

電子スピン共鳴を用いたマンガンの微量定量法

メタデータ	言語: jpn 出版者: 日本法中毒学会 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 南方, かよ子, 渡部, 加奈子, 野澤, 秀樹, 鈴木, 修, 鈴木, 加奈子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1736

P-1

電子スピン共鳴を用いたマンガンの微量定量法

浜松医大・法医 ○南方かよ子、鈴木(渡部)加奈子、野澤秀樹、鈴木修

Sensitive quantification of manganese by use of ESR method

Kayoko Minakata, Kanako Watanabe-Suzuki, Hideki Nozawa and Osamu Suzuki

Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】

マンガン(Mn)の過剰摂取による中毒症状としては、急性では肺炎、慢性では筋萎縮、言語、運動障害などのパーキンソン症類似の神経症状の他に、生殖細胞の萎縮や骨異常が報告されている。ビルビン酸カルボキシラーゼやMnSODはMn酵素であり、その他の酵素反応においても、反応の活性化にMnは寄与している。

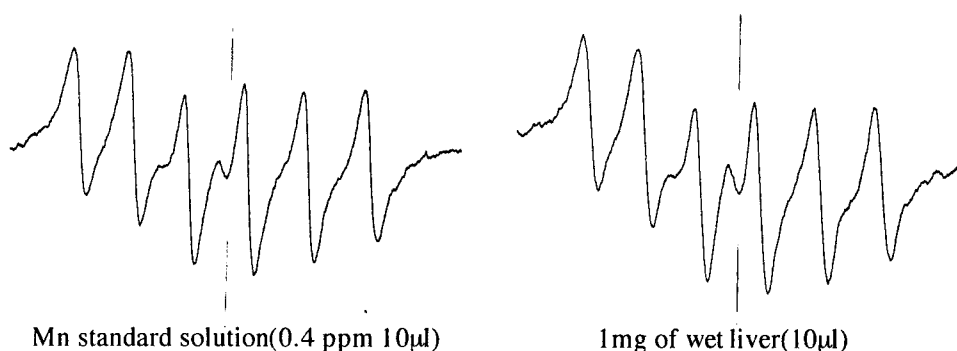
Mnに特異的なキレート剤による発色に基づいた分子吸光法は報告されていない。炎光原子吸光法は簡便ではあるが、Mnは哺乳動物の場合、銅の5分の1、亜鉛の100分の1しか含まれていないため、軟組織の中で最も高濃度の肝でさせ、定量に1gを必要とし、ラット等の実験動物の定量には不適當である。Mn原子は-2から+7までの酸化状態をとるが、酸性溶液中では+2価のみとなる。また、+2価の場合のみ、室温で安定に電子スピン共鳴(ESR)法で測定することができるので、この方法を用いて簡便に感度よく定量する方法について検討した。

【方法】

図1に1N硝酸溶液中のMn標準溶液のESRスペクトルを示す。6本の吸収線からなり、左から3本目の線のg値は2.037であり、4本目の線のg値は1.979であり、それらの間隔(超微細分裂)は9.6mTである。組織中のこれらの線の高さと標準溶液の高さとを比較して定量を行った。測定には日本電子のJES FX2XG ESR spectrometerを用いた。modulation が2mT、microwave power が65 mWの条件での測定が最適であった。

【結果】

組織は硝酸で湿式灰化し、硝酸の終濃度が1Nとなるようにして、試料を保存した。硝酸濃度の感度への影響を調べたところ、0.001Nから0.1Nの間では感度に差がみられないが、1N溶液は誘電損失の影響で感度低下がみられた。しかし、1N溶液は0.1Nの場合の86%の感度が保たれているので、肝や腎は灰化した組織溶液そのままを用い



て測定した。1～10 μ lの微量の試料を測定するために、試料を直接 ESR セルに入れるのではなく、ヘマトクリット管に入れ、上下をパテで封をし、それを、ESR セルに入れて測定した。測定時間は1 サンプル 1 分である。パラコート中毒をおこした ODS ラットの場合、肝ではコントロールの0.6に腎では0.7に Mn レベルが低下していた。灰化した組織液の中に測定を妨害する常磁性物質はなく、肝も腎も湿重 1mg で十分定量でき、測定限界は Mn60pg である。灰化した試料は1 年間でも安定である。また ICP 発光分析や原子吸光法では測定によって試料が消費されてしまうが、ESR 法では試料がそのままに保存されるので、測定後の試料は他の目的に使用することができる。

【SUMMARY】

A colorimetric method which is sensitive and specific to Mn has not been reported yet. A conventional flame atomic absorption method requires 1 g of liver containing 1 ppm Mn, which is the highest concentration among soft tissues. Application of ESR method is examined in the present work because Mn(+2) is paramagnetic and can be measured by ESR method. Mn takes only +2 state in acid solution although it has several valence states from -2 to +7. In ESR spectrum Mn(+2) in acid solution shows characteristic 6 lines. The g-value of the 3rd and 4th lines are 2.037 and 1.979, respectively, and the hyperfine splitting between them is 9.6 mT. Tissues were wet-ashed with conc nitric acid, and the diluted ashed solution was put into a quartz capillary and measured by an ESR spectrometer. In osteogenic disorder Shionogi rats intoxicated with paraquat, the Mn level was decreased to 0.6-fold of the control in liver and 0.7-fold in kidney, respectively. For the quantification, 1 mg of wet liver or kidney is enough, and the limit of detection is 60 pg of Mn. The ashed sample is stable for more than a year. Unlike the atomic absorption or emission method where the samples is burned out, the sample used in ESR method can be used for another purpose.