黒鉛炉原子吸光法による植物試料中の コバルト及びニッケルの定量

斉 文 啓*, 古谷 圭一**, 合志 陽一***

(1986 年 12 月 13 日受理)

黒鉛炉 AAS による Co 及び Ni の定量法につき検討し、茶葉、植物試料 (NBS SRM Orchard Leaves, Spinach) 中の Co, Ni の定量に応用した。植物試料中に微量で存在している Co, Ni は、添加剤としてトリオキソパナジン(V) 酸アンモニウムを加えることにより、濃縮、共存物質の分離などの前処理なしに、直接定量可能であった。本方法によって NBS SRM 1571 と 1570 の Co を定量した結果、0.19 と 1.35 $\mu\text{g/g}$ であり、参考値の 0.2, 1.5 $\mu\text{g/g}$ と良く一致した。Ni の結果については、1.22, 5.68 $\mu\text{g/g}$ であり、 $1.3 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ の表示値あるいは 6 $\mu\text{g/g}$ の参考値と良く一致した。本方法の相対標準偏差は Co 及び Ni に対してそれぞれ 0.42~1.80% 及び 0.89~4.80% である。溶媒抽出/黒鉛炉 AAS などの定量法より簡便、迅速であり、かつ定量精度も良かった。

1 緒 言

生体中の Ni 及び Co は必須元素に分類され、生物の健康の維持及び正常な代謝生理機能の維持に大きな重要性を有することが知られている。

Ni に関しては、生体中のデオキシリボ核酸やリボ核酸中に存在することが知られ、核酸の熱力学的安定性を維持する効果があると言われている。又、Co はビタミン B₁₂ の主な成分であり、この欠乏は貧血をもたらす。

植物に対する微量の Ni 及び Co の効果については、添加による生長促進が認められている¹⁾²⁾。

他方、これらの元素は、工業原材料、触媒などとして多量に使用されており、これらの蓄積についても新しい環境汚染物質として、検討を進める必要があり、その迅速かつ正確な定量方法の研究が進められている。

生体試料中の Ni 及び Co を定量するための従来の方法としては、試料を灰化後、溶液化し、これを 5Br-PADAP 法³⁾、ニトロソ R 塩法⁴⁾、ニトロソクレゾール法及びジメチルグリオキシム法⁵⁾などの比色法により測定する方法が利用されている。しかし、これらの元素は生体中の存在量が極めて微量である場合には適用できな

い。

近年、フレイムレス AAS による生物試料中の各元素の定量が検討されている。この方法は簡便かつ迅速に測定できる利点はあるが、試料灰化後に溶液化処理を行った場合、溶液中の共存物質による干渉が大きく、そのまま測定に供することは不可能な場合がある。このため、重水素ランプによるバックグラウンドの補正、溶媒抽出などによる干渉物質の除去について検討がなされている。微量の Ni, Co の溶媒抽出については、これまで報告された方法は 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール(PAN), 5Br-PADAP, DDTc, APDC, $\alpha\beta$ -NN などがある^{6)~10)}。札幌らは⁹⁾選択性及び抽出性の良好な 1-ニトロソ-2-ナフトールを用い、*m*-キシレンを抽出溶媒として植物中の 0.20 ppm の Co を定量し、更に、抽出試薬としてフリルジオキシムを用い、*m*-キシレンで抽出し、Ni (1.30 ppm) を測定した¹⁰⁾。

本報告では、黒鉛炉 AAS で植物中の Ni, Co を定量する際に、試料溶液中に添加剤としてトリオキソパナジン(V) 酸アンモニウムを加えると、灰化を行う際高温でも Ni, Co の散失がなく、妨害元素は揮散することを明らかにした。この添加剤を用いることにより、分離及び濃縮操作を行わない直接定量が可能となった。更にこの方法を、茶葉、Orchard Leaves (NBS SRM 1571), Spinach (NBS SRM 1570) の Ni, Co の定量に応用した。

* 中国科学技術大学：中華人民共和国合肥市

** 東京理科大学理学部応用化学科：162 東京都新宿区神楽坂 1-3

*** 東京大学工学部工業化学科：113 東京都文京区本郷 7-3-1

2 装置及び試薬

2.1 装置及び測定条件

装置は島津 AA-640 型, 同時補正装置付き 炭素管アトマイザー GFA-4 型を用いた. 光源は Ni, Co 中空陰極ランプを用い, 又, バックグラウンドの補正には, 重水素放電ランプを用いた. 試料の導入には, 10 μ l のマイクロビペットを使用した.

測定条件は, Table 1 のように設定した. これは 3 に述べる実験により, トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加した試料について最も良い結果を与える条件であり, 本報告中の測定値は特記した場合以外はすべてこれらの条件で得られたものである.

Table 1 Atomic absorption spectrophotometer (AA-640, GFA-4) setting for analysis of Co and Ni in plant

AA-640		
Light source : Co	Ni	H. C. L
Lamp source : 8 mA	9 mA	
Wavelength : 240.7 nm	232.0 nm	
Bandwidth : 1.9 Å	1.9 Å	
GFA-4		
Drying : 130 °C, 30 s		
Ashing : 800 °C, 25 s		
Atomizing : 2200 °C, 5 s		
Ar : 1 l/min		

2.2 試 薬

ニッケル, コバルト標準溶液 (1000 ppm) は AAS 用 (関東化学製) 標準溶液を用いた. 干渉イオンや添加剤として検討したものは, 特級試薬を用いて各々必要な濃度に調製したものである. 酸は, すべて特級試薬を使用した.

3 結果及び考察

3.1 添加イオンの効果

Ni と Co の定量に増感作用があると予想される塩類を選び, これらの増感作用を調べた. 実験溶液は, 60 ppb の Ni, 40 ppb の Co 及び 0.2% 添加剤を含むものを用いた. その結果を Table 2 にまとめた. 既に報告されている白金族の Pt, Rh, Pd の増感効果も観測されたが, Mo, W, V の酸素酸塩の増感効果のほうが優れている. 更に, 同じモリブデンイオンでも, 添加する塩が異なると, 増感効果の相違が見られた. Table 2 に示すように, モリブデン酸アンモニウムの増感が認められたが, 硫酸アンモニウムとシュウ酸アンモニウムの効果は認められなかった. テトラオキソバナジン(V) 酸ナトリウムとトリオキソバナジン(V) 酸アンモニウム

Table 2 Enhancement effect of additional ion as a matrix modifier on the absorbances for Co and Ni

Additives	Forms, 0.2%	Relative atomic absorption	
		Co	Ni
None		100	100
Mo	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	110	109
	MoCl ₅	104	105
Pt	Na ₂ PtCl ₆	115	100
	PtCl ₄	114	102
Rh	RhCl ₃	107	109
Pd	PdCl ₂	105	105
W	Na ₂ WO ₄	120	111
SO ₄ ²⁻	(NH ₄) ₂ SO ₄	101	102
C ₂ O ₄ ²⁻	(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄	100	101
V	Na ₃ VO ₄	134	121
	NH ₄ VO ₃	141	152

の増感効果が最も大きい. しかし, テトラオキソバナジン(V) 酸ナトリウムを添加した場合は, 他に比べて測定精度が悪いことも分かった. 以上の結果から, 添加剤としてトリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを用いることとした.

3.2 添加剤の量

トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムの増感効果と添加量との関係を検討した. 60 ppb の Ni と 40 ppb の Co を含む溶液に, トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 及び 1.0% 含む溶液を添加し測定を行った. その結果, トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムの添加量が 0.1~0.4% であれば, Ni, Co の吸光度は一定となり, 1.0% 以上では再現性が悪くなることが分かった. これは, 添加によって生ずるバックグラウンドや記憶効果によるものと考えられる. 以上の結果に基づき, トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムの添加量は 0.2% とした. なお, この添加量では, 溶液の粘度も変化せず, 試料注入後マイクロビペットの先端に溶液が残るという問題も起こらなかった.

3.3 灰化温度

札川ら⁹⁾¹⁰⁾によると, 灰化温度 600 °C 以上では灰化過程で Co が揮散し, Ni は 650 °C 以上で真の値より低い値を示し始める. 一方, 灰化温度が低すぎると, 原子化過程の初期に大きなバックグラウンド吸収が現れ, 誤差の原因となる. マトリックスの影響も効果的に除去するため, 更に高温で灰化することが必要である. 本研

究では、トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを加えたため、灰化反応及び原子化機構が変化することが予想される。灰化温度の定量値に与える影響を調べるために、試料溶液を各温度で 25 秒間灰化した後、2300 °C で 5 秒間原子化し、ピーク吸光度を測定した。その結果を Fig. 1 に示した。トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加した場合、1100 °C までは吸光度は高い値を示し、又、Ni と Co が散失しないことが分かった。

Fig. 1 Effect of ashing temperature on atomic absorption of Co and Ni

○ : 40 ppb Co; ● : Co+NH₄VO₃; ⊙ : 60 ppb Ni; ● : Ni+NH₄VO₃

この結果から、以降の実験における灰化温度を 800 °C とした。

本研究では、Ni の微量分析中において通常使用されている吸収極大波長 2320.0 Å の共鳴線を用いるが、Ni のイオン線である 2319.8 Å の干渉によりバックグラウンドが高くなり、感度も低下する。又、低温灰化の場合は、粒子の大きい塩類、共存物の粒子が生成し、光源からの光が散乱されるが、トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加した場合には、高温でトリオキソバナジン(V) 酸ニッケルが生成するため、Ni のイオン化が防止され、同時に、共存塩類のマトリックスが除去されるという効果が得られた。

Co の定量の際にも同様な問題がある。すなわち、Co の吸収極大波長の 2407.3 Å に対し近接するスペクトル線である Co のイオン線 2407.7, 2408.8 Å が 2 Å のバンド幅程度の設定では妨害となる。一方バンド幅が小さすぎると、シグナルも小さくなり、S/N が減少する原因となる。これに対して同様な理由で、トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加すれば、Co のイオン化

が防止され、又、共存元素を除去することができた。

3.4 原子化条件の選択

灰化温度を 800 °C、25 秒間とし、原子化時間を 5 秒とした際の原子化温度の影響を調べるために、原子化温度を 1800 °C から 2500 °C まで変化させて、上記の試料溶液を用い、ピーク吸光度を測定した。この結果を Fig. 2 に示した。

Fig. 2 Effect of atomization temperature on atomic absorption of Co and Ni

○ : 40 ppb Co; ⊙ : 60 ppb Ni; ● : Co+NH₄VO₃; ● : Ni+NH₄VO₃

原子化温度の上昇と共に、ピークの形状は鋭くなり、吸光ピークの高さも徐々に増加する。トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加しない場合には、原子化温度が 2000~2100°C 以上で、ピーク吸光度が徐々に減少するのが観測された。一方トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加した場合には、原子化温度の最適範囲は 2000~2300 °C に広がった。これは、原子化過程が変化したためと考えられる。以上の結果に基づき、原子化条件を 2200 °C、5 秒間とした。

3.5 共存イオンの影響

通常の植物に含まれると考えられる主な元素の 0.30 ppm の Ni と 0.10 ppm の Co の定量に及ぼす干渉効果について調べた。又、試料を調製するとき使用する酸による効果も検討した。

硫酸、リン酸、過塩素酸は灰化、原子化過程で白煙を発生し、定量値に影響を及ぼす可能性がある。好ましい酸ではない。特に、硫酸、リン酸の場合は、それらの濃度が 2.5% 以上であると、溶液の粘度が高くなり、試料注入時に溶液がマイクロピペットの先端に残り、誤差を生じやすい。塩酸の場合、Ni、Co は塩化物として

揮発しやすいため, 添加剤と高温灰化を利用する直接定量法に不適当と思われる. 硝酸は 0.5~4.5% の範囲で, Ni, Co の定量結果に影響も及ぼさないことが分かった. 従って, 本研究では用いる標準溶液及び試料溶液は 0.5% 硝酸とした.

上述条件では, トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを添加した場合には, 0.30 ppm の Ni と 0.10 ppm の Co の定量に対して, K(1600 ppm), Na(300), Ca(270), Fe(135), Mg(200), Mn(195), Cu(1.5), Zn(3.0) 及びモリブデン(VI) 酸, 塩化白金酸, テトラオキソタングステン(VI) 酸, トリオキソバナジン(V) 酸など 500 ppm の陰イオン, 200 ppm の Rh(III), Pd(II), Pt(IV) などの共存イオンによる影響は認められなかった.

トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを加えない場合について, 直接定量法により, Ni, Co を測定したところ, Ca, K, Na 各イオンが共存すると, 発光のためと考えられるバックグラウンドが強く, 重水素ランプで補正できず, 測定は不可能であった.

50~300 ppm の Al の共存について, Ni の測定に対しては, 干渉が認められなかったが, Co の測定に負の誤差を与えることが認められた. この干渉は, Ure¹¹⁾ が報告した光散乱によるスペクトル干渉が大きいとする結果と良く一致している. すなわち, Co に Al を共存させた場合, 吸光度低下や分子吸収が大きい. ただし, 50 ppm から 200 ppm までの Al が共存する場合, その干渉の効果は一定であった. これは Al の濃度が増すにつれて, Co の吸光度が低下するが, 光散乱はほぼ一定であることを示している. この結果も又 Ure¹¹⁾ の結果と一致する.

Al の負干渉を補正するため, 植物に含まれる Al 量から計算して標準溶液に 100 µg/ml の Al を加え, その影響を一定のものとする事とした.

3.6 検量線及び添加回収実験

以上の検討の結果, Ni 及び Co の濃度がそれぞれ 0.074~7.72 ppm, 0.015~1.88 ppm の範囲で直線の検量線が得られた. 又, これらのこう配は標準添加法の検量線とも良く一致した.

植物中の Ni, Co の量について繰り返し測定したところ, 本方法による測定値の相対標準偏差は Ni の濃度 5.68~1.22 ppm に対して 0.89~4.80% であり, Co の濃度 0.081~1.35 ppm に対して 0.42~1.80% であった.

なお, これとともに, 回収実験も行った. 30 ppb の

Co を添加した際の 9 回の測定結果は 31~30 ppb であり, 回収率は 103~100% であった. 又, 30 ppb の Ni を加えた測定結果は 29~32 ppb であり, 回収率は 97~107% であった.

3.7 Si の影響

実験に使用した植物試料には, NBS SRM 1571 Orchard Leaves で 1.02 mg/g, 茶葉で約 0.65 mg/g の Si (SiO₂ として) を含んでおり, 試料の分解過程で二酸化ケイ素となり, Ni と Co の定量を妨害し, 低値も与える. 又, Si を除去しない場合, Ni, Co の相対標準偏差は 1.3 と 6.0 ppm の Ni に対して 15.9, 0.75% であり, 0.2 と 1.5 ppm の Co に対して 2.3, 1.6% 程度であった.

この原因に関しては, 二酸化ケイ素による金属イオンの吸着が報告されている¹²⁾. Si の除去方法には, 二酸化ケイ素を分別する方法, フッ化水素酸で揮散除去する方法があるが, 前者は溶液量が増加するので, 後者の方法を採用することとした.

4 茶葉, Orchard Leaves 及び Spinach の分解と Ni, Co の定量

4.1 乾式灰化

札川⁹⁾の方法を参考にして, 105 °C で 2 時間乾燥した試料の 1000 g を石英るつぽに採り, マッフル炉で 200 °C で 1 時間加熱灰化する. 更に, 600 °C で 1 時間加熱灰化し, 残留物に硝酸 (1+1) 3 ml, 過塩素酸 2 ml を加え, 分解する. 分解液をテフロンビーカーに移し, 2 ml のフッ化水素酸を添加し, 150 °C で白煙がほとんど生じなくなるまで加熱蒸発する. 冷却後, 1% トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウム 5 ml と 0.5% 硝酸を加え, 析出物を加熱溶解する. もしマンガン化合物の沈殿を生じ, 褐色を呈した場合, 1% 過酸化水素 1 滴を添加し溶解する. 0.5% 硝酸で正確に 50 ml とする.

4.2 湿式灰化

試料 1000 g をテフロンビーカーに採り, 硝酸 10 ml を加え, 加熱分解した後, 過塩素酸 5 ml を添加し, 白煙を発生させた後, フッ化水素酸 2 ml を添加し, 以下乾式灰化と同様に処理し, 試料溶液とする.

4.3 定 量

10 ml のメスフラスコ中に 1 ml の 1% トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウム及び 1 ml の 1 mg/ml アルミニウム溶液を加え, Ni 及び Co を一定量ずつ加え,

0.5% 硝酸で一定体積とした。

これらの溶液と試料溶液それぞれの 10 μ l をマイクロピペットで採取し、アトマイザーに注入し、Table 1 に示した条件により、Ni と Co とのピーク吸光値を測定する。その結果を Table 3 にまとめた。

Table 3 Determination of Co and Ni in plant materials (μ g/g)

Sample	HF treatment	Tea		OL ^{a)}		Spinach ^{b)}	
		no	yes	no	yes	no	yes
Co	$\bar{X}$	—	0.081	0.017	0.19 ^{c)}	1.13	1.35 ^{e)}
	R.S.D., %	—	0.42	2.30	1.70	1.60	1.80
Ni	$\bar{X}$	—	4.68	0.87	1.22 ^{d)}	4.30	5.68 ^{f)}
	R.S.D., %	—	4.30	15.9	4.8	0.75	0.89
Co ^{g)}	$\bar{X}$				0.18		1.27
	R.S.D., %				3.0		13.1
Ni ^{h)}	$\bar{X}$				1.14		6.21
	R.S.D., %				9.8		10.2
Ni ⁱ⁾	$\bar{X}$				1.17		5.58
	R.S.D., %				3.8		0.15

a) NBS SRM 1571 Orchard Leaves, $n=5$; b) NBS SRM 1570 Spinach, $n=5$; c) non-certified value 0.2 μ g/g; d) standard value 1.3 ± 0.2 μ g/g; e) non-certified value 1.5 μ g/g; f) non-certified value 6 μ g/g; g) by extraction method with 5Br-PADAP/MIBK ($n=5$); h) by extraction method with dimethylglyoxime (n) amyl acetate ($n=5$); i) by stripping method with 0.1 M HCl. $\bar{X}$: mean of ten determinations; R.S.D.: relative standard deviation.

なお、本方法と比較するため、Ni について、ジメチルグリオキシム-酢酸- n -アミル抽出¹³⁾、Co について、5Br-PADAP-MIBK 抽出を行って定量し¹⁴⁾、結果も合わせて Table 3 に示した (測定条件は札川ら⁹⁾¹⁰⁾を参考にした)。

Table 3 に示すとおり、両法の結果は、Spinach 中の Co がやや低値であることを除いては、NBS 参考値に極めて良く一致し、トリオキソバナジン(V) 酸アンモニウムを用いた結果の精度は極めて良く、又、操作性においても他法に比べて優れていることが分かった。

終わりに、本研究を行うに当たり、御世話になった東京大学理学部不破敬一郎教授、刈平氏、同工学部福島整氏、東京理科大学理学部渡辺友治氏に深く感謝します。

文 献

- 1) T. C. Hutchinson: "Effect of Heavy Metal Pol-

lution on Plants", Edited by N. W. Lepp, p. 171 (1981), (Applied Science Pub., London).

- 2) 高橋英一: 化学と生物, **23**, 330 (1985).
- 3) 魏復盛, 朱玉瑞, 沈乃葵: 化学試剤, **1**, 52 (1980).
- 4) A. J. Hall, R. S. Young: *Anal. Chem.*, **22**, 497 (1950).
- 5) N. E. Dixon, R. L. Blakeley, B. Zerner: *Can. J. Biochem.*, **58**, 469 (1980).
- 6) W. J. Simmons: *Anal. Chem.*, **45**, 1947 (1973).
- 7) D. W. Dewey, H. R. Marson: *Anal. Chim. Acta*, **57**, 45 (1971).
- 8) W. J. Simmons: *Anal. Chem.*, **47**, 2015 (1975).
- 9) 札川紀子, 川瀬晃: 分析化学, **29**, 6 (1980).
- 10) 札川紀子, 川瀬晃: 分析化学, **27**, 37 (1978).
- 11) A. M. Ure, R. L. Mitchell: *Spectrochim. Acta*, **23B**, 79 (1967).
- 12) D. E. Leyden, G. H. Luttrell: *Anal. Chem.*, **47**, 1612 (1975).
- 13) 斉文啓, 何友昭: 中国科学技術大学学报, 増刊, 65 (1982).
- 14) 斉文啓, 何友昭: 環境科学情報, **12**, 9 (1981).

☆

Determination of cobalt and nickel in plant materials by graphite furnace AAS. Qi WENQI*, Keiichi FURUYA** and Yohichi GOHSHI*** (*China University of Science and Technology, Hefei City, the People's Republic of China; **Department of Chemistry, Science University of Tokyo, 1-3, Kagurazaka Shinjuku-ku, Tokyo 162; ***Department of Industrial Chemistry, University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113)

A precise analytical method for using graphite furnace AAS is described for the determination of trace amounts of Co and Ni in plant materials. By adding NH_4VO_3 as a matrix modifier, direct quantitative determinations of Co and Ni are possible without preconcentration or separation of coexisting elements. This method was applied to the determinations of Co and Ni in Tea and Orchard Leaves (NBS SRM 1570) with satisfactory results. The analytical results of Co were 0.19 μ g/g and 1.35 μ g/g on the average for Orchard Leaves and Spinach, respectively, which agreed with the reference value (0.2 μ g/g and 1.5 μ g/g). The results of Ni were 1.22 μ g/g and 5.68 μ g/g respectively on the average for Orchard Leaves and Spinach, which agreed with the value 1.3 ± 0.2 μ g/g and reference value 6 μ g/g.

(Received December 13, 1986)

Keyword phrases

AAS; graphite furnace; Co; Ni; plant materials; matrix modifier.