

日大生産工(院)○小屋原和彦 白鳥製薬 三品亜衣
東邦大理 西垣敦子 日大生産工 齊藤和憲 渋川雅美

[緒言]

アルミニウムは自然界において鉱物や土壌, 水, 大気中の粉塵, 植物, 動物体内などに, さまざまな形態で存在しており, アルミニウムを大量に摂取すると神経毒性を示し, 中枢神経障害によって記憶障害を引き起こすことが報告されている¹⁾²⁾。そのため医学・生化学・環境科学の諸分野で, 血液や尿などの生体試料や医薬品, 土壌・河川水などの環境試料中に溶解した極微量のアルミニウムを迅速かつ正確に測定することが求められている。これまで本研究室では, 錯形成試薬として 5 - スルホ - 8 - キノリノール (HQS) を用いた吸光検出逆相イオン対 HPLC により, 水道水中の ppb レベルのアルミニウムの定量³⁾, 及び蛍光検出逆相イオン対 HPLC 法による河川水及び尿中の極微量のアルミニウムの定量⁴⁾に成功した。

本研究では, この方法の尿及び注射剤中の微量アルミニウムの定量への適用を目的として検討を行った。

[実験]

大気中からのアルミニウムの汚染を防ぐため, 全ての実験をクラス 100 のクリーンルームで行った。また, ガラス器具からのアルミニウムの汚染を

防ぐため, 溶液調製には全てポリプロピレン製の容器及び器具を使用した。蛍光検出器は SHISEIDO 製 NANOSPACE SI-2 を使用し, 励起光波長を 366 nm, 蛍光検出波長を 510 nm とした。カラムは東京化成製 Kaseisorb LC ODS 2000 (4.6 mm I.D. × 150 mm) を使用し, 溶離液には 70 mM NaCl, 7 mM TBABr, 0.3 mM HQS 及び 10 mM Bis-Tris 緩衝液 (pH 7.0) を含む 18% (w/v) アセトニトリル-水混合溶液を使用した。アルミニウム標準溶液は, 原子吸光分析用アルミニウム標準溶液 (1000 ppm) を溶離液で希釈し用いた。尿は硝酸を 0.1 M になるように添加しメンブランフィルターでろ過後, マイクロウェーブ試料分解装置を用い分解温度を 230℃, 分解時間を 30 分として前処理し完全乾固した。乾固後, 残渣を 1 mM 塩酸 1 ml で溶解した。これを溶離液で希釈して分析試料とした。また, 注射剤には 5% ブドウ糖溶液を用いた。これらの溶液をすべての溶離液成分の濃度を 2 倍にした溶液と 1:1 で混合し測定を行った。

[結果及び考察]

尿試料について測定した結果, 図 1 (1) に示すクロマトグラムが得られた。尿の前処理が不十分であったため

Determination of Trace Amounts of Aluminum in Urine and Injections by Reversed-Phase Ion-Pair HPLC with Fluorescence Detection

Kazuhiko KOYAHARA, Ai MISHINA, Atsuko NISHIGAKI, Kazunori SAITOH
and Masami SHIBUKAWA

尿中に共存する有機物の影響によりクロマトグラムが乱れ，7～8分に溶出するアルミニウムのピークと夾雑物のピークが重なりアルミニウムの定量を行うことができなかった。このことから尿中の共存物を分解するには，硝酸-過酸化水素による酸処理を行う必要があることが示唆された。

また，注射剤である5%ブドウ糖溶液を測定した結果（2）に示すクロマトグラムが得られ，アルミニウムのピークを検出することができなかった。これは，注射剤が生理食塩水と同じ約0.9%の濃度の塩（NaCl）を含んでいるためであると考えられる。そこで，塩濃度を0.9%に調製した溶離液を用いて5%ブドウ糖溶液を測定した。その結果を（3）に示す。塩濃度が高くなったためアルミニウムの溶出が早まり3～4分にアルミニウムのピークが検出された。これについて定量を試みたところ，絶対検量線法で11.4 ppb，標準添加法で10.8 ppbとよく一致した値が得られた。

【参考文献】

- 1) T.P. Flaten, A.C. Alfrey, J.D. Birchall, J. Savory, R.A. Yokel: J. Toxicol. Environ. Health, **48**, 527 (1997)
- 2) World Health Organization. Environmental Health Criteria 194. Aluminium. Geneva: WHO (1997)
- 3) 岩野真希, 平野愛弓, 西垣敦子, 渋川雅美: 分析化学, vol. 52, No. 9, 719 - 724 (2003)
- 4) 小屋原和彦, 三品亜衣, 西垣敦子, 齊藤和憲, 渋川雅美: 分析化学会 第54年会要旨集

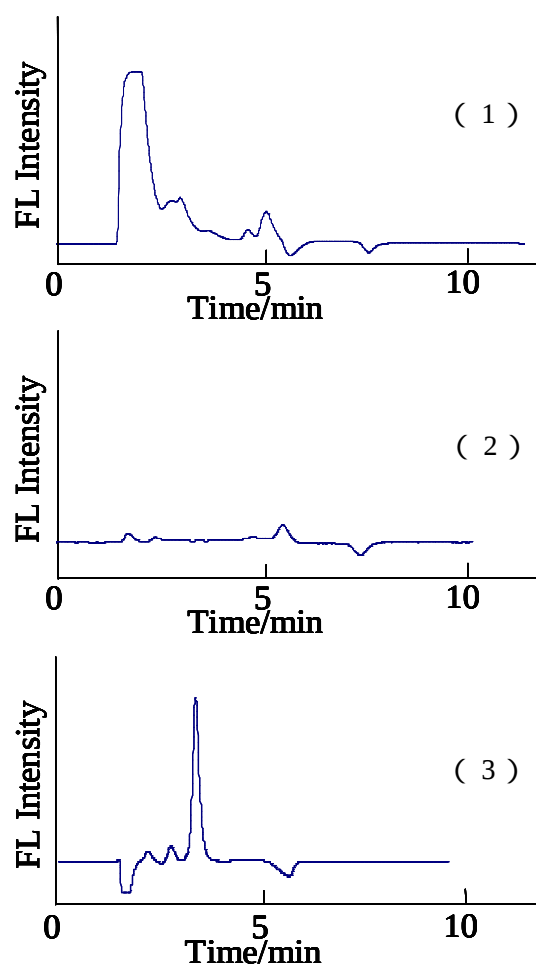


図1 各試料溶液のクロマトグラム

（1）尿*（2）5%ブドウ糖溶液*

（3）5%ブドウ糖溶液**

* 溶離液：70 mM NaCl, 7 mM TBABr, 0.3 mM HQS, 10 mM Bis-Tris 緩衝液 (pH 7.0), 18% (w/v) アセトニトリル

** 溶離液：154 mM NaCl, 7 mM TBABr, 0.3 mM HQS, 10 mM Bis-Tris 緩衝液 (pH 7.0), 18% (w/v) アセトニトリル