

陰イオン交換分離－吸光光度法による生物標準試料中の バナジウム, コバルト, 銅, 亜鉛およびカドミウムの同時定量

桐山 哲也*

(1997年10月1日 受理)

Simultaneous Determination of Vanadium, Cobalt, Copper, Zinc and Cadmium in Biological Standard Materials by a Combined Anion-Exchange-Spectrophotometric method

Tetsuya KIRIYAMA *

陰イオン交換分離法と吸光光度法を組み合わせ、生物標準試料中のバナジウム、コバルト、銅、亜鉛、カドミウムの同時定量を行なった。

乾燥試料に(1+1)硝酸を加え、加熱して有機物を分解する。再度(1+1)硝酸を加え加熱して有機物を分解し、テフロンビーカーに移す。試料に硝酸、過塩素酸、フッ化水素酸を加え、加熱して残留する有機物と珪酸塩を分解する。チオシアン酸アンモニウム－塩酸系および塩酸系を用いる陰イオン交換分離法により、バナジウム、コバルト、銅、亜鉛、カドミウムを分離し、バナジウム、コバルトは4-(2-ピリジルアゾ)レゾルシノール(PAR)法で、銅はジエチルジチオカルバミン酸塩法で、亜鉛はジンコン法で、カドミウムはジチゾン法でそれぞれ吸光光度定量する。本法を用い国立公害研究所(NIES)が発行している生物標準試料のホンダワラと玄米の分析を行なった。

1. 緒言

微量のコバルト、銅、亜鉛は植物の成長にとって必須の元素であり、バナジウムは必須の元素ではないが、生理機能の調整に重要な作用をする元素である¹⁾。カドミウムは環境中に広く拡散した危険な元素であり、生理的に必須な亜鉛を押し退けて、腎臓、肝臓やその他の臓器に蓄積するが、その量も年令と共に増加する²⁾。

生物及び環境試料中のこれらの元素の含有量は極めて微量であるため、これらを分析し、定量す

*鹿児島大学教育学部

るには定量に先だって、濃縮する必要がある。これらような幅広い遷移金属に属する微量金属を、あらかじめ濃縮する方法を開発することは、X線蛍光分析法や誘導結合高周波プラズマ発光分析法のような最新の多元素同時定量法で分析する場合にも、極めて有用なことである。それは、これらの最新の定量法が、広い適用性を持つのではなく、分析の容易さ・簡便さの追求により、確立された方法であるためである。生物及び環境試料中の微量のバナジウム、コバルト、銅、亜鉛およびカドミウムの簡単な、しかも精度の高い定量法の開発は極めて必要なことである。

本論文においては、チオシアン酸塩系を用いる陰イオン交換濃縮法と吸光光度法と組み合わせて、生物及び環境試料中のこれら五元素の同時定量法を開発し、生物標準試料の分析を行なったので報告する。

2. 実験

2.1 試薬と装置

バナジウム(V)標準溶液:バナジン(V)酸アンモニウム(メタバナジン酸アンモニウム)(NH_4VO_3)を水に溶解した。濃度はCu-PANを指示薬とするEDTA滴定法により標定して求めた。

コバルト標準溶液:塩化コバルト($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)を0.1M塩酸に溶解した。濃度はCu-PANを指示薬とするEDTA滴定法により標定して求めた。

銅(II)標準溶液:塩化銅(II)($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)を0.1M塩酸に溶解した。濃度はPANを指示薬とするEDTA滴定法により標定して求めた。

亜鉛標準溶液:塩化亜鉛(ZnCl_2)を0.1M塩酸に溶解した。濃度はエリオクロムブラック・Tを指示薬とするEDTA滴定法により標定して求めた。

カドミウム標準溶液:塩化カドミウム($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)を0.1M塩酸に溶解した。濃度はエリオクロムブラック・Tを指示薬とするEDTA滴定法により標定して求めた。

イオン交換カラムA;チオシアン酸形にした強塩基性陰イオン交換樹脂Amberlite CG 400 3.0gを内径1.5cmのカラムにつめた。ベットの高さ3.8cm。

イオン交換カラムB;塩化物形にした強塩基性陰イオン交換樹脂Amberlite CG 400 4.0gを内径1.0cmのカラムにつめた。ベットの高さ11cm。

分光光度計:日立101型分光光度計を使用した。セルは光路長2cmのガラスセルを使用。

2.2 分析法

2.2.1 試料の前処理

国立公害研究所から送られてきた生物標準試料を5g程度を85°Cで3時間乾燥し重量を測定する。この試料に(1+1)硝酸20mlを加え、ホットプレート上ではほぼ乾固するまで加熱する。再度同量の(1+1)硝酸を加え、加熱しほぼ蒸発乾固する。硝酸10mlを加え残査を溶解し、テフロンビーカーに移し蒸発乾固する。硝酸5ml, フッ化水素酸2ml, 過塩素酸2mlを加え、蒸発乾固する。必要な

らば硝酸 2 ml を加え蒸発乾固する。1 モル/l 塩酸 10 ml を加え残査を溶解し 2 モル/l チオシアン酸アンモニウム 5 ml を加える。水 85 ml を加え, 0.1 モル/l 塩酸-0.1 モル/l チオシアン酸アンモニウム溶液とし, 流速約 1 ml/min でカラム A に通す。試料が流れ終わったら, 0.1 モル/l 塩酸-0.1 モル/l チオシアン酸アンモニウム溶液 100 ml でカラムを洗浄する。吸着しているバナジウム, コバルト, 銅を 2 モル/l 塩酸-1.5% 過酸化水素溶液 100 ml で一緒に溶離する。続いて亜鉛を 0.2 モル/l 塩酸 200 ml で溶離する。最後にカドミウムを 2 モル/l 過塩素酸 60 ml で溶離する。それぞれの流出液に硝酸 2 ml を加え, 加熱してチオシアン酸イオンを分解し蒸発乾固する。亜鉛はジンコン⁵⁾を, カドミウムはジチゾン⁶⁾を発色試薬とする吸光光度法で定量する。

2.2.2 バナジウム, コバルト, 銅の分離

残査を 8 モル/l 塩酸 5 ml に溶解し, あらかじめ 8 モル/l 塩酸 30 ml を流し, コンデショニングしたカラム B に流す。試料が流れ終わったら, 8 モル/l 塩酸でカラムを洗浄する。はじめの 40 ml を集め, バナジウムの定量を行なう。次の 120 ml を集め, 銅の定量に, 溶離液を 6 モル/l 塩酸に変えコバルトを溶離する。それぞれの溶離液を蒸発ほとんど乾固し, バナジウムとコバルトは PAR³⁾を, 銅はジエチルジチルカルバミン酸ナトリウム⁴⁾を発色試薬とする吸光光度法で定量する。

3. 結果と考察

チオシアン酸塩系^{7), 8), 9)}あるいはチオシアン酸系¹⁰⁾をもちいる強塩基性陰イオン交換樹脂に対する金属イオンのイオン交換挙動はすでに調べられ, 報告されている。チオシアン酸形の強塩基性陰イオン交換樹脂 Amberlite CG 400 に対する 0.1 モル/l 塩酸-0.1 モル/l チオシアン酸アンモニウム-0.5 モル/l 塩化ナトリウム溶液中のバナジウム, コバルト, 銅, 亜鉛, カドミウムの分配係数 K_d はそれぞれ $>10^4$, $>10^4$, 2400, $>10^4$, 480 と大きな値を示して、比較的少量の溶液中に含まれるこれらの金属を小さいカラムに同時に濃縮するには十分な値である。バナジウム, コバルト, 銅, 亜鉛, カドミウムを同時に小さいカラムに濃縮することは, 塩酸, 硝酸, 硫酸などのような系では不可能である。また, 生物試料中に多量に存在するナトリウム, カリウム, マグネシウム, カルシウム, アルミニウムなどは本チオシアン酸塩系では吸着性を示さない。そのため多量に存在するこれらのイオンにより, 目的とする微量イオンがイオン交換カラムから排斥されることはない。イミノ酢酸を交換基とするキレート樹脂 Chelex 100 の場合は^{11), 12)} そのようではない。また, キレート樹脂に微量の金属を吸着させることのできる条件は pH が 5 から 9 と高く, 生物試料を分析するときには, その中に多量に含まれる金属イオンが加水分解して沈澱するので, キレート樹脂を用いることはできない。

チオシアン酸塩系からチオシアン酸形強基性陰イオン交換樹脂 Amberlite CG 400 に吸着したバナジウム, コバルト, 銅, 亜鉛, カドミウムをどれぞれに分離する事なく一緒に溶離するには, 2 モル/l 過塩素酸溶液 100 ml で容易に達成される。この 100 ml は銅を定量的に溶離するためであり,

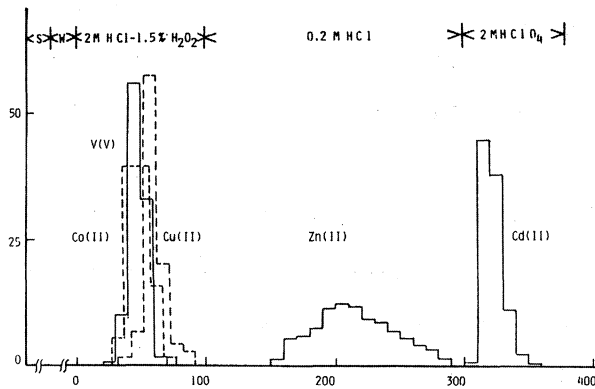


図1 バナジウム,コバルト,銅,亜鉛,カドミウムの溶離曲線

S: 試料 (0.10 モル/ℓ 塩酸-0.10 モル/ℓ チオシアン酸アンモニウム溶液 100 ml にそれぞれの金属約 100 μg を添加)
 W: 洗浄液 (0.10 モル/ℓ 塩酸-0.10 モル/ℓ チオシアン酸アンモニウム溶液 100 ml)

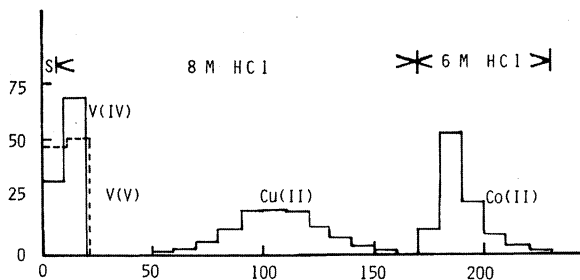


図2 バナジウム,コバルト,銅の溶離曲線

S: 試料 (8 モル/ℓ 塩酸 5 ml にそれぞれの金属約 100 μg を添加)

他の金属は70mlで溶離できる。

本論文においてはこれらの微量金属を高感度の発色試薬による吸光光度法で定量することにした。これらの高感度発色試薬は選択性が無いため、吸着した金属を逐次段階的に溶離することにした。バナジウム、コバルト、銅は2モル/ℓ 塩酸-1.5%過酸化水素溶液100mlで、亜鉛は0.2モル/ℓ 塩酸溶液200mlで、カドミウムは2モル/ℓ 過塩素酸溶液60mlで溶離できた。その溶離曲線を図1に示す。一緒に溶離したバナジウム、コバルト、銅は塩化物形の強塩基性陰イオン交換樹脂を用いる塩酸系から分離を行なうことができる。すなわち、バナジウム(IV)、(V)は8モル/ℓ 塩酸溶液ではほとんど吸着しない。銅の分配係数は10程度、コバルトのそれは50~60であり、8モル/ℓ 塩酸を流すことによりはじめにバナジウム、続いて銅を溶離できる。8モル/ℓ 塩酸溶液から吸着したコバルトは6モル/ℓ 塩酸溶液で溶離出来る。溶離曲線を図2に示す。いずれも定量的に回収できた。

バナジウムとコバルトの高感度発色試薬 PAR を使用することに関連して、この陰イオン交換分離は適切なものである。流出液中にマトリックスの重金属イオンを含まないため、定量のための最終的な分析法はいろいろ選べられる。

以上の結果をもとに、生物試料を灰としたとき含まれる主元素量とほぼ同じ組成とした合成試料中のバナジウム、コバルト、銅、亜鉛、カドミウムの分析を行なった、その結果を表1に示す。合成試料の主成分元素量は米国標準局(NBS)が配布している試料のうち植物試料の代表として Orchard leaves を選び、動物試料の代表として Bovine liver を選び、これらの主成分含有量をもとに試料の灰0.5g 中に含まれると予想される量のうち大きい値を用いた。これらの主成分を含む試料にバナジウム、コバルト、銅、亜鉛、カドミウムを加え、回収率を測定した。なおブランク値も示した。いずれも定量的な回収があった。NBS が発行している Orchard leaves および Bovine liver の分析を行なった。その結果を表2に示す。いずれも文献値と良い一致を示した。また表3には国立公害研究所(NIES)が発行している生物標準試料、池底質、リョウブ、クロレラの分析も合わせて示した。これらも文献値と良い一致をしている。

表1 合成生体試料中のバナジウム,コバルト,銅,亜鉛,カドミウムの定量*

添加量, μg					検出量, μg				
V	Co	Cu	Zn	Cd	V	Co	Cu	Zn	Cd
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.61	4.44	2.80	78.4	4.55
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.46	4.30	2.80	76.9	4.85
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.64	4.43	2.96	78.4	4.90
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.92	4.74	2.94	76.9	4.73
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.35	4.81	3.23	76.9	4.73
3.74	4.56	2.69	76.9	4.84	3.42	4.76	2.84	76.0	4.61
				av.	3.57±0.21	4.58±0.22	2.93±0.16	77.3±1.0	4.73±0.13
0	0	0	0	0	0.22	0.07	0.52	3.50	0.18
0	0	0	0	0	0.15	0.06	0.72	2.88	0.27
0	0	0	0	0	0.26	0.12	0.60	3.41	0.23
				av.	0.21±0.06	0.08±0.03	0.61±0.1	3.26±0.34	0.23±0.05

* 合成生体試料の組成は、 Na^+ 21.8 mg、 K^+ 61.0mg、 Mg^{2+} 19.0mg、 Ca^{2+} 78.5mg、 Al^{3+} 15.7mg、 Fe^{3+} 11.1mg、 H_2PO_4 219mg である。

表2 NBSが発行している生体標準試料中のバナジウム,コバルト,銅,亜鉛,カドミウムの定量

試料	検出量, μg					標準試料中の含有量, $\mu\text{g/g}$					文献	
	試料量, g	V	Co	Cu	Zn	Cd	V	Co	Cu	Zn		Cd
Orchard leaves												
2.8616	2.16	0.46	36.5	84.2	0.43	0.75	0.16	12.8	29.4	0.15		
2.8774	1.98	0.45	37.5	82.9	0.36	0.69	0.16	13.0	28.8	0.13		
					av.	0.72	0.16	12.9	29.1	0.14		本法
						0.480±0.028	0.297±0.026					[3]
						0.600±0.150	0.170±0.090	11.7±1.4	25±3	0.122±0.026		[13]
							0.2	12±1	25±3	0.11±0.01		NBS
										0.09±0.01		[14]
										0.116±0.013		[15]
Bovine liver												
2.0683	0.68	0.52	364	269	0.61	0.33	0.25	176	130	0.29		
1.4535	0.60	0.43	263	204	0.39	0.41	0.30	181	140	0.27		
					av.	0.37	0.28	179	135	0.28		本法
						0.00-0.02	0.225±0.007					[3]
							0.18	193±10	130±13	0.27±0.04		NBS
								191-216	118-133	0.26~0.32		[16]
								0.233±0.005	200±2	128±7	0.29±0.03	[17]
						0.033-0.600	0.240±0.060	132±10	132±10	0.276±0.023		[13]
										0.29±0.01		[14]
										0.45±0.02		[22]
								170±5	121±4	0.25±0.09		[23]

NBS:1977年米国標準局の分析値。

表3 国立公害研究所が発行している環境標準試料(池底質,リョウブ,クロレラ)中のバナジウム,コバルト,銅,亜鉛,カドミウムの定量

試料	検出量, μg					標準試料中の含有量, $\mu\text{g/g}$					文献	
	試料量, g	V	Co	Cu	Zn	Cd	V	Co	Cu	Zn		Cd
池底質												
0.2624	55.7	6.95	52.4	103	0.28	212	26.5	200	393	1.1		
0.2651	53.0	6.55	51.5	104	0.32	200	24.7	194	392	1.2		
					av.	206	25.6	197	393	1.2		本法
						250	27±3	210±12	343±17	0.82±0.06		[18]
リョウブ												
0.5018	0.52	10.0	6.34	180	3.40	1.04	19.9	12.6	359	6.78		
0.5069	0.41	10.1	6.89	191	3.43	0.81	19.9	13.6	377	6.77		
					av.	0.93	19.9	13.1	368	6.78		本法
						-0.23-0.58	23±3	12±1	340±20	6.7±0.5		[19]
クロレラ												
2.2253	1.30	1.90	7.22	49.2	0.14	0.58	0.85	3.24	22.1	0.06		
2.0272	1.12	1.68	6.67	45.1	0.16	0.55	0.83	3.29	22.2	0.08		
					av.	0.57	0.84	3.27	22.2	0.07		本法
							0.87-0.05	3.5±0.3	20.5±1.0	0.026		[20]
										0.024		[21]

表4 生体標準試料中のバナジウム, コバルト, 銅, 亜鉛, カドミウムの定量

試料 試料量, g	検出量, μg					標準試料中の含有量, $\mu\text{g/g}$				
	V	Co	Cu	Zn	Cd	V	Co	Cu	Zn	Cd
ホンダワラ										
1.9255	1.81	0.33	9.67	26.1	0.23	0.94	0.17	5.02	13.6	0.12
2.1236	1.94	0.25	10.8	28.8	0.24	0.91	0.12	5.09	13.6	0.11
2.0045	1.85	0.22	10.2	28.7	0.24	0.92	0.11	5.09	14.3	0.12
1.9396	1.79	0.25	10.0	27.8	0.24	0.92	0.13	5.16	14.3	0.12
					av.	0.92±0.01	0.13±0.03	5.09±0.06	14.0±0.4	0.12±0.01
玄米 (High Level)										
2.5954	0.59	0.06	9.24	49.4	4.76	0.23	0.02	3.56	19.0	1.83
2.5138	0.68	0.03	9.55	49.7	4.58	0.27	0.01	3.80	19.8	1.82
2.7319	0.55	0.06	10.0	54.0	5.14	0.20	0.02	3.66	19.8	1.88
2.2975	0.47	0.09	8.08	45.5	4.49	0.20	0.04	3.52	19.8	1.95
					av.	0.23±0.03	0.02±0.01	3.64±0.12	19.6±0.4	1.87±0.06
玄米 (Medium Level)										
2.9545	0.70	0.06	8.39	58.0	0.61	0.24	0.02	2.84	19.6	0.21
2.9272	0.89	0.03	8.21	56.8	0.88	0.30	0.01	2.80	19.4	0.30
3.1228	0.82	0.02	9.03	64.1	0.76	0.26	0.01	2.89	20.5	0.24
2.9271	0.57	0.06	8.79	54.9	0.88	0.19	0.02	3.00	18.8	0.30
					av.	0.25±0.05	0.02±0.01	2.88±0.09	19.6±0.7	0.26±0.05
玄米 (Low Level)										
2.9353	0.86	0.14	7.45	64.1	0.22	0.29	0.05	2.54	21.8	0.07
3.0708	1.01	0.13	7.61	67.4	0.22	0.33	0.04	2.48	21.9	0.07
2.9828	0.86	0.09	9.21	63.0	0.14	0.29	0.03	3.09	21.1	0.05
2.9062	0.96	0.10	8.25	60.7	0.14	0.33	0.03	2.84	20.9	0.05
					av.	0.31±0.02	0.04±0.01	2.74±0.28	21.4±0.5	0.06±0.01

以上の結果をもとに NIES が発行している生物標準試料のホンダワラと玄米の分析を行なった。その結果を表4に示す。ホンダワラ標準試料中のそれぞれの含有量は、バナジウム $0.92\mu\text{g/g}$ 、コバルト $0.13\mu\text{g/g}$ 、銅 $5.09\mu\text{g/g}$ 、亜鉛 $14.0\mu\text{g/g}$ 、カドミウム $0.12\mu\text{g/g}$ である。また、玄米標準試料についての High Level はカドミウム汚染米であり、Medium Level は中程度のカドミウム汚染米であり、Low Level はカドミウムに汚染されていない米である。それぞれの玄米中の金属含有量は、バナジウム $0.2\sim 0.3\mu\text{g/g}$ 、コバルト $0.02\sim 0.04\mu\text{g/g}$ 、銅 $2.7\sim 3.6\mu\text{g/g}$ 、亜鉛 $20\sim 21\mu\text{g/g}$ である。カドミウムの含有量は、汚染米が $1.9\mu\text{g/g}$ 、中程度汚染米 $0.3\mu\text{g/g}$ 、汚染されていない米が $0.06\mu\text{g/g}$ である。

参 考 文 献

- 1) T. S. West: 分析化学, 30, S103 (1981).
- 2) H. A. Schroeder, A. P. Nason: Clin. Chem., 17, 461 (1971).
- 3) T. Kiriyama, R. Kuroda: Analyst, 107, 505 (1982).
- 4) R. J. Lacoste, M. H. Earing, S. T. Wiberley: Anal. Chem., 23, 871 (1951).
- 5) J. A. Platte, V. M. Marcy: Anal. Chem., 31, 1226 (1959).
- 6) B. E. Salzman: Anal. Chem., 25, 492 (1953).
- 7) H. Hamaguchi, N. Onuma, M. Kishi, R. Kuroda: Talanta, 11, 495 (1964).
- 8) K. Kawabuchi, H. Hamaguchi, R. Kuroda: J. Chromatogr., 17, 567 (1965).
- 9) A. K. Majumdar, B. K. Mitra: Fresenius' Z. Anal. Chem., 208, 1 (1965).
- 10) T. Kiriyama, R. Kuroda: Anal. Chim. Acta, 101, 207 (1978).
- 11) D. E. Leyden, W. Wegscheider: Anal. Chem., 53, 1059A (1981).
- 12) R. van Grieken: Anal. Chim. Acta, 143, 3 (1982).
- 13) E. S. Gladney: Anal. Chim. Acta, 118, 385 (1980).

- 14) P. A. Legotte, W. C. Rosa, D. C. Sutton: *Talanta*, **27**, 39 (1980).
- 15) R. R. Greenberg: *Anal. Chem.*, **52**, 676 (1980).
- 16) L. G. Danielsson, D. Jagner, M. Josefson, S. Westerlund: *Anal. Chim. Acta*, **127**, 147 (1981).
- 17) M. Dermelj, A. Vakselj, V. Ravnik, B. Smodis: *Radiochem. Radioanal. Lett.*, **41**, 149 (1978).
- 18) 岡本研作: 国立公害研究所報告 第38号 1982.
- 19) 岡本研作: 国立公害研究所報告 第18号 1980.
- 20) 岡本研作: 国立公害研究所報告 第42号 1983.
- 21) R. K. Dubey, B. K. Puri: *Talanta*, **42**, 65 (1995).
- 22) X. W. Guo, X. M. Guo: *Anal. Chim. Acta*, **310**, 377 (1995).
- 23) A. M. Garcia Rodriguez, A. Garcia de Torres, J. M. Cano Pavon, C. Bosch Ojeda: *Talanta*, **40**, 1861 (1993).