筋肉組織の炭酸ガス拡散係数と熱伝導率の測定 *

鈴木秀雄^{*1}, 中山雅彦^{*2}, 尾谷知哉^{*3}
片岡則之^{*2}, 谷下一夫^{*4}Measurements of Carbon Dioxide Diffusivity and Thermal Conductivity
in Muscle TissueHideo SUZUKI, Masahiko NAKAYAMA, Tomoya OTANI,
Noriyuki KATAOKA and Kazuo TANISHITA

The values of effective diffusivity for carbon dioxide and thermal conductivity have been measured in freshly excised respiring rat abdominal muscle in order to understand the heat and mass transport process occurring in the muscle tissue. The values of diffusivity increase with the decrease of the average partial pressure of CO₂, indicating the existence of significant facilitated diffusion. The thermal conductivity of the muscle tissue membrane in which the partial pressure gradient of carbon dioxide was imposed was measured by the self-heated thermistor method. There appears to be a slight increase of diffusivity at the lower partial pressure and this finding indicates that there may exist some mechanism of simultaneous heat and mass transport in the muscle tissue.

Key Words: Diffusion, Facilitated Diffusion, Carbon Dioxide, Heat Conduction, Thermophysical Property, Muscle Tissue, Medical Engineering, Biological Engineering

1. 緒 言

近年, 生体の器官や組織における熱と物質の移動現象を理工学的な観点からとらえ, 器官や組織の生理的機能を把握し, さらに熱や物質の移動現象や疾病の診断や治療に利用しようとする新しい医療技術が進展している。しかし, 一般に生体組織における熱や物質の移動現象は, 個々の細胞の集合である不均質な構造の場において数多くの酵素とかかわる化学反応を伴うので, きわめて複雑となる。中でも筋肉組織は, ATP(アデノシン三リン酸)を消費して, メカノケミカル変換により有効に化学的エネルギーを機械的エネルギーに変換しているが, そのエネルギー代謝の際, 酸素が消費され, 炭酸ガスが産出される⁽¹⁾。同時に一部は熱エネルギーとなるため, 熱発生が起きる。したがって筋肉組織では酸素および炭酸ガスの呼吸性ガスの拡散と熱放散は, 筋肉の機能を発揮するために重要な役割を果たしている。そこで筋肉組織の酸素拡散について濃

度分布の計算や有効拡散係数の測定が行われ, 筋肉組織におけるガス輸送の基本的な性質が議論されるようになった⁽²⁾。ところが炭酸ガスに関しては, 測定例が少なく, その輸送特性には不明な点が多く残されている。本研究では, ラットの筋肉組織の炭酸ガス有効拡散係数を準定常法によって測定し, 炭酸ガス拡散の性質を明らかにすることを目的とする。さらにガス拡散が生じているときの熱伝導の様子を見るため, 炭酸ガスの濃度こう配を与えた状態で, 有効熱伝導率を測定し, 拡散と熱伝導との関連について検討を加えた。

記 号 表

a : サーミスタビーズの有効半径
 A : 筋肉膜表面積
 D : 準定常法により求まる筋肉組織内の炭酸ガス有効拡散係数
 D' : 式(3)による筋肉組織内の炭酸ガス拡散係数
 F : 炭酸ガス拡散の促進度 $= N_1/N_0 - 1$
 k : 筋肉の有効熱伝導率
 k_b : サーミスタの熱伝導率
 m : 筋肉内の炭酸ガス生成率
 N_0 : 筋肉内での自由拡散のときの炭酸ガス流束
 N_1 : 筋肉膜を通過する炭酸ガス流束

* 原稿受付 平成2年6月19日。

^{*1} 東洋信託銀行 (〒100 東京都千代田区丸の内1-4-3)。^{*2} 慶應義塾大学大学院 (〒223 横浜市港北区日吉3-14-1)。^{*3} 三井物産 (〒100 東京都千代田区大手町1-2-1)。^{*4} 正員, 慶應義塾大学理工学部。

P : 筋肉内の測定時間中の平均炭酸ガス分圧
 $= (P_2 + P_m)/2$

P_0 : 測定開始前の1室の炭酸ガス分圧

P_1 : 1室の炭酸ガス分圧

P_2 : 2室の炭酸ガス分圧(一定)

$P_m = (P_0 + P_1)/2$

P_t : 測定開始後 t 時間経過したときの1室の炭酸ガス分圧

R_0 : 一般ガス定数

S : 平均酸素飽和度

t : 測定時間

T : 測定系の絶対温度

V : 1室の内容積

Y_{CO_2} : 血液中の結合炭酸ガス濃度

α : 溶解度

$\beta = 1/(R_0 T)$

δ : 筋肉膜の厚み

ΔP : 筋肉膜を介する平均炭酸ガス分圧差
 $= P_2 - P_1$

2. 方 法

本研究では, Kawashiro ら⁽³⁾による方法に準じて測定を行った。ラット腹部から摘出された筋肉を, 厚み 0.3~0.8 mm の膜状にして, 図 1 に示されるような測定装置に O リングで固定し, 筋肉膜の両側に, 炭酸ガス濃度の異なる標準ガスを流して, 炭酸ガスの濃度こう配を与えた。使用した混合ガスには, 40%酸素を含ませて, 筋肉の代謝が維持できるようにした。まず, 1室に高濃度の湿潤 CO₂-N₂-O₂ 混合標準ガスを約 10 mL/min の流量で流し, 2室には低濃度の湿潤混合ガスを同流量で流し, 定常状態に達した後, 1室出入口のバルブを閉じた。密閉された1室から, 低濃度の2室に炭酸ガスが通過してくるため, 1室の濃度は時間とともに低下する。この濃度変化を炭酸ガス電極(シェバリングハウス形, Radiometer 社製)により測定し, 一定時間内の濃度変化から, 筋肉層を通過した炭酸ガス輸送量を求めた。その際, 筋肉では代謝のため, 炭酸ガスの発生があり, 1室の濃度変化には, 炭酸ガス発生による影響が含まれる。そこで, Kawashiro ら⁽³⁾の方法により代謝により生産された炭酸ガス量を求めた。1室出入口のバルブを閉じた後, 密閉された1室の炭酸ガス分圧は徐々に低下($P_1 > P_2$ の場合)するが, 炭酸ガスが一定の割合で発生しているため, 十分時間が経過した後, 1室の分圧は P_2 に等しくならず, ある分圧差でついに1室側の境界面でこう配が零すなわち流束が零となる状態に到達する。そのような状態では

1室からの炭酸ガスの流入はなく, 生成された炭酸ガスのみが2室に放出される。したがってそのときの分圧差から逆に炭酸ガス生成率を求めることが可能となる。筋肉膜における拡散を一次元的と近似した場合, 炭酸ガスが一定の割合で発生する際の一次元拡散方程式から, 炭酸ガス分圧の分布の解を求め, 1室側の境界面で質量流束が零となる条件から, そのときの分圧差 ΔP_{eq} は以下のような炭酸ガス生成率 m の関数として与えられる⁽³⁾。

$$\Delta P_{eq} = m\delta^2 / (2\alpha D') \quad \cdots \cdots (1)$$

一方1室内の分圧 P_1 の時間的变化率は, 筋肉組織を介する炭酸ガス分圧差 ΔP と, ΔP_{eq} によって次のように表される。

$$dP_1/dt = \alpha(\Delta P - \Delta P_{eq}) \quad \cdots \cdots (2)$$

したがって, 実験より dP_1/dt と ΔP との関係を求め, $dP_1/dt = 0$ のときの ΔP を ΔP_{eq} として決めることができる。さらに dP_1/dt と ΔP との傾き α から, 拡散係数 D' が次により求まり, その値を用いて m が求まる。

$$D' = (\alpha \cdot \beta \cdot V \cdot \delta) / (\alpha \cdot A) \quad \cdots \cdots (3)$$

$$m = 2\Delta P_{eq} \cdot \alpha \cdot D' / \delta^2 \quad \cdots \cdots (4)$$

ところが, この方法では広範囲な平均炭酸ガス分圧での測定が困難となるため, 式(4)によって求められた炭酸ガス生成率 m が, 炭酸ガス分圧によらず一定と仮定して, 筋肉中の炭酸ガス拡散が準定常であるとみなして, 炭酸ガス有効拡散係数を次式により求めた。

$$D = \frac{(P_1 - P_0)}{(P_2 - P_m)} \cdot \frac{\delta \cdot V}{t \cdot A} \cdot \frac{22.4}{\alpha \cdot R_0 \cdot T} - \frac{m\delta^2}{2(P_2 - P_m)\alpha} \quad \cdots \cdots (5)$$

式(5)による方法は, すでに血液中の炭酸ガス拡散係数の求めるときに使用したものに, 代謝による炭酸ガス発生を考慮したもので, その精度も詳しく検討されている⁽⁴⁾。筋肉膜の厚みは, 測定終了後, O リング固定部から切り出して電子てんびんで重量を測定して求めた。測定は6種類の CO₂-N₂-O₂ 混合標準ガスを用い

図 1 拡散係数測定装置

で行い、広範囲な平均濃度における測定が可能となるようにした。設定した炭酸ガス濃度差は 0.488~3.46 kPa の範囲とした。

拡散係数を測定した後、サーミスタ加熱法⁽⁵⁾により筋肉組織の有効熱伝導率を測定した。生体組織中で物質拡散が生じている状態での熱移動の様子を調べるため、拡散係数の測定時と同様な濃度こう配を与えて、熱伝導率を測定した。ガラス被覆されたサーミスタ (YSI 社製 P 20 AAA 4723) を 2 枚の筋肉膜ではさみ (図 2)、一定の温度差が生じるように供給電力を制御した。サーミスタビーズは完全に球形でないため、物性値が既知の媒体中で検定して、有効径を求め、その値を使って筋肉試料の有効熱伝導率を決定した。

熱伝導率が炭酸ガスの分圧の関数として表されるならば、試料の厚さ方向に分圧の分布ができるため、熱伝導率の不均質性が表れ、誤差評価が複雑となる。しかしながら厚み 1~2 mm の生体組織で不均質性を反映する熱伝導率の測定は、本実験で使用しているサーミスタよりもかなり微小なものが必要となるので、不均質性を測定できるほど測定体積を縮小することが困難である。そこで本研究では、厚み 1~2 mm の筋肉膜に与えられた濃度の平均値における有効熱伝導率とした。

3. 結果および考察

筋肉試料の測定を開始する前に、拡散係数の値が知られている蒸留水について炭酸ガス拡散係数の測定を行い、測定系が正しく作動することを確認めた。その結果を図 3 に示す。他の測定結果⁽⁶⁾⁻⁽¹⁰⁾と測定精度の範囲でよく一致していることがわかる。次に筋肉膜についての測定を行った。まず、1 室の分圧の時間的変化率と、分圧差 ΔP との測定結果を図 4 に示すが、きわめて良い直線関係を示している。図 4 中の直線は、測定値から求めた回帰直線である。この回帰直線で、 $dP_i/dt=0$ のときの ΔP から、 ΔP_{eq} を求め、回帰直線のこう配から D を求めて、最終的に式 (4) より m を

図 2 サーミスタプローブの設置部

決定した。そのようにして求めた炭酸ガス生成率の結果を図 5 に示す。代謝による炭酸ガス生成率は温度に依存し、37°C のとき 25°C の値の約 4.5 倍の値を示している。Kawashiro ら⁽³⁾によって得られた値ともばらつきの範囲内で一致している。これらの炭酸ガス生成率の値を使って、筋肉中の炭酸ガス有効拡散係数を求めた。37°C の場合の結果を図 6 に示す。拡散係数は、平均炭酸ガス分圧 P の低下とともに増加しており、最も低い P では著しく拡散係数が大きくなり、最も高い平均分圧 $P=9.7\text{kPa}$ のときの 6 倍程度となり、Kawashiro ら⁽³⁾の測定値よりもはるかに大きい。このような低炭酸ガス分圧における拡散係数の増加は、溶存炭酸ガスの自由拡散に加えて、担体物質による輸送が加わるという促進拡散によるためと考えられ、電解

図 3 蒸留水の炭酸ガス拡散係数

図 4 1 室の炭酸ガス分圧の時間変化率と膜に与えられた分圧差との関係

質溶液、血しょうや血液における炭酸ガスの促進拡散については、さまざまな研究が行われている⁽⁴⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。ところが筋肉における促進拡散についてはKawashiroらによる定性的な検討が行われているだけである。

図7は拡散係数の温度依存性を示す。平均炭酸ガス分圧が2.0, 4.3, 6.8, 9.0 kPaの場合は、温度の上昇とともに拡散係数がほぼ一定な割合で増加している。ところが注目になるのは、最も低い炭酸ガス分圧($P=0.75$ kPa)では、拡散係数が著しく増加するとともに、温度依存性が 37°C 以上で大きくなる。促進拡散は、担体物質との結合および離脱を繰返すことにより生ずることを考えると、促進拡散が顕著に表れる低

い P において、強い温度依存性が生ずる点はきわめて興味深い。

さて、液体中の炭酸ガスの促進拡散については、担体物質による物質輸送量の増加について詳しく検討されているので、筋肉内の現象と比較検討することを試みる。筋肉内には、炭酸ガスの水和速度を300倍程度に加速する炭酸脱水酵素がみつかっており⁽¹³⁾、担体物質である重炭酸イオンにすばやく変化して、平衡状態に達する。そこで筋肉内の現象をGoddardら⁽¹⁴⁾による準平衡の解析結果との比較を試みた(図8)。God-

図5 筋肉組織内の炭酸ガス発生率

図6 筋肉組織の有効拡散係数と炭酸ガス分圧との関係

図7 筋肉組織の有効拡散係数の温度依存性

図8 炭酸ガス促進拡散の促進度と膜に与えられた炭酸ガス分圧差との関係(Goddardらの解析結果)

dard らは溶存炭酸ガスが担体物質である重炭酸イオンへの変化が準平衡であるとみなし、反応項を含む一次元拡散方程式を漸近展開によって解を得ている。促進拡散の割合は、次のように定義される促進度 (Facilitation Factor) F によって表される。

$$F = N_1/N_0 - 1 \dots\dots\dots (6)$$

図8中 M^+ は、水溶液中の金属イオンの総量で、溶液内の電気的中立性により近似的に担体の濃度に相当する。使用した金属イオン濃度の値は細胞内のデータを用いた。横軸は水溶液膜に与えられた炭酸ガス分圧差であるが、低分圧側を一定(0.066%)にし高分圧側を0.5~21%まで変化させたため、分圧差が小さくなるほど、平均炭酸ガス分圧も低下し、促進度 F が増加する。その増加の割合は、担体の量に依存し、担体の濃度が0.5 mol/L のとき、低い分圧差では、促進度が著しく増加し、担体濃度が0.25 mol/L のときの約3.7倍になる。そこで筋肉において促進拡散の増加する割合を、 F によって表現することを試みた。筋肉の場合自由拡散のときの炭酸ガス流束 N_0 を、最も大きい平均炭酸ガス分圧のときの値で代用した。その結果を図9に示す。筋肉における F の最大値は、7.3と比べて高い。赤血球を破壊して作成したヘモグロビン溶液では、赤血球内の炭酸脱水酵素の影響により、著しい促進拡散が表れるが、Tanishita ら⁽⁴⁾による測定では、促進度が2.3と図9の結果よりも低い。図9において実線は、Goddard らによる解析結果である。Goddard らの拡散モデルが筋肉組織に適用できるという保証はないため、図9の理論値の絶対値は、筋肉内の現象を

考えるうえであまり意味を持たないが、平均炭酸ガス分圧に対する F の変化がよく類似していることから、水溶液に類似した現象が生じていると思われる。現象として、筋肉内で著しい促進拡散が生じていることは確かであるが、そのメカニズムの詳細を明らかにするためにはさらに細胞レベルでの情報を得る必要がある。

次に筋肉の有効熱伝導率をサーミスタ加熱法によって測定した。まず、サーミスタビーズの有効半径を熱伝導率が既知の物質すなわち寒天(蒸留水と同等)、グリセリンおよびひまし油を用いて測定した。発熱する球周りの熱伝導の解析解により、球の半径と、サーミスタの熱伝導率 k_b の逆数と a との関係は次のように与えられる⁽⁵⁾。

$$1/k_b = \frac{\Delta T \cdot R_f}{E_s^2} \frac{4\pi a}{0.2} - \frac{1}{0.2k} \dots\dots\dots (7)$$

ここで、 ΔT : サーミスタの温度上昇、 R_f : サーミスタの抵抗、 E_s : サーミスタへの供給電圧。3種類の既知の物質を用いてサーミスタを加熱すると、実験上の設定として決まる $\Delta T \cdot R_f / E_s^2$ の値と従来得られている k の値を用いて、 $1/k_b$ との直線関係が3種類得られる。同一のサーミスタを使用している場合は、3本の直線が1点で交わり、サーミスタの半径が決まる。しかしながらサーミスタが完全な球でないことや、既知の熱伝導率の測定誤差により、1点で交わらない。そこで3本の直線で囲まれた三角形の重心によって、サーミスタビーズの a, k_b を求めた(図10)。このようにして設定された測定系の信頼性を確認するために、寒天およびグリセリンについての測定を再び行い、例え

図9 炭酸ガス促進拡散の促進度と炭酸ガス分圧との関係

図10 サーミスタビーズの有効半径

ば寒天に関しては図 11 のような結果を得た。1977 年の国際蒸気性質協会 (IAPS) において選ばれた標準値と 2% の範囲内で一致していることがわかる。

筋肉膜の熱伝導率の測定は、サーミスタビーズを 2 枚の筋肉膜の間にはさんだ状態でを行った。サーミスタを加熱した後、サーミスタ周囲に温度境界層が形成されるが、その境界層が筋肉膜内に保たれるように加熱量を決め、球の周りの熱伝導モデルの前提から実際の現象が逸脱しないように工夫した。

まず筋肉膜に一定の炭酸ガス分圧差 (2.2~2.8 kPa) を与えた状態で熱伝導率を測定した結果を図 12 に示す。この場合、与えられた炭酸ガス分圧差によりガス拡散が生じているが、比較的平均炭酸ガス分圧が大きいと、促進拡散の影響はわずかである。温度の増加とともに熱伝導率が増加しているが、とくに 37 °C では、Valvano ら⁽¹⁵⁾ のサーミスタ加熱法によって得られた値とよく一致している。さらに炭酸ガスの分圧差を変化させ、促進拡散が著しく表れる状態で測定を行った。すなわち 2 室の炭酸ガス濃度を一定にして、1 室の濃度を变化させて、筋肉膜を介する分圧差を変えて熱伝導率の測定を行い、平均炭酸ガス分圧の低いときは、担体による促進拡散が著しく表れることから、分圧差の代わりに担体の濃度差に対して熱伝導率の測定結果を整理したものが図 13 である。この場合、担体である重炭酸イオンと溶存炭酸ガスとの関係が血液に類似しているとして、Harris ら⁽¹⁶⁾ による式を用いて整理を試みた。横軸は、重炭酸イオンの濃度差で、筋肉内で重炭酸イオンの濃度こう配が大きいほど、担体の輸送が増加し、促進拡散の割合が増大する。図 13 の結果では、担体の濃度差が増加するほどわずかであるが

熱伝導率が上昇している。図 13 中実線は実験値から求めた回帰直線で、温度が上昇するほどわずかこう配も増加している。したがって促進拡散の割合の増加とともに熱伝導率も増加している。ここで図 12 と図 13 において結果のくいちがいとくに 37 °C で見られる。炭酸ガスの拡散の影響のみを見るために、図 13 の結果で、各温度で同一の筋肉について炭酸ガス分圧差を変えている。したがって図 12 で測定した筋肉は別のラットから摘出されたもので、個体差による影響もあるだろう。さらに図 12, 13 の結果のくいちがいはばらつきの程度に近い。したがって結果のくいちがいの厳密な理由は不明であるが、重要な点は同一筋肉において得られた温度依存性および濃度差依存性である。それぞれの傾向が重要な意義を持つという点で、誤解を避けるため、とくに図 13 は半定性的な結果と解釈したほうがよいだろう。

さらに酸素拡散を与えた場合についても熱伝導率の測定を試みた。平均酸素分圧を 0.5~51 kPa の範囲で与えた。筋肉組織内では、血液中のヘモグロビン、筋肉内のミオグロビンと結合した形で輸送される部分が重要である。そこで酸素分圧をヘモグロビンとの結合酸素量を表す酸素飽和度の形にして、熱伝導率の測定値を整理した結果が図 14 である。平均酸素飽和度の低下とともに熱伝導率が増加し、とくに温度の上昇とともにその増加する割合が大きくなる。血液中では酸素飽和度が低い場合 (酸素分圧の低い場合) ヘモグロビンと結合して輸送される酸素量が増えるという酸素の促進拡散現象が見いだされているが⁽¹⁷⁾、図 14 の結果は酸素の促進拡散とともに熱伝導率が増加している。

図 11 寒天の熱伝導率

図 12 筋肉組織の熱伝導率

図 13 筋肉組織の熱伝導率と結合炭酸ガス濃度差との関係

図 14 筋肉組織の熱伝導率と平均酸素飽和度との関係

いずれにしても、炭酸ガス、酸素の両方について促進拡散が顕著になるほど熱伝導率が増加している。Hill⁽¹⁸⁾は、促進拡散の場合、担体との結合および離脱の際の反応熱の出入りが伝熱に寄与することを予測しているが、本研究の結果は、Hillの予測と矛盾しない。静止筋肉膜の代謝による発熱は、本実験設定ではわずかであり、無視できる。したがって本研究での有効熱伝導率の意味はなんらかの形で物質拡散が熱移動に寄与しているものを含むとすべきであろう。いずれにしても筋肉内では、ガス拡散と熱伝導が関連して生じていることは確かであり、生体組織内の輸送現象において重要な役割を演じていると思われる。

4. 結 論

(1) 筋肉組織において、炭酸ガスの有効拡散係数は、炭酸ガス分圧の低下とともに著しく増加する。これは自由拡散に加えて担体による輸送が加わるという促進拡散現象が生じているためと思われる。

(2) 筋肉組織に、酸素および炭酸ガスの濃度こう配を与えた状態での有効熱伝導率は、濃度分布に依存性を示し、温度の上昇とともにその依存性が強くなる。すなわち筋肉組織内では、ガス拡散と熱伝導が関連して生じている。

サーミスタ加熱法に関して、東京女子医大付属日本心臓血圧研究所 田宮浩一博士、別府俊幸氏にご助言をいただいたので感謝の意を表す。

文 献

- (1) Ganong, W. F., *Review of Medical Physiology*, (1981), 000, Lange Medical 松田・ほか 6 名訳, 医科生理学展望, (1982), 243, 丸善.
- (2) Friedman, M. H., *Principles and Models of Biological Transport*, (1986), 235, Springer.
- (3) Kawashiro, T., Nusse, W. and Sheid, P., *Pflügers Arch.*, **359**(1975), 231.
- (4) Tanishita, K., Tanasawa, I., Yamaguchi, T. and Sugawara, M., *Pflügers Arch.*, **405**(1985), 83.
- (5) Balasubramaniam, T. A. and Bowman, H. F., *Trans. ASME, J. Biomech. Eng.*, **99**(1977), 148.
- (6) Tang, Y. P. and Himmelblau, D. M., *AIChE J.*, **9**(1963), 630.
- (7) Unver, A. A. and Himmelblau, D. M., *J. Chem. Eng. Data*, **9**(1964), 428.
- (8) Thomas, M. J. and Adams, M. J., *Trans. Far. Soc.*, **61**(1965), 668.
- (9) Tham, M. J., Bhatia, K. K. and Gubbins, K. E., *Chem. Eng. Sci.*, **22**(1967), 309.
- (10) Sovova, H. and Prochazka, J., *Chem. Eng. Sci.*, **31**(1976), 1091.
- (11) Meldon, J. H., Stroeve, P. and Gregoire, C. E., *Chem. Eng. Commun.*, **16**(1982), 263.
- (12) Bauer, C., Gros, G. and Bartels, H., Ed., *Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide*, (1980), 15, Springer.
- (13) Gros, G., Siffert, W. and Schmid, A., *Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide*, (1980), 410, Springer.
- (14) Goddard, J. D., Schultz, J. S. and Bassett, R. J., *Chem. Eng. Sci.*, **25**(1970), 665.
- (15) Valvano, J. W., Allen, J. T. and Bowman, H. F., *Trans. ASME, J. Biomech. Eng.*, **106**(1984), 192.
- (16) Harris, G. W., Tompkins, F. C. and deFilippi, R. F., *Blood Oxygenation*, (1970), 334, Plenum.
- (17) Hemmingsen, E. and Scholander, P. F., *Science*, **132**(1960), 1379.
- (18) Hills, B. A., *Science*, **182**(1973), 823.