短 報

血液中鉛定量法としてのフレイムレス原子
吸光法におけるオートサンプラーの有用性Applicability of the Auto-Sampling System
in Blood Lead Determination by Flameless
Atomic Absorption Spectrophotometry

血液中鉛定量は作業環境中の鉛暴露の重要な指標である。血液中鉛定量法としては以前より有炎原子吸光法（フレイム法）が使用されてきた。フレイム法は試料調製に時間を要し、操作も繁雑である¹⁾。そのため最近無炎原子吸光法（フレイムレス法）が広く用いられるようになってきた^{1,2)}。フレイムレス法はフレイム法に比べ操作が容易であり、少量の試料で高感度で測定ができるという特徴をもっている¹⁾。しかしフレイムレス法は試料をマイクロピペットを用いグラファイトチューブ中へ注入するサンプリング操作に熟練を要し、精度のよい信頼できる結果を得るにはより多くのサンプリング回数を必要とする。今回われわれはオートサンプラーを用いる方法（オート法）とマイクロピペットを用い手で注入する方法（手法）との比較を行なった。またオート法についてターンテーブルに試料をのせ連続運転を行ない、試料を放置した場合影響があるかどうか、ピペットの自動洗浄は完全かどうかなどの面についてその実用性を検討した。

実験方法

1. 試 薬

鉛標準液は原子吸光用標準液（硝酸鉛，1,000 ppm，和光純薬製）を用い，用時精製水により希釈した。Triton X-100 は和光純薬製を用いた。なお本実験に用いた精製水はオートスチル・WAU-12 型（ヤマト科学社製）を用いて精製したものである。

2. 測定方法

Fernandez³⁾の方法を修正して用いた。すなわち正常人血液 0.5 ml に精製水あるいは硝酸鉛水溶液 0.5 ml を加え十分かくはんし，これに 0.1% Triton X-100 を 4.0 ml 加えてよく混和したのち，オートサンプラーあるいはエッペンドルフ・マイクロピペットを用いて 20 μ l をグラファイトチューブ中心の小穴に注入した。検量線は正常人血液に各種濃度の硝酸鉛水溶液を加えたものを用いて作製した。

3. 測定条件

Perkin-Elmer 370 型原子吸光光度計に Perkin-Elmer

Table 1. Accuracy and precision of the blood lead values by the manual sampling method and the automatic sampling method.

Sample		Manual	Automatic
Blood A	Mean $\pm$ S.D.*	13.1 $\pm$ 1.4	12.0 $\pm$ 0.5
	C.V.(%)	10.9	4.4
Blood B	Mean $\pm$ S.D.*	30.5 $\pm$ 1.6	31.9 $\pm$ 0.7
	C.V.(%)	5.3	2.1
Blood C	Mean $\pm$ S.D.*	50.9 $\pm$ 1.8	50.9 $\pm$ 0.9
	C.V.(%)	3.5	1.9

* μ g/100ml;n=20

HGA-2200 型フレイムレスアトマイザーを接続し，Hitachi 056 型レコーダーを用いた。光源として鉛中空陰極ランプ（電流：10 mA）を用い，波長を 283.3 nm に設定した。バックグラウンド補正は重水素ランプにより同時補正した。アトマイザー部の設定は乾燥を 100°C，40 秒，灰化を 475°C，50 秒，原子化を 2,200°C，5 秒間行なった。Controller Front Panel の Flow Time を Normal 7 に設定し，Flowmeter を 10 division にセットすることにより原子化時に 20 ml/min の窒素ガスを流した。なおグラファイトチューブはパイロコーティングチューブを使用した。オートサンプリング装置として Perkin-Elmer AS-1 型オートサンプリングシステムを用い，サンプリング量を 20 μ l に設定した。

結果および考察

1. 手法とオート法の精度の比較

手法とオート法により高中低 3 濃度の血液鉛（Blood A, B, C）20 μ l を 20 回測定し，正確さおよび精度を比較した（Table 1）。平均値には有意差を認めないが，標準偏差（S.D.）の大きさはオート法では手法の 1/2 以下であった。二方法による測定値の分散の比較を行なったところ，3 検体いずれについても危険率 5% で有意差が認められた。正確さは二方法とも等しく，精度については手法の場合測定者による個人差が予測されるが一般にオート法が優れていると考えられる。

2. オートサンプラー連続運転による試料放置の影響

Blood A, B, C をターンテーブル上の 30 個のカップ中にそれぞれ 0.5 ml ずつ入れ連続運転を行ない，試料放置によるありうべき濃縮の影響について検討した。1 検体 1 回測定した場合 1 回の測定には 2 分間を要するので，ターンテーブル 1 回転の 30 検体では 1 時間を必要とする。Fig. 1 に示すように各試料は Table 1 で得られた 2 S.D. の範囲内にはほぼおさまる変動は認められず試料放置の影響はないことが確認された。

3. オートサンプラー・ピペットチップの自動洗浄に

Fig. 1. Stability of observed values by repeated determinations. Aliquots, 0.5 ml each of 3 blood samples (containing lead at 3 different levels) were taken into 90 sample cups (30 cups per sample) and subjected to repeated automatic determination. The solid lines and broken lines in the figure indicate means and ± 2 S.D. ranges, respectively.

ついて

フレイムレス原子吸光法のようなマイクロ手法では試料どうしの汚染が大きな影響を与えるため、ピペットチップの洗浄が正しく行なわれていなければならない。約 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ の血液試料を 1 本、次に精製水を 4 本順にならべ 5 回くりかえし測定したところ、試料測定につづく精製水測定時にはピークはまったく認められなかった。したがってピペットチップに付着した血液試料は自動洗浄により十分に除去されていると考えられる。

結 論

血液中鉛定量法としてのフレイムレス原子吸光法におけるサンプリングについてオートサンプラーの有用性を検討した。オートサンプラーを用いた場合は用手法でサ

ンプリングする操作にくらべ精度が高くなること、長期間運転に伴う濃度変化を認めないこと、かつ濃度の違う試料を測定する場合にもキャリーオーバーは起こらないことが確認された。これらの結果からオートサンプラーはフレイムレス原子吸光法に有用であると考えられる。

オートサンプラーの導入により、分析担当者が 2~3 分ごとにサンプルを正確に小穴の中に注入する繁雑さから解放されることはいうまでもないが、同時に多数検体を分析する場合には一検体当たりの分析所要時間が短縮される。

稿を終えるにあたり、原稿の作成にご助力いただいた東北大学医学部衛生学教室の池田正之教授、渡辺孝男先生、小泉昭夫先生に深謝の意を表します。

文 献

- 1) Watanabe, T., Iwahana, T. and Ikeda, M.: Comparative study on determination of lead in blood by flame and flameless atomic absorption spectrophotometry with and without wet digestion, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 39: 121-126, 1977.
- 2) Hwang, J. Y., Ullucci, P. A. and Mokeler, C. J.: Direct flameless atomic absorption determination of lead in blood, *Anal. Chem.*, 45: 795-798, 1973.
- 3) Fernandez, F. J.: Micromethod for lead determination in whole blood by atomic absorption, with use of the graphite furnace, *Clin. Chem.*, 21: 558-561, 1975.

長谷川憲司, 清治和則, 塩島正二

東北労災病院健康診断センター

Kenji HASEGAWA, Kazunori SEIJI and Shoji SHIOJIMA

Center of Occupational Medicine, Tohoku Rosai Hospital, Dainohara 4-chome, Sendai, 980 Japan
昭和55年7月21日受付

通信先: 長谷川あて, Reprint requests to K. Hasegawa