

陰イオン交換分離—吸光光度法による生物試料中の銅の定量

桐山 哲也

(2006年10月18日 受理)

Anion-exchange Separation and Spectrophotometric Determination of Copper in Biological Materials

KIRIYAMA Tetsuya

要 約

陰イオン交換分離法と吸光光度法を組み合わせ、生物試料中の微量銅の定量法を開発した。

乾燥生物試料を420℃で、48時間加熱灰化する。灰化した試料に硝酸とフッ化水素酸を加え加熱し、残留する有機物とケイ酸塩を分解し、蒸発乾固する。残渣を塩酸に溶解、アスコルビン酸と水を加え、40℃に加温し、カラムに通す。吸着している銅を硝酸で溶離し、ジエチルジチオカルバミン酸法で定量する。本法を使って、幾つかの生物試料を分析した。

キーワード：陰イオン交換樹脂・生物試料・アスコルビン酸・銅・吸光光度法

1. 緒言

生物試料中の銅の定量法は種々の方法^{1) 2)}が提案されている。今回、塩化物形陰イオン交換樹脂を用いる塩酸—アスコルビン酸系から銅(II)を定量的に濃縮する方法³⁾を生物試料中の銅の分離法に適用した。ジエチルジチオカルバミン酸塩法を用いる吸光度法と組み合わせ、生物試料中の銅を定量する方法を開発したので報告する。

2. 実験

2.1 試薬と装置

銅(II)標準溶液；塩化銅(II) ($\text{CuCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)を0.1M塩酸溶液に溶解した。濃度は1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール(PAN)を用いるEDTA滴定法により測定したところ、5.30mg/mlであった。

陰イオン交換カラム；内径1cmのガラス管に Cl^- 形のAmberlite CG 400 2.0gを詰めた。ベッドの高さは4.5cm。

ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム溶液；0.13gのジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム

を水に溶解して100mlとした。

pH 9 クエン酸緩衝溶液；クエン酸10.0gを水50mlに溶かし，(1 + 1) アンモニア水でpH 9に調節し，水で薄めて100mlとした。

分光光度計；日立100-10型分光光度計を使用した。

セルは光路長20mmのガラスセルを使用した。

2.2 試料の前処理

採取した試料を85℃において3日間乾燥する。乾燥試料の約2gを分取し，420℃で48時間加熱灰化する。灰化した試料に(1 + 1) 硝酸10mlを加え，加熱し蒸発乾固する。この操作を数回繰り返す，有機物を分解する。有機物を分解したら，フッ化水素酸2mlを加え，加熱してケイ酸塩を分解し，蒸発乾固する。

2.3 分析法

2.2の残渣に1M塩酸10mlを加え溶解する。アスコルビン酸1.8gと水90mlを加え，40℃に加温し，カラムに通す。試料が流れ終わったら，0.1M塩酸-0.1Mアスコルビン酸溶液100mlでカラムを洗浄する。吸着している銅を1M硝酸20mlで溶離する。流出液は水15mlを入れた分液ロートに受ける。pH 9 クエン酸緩衝溶液5mlと，0.1%チモールブルー指示薬数滴を加え，青色を発するまで(1 + 1) アンモニア水を加える。ジエチルジチオカルバミン酸塩溶液2ml，四塩化炭素10.0mlを加え，3分間激しく振り混ぜる。四塩化炭素層をセルに取り，440nmにおける吸光度を測定する。

3. 結果と考察

塩化物イオン濃度を0.1Mに保ち，pHを1および2に調節し，アスコルビン酸濃度を変化させて，Cl⁻形のAmberlite CG 400に対する銅(II)イオンの分配係数K_dをバッチ平衡法で測定した。その結果を表1に示した。K_dはアスコルビン酸濃度の減少と共に減少する。アスコルビン酸濃度0.1MにおけるK_d値はpH 1では 3.8×10^3 ，pH 2では 4.3×10^3 であり，強く吸着する。アスコルビン酸系における銅(II)のK_d値はpH 1よりもpH 2の方が大きい。生物試料中に含まれる鉄，アルミニウムなどの無機成分を加水分解させないために，pH 1で実験を行なう事にした。

表1 塩化物形陰イオン交換樹脂に対する銅(II)の分布係数

	アスコルビン酸濃度/M			
	0.30	0.10	0.030	0.010
pH 1	3.85×10^3	3.82×10^3	2.37×10^3	3.8
pH 2	4.30×10^3	4.29×10^3	3.69×10^3	7.2

0.1M塩酸—0.1Mアスコルビン溶液100mlにCu(II)53.0 μg を加え、Cl⁻樹脂 2gを詰めたカラムに通す。0.1M塩酸—0.1Mアスコルビン溶液100mlでカラムを洗浄し、1 M硝酸溶液で吸着している銅を溶離した。銅の回収率は数%と悪かった。銅とアスコルビン酸との反応速度が遅いためと考え、カラムに通す前に試料を40℃に加熱した。その結果、1 M硝酸溶液20mlで定量的に溶離する事が出来た。

生物試料には、玄米や海藻、お茶などのような植物試料、頭髮やムラサキガイなどのような動物試料など多種多様の試料が存在する。主成分元素の影響を調べるため合成試料を作り、銅の一定量を加え分析を行なった。合成試料は、米国標準局(NBS)が発行している植物試料のうちOrchard leaves を植物試料の代表として選び、また、動物試料の代表として Bovine liver を選び、これらの試料の主成分元素含有量を参考にした。すなわち、合成試料の主成分含有量はこれらの試料を燃焼させた灰0.5g中に含まれる主成分含有量のうち多い方の値を用い、それらの含有量を下回らないようにした。この合成試料に、銅(II)の一定量を加え分析を行った。その結果を表2に示した。回収は定量的であり、主成分元素の影響は無い。以上の結果をもとに、実際の試料の分析を行なった。茶葉から11.7±0.5Mg/gの銅が、ブタの肝臓から28.5±0.5Mg/gの銅が、ヒジキから1.17±0.05Mg/gの銅が検出された。その結果を表3に示した。表3には添加実験の結果も合わせて示したが、回収は何れも定量的であった。

表2 模擬試料中の銅(II)の定量

添加量	検出量
Cu(II)、μg	Cu(II)、μg
0.0	0.25 0.18 0.20 av. 0.21±0.04
5.30	5.46 5.53 5.49 av. 5.49±0.04

合成生物試料の組成は、Na⁺44mg、K⁺122mg、Mg²⁺38mg、Ca²⁺157mg、Al³⁺31mg、Fe³⁺22mg、H₃PO₄440mg である。

表3 生物試料中の銅の定量

試料量、g	添加量、 $\mu\text{g/g}$	検出量、 $\mu\text{g/g}$	含有量、 $\mu\text{g/g}$
緑茶			
0.9468	0	10.3	10.9
0.8620	0	10.5	12.2
0.9521	0	11.0	11.6
1.0633	5.30	17.6	11.6
1.0722	10.6	23.6	12.1
			11.7 \pm 0.5
豚の肝臓			
0.4782	0	13.7	28.6
0.4888	0	13.6	27.8
0.5122	0	14.7	28.7
0.6418	5.30	24.0	29.1
0.4633	10.6	23.8	28.5
			28.5 \pm 0.5
ヒジキ			
2.0002	0	2.18	1.09
1.8658	0	2.26	1.21
1.8222	0	2.11	1.16
1.9727	2.65	4.99	1.19
1.9623	5.30	7.61	1.18
			1.17 \pm 0.05

文献

- 1) Photometric Determination of Traces of metals : Fourth Edition Part II A (John Wiley & Son,) ; H.Onishi, p 508(1986).
- 2) 超微量成分分析 1 -地球化学的試料, 浜口博編, p 293, (1970).
- 3) 桐山哲也 ; 分析化学 ; 43 223(1993).