報 文*

溶媒抽出/誘導結合プラズマ発光分析法による貝の硬組織中
マンガン、鉄、銅及び亜鉛の定量

福井 博章^{®**}, 藤 野 治^{**}

Determination of manganese, iron, copper and zinc in hard tissues of
shellfish by solvent extraction/ICP-AES

Hiroaki FUKUI and Osamu FUJINO^{**}

^{**}Research Institute for Science and Technology, Kinki University, Kowakae, Higashi-Osaka-shi, Osaka 577-8502

(Received 30 April 2002, Accepted 15 August 2002)

A method for determining 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 for these 4 elements were observed. Therefore, manganese, iron, zinc and copper were separated from macro-calcium using solvent extraction. Sodium diethyldithiocarbamate was used as a chelating reagent, and hexyl acetate was selected as an organic solvent. Manganese, iron, zinc and copper were quantitatively extracted at pH 6, and separated from calcium using this extraction system. The proposed method was applied to the determination of these elements in hard tissues in several shellfish specimens (limnetic and thalassic). In these element contents, the manganese concentration in a limnetic shellfish (Ikecho-gai) was found to be as high as 10^3 ppm.

Keywords : ICP-AES; shellfish; solvent extraction; sodium diethyldithiocarbamate; hexyl acetate.

1 緒 言

自然界における多量成分はもちろん、微量元素の静態・動態に関する知見は、地球化学や環境化学の見地から極めて重要であると考えられる。また、物質循環において水圏に生息する水生生物と生育環境水中微量元素との間には様々な相互作用が生じることが考えられ、特にこれらの中で水圏に広く、多種、多量に生息分布している貝類は、生物地球化学や環境化学にとって極めて興味ある水生生物である。環境学的には環境汚染を見いだす指標生物として、更に石灰化された貝殻は取り込まれた汚染物質の拡散度が極めて低いことから、過去の汚染の指標としても注目される¹⁾。また一方、貝殻の無機主成分は炭酸カルシウムであ

り、その結晶形はカルサイト又はアラゴナイトであることから、結晶学的にも興味ある物質である。

著者らは、貝の硬・軟組織中の多元素の含量や分布及び生息環境水とのかかわりなどに興味を持ち、測定系に原子スペクトル分析法を、その前処理には溶媒抽出法を用いて、微量元素の定量方法の開発と貝分析への適用性について検討し報告を行った^{2)~5)}。

本報では生体系において極めて重要であるマンガン、鉄、亜鉛及び銅（以後目的元素と呼称）に注目し⁶⁾⁷⁾、貝類の硬組織中におけるこれら元素の含量や分布及び蓄積挙動に関する知見を得ることを目的に、測定系には感度、精度に優れ、かつ迅速性に富む誘導結合プラズマ発光分析法（以後、ICP-AESと略記）を用いて、これら目的元素の測定・定量に関する分析化学的基礎検討を行った。一般に、溶媒抽出法^{8)~12)}、イオン交換法¹³⁾、あるいは共沈殿法¹⁴⁾¹⁵⁾など種々の方法により、分離や濃縮が行われている。本研究で

* 若手研究者の初論文特集

** 近畿大学理工学総合研究所: 577-8502 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

は、抽出キレート試薬にジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC) を、また抽出有機溶媒にはエステル系を用いた溶媒抽出法を採用し、これら 4 種の目的元素とカルシウムの溶媒抽出分離について詳細な検討を行い、種々の実試料貝殻や真珠に適用し、良い結果を得たので報告する。

2 実験

2.1 試薬及び装置

使用した標準溶液、試薬類、有機溶媒類はすべて市販の特級及び精密分析用を使用した。

また、測定には日本ジャーレル・アッシュ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。用いた装置の諸元は次のとおりである。周波数 27.12 MHz、定格最大出力 2 kW、分光部は焦点距離 0.75 m のツェルニターナ型、回折格子は 1800 溝数/mm、入射及び出射スリット幅はともに 10 μ m、プラズマトーチは有機溶媒用石英ガラス製、ネプライザーはクロスフロー型を用いた。各元素の測定条件に対し、マンガン、鉄、亜鉛、銅、カルシウムにおける測定波長はそれぞれ 257.61, 238.20, 213.86, 324.75, 393.37 nm であり、キャリアーガスの流量は銅で 0.45, カルシウムで 0.40, その他の元素は 0.30 l/min であり、高周波出力は全元素に対し 2.0 kW で行った。なお、有機溶媒を使用するために、プラズマガスには 5% の酸素を含んだアルゴンを 0.30 l/min 使用した。pH メーターは岩城硝子製ガラス電極式水素イオン濃度計 M-225 型を、遠心分離器は久保田製作所製卓上用小型遠心器 KC-25 型を、振り混ぜ器はイワキ産業製 KM 式万能シェーカー V-SX 型を使用した。

2.2 実験操作

2.2.1 実試料の分解処理 貝殻及び真珠試料については、淡水産イケチヨウガイとその真珠は琵琶湖、シジミは宍道湖、海水産アコヤガイとその真珠及びハマグリは伊勢湾、アサリは浜名湖でそれぞれ産出したものを用いた。なお、アコヤガイ真珠は表面の真珠層を用いた。また、これらの試料はひょう量後、純水で洗浄し、乳鉢にて粉碎、粉末とした。次に、それぞれの試料をビーカーに 10 g ひょう量し、これに王水 20 ml 加え、270℃ で加熱し、黒色沈殿が得られた後、今度は王水と過塩素酸とをそれぞれ 10 ml 加え、再度 270℃ で加熱し、この操作を 3～5 回行った後、有機物をほぼ完全に分解した。そして、この沈殿を純水で溶解後、No.5C の沓紙にて沓過し、沓液を硝酸で pH 1 とし、純水で 100 ml (試料 100 mg/ml) とした。この溶液の 1 ml を 2.2.2 に供した。

2.2.2 実試料分析における前処理法としての溶媒抽出操作 2.2.1 で作製した試料 1 ml を採取し、1 mol/l 酢

酸を 1 ml、更に 0.5 mol/l クエン酸水素二ナトリウム溶液を 0.1 ml 加えた後、アンモニア水で pH を 6 に調整し、水で全容積を 10 ml とした。次に、この溶液を分液漏斗に移した後、0.44 mol/l (10%) DDTC 0.1 ml を添加し、その後、酢酸ヘキシル 10 ml を加えた。これを 10 分間振り混ぜた後、有機相を遠心分離管に移し、遠心分離後、有機相の各元素を ICP-AES で測定、定量した。

3 結果と考察

3.1 貝の硬組織中多量成分カルシウムの干渉及び共存塩による影響

貝殻及び真珠の無機主成分は炭酸カルシウムであり、貝殻や真珠中のカルシウムは約 35～40% と大過剰存在している。ここでは、この多量成分カルシウムからの目的元素に対する影響について検討し、その結果を Fig. 1 に示した。■印は、各目的元素であるマンガン、鉄、亜鉛、銅に対し、種々の濃度のカルシウムが共存したときの発光強度の変化である。(1) のマンガンに対してはカルシウム濃度の増加に伴い負の干渉が増大し、(3) の亜鉛においては逆に正の干渉が、また (2) と (4) の鉄と銅においては被検元素に対しカルシウムが 10^3 ～約 10^4 倍まで共存したとき負の干渉を、またそれ以上では正の干渉を示している。

次にカルシウムのみからの分光干渉を調べるため、目的元素の各測定波長において発光強度を測定した。その結果は、Fig. 1 の (1)～(4) の△印に示しているように、カルシウムの濃度が 0.1～1.0 mg/ml 以上になると発光が検出され始め、また濃度増加に伴い発光強度の上昇が認められた。この原因は各測定元素の分析線において、カルシウムの分子バンドあるいは多量のカルシウムからの光散乱によるバックグラウンドの上昇によるのではないかと考えられる¹⁶⁾。そこで先の目的元素にカルシウムが共存したときの発光強度 (■印) から、このカルシウムのみ (△印) を差し引いたときの目的元素のみの発光強度 (○印) を図に示したが、カルシウム濃度が増加すると目的元素はいずれも負の干渉を受けることが明らかとなった。これは高濃度のカルシウムが導入されて、プラズマ温度の低下や試料の粘性増加に伴い、目的元素の発光強度が減少するのではないかと考えられる¹⁶⁾。

また、カルシウム以外の共存元素間の相互干渉については、実試料中で 1 ppm 以上²⁾、かつ元素相互間の含量比が 1 倍以上のものに対して、1～1000 倍の濃度まで共存元素の影響を詳細に検討した。その結果、1000 倍においても、いずれの元素間に対して干渉は認められず、共存元素の相互間の干渉は考慮する必要はなかった。

しかし、上述したようにカルシウムの干渉については、実試料貝殻中のカルシウム含量が、目的元素であるマンガ

Fig. 1 Effect of calcium concentration on the emission intensity of manganese, iron, zinc and copper
(1) ■, Ca + Mn (0.1 ppm), △, Ca alone, ○, ■-△; (2) ■, Ca + Fe (0.1 ppm), △, Ca alone, ○, ■-△; (3) ■, Ca + Zn (0.1 ppm), △, Ca alone, ○, ■-△; (4) ■, Ca + Cu (0.1 ppm), △, Ca alone, ○, ■-△

ン、鉄、銅及び亜鉛に対しほぼ1万～10万倍共存するため、目的元素からカルシウムを分離した後に測定する必要があり、緒言で述べたように、本研究では溶媒抽出法を採用することにして、以下抽出に関する諸条件を詳細に検討した。

3・2 抽出キレート試薬と抽出有機溶媒の選択

本研究の目的であるカルシウムと目的元素類を溶媒抽出分離するためには、目的元素と安定なキレートを形成し、カルシウムとは反応しにくいキレート剤を選択する必要性から、ここでは一般に広く用いられている S,S 配位の 2 座

配位子 DDTC⁽⁴⁾⁵⁾¹¹⁾¹²⁾ を用いることにした。次に抽出有機溶媒としてはプラズマ炎の点灯の維持が不可能となったり、あるいは炭素がトーチに付着しないケトン類などが多く使用され、著者らもジイソブチルケトン (DIBK) を用いたが^(4)5)10)～12)、これらは ICP にネブライズ中に独特の悪臭を伴い、かつ測定中及び測定後ネブライザーヤトーチに付着し、水で洗浄を行っても除去されにくく、それらがバックグラウンドの上昇原因となることがしばしば生じた。したがって、ここでは相対的に臭気が弱く、水で洗浄が容易なエステル系の中よりプラズマに適用可能な溶媒の選択を行った。

Table 1 Stability of the plasma against the organic solvents on esters

Organic solvents	Plasma	Sample flow rate/ ml min ⁻¹	Loss of solubility on organic solvents, %, $V_a/V_o^* = 100$
Ethyl acetate, CH ₃ COOC ₂ H ₅	extinguishment	N.D.**	~100
Propyl acetate, CH ₃ COOC ₃ H ₇	stable	3.4	~100
iso-Butyl acetate, CH ₃ COOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	stable	3.25	80
Butyl acetate, CH ₃ COOC ₄ H ₉	stable	3.25	80
Pentyl acetate, CH ₃ COOC ₅ H ₁₁	stable	2.82	15
Hexyl acetate, CH ₃ COOC ₆ H ₁₃	stable	2.8	<1
Heptyl acetate, CH ₃ COOC ₇ H ₁₅	stable	2.62	<1
iso-Octyl acetate, CH ₃ COOCH ₂ CH(C ₂ H ₅)C ₄ H ₉	stable	2.6	3
Octyl acetate, CH ₃ COOC ₈ H ₁₇	stable	2.4	3
Nonyl acetate, CH ₃ COO(CH ₂) ₈ CH ₃	stable	2.2	4
Decyl acetate, CH ₃ COOCH ₂ (CH ₂) ₈ CH ₃	stable	2.1	2

Measuring condition: carrier gas flow rate, 0.50 l/min; RF power, 2.0 kW; Ar(+5% O₂), 0.20 l/min. * V_a and V_o are the total volumes of aqueous and organic phases, respectively. ** No data

その結果、アルゴンのみを用いた ICP にこれらの有機溶媒を導入した際には、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチルの低級エステル類の 3 種はプラズマを消滅させ、更に高級なものはプラズマを消滅させないが、長時間測定を行うとトーチに炭素が付着した。

したがって、燃焼効率を上げるためにアルゴンに 5% の酸素を含んだプラズマにおいて、エステル類の適用性を詳細に調べ、その結果を Table 1 に示した。アルゴンだけのプラズマに比べ、炭素数が少なく蒸気圧の大きい酢酸エチルをプラズマに導入すると、従来どおりすぐに消滅したが、酢酸プロピル以上ではプラズマは安定となり、また酢酸ブチル以上では長時間連続導入してもトーチへの炭素の付着は生じなかった。しかし、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、天然水中イオン類の濃縮を行う場合には不適切である。これらに対し酢酸ヘキシルや酢酸ヘプチルは、水相と有機相との容積比（以後、 V_a/V_o と略記）が 100 の場合、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、濃縮用抽出有機溶媒としても十分適用できるものであったが、酢酸ノニル以上になると粘性が急激に増大するためかネブライザーが詰まりやすく、トーチへの導入が困難となった。

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、水にとけにくく、またネブライザーに付着したものの除去がケトン類より容易で、かつケトン類程の臭気がないことから、いずれも優れた抽出有機溶媒であると考えられた。

3.3 溶媒抽出法

DDTC-酢酸ヘキシル系において、目的元素の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

ート試薬濃度、緩衝溶液（酢酸）濃度、クエン酸濃度及び V_a/V_o の影響、更に抽出後の経時時間による発光強度の変化、測定条件、イケチョウガイを対象とした人工貝殻試料溶液を作製し²⁾、それに対する本抽出法の適用性などについて詳細な検討を行った。なお、抽出率 E (%) は分配比 (D) を算出した後、次式より求めた。

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

3.3.1 pH と抽出有機溶媒の影響 3.2 において選択した抽出有機溶媒、すなわち酢酸ヘキシル、酢酸ヘプチル、酢酸オクチルの 3 種のエステル類を用い、マンガンの抽出率に対する pH の影響について pH 1~8 の範囲で検討し、その結果を Fig. 2 に示した。いずれの抽出有機溶媒を用いても pH 6 において定量的に抽出され、いずれの溶媒も抽出挙動が類似していることを示した。また、鉄、銅、亜鉛に関しても pH 6 において定量的に抽出され、かつこれらの抽出有機溶媒種による効果は認められなかった。一方、カルシウムはこれらの pH の範囲では全く抽出されなかった。したがって、以後はこれらエステル 3 種の中でも最も粘性が低く、かつ水に溶けにくく、安価で、純度の高い酢酸ヘキシルを用いることにした。次にこの系を用いて、各目的元素の pH に対する抽出率について詳細に検討した結果を Fig. 3 に示した。この結果から、pH 6 において目的元素とカルシウムとの分離という点で十分満足できる結果を得ることができた。なお、鉄の抽出の場合、クエン酸が存在しないとき、pH 3 以上になると、鉄イオンの水酸化物が生成するためか、抽出率が低下した。そこで 3.3.4 で後述するように、そ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と、鉄が定量的に抽出された。以後は pH 6 を中心にして、クエン酸共存下において各目的元素の抽出条件について詳細な検討を行った。

Fig. 2 Effect of pH on the extraction of manganese on esters

DDTC: 4×10^{-3} mol/l; Citrate: 5×10^{-3} mol/l; $\triangle$: hexyl acetate; $\blacktriangle$: heptyl acetate; $\circ$: octyl acetate

Fig. 4 Effect of DDTC concentrations on the extraction of manganese, iron, zinc and copper into hexyl acetate at pH 6

Citrate: 5×10^{-3} mol/l; $\triangle$: Mn; $\blacksquare$: Fe; $\circ$: Zn; $\blacklozenge$: Cu

Fig. 3 Effect of pH on the extraction of manganese, iron, zinc, copper and calcium into hexyl acetate

DDTC: 4×10^{-3} mol/l; Citrate: 5×10^{-3} mol/l; $\triangle$: Mn; $\square$: Fe (without citrate); $\blacksquare$: Fe; $\circ$: Zn; $\blacklozenge$: Cu; $\bullet$: Ca

3.3.2 DDTC 濃度の影響 目的元素の抽出時における, DDTC 濃度と抽出率との関係を調べ, その結果を Fig. 4 に示した. それぞれの元素が定量的に抽出されるには DDTC 濃度が銅に対しては 4.4×10^{-4} mol/l, 鉄と亜鉛に

は 2.2×10^{-3} mol/l, マンガンには 4.4×10^{-3} mol/l 以上の濃度が必要であることを示した. 以後は目的 4 元素が同時に定量的に抽出される濃度 4.4×10^{-3} mol/l で行うことにした.

3.3.3 酢酸濃度の影響 pH 6 において金属イオンの抽出を行うことから, ここでは酢酸を 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1 mol/l の各濃度において変化させ, その抽出率と pH に対する緩衝効果を調べた. 酢酸濃度 0.03 mol/l 以下ではマンガンを除く 3 元素は定量的に抽出されたが, マンガンにおいては抽出率が 88% であり, また緩衝効果も低く, pH 7~8 に大きく変化した. 一方, 酢酸濃度 1 mol/l のときには鉄のみ抽出率が約 5% 低下した. 酢酸濃度 0.1~0.3 mol/l では 4 元素ともに抽出率が 95% 以上であり, 緩衝効果も pH 6 が pH 6.3~6.4 に変化する程度であった. したがって, 以後の酢酸濃度は 0.1 mol/l で行うことにした.

3.3.4 クエン酸濃度の影響 ここでは 3.3.1 で述べたようにクエン酸濃度の影響について $10^{-4} \sim 10^{-1}$ mol/l の濃度範囲において検討し, その結果を Fig. 5 に示した. $(3 \sim 5) \times 10^{-3}$ mol/l の範囲で目的元素はともに抽出率が 95% 以上であり, この濃度範囲以下ではクエン酸濃度が希薄になるため, 鉄の抽出率が下がり, また逆にこの濃度範囲以上になるとマンガンの抽出率が低下した. したがって, 今後は試料溶液中でのクエン酸濃度は 5×10^{-3} mol/l にて目的元素を抽出することにした.

3.3.5 水相と有機相との容積比の影響 水相 (V_a)

Fig. 5 Effect of sodium citrate concentrations on the extraction of manganese, iron, zinc, copper and calcium at pH6

DDTC: 4×10^{-3} mol/l; Organic solvent: hexyl acetate; $\triangle$: Mn; $\blacksquare$: Fe; $\circ$: Zn; $\blacklozenge$: Cu; $\bullet$: Ca

Fig. 6 Effect of volume ratio (V_a/V_o) of aqueous (V_a) and the organic (V_o) phase on the extraction of manganese, iron, zinc, copper and calcium at pH6

DDTC: 4×10^{-3} mol/l; Organic solvent: hexyl acetate; $\triangle$: Mn; $\blacksquare$: Fe; $\circ$: Zn; $\blacklozenge$: Cu; $\bullet$: Ca

と有機相 (V_o) との容積比 1~5 についての V_a/V_o の影響について検討した結果を Fig. 6 に示した。この V_a/V_o の範囲では鉄、銅、亜鉛は抽出率に変化は見られないが、マン

Fig. 7 Change in intensity of each element for the elapsed after the extraction

pH 6, DDTC: 4×10^{-3} mol/l; Citrate: 5×10^{-3} mol/l; Organic solvent: hexyl acetate; $\triangle$: Mn; $\blacksquare$: Fe; $\circ$: Zn; $\blacklozenge$: Cu

ガンは分配比が小さいためか、 V_a/V_o が増加するほど抽出率は低下した。したがって、マンガンを含めた抽出操作を行うには、 V_a/V_o には十分注意する必要がある。

3.3.6 経時変化 抽出後の有機相中の DDTC 錯体の経過時間に対する安定性を調べるため、抽出後、1 時間間隔で目的元素の発光強度の測定を 3 時間行い、その結果を Fig. 7 に示した。マンガンを除く 3 元素に対する強度に大きな変化は見られなかったが、マンガンにおいては時間が経過するにつれ発光強度が低下した。したがって、マンガンについては抽出後迅速に測定することが望まれ、以後は抽出後約 10 分以内に測定することにした。

3.4 有機溶媒中での各元素の検出限界

各目的元素の最適測定波長において、各元素の検出限界 (バックグラウンドの標準偏差の 3 倍の信号を与える濃度) を調べ、その結果を Table 2 に示した¹⁶⁾。

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の実試料貝殻及び真珠分析に対する前処理法としての適用性を検討するため、文献²⁾を基にイケチョウガイを対象とした人工貝殻試料溶液を作製し、定量を試みた。人工貝殻試料溶液中のマンガン、鉄、亜鉛、銅濃度の 75, 10, 0.7, 1 ppm に対し、2.2.2 の溶媒抽出操作を行い、ICP-AES により測定した結果、 75.4 ± 5.38 , 10.3 ± 0.06 , 0.75 ± 0.05 , 1.06 ± 0.06 ppm であった。多

Table 2 I_{BG}/I_W , I_{Me}/I_{BG} and detection limit (D.L.) for DDTC-hexyl acetate

Element	wavelength/ nm	$I_{BG}^a)/I_W^b)$	$I_{Me}^c)/I_{BG}$	D.L., ppb
Mn	257.61	0.95	19.26	1.47
Fe	238.20	0.96	10.02	3.61
Zn	213.86	1.09	11.74	3.01
Cu	324.75	0.87	36.74	0.38

a) Background height for hexyl acetate. b) Background height for water. c) Emission intensity of manganese, iron, zinc and copper (2 µg/ml).

Table 3 Determination of manganese, iron, zinc and copper in shell of Ikecho-gai

Elements	Added/ µg	Found/ µg	Contents in Ikecho-gai, ppm
Mn	0	8.0	800
	10	18.1	810
	30	37.6	760
			Ave. 790 ± 21.6
Fe	0	0.33	33
	0.3	0.63	33
	0.9	1.26	36
			Ave. 34 ± 1.4
Zn	0	0.10	10
	0.1	0.21	11
	0.3	0.41	11
			Ave. 10.7 ± 0.5
Cu	0	0.028	2.8
	0.02	0.047	2.7
	0.06	0.088	2.8
			Ave. 2.8 ± 0.1

Shell sample: 0.01 g

量のカルシウムが存在下において, 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-AES 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。

3.6 実試料の分析

3.6.1 実試料分析への適用性 実試料貝殻の王水及び過塩素酸による分解後の試料溶液中には多種多量の塩類が共存し, また無機酸に分解されにくく, かつ水溶性の有機物が共存している可能性があり, これらの影響を考慮しなければならない。そこでここでは実試料溶液に既知量のそれぞれの目的元素を加え, 本溶媒抽出法を用いて定量を試み, その結果を Table 3 に示した。いずれの元素も測定値から添加量を差し引くと実試料中含量はよく一致した値を示した。

3.6.2 実試料中含量における測定の再現性 イケチョウガイ貝殻試料溶液 (10 mg/ml) 中の目的元素の測定

Table 4 Determination of manganese, iron, zinc and copper in pearl of Ikecho-gai by various solvent extraction methods

Element	Pearl of Ikecho-gai		
	Method 1	Method 2	Method 3
Mn	1158 ± 3.47	1165	1102
Fe	24.4 ± 0.05	24.7	24.1
Zn	3.15 ± 0.14	3.64	3.49
Cu	1.07 ± 0.01	1.09	1.03

(Unit: ppm)

Method 1: DDTC-hexyl acetate system. Method 2: APDC-hexyl acetate system. Method 3: HPMTFP*-dibutyl ether system (* 1-Phenyl-3-methyl-4-trifluoroacetyl-5-pyrazolone)

において本抽出法により同一試料の測定を 5 回行い, 定量値の相対標準偏差 {RSD (%) } を求めた。その結果, マンガン, 鉄, 亜鉛及び銅についてはそれぞれ 1.17%, 17.6%, 12.9% 及び 6.55% であり, 測定の再現性において良好な結果が得られた。

3.6.3 本法と他の溶媒抽出系との分析値の比較 本抽出法を用いて実試料貝殻と真珠の分析を行い, 得られた各元素の定量値を他の抽出法によって得られた結果と比較した。ここでは実試料の対象としてイケチョウガイの真珠を用い, 検討した結果を Table 4 に示した。方法 1 は本法であり, 方法 2 はキレート剤としてピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC) を¹⁷⁾, また抽出有機溶媒には方法 1 と同じ酢酸ヘキシルを用い, 更に方法 3 は 1-フェニル-3-メチル-4-トリフルオロアセチル-5-ピラゾロン (HPMTFP) を, 抽出有機溶媒にはジブチルエーテルを用いた系である。なお, HPMTFP 試薬は著者らが合成¹⁸⁾したものである。その結果は Table 4 に見られるように, 本法と他の抽出法とによって得られた分析値はいずれの元素においてもよく一致している。したがって, どの前処理法を用いても, 実試料分析への適用が可能であることを示している。しかし, 方法 2 の試薬は DDTC に比べて分解しやすく, 特にマンガンの場合には高濃度の APDC を必要とし, マンガンキレートも極めて分解されやすい¹⁷⁾。また, 方法 3 で用いた HPMTFP はマンガンの抽出率が低く, カルシウムとの分離には pH 調整が極めて難しい¹⁹⁾。しかし, 方法 1 の本法では 4 元素とカルシウムとの分離が最も良く, かつ 4 元素が定量的に抽出された。このようなことにより, 本抽出法が優れた測定前処理法であることを示した。

3.6.4 淡水産及び海水産における種々の貝殻・真珠の分析 ここではイケチョウガイ (貝殻・真珠), シジミ (貝殻), アコヤガイ (貝殻・真珠), ハマグリ (貝殻) 及びアサリ (貝殻) に対し, 本法により各元素の固体中含有量を分析し, その結果を Table 5 に示した。この結果が

Table 5 Determination of manganese, iron, zinc and copper in various shells and pearls by DDTC-hexyl acetate system-solvent extraction

Element	Limnetic			Thalassic			
	Ikecho-gai		Freshwater clam	Pearl oyster		Clam	Little-neck clam
	Shell	Pearl	Shell	Shell	Pearl	Shell	Shell
Mn	941	1158	107	34.2	12.8	7.95	17.1
Fe	3.30	24.4	75.7	—	—	42.1	—
Zn	2.63	3.15	1.60	1.15	145	0.70	1.27
Cu	1.68	1.07	1.41	0.61	0.66	1.26	0.69

—: Not detected

(Unit: ppm)

ら、銅は淡水産及び海水産の貝殻・真珠すべてにおいて極めて低い含量値を示し、各貝殻及び真珠間にはそれほど含量差は見られず、亜鉛は海水産アコヤガイの真珠に極めて高い含量値を示し、また鉄は貝の種類によって貝殻・真珠中の含量に大きな差が見られ、その中でも淡水産シジミの殻体に最も高い含量値を示した。更に、これらの中でも特に注目されたのはマンガンで、淡水産の貝殻・真珠に高含量値を示すなど極めて興味ある現象を示した。

4 ま と め

本論文は、貝の硬組織中の微量マンガン、鉄、銅及び亜鉛を ICP-AES により測定・定量する際の前処理法として、溶媒抽出法について詳細な検討を行い、実試料分析に適用したところ満足すべき結果を得た。また、マンガンに関しては淡水産の貝殻と真珠中に極めて高含量値であることが認められ、今後は鉄、銅、亜鉛を含め、これら種々の試料中における含量や生息環境水並びに土壌との関連性に関する知見の必要性があり、これらについては現在検討中である。

文 献

- 1) K. M. Lee, J. Applenton, M. Cooke, K. Sawicka-Kapusta, M. Damek: *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **364**, 245 (1999).
- 2) O. Fujino, K. Orimi, T. Kotani, I. Nishino: *Jpn. J.*

Limnol., **60**, 607 (1999).

- 3) O. Fujino, E. Terada: *Anal. Sci.*, **12**, 963 (1996).
- 4) 藤野 治, 松井正和, 永広 徹, 中口 譲, 平木 敬三: 日本化学会誌, **1988**, 153.
- 5) 重松恒信, 松井正和, 藤野 治, 三野将司, 永広 徹: 日本化学会誌, **1975**, 1328.
- 6) 原口紘太: “生物無機化学の基礎”, (1992), (丸善).
- 7) 茅野充男, 齋藤 寛: “重金属と生物”, (1988), (博友社).
- 8) Zeev B. Alfassi, Chien M. Wai: “Preconcentration for Techniques Trace Elements”, (1992), (CRC Press, Boca Raton).
- 9) J. C. Chambers, B. E. McClellan: *Anal. Chem.*, **48**, 2061 (1976).
- 10) O. Fujino, S. Umetani, E. Ueno, K. Shigeta, T. Matsuda: *Anal. Chim. Acta*, **420**, 65 (2000).
- 11) 重松恒信, 松井正和, 藤野 治: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **22**, 1162 (1973).
- 12) T. Shigematsu, M. Matsui, O. Fujino, K. Kinoshita: *Anal. Chim. Acta*, **76**, 329 (1975).
- 13) J. P. Riley, D. Taylor: *Anal. Chim. Acta*, **40**, 479 (1968).
- 14) D. C. Burrell: *Anal. Chim. Acta*, **38**, 447 (1967).
- 15) Y. K. Chau, P. Y. Wan: *Talanta*, **15**, 867 (1968).
- 16) 原口紘太, 久保田正明, 森田昌敏, 宮崎 章, 不破敬一郎, 古田直紀: “ICP 発光分析法”, 日本分析化学会編, 基礎分析化学講座, (1988), (共立出版).
- 17) 藤野 治, 福井博章: 近畿大理工総研報, **14**, 5 (2002).
- 18) B. Jensen: *Acta Chem. Scand.*, **13**, 1668 (1959).
- 19) 藤野 治, 松田高士, 古井禎紹, 永広 徹: 日本化学会第 78 春季年会講演予稿集 I, p. 201 (2000).

要 旨

溶媒抽出/ICP-AES により貝の硬組織中微量マンガン、鉄、銅及び亜鉛の定量法について検討した。これらの微量元素に対して、貝殻や真珠中の多量成分カルシウムは約 $10^4 \sim 10^5$ 倍と大過剰含有されているため、測定時における影響について検討した結果、いずれの微量元素も正負の干渉を受けた。したがって、カルシウムとこれら微量元素とを測定前に分離する必要がある。ここでは溶媒抽出法を採用し、キレート試薬には DDTC を、また抽出有機溶媒にはエステル系を用いて、これら元素の抽出挙動を詳細に検討した。その結果、pH 6 でクエン酸塩共存下において、いずれの元素も酢酸ヘキシルに定量的に抽出され、逆にカルシウムは全く抽出されなかった。本溶媒抽出法を前処理法として、実試料貝殻や真珠中のこれら元素の定量を試みた結果、優れた分析方法であり、また淡水産貝殻や真珠において、マンガンが高含量値であることを示すなど、種々興味ある結果が得られた。