

溶媒抽出—ICP 発光分析法による貝の硬組織中 多元素の定量に関する研究

藤野 治, 福井博章

The Study on the Determination of Multi-Elements in Hard Tissues of Shellfish by Solvent Extraction-ICP-AES

Osamu Fujino and Hiroaki Fukui

*Research Institute for Science and Technology, Kinki University,
Kowakae, Higashi-Osaka 577-8502, Japan*

(Received, November 19, 2001)

Abstract

The method of determination of manganese, iron, zinc and copper in shell sample was examined using solvent extraction - ICP-AES(inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry). Spectral interference and negative interference by calcium in shell sample for these 4 elements existed simultaneously. Therefore, manganese, iron, zinc and copper were separated from macro-calcium using solvent extraction. Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate was used as an extraction reagent. In addition, hexyl acetate was selected as the extraction organic solvent. Manganese, iron, zinc and copper were quantitatively extracted at pH6, and separated from calcium using this extraction system.

Keywords: ICP-AES, Shellfish, Solvent extraction, Ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, Hexyl acetate

1. はじめに

天然試料中の微量元素の定量に対し感度, 精度にすぐれ, かつ迅速性に富む ICP 発光分析法が広く利用されている。しかし, 微量元素を定量する際, 試料の種類や被検元素および測定波長によっては, 多量の共存塩による干渉並びに測定感度の不足などが生じることが多く, 測定前に化学的な処理, 例えば溶媒抽出法^{1) 3)}, イオン交換法⁴⁾, あるいは共沈殿法^{5) 6)}などによって分離や濃縮が行われている。

生体の硬組織である貝殻や真珠および珊瑚などは炭酸

カルシウム(CaCO_3)を無機主成分としており, また有機物としてコンキオリンが数パーセント含まれている。近年, これら試料中の微量元素の含量や分布および蓄積挙動について, 環境汚染のインディケーターとして環境科学的見地から注目されるようになった。

そこで著者らは貝の硬組織中の極微量元素 Fe, Cu, Zn, Mn の含量や分布および蓄積挙動に関する知見を得ることを目的に, 測定系に誘導結合プラズマ発光分析法(以後

, ICP-AES と略記)を用いて, これら4 元素の測定・定量に関する分析化学的基礎検討を行った。その結果, これら4 元素(Mn, Fe, Zn, Cu)は, 多量成分カルシウムにより物理的, 化学的および分光学的干渉を受けた。⁷⁾

従って, ICP-AES によりこれら微量元素を測定する前に, マクロ成分カルシウムから分離する前処理法が必要であり,

2. 実験

2.1 試薬および装置

使用した標準溶液, 試薬類, 有機溶媒類はすべて和光純薬株式会社, またはナカライテスク株式会社製の特級および精密分析用を使用した。

また, 発光測定には日本ジャーレルアッシュ株式会社製の高周波アルゴンプラズマ発光分析装置 ICAP-575 型を使用した。周波数 27.12MHz, 定格最大出力 2kW, 分光部は焦点距離 0.75m のツェルニターナ型, 回折格子は 1800 溝数/mm, 入射および出射スリット幅は共に 10 μ m, プラズマトーチは石英ガラス製を, ネブライザーにはクロスフロー型を用いた。pH メーターは岩城硝子株式会社製ガラス電極式水素イオン濃度計 M-225 型を, 遠心分離器は株式会社久保田製作所製卓上用小型遠心器 KC-25 型を, 振とう器はイワキ産

3. 結果と考察

APDC-酢酸ヘキシル系において Mn, Fe, Cu, Zn 各イオンの抽出率に対する pH や抽出有機溶媒種の効果, またキレー l 試薬濃度, 緩衝溶液(酢酸)濃度, クエン酸濃度および水相 (Va) と有機相 (Vo) との容積比(以後, Va/Vo と略記)の影響, さらに抽出後の経時時間による発光強度の変化, 測定条件, イケチョウ貝を対象とした人工試料溶液を作成し, それに対する本抽出法の適用性などについて詳細に検討した。

なお, 抽出率 E (%) は次の (1) 式より求めた。

$$E(\%) = D \times 100 / (D + V_a / V_o) \quad (1)$$

但し, D : 分配比, V_a : サンプル (水相) の容量, V_o : 抽出有機溶媒 (有機相) の容量である。

3.1 抽出キレー l 試薬の選択

本研究の目的に沿い, かつ前処理法としての溶媒抽出法に適合できるキレー l 試薬は遷移金属元素と安定なキレートを形成し, アルカリ金属やアルカリ土類金属とは結合しないものを選ぶ必要がある。一般に最適試薬としては S,S 配位の 2 座配位子ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム^{8) 11)}(以後, DDTC と略記)がよく用いられるが, ここでは実試料の貝殻を無機酸類により分解し, 酸性溶液にすることおよび抽出時に水酸化物の生成を防ぐことから, DDTC と同じ S,S 配位ではあるが, より酸解離定数の大きい APDC を用いることにした。その構造式は Fig.1 に示した。

その方法として溶媒抽出法を採用することにした。抽出キレー l 試薬には 4 元素の定量的抽出と干渉元素 Ca からの分離という目的に適合し得るアンモニウムピロリジンジチオカルバミン酸塩 (以後 APDC と略記) を選択し, これら 4 種の金属イオンと Ca の抽出挙動を詳細に検討した。

業株式会社製 KM 式万能シューカー V-SX 型を使用した。

2.2 溶媒抽出操作

20 μ l ビーカーに Mn, Fe, Zn, Cu の各イオン 100ppm と Ca の 100ppm 溶液を各々 1 μ l とり, 次に緩衝溶液として pH1 μ l 3 については蟻酸を, また pH4 μ l 6 に対しては酢酸を, さらにクエン酸水素二ナトリウムを加えた後, HCl 又は NH_4OH を用いて pH を調整し, H_2O で全容積を約 10 μ l とした。次に, この溶液を分液ロー R に移した後, APDC と酢酸ヘキシル 10 μ l を加え, 10 分間振とう後, 水相と有機相をそれぞれ遠心分離管に移した。遠心分離後, 有機相の各元素の濃度を ICP-AES で測定し, 抽出率を求めた。

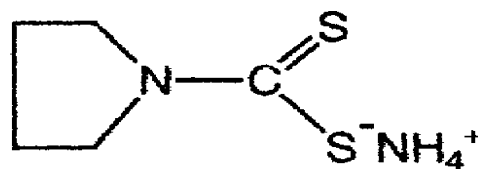


Fig. 1

3.2 抽出有機溶媒の選択

ICP に適用し得る有機溶媒としてはケトン類^{8) 11)}などが知られているが, これらは ICP においてネブライズ中に独特の悪臭を伴い, かつ測定中および測定後ネブライザーやトーチに付着したものが水で洗浄され難く, それらがバックグラウンドの上昇に繋がることもあることから, ここではエステル系においてプラズマを消滅させず, またトーチに炭素が付着せず, かつ水で洗浄しやすい溶媒を選択するため多くのエステル系について検討し, その結果を Table 1 に示した。

一般に炭素数が少なく蒸気圧の大きい酢酸エチルはプラズマに導入すると, すぐに消滅し, また酢酸プロピルは実際にプラズマに導入し数分間程度は安定であったが, それ以上長い時間導入しつづけるとプラズマに炭素が付着し易くなり, 酢酸イソブチル, 酢酸ブチル, 酢酸ペンチルでは水に対する溶解性を調べた結果, いずれも水によく溶け, 抽出有機溶媒としては不適切であった。これらに対し酢酸ヘキシルや酢酸ヘプチルは V_a/V_o が 100 の時, 水に対する溶解性を調べた結果, 全く不溶で, 酢酸オクチルになると同条件下で 3% 損失する程度であり, 抽出有機溶媒として十分に適用できる

ものであった。それ以上の炭素数の多い酢酸ノニル以上になると粘性が増大するため、ネブライザーがつまり易くなった。

以上の結果より、酢酸ヘキシル、酢酸ヘプチル、酢酸オクチルはいずれも粘性が低く、長時間の噴霧においてもトーチへの炭素の付着もなく、水にとけ難く、またネブライザーに付着したものの除去がケトンより容易で、かつケトン類のような臭気がないことから、いずれも優れた有機溶媒であった。

Table 1. Stability of the plasma to the organic solvents on ester

Organic solvents	Plasma	Sample flow rate (ml/min)
Ethyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$	extinguishment	N.D.
Propyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_3\text{H}_7$	stable	3.4
iso-Butyl acetate $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	stable	3.25
n-Butyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_4\text{H}_9$	stable	3.25
Pentyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_5\text{H}_{11}$	stable	2.82
Hexyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_6\text{H}_{13}$	stable	2.8
Heptyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_7\text{H}_{15}$	stable	2.62
iso-Octyl acetate $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{C}_4\text{H}_9$	stable	2.6
n-Octyl acetate $\text{CH}_3\text{COOC}_8\text{H}_{17}$	stable	2.4
Nonyl acetate $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$	stable	2.2
n-Decyl acetate $\text{CH}_3\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$	stable	2.1
Undecyl acetate $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_3$	stable	1.9
Dodecyl acetate $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$	stable	1.8

*Measuring condition; Carrier gas flow rate: 0.50 l/min, RF power: 2.0kW, Ar(+5%O₂): 0.20 l/min

3.3 溶媒抽出法

3.3.1 pH と抽出有機溶媒の影響

抽出有機溶媒として酢酸ヘキシル、酢酸ヘプチル、酢酸イソオクチル、酢酸オクチルのエステル 4 種を用いて Mn, Fe, Zn, Cu の各イオンの抽出率に対する pH の影響について、pH1—8 の範囲で検討し、その結果を Fig.2—5 に示した。Mn は pH4—6, Fe は pH6—8, Zn は pH5—8, Cu は pH1—8 において各々ほぼ定量的に抽出された。

またいずれの元素も pH6 において同時に抽出され、図中には示していないが、pH1? 8 においてカルシウムは全く抽出されないことが明らかとなった。これらの結果から、4 元素とカルシウムとの分離という点では十分満足できる結果であっ

た。また、いずれの金属元素の抽出に対してもここで検討した有機溶媒種による効果は認められなかったので、以後は安価で純度が高い酢酸ヘキシルを用いることにした。

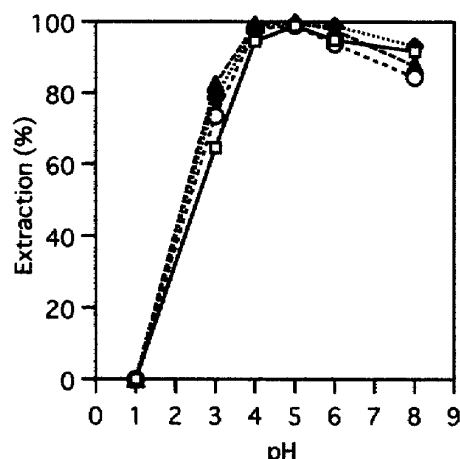


Fig.2 Extraction efficiencies of manganese with organic solvents.

APDC: $4.44 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$

—□— hexyl acetate ◆..... heptyl acetate
○.... iso-octyl acetate ---▲--- n-octyl acetate

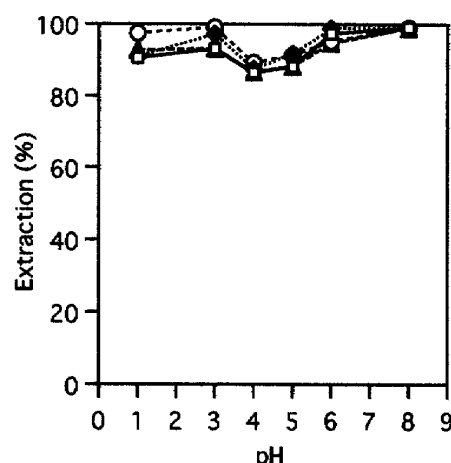


Fig.3 Extraction efficiencies of iron with organic solvents.

APDC: $4.44 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$

—□— hexyl acetate ◆..... heptyl acetate
○.... iso-octyl acetate ---▲--- n-octyl acetate

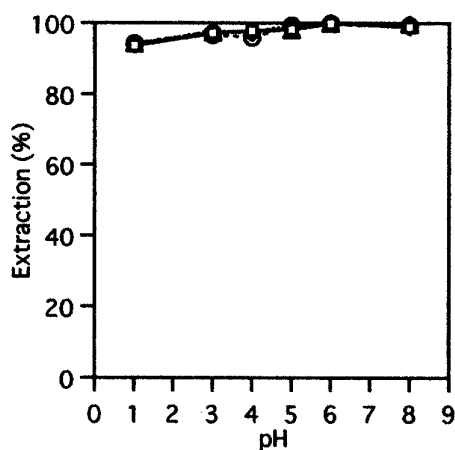


Fig.4 Extraction efficiencies of zinc with organic solvents.

APDC: $4.44 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$

—□— hexyl acetate ·····◆···· heptyl acetate
 ·····○···· iso-octyl acetate -▲- n-octyl acetate

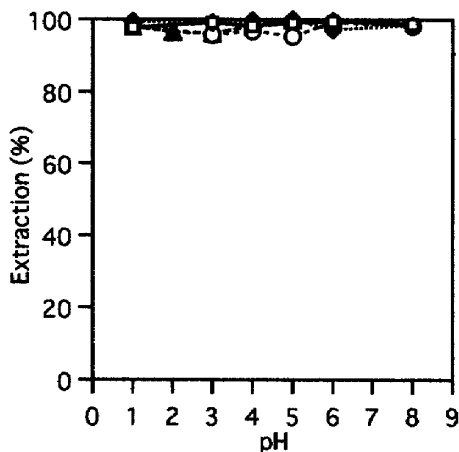


Fig.5 Extraction efficiencies of copper with organic solvents.

APDC: $4.44 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$

—□— hexyl acetate ·····◆···· heptyl acetate
 ·····○···· iso-octyl acetate -▲- n-octyl acetate

3.3.2 APDC 濃度の影響

4元素の抽出時における APDC 濃度と抽出率との関係を調べ、その結果を Fig.6 に示した。それぞれの元素が定量的に抽出されるためには APDC 濃度が Cu に対しては $6 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ (0.01%), Fe には $3 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ (0.05%), Zn には $6 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ (0.1%) さらに Mn においては $4 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$ (0.6%) 以上の濃度が必要であることを示した。

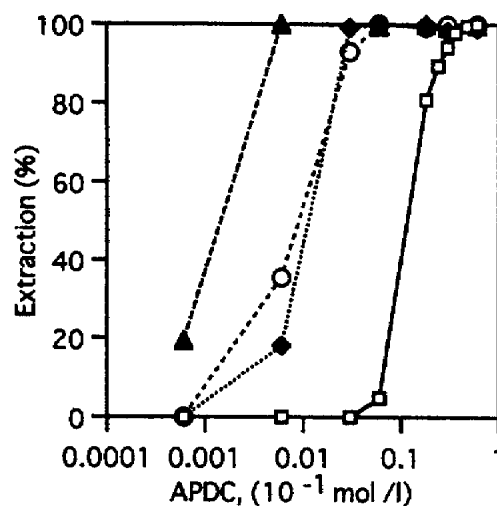


Fig.6 Effect of APDC concentrations for Mn, Fe, Zn and Cu at pH6.

—□— Mn ·····◆···· Fe
 ·····○···· Zn -▲- Cu

3.3.3 酢酸濃度の影響

pH6 において金属イオンの抽出を行うことから、pH の緩衝剤として酢酸を用いることにして、ここではその酢酸濃度を $0.01 \sim 1 \text{ mol/l}$ の範囲で変化させ、その影響を検討し、結果を Fig.7 に示した。0.1mol/l 以上になると4元素ともに抽出率が95%以上であり、また抽出後の水相の pH を測定した結果、酢酸濃度を0.1mol/l 以上にすると pH の変動も少なく、緩衝効果があり、また Mn の抽出率に対しても上昇効果を示している。

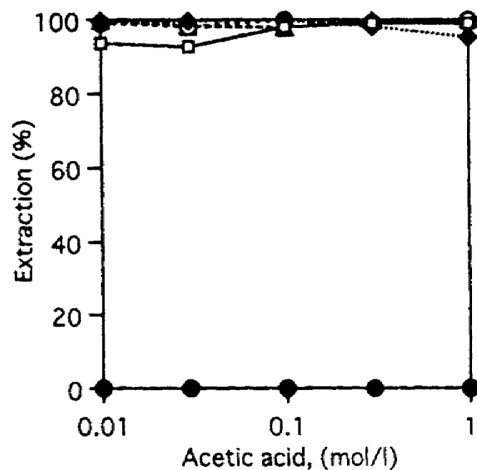


Fig.7 Effect of acetic acid concentrations for Mn, Fe, Zn, Cu and Ca at pH6.

—□— Mn ·····◆···· Fe ·····○···· Zn
 -▲- Cu -●- Ca

3.3.4 クエン酸濃度の影響

Fe の抽出の場合 pH3 以上になると、Fe の水酸化物が生成するためか、Fe の抽出率が低下した。そこで、Fe の水酸化物のマスキング剤としてクエン酸水素二ナトリウムを用いることにして、ここでは $10^{-4} \sim 10^{-1} \text{ mol/l}$ の濃度範囲において抽

出率を求め、その結果をFig.8 に示した。 5×10^{-3} - 10^{-2} mol/? の範囲で4 元素ともに抽出率が95%以上であり、この濃度範囲以下ではFe の抽出率が下がり、またこの濃度範囲以上になるとMn の抽出率が低下した。これはクエン酸濃度が高くなるにつれてクエン酸錯体を形成し易くなり、Mn の抽出率が低下するのではないかと考えられる。従って、今後は試料溶液中でのクエン酸濃度は 7×10^{-3} mol/?にて4元素を抽出することにした。

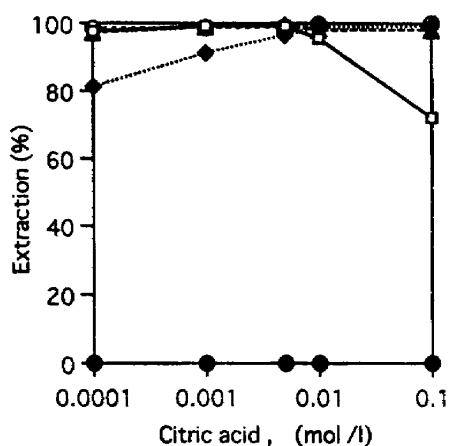


Fig.8 Effect of citric acid concentrations for Mn, Fe, Zn, Cu and Ca at pH6.



3.3.5 Va/Vo(水相と有機相との容積比)の影響

水相と有機相との容積比の影響については Va/Vo を0.5 ? 3 の範囲内で変化させ、その結果を Fig.9 に示した。この Va/Vo の範囲では Fe, Cu, Zn は抽出率に変化はないが、しかしMn はAPDC とのキレートの安定度が低く、分配比が小さいので、Va/Vo が増加する程、抽出率は低下している。従って、今後は Mn を含めた抽出操作を行なうには、検量線および試料溶液を一定容量にして行なう必要があった。

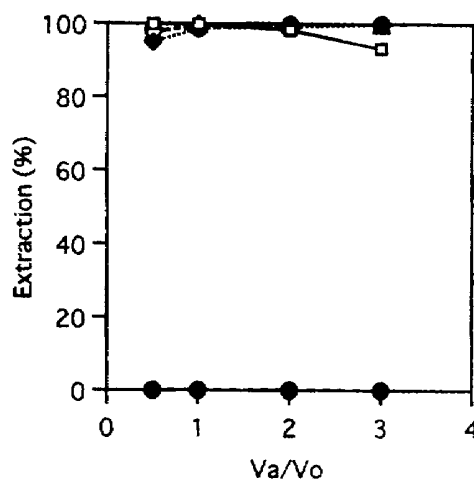
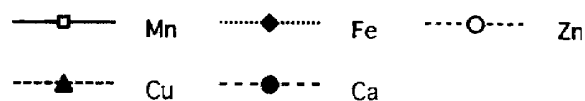


Fig.9 Effect of volume ratio (Va/Vo) of the aqueous (Va) and the organic (Vo) phase for Mn, Fe, Zn, Cu and Ca.



3.3.6 経時変化

抽出してから約 10 分後をスタート、即ち 0 時間として、1 時間間隔で4 元素の発光強度の測定を3時間後まで計4 回行い、その結果をFig.10 に示した。この結果から、Mn を除く3 元素に対する強度比はほぼ 1 前後で変化が見られなかったが、Mn においては時間を経るにつれ、抽出率が下がった。従って、抽出後なるべく早く測定することが望まれ、今後は抽出してから約 10 分以内に測定する必要があった。

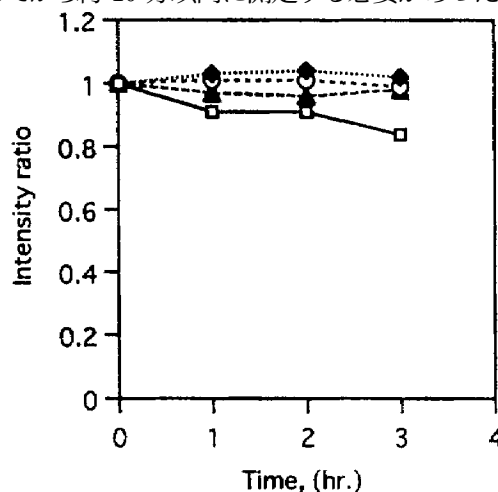
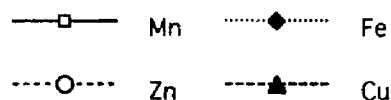


Fig.10 Variation of intensity ratio with time .



3.4 有機溶媒中各元素の測定条件の設定

抽出後の有機相をICPに導入し、各元素の発光強度に対する測定条件を調べた。得られた結果から最大発光強度を示す測定条件をTable 2 に示した。以後、この条件下で抽出することにした。

Table 2. Measuring conditions in APDC-hexyl acetate system.

Element	Wavelength (nm)	Carrier gas flow rate (l/min)	RF power (kW)	Carrier gas pressure (kg/cm ²)	Plasma*
Mn	257.61	0.30	2.0	3.0	0.30
Fe	238.204	0.30	2.0	3.0	0.30
Zn	213.856	0.30	2.0	3.0	0.30
Cu	324.754	0.45	2.0	3.0	0.30

*Ar+5%O₂

3.5 人工貝殻試料溶液中の微量元素の定量

ここでは本溶媒抽出法が実試料貝殻分析における前処理法としての適用性を更に検討するため、イケチョウ貝を対

References

- 1) J.D. Kinrade, J.C. Van Loon, Anal. Chem., **46**, 1894(1974).
- 2) R.J. Everson, H.E. Parker, Anal. Chem., **46**, 1966(1974).
- 3) J.C. Chambers, B.E. McClellan, Anal. Chem., **48**, 2061(1976).
- 4) J.P. Riley, D. Taylor, Anal. Chim. Acta, **40**, 479(1968).
- 5) D.C. Burrell, Anal. Chim. Acta, **38**, 447(1967).
- 6) Y.K. Chau, P.Y. Wan, Talanta, **15**, 867(1968).
- 7) O.Fujino, et.al, Jpn. J. Limnol., **60**, 610(1999).
- 8) 重松, 松井, 藤野, 分化誌, **22**, 1162(1973).
- 9) 重松, 松井, 藤野, 木下, 日化誌, (11)2123(1973).
- 10) T. Shigematsu, M. Matsui, O. Fujino, K. Kinoshita, Anal. Chim. Acta, **76**, 329(1975).
- 11) 重松, 松井, 藤野, 三野, 永広, 日化誌, (8)1328(1975).

象とした人工貝殻試料溶液を作成し、定量を行った。その結果をTable 3に示した。この結果より多量のカルシウムの存在下において、いずれの元素も理論値と測定値とがよく一致しており、本法が貝殻中の微量元素の ICP 発光分析法における前処理法として優れた方法であることが明らかとなった。

Table 3. Determination of elements in synthetic shell sample solution.

Element	Prepared concentration (ppm)	Measured concentration (ppm)
Mn	75	72.5±0.40
Fe	10	10.0±0.24
Zn	0.7	0.76±0.04
Cu	1	1.00±0.04

*mean±standard deviation at 3 times determination