



THE HITACHI

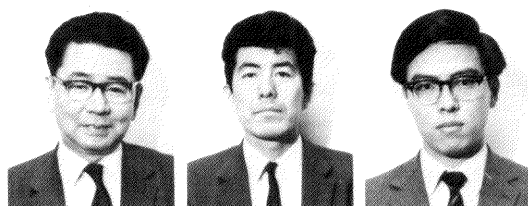
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

AUGUST 1971

Vol.14 No.4

ビタミンAおよびビタミンE混合液の2波長分光測光法による 分別定量

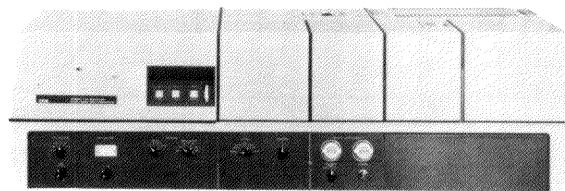
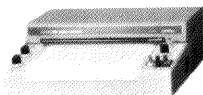
太幡利一 * 飯尾利弘 * 大熊哲汪 *



太幡利一

飯尾利弘

大熊哲汪



356形 日立2波長/自記分光光度計

ビタミンA(以下V.Aという)と、ビタミンE(以下V.Eという)混合試料中の各々の成分の定量法として、V.A¹⁾の場合には紫外部吸光度法である Morton-Stubbs補正法および三塩化アンチモンによる比色法が用いられている。前者は過補正となり、V.Aの含量が低く評価され、後者は三塩化アンチモンによる呈色が秒単位で変化するため測定値にバラツキが生じ易い。また、V.AとV.Eの混合試料中のV.Eの定量法として、Emmerie-Engel法があるが、この方法ではV.Eの含量が高く評価される。このような問題を解決するために、アルミナカラムクロマト法²⁾、ポリエチレングリコール保持セライト法³⁾およびセファデックスLH-20を用いるゲル濾過法⁴⁾のようにV.AとV.Eをあらかじめ分離し、V.AをMorton-Stubbs補正法で、またV.EをEmmerie-Engel法で定量する方法が考案されている。しかし、これらの方法は操作が複雑であり、しかも分離に時間がかかるため、最良の方法とはいえない。そこで著者らは、B.Chance⁵⁾により開発された2波長分光測光法を用い、V.AアルコールとV.EおよびV.AアセテートとV.Eの混液中のそれぞれの成分の定量を試み、満足できる結果を得たのでここに報告する。

実験

試薬・試料

- (1)V.Aアセテート
- (2)V.Aアルコール：V.Aアセテートをアルカリケン化法を用いて得た。
- (3)V.E：dl- α -Tocopherolを用いた。
- (4)溶媒：イソプロピルアルコール試薬特級を用いた。

機器

356形 日立2波長/自記分光光度計

試料の調製

紫外部吸収スペクトルおよび差吸光度の測定はすべてイソプロピルアルコールを用い試料を調製した。

(1)V.AアルコールとV.Eの吸収スペクトル

V.Aアルコールの λ_{max} は324.5nm、V.Eの λ_{max} は292.0nmである。両者が共存する場合は、互に λ_{max} に影響を与

Absorption spectra of retinol and tocopherol

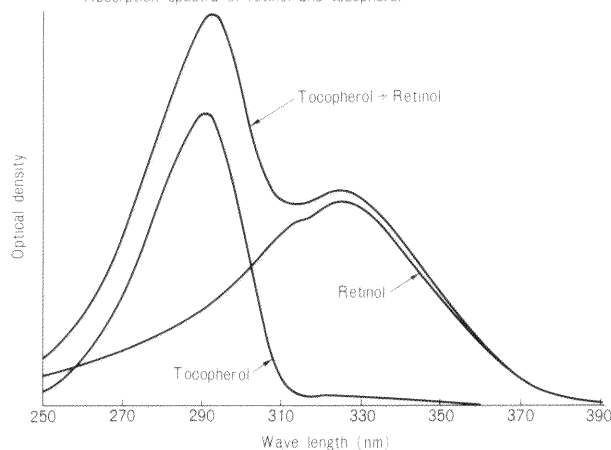


図1 ビタミンAアルコールとビタミンEの吸収スペクトル

え(図1)、 λ_{max} における吸光度から直接各々の含量を求めることは不可能である。

(2)2波長分光測光法によるV.Aアルコールの定量

1. λ_1 , λ_2 の決定

λ_1 をV.Aアルコールの λ_{max} である324.5nmにとればよいのであるが、V.Eの吸収スペクトルから明らかなようにV.Eには324.5nmの同吸光度波長は存在しない。したがって、 λ_1 を324.5nmより短波長側に移動して305.0nmに

目次

■ビタミンAおよびビタミンE混合液の2波長分光測光法による分別定量	太幡利一、飯尾利弘、大熊哲汪……………	1
■ゴーレイカラムによる		
和種はつか油セスキテルペンの分析……………	矢島 満……………	4
■ガスクロマトグラフィによるステロイドホルモンの測定……………	佐竹 実、水元修治、田中昭……………	6
■原子吸光法によるカドミウムと水銀の分析……………		
	山田英雄、内野興一……………	8

とり、V.Eの同吸光度波長を調べると270nm前後であった。次いで、分析精度を上げるために、 λ_2 を270nmから0.2nmずつ移動し、V.Eの濃度変化によるそれらの場合の差吸光度の変化を記録し、その様子を図2に示した。以上の結果から λ_2 を270.8nmと決定した。したがって、2波長分光測光法の原理より、 λ_1 と λ_2 における差吸光度を測定することによりV.Eの濃度変化による影響が除去でき、V.Aアルコールに基因する差吸光度 ΔA がBeerの法則に従うならば、V.A、V.E混液中のV.Aアルコールの定量は可能である。

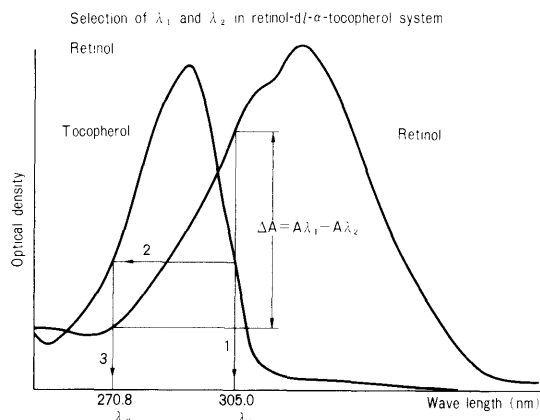


図2 ビタミンAアルコール定量の際の λ_1 、 λ_2 の決定

2. V.Eの濃度変化と差吸光度

1.の実験で明かなように、差吸光度 $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ はV.Eの濃度変化には影響されないのであるが、ここでV.Aアルコールを12.5IU/mlと一定濃度に保ち、V.Eを0~100 μ g/ml含有する6種の混液を調製し、 ΔA を測定した。結果は図3に示すように0.395と一定の吸光度を示し、大量のV.Eが混合した場合であっても ΔA は変化しない。

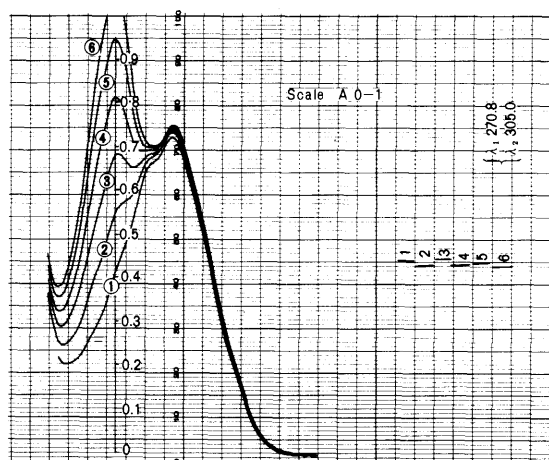
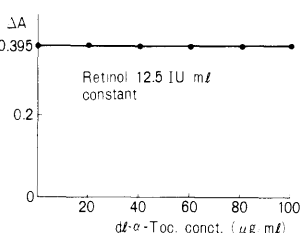


図3 ビタミンEの濃度変化と差吸光度



3. V.Aアルコールの定量直線

V.Eを100 μ g/mlと一定濃度に保ち、V.Aアルコールを0~0.625IU/mlと含有する混合液を調製し、それらの差吸光度 ΔA を測定した。結果は図4に示すとおり、 ΔA は直線性を示し、V.AアルコールとV.Eの混液中のV.Aアルコールを0.1IU/mlの濃度まで正確に定量できることを示している。

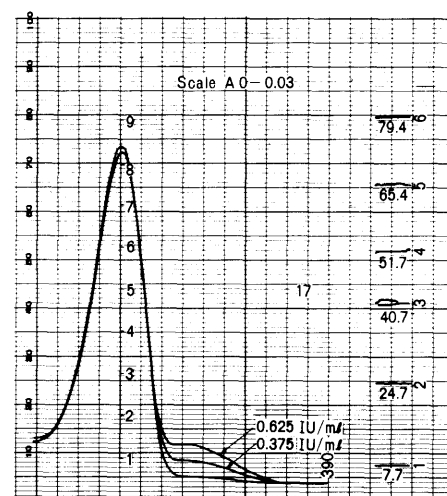
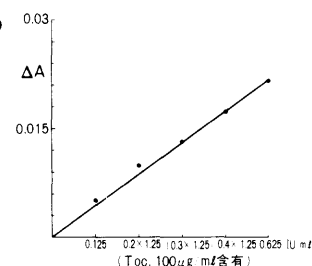


図4 ビタミンAアルコールの定量直線



(3) 2波長分光測光法によるV.Eの定量

1. λ_1 、 λ_2 の決定

λ_1 をV.Eの $\lambda_{\max}$ である292.0nmとし、V.Aアルコールの吸収スペクトルからV.Aアルコールの λ_1 に対する同吸光度波長を求めると350nm付近であった。次に分析精度を上げる目的で、 λ_2 を350nm付近で0.1nmずつ移動し、V.Aアルコールの濃度変化によるそれぞれの場合の差吸光度を記録し、この様子を図5に示した。この結果 λ_2 は349.9nmと決定した。

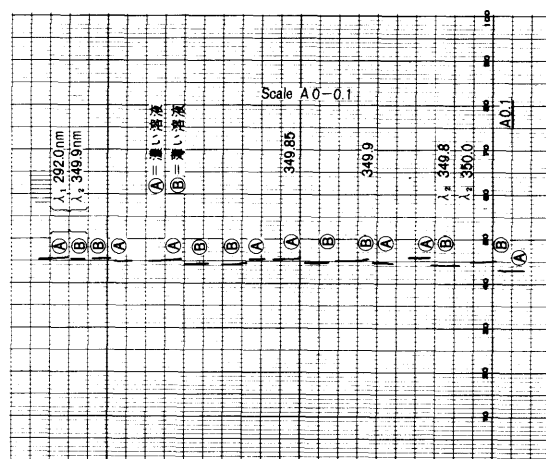
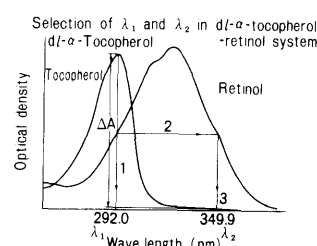


図5 ビタミンE定量の際の λ_1 、 λ_2 の決定



2. V.Aアルコールの濃度変化と差吸光度

1の結果より明かなように、差吸光度 ($\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$)はV.Aアルコールの濃度変化には影響されないが、その詳細を検討するため、次の実験を行った。V.Eを10 μ g/ml

と一定濃度に保ち、V.Aアルコールを0～100IU/ml含有する混液を調製し、 ΔA を測定した。結果は図6に示すように、 $\Delta A 0.06$ と一定の値であり、 $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ は100IU/mlという非常に高濃度のV.Aアルコールが混合されていても変化しないことがわかった。

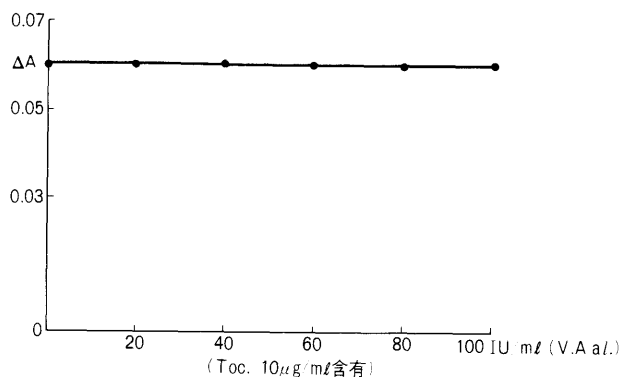


図6 ビタミンAアルコールの濃度変化と差吸光度

3. V.Eの定量直線

V.Aアルコールを25IU/mlと一定濃度に保ち、V.E濃度を0～10 μ g/mlと変化させた混合溶液を調製し、これらの差吸光度 ΔA を測定した。

この結果、 ΔA は図7に示すように直線性を示し、高濃度のV.Aアルコールに混合しているV.Eを1 μ g/mlの濃度まで正確に定量することがわかった。

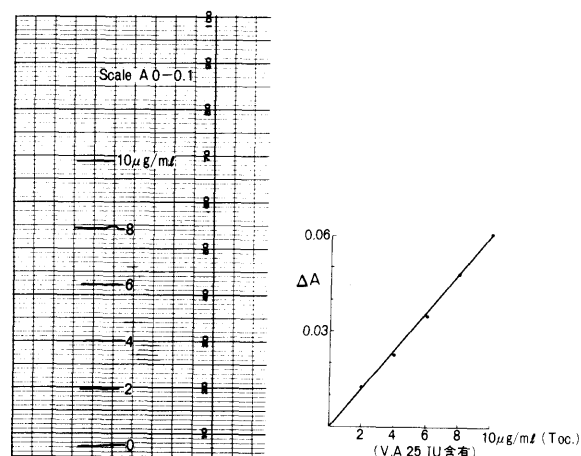


図7 ビタミンEの定量直線

(4) 2波長分光測光法によるV.Aアセテートの定量

1. λ_1 , λ_2 の決定

V.AアセテートとV.Eの混合溶液中のV.Aアセテートを定量するためには、(2)の1の場合と同様に、V.Eの濃度が異なる3種の溶液について λ_1 を305.0nmとし、 λ_2 を常法により0.1～0.2nmずつ移動し、その差吸光度 ΔA が一定の値を示す波長を求めると、270.8nmであった。したがって、 $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ の値はV.Eの濃度変化には影響されないことが明らかとなった。

2. V.Aアセテートの定量直線

V.Eを100 μ g/mlと一定濃度に保ち、V.Aアセテートを0～1.3IU/mlおよび0～0.13IU/mlと変化させた混合溶液を用い、差吸光度 ΔA を測定した。結果は図8に示すように、 ΔA とV.Aアセテートの濃度には直線関係があり、大量のV.Eが存在する試料中の微量のV.Aアセテートを0.1IU/mlの濃度まで正確に定量することができた。

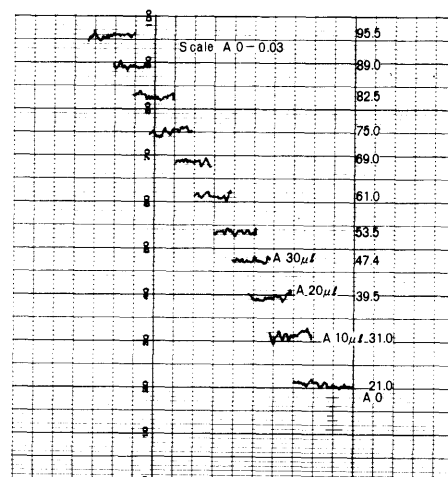
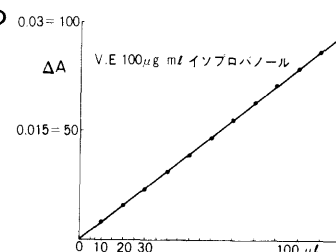


図8 ビタミンAアセテートの定量直線



(5) 2波長分光測光法によるV.Eの定量

1. λ_1 , λ_2 の決定

V.AアセテートとV.Aアルコールは、 λ_{max} がそれぞれ326.0nm、324.5nmとわずかに異なっているため、(3)の1で決定した λ_1 , λ_2 はそのまま用いることはできない。したがって、まずV.AアセテートとV.Eの吸収スペクトルを測定し、作図法により λ_1 をV.Eの λ_{max} である292.0nmとし、V.Aアセテートの λ_1 に対する同吸光度波長を求めたら、 λ_2 は352nm付近であった。次いで、分析精度を上げる常法により λ_2 をわずかなずつ移動し、V.Aアセテートの濃度が異なる溶液の差吸光度を測定し、 λ_2 を352.0nmと決定した。したがって、 $\Delta A = A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ の値はV.Aアセテートの濃度変化には影響されずV.Eに基く差吸光度となる。

2. V.Eの定量直線

V.Aアセテートを20IU/mlと一定濃度に保ち、V.E濃度を0～10 μ g/mlと変化させた混合溶液を調製し、これら溶液の差吸光度 ΔA を測定した。結果は図9に示すように、定量直線は直線性を示し、高濃度のV.Aアセテートと混合された微量のV.Eを1.0 μ g/mlの濃度まで測定ができた。

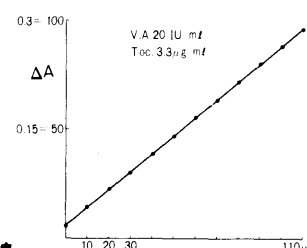
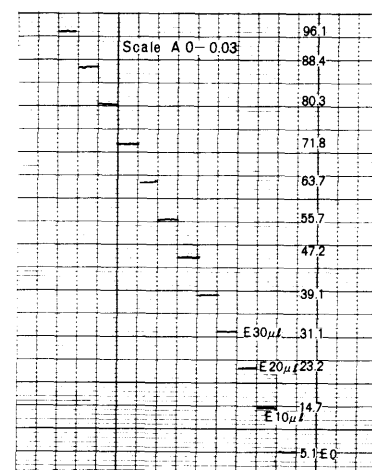


図9 ビタミンEの定量直線

結 論

V.AとV.Eの2種混合溶液中のそれぞれの成分は、2波長分光測光法により従来のような分離操作などの手間が省け、大量共存物質の影響を除去し、極微量まで定量が可能となった。

V.AアルコールとV.Eの混合溶液中のV.Aアルコールの定量は、 λ_1 を305.0nm、 λ_2 を270.8nmとし、差吸光度の測定により、0.1IU/mlという微量濃度まで定量が可能であった。また、V.Eの定量は、 λ_1 を292.0nm、 λ_2 を349.9nmとし、差吸光度を測定することにより、大量のV.Aアルコールが混合されているにもかかわらず、1 μ g/mlの濃度まで正確に微量定量することが可能であった。

V.AアセテートとV.Eの混合溶液中のV.Aアセテートの定量は、 λ_1 を305.0nm、 λ_2 を270.8nmとし、差吸光度を測定すると、大量混合してあるV.Eに全く妨害されず0.1IU/mlの濃度まで正確に微量定量できることがわかった。また、同混液中のV.Eの定量は、 λ_1 を292.0nm、 λ_2 を352.0nmとし、差吸光度測定によりV.Aアセテートの影響を除去し、1 μ g/mlの濃度まで微量定量が可能であった。

参考文献

- 1) U.S.Pharmacopeia XVlll, p914
- 2) EWING, D.T., SHARPE, L.H.: Anal. Chem., **25**, 599 (1953)
- 3) MURRAY, T.K.: Anal. Chem., **34**, 1241 (1962)
- 4) 上田文雄, 牧野輝勇, 豊平暢子: ビタミン, **40**, 84 (1969)
- 5) CHANCE, B: Rev. Sci. Instr., **22**, 634 (1951)
- 6) 柴田正三, 古川正道: 化学と工業, **23**, 126 (1970)

ゴーレイカラムによる和種はっか油セスキテルペンの分析

矢島 満*

1. 緒 言

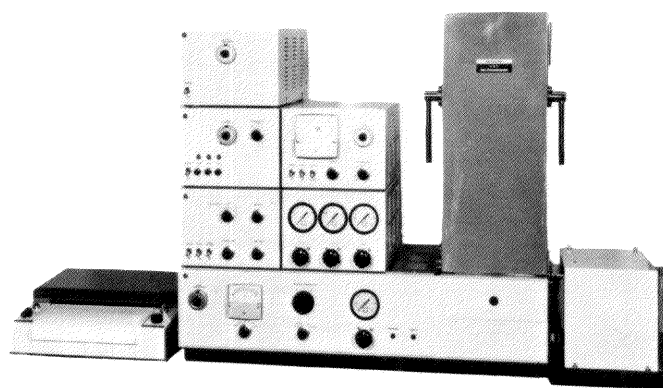
はっか油の高沸点部に存在するセスキテルペン炭化水素は、その種類も多く、また独特なおいを持っており、古くから精油の香味に関連があるとされている。筆者は、今まであまり研究のなされていなかった和種はっか油中のセスキテルペン炭化水素について検討し、 α -Bourbonene, β -Bourbonene, β -Elemene, β -Caryophyllene, γ -Cadinene, δ -Cadinene 新たに、 ϵ -Murolene, ϵ -Bulgarene が存在することを確認したので報告する。



2. 実験および結果

2.1.1 試 料

試料油は、和種はっか脱脳油を処理して得た高沸点油である。



K-53形 日立ガスクロマトグラフ

2.1.2 分離手順

高沸点油を分留し、(bp 108°/10mmHg)以上の部分の水蒸気蒸留して、セスキテルペン部を得た。このガスクロマトグラムを図1に、組成成分を表1に示す。

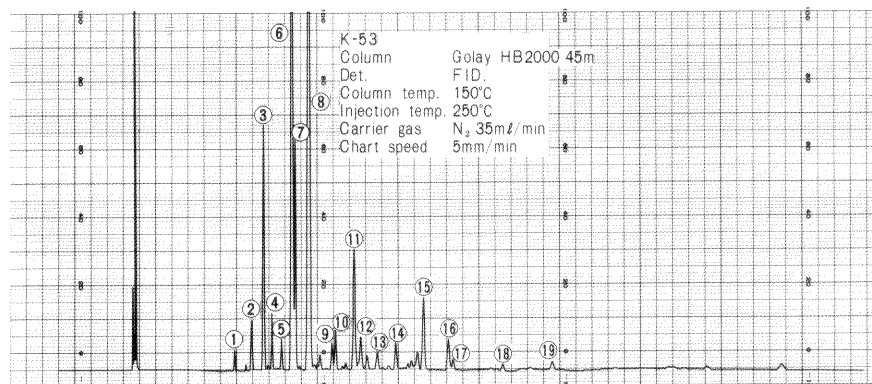


図1 和種はっか油セスキテルペンのガスクロマトグラム

* ホクレン開発研究所

表1 組成成分

ピークNo	成 分	含量(%)	ピークNo	成 分	含量(%)
1	?	0.5	11	ϵ -Murolene	4.7
2	α -Bourbonene	1.7	12	?	1.3
3	β -Bourbonene	7.5	13	?	1.0
4	?	1.9	14	?	1.5
5	?	1.0	15	ϵ -Bulgarene	3.8
6	β -Elemene	26.0	16	δ -Cadinene	1.5
7	?	8.3	17	γ -Cadinene	0.7
8	β -Caryophyllene	31.4	18	?	0.8
9	?	1.3	19	?	0.8
10	?	1.4			

以上の成分組成をもつセスキテルペン部を精密分留によって細かく分け、さらに各留分をカラムクロマトなどで分離し、各成分を単離した。その結果を表2に示す。

表2 組成成分を単離した結果

留分No.	bp (25mm/Hg)	留出量 (ml)	主 成 分
1	128~129°C	20ml	α - β -Bourbonene (50%)
2	130~132	175	β -Elemene (30%)
3	133	125	β -Bourbonene (20%)
4	134	270	β -Elemene (70%)
5	135~136	62	β -Caryophyllene (40%)
6	137~140	34	ϵ -Murolene (80%)
7	140~143	12	ϵ -Bulgarene (70%)
8	144~146	10	δ - γ -Cadinene (80%)
残		50	δ - γ -Cadinene (60%)
			ヤ ニ

2.2 分析条件

2.2.1 ガスクロマトグラフィ測定条件

K-53形日立ガスクロマトグラフ ゴーレイカラム HB-2000, カラム長 45m, カラム温度 150°C, ディテクタ FID

2.2.2 分離装置

回転バンドおよび充てん式蒸留装置を主体とし、最終単離には硝酸銀処理のシリカゲルカラムクロマトを用いた。

2.3 単離したセスキテルペン炭化水素の検索

2.3.1 β -Elemene

留分2を、再度精密分留で精製し硝酸銀処理をしたシリカゲルカラムクロマト¹⁾で、ベンゼン:エーテル(90:10)により溶出させ、分離した。このIRは図2に示すとおりで、885cm⁻¹に>C=CH₂の強い吸収、910cm⁻¹と1000cm⁻¹に-CH=CH₂の吸収がある。文献²⁾のIRと一致することにより、 β -Elemeneであることを確認した。

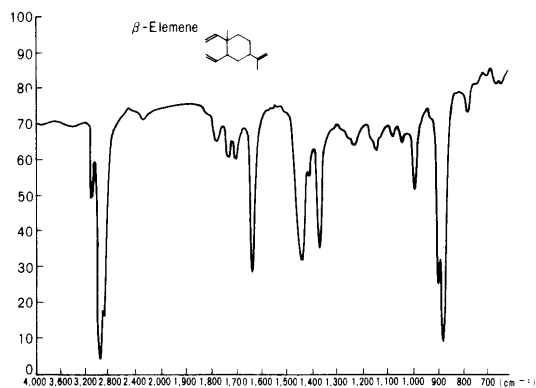


図2 β -ElemeneのIR

2.3.2 β -Caryophyllene

留分4を石油エーテル:ベンゼン(80:20)によって分離した。

このIRは図3に示すとおりで、 β -Caryophyllene標準品および文献²⁾のIRと一致することにより、 β -Caryophylleneであることを確認した。

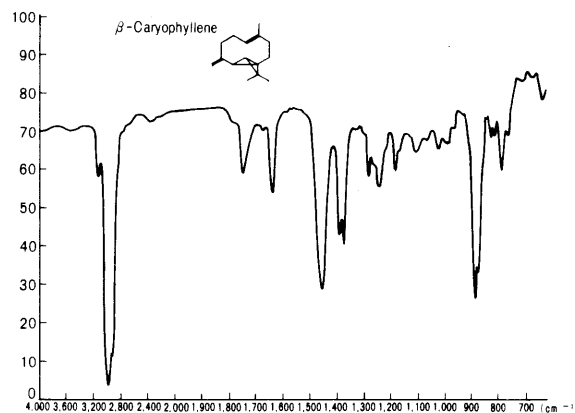


図3 β -CaryophylleneのIR

2.3.3 ϵ -Murolene

留分5を同様に精製分離した。このIRは図4に示すとおりで、885cm⁻¹に>C=CH₂の吸収、1370cm⁻¹と1390cm⁻¹に>C(CH₃)₂の吸収がある。IRは文献²⁾の ϵ -Cadineneと一致するが、これは、Westfertが旋光分散などで明らかにした ϵ -Muroleneと考えられる³⁾ので、 ϵ -Cadineneを改め ϵ -Muroleneであることを確認した。

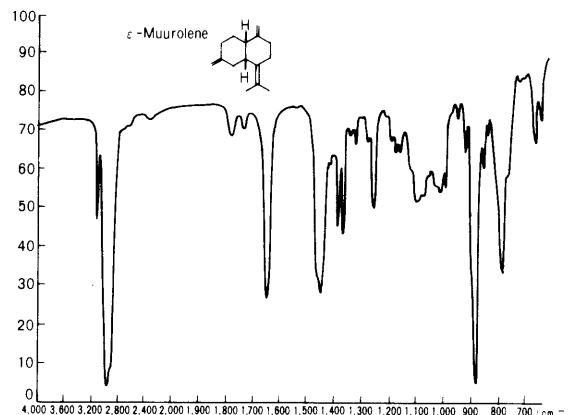


図4 ϵ -MuroleneのIR

2.3.4 ϵ -Bulgarene

留分6を同様に精製分離した。このIRは図5に示すとおりである。R.Vlahovの文献¹⁾にあるIRと一致するので、 ϵ -Bulgareneであることを確認した。

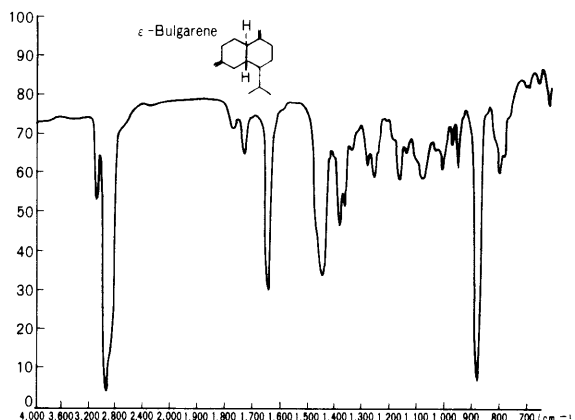


図5 ϵ -BulgareneのIR

2.3.5 δ -Cadinene

留分7を同様に精製分離した。このIRは図6に示すとおりで、シトロネラ油から取出した δ -Cadineneおよび文献²⁾のIRと一致することにより、 δ -Cadineneであることを確認した。

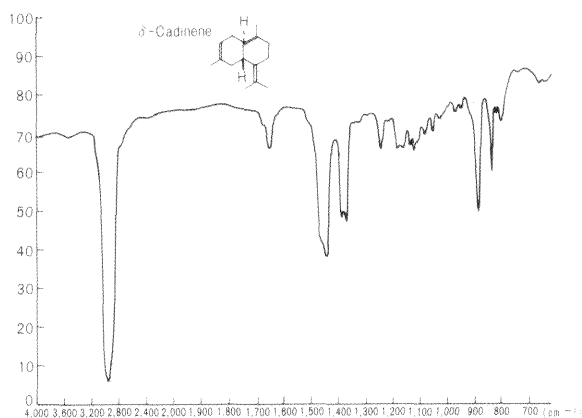


図6 δ-CadineneのIR

2.3.6 γ-Cadinene

留分7を硝酸銀処理のシリカゲルカラムクロマトで石油エーテルベンゼン(80:20)によって溶出させ分離した。このもののIRは図7に示す。885cm⁻¹に>C=C H₂の強い吸収1370と1390cm⁻¹に>C(C H₃)₂の吸収がある。文献のγ-CadineneのIRと一致することによりγ-Cadineneであることを確認した。

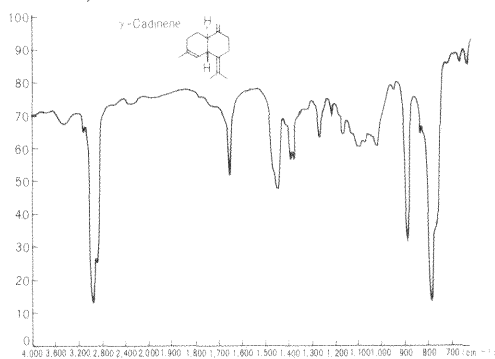


図7 γ-CadineneのIR

3. 考 察

和種はつかは、品種によって、セスキテルペンの種類とその含量が異なる。品種別に検討を行った結果、β-Caryophylleneは全品種に存在し、その含有量は最も多い。次に比較的多く存在するものとしてβ-Bourboneneがあり、これも全品種に存在する。β-Elementeneは、品種により、その含有量に変動がある。ε-Murolene⁴⁾については、勝原氏等がペパーミント油中に存在することを報告しているが、これは和種はつか油中にも存在し、また含有量もかなり多い。ε-Bulgarene¹⁾は最近R.Vlahov等がブルガリヤミッチャム油より分離し、ε-Cadinene異性体を命名したもので、和種はつか油に比較的多く含まれている。δ-, γ-Cadineneは古くから存在があきらかにされたセスキテルペンで、含有量も多いとされていたが、今回の研究で比較的少ない成分であることがわかった。

参考文献

- 1) VLAHOV, R.: Collection, Czechoslov. Chem. Commun. 32, 808 (1967)
- 2) JOHN, A.: Journal of the A.O.A.C. 50, 1313 (1967)
- 3) WESTFELT, L.: Acta. chem. Scand. 18, 572 (1960)
- 4) 勝原: 工化 70, 343 (1967)
- 5) GUENTHER, E.: The Essential Oils, III, 617

ガスクロマトグラフィによるステロイドホルモンの測定 (その1) 尿中Pregnane diol

佐竹 実* 水元 修治* 田中 昭一*

progesterone はヒトの卵巣、胎盤および副腎より産生される。尿中に排泄されるpregnenediol (以下Pd.)を測定することにより、内因性progesteroneの動態を把握でき、特にヒトの黄体および胎盤機能が推測できる。

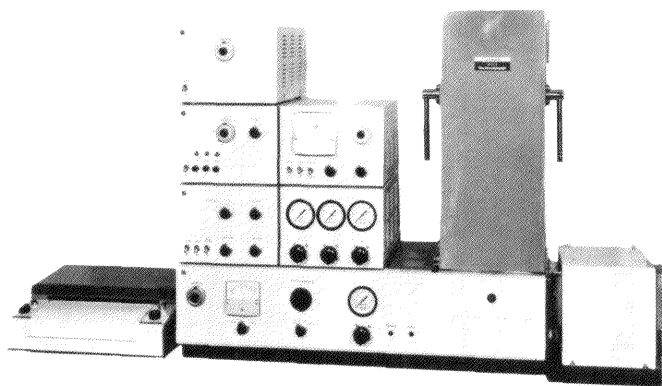
ステロイド試料は分解し易く、不安定であり、column, liquid phase, column temperature, support material, carrier gasのflow rateなどが重要で、columnについては安定性と分離能の点からglass columnが専ら使用されている。Pd.測定の場合、silicone系のSE-30, SE-50, SE-52 もしくはQF-1が高性能の分離を示し、特異的分離が可能であるので、分析に応用されている。今回著者は尿中Pd.のgas chromatography (以下GLC)による分析にsilicone polymerのOV-1を使用し、安定性および分離能についてstainless steel, glass columnで検討を加えたので報告する。

1. 使用装置および試薬

(1) 装 置: 内径7.5mmのクロマト管, K53形

*札幌医科大学産婦人科学教室

6 HITACHI



K-53形 日立ガスクロマトグラフ

日立ガスクロマトグラフ(水素炎イオン化検出器付属), 5μl容のHamilton microsyringe.

(2) 主要試薬: toluene, benzene, ethyl-alcohol, petroleum-ether, pyridine, acetic anhydride, n-hexaneはいずれも特級, pregnane-3α, 20α-diol,

cholestaneは帝国臓器研究所より寄贈されたもの。

(3) 被検尿： 幼小児，思春期周辺の少女，正常婦人ならびに妊娠婦の24時間に得られたものである。

2. 測定条件および方法

24時間尿100mlを用い以下のように実験を行った。

(1) 加水分解と抽出： HClにより酸水解した後，溶媒tolueneを加え抽出する。

(2) 洗浄： 酸性およびphenolic fraction(estrogen)を除去するために4%NaOHで洗う。

(3) column chromatography： 内径7.5mmのクロマト管を用い，aluminaはBrockmannの活性度III度2.0gで第1クロマト予試験後，0.5%ethanol-benzene 35mlをから流しした後に2%ethanol-benzene 20mlを流しこの部分をとった。

(4) 誘導体作成： ステロイドのようにOH基の多い化合物は適当な誘導体にしてGLC分析を行うが，これにはacetyl化する場合とtrimethylsilyl(以下TMSi)化する場合がある。

acetyl化するにはacetic anhydrideとpyridineと等量混合液で100°C，1時間加熱，あるいは室温にて12時間放置，またはacetic anhydrideとpyridineの比を5：1として68°C，1時間加熱する方法がある。

TMSi化にはトリメチルケイ素化剤0.1mlを加え68°C，1時間加熱して誘導体を作成する。このacetyl化とTMSi化の両者について比較を行った。

(5) GLC：

(a) 試料注入用溶媒： acetone, methanol, toluene, ethanol, n-hexane などがあるが，これら溶媒のtailingの大小を比較した。

(b) 充てん剤： non-selective phaseの1%OV-Iを使用した。OV-IはR,R'=CH₃を有するmethyl siliconeで350°Cまで安定である。

(c) column管： 内径0.3cm，長さ200cmのstainless製とglass製の両者について検討した。

(d) column条件： oven temperature, injection block, carrier gasの三者の組合せにより溶媒，検体および内部標準に用いた物質がよく分離されなければならない。carrier gasを一定にし，stainless steel管ではN₂；60ml/min，1.5kg/cm²，H₂；30ml/min，0.6kg/cm²，air；2.0kg/cm²とし，oven temperatureを205°Cから215°Cと変化させ保持時間を検討した。なお，injection blockはoven temperatureより常に40°C高温とした。glass管ではN₂；50ml/min，1.1kg/cm²，H₂；25ml/min，0.7kg/cm²，air；2.0kg/cm²と一定にし，oven temperatureを235°Cから245°Cと変化させた。injection blockはoven temperatureより常に40°C高温とした。感度は10～20×としchart speedは0.5 cm/minとした。

(e) 内部標準： cholestaneとcholesterolを比較し，両者の保持時間により適切なものを用いた。

(f) 標準曲線： 純品のPd.と内部標準に用いた物質とのピーク高から作成し，横軸に純品 Pd.の濃度，縦軸にPd.濃度に対する内部標準物質濃度のピーク高の比を描いた。

3. 基礎実験成績

(1) 試料注入用溶媒： gas chromatogramのtailingの大小を見たが，n-hexaneが最もtailingが小であった。

(2) 誘導体の比較： 同一検体をacetyl化した場合とTMSi化した場合について見た結果，acetyl化の方が分離良好であった(図1)。

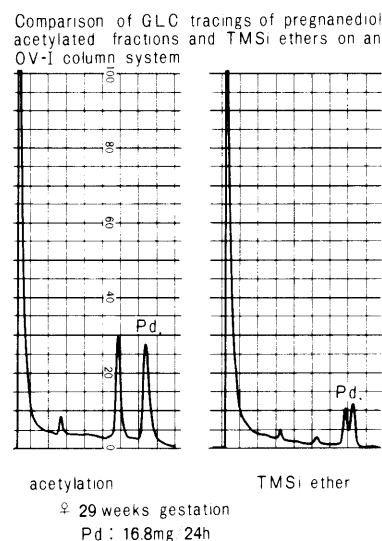


図1 誘導体の比較

(3) column管： stainless管とglass管による同一検体のacetyl化のgas chromatogramを見ると，両者の分離能と安定性に特に重大な差は認められない(図2，表1)。

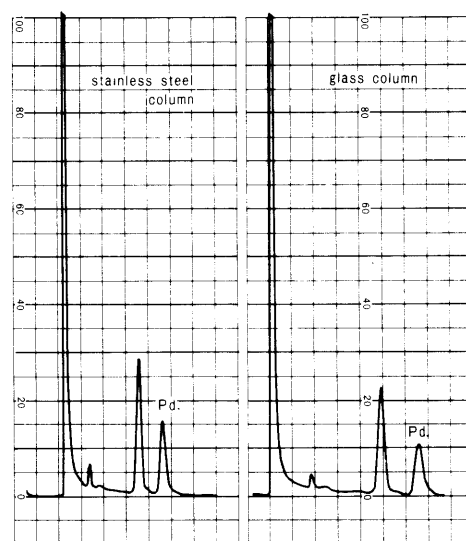


図2 column管の比較

表1 保持時間の比較

stainless steel column				
	oven temp. (°C)	injection block (°C)	Pd.	chol.
acetylation	205	245	12.5	9.1
	210	250	8.8	7.0
	215	255	8.0	5.9
TMSi	205	245	5.2	6.7
	210	250	4.8	6.3
	215	255	4.4	5.7

glass column

	oven temp. (°C)	injection block (°C)	Pd.	chol.
acetylation	235	275	19.8	16.4
	240	280	14.0	11.6
	245	285	12.7	10.4
TMSi	235	275	10.4	10.7
	240	280	7.8	8.3
	245	285	6.2	6.4

TMSi: trimethylsilyl ether

Pd.: pregnane-3 α -20 α -diol

chol.: cholestane

(4) column条件: carrier gasを一定にし, oven temperatureを変化させ, acetyl化, TMSi 化したものをstainless steel管とglass管でGLC分析した場合の保持時間は表1に示すとおりである。すなわち, stainless steel管では210°C, glass管では240°Cで最もよくPd.とcholestaneが分離された(表2)。

表2 column条件の比較

Gas chromatographic conditions

	stainless steel	glass
column	3mm×200cm	3mm×200cm
1% OV-I on 80/100mesh (acid washed, silanized)		
	chromosorb W	
oven temperature	210°C	240°C
injection block	260°C	280°C
carrier gas	N ₂	N ₂
flow rate	60ml/min	50ml/min
pressure	1.5kg/cm ²	1.1kg/cm ²
H ₂	0.6kg/cm ²	0.7kg/cm ²
air	2.0kg/cm ²	2.0kg/cm ²

(5) 内部標準物質: さきのcolumn条件でのcholestaneとcholesterolの保持時間はcholestane 7.0 min, cholesterol 16.0minであり, Pd. に対する内部標準物質としてはcholestaneが適することがわかった。

(6) 標準曲線: Pd.濃度のピーク高に対するcholestane濃度のピーク高の比はPd.濃度と直線相関を認めた(図3)。

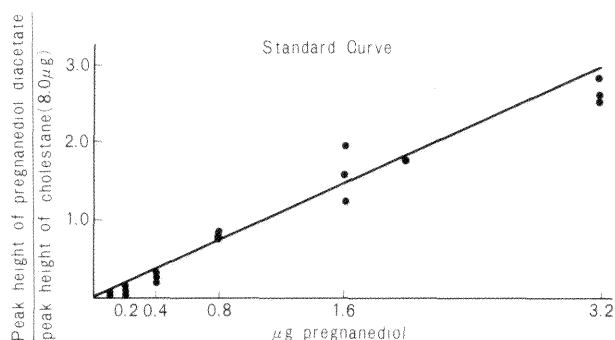


図3 標準曲線

以上の基礎的検討から, GLC分析にOV-Iを液相として用いた場合, 内部標準としてcholestaneが適切で, carrier gasを一定にしacetyl化を行い, stainless steel管で210°C, glass管では240°Cで最もよくPd.とcholestaneが分離された。

主要参考文献

- (1) 佐竹, 田中, 斉藤: ホルモンと臨床, 18: 45(1970)
- (2) WOTIZ, H.H., CHATTORAJ, S.C.: Anal. Chem. 36, 1466(1964)
- (3) PATTI, A.A., STEIN, A.A.: Steroid analysis by gasliquid chromatography, 77, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois(1964)
- (4) 神戸川: ホルモンと臨床, 8: 48(1960)

原子吸光法によるカドミウムと水銀の分析

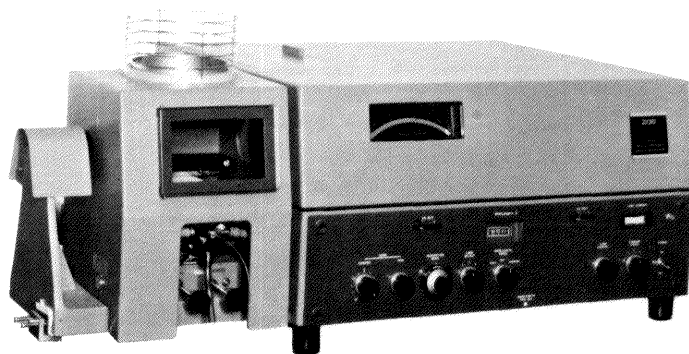
1. 緒言

法的に規制されている重金属としては, 亜鉛・マンガン・銅・カドミウム・鉛・ヒ素・クロム・鉄・水銀がある。これらの元素のうち, カドミウムは, 特に厳しく規制されており, 排水基準は, 0.1ppm以下である。これに対し, 原子吸光法による定量下限は, 0.01ppm程度であるため, 試料は原液のままか, または濃縮して測定せざるを得ない場合が多い。したがって, 共存物の濃度が高いことが多く, (1)化学干渉と(2)光散乱の問題を考慮する必要がある。

カドミウムに次いで低濃度の測定が必要な元素是水銀であり, 空気, アセチレン炎を用いる通常の原子吸光測定では定量下限は 0.2ppm程度であるため, 炎を使用する方法では不十分である。最近水銀の高感度分析法として還元気化法による炎なし原子吸光法が考案され実用化されている。

今回カドミウムおよび水銀の2元素について実際の試

山田英雄* 内野興一*



208形 日立原子吸光分光光度計

料(排液)を分析し, 測定法に関する問題点について検討した。

2. 実験方法

2.1 装置

使用した装置は下記のとおりである。

208形 日立原子吸光分光光度計

*日立製作所 那珂工場

光源ランプ : 日立 HLA-3 Cd HC LAMP
 : 日立 HLA-3 Hg HC LAMP
 : 原子吸光用重水素放電管
 水銀還元気化装置: 207-0253形 日立 Hg ガスセル(図 6
 系統 図参照)

2.2 実験項目

次の項目について検討し、試料(排液)のカドミウムおよび水銀の分析を行った。

(1)カドミウムについて

1. 共存物の化学干渉
2. 光散乱の影響

(2)水銀について

1. 測定条件 (空気流量)
2. 検出限界および測定範囲
3. 再現性
4. 共存物による化学干渉

3. 実験結果

3.1.1 カドミウムの測定

原子吸光法で測定した排液の共存元素のおおよその濃度は表 1 に示すとおりである。共存元素のうち比較的濃度が高いマグネシウム、カルシウム、ナトリウムおよび鉄について、カドミウムに対する干渉を調べた。その結果、それらが100ppm 以下ならば干渉はほとんど無視できることがわかった。このため、通常の検量線法で排液を測定することができる。

表 1 排液中の共存元素の概略値

(単位 ppm)	
元 素	濃 度
銅	1.4
鉛	0.6
亜鉛	11
ニッケル	0.14
マンガン	2.3
マグネシウム	79
カルシウム	57
鉄	50
カリウム	9.9
ナトリウム	22

3.1.2 光散乱の影響

共存物が多量にあると炎中でこれらが十分分解されないため光が散乱され、正の誤差を与える。排液に比較的多量に存在する可能性のある元素はナトリウムとカルシウムである。これらが500ppm 存在した場合の各波長における光散乱の大きさを図 1 に示す。カドミウムの共鳴線(2,288 Å)近辺ではナトリウム、カルシウムともかなり大きな光散乱がある。光散乱がカドミウムの測定値に与える誤差の大きさを調べた結果が図 2 である。ナトリウム、カルシウムとも500ppm 以下ならば光散乱の影響を考慮する必要はない。しかし、海水はナトリウムが多量に共存するために、原子吸光用重水素放電管を用いて光散乱を補正しなくてはならない。これを用いると、A.P.O.C.-MIBK にカドミウムを抽出する方法より迅速性を十分に発揮できる。

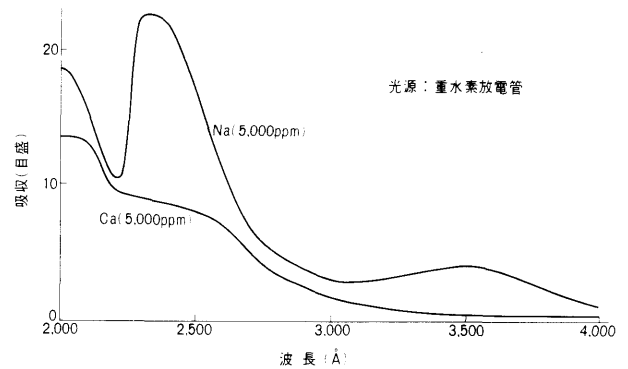


図 1 光散乱

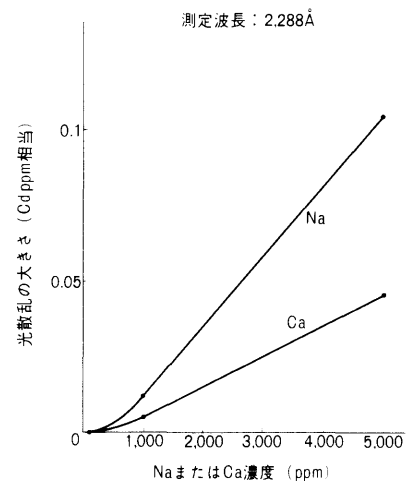


図 2 光散乱による誤差

3.1.3 標準液

純カドミウム(99.9%以上)0.100gを少量の硝酸で分解し、硝酸(1+1)20mlを加えたのち、蒸留水で1ℓに薄めたものが標準原液である。したがって、この原液には硝酸が1%含まれている。しかし、実際に使用する標準液は0.1ppm 程度であるから、蒸留水で薄めたとすると、硝酸濃度は0.001%程度になる。硝酸濃度が低い場合の影響を調べたところ、図 3 に示すような結果が得られ、0.4%以下では、吸収が小さくなるという現象が見られた。このため、標準原液を0.5% 硝酸で薄めて標準液を作成することにした。

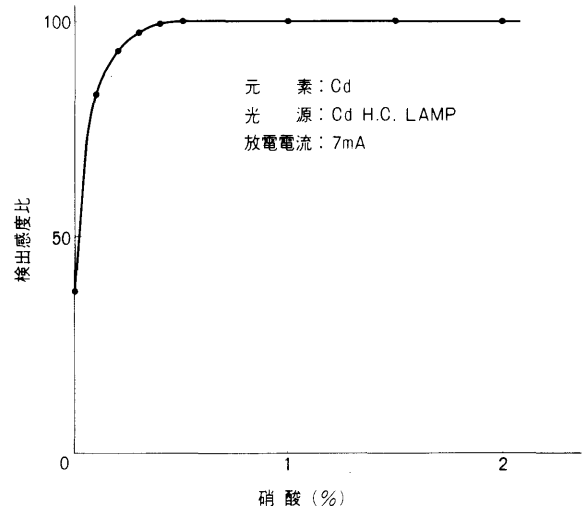


図 3 硝酸濃度の影響

3.1.4 排液の測定

硝酸0.5%を含むカドミウム標準液0.05ppm, 0.10ppm および0.20ppmの吸収と試料の吸収を測定したものが図4である。これより検量線を作成し、試料を定量したものが図5である。なお、排液は濾紙でこして濾液を試料とした。

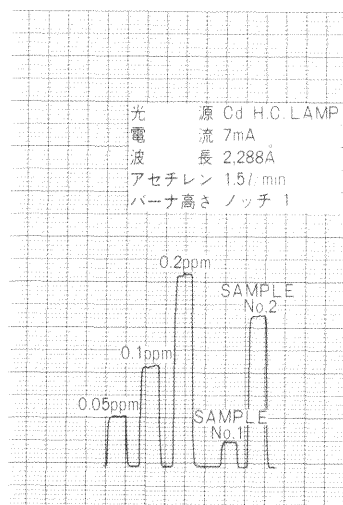


図4 カドミウム標準液と試料の吸収

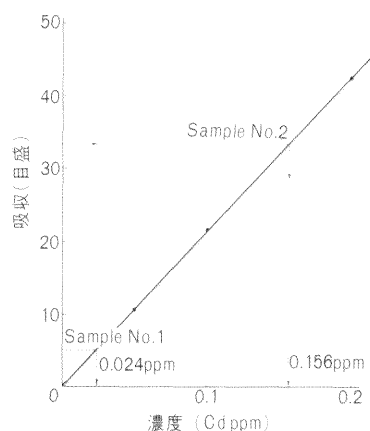
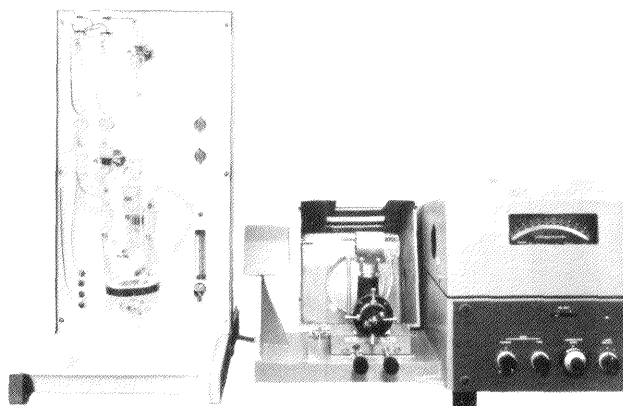


図5 カドミウムの測定

3.2 水銀の測定



水銀還元装置

3.2.1 空気流量

測定を開始してから吸収が一定値となるのに要する時間をいろいろな空気流量について調べた結果、循環式、開放式とも流量を大きくしたほうが短時間で一定値に達した。しかし、流量が大きすぎると試料の飛散が激しくなるため、3 l/min が限度であった。

空気流量をいろいろ変えて感度を調べた結果、開放式では空気流量に無関係であったが、循環式では流量の大きいほど感度は高かった。測定所要時間、感度および飛散の問題のかねあいから空気流量は2 l/min とした。

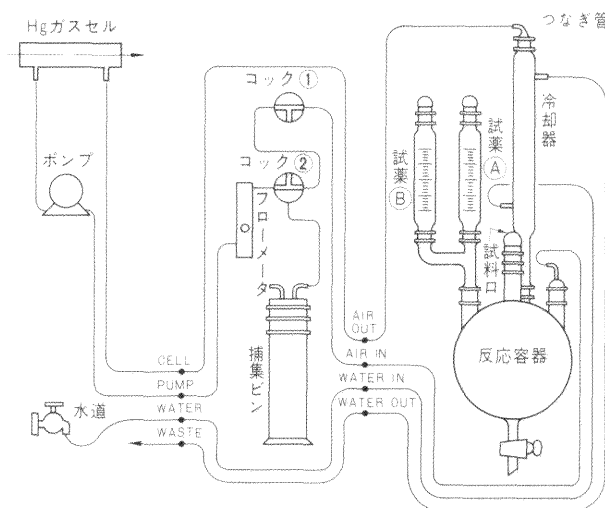


図6 水銀還元気化部系統図

3.2.2 検出限界

いろいろな水銀量の溶液について吸収を測定した結果を図7および図8に示す。図7が循環式、図8が開放式である。これより水銀量と吸収の関係をプロットしたものが図9である。循環式、開放式ともに直線性のよい検量線が得られた。検量限界を調べるため10倍にスケール拡大して測定した結果より、S/N = 2に相当する濃度を検出限界とすると表2のとおりである。なお、試料量は100ml であるから、これより濃度に換算したものを併記した。

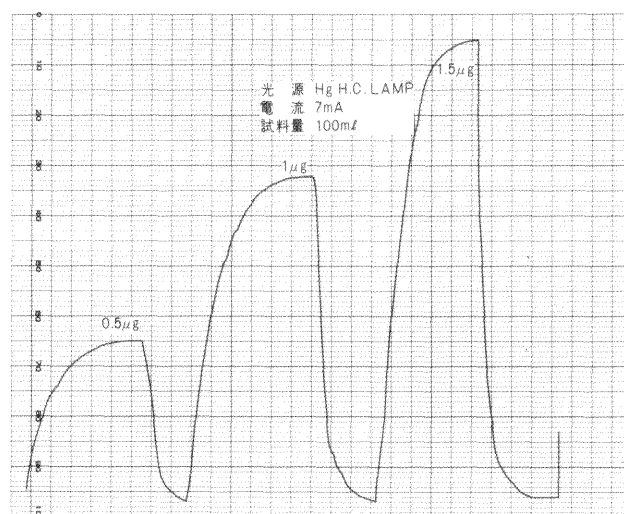


図7 溶液中の水銀量の測定(1)(循環式)

3.2.3 測定範囲

検出限界の10倍の濃度を定量下限とすると、循環式では0.1ppb, 開放式では0.25ppbである。一方、定量上限は循環式で15ppb (1.5 μg/100ml), 開放式で30ppb (3.0 μg/100ml) である。

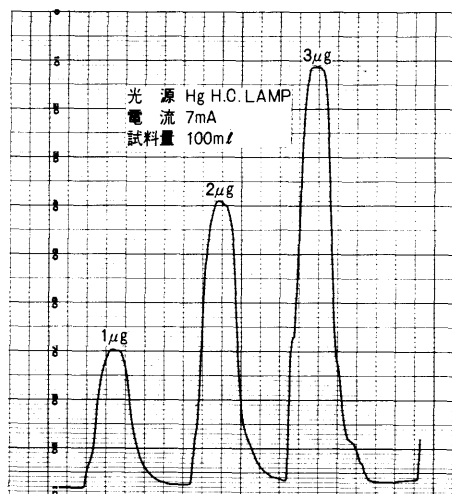


図8 溶液中の水銀量の測定(2)(開放式)

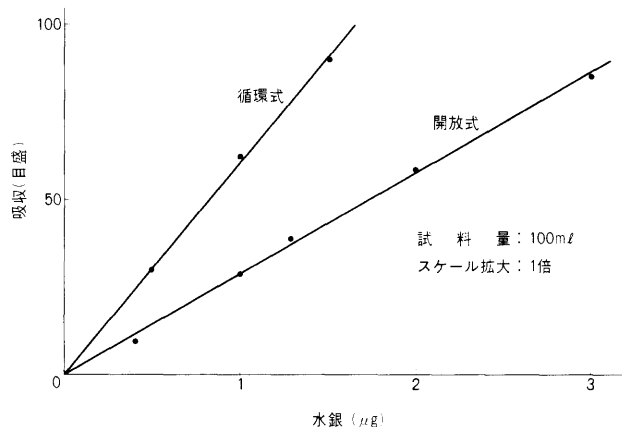


図9 循環式と開放式の検量線

表2 水銀量の検出限界

項	目	循環式	開放式
測定所要時間 (min/1試料)		3	1
検出限界 (ppb)		0.01	0.025
測定範囲 (ppb)		0.1~15	0.25~30
再現性 (C.V%)		3.3	2.5

3.2.4 共存物の干渉

塩酸、硝酸およびカルシウムを共存させたときの吸収を測定した結果が表3である。この表における各試料のブランクが光散乱によるものかどうかを確かめるため、原子吸光用重水素放電管を光源として、 $2,537\text{Å}$ における吸収を調べた。この結果、光散乱は全く認められず、各試料のブランクは試料中の水銀不純物のためと考えられる。したがって、塩酸、硝酸は0.5Nまで、また、カルシウムは100ppm程度までならば干渉はない。

表3 共存物の干渉 (単位 目盛)

No.	共存物	見掛けの吸収	ブランク	真の吸収
1	なし	31.1	5.3	25.8
2	0.25N塩酸	44.4	18.1	26.3
3	0.5 N "	56.5	30.9	25.6
4	0.5 N硝酸	40.2	13.5	26.7
5	100ppmCa	38.8	13.5	25.5

3.2.5 再現性

同じ量を含む水銀溶液について、循環式、開放式それぞれ5回ずつ測定した結果より標準偏差率(CV)を計算すると、それぞれ3.3%、2.5%である。この標準偏差率は、試料の計量精度も含む総合的なものである。

3.2.6 排液の分析

排液を次の手順で前処理し測定した。

- (1)検水200mlを分解フラスコに秤り取り、硫酸(1+1)20ml、過マンガン酸カリウム1gを加え、還流冷却器を付け注意して加熱する。
- (2)液の紫色が消えたら加熱をやめ、冷却後、過マンガン酸カリウム1gを加え、再び加熱する。
- (3)液の紫色が加熱中35~45min間持続するようになるまで(2)を繰り返す。
- (4)冷却後、還流冷却器を外し、フラスコを軽く振りながら、過酸化水素水(10%)を液の紫色が消えるまで滴下する。
- (5)メチルオレンジ試薬を4滴ほど加え、水冷しながら液が黄変するまで濃アンモニア水を滴下し、メスフラスコに移し、全量を300mlに薄め、試料液とする。はじめ、 $0.02\sim0.06\mu\text{g}/100\text{ml}$ の標準液の測定を行い、次に反応容器に試料液100mlをとり、18N硫酸25ml、3%硫酸第一錫10mlを加え測定した結果が図10および図11である。試料中の水銀が微量であるため、スケール拡大を10倍にして測定した。これより排液の水銀量は表4のとおりである。

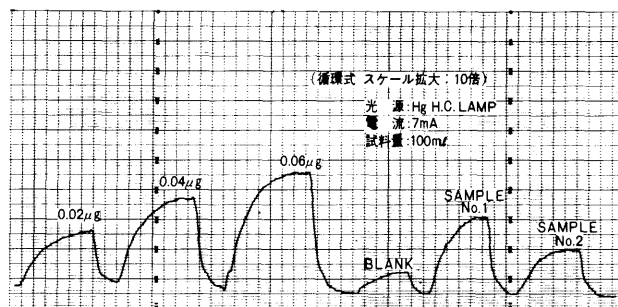


図10 試料の水銀の定量

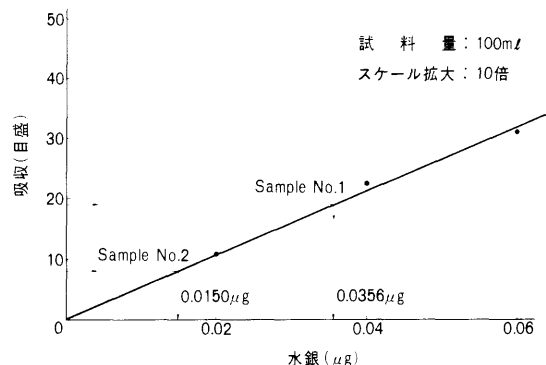


図11 水銀の測定

表4 水銀量の測定値

試料 No.	水銀量 (μg)	水銀濃度 (ppb換算)
1	0.0150	0.225
2	0.0356	0.535

4. 結果の検討

4.1 排液のカドミウム

(1)標準液, 試料とも, 硝酸を0.5%程度添加しておく必要がある。

(2)100ppm 以上の共存元素のない場合は, 干渉はほとんど無視できる。

(3)500ppm 以上の共存元素(Na, Ca, Kなど)のない場合は, 光散乱の影響を無視できる。

実試料の測定に際して干渉および光散乱の補正の要否の判定は表5に示す。

干渉の補正方法としては標準添加法などがあり, また, 光散乱の補正法としては重水素放電管の使用がある。図12および図13に測定例を示す。なお, カドミウムをキレート抽出して共存物と分離するという方法もある。この方法は極微量に対しては有用であるが, 操作に時間がかかる。

表5 干渉および光散乱の補正の要否

共存元素濃度	0~100 ppm	100~500 ppm	500 ppm 以上
干渉の補正	不要	要	要
光散乱の補正	不要	不要	要

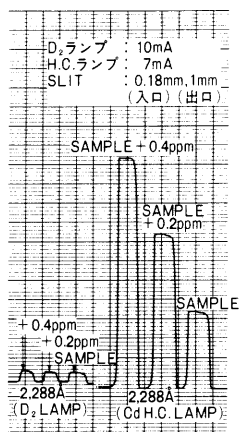


図12 試料中のカドミウムの測定と重水素放電管による光散乱の吸収

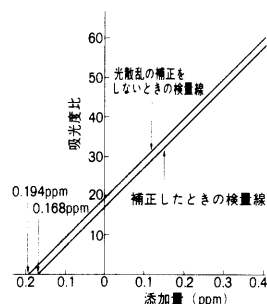


図13 カドミウムの光散乱を補正しての測定

4.2 排液の水銀

(1)空気流量は2ℓ/minが適当である。

(2)一試料の測定に要する時間, 検出限界, 測定範囲および再現性は前出の表2のとおりである。

本法による検出限界ははるかに低濃度であるために, 排水は希釈して測定するのが適当と考えられる。なお, 500 ppb 以上の試料を測定するとコンタミネーションが著しくなるため, 高濃度が予想される検水はなるべく薄くして測定する必要がある。

水銀測定において, 試料は硫酸を添加したことによって液温が上昇する。このため, 反応容器からの空気をそのまま吸収セルに送ると, 吸収セルの窓面に水蒸気が凝縮して光をさえぎってしまう。これを防ぐため, 従来反応容器からの空気は, いったん乾燥剤(過塩素酸マグネシウムなど)を通して吸収セルに送りこむという方法がとられていた。しかし, この方法は次のような欠点をもっている。

(1)乾燥剤をしばしば交換しなければならない。

(2)試料中に塩酸が共存していると, 塩酸ガスは捕集されないで吸収に入り, ミストとなるため正の誤差を与える。

しかし, 乾燥剤の代りに冷却管を用いることによって, 余分な水蒸気および塩酸ガスの捕集ができることがわかったので, この方法を用いた。

参考文献

(1)厚生省環境衛生局: 水銀(化合物)の分析法(1970)

(2)HATCH, O.: Anal. Chem. 40, 2085 (1968)

(3)日立グループ公害計測推進本部: 公害測定ブックブック, 5-39 (1970)

THE HITACHI Scientific Instrument News
Vol.14 No.4

昭和46年7月20日印刷

昭和46年8月1日発行

非売品

年6回毎偶数月発行

編集人 石川直成

発行人 比良清一

発行所 株式会社日立製作所 印刷所 日立印刷株式会社