが、成長方向つまり時間に沿った測定の利点は大きく、簡便な測定で時間変動の追跡が可能だと考えられる。ヒト周囲の環境に大きな変化がない場合は鉛同位体比の明確な区別は認められなかった。鉛同位体比は原料鉱物の同位体比を継承し原料によって決定されるため、周囲の環境中の僅かな変化では同位体比は変わらないが、他国人の同位体比と比較すると明らかに異なっている。成長方向での数カ所の測定により、他地域での生活、外国製品からの鉛摂取などによる一定以上の変動が生じた場合は、それらを識別し摂取の時期を推定できる可能性が示唆された。本法の利用は条件が限定されるが、摂取時期の情報を提供できる点で有用であると考えられる。

#### (4) 毛髪試料のマッピング

まずマッピング可能な元素を特定した。鉛同位体比測定と同様に毛髪を隙間ないように綿密に固定した試料を調製した。レーザーが毛髪に確実に照射されたことを判別するため、毛髪はアルミ箔上に固定した。成長方向に対し直角に横切る方向にレーザーを照射し多元素の時間分析測定を行ったところ、レーザーが毛髪に照射されるときは Al のカウント数が大きく減少し、Mg、Al、S、Cr、Co、Cu、Zn、Se、Pb のカウント数の変動が見られた。成長方向にレーザー照射を行ったところ、同様にそれぞれの元素について毛髪中の一部分にピークが出現した。両方向ともピーク出現の位置や出現元素の種類は試料により異なった。これらの元素のピークは常に観察された訳ではなく、毛髪によって出現する元素は異なった。また、常に同様の傾向を示した訳ではないが、Mg と Al は比較的同じ位置にピークを示す傾向が見られた。また、Cr、Cu、Co の3種類についても、これらの元素のピークが出現した場合は同じ位置にピークを示す傾向が観察された。さらにこれら5種類が同じ位置にピークを示す場合もあったが、特にこの2組の組み合わせはそれぞれ同時にピークを示す傾向が多く見られた。毛髪について粉碎していない毛髪標準試料がないため、それぞれの元素マッピングについて、標準試料による確認は不可能だが、これらの元素は同一人の毛髪試料については、

出現元素や位置がほぼ同じ傾向を示し、異なる試料については出現の位置や種類が異なったことにより、マッピングが可能であると決定した。ヒトの金属摂取について、種類や摂取時期の情報が得られる可能性が示唆された。しかし、Mg、Al と Cr、Cu、Co の出現の様子からも推測されるように、摂取してから毛髪に到達するまでの経路は元素によって異なると考えられ、摂取時期を推測するには摂取から出現までの経路を検討する必要がある。また鉛と同様の挙動を示す元素を特定できなかったため、鉛同位体比と関連付けて元素の発生源を識別する可能性を示すにはデータが不十分であった。S、Zn については試料によりカウント数に大きな変動は見られなかった。毛髪の主成分はタンパク質でその中でも含硫アミノ酸の含有量が高いためだと考えられる。また、Zn も毛髪中に多く含まれる元素だとされる。非侵襲性試料である毛髪により、ヒトの金属元素摂取を追跡できる可能性が示唆されたことは、環境中金属元素暴露の情報を知る上で重要であると考えられる。

(5) 毛髪中でのマッピング可能な元素 Mg、S、Cr、Cu、Zn、Se、Pb について標準試料を用いて定量の検討を行った。毛髪成分で Zn は毛髪の部分によらずカウント数にほとんど変動が見られなかったため、Zn を基準の元素として、比計算による半定量を試みた。毛髪標準試料として BCR CRM 397 を用い、定量の標準(参照)試料としての有用性を検討した。毛髪標準試料 0.2g を、錠剤成形器で 100kgf/cm<sup>2</sup> で 10 秒間加圧成形しペレット状試料を調製しスペクトル測定を行ったところ、認証値の示されている Mg、Cu、Zn、Se、Cd、Hg、Pb について、相対標準偏差 7~20% でカウント値の平均値が得られた。しかし、毛髪標準試料は扱いが非常に困難であったため、生体試料で対象元素を多く含む脱脂乳を標準試料として用いた。NIST SRM 1549 を毛髪標準試料と同条件でペレット状試料とし、ICP-MS でスペクトル測定を行った。Mg、Cr、Cu、Zn、Se、Pb について、5 回測定の相対標準偏差 2.5~12% でカウント数の平均値が得られた。毛髪そのままの状態での標準試料はないため、ペレット状脱脂乳標準物質を参照物質として、ペレット状毛髪標準試料について定量を行ったがバラツキが大きく安定した定量値を得る迄には至らなかった。本法の定量化は非常に重要であり、一層の検討が求められる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計4件)

①小野めぐみ、LA/ICP-MSによる土壤中金属元素の同時定量、日本分析化学会第59年会、2010年9月17日、東北大学

②今泉幸子、LA/ICP-MSによるヒト試料中鉛同位体比測定、日本化学会第90春季年会、2010年3月27日、近畿大学

③佐藤文香、LA/ICP-MSによる土壤中金属元素の定量、日本分析化学会第58年会、2009年9月26日、北海道大学

④今泉幸子、LA/ICP-MSによる毛髪・爪中の鉛同位体比測定、日本分析化学会第57年会、2008年9月12日、福岡大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

今泉 幸子 (IMAIZUMI YUKIKO)  
日本女子大学・理学部・助手  
研究者番号：10247091

### (2) 研究分担者

蟻川 芳子 (ARIKAWA YOSHIKO) H20  
日本女子大学・理学部・教授  
研究者番号：00060666

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし