

# 微量ヒ素の定量法に関する検討および 奈良県住民の血液中ヒ素濃度\*

池田 憲広<sup>1)</sup>・市村 国俊<sup>2)</sup>・兎本 文昭<sup>3)</sup>・田中 健<sup>4)</sup>  
笠野 光夫<sup>5)</sup>・溝渕 膺彦<sup>6)</sup>・阪口 重男<sup>7)</sup>・板野 龍光<sup>8)</sup>

## 1. はじめに

水俣病以後、環境内重金属の影響がにわかに重視されるようになり、水銀、カドミウム、鉛、クロム、セレン、ヒ素等が問題とされている<sup>1)</sup>。特にヒ素はヒ素化合物として地殻中に広く分布し、また医薬、農薬、顔料、その他各種工業に多く利用されている。従って欧米はもとより日本においてもヒ素の中毒事例が偶発しているが<sup>2)</sup>、正常、病的を問わず生体試料についてのヒ素に関する報告は少ない。これは水銀あるいはカドミウムのように微量の測定が困難だったからであろう。

現在、測定法の開発<sup>3)~6)</sup>とともに、血液中のヒ素のバックグラウンド値の把握が急がれている。筆者らは最近注目され始めた還元気化原子吸光法を検討し、奈良県民330名についてその血中ヒ素濃度を測定したので報告する。

## 2. 微量ヒ素の定量法

### 2.1 試薬

ヒ素(Ⅲ)標準液：1000  $\mu\text{g As/ml}$  を使用のつど適宜希釈して用いた。(20 w/v %) 塩化第1スズ塩酸溶液：塩化第1スズ(2水塩) 20g を濃塩酸に溶かして100ml とした。(20 w/v %) ヨウ化カリウム溶液：ヨウ化カリウム 20g を水に溶かして、100 ml とした。亜鉛末懸濁液：亜鉛末 50g に水 50ml を加え、常時マグネティックスターラーで攪拌、懸濁させたものを使用した。試薬

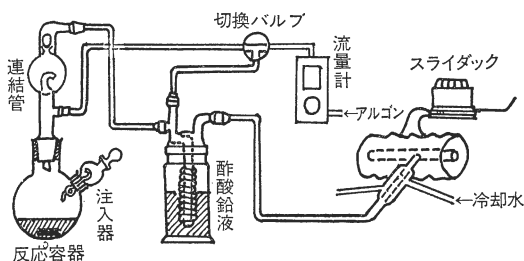


図1 ヒ化水素発生装置の概略

はいずれも和光製の原子吸光分析用および試薬特級を用いた。

### 2.2 装置

原子吸光分析装置：日立 518 型原子吸光分光光度計および日立製中空陰極ランプを使用した。なおヒ化水素発生装置の概略を図1に示した。

石英管加熱部：大科電器KK製、高温用石英マントルヒーターを使用した。

### 2.3 標準操作および測定条件

ヒ素(Ⅲ) 0.1  $\mu\text{g}$  をとり、濃塩酸 5ml, (1+1) 硫酸 2ml, 20 w/v % ヨウ化カリウム溶液 1ml を加えてよく混和した。さらに 20 w/v % 塩化第1スズ塩酸溶液 1ml を加えて混和したのち、水で全量を 20ml とし、10分間静置した。これをヒ化水素発生装置(図1)の反応容器に移し、反応容器から原子化部に至る経路を流量毎

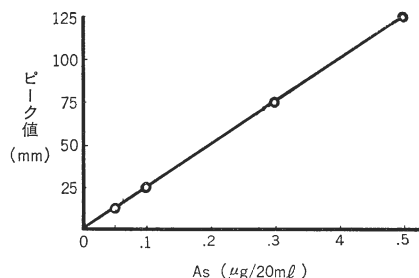


図2 検量線

\* On the Determination of Trace Amount of Arsenic in Whole Blood at Populations Nara Prefecture

1) Norihiro IKEDA, 2) Kunitoshi ICHIMURA  
3) Fumiaki UMOTO, 4) Takeshi TANAKA,  
5) Mitsuo KASANO, 6) Munehiko MIZOBUCHI,  
7) Shigeo SAKAGUCHI, 8) Tatsumitsu ITANO.  
(奈良県衛生研究所) Nara Prefectural Institute of Public Health.

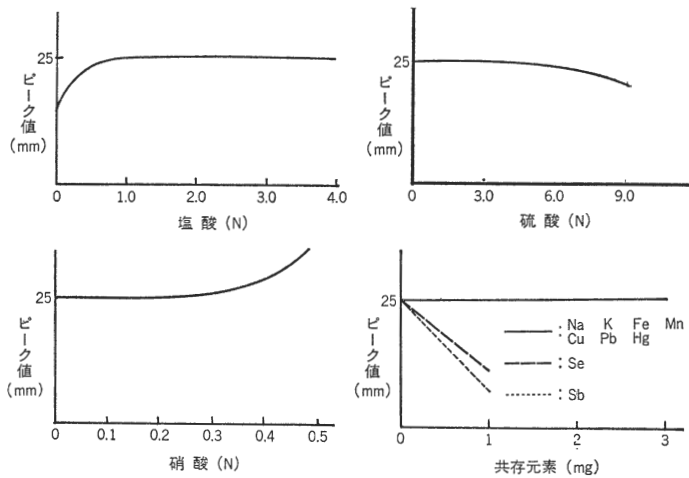


図3 各種酸濃度および共存元素の影響

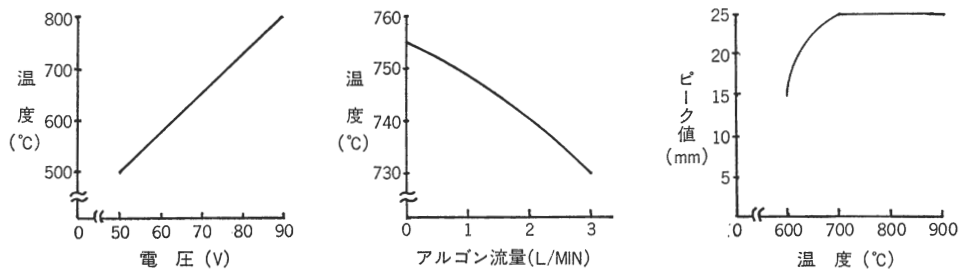


図4 電圧, アルゴン流量・ピーク値と石英管部の温度

分2 lのアルゴンを1分間通じてエージングを行った。その後マグネティックスターラーで試験液を攪拌しながら注入器から亜鉛末懸濁液1 mlを注入し、反応容器内で1分間反応させた。発生したヒ化水素をアルゴンとともに700°C以上に加熱した石英管加熱部に導き、波長193.7 nmで原子吸光測定を行った。測定条件はスリット幅0.18 nm, ランプ電流15 mA, 記録計レンジは20 mV, チャートスピードは毎分5 mmであった。

#### 2・4 検量線

標準操作に従って得た検量線を図2に示した。ヒ素0.05~0.5  $\mu\text{g}/20\text{ ml}$ の濃度範囲できわめて良好な直線性が得られた。

#### 2・5 各種酸濃度および共存元素の影響

標準操作法に従って、ヒ化水素を発生させるさいの酸濃度の影響を塩酸、硫酸、硝酸について、またヒ化水素への還元過程における共存元素の影響を検討し、その結果を図3に示した。ヒ素0.1  $\mu\text{g}/20\text{ ml}$ に対し、塩酸、

硫酸はともに1.0~3.6 Nの範囲で影響はなく、しかし硝酸は0.2 N以上で正の影響が認められた。同様にヒ素0.1  $\mu\text{g}/20\text{ ml}$ に対し、K, Na, Fe, Mn, Cu, Pb, Hgは3 mgの共存では影響がなく、Se, Sbについては負の影響がみられた。

#### 2・6 石英管加熱部の温度

ヒ化水素が原子状ヒ素に熱解離する時の石英管内の温度条件を検討し、その結果を図4に示した。測定は石英管の中心部にクロメル・アルメル熱電対を設置して行った。加電圧と温度の関係では約80 Vでヒ化水素の解離に要する700~750°Cを得ることができた。ピーク値は700°C以上で安定した。一方管内の温度はアルゴン流量の増加により約10°C/l/minの割合で下降することが認められた。

#### 2・7 亜鉛末懸濁液の影響

特級亜鉛末には不純物としてヒ素を含有することが多いので本操作法では、原子吸光分析用亜鉛末を用いた。

表1 性別・年齢別血液中砒素濃度

年 令	男 性		女 性		合 計	
	<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$
～19	0		6	0.037±0.021	6	0.037±0.021
20～29	44	0.021±0.020	67	0.034±0.022	111	0.029±0.022
30～39	33	0.024±0.022	55	0.011±0.015	88	0.016±0.019
40～49	30	0.023±0.023	50	0.014±0.015	80	0.017±0.019
50～59	14	0.035±0.023	23	0.012±0.012	37	0.020±0.020
60～64	4	0.009±0.006	4	0.012±0.007	8	0.010±0.006
合 計	125	0.023±0.021	205	0.020±0.020	330	0.021±0.021

亜鉛末懸濁液の添加量は0.8～3mlの範囲で一定した測定値が得られたので、本操作では1.0mlを用いた。

### 2・8 分析法の精度, 感度

ヒ素0.1 $\mu\text{g}$ を含む標準液についての10回繰返しによる変動係数は2.1%であった。また、感度は1%吸収で $6 \times 10^{-4} \mu\text{g/ml}$ であった。

## 3. 奈良県住民の血液中ヒ素濃度

### 3・1 調査方法

昭和52年10月から昭和53年8月の期間内に奈良県に居住する健康人、男性125名、女性205名、計330名から血液を採取した。年齢は19才から64才までであり、男性では事務系公務員が、女性では主婦および女子短大生が大半を占めていた。

### 3・2 血液試料の測定

試料は凝固防止剤として血液10ml当りヘパリン0.2mlを添加し、肘静脈から採血した。ヒ素測定用として全血約1gを50mlのケルダールフラスコに精秤し、硝酸10mlおよび硫酸2mlを加え、加熱分解を行った。分解後50mlのビーカーに移し入れ、ホットプレート上で硫酸白煙処理を行い、放冷後、20mlのメスフラスコに移し入れ、蒸留水を用いて定容とし、試験液とした。測定は試験液10mlを取り、2・3に準じて行った。

表2 都市部, 山間部住民の血液中ヒ素濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )

都 市 部		山 間 部	
<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$
186	0.020±0.018	77	0.021±0.021

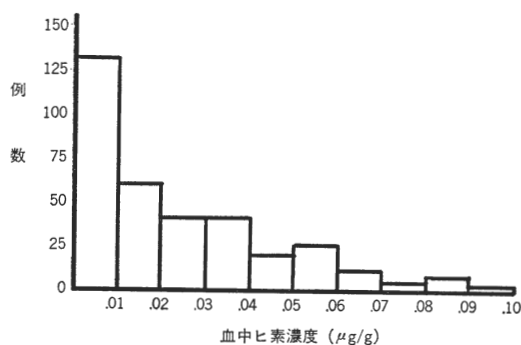


図5 県内居住者の血中ヒ素濃度のヒストグラム

### 3・3 精度および回収率

血液試料についての変動係数は5回繰返しで3.5%であった。また、血液試料10mlに対し、ヒ素0.1 $\mu\text{g}$ を添加し回収率を求めたところ93%であった。

### 3・4 成 績

被検者330名について、血液中ヒ素濃度の性別、年齢別平均値を表1に、そのヒストグラムを図5に示した。濃度範囲は0.001～0.099 $\mu\text{g/g}$ で、男性の平均値は0.023 $\mu\text{g/g}$ 、標準偏差は0.021 $\mu\text{g/g}$ 、女性では、それぞれ0.020 $\mu\text{g/g}$ 、0.020 $\mu\text{g/g}$ であり、総平均値は0.021 $\mu\text{g/g}$ 、標準偏差0.021 $\mu\text{g/g}$ であった。男性では20才から59才にかけて年齢とともにわずかながら増加傾向が認めら

表3 菟田野地域及び対照地域住民の血液中ヒ素濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )

菟田野地域		対照地域(奈良市)	
<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$	<i>n</i>	$\bar{x} \pm \sigma$
31	0.033±0.020	42	0.017±0.017

れ、女性では20才代が高く、30才から59才にかけて一定した値を示した。その年令幅での男女間の比較では男性の方がやや高い傾向が認められた。そして0.02  $\mu\text{g/g}$  以下の者が189名と過半数(57.2%)を占め、0.05  $\mu\text{g/g}$  以上の者は41名(12.4%)と少なかった。

次に長期間都市部に居住している者186名と、生来山間部に居住している者77名の濃度を表2に、また、ヒ素の環境汚染が疑われる菟田野地域と対照地域(奈良市)を表3に示した。表より都市部と山間部では有意差が認められなかった。一方、表3の菟田野地域と対照地域(奈良市)でも著しい差が認められなかった。

#### 4. 考 察

重金属による人体汚染の指標に血液、尿、毛髪等をあげ得るが、これらに含まれている重金属量は微量であるため、測定にあたっては高感度の分析法が要求される。ヒ素の測定に関してはこれまでグートツァイト法、JIS法(モリブデンブルー法、ジエチルジチオカルバミン酸銀法)<sup>7)</sup>等が用いられてきたが、これらの方法も生体試料では感度的に不充分であり、また、試料採取量等に問題が残されている。そこで筆者らは日立208-0025ユニットに改良を加えフレイムレス原子吸光法による測定法を発表したが<sup>8,9)</sup>、本法はJIS法に比べ10倍以上の感度を有し、しかも血液の場合0.5~1.0gの試料で行うことができ、生体試料の分析にきわめて有効であった。

ヒ素は体内でSH系の酵素作用および細胞の呼吸作用も阻害するが、5価のものより3価のものが毒性が強い。慢性的には血液毒として働き、貧血、白血球減少を、肝に対しては一次的に出血、壊死、脂肪変性をきたし肝硬変症にも進展するといわれ、経気道的暴露では慢性気管支炎を併発する。特異なものとして皮膚症状のほかに皮膚、肺、肝等への発癌性が懸念されている。

ヒ素の急性ないし亜急性毒性は国の内外を問わず発生しており、中でも森永ヒ素ミルク中毒事件が有名である。慢性中毒または環境被害としては、昭和35年に新潟県北蒲郡中条町で約60名の患者を出している。これは三硫化ヒ素製造工場の廃水が地下に浸透し、地域住民が井戸水として約3年間それを飲用してきたためで、井戸水のヒ素濃度は1~2ppm、最高3ppmに達していたとされている<sup>2)</sup>。最近では宮崎県の土呂久鉦山事件があり、地域住民に貧血、皮膚の角化、色素沈着、脱毛、爪の変化等の諸症状が出ている<sup>10)</sup>。また、海外では台湾の南西地域において、ヒ素が高濃度に含まれている掘抜き井戸水を飲用していた住民に黒足病や皮膚癌が多発している<sup>11)</sup>。

ヒ素は微量(0.003ppm~0.01ppm)ながら食品中に

ほぼ普遍的に存在する<sup>12)</sup>。欧米人の1日摂取量は約1mgとされ、堀内(1967)は日本人の1日体内摂取量は70~170 $\mu\text{g}$ とみている。これよりはるかに大量のヒ素が摂取されて中毒を起すことになるが、消化管のみならず、経気道的、経皮的吸収のあることにも注意を払う必要がある。

ヒ素の蓄積については、Kieseは動物実験の成績から脾、肝、骨髓、赤血球、毛髪に多く、その他の臓器ことに血漿中にはきわめて少ないと結論している<sup>13)</sup>。人体についてはヒ素はあらゆる臓器に蓄積され、特に骨、毛髪、爪に集中する。このうち、毛髪は既往のヒ素暴露状況をよく反映し、毛髪の長さを分割して測定することにより、過去の吸収の時間と程度が推定されるとさえいわれている。ヒ素の排泄は大部分が尿、一部は尿を通じて行われるがその速度は遅い。しかし、尿中のヒ素量は中毒症状と必ずしも一致しないが、急性中毒に際しては有効な指標となる。

血液試料の意義であるが、ヒ素は暴露後24時間以内に血液から消失すると坂部(1973)は述べており、Wagnerらも中毒症状と血液中ヒ素との間に相関を認めていない<sup>14)</sup>。一方、Mealayらは静注された<sup>74</sup>Asが200日間も血液中に残存していることを証明<sup>15)</sup>し、浦久保も同じく経口的に投与された<sup>74</sup>Asが長期間血液中に滞留することを認めている<sup>16)</sup>。さらに、山内らは亜硫酸を扱う作業者の全血中ヒ素が0.033 $\mu\text{g/g}$ であったのに対して、暴露歴のない対照者では0.007 $\mu\text{g/g}$ と、職業的暴露者の値が1オーダー高かったことを報告している<sup>17)</sup>。

血中ヒ素濃度値に関しては他に、堀内が健康人146例について0.025~0.05ppmと述べ、高木らは福井県民について、平均値0.04ppmを報告している<sup>18)</sup>。また、千葉らが宮城県民について行った調査では0.017~0.044ppm<sup>19)</sup>、Wagnerらの米国での調査では0.01~0.13ppmとしている<sup>14)</sup>。筆者らが奈良県民について行った調査では330名の平均は0.021ppmであった。また、その範囲は0.001~0.099 $\mu\text{g/g}$ で、20才代女性と50才代男性にやや高い傾向があり、都市部・山間部居住者の比較においては差を認めなかった。今回対象としたものにはヒ素の職業的暴露がなく、平均的奈良県民の値を示し得たものと思う。

現在、奈良県にはヒ素の汚染を招くような産業活動はまずないといってよい。しかしながら菟田野地域は古来水銀産出地として知られ、最近までY鉦業所が水銀の採掘、精錬を行ってきた。これが操業中の昭和39年から数年の間、輸入した原鉦にヒ素が多く含まれ、附近の樹木、農作物に被害を生じ、鉦滓の埋立、田畑の表土除去、客土といった処置のとられたことがある<sup>20)</sup>。当時に

においては中毒に至るような人的被害がなかった。今回の調査でも血液中ヒ素については他地域住民との比較において僅かに高い値を示しているが、著しい差異が認められなかった。今後さらに例数を増し、頭髪等の調査も併せて行い、実状を把握したい。

## 5. おわりに

JIS 法によって血液中のヒ素を測定することは感度の点から困難である。筆者らは石英管加熱を利用したフレームレス原子吸光法により、0.5~1.0g と少量の血液で、しかも精度よく微量のヒ素を定量することができた。この方法によれば奈良県住民330名(男性125名, 女性205名)の全血中ヒ素濃度は0.001~0.099  $\mu\text{g/g}$  の間に分布し、平均値は0.021  $\mu\text{g/g}$ 、そして男性では50才代, 女性では20才代にやや高い値を示したが、地域別において明らかな差異を認めなかった。

### 一引用文献一

- 1) 和田攻：中外医薬，重金属<1>総論，Vol. 27, No. 3, pp. 90—93, 1974。
- 2) 寺田秀夫ほか：慢性ヒ素中毒症の臨床的観察（第1・2報），日本臨床，Vol. 18, No. 10, pp. 2394—2403, No. 11, pp. 2569—2578, 1960。
- 3) 山本勇麗ほか：亜鉛末錠剤・ヨウ化カリウム・塩化第1スズ混合還元剤を用い，ヒ素水素-アルゴン水素フレーム系による水中のppbレベルのヒ素の原子吸光分析法，JAPAN ANALYST, Vol. 22, pp. 876—881, 1973。
- 4) 中村靖ほか：アルシン・原子吸光法による排水および土壌中の微量ヒ素の定量，JAPAN ANALYST, Vol. 22, pp. 1543—1548, 1973。
- 5) Darryl D. Siemer et al : Optimization of Arsenic Generation in Atomic Absorption Arsenic Determination. Anal. Chem., Vol. 48, No. 6, pp. 836—840, 1976。
- 6) 黒川道子ほか：ヒ素およびアンチモンの環境汚染に関する衛生化学的研究（第1報）亜鉛カラムを用いるヒ素の原子吸光光度法，衛生化学，Vol. 21, No. 2, pp. 77—83, 1975。
- 7) JIS K 0102, pp. 139—142, 1974。
- 8) 市村国俊，池田憲広ほか：石英管加熱を用いたフレームレス原子吸光法による微量ヒ素の定量，日本公衛誌，Vol. 24, No. 10（講演集），p. 770, 1977。
- 9) 市村国俊，池田憲広ほか：石英管加熱を用いたフレームレス原子吸光法による微量ヒ素の定量，第15回全国衛生化学技術協議会年会講演要旨，pp. 60—61, 1978。
- 10) 環境庁：和昭51年版環境白書，pp. 277—278, 1976。
- 11) Wen-Ping Tseng : Effects and Dose Response Relations of Skin Cancer and Blackfoot Disease and Arsenic. Environmental Health Perspectives, Vol. 19, pp. 109—119, 1977。
- 12) 細見裕太郎ほか編：「有害元素マニュアル」pp. 41—209 中央法規，東京法規，東京，1978。
- 13) Kiese M. : 文献2)より引用。
- 14) Wagner, S. L. Arsenic in Blood and Urine of Forest Workers, Arch. Environ. Health, Vol. 28, pp. 77—79, 1974。
- 15) Mealay J. J. et al. : 文献2)より引用。
- 16) 浦久保五郎ほか：文献2)より引用。
- 17) 山内博ほか：亜ヒ酸暴露作業員および魚介類多量摂取者の生体試料中ヒ素量について，聖マリアンナ医大誌，Vol. 5, No. 4, pp. 512—520, 1977。
- 18) 高木靖弘ほか：フレームレス原子吸光法を用いた生体試料（毛髪，全血）中の極微量ヒ素の簡易分析法，第12回全国衛生化学技術協議会総会講演要旨，pp. 47—48, 1975。
- 19) 地方衛生研究所全国協議会編：血液，尿等の重金属及びウイルス抗体価から見た地域住民の健康評価に関する研究（厚生省特別研究），p. 14, 1977。
- 20) 辻元正ほか：水稻に対する砒素鉍害に関する調査研究，（奈良県農業試験場研究報告）No. 2, pp. 56—66, 1968。