原 著

エナメル質粉末中チタン (IV) の定量

第II報 溶媒抽出——原子吸光光度法によるエナメル 質中チタン (IV) の測定*

可 児 徳 子** 清 水 真 理 子** 福 岡 幸 伸**
飯 野 新 太 郎** 可 児 瑞 夫**

概要：溶媒抽出法を前処理に応用した原子吸光光度法によるエナメル質中チタン (IV) の定量法の確立を目的として、抽出の至適条件および定量操作の検討を行った後、検量線の再現性、共存元素による妨害、測定値の再現性および溶媒抽出—吸光光度法との比較など、定量法の精度についての検討を行うとともに、その他の生体硬組織試料への応用の可能性を検討した。

本法は、試料中のチタン (IV) をクベロン錯体とし、有機溶媒中に抽出することにより、妨害となる共存元素から分離した後、原子吸光光度法で定量を行うものである。

結果の概要は以下のとおりであった。

チタン (IV) の溶媒抽出の至適条件は、1.15N 塩酸性、クベロン濃度 1.0×10^{-2} M 溶液であり、この条件にて検量線を作成した結果、チタン (IV) 濃度 $1.0 \sim 8.0 \mu\text{g/ml}$ の間で直線となり、その再現性 (変動係数4.8%) は良好であった。エナメル質中の共存元素による妨害を検討した結果、その影響は非常に少ないことが認められ妨害除去が可能であった。フッ化チタンアンモニウム溶液作用後のエナメル質粉末試料中のチタン (IV) を測定した結果、その再現性 (変動係数6.2%) は良好な結果が得られた。

次に、有機相中に抽出されたチタン (IV)—クベロン錯体を吸光光度法にて定量し、本法の測定値と比較した。その結果、両法による測定値は近似となり、本法によりチタン (IV) が精度よく定量されることが確認された。

さらに試料の分解に湿式灰化法を取り入れ、定量性への影響を検討した結果、その影響は非常に小さく、湿式灰化法を用いても本定量法によればチタン (IV) が精度よく定量でき、本法を他の生体硬組織試料に応用できることが確認された。

索引用語：チタン、エナメル質、溶媒抽出、原子吸光光度法、クベロン、フッ化チタン化合物

結 言

第1報¹⁾における基礎的な検討から、原子吸光光度法によるチタン (IV) の定量では、カルシウム、リン酸、マグネシウム、フッ素ならびに無機酸などが測定値に影響を与えることが認められ、これに対しランタンの添加

のみではこれらの元素による妨害除去は不完全であり、標準添加法では再現性の低いことが判明した。そのため、エナメル質中のチタン (IV) の直接法による定量は困難であり、チタン (IV) を分離して測定することの必要性を認めた。

チタン (IV) を分離する方法としては、クベロンによ

* 本論文の要旨は昭和58年10月第32回日本口腔衛生学会総会において発表した。

** 岐阜歯科大学口腔衛生学教室 (主任：可児瑞夫教授)

* *Department of Oral Health and Preventive Dentistry, Gifu College of Dentistry (Director: Prof. Mizuo KANI)*

昭和59年7月20日受付

る溶媒抽出の方法があり、クペロンは 1N 酸性溶液中で Ti (IV), Fe (III), Zr (IV), Cu (II), Sn (V) などとキレートを形成し、有機溶媒中に定量的に抽出されることが報告されている²⁻⁴⁾。この条件ではエナメル質を構成する主な元素である Ca, Mg, Na, K は抽出されず、これらの元素およびリン酸などの陰イオンからチタン(IV)を分離することが可能となり、エナメル質中チタンを測定する際の妨害元素の除去が可能となる。

チタンの抽出溶媒にはクロロホルムが用いられているが^{3,4)}、原子吸光光度法の場合は一般に MIBK がよく用いられる。

本研究では、測定値の妨害となる元素からチタン(IV)を分離する目的で試料の前処理にクペロン— MIBK 溶媒抽出法を適用することとし、抽出の至適条件の決定と測定法についての種々の検討を行い、エナメル質中のチタン (IV) の定量法を確立することを試みた。

方 法

1. 装置および試薬

1) 装置

(1) 原子吸光分光光度計

(日立偏光ゼーマン原子吸光分光光度計180-80形)

光源は日立 HLA-45 チタン中空陰極ランプ、バーナーは日立製高温バーナーを用い亜酸化窒素、アセチレンフレイムにて測定を行った。

(2) 分光光度計

(日立556形ダブルビーム分光光度計)

セル：光路10 mm のふた付石英セル

(3) 振り混ぜ器

(イワキ製 KM 式万能シェーカー)

2) 試薬

(1) チタン標準液

1000 μ g/ml のチタン標準液 (キシダ化学) を加水分解を防ぐ目的で1.2N 塩酸にて希釈し用時に1.0~8.0 μ g/ml となるように調製した。

(2) クペロン溶液 (N-ニトロソフェニルヒドロキシルアミン溶液)

クペロン $[C_6H_5N(NO)ONH_4]$ (半井化学) を蒸留水に溶解し、0.25M 溶液を調製した。

(3) メチルイソブチルケトン $[(CH_3)_2CHCH_2COCH_3]$ (半井化学)

(4) 塩酸 $[HCl]$ (半井化学)

2. 標準操作

チタン (IV) を総量15~120 μ g 含む人歯エナメル質試

料¹⁾ 25~35mg を精秤し、6 N 塩酸 3 ml を加え、約60分間スターラー攪拌のもとに溶解し、全量15ml とし試料溶液とした。25ml のメスフラスコに、1.2N 塩酸15ml および0.25M クペロン溶液 1 ml を加え生成する沈澱を溶解後、チタン (IV) 標準液 (1.0 μ g/ml~8.0 μ g/ml の各濃度溶液) あるいは試料溶液 5 ml を加え、1.2N 塩酸にて定容とした。クペロンの分解を防ぐため、操作中メスフラスコは氷水中にて 4 °C 以下に保った⁵⁾。この溶液を30秒間攪拌後100ml の分液漏斗に移し、MIBK 10 ml を加え、5 分間振盪する。約 2 分間静置し、有機相と水相を分離させたのち上相の有機相を分取し、同様に操作した試薬空試験液を対照として、原子吸光光度計にてチタン (IV) の吸光度を測定した。

定量はチタン標準液の吸光度より検量線を作成し、絶対検量線法により行った。

3. 測定法の検討

1) 溶媒抽出の最適酸濃度の検討

2. の標準操作において、4.2 μ g/ml のチタン標準液を用い、抽出時の溶液の塩酸濃度を0.5N~3.4N の範囲で変化させて有機相の吸光度の変化を調べ、抽出至適濃度についての検討を行った。

2) 溶媒抽出に及ぼす試薬濃度の影響

2. の定量操作において、2 μ g/ml のチタン標準液を用い各濃度 $0.2 \times 10^{-3}M \sim 1.0 \times 10^{-2}M$ のクペロン溶液を加え抽出を行い、吸光光度法により吸光度を測定しチタン (IV) の抽出について検討を行った。

3) 検量線の再現性

2. の標準操作に従い、チタン濃度1.0~10.0 μ g/ml 範囲で検量線を作成し、6 回の繰り返し定量で検量線の再現性 (変動係数) を求めた。

4) 共存イオンの影響の検討

人歯エナメル質粉末中のチタン (IV) を 2. の標準操作に従い定量する場合、試料溶液中にはカルシウム 600~800 μ g/ml、リン酸901~1252 μ g/ml、マグネシウム 7.0~9.8 μ g/ml、ナトリウム12.8~18.0 μ g/ml、炭酸 41.7~58.3 μ g/ml、カリウム2.8~4.0 μ g/ml その他数種の微量元素が含まれ、また高濃度のフッ化チタン化合物を作用させた人歯エナメル質試料の場合には、1.5~35.0 μ g/ml のフッ素が含まれる。そこで 2. の標準操作で 4 μ g/ml のチタン標準液に上記無機イオンをそれぞれ単独に共存させ抽出を行い、チタン (IV) の吸光度を測定し、各元素の共存の影響について検討した。

4. エナメル質中チタンの定量

健全永久歯より作製したエナメル質粉末 (250mesh 標

準篩通過品) 200mg に対し、フッ化チタンアンモニウム溶液 (フッ素濃度 $100\mu\text{g}/\text{ml}$, チタン (IV) 濃度 $42\mu\text{g}/\text{ml}$) 10ml を加え、 37°C 恒温振盪器中でそれぞれ 3 分、6 分、10 分、25 分間振盪後 5000rpm にて遠沈し上澄の作用液を吸引除去した後、蒸留水にて水洗後乾燥させたものを分析用試料とし、2. の標準操作にて定量を行った。測定は同一試料の繰り返し 6 回定量を行い、各値から測定値の変動係数を求めた。

5. 溶媒抽出-吸光光度法との測定値の比較

チタン標準液を用い 2. の標準操作において、有機相中に抽出されたチタン (IV) - クペロン錯体の吸光光度法による吸収スペクトルを求めた (Fig. 1)。曲線 1 と 2

Fig. 1 Absorption spectrum of $\text{Ti}-(\text{cup})_2$ complex

1: $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ cupferron, 1.15N HCl, reagent blank, reference-water.
2: titanium $4\mu\text{g}/\text{ml}$, $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ cupferron, 1.15N HCl, reference-water.
3: titanium $4\mu\text{g}/\text{ml}$, $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ cupferron, 1.15N HCl, reference-reagent blank

は蒸留水を対照とした時の試薬ブランク及び試料溶液の吸収スペクトルである。

次に試薬ブランクを対照に吸収スペクトルを測定したところ 361nm に極大吸収を有する曲線 3 のチタン (IV) - クペロン錯体のスペクトルが得られた。そこで測定波長を 361nm として検量線を作成し、エナメル粉末試料中のチタン (IV) 量の測定を行った。また、同一試料を 2. の標準操作 (原子吸光光度法) に従い測定し、両者の測定値を比較した。

6. 他の生体硬組織への応用についての検討

人歯エナメル質は、 $95.0 \sim 99.0\%$ 重量が無機質により

構成され有機質成分はごくわずかであるが、これに対し象牙質では約 20%、セメント質では約 23% の有機質が含まれる。本法を有機質を比較的多量に含む他の生体硬組織に応用するために、試料の分解法として加温湿式灰化法を取り入れ本法の定量性について検討した。すなわち、試料を硝酸 : 硫酸 : 過塩素酸 3 : 1 : 1 の混液 1.0ml で加温湿式灰化後⁶⁾、同様に操作したチタン標準液を用い 2. の標準操作にて測定を行い、同一試料の非灰化の場合の測定値と比較検討を行った。

結 果

1. 測定法の検討

1) 溶媒抽出の最適酸濃度の検討

種々の塩酸濃度の抽出溶液についてチタン標準液を用いて有機相の吸光度の変化を検討した結果、吸光度は塩酸濃度 2.4N まで増加したが、酸濃度 $2.4\text{N} \sim 3.4\text{N}$ の間で一定となった (Fig. 2)。この条件にて抽出を行うのが

Fig. 2 Effect of hydrochloric acid on the absorbance of organic phase by atomic absorption spectrophotometry. titanium : $4.2\mu\text{g}/\text{ml}$, cupferron : $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$, solvent : MIBK

望ましいが、クペロンは酸溶液中で不安定なため、酸濃度 2.4N 以上では定量操作中に分解が始まるのが認められた。多検体の定量ではクペロンの分解による影響はさけられないものと思われたので、本研究では酸濃度を 1.15N とした。

2) 溶媒抽出の最適試薬濃度の検討

抽出有機相の吸光度に及ぼす試薬濃度の影響を吸光光度法にて検討した結果を Fig. 3 に示した。有機相の吸光度はクペロン濃度に従い上昇するが $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ 以上

Fig. 3 Effect of cupferron concentration on absorbance of organic phase by spectrophotometry.

titanium: $2\mu\text{g/ml}$, 1.15N HCl, solvent: MIBK

では標準操作において多量の沈澱を生ずるため定量が困難となった。本研究ではクペロン濃度を $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ とした。

3) 検量線の再現性

2.の標準操作に従って検量線および繰り返し精度を求めた。チタン(IV)の濃度が $1.0 \sim 8.0\mu\text{g/ml}$ の範囲で吸光度と濃度の間に直線関係が得られた。抽出操作を含めた6回の繰り返し実験により精度を求めたところ測定値に対する変動係数は4.8%であった。

4) 共存イオンの影響の検討

チタン標準液 $4\mu\text{g/ml}$ に上記の無機のイオンをそれぞれ単独に共存させて抽出を行った結果を Table 1 に

示した。エナメル質中に過剰に共存するカルシウムは $950\mu\text{g/ml}$ の共存で-1%, リン酸は $1227\mu\text{g/ml}$ の共存で-4%, マグネシウム, ナトリウムは $20\mu\text{g/ml}$ の共存でそれぞれ-1%, +1%の誤差が認められた。カリウム, アルミニウム, 銅では, $10\mu\text{g/ml}$ の共存で大きな誤差は認められず, チタンと錯塩を作るフッ素では $60\mu\text{g/ml}$ の共存で-2%の誤差が認められた。

2. エナメル質粉末中チタンの定量

フッ化チタンアンモニウム溶液作用後のエナメル質粉末中チタン(IV)の定量結果を Table 2 に示した。測定値の変動係数は6.1%と良好な結果が得られた。

Table 2 Determination of titanium in enamel powder after $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ solution treatment

treatment time (min)	extraction-atomic absorption spectrophotometry (ppm) SD	extraction-spectrophotometry (ppm)
0*	0	0
3	1181 ± 87.13	1108
6	1363 ± 83.75	1223
10	1514 ± 27.49	1264
25	1603 ± 72.98	1462

$(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ solution: titanium $42\mu\text{g/ml}$ *control

3. 溶媒抽出-吸光度法との測定値の比較

吸光度法による検量線は, チタン濃度が $1.0 \sim 8.0\mu\text{g/ml}$ の濃度範囲において直線となりその再現性(変動係数)は6.05%であった。フッ化チタンアンモニウム溶

Table 1 Effects of various ions on the recovery of titanium

ion	added as	amount added ($\mu\text{g/ml}$)	recovery of titanium (%)	relative error (%)
Ca^{2+}	Calcium chloride	950	99	-1
PO_4^{3-}	Phosphoric acid	1533	76	-24
		1227	96	-4
Mg^{2+}	Magnesium chloride	20	99	-1
K^+	Potassium chloride	10	100	0
Na^+	Sodium chloride	20	101	+1
Al^{3+}	Aluminium nitrate	10	100	0
Cu^{2+}	Cupric sulfate	10	102	+2
CO_3^{2-}	Calcium carbonate	100	97	-3
F^-	Sodium fluoride	100	75	-25
		60	98	-2

titanium: $4\mu\text{g/ml}$

Table 3 Determination of titanium in enamel powder after $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ solution treatment for 25 minutes by atomic absorption spectrophotometry

sample no	wet ashed* (ppm)	not ashed (ppm)
1	1611	1579
2	1649	1463
3	1619	1699

* Samples were decomposed with a mixed acid solution (HNO_3 : H_2SO_4 : HClO_4 =3:1:1).

液作用後のエナメル質粉末中のチタン (IV) を測定した結果、測定値は本法に比べやや低い近似の値を得た (Table 2)。

4. 他の生体硬組織への応用についての検討

エナメル質試料を硝酸：硫酸：過塩素酸=3:1:1の混液1.0mlで加温湿式灰化した後、同様に操作したチタン標準液を用い、2.の標準操作にて定量を行った (Table 3)。定量値は標準操作によるものとほぼ一致し加温湿式灰化法を用いても本法の諸条件によりチタン (IV) が精度よく定量できることが認められた。また灰化を行うことにより測定値の変動は少なくなることが認められた。

考 察

1. 溶媒抽出法および測定法についての検討

原子吸光光度法による定量では測定試料中の共存元素による妨害の除去が課題となる。その対策としては一般にランタン、ストロンチウムなどの妨害抑制物質の添加や標準添加法による測定が行われている^{7,8)}。しかし目的元素濃度が微量である試料や、数種の妨害元素を含む試料の場合には、これらの方法を用いても妨害が除去できず、直接定量が困難となる⁹⁾。このような試料では、測定に先立ち、溶媒抽出法、イオン交換法などの前処理法により目的元素を分離した後定量する方法が通常行われている。

本研究ではエナメル質中の妨害元素から、チタン (IV) を分離定量する目的で、前処理法として溶媒抽出法の応用を試みた。

試料溶液中に多量に含まれるカルシウム、マグネシウム、ナトリウム、カリウムなどのアルカリ・アルカリ土類金属およびリン酸などの陰イオンの妨害の除去は溶媒抽出により可能である²⁻⁴⁾。チタン (IV) についての溶媒抽出の報告としては、クペロン錯体のクロロホルム、ジ

イソプロピルエーテル抽出²⁻⁴⁾、チオシアナト錯体の TOPO シクロヘキサン抽出⁹⁾、オキシ錯体のクロロホルム抽出¹⁰⁾などが一般的である。

本研究ではチタン (IV)―クペロン錯体の溶媒抽出を応用し、まず抽出条件の検討を行った。

チタン (IV)―クペロン錯体の抽出条件に関しては pH 0~3、クペロン濃度 $0.5 \times 10^{-2}\text{M}$ でクロロホルムに抽出⁹⁾、(1:9) 塩酸酸性溶液からクロロホルムへの抽出⁴⁾、pH 0.3~0.8、クペロン濃度 0.3M でベンゼン―イソアミナルコールに抽出⁹⁾などの報告がある。

Starý, J. らはクペロンによる種々の元素のクロロホルム中への抽出を検討し、pH 1以下の酸性溶液中から抽出される元素として Ti (IV)、Zr (IV)、Fe (III)、Cu (II)などをあげ、Ca, Mgについては抽出されないことを報告している⁹⁾。また Furman, N. H. ら⁴⁾も酸濃度および抽出溶媒を変え各元素の抽出を検討し、1N 酸溶液中からクロロホルムに抽出される元素として Cu (II)、Fe (II)などをあげ、Ca, Mg, Na, K は抽出されないことを認め報告している。

これらの報告では、抽出溶媒にクロロホルム、ベンゼンを用いているが、これらはフレイムに導入すると高いバックグラウンドを生じるので使用できない。本研究では測定に原子吸光光度法を応用するため、MIBKを用いて抽出条件について改めて検討を行った。その結果、Fig. 2, 3 に示すように至適抽出条件はクロロホルムを用いた報告とほぼ同じで塩酸濃度 1.2N 以上クペロン濃度 $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ 以上であり、この条件でチタン (IV)―クペロン錯体は MIBK 中に定量的に抽出されることが判明した。しかしクペロンは酸溶液中で不安定であるため、多検体の定量では分解による誤差が考えられることから本法では酸濃度を 1.15N 塩酸酸性、クペロン濃度を $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ とし、定量操作中、溶液の氷冷を行いクペロンの分解を抑制した。この条件にて標準液を用いた繰り返し定量により検量線を作成した結果、検量線の再現性の変動係数は 4.8% と良好な結果が得られ、実際の測定に適用できることが認められた。

次に、エナメル質試料に含まれる共存元素による定量値への妨害の検討を行った。酸性溶液からクペロンによりクロロホルム中に抽出される元素としては、チタン (IV)の他に銅 (II)、鉄 (III)、鉛、スズ (IV)、モリブデン (II)、アンチモン (II)、ジルコニウムなどが報告されており、また pH 0~12 の範囲ではエナメル質中の主な共存元素であるカルシウム、マグネシウムは抽出されないことが報告されている²⁻⁴⁾。

そこで、チタン標準液にまずエナメル質を構成する主な元素であるカルシウム、リン酸を添加し、本定量法により測定を行い、妨害が現れる濃度を検討した。その結果、カルシウムが $950\mu\text{g/ml}$ 、リン酸が $1227\mu\text{g/ml}$ 以上の共存で妨害が認められた。従って実際の定量では試料溶液中のカルシウム、リン酸の濃度をこの濃度以下にする必要がある。

エナメル質粉末の分析の場合、この条件を満たす試料摂取量は 35mg 以下となるので、次にこの試料摂取量でエナメル質中に含まれる他の元素、すなわちマグネシウム、カリウム、ナトリウム、アルミニウム、銅、炭酸につき共存が予想される濃度における妨害を検討した (Table 1)。その結果これら各元素の測定値への妨害は非常に小さく、クペロン—MIBK 溶媒抽出によりチタン (IV) がこれら共存元素から選択的に分離されることが認められ、エナメル質試料中の共存元素の妨害が除去された。次にフッ化チタン化合物作用エナメル質ではフッ素が多量に含まれているためフッ素の妨害についての検討を加えた。フッ素は $60\mu\text{g/ml}$ の共存で -2% 、 $100\mu\text{g/ml}$ の共存で -25% の誤差が認められた。これは酸性溶液中でこの濃度以上ではフッ素がチタン (IV) と安定なフルオロ錯塩を形成するためと考えられる。フッ素濃度が高い試料ではフッ素による誤差が考えられ、高濃度のフッ素による妨害の抑制は今後検討すべき点である。

2. フッ化チタンアンモニウム溶液作用エナメル質中チタン (IV) の定量

臨床でのフッ化チタン化合物の利用は主に歯面局所塗布液としての応用が考えられることから、健全なエナメル質粉末試料にフッ化チタンアンモニウム溶液を作用させ、実試料とし、本法によりチタン (IV) 量の測定を行った (Table 2)。同一試料の繰り返し定量により再現性を検討した結果、測定値の変動係数は 6.02% と良好であった。

次に本定量法の測定値と抽出した有機相中のチタン (IV)—クペロン錯体を吸光光度法により定量した測定値を比較し、本定量法の精度を検討した。吸光光度法については、有機相中のチタン (IV)—クペロン錯体の吸収スペクトルを検討した結果、 361nm にチタン (IV)—クペロン錯体の吸収極大が確認されたことからこの波長にて検量線を作成しチタン (IV) 量を測定した (Fig. 1)。

その結果、Table 2 に示したように、本法に比べ吸光光度法の測定値はやや低い値となったが両方法の値は近似しており、抽出されたチタン (IV) が本法により精度よく定量されていることが認められた。吸光光度法の測

定値がやや低い値を示した理由としては、有機相中に抽出されたチタン (IV)—クペロン錯体が経時的に分解するために起こる変色によるものと考えられる。変色は抽出後、約20分で始まるため溶媒抽出—吸光光度法は実試料の定量には実用できないことが認められた。これに対し本法は有機相の変色による影響を受けないため、応用性が高いと考えられる。

フッ化チタン化合物を作用させたエナメル質では、チタンの特異的な作用として Glaze の形成が確認されており、エナメル質の高い耐酸性増強効果はこの Glaze の形成によるものであると考えられている¹¹⁾。チタンによるこの Glaze 形成については有機質の関与が考えられており、有機質に富む組織にはチタンが取り込まれやすいなどの報告もみられ¹²⁾、今後有機質を多く含む組織中のチタンの定量が必要とされる。そこで有機質の分解に湿式灰化法の応用を検討した。すなわち試料を硝酸、硫酸、過塩素酸混液にて灰化した後、本定量法により定量し非灰化の場合と比較した (Table 3)。これらの測定値はほぼ一致し、灰化による定量性への影響は非常に少ないことが認められ、有機質の多い他の生体硬組織試料では湿式灰化を行った後、本定量法を応用すればチタン (IV) を精度よく定量できることが認められた。

以上の結果から、本方法によればエナメル質およびその他の生体硬組織中のチタン (IV) の定量が可能であることが確認された。

結 論

クペロン—MIBK 溶媒抽出法を前処理法として応用した原子吸光光度法によるエナメル質粉末中微量チタン (IV) の定量法の確立を試み、定量操作の至適条件を求めた後、測定法の精度、さらに他の生体硬組織への応用性などについて検討を行い次の結果を得た。

1) チタン (IV) のクペロンによる溶媒抽出の至適条件は、 1.15N 塩酸性、クペロン濃度 $1.0 \times 10^{-2}\text{M}$ 溶液であった。この条件でさらに操作中溶液の冷却を行うことにより、クペロンの分解による誤差が抑制でき、前処理法として応用できることが認められた。

2) 本法による検量線はチタン濃度 $1.0 \sim 8.0\mu\text{g/ml}$ の範囲で直線となり、その再現性 (変動係数 4.8%) は良好であった。

3) 共存元素による干渉を検討した結果、その影響は非常に小さく、溶媒抽出を行うことによりエナメル質中の共存元素からチタンが選択的に分離され、共存元素の妨害が除去されることが確認された。

5) フッ化チタンアンモニウム溶液作用後のエナメル質粉末中のチタン(IV)を本法にて測定した結果、測定値の再現性(変動係数6.2%)は良好であった。

6) 有機相中に抽出されたチタン(IV)―クペロン錯体を吸光光度法により定量し、本法による測定値と比較検討した結果、両方法の測定値は近似しており、抽出されたチタン(IV)が精度よく定量できることが確認された。

7) 試料の分解に湿式灰化法を取り入れ定量性への影響を検討した結果、その影響は非常に小さいことが認められ、湿式灰化法を行うことにより有機質を多く含む他の生体硬組織中のチタン(IV)も本法の条件で定量することができることが確認された。

本研究の一部は文部省科学研究費、奨励研究A(昭和58年度課題番号58771575)の補助を受けた。

文 献

- 1) 可児徳子, 清水真理子, 福岡幸伸, 飯野新太郎, 可児瑞夫: エナメル質粉末中チタン(IV)の定量 第I報 原子吸光光度法によるチタン(IV)定量における基礎的検討, 口腔衛生会誌, **34**; 584-589, 1984.
- 2) Fritz, J. S., Richard, M. J. and Bystroff, A. S.: Complexometric titrations following cupferron separation of interferences, *Anal. Chem.*, **29**; 577-579, 1957.
- 3) Starý, J. and Smižanák, J.: A systematic study of the solvent extraction of metal cupferrates, *Anal. Chim. Acta*, **29**; 545-551, 1963.
- 4) Furman, N. H., Mason, W. B. and Pekola, J. S.: Extraction of Cupferrates, *Anal. Chem.*, **21**; 1325-1330, 1949.
- 5) Kim, C. K. and Meinke, W. W.: Thermal neutron-activation analysis of titanium using 5.8-minute titanium-51 and rapid radiochemical separations, *Talanta*, **10**; 83-89, 1963.
- 6) Feldman, F. J. and Knoblock, E. C.: The determination of chromium in biological materials by atomic absorption spectroscopy, *Anal. Chim. Acta*, **38**; 489-497, 1967.
- 7) Cobb, W. D., Foster, W. W. and Harrison, T. S.: The determination of titanium in iron and steel by atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, **78**; 293-298, 1975.
- 8) Bowman, F. J. and Wills, J. B.: Some applications of the nitrous oxide-acetylene flame in chemical analysis by atomic absorption spectrometry, *Anal. Chem.*, **39**; 1210-1216, 1967.
- 9) Young, J. P. and White, J. C.: Extraction of titanium thiocyanate with tri-n-octylphosphine oxide. Direct colorimetric determination in the organic phase, *Anal. Chem.*, **31**; 393-397, 1959.
- 10) 山本勝巳, 酒井文子, 大橋弘三郎: チタン―過酸化水素―オキシンの三元錯体の組成, 分析化学, **22**; 918-921, 1973.
- 11) 飯野新太郎: フッ化チタン化合物のエナメル質に及ぼす影響に関する研究, 口腔衛生会誌, **30**; 63-78, 1983.
- 12) Bibby, B. G. and Little, M. F.: Fluorine and titanium and the organic material of dental enamel, *J. Dent. Res. Special Issue. B*, **54**; B137, 1975.

Abstract: Determination of Titanium (IV) in Human Enamel-II. Solvent Extraction and Atomic Absorption Spectrophotometry. Tokuko KANI*, Mariko SHIMIZU*, Yukinobu FUKUOKA*, Shintaro IINO* and Mizuo KANI*. A simple method for the determination of titanium (IV) in human enamel powder after treatment with $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ solution was studied by atomic absorption spectrophotometry. Coexisting ions such as calcium, phosphate, magnesium, potassium and sodium in aqueous samples caused some interference, but the influence could be suppressed by the extraction of titanium(IV)-cupferron chelate compound into methyl isobutyl ketone (MIBK). The procedure was as follows. Samples (about 25-35 mg containing less than 120 μg of Ti (IV)) were decomposed with 3 ml of 6 N HCl and then the sample solution was diluted with 12 ml of water. After 15 ml of 1.2 N HCl and 1 ml of 0.25 M cupferron solution have been pipetted into a 25 ml calibrated flask and mixed, 5 ml of sample solution or Ti (IV) standard solution was added. The mixture had to be kept cool in an ice bath, because of the quick decomposition of cupferron chelate complexes. The mixture was diluted with 1.2 N HCl and mixed. After the solution was transferred into a separatory funnel, it was shaken with 10 ml of MIBK for 5 minutes.

Absorbance of Ti (IV) in the organic phase was measured with nitrous oxide-acetylene flame. Ti (IV)-cupferron chelate could be extracted quantitatively from 1.15 N HCl and 1.0×10^{-2} M cupferron solution. The calibration curve was straight in the range 1.0-8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Ti (IV). Relative standard deviation was 4.8 %. Analytical results agreed closely with those obtained by extraction-spectrophotometry using cupferron reagent, but extraction-spectrophotometry was not applicable because the chelate compound was unstable. The proposed method can be used for the determination of Ti (IV) in human enamel.

Key words: Titanium, Human enamel, Solvent extraction, Atomic absorption spectrophotometry, Cupferron, Titanium fluoride compound