衛生化学
THE JOURNAL OF
HYGIENIC CHEMISTRY
17 (1) 19-23 (1971)

有害物による公害の衛生化学的研究 (第2報¹⁾)

ジチゾン法によるカドミウム定量法の検討

菅野三郎, 福井昭三,^{2a)} 金子幹宏,内藤昭治, 節田節子, 松崎淳三^{2b)}神奈川県公害センター,^{2a)} 神奈川県衛生研究所^{2b)}Hygienic Chemical Studies on Public Hazards by Harmful Substances. II.¹⁾

Some Examinations on the Spectrophotometric Determination of

Cadmium by using of the Dithizone Method

SABURO KANNO, SYOZO FUKUI,^{2a)} MIKIHIRO KANEKOSYOJI NAITO, SETSUKO SETSUDA and JUNZO MATSUZAKI^{2b)}Kanagawa Prefectural Public Hazards Prevention Center^{2a)} andKanagawa Prefectural Public Health Laboratory^{2b)}

(Received October 16, 1970)

Presence of mercury interferes in the spectrophotometric determination of cadmium by the dithizone method. For the elimination of mercury, the acid-digested sample solution was extracted with the chloroform solution of dithizone before neutralization. By this procedure, mercury was removed from the aqueous layer without loss of cadmium.

It is usually described in the literature that cadmium is extracted repeatedly with the chloroform solution of dithizone until organic layer becomes colorless, but the organic layer was colored even after repeating extraction more than five times and the decolorization of the organic layer was not a satisfactory index of the end-point of extraction. From the present experiment, three extractions were sufficient for complete extraction of cadmium.

まえがき

カドミウムイオンの比色定量法として, ジチゾン法が広く用いられているが, これを食品, 水中等のカドミウムの定量に応用するべく詳細な検討を加えたところ, 若干改良あるいは追加すべき点のあることがわかった。

改良を加えた主な点は, ジチゾン, クロロホルム溶液によるカドミウムの抽出操作において, 空試験でもクロロホルム層が着色する事実があるので, クロロホルム層が着色しなくなるまで抽出するという従来法の操作は実際上適用困難である。そこで必要にして十分な抽出回数を実験的に求めて, クロロホルム層の着色の有無に関係

なく, その回数だけ抽出するように改めた点と, 水銀イオンが共存すると顕著な負の妨害を示すので, その除去操作を加えたことの2点である。

なお, これら改良点以外に, 各種共存イオンの影響, 呈色の安定性などについても検討を加えたのであわせて報告する。

定量方法

試薬 1. ジチゾン, クロロホルム溶液——ジチゾンを乳鉢ですりつぶし, その0.05gをクロロホルム(新たに蒸留したもの) 100 ml に溶かし, これにうすめたアンモニア水(1→100) 100 ml を加えて振り混ぜ, 水層を

1) 第1報: 内藤昭治, 金子幹宏, 節田節子, 小倉道子, 福井昭三, 菅野三郎, 衛生化学, **15**, 312 (1969).

2) Location: a) Nakamura-cho, Minami-ku, Yokohama (横浜市南区中村町); b) Nakao-cho, Asahi-ku, Yokohama (横浜市旭区中尾町).

分取する。さらにクロロホルム層をうすめたアンモニア水 (1→100) 100 ml ずつで2回同様に操作し、水層を合わせ、クロロホルム 20 ml ずつで3回洗う。水層にうすめた塩酸 (1→2) を加えて僅かに酸性としたのち、クロロホルム 200 ml ずつを用いて2回抽出する。

クロロホルム層を合わせ、クロロホルムを加えて全量を約 1000 ml とし、原液とする。

原液をクロロホルムで10倍に希釈した溶液について、クロロホルムを対照液として層長 10 mm で、波長 605 m μ 付近の極大波長における吸光度 A を測定する。

このとき、原液 1000 ml は $62 \times A$ mg のジチゾンを含むことになる。ついで、原液 $20000 / (60 \times A)$ ml をとり、クロロホルムを加えて正確に 1000 ml とする。用時製する。

ジチゾン、クロロホルム溶液 1000 ml = 20 mg $C_{18}H_{12}N_4S$

2. 25% 酒石酸カリウムナトリウム溶液——酒石酸カリウムナトリウム ($C_4H_4O_6KNa \cdot 4H_2O$) 25 g を水に溶かして 100 ml とする。

3. 水酸化ナトリウム、シアン化カリウム溶液 (A) ——水酸化ナトリウム 40 g およびシアン化カリウム 1.0 g を水に溶かして 100 ml とする。

4. 水酸化ナトリウム、シアン化カリウム溶液 (B) ——水酸化ナトリウム 40 g およびシアン化カリウム 0.05 g を水に溶かして 100 ml とする。

5. 20% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液——塩酸ヒドロキシルアミン 20 g を水に溶かして 100 ml とする。

6. 2% 酒石酸溶液——酒石酸 ($C_4H_6O_6$) 2 g を水に溶かして 100 ml とする。

7. カドミウム標準溶液——金属カドミウム 0.100 g を 10% 硝酸 50 ml に溶かし、煮沸して窒素の酸化物を除去したのち、水を加えて 1000 ml とし、標準原液とする。この原液 10 ml をとり、水で全量を 100 ml とし、標準溶液とする。

カドミウム標準溶液 1 ml = 10 μ g Cd^{2+}

試験溶液の調製 1) 固体試料の場合——細切あるいは粉碎した試料 10—30 g をケルダールフラスコにとり、水 10—40 ml および硝酸 30 ml を加えてよく混和したのち、おだやかに加熱する。激しい反応が終れば放冷し、硫酸 10 ml を加えて再び加熱する。ついで、ときどき硝酸少量ずつを加えながら、フラスコの内容物が淡黄～無色になるまで加熱を続ける。

冷後、飽和シュウ酸アンモニウム溶液 25 ml を加えて硫酸の白煙が発生するまで加熱し、冷後、水約 50 ml および 20% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液を加えたのち、ジ

チゾン、クロロホルム溶液 10 ml ずつでジチゾンの緑色が残るまで抽出を繰り返す(通常1回で充分である)、つぎにクロロホルム 10—20 ml ずつで水層を洗い、クロロホルム層は捨てる。水層にメチルオレンジ試液 2 滴を加え、強アンモニア水で中和したのち、水を加えて 100 ml とし、試験溶液とする。同様にして空試験溶液を調製する。

2) 水の場合——試料 200—500 ml をとり、メチルオレンジ試液 2 滴を加え、液が赤色になるまで 10% 塩酸を加え、さらに 10% 塩酸 1 ml を追加したのち、蒸発乾固する。

これに 1 N 硫酸 (30→200) 20 ml を加えて溶かし、分液ロートに移し、20% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液 2 ml を加えたのち、ジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml ずつでジチゾンの緑色が残るまで抽出を繰り返す(通常1回で充分である)、つぎにクロロホルム 10 ml ずつで 1—2 回水層を洗い、クロロホルム層は捨てる。水層にメチルオレンジ試液 2 滴を加え、強アンモニア水で中和したのち、水を加えて 25 ml とし、試験溶液とする。同様にして空試験溶液を調製する。

試験操作 試験溶液 25 ml を分液ロートにとり、25% 酒石酸カリウムナトリウム溶液 5 ml、水酸化ナトリウム、シアン化カリウム溶液 (A) 5 ml、20% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液 1 ml およびジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml を加え、1 分間振り混ぜ、静置して分離したクロロホルム層を、あらかじめ 2% 酒石酸溶液 25 ml を入れた分液ロートに分取する。水溶液層はさらにジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml および 5 ml ずつで抽出し、クロロホルム層は酒石酸溶液を入れた分液ロートに合する。合したジチゾン、クロロホルム溶液は 2% 酒石酸溶液で 2 分間振り混ぜ、静置したのち、下層のクロロホルム層を捨てる。上層の水溶液層はクロロホルム 5 ml で洗い、クロロホルム層を捨てる。水溶液層に 20% 塩酸ヒドロキシルアミン溶液 1 ml、水酸化ナトリウム、シアン化カリウム溶液 (B) 5 ml およびジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml を加え、1 分間振り混ぜ、静置したのち、下層のクロロホルム層を乾燥したろ紙でろ過し、25 ml のメスフラスコに移す。水溶液層は、さらにジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml および 5 ml ずつで抽出し、クロロホルム層を乾燥ろ紙でろ過し、25 ml のメスフラスコに合わせ、クロロホルムで全量を 25 ml とする。この溶液につき層長 10 mm で波長 520 m μ 付近の極大波長における吸光度を測定して A とする。

別に標準溶液 2 ml に水を加えて 25 ml としたもの、空試験溶液 25 ml および水 25 ml をそれぞれ試験操作に

したがって操作し、吸光度 A_s , A_o および $A'o$ を測定する。対照液はクロロホルムを用いる。

試料中のカドミウム濃度 C (ppm) は、次式から求められる。

固型試料の場合

$$C = 20 \times \frac{A - A_o}{A_s - A'o} \times \frac{\text{試験溶液全量 (ml)}}{\text{試験溶液採取量 (ml)}} \times \frac{1}{\text{試料採取量 (g)}}$$

$$\text{水の場合 } C = 20 \times \frac{A - A_o}{A_s - A'o} \times \frac{1}{\text{試料採取量 (ml)}}$$

結果および考察

(1) 共存イオンの影響

試料を乾式あるいは湿式で分解して試験溶液を調製するさいに、最も留意しなければならないのは共存イオンの影響である。

共存イオンの除去操作を全く加えないで試験溶液を調製し、これを本試験操作に従って定量した場合の、共存イオンの影響を Table I に示す。

TABLE I. Influence of Co-existing Ion

Cd ²⁺ added (μg)	Co-existing ions	Ion added (μg)	Absorbance
20		none	0.54
20	Hg ²⁺	200	0.05
20	Cu ²⁺	200	0.54
20	Zn ²⁺	200	0.54
20	Pb ²⁺	200	0.50
20	Ca ²⁺	200	0.50
20	Mg ²⁺	1.25 ^{a)}	0.04
0	Hg ²⁺	200	0.04
0	Pb ²⁺	200	0.04

a) volume (ml) of saturated Mg (NO₃)₂ solution

Table I にみられるように、特に顕著な妨害を示すのは、水銀イオンとマグネシウムイオンである。

マグネシウムイオンの妨害については、すでに森次氏の報告¹⁾があり、米中に自然に含まれている程度の量でも著しい妨害をすることがわかっており、かつ、25% 酒石酸カリウム・ナトリウム溶液の添加量を、従来の 1 ml から 5 ml に増量することによって防止できることも報告されている。

今回の実験に用いたのは、食品衛生検査指針の乾式灰化法において、灰化補助剤として用いられている量であるが、この量ではカドミウムの定量はほとんど完全に妨害され、たとえば、25% 酒石酸カリウム・ナトリウム溶液の添加量を 5 ml に増量しても、妨害を防ぐことはできなかった。

したがって、乾式灰化の場合に硝酸マグネシウムを灰

化補助剤として添加することは避けなければならない。

(2) 水銀イオン除去

マグネシウムと並んで著しい負の妨害を示すものに水銀イオンがある。水銀イオンはカドミウムイオンが抽出されないような強酸性域でジチゾン、クロロホルム溶液によって抽出することができることから、湿式分解が終った強酸性の試料溶液を直ちにジチゾン、クロロホルム溶液で抽出し、水銀イオンを水溶液系外に除く操作を加えた。

この操作による水銀イオンの妨害除去はほぼ完全であり、カドミウムイオンの損失もみられなかった。実験結果を Table II に示す。

TABLE II. Effect of Elimination of the Interference of Mercury

Cd ²⁺ added (μg)	Hg ²⁺ added (μg)	Remove of Hg ²⁺	Absorbance
20	200	done	0.54
20	200	not done	0.05
20	0	done	0.54
20	0	not done	0.54

(3) 空試験におけるクロロホルム層の着色

従来のジチゾン法の記載では、クロロホルム層が着色しなくなるまで、ジチゾン、クロロホルム溶液で抽出を繰り返し行ない、カドミウムイオンを完全に溶媒層に移行させるようになっている。

ところが、この通りに実施してみると、何度抽出を繰返しても、溶媒層が無色にならないことがしばしばあった。

そこで、カドミウムイオンを全く含まない空試験溶液について抽出操作を繰返し行なってみると、Table III に示したように、抽出回数が増えるに従って 530—540 mμ 付近に吸収極大を持つ呈色物がクロロホルム層に移行することがわかった。

TABLE III. Coloration of Blank Test

Number of times of extraction	Absorbance	Absorption maximum (mμ)
1 st	0.010	not clear
2 nd	0.025	540
3 rd	0.030	540
4 th	0.045	540
5 th	0.060	540

この呈色物は、カドミウムのジチゾネートの吸収極大である 520 mμ とは若干異った吸収極大を持ち、かつ、カドミウムのジチゾネートの場合のように、酒石酸溶液と振り混ぜることにより、水溶液層に移行するという現

象が見られないところから、カドミウムに基因する呈色ではないことは確かである。

おそらくは、強アルカリ性下で振り混ざっている間に、ジチゾンの酸化物が生成し、これがクロロホルム層に移行したものであろうと推定されるが、いずれにせよ、こうした呈色物が生成する以上、クロロホルム層が呈色しなくなるまで抽出するという操作は実際上不可能であるということになる。

(4) ジチゾン、クロロホルム溶液によるカドミウムイオンの抽出

上述の理由から、ジチゾン、クロロホルム溶液によるカドミウムの抽出の終点を、溶媒層の着色の有無により判別することはできないので、実験的に必要にして十分な抽出回数を求めておいて、溶媒層の着色の有無にかかわらず、その回数だけ抽出を行なうという方法をとることとした。

必要な抽出回数を求めるために行なった実験方法は、つぎのとおりである。

カドミウムイオン 20 μg を含有する水溶液 25 ml をとり、試験操作に従ってジチゾン、クロロホルム溶液 10, 10, 5 および 5 ml で抽出し、各クロロホルムフラクションをそれぞれ別個に 2% 酒石酸溶液 10 ml ずつで振りまぜ、酒石酸溶液層をとり、これに水酸化ナトリウム、シアン化カリウム溶液 (B) 3 ml ずつを加えたのち、ジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml ずつで再びカドミウムを抽出し、それぞれの吸光度を測定した。

この操作において、空試験呈色物は酒石酸溶液で振り混ぜるときに、クロロホルム層に残留して除去される。

また、第二段階のジチゾン、クロロホルム溶液による抽出効果を向上させ、1回の抽出で大部分のカドミウムが回収されるるように、酒石酸溶液の液量を極力少なくする意味で、酒石酸溶液量を 10 ml とした。

すなわち、この実験によって得られた吸光度は、空試験呈色物を除去した各フラクションのカドミウムによる呈色の吸光度であると考えることができる。

実験結果を Table IV に示す。

Table IV から明らかなように、試験溶液量が 25 ml の場合にはジチゾン、クロロホルム溶液によるカドミウムの抽出は、10, 10 および 5 ml の 3 回で充分である。この結果から、本法では 3 回抽出することとした。

また、試験溶液量が増えたときに、どのようになるかを調べるために、試験溶液 50 ml を用い (カドミウム量 20 μg)、ジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml ずつで 5 回抽出を行ない、以下同様に操作して吸光度を測定し、Table III の下段のような結果を得た、すなわち、試験溶

TABLE IV. Extraction Efficiency of Cd^{2+} with Dithizone Chloroform Solution

Amount of sample solution (ml)	Cd^{2+} added (μg)	Number of extraction times	Amount of dithizone solution (ml)	Absorbance
25	20	1 st	10	1.33
		2 nd	10	0.09
		3 rd	5	0.03
		4 th	5	0.02
50	20	1 st	10	0.58
		2 nd	10	0.40
		3 rd	10	0.25
		4 th	10	0.18
		5 th	10	0.04

液量 50 ml の場合には、ジチゾン、クロロホルム溶液 10 ml ずつで 5 回以上抽出しないと、不完全であることがわかる。

したがって、試験操作を統一するためには、試験溶液量を 25 ml に限定した方がよい。

(5) 酒石酸溶液層へのカドミウムイオンの移行

カドミウム、ジチゾネートのクロロホルム溶液から、いったん酒石酸溶液で振りまぜてカドミウムイオンを酒石酸溶液層に移行させたのち、再びジチゾン、クロロホルム溶液で抽出し、この間に妨害物を除く操作をとっているが、そのさいの酒石酸溶液によるカドミウムイオンの抽出効率をみるために、つぎのような実験を行なった。

カドミウム 20 μg を含有する試験溶液 25 ml を試験操作に従って、ジチゾン、クロロホルム溶液で第 1 段階の抽出を行ない、クロロホルム層を合し、これを 2% 酒石酸溶液 25 ml ずつで 2 回抽出し、それぞれの酒石酸溶液について別個に試験操作に従って操作し、吸光度を測定した。

実験結果を Table V に示す。

TABLE V. Extraction Efficiency of Cd^{2+} from Chloroform Layer by Tartaric Acid Solution

Amount of Cd^{2+} (μg)	Number of times of extraction	Volume of tartaric acid solution (ml)	Efficiency (%)
20	1 st	25	95
	2 nd	25	5

すなわち、クロロホルム溶液からカドミウム、ジチゾネートを分解抽出するための、酒石酸溶液による抽出操作は 1 回で充分である。

(6) 呈色の安定性

散乱光下における A または A_s の安定性を, 90 分後まで調べたが, この間は全く安定した吸光度を示した。ただし, 直射日光下では速かに退色することがみられたので, 直射日光は避ける必要がある。

(7) 検量線と再現性

本法で得られる検量線の 1 例を Fig. 1 に示す。

Fig. 1. Calibration Curve

(8) 米に添加したカドミウムの回収実験結果

長野県43年度産白米20gにカドミウムとして20 μgを

添加し, 本法により定量したときの回収率を Table VI に示す。

TABLE VI. Recovery Test of Cd²⁺ added to Rice

Sample (g)	Cd ²⁺ added (μg)	Cd ²⁺ detected (μg)	Ratio of recovery (%)
Rice 20	0	0	
	20	17.4	87
	20	17.0	85
	20	17.2	86
	20	16.8	84
	average		85.5

すなわち, 回収率は平均85.5%であり, 実用上まず充分な回収率を得た。

結 び

(1) ジチゾン法によるカドミウムの定量にさいして, マグネシウムイオンと並んで水銀イオンも顕著な負の妨害を示すことがわかったので, 水銀イオンの除去操作を加えた。

(2) ジチゾン, クロロホルム溶液によるカドミウムの抽出は, クロロホルム層の着色の有無に関係なく, 実験で求めた必要回数だけ行なうこととした。

(3) 試験溶液量により, ジチゾン, クロロホルム溶液によるカドミウムの抽出率が異なるので, 試験溶液量は25 ml に規定する必要がある。