報 文

生体試料中のスズのランタン処理黒鉛炉原子吸光分析
における含硫アミノ酸の干渉とその抑制武尾 正弘^{®*}, 常陰 典正^{*}, 高田 英資^{*}, 前田 嘉道^{*}

(1995 年 5 月 11 日受付)

(1995 年 6 月 21 日審査終了)

生体試料中のスズの黒鉛炉原子吸光分析の際、含硫アミノ酸が著しい干渉作用を発現することを見だし、その干渉を抑制する方法について検討を行った。100 ml のケルダールフラスコに生体試料 1 g をひょう取し、硝酸 20 ml を加え、マントルヒーターで液量が 2~3 ml になるまで加熱し、有機物を分解する。これを室温まで冷却し、100 ml メスフラスコに移し、硝酸 2 ml とマトリックス修飾剤としてニクロム酸カリウム溶液 (2w/v%) 5 ml とリン酸一水素アンモニウム 3 g を添加した後、標線まで水を加え、ランタン被覆パイロ化黒鉛炉を用いて原子吸光分析を行う。本法によるスズの検出限界は 0.05 µg/g、定量限界は 0.17 µg/g であった。本法は、含硫アミノ酸等の共存物質の影響を排除でき、魚介類中のスズの定量に応用できることが分かった。

1 緒 言

黒鉛炉原子吸光分析法 (GF-AAS) は、少量の試料で金属を高感度に定量でき、操作も簡便であるため、環境分析の分野で幅広く利用されている。しかし、近年、特に船底防汚塗料等による汚染で注目されているスズについては、その分析感度や精度が十分ではなく、又共存物質による干渉を受けやすいことが報告されている¹⁾²⁾。著者らは、魚介類等の生体試料中のスズ定量を目的に、金属炭化物被覆グラファイト管 (GFT) の使用により増感させる方法³⁾⁴⁾やマトリックス修飾剤添加によるマトリックスの影響を除去する方法⁵⁾⁶⁾について既報論文を参考に種々検討を行い、その結果、無機スズの標準添加によって分析感度の向上が特に認められた、ランタン被覆パイロ化 GFT 管の使用と 0.1% ニクロム酸カリウム及び 2% 硝酸を添加する方法を標準操作として採用した。しかし、本法を用いて魚肉にスズを標準添加してスズの定量を行ったところ、スズによる吸光を全く得ることができなかった。

そこで、本報では、生体試料中のスズ定量を妨害する物質の特定とその対応策について検討を行ったので報告する。

2 実 験

2・1 試 薬

スズ標準溶液: 原子吸光分析用 1000 ppm スズ標準液を水で適宜希釈して使用した。

ランタン溶液 (10%): 硝酸ランタン 5 g を水 50 ml に溶解した。

カザミノ酸: Difco Lab. (USA) 製を使用した。

試薬は特級又は相当品を用いた。又、試薬などの調製には、蒸留・イオン交換水を用いた。

2・2 標準操作

100 ml のケルダールフラスコに生体試料 1 g をひょう取し、硝酸 20 ml を加え、マントルヒーターで液量が 2~3 ml になるまで加熱し、有機物を分解する。これを室温まで冷却し、100 ml のメスフラスコに移し、硝酸 2 ml とマトリックス修飾剤としてニクロム酸カリウム溶液 (2w/v%) 5 ml とリン酸一水素アンモニウム 3 g を添加した後、標線まで水を加え、ランタン被覆パイロ化黒鉛炉を用いて原子吸光分析を行う。

2・3 分析装置及び測定条件

原子吸光分析装置には、日立製作所 180-70 型偏光ゼーマン原子吸光光度計を用い、光源には日立製作所製中空陰極ランプを用いた。機器の測定条件を Table 1 に

* 姫路工業大学工学部応用化学科: 671-22 兵庫県姫路市書写 2167

Table 1 Instrumental operating conditions

Wavelength	224.6 nm
Slit width	0.4 nm
Lamp current	10.0 mA
Drying	100~120°C 30 s
Ashing	800°C 30 s
Atomization	2500°C 5 s
Cleaning	2800°C 3 s
Sheath gas	Ar 200 ml/min
Sample volume	10 μ l

示した。

2.4 GFT の処理

ランタン溶液 50 ml を 100 ml 容三角フラスコに入れ、GFT を浸し、アスピレーターで減圧しながら超音波洗浄器中で泡が出なくなるまで振り混ぜる。これを真空デシケーターに入れてアスピレーターで 90 分減圧し、室温で 30 分放置する。次いで 110°C で 2 時間乾燥する。このように処理した管をグラファイトアトマイザーに設置し、120°C で 60 秒、400°C で 60 秒、400°C から 1000°C まで 30 秒、1000°C から 2500°C まで 30 秒、2500°C から 2700°C まで 10 秒、最後に 2700°C で 10 秒間高温処理し、この加熱処理を 2 回繰り返す。

2.5 魚分類試料の採取

分析用の魚分類試料として、1993 年 12 月 29 日に網干木材港（姫路市）、新日鉄広畑製作所波止（姫路市）、須磨港（神戸市）、そして西宮ヨットハーバー（西宮市）の 4 地点でイガイ試料を採取し、又同日に網干木材港、新日鉄広畑製作所波止で、1994 年 1 月 15 日に和田岬川崎重工内（神戸市）、東二見人工島（明石市）、明石港（明石市）で魚類試料（アイナメ、カサゴ）を採取した。

3 結果及び考察

3.1 生体試料湿式灰化時の酸の影響

生体試料の湿式灰化時に用いる酸の種類と濃度について検討を行った。各種濃度の硝酸、塩酸、硫酸、過塩素酸及びリン酸を含むスズ溶液（測定時最終濃度：0.02 mg Sn/l）を用い、スズの吸光度を測定した。その結果、Fig. 1 の示すように硝酸、塩酸及びリン酸は 5 M まで共存させても全く影響はなかったが、過塩素酸や硫酸では負の干渉が著しく、スズの吸光度は少量の添加でさへほぼ空試験値となった。従って、生体試料の湿式灰化に

Fig. 1 Effect of acids on the absorbance of tin

○: HNO_3 ; □: HClO_4 ; △: H_3PO_4 ; ■: HCl ; ●: H_2SO_4 ; Sn: 0.02 mg/l

は硝酸を用いることとした。

3.2 スズの魚肉への標準添加

スズ標準液（10 mg Sn/l）0~15 ml を 100 ml のケルダールフラスコに段階的に採り、硝酸 20 ml を加え、マントルヒーターで液量が 2~3 ml になるまで加熱し、室温まで放冷後、スズの吸光度を測定し、検量線を作成した。最終溶液のマトリックス修飾剤濃度は、ニクロム酸カリウム 0.1%，硝酸 2% である。又、生体試料として、乳鉢でよくすりつぶした魚肉（サバ）の可食部 1 g を 100 ml のケルダールフラスコに採り、検量線と同様の方法でスズの標準添加を行った。その結果、検量線は Fig. 2 に、その検量線式は次式に示すとおりとなったが、標準添加直線はほぼ空試験値のままであり、全くスズの吸光度を得ることができなかった。ここで、 A はスズの吸光度を、 X はスズ濃度（mg/l）を示す。

$$A = 6.25X + 0.035$$

魚肉へスズを標準添加するとスズの吸光度が得られなくなる理由として、硝酸による魚肉の加熱分解中か、あるいは、GF-AAS 測定時の乾燥又は灰化段階か、のどちらかでスズが揮散するためと考えられる。

そこで、加熱分解中にスズが揮散しているかどうかを確認するために、魚肉の加熱分解後にスズの標準添加を行ったが、Fig. 2 に示すように分解前に標準添加した場合と同様、スズの吸光度は全く得られなかった。従って、スズが揮散したのは加熱分解中ではなく、GF-AAS の乾燥又は灰化段階でスズが魚肉中のなんらかの物質と化合物を形成して揮散するためと考えた。

Fig. 2 Calibration curve and standard addition of tin to fish tissue

○: calibration curve; ●: standard addition before digestion; □: standard addition after digestion; Matrix modifier: 0.1% $K_2Cr_2O_7$

Fig. 3 Effect of casamino acids on the absorbance of tin

Sn: 0.02 mg/l

3・3 妨害物質の検討

魚肉中のスズ測定を妨害する原因物質として考えられるものに、タンパク質を酸加水分解した際の生成物であるアミノ酸あるいはその分解物質が疑われる。そこで、まず、カゼインの酸加水分解物であり、種々のアミノ酸を豊富に含むカザミノ酸を用い、その影響を調べたところ、Fig. 3 に示すように少量のカザミノ酸の添加 (0.2%) でさえ魚肉のときと同様、吸光度の極端な減少を認めた。従って、スズの定量を妨害している主要原因物質は魚肉中のアミノ酸ではないかと推定した。

次いで、この妨害物質を特定するために、個々のアミノ酸を用いてスズ測定に及ぼす影響を検討した。アミノ酸の添加量は、それぞれ終濃度が 0.1 及び 1% となるように調製した。又、スズ吸光度は、アミノ酸を添加しない場合を 100 としてその相対吸光度 (%) で表した。Fig. 4 に示すとおりほとんどのアミノ酸はスズ測定に影響を与えなかったが、メチオニン、シスチン、システインが共存すると、スズの吸光度が空試験値まで下がった。これら 3 種類のアミノ酸に共通する性質は、含硫アミノ酸であるという点である。従って、魚肉中のスズの測定を妨害する主な原因は、アミノ酸中の硫黄と考えられる。一方、脂肪酸分岐アミノ酸であるバリン (1%), ロイシン (0.1%) 及びイソロイシン (1%) 添加分の吸光度がわずかに下がった。

3・4 マトリックス修飾剤による妨害の抑制

アミノ酸を硝酸で加熱分解する際、アミノ酸中の硫黄は硫酸塩に酸化されると考えられる。GF-AAS でスズを定量する際に硫酸塩が共存すると、スズの吸光度が完全に抑えられることはよく知られており、Fritzche ら⁷⁾ は、この理由を硫酸スズが直接揮発していると推定している。又、Hocqrellet ら⁸⁾ は、炭素を媒介として揮発性

Fig. 4 Effect of various amino acids on the absorbance of tin

■: 0.1% amino acid; □: 1.0% amino acid; Sn: 0.02 mg/l

Table 2 Removal of sulfur-caused interference in the tin determination by added ammonium salts and phosphates

Matrix modifier	Added g/ 100 ml	Sn ab- sorbance	Back- ground
Ammonium salts (0.45 M)			
CH ₃ COONH ₄	3.5	0.035	0.029
NH ₄ NO ₃	3.6	0.035	0.035
(NH ₄) ₂ CO ₃	2.2	0.047	0.048
(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ ·H ₂ O	3.2	0.060	0.025
NH ₄ H ₂ PO ₄	5.2	0.124	0.608
(NH ₄) ₂ HPO ₄	3.0	0.128	0.561
Phosphates (0.035 M)			
KH ₂ PO ₄	0.48	0.109	0.712
K ₂ HPO ₄	0.61	0.052	0.595
K ₃ PO ₄	0.73	0.044	0.695
NaH ₂ PO ₄	0.55	0.117	0.642
Na ₂ HPO ₄	1.25	0.052	0.497
Na ₃ PO ₄	1.33	0.052	0.624
H ₃ PO ₄	0.34 (ml)	0.125	0.709
NH ₄ H ₂ PO ₄	5.2	0.130	0.552
(NH ₄) ₂ HPO ₄	3.0	0.130	0.494
None		0.039	0.032

* Sn: 0.02 mg/l; Casamino acids: 0.5 %

硫化スズが生成するためと述べている。すなわち、乾燥又は灰化段階で硫酸スズとグラファイト壁との相互作用によって硫化スズが生成し、原子化以前に揮発するとしており、Rayson ら⁹⁾もこれを支持している。

そこで、この含硫アミノ酸が原因となる妨害についても、硫酸塩による妨害と同等と考え、Hocqrellet ら¹⁰⁾ (硝酸アンモニウム)、Kaiser ら¹¹⁾ (リン酸二水素アンモニウム)、Pinel ら¹²⁾ (リン酸一水素アンモニウム) 及び Pruszkowska ら¹³⁾ (リン酸一水素アンモニウムと硝酸アンモニウム) が、硫酸塩による阻害を抑制するために用いた各種マトリックス修飾剤を用いて、それらの妨害抑制効果について検討を行った。

魚肉に代わる均一な試料として 0.5 % のカザミノ酸を用い、種々のアンモニウム塩 (アンモニウムイオンとして 0.45 M) 及びリン酸塩 (リン酸イオンとして 0.035 M) を添加してこれらの抑制効果を調べた。なお、リン酸一水素アンモニウム及びリン酸二水素アンモニウムは、アンモニウム塩でもリン酸塩でもあるため、両濃度を用いて実験を行った。その結果、Table 2 に示すようにリン酸一水素アンモニウムあるいはリン酸二水素アンモニウムを添加した場合に最も高い吸光度が得られた。一方、バックグラウンドについても、リン酸塩を添加した場合は比較的高い値となった。そこで、本法では、リ

Fig. 5 Effect of diammonium hydrogenphosphate on the absorbance of tin

Fish tissue: 1 g/100 ml; Sn: 0.02 mg/l

ン酸塩の中でバックグラウンド吸収が最も小さく、かつ最も高い吸光度が得られたリン酸一水素アンモニウムをマトリックス修飾剤とし、先に決定したニクロム酸カリウムと併用することとした。

次に、魚肉 1 g を乳鉢ですりつぶし、ケルダールフラスコで分解後、100 ml メスフラスコに移し、最終濃度がそれぞれ 0.1 %、2 % となるようにニクロム酸カリウム及び硝酸を添加した。更に、種々濃度になるようにリン酸一水素アンモニウムを添加し、標準操作と同様にスズの添加と吸光度の測定を行い、リン酸一水素アンモニウムの最適添加濃度を検討した。Fig. 5 に示すとおりリン酸一水素アンモニウムを 1 % 以上共存させると、一定で最大の吸光度を示し、含硫アミノ酸の妨害を抑制できることが分かった。従って、この後の標準操作としては、ランタン被覆パイロ化 GFT を用い、マトリックス修飾剤として、0.1 % のニクロム酸カリウム及び 2 % 硝酸に加え、3 % のリン酸一水素アンモニウムを添加することとした。

3・5 含硫アミノ酸の妨害を抑制した場合の魚肉への標準添加

スズ標準液 (10 mg Sn/l) 0~20 ml を 100 ml のケルダールフラスコに段階的に採り、硝酸 20 ml を加え、マントルヒーターで液量が 2~3 ml になるまで加熱し、室温まで放冷後、標準操作に従って検量線を作成した。最終溶液のマトリックス修飾剤濃度は、ニクロム酸カリウム 0.1 %、リン酸一水素アンモニウム 3 %、硝酸 2 % とした。一方、乳鉢でよくすりつぶした魚肉の可食部 1 g を 100 ml のケルダールフラスコに採り、検量線と同様の方法で標準添加を行った。その結果を Fig. 6 に示

Fig. 6 Calibration curve and standard addition of tin to fish tissue

○: calibration curve; ●: standard addition; Matrix modifier: 0.1% $K_2Cr_2O_7$ & 3% $(NH_4)_2HPO_4$

す。検量線は式(1)に、標準添加直線は式(2)に示す結果となった。

$$A = 3.95X + 0.041 \quad (1)$$

$$A = 5.28X + 0.048 \quad (2)$$

ここで、 A はスズの吸光度を、 X はスズの濃度 (mg/l) を示す。式(2)のこう配は式(1)のこう配と比較するとかなり大きく、魚肉試料中のスズを測定する際には増感干渉があることが分かった。従って、魚肉中のスズの定量には検量線法を用いることができないため、標準添加法を用いることにした。空試験の5回の繰り返し測定から求めた標準偏差の3倍より算出した検出限界は $0.05 \mu\text{g/g}$ 、10倍より算出した定量下限は $0.17 \mu\text{g/g}$ となり、標準添加法を用いて算出したこの魚肉中のスズ濃度 ($0.14 \mu\text{g/g}$) は検出限界以上定量下限以下であった。

3・6 魚介類実試料中のスズの定量

本法を用いて魚介類中のスズの定量を行った。標準操作に基づき、2・5で述べた瀬戸内海の7地点より採取した魚介類を湿式灰化法で分解し、その全スズを定量した結果を Table 3 に示す。測定した4地点のイガイ試料の中で、特にスズ濃度が高かったのは須磨港であった。本試料のスズ定量値が高かった理由として、採取地真横に漁船ドックがあり、船底塗料類の影響を受けた可能性

Table 3 Analytical results for the total tin in the tissues of fish and mussel

Tissue	Sampling point	Concentration/ $\mu\text{g g}^{-1}$	RSD, % ^a
Mussel	Aboshi lumber port	0.37	6.6
	Shinnittetsu breakwater	0.63	11.8
	Suma port	2.18	15.0
	Nishinomiya yacht harbor	0.54	14.3
Rock fish	Wada Promontory	0.22	9.9
Greenling	Aboshi lumber port	N.D. ^b	—
	Shinnittetsu breakwater	0.22	17.2
	Higashi-hutami	0.18	10.1
	Akashi port	N.D.	—

a) relative standard deviation (5 determinations); b) not detected ($<0.17 \mu\text{g/g}$)

がある。一方、魚類 (和田岬はカサゴ、それ以外はアイナメ) の場合、イガイと比較してスズの含有量は少なく、ほとんどが定量下限付近の値を示した。このように、本法により迅速かつ簡便に魚介類中のスズ定量が達成された。

文 献

- 1) 多賀光彦, 桜田 修, 高橋英明: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **37**, 164 (1988).
- 2) 斉 文啓, 林 淑欽: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **38**, 228 (1989).
- 3) 趙 貴文, 王 守信, 朱 明陽, 酒井 馨: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **32**, 164 (1982).
- 4) M. Chamsaz, J. D. Winefordner: *J. Anal. At. Spectrosc.*, **3**, 119 (1988).
- 5) Z.-M. Ni, X.-Q. Shan: *Spectrochim. Acta*, **42B**, 937 (1987).
- 6) T. Ferri, E. Cardarelli, B. M. Petronio: *Talanta*, **36**, 513 (1989).
- 7) H. Fritzche, W. Wegscheider, G. Knapp: *Talanta*, **26**, 219 (1979).
- 8) P. Hocqrellet, N. Labeyrie: *Analisis*, **3**, 505 (1975).
- 9) G. D. Rayson, J. A. Holcombe: *Anal. Chim. Acta*, **136**, 249 (1982).
- 10) P. Hocqrellet, N. Labeyrie: *At. Absorpt. Newsl.*, **16**, 124 (1977).
- 11) M. L. Kaiser, S. R. Koirttyohann, E. J. Hinderberger, H. E. Taylor: *Spectrochim. Acta*, **36B**, 773 (1981).
- 12) R. Pinel, M. Z. Benabdallah, A. Astruc, M. Astruc: *Anal. Chim. Acta*, **181**, 187 (1986).
- 13) E. Pruszkowska, D. C. Manning, G. R. Carrnick, W. Slavin: *At. Spectrosc.*, **4**, 87 (1983).

Determination of tin by AAS using a lanthanum-treated graphite tube; Removal of interference from amino acids containing sulfur. Masahiro TAKEO, Norimasa TSUNEKAGE, Eisuke TAKATA and Yoshimichi MAEDA (Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Himeji Institute of Technology, 2167, Shosha, Himeji-shi, Hyogo 671-22)

In determinations of tin in biotic samples by AAS using a lanthanum-treated graphite furnace (LGF-AAS), amino acids containing sulfur were found to interfere remarkably. A study on removal of the interference resulted in the following proposed method. One gram of biological sample was weighed and put into a Kjeldahl flask, to which 20 ml of nitric acid was added and heated to decompose organic matter. The contents were then cooled and taken into a 100 ml-volumetric flask, to which 2 ml of nitric acid, 5 ml of potassium dichromate solution (2w/v%) and 3 g of diammonium hydrogenphosphate were added as matrix modifiers. After diluting to the mark with water, the solution was subjected to LGF-AAS. The detection limit for tin was 0.05 $\mu\text{g/g}$ and the determination limit was 0.17 $\mu\text{g/g}$. The method could be successfully applied to the analysis of tin in fish tissues.

(Received May 11, 1995)

(Accepted June 21, 1995)

Keywords

interference from sulfur-containing amino acids; graphite furnace AAS; lanthanum-treated tube; determination of tin; matrix modifier.