〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
37 (1) 28-38 (1991)

希土類元素の生体影響に関する研究 (第一報) ジスプロシウム, ユーロピウム, イッテルビウム及びイットリウムの 生体試料からの分析法の検討

中村優美子,^a 長谷川ゆかり,^a 外海泰秀,^a 金本正文,^b

坪井尚弘,^b 村上喜八郎,^b 伊藤誉志男^a

国立衛生試験所大阪支所食品試験部,^a 京都光研^b

Studies on the Biological Effects of Rare Earth Elements. I. Method for Analysis of Dysprosium (Dy), Europium (Eu), Ytterbium (Yb) and Yttrium (Y) from the Biological Materials

YUMIKO NAKAMURA,^a YUKARI HASEGAWA,^a YASUhide TONOGAI,^a MASAFUMI KANAMOTO,^b

NAOHIRO TSUBOI,^b KIHACHIRO MURAKAMI^b and YOSHIO ITO^a

National Institute of Hygienic Sciences,^a Osaka Branch 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka,
540, Japan and Kyoto Koken, Co., Ltd.^b 64, Senzoku, Makishima-cho, Uji, 611, Japan

(Received August 16, 1990)

The analytical method of 4 kinds of rare earth elements *i.e.* dysprosium (Dy), europium (Eu), ytterbium (Yb) and yttrium (Y) from the biological materials were investigated. 1) Three kinds of methods, *i.e.* atomic absorption spectrometry (AAS), flame emission spectrometry (FES) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) were compared. Most sensitive and reliable method was ICP-AES, so the determination of 4 kinds of rare earth elements was performed by ICP-AES. 2) Two kinds of solvent extraction methods were investigated. None of APDC-MIBK (ammonium pyrrolidinedithiocarbamate/methyl isobutyl ketone) system nor D2-EHPA (di(2-ethylhexyl)phosphoric acid) system revealed sufficient results. 3) Dry ashing procedure was investigated for the biological materials. Recoveries of Dy, Eu, Yb and Y (25–2500 ppm added) were 44.0–96.5% for the liver, whole blood, spleen and kidney for which the ashing was complete; contrarily, those were 35.5–78.9% for the feces and femur for which the ashing was incomplete. 4) Wet digestion method was investigated for the biological materials. Recoveries of Dy, Eu, Yb and Y were 77.6–100.7% in case of H₂SO₄-HNO₃ digestion (250 ppm added) and 85.3–100.5% in case of HNO₃ digestion (25 ppm added). The HNO₃ digestion method was better than the H₂SO₄-HNO₃ digestion method because of no CaSO₄ precipitation in the former method. Therefore, it was suggested that the best analytical method for these 4 kinds of rare earth elements from the biological materials was the combination of wet digestion method by using HNO₃ with ICP-AES.

Keywords — rare earth elements; dysprosium; europium; ytterbium; yttrium; ICP-AES; wet digestion method; atomic absorption spectrometry; dry ashing procedure

緒 言

希土類元素とは、原子番号 57 のランタン (La) から 71 のルテチウム (Lu) までの 15 元素の総称であ

り、広義には、同じ第 III A 族に属する原子番号 21 のスカンジウム (Sc) 及び 39 のイットリウム (Y) も含む。^{1,2)} 希土類元素は、原子番号順に便宜上軽希土 (La–Eu)、中希土 (Sm–Ho)、重希土 (Gd–Lu)

の3種に分類されることもある。¹⁾これらの希土類元素の化学的挙動は酷似しており、その分離精製は難しいとされてきた。

希土類元素の最大埋蔵国は中国である。^{3,4)}希土類混合物すなわち混合希土は、触媒、ガラス研磨剤などとして利用されてきた。⁵⁻⁷⁾一方、希土類の高純度品すなわち分離希土は、蛍光体、レーザー材料、磁性材料として、あるいはガラス工業、窯業、原子力工業方面に利用されている。^{1,2,5)}また、生化学^{8,9)}などの学術方面、¹⁾医学、^{10,11)}農業方面^{12,13)}にも利用されるようになった。

希土類元素の物性や利用法、あるいは鉱石試料や機能性材料からの分析法に関する報告は多いが、生体に対する作用あるいは生体試料からの分析に関する報告は少ない。²⁾しかし、原子産業¹⁴⁾や先端科学工業での利用が増大しており、希土類元素の生体に対する影響について調べることは意義のあることと考えられる。そのためには、まず生体からの希土類元素の分析法について詳しく検討する必要がある。

我々は、希土類元素のうち、軽希土よりユーロピウム (Eu)、中希土よりジスプロシウム (Dy)、重希土よりイッテルビウム (Yb)、広義の希土類の1元素であるイットリウム (Y) の4種を選択し、生体からの分析法を検討した。

試薬・機器

1. 試薬 ①原子吸光分析用標準液——ジスプロシウム、ユーロピウム、イッテルビウム、イットリウムの原子吸光分析用標準液 (濃度各 1000 ppm, 1 N HNO₃ 溶液) は和光純薬工業から購入した。

②その他の試薬——ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (原子吸光分析用) 及び 4-メチル-2-ペンタノン (メチルイソブチルケトン) (原子吸光分析用) はキシダ化学より購入した。

ジ (2-エチルヘキシル) リン酸 (for rare earth extraction)、2-エチルヘキシルアルコール (特級) は、東京化成工業より購入した。

硝酸 (HNO₃)、硫酸 (H₂SO₄) は有害金属測定用を、過酸化水素水 (H₂O₂) は原子吸光分析用を用いた。その他の試薬はすべて試薬特級を用いた。

蒸留水は、再蒸留脱イオン水を使用した。

2. 機器 原子吸光分析及び蛍光分析は、原子吸光蛍光共用分光分析装置 AA-845 (日本ジャーレルアッシュ) を用いて行った。バーナーヘッド SN-65 S は日本ジャーレル・アッシュから購入した。また、ホローカソードランプ L 233-66 NB (Dy)、L 233-

63 NB (Eu)、L 233-70 NB (Yb)、L 233-39 NB (Y) は、浜松ホトニクスから購入した。

誘導結合プラズマ発光分析は、UOP-1 Mark II (京都光研) を用いて行った。

乾式灰化は MKS 型マッフル炉 MKS-320-4 L (増田理化工業) を、湿式灰化はホットプレートあるいはホットブロックバス TB-602 (アドバンテック) を用いて行った。

石英るつぼは径 4 cm、高さ 4 cm のものを用いて行った。

試験管等実験器具はあらかじめ希塩酸及び脱イオン再蒸留水で洗浄した後に用いた。

不溶物ろ過には、No. 7 ろ紙 (アドバンテック東洋) を用いた。

3. 使用動物 臓器及び糞、尿は体重 400—425 g の Wistar 系雄性ラットから得た。固形飼料は F-2 (船橋農場) を用いた。

方 法

1. 原子吸光分析法 (AAS)・蛍光分析法 (FES)・ICP 発光分析法 (ICP-AES) の比較 原子吸光分析用標準液を 1 N HNO₃ で希釈し、さらに KCl を最終濃度として 0—10000 ppm となるように添加し、原子吸光分析及び蛍光分析用の標準溶液を調製した。

別に、原子吸光用標準液を 1 N HNO₃ で希釈し、ICP 発光分析用標準溶液とした。

原子吸光分析法、蛍光分析法及び ICP 発光分析での分析条件を Table I. に示した。

2. 溶媒抽出法の検討 2.1 APDC-MIBK 系——石塚ら¹⁵⁾の方法を参考にして、APDC-MIBK 系による抽出を試みた。

Dy, Eu, Yb, Y 各 1000 µg を含む 10% H₂SO₄ 溶液 50 ml を 30% NaOH 水溶液で pH 3—4 に調製した。これに、2% ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC) 水溶液 2 ml 及びメチルイソブチルケトン (MIBK) 20 ml を加えて 10 分間振盪した。有機層 (MIBK 層) をロータリーエバポレーターで約 25 ml に濃縮し、1 N HNO₃ 20 ml で逆抽出し、KCl 10000 ppm を添加した後 25 ml に定容した。HNO₃ 層及び MIBK 層中の Dy, Eu, Yb, Y の含有量を原子吸光法で測定した。

実験は 5 試行で行った。

2.2 D 2-EHPA 系——Dy, Eu, Yb, Y 各 500 µg を含む 10% H₂SO₄ 溶液 50 ml あるいは 20% H₂SO₄ 溶液 50 ml を調製した。10% H₂SO₄ 溶液 50 ml はそ

TABLE I. Operating Conditions for the Atomic Absorption Spectrometry (AAS), the Flame Emission Spectrometry (FES) and the Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES)

Atomic absorption spectrometry (AAS)	
Apparatus: AA-845 & SN-65 S (Nippon Jarrel-Ash Co.)	
Analytical line: Dy 404.59 nm, Eu 459.40 nm or 462.72 nm	
Yb 398.79 nm or 346.43 nm, Y 410.23 nm or 412.83 nm	
Spectral band width: 0.17 nm	
Height of burner: 25 mm	
Combustion gas flow rate: N ₂ O 0.75 l/min (3.0 kg/cm ²), C ₂ H ₂ 5.0 l/min (1.5 kg/cm ²)	
Hollow cathode lamp operating current: 10 mA	
Sensitivity: 5.0 (for Dy and Y) or 40.0 (for Eu and Yb)	
Flame emission spectrometry (FES)	
Apparatus: AA-845 & SN-65 S	
Analytical line: Dy 404.59 nm, Eu 459.40 nm, Yb 398.79 nm, Y 410.23 nm	
Spectral band width: 0.34 nm	
Height of burner: 25 mm	
Combustion gas flow rate: N ₂ O 6.75 l/min (3.0 kg/cm ²), C ₂ H ₂ 5.0 l/min (1.5 kg/cm ²)	
Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES)	
Spectrometer: Kyoto Koken UOP-1 Mark II, echelle grating monochromator, 0.8 m focal length, 79 grooves/mm	
RF generator: 1.0 kW at 27.12 MHz	
Plasma argon flow rate: coolant 13.0 l/min, auxiliary 0.60 l/min, neblizer 0.39 l/min	
Slit width: 100 μm × 2 mm, entrance and exit	
Observation height: 10 mm above the load coil	
Integration time: 5 s × 3 times	
Analytical lines: Dy II 353.170 nm, Eu II 381.967 nm, Yb II 328.937 nm, Y II 353.170 nm	

のままあるいは 30%NaOH 水溶液で pH 4 あるいは pH 7 に調製し、20%H₂SO₄ 溶液 50 ml はそのまま 10%ジ (2-エチルヘキシル) リン酸 (D 2-EHPA) - ケロシン溶液²⁾ 50 ml で抽出 (15 分間振盪) した。有機層に 2-エチルヘキシルアルコール¹⁶⁾ 5 ml を加え、1 N HNO₃ 20 ml で逆抽出し、1 N HNO₃ で 25 ml に定容した。蒸留水で 20 倍希釈した後、ICP 発光分析法で Dy, Eu, Yb, Y の含有量を測定した。

実験は 5 試行で行った。

3. 生体試料からの分析法の検討 3.1 乾式灰化法——ラットをエーテル麻酔し、ヘパリンで内部を湿したシリンジで心臓より採血した。直ちに、肝臓、脾臓、腎臓、大腿骨 (骨幹部、骨髓を含む) を全摘出し、分析時まで冷凍保存した。また、ラットの糞を採取し、60°C で一夜乾燥後、粉碎して糞乾燥試料とした。

細切した臓器、ヘパリン処理した血液、糞乾燥試料各 0.5 g を石英るつばに採り、Dy, Eu, Yb, Y を各 1.25—1250 μg (試料に対する濃度 2.5—2500 ppm) 添加した。Dy, Eu, Yb, Y を添加しないものを対照試料とした。H₂SO₄ 約 2 ml 及び HNO₃ 約

2 ml を加え、ホットプレート上で予備灰化を行った。H₂SO₄ 及び HNO₃ を完全に除去した後、マッフル炉で 500°C にて 24 時間灰化した。灰化が完全に行われない場合には同じ操作を繰り返した。灰化後、残渣を 1 N HNO₃ 5—25 ml に溶解し、不溶物は No. 7 ろ紙でろ過後、蒸留水で 20 倍希釈し、ICP 測定用試料液とした。

それぞれの ICP 測定用試料液について、Dy, Eu, Yb, Y の含有量を ICP 発光分析法で測定した。

実験は 1—5 試行で行った。

3.2 硫酸・硝酸による湿式灰化法——3.1 と同様にして得た試料各 0.5 g を石英るつばに採り、Dy, Eu, Yb, Y を各 500 μg (試料に対する濃度 250 ppm) 添加した。Dy, Eu, Yb, Y を添加しないものを対照試料とした。H₂SO₄ 5 ml 及び HNO₃ 50—100 ml により、ホットプレート上で加熱して湿式灰化を行った。灰化後、残渣を蒸留水に溶解し、250 ml に定容して ICP 測定用試料液とした。

それぞれの ICP 測定用試料液について、Dy, Eu, Yb, Y の含有量を ICP 発光分析法で測定した。

実験は 1—3 試行で行った。

3.3 硝酸による湿式灰化法——3.1と同様にし得た試料及び固形飼料F-2,尿の各0.5gを試験管に採り,Dy, Eu, Yb, Yを各12.5 μ g(試料に対する濃度25 ppm)添加した.Dy, Eu, Yb, Yを添加しないものを対照試料とした. HNO_3 を約5ml加え,120°C前後でホットブロックバスにより湿式灰化を行った.途中,有機物の分解を促すため過酸化水素水を滴下させたり硝酸を追加した.灰化後,蒸留水で試料の硝酸濃度が1Nになるようにして100 mlに定容し,ICP測定用試料液とした.

それぞれのICP測定用試料液について,Dy, Eu, Yb, Yの含有量をICP発光分析法で測定した.

実験は3—5試行で行った.

結果・考察

1. 原子吸光分析法・炎光分析法・ICP発光分析法の比較

希土類元素の分析法としては,原子吸光分析法,¹⁷⁻²¹⁾炎光分析法,²²⁻²⁸⁾ICP発光分析法,²⁹⁻³³⁾GLC法,³⁴⁻³⁶⁾HPLC法,³⁷⁾放射化分析,³⁸⁻⁴⁰⁾蛍光法,⁴¹⁻⁴⁴⁾蛍光X線法,⁴⁵⁾ポーラログラフイー法⁴⁶⁾等が知られている.これらの方法のなかでは,放射化分析が最も感度がよいとされているが,測定には特別の装置を必要とする.

ここでは,原子吸光分析法,炎光分析法,ICP発光分析法の3法について比較検討した.

希土類元素の原子吸光分析法による測定においては,イオン化干渉があるため,アルカリ金属の添加が必要とされ,亜酸化窒素-アセチレン炎で分析する必要がある.²¹⁾したがって,まず,添加するKClの適量を知るため,KClを1000—10000 ppmの濃度になるように希土類標準液に添加し,相対強度の変化を調べた.その結果はTable IIに示した通りである.

4元素とも,KClの添加量が多いほど相対強度が強くなる傾向があった.この結果は,石塚ら²⁶⁾の報告と一致する.そこで,実際の原子吸光分析ではKClを10000 ppmの濃度となるよう添加して分析することとした.

3法による4種希土類元素の検量線をFig. 1—3に示した.

原子吸光分析法では,Dyは0.5—50 ppmの範囲で, Euは0.04—10 ppmの範囲で, Ybは0.02—10 ppmの範囲で, Yは1.0—200 ppmの範囲でそれぞれ直線関係が成立した(Fig. 1).また,4種希土類元素の測定データの変動係数(5試行)は3.1—7.6%

TABLE II. Effect of the Concentration of KCl on the Intensities of the Absorption of Dy, Eu, Yb and Y by AAS

Concentration of KCl (ppm)	Ratio of intensity			
	Dy (50 ppm)	Eu (1 ppm)	Yb (1 ppm)	Y (50 ppm)
0	1.000	1.000	1.000	1.000
1000	1.546	1.459	1.436	1.670
3000	2.049	1.685	1.500	2.000
5000	2.148	2.206	1.641	2.260
10000	2.592	2.625	1.669	2.496

Operating conditions are represented in Table I.

であり,ほぼ良好な結果であった.

炎光分析法では,Dyは定量性を全く示さなかったのでFig. 2には示さなかった. Eu, Yb及びYも直線性を示さなかった(Fig. 2).

一方,ICP発光分析法では,各元素とも0.1—1.0 ppmの範囲で直線関係が成立した(Fig. 3).また,4種希土類元素の測定データの変動係数(10試行)は0.7—3.3%であり,他の測定法に比べ良好な結果であった.

4元素の検出限界は,Table IIIに示したように原子吸光分析法ではDy 0.5 ppm, Eu 0.04 ppm, Yb 0.02 ppm, Y 1.0 ppmであり,炎光分析法では, Eu 0.5 ppm, Yb 0.5 ppm, Y 10.0 ppmであった.一方,ICP発光分析法では,Dy 0.007 ppm, Eu 0.003 ppm, Yb 0.0009 ppm, Y 0.002 ppmであった.

以上3法を比較検討すると,ICP発光分析法がデータの再現性が最も良く,定量感度も高かった.また,ICP発光分析法では検量線の直線性が広範囲にわたって成立し,³³⁾試験液にアルカリ金属を添加する必要もない.したがって,生体試料からの分析はICP発光分析法で行うこととした.

2. 溶媒抽出法の検討

上記4種の希土類元素について,試料灰化後の選択的抽出及び濃縮の可能性について調べるため,APDC-MIBK系,D 2-EHPA系の2種の溶媒系について,溶媒抽出法を検討した.

2.1 APDC-MIBK系 APDC-MIBK系による金属の溶媒抽出法は,第I A族,第II A族,第III A族以外の金属について広く用いられる方法である.²¹⁾そこで,APDC-MIBK系によるDy, Eu, Yb, Yの抽出率を調べた.

APDC-MIBK系によるDy, Eu, Yb, Yの抽出率をTable IV(A)に示した.

いずれの元素も,MIBK層や HNO_3 層に抽出されなかった.

Fig. 1. Calibration Curves of Dy, Eu, Yb and Y by AAS

2.2 D2-EHPA 系 希土類元素の溶媒抽出法としては、2-thenoylfluoroacetone (TTA),⁴⁷⁾ tri-*n*-butyl phosphate (TBP),^{48,49)} D2-EHPA,^{16,50-53)} を用いた法が報告されている。特に、D2-EHPA は、各希土類元素間の分配係数が大きく、注目されている方法である。そこで、湿式灰化後の試料からの希土類元素の選択的抽出を試み、D2-EHPA 系について Dy, Eu, Yb, Y の抽出率を調べた。

D2-EHPA 系による Dy, Eu, Yb, Y の抽出率を Table IV(B) に示した。

Dy, Eu 及び Y は、pH が低いすなわち硫酸溶液では抽出率は低い、pH 4 あるいは 7 では抽出率が増加し、pH 4 で最も高い抽出率を示した。pH 4 での抽

出率は、Dy 84.2%, Eu 91.9%, Y 57.0%であった。

一方、Yb はいずれの pH においても低い抽出率を示した。

したがって、この 4 種の希土類元素すべてを硫酸溶液から効率よく抽出するには D2-EHPA 系は適していないと考えられた。

3. 生体試料からの分析法の検討

希土類元素の有機体からの抽出については、湿式灰化法、乾式灰化法の両方が示されている。⁵⁴⁾ ここでは、乾式灰化法と湿式灰化法を比較するため、ラットの臓器及び全血、糞、尿、F-2 固型試料を用いて Dy, Eu, Yb, Y の 4 元素の添加回収実験を行った。

3.1 乾式灰化法の検討

各臓器からの乾式灰

Fig. 2. Calibration Curves of Eu, Yb and Y by FES

化法による回収率を Table V に示した。

糞乾燥試料，大腿骨は灰化が完全ではなく，赤茶色—黒色の不溶物が残存していた。しかし，肝臓，全血，脾臓，腎臓は灰化が完全であった。

25—2500 ppm 添加時の 4 種希土類元素の回収率は，肝臓では 54.4—94.8%，全血では 72.8—96.5% と良好な値を示した。脾臓では，25 ppm 添加時には 44.0—76.8% とやや低かったが，500—2500 ppm 添加時には 67.1—84.3% とほぼ良好な回収率が得られた。腎臓では，74.9—93.4% とほぼ良好な回収率が得られた。

一方，無機物が多く完全に灰化されない試料すなわち糞乾燥試料では，25—50 ppm 添加時には

35.5—42.4% と低い回収率しか得られなかったが，500—2500 ppm 添加時の 4 元素の回収率は 76.7—78.9% とほぼ良好な値が得られた。また，大腿骨では，回収率は 30.0—52.6% と低かった。したがって，灰化が不十分な試料については試料中の希土類の硝酸溶液への溶出が不完全であると考えられた。

各臓器とも添加量が多いほど回収率が高くなる傾向があったが，元素による違いは顕著ではなかった。

Dy, Eu, Yb, Y 標準試料 2—250 μg について同様の操作を行った場合の 4 元素の回収率は 80.9—99.1% と良好であり，添加量が多いほど回収率が高い傾向があった。

Fig. 3. Calibration Curves of Dy, Eu, Yb and Y by ICP-AES

TABLE III. Detection Limits of Dy, Eu, Yb and Y by AAS, FES and ICP-AES

Analytical method ^{a)}	Detection limit (ppm)			
	Dy	Eu	Yb	Y
Atomic absorption spectrometry (AAS)	0.5	0.4 (λ 459.40 nm) ^{b)} 0.1 (λ 462.72 nm) ^{c)}	0.02 (λ 398.70 nm) ^{b)} 0.02 (λ 346.43 nm) ^{c)}	1.0 (λ 410.23 nm) ^{b)} 5.0 (λ 412.83 nm) ^{c)}
Flame emission spectrometry (FES)	— ^{d)}	0.5 ^{c)}	0.5 ^{c)}	10.0 ^{c)}
Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES)	0.007	0.003	0.0009	0.002

a) Operating conditions are represented in Table I.

b) KCl was added at the concentration of 10000 ppm.

c) KCl was added at the concentration of 5000 ppm.

d) Determination was unable because of spectrophotometric interference.

TABLE IV. Recovery Test of Dy, Eu, Yb and Y by Solvent Extraction

(A) APDC-MIBK extraction ^{a)}				
Elements	Amounts (μg)	Recovery (%)		
		MIBK layer	HNO ₃ layer	
Dy	1000	ND ^{b)}	ND	
Eu	1000	ND	ND	
Yb	1000	ND	ND	
Y	1000	ND	ND	

(B) D2-EHPA extraction ^{c)}					
Elements	Amounts (μg)	Recovery (%)			
		20% H ₂ SO ₄	10 % H ₂ SO ₄	pH 4	pH 7
Dy	500	2.8 $\pm$ 0.3 ^{d)}	7.4 $\pm$ 1.3	84.2 $\pm$ 5.6	76.8 $\pm$ 11.8
Eu	500	2.5 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.3	91.9 $\pm$ 3.1	88.8 $\pm$ 9.2
Yb	500	3.7 $\pm$ 1.4	6.0 $\pm$ 1.5	7.6 $\pm$ 1.8	5.3 $\pm$ 0.9
Y	500	4.4 $\pm$ 0.5	15.3 $\pm$ 3.0	57.0 $\pm$ 5.6	43.2 $\pm$ 5.0

a) 10% H₂SO₄ solution containing 1000 μg of Dy, Yb and Y respectively was adjusted to pH 3–4 by 30% NaOH. Then, 5 ml of 2% APDC aqueous solution and 50 ml of MIBK was added and the rare earth elements were extracted. MIBK layer was concentrated to 25 ml and re-extracted by 20 ml of 1 N HNO₃. KCl was added (final concentration was 10000 ppm) and adjusted to 25 ml with 1 N HNO₃. Contents of Dy, Eu, Yb and Y were analyzed by AAS. Conditions of AAS are shown in Table I.

b) ND: not detected (less than 1 μg).

c) 20% H₂SO₄ solutions containing 500 μg of Dy, Eu, Yb and Y respectively or 10% H₂SO₄ solutions containing 500 μg of Dy, Eu, Yb and Y respectively were prepared. Some of 10% H₂SO₄ solutions were adjusted to pH 4 or 7 by 30% NaOH solution. Then, 10% D2-EHPA in kerosene was added to each solution and the rare earth elements were extracted. Five ml of 2-ethylhexyl alcohol was added to each organic layer and the rare earth elements were re-extracted by 20 ml of 1 N HNO₃. HNO₃ layer was adjusted to 25 ml with 1 N HNO₃ and diluted to 20 times with deionized distilled water. Contents of Dy, Eu, Yb and Y were analyzed by ICP-AES. Conditions of ICP-AES are represented in Table I.

d) Data are represented as Mean $\pm$ SD for 5 trials.

Abbreviations are: APDC, ammonium pyrrolidinedithiocarbamate; MIBK, methy isobutyl ketone; D2-EHPA, di-(2-ethylhexyl) phosphate.

3.2 硫酸・硝酸による湿式灰化法 各臓器からの硫酸・硝酸による湿式灰化法による回収率を Table VI(A) に示した。

肝臓、全血、脾臓、腎臓については灰化は完全であった。糞乾燥試料、大腿骨では硫酸カルシウム (CaSO₄) の白色沈殿を生じた。この白色沈殿を完全に溶解するためには、希釈倍率を高くする必要があった。

250 ppm 添加時の各臓器からの 4 元素の回収率は 77.6–100.7% と良好であった。回収率については、元素による差は明確ではなかった。

Dy, Eu, Yb, Y 各標準試料 250 μg について湿式灰化操作を行った場合の 4 元素の回収率は 97.5–100.3% と良好であった。

3.3 硝酸による湿式灰化法 Ca 含量の高い試料は、硫酸・硝酸による湿式灰化法では CaSO₄ の白色沈殿を生じ、微量元素の定量を妨害する可能性がある。したがって、Ca と沈殿を生じない硝酸による湿式灰化法について検討した。

各臓器からの硝酸による湿式灰化法による回収率

を Table VI(B) に示した。

25 ppm 添加時の各臓器からの 4 元素の回収率は 85.3–100.5% と良好な値を示した。糞及び F-2 固形試料では、灰化時に発泡しやすく、他の試料に比べて回収率が若干低い傾向があった。回収率については、元素による差は明確ではなかった。

Dy, Eu, Yb, Y 各標準試料 25 μg について湿式灰化操作を行った場合の 4 元素の回収率は 91.9–95.2% と良好であった。

また、上記の生体試料そのものからは、Dy, Eu, Yb, Y はいずれも検出されなかった (1 ppm 以下)。

なお、よく用いられる湿式灰化法には、上記の硫酸・硝酸による方法、硝酸による方法の他に、硝酸・過塩素酸による方法がある。^{21,33)} しかし、過塩素酸を用いる方法は、爆発の危険性があるので、ここでは試みなかった。

上述のように、乾式灰化法では、灰化が完全に行われた臓器についてはほぼ良好な回収率を示したが、大腿骨や糞のように灰化が不完全な試料については回収率は低くなった。一方、湿式灰化法では、

TABLE V. Recovery Test of Dy, Eu, Yb and Y by the Dry Ashing Procedure

Elements	Added Concentrations (ppm)	Recovery (% ¹⁾)					
		Liver 0.5 g	Whole blood 0.5 g	Spleen 0.5 g	Kidney 0.5 g	Dried feces 0.5 g	Femur 0.5 g
Dy	25	69.3±2.3 ^{a2)}	81.6±1.6 ^{a)}	66.4	89.9±6.4 ^{a)}	35.5±6.1 ^{a)}	30.0±3.6 ^{a)}
	50	—	—	—	—	36.9±6.1 ^{a)}	—
	250	94.0±3.2 ^{a)}	96.0±3.3 ^{a)}	—	—	—	52.6±6.4 ^{a)}
	500	—	—	67.1±6.4 ^{a)}	—	76.6±6.7 ^{b)}	—
Eu	25	76.8±7.3 ^{a)}	87.5±1.9 ^{a)}	76.8	93.4±3.6 ^{a)}	38.9±7.4 ^{a)}	33.4±2.1 ^{a)}
	50	—	—	—	—	40.5±7.2 ^{a)}	—
	250	91.5±2.0 ^{a)}	95.3±3.2 ^{a)}	—	—	—	51.4±4.8 ^{a)}
	500	—	—	69.4±6.1 ^{a)}	—	78.9±7.1 ^{b)}	—
Yb	25	54.4±0.8 ^{a)}	72.8±3.5 ^{a)}	44.0	74.9±10.4 ^{a)}	41.9±6.1 ^{a)}	33.0±4.3 ^{a)}
	50	—	—	—	—	42.4±5.7 ^{a)}	—
	250	91.1±3.7 ^{a)}	93.8±3.7 ^{a)}	—	—	—	45.7±8.8 ^{a)}
	500	—	—	76.7±5.5 ^{a)}	—	77.1±6.5 ^{b)}	—
Y	25	58.9±4.4 ^{a)}	78.4±4.9 ^{a)}	60.8	86.9±8.6 ^{a)}	38.4±6.3 ^{a)}	30.4±2.9 ^{a)}
	250	94.8±2.8 ^{a)}	96.5±4.2 ^{a)}	—	—	41.0±10.2 ^{a)}	51.2±6.6 ^{a)}
	500	—	—	—	—	—	—
	1250	—	—	—	—	—	—
	2500	—	—	84.3±2.0 ^{a)}	—	76.7±6.7 ^{b)}	—

1) Male rats of 400—425 g body weight were anesthetized under diethylether and the heparinized blood were collected by heart puncture. Then, livers, spleens, kidneys, and femora were excised and stored at -20°C until analyzed. Feces of rats were at 60°C overnight and ground with pestle. Viscera were cut into slices. Each 0.5—1 g of sample was taken into crystal crucible (φ 4.0 cm×4.0 cm high) and 2.5—2 500 ppm of Dy, Eu, Yb and Y were added. The organic matters were decomposed with ca. 2 ml of H₂SO₄ and ca. 2 ml of HNO₃ on the hotplate. After the removal of H₂SO₄ and HNO₃, dry ashing was performed at 500°C for 24 h. Residues were dissolved in 5 or 25 ml of 1 N HNO₃ and filtered by No. 7 filter paper (ashless) if necessary, and diluted with distilled water to be 0.05 N HNO₃ solution. Contents of Dy, Eu, Yb and Y were analyzed by ICP-AES. Conditions of ICP-AES are represented in Table I.

2) Data are represented as Mean±SD for 4^{a)}, or 5^{b)} trials.

硫酸・硝酸による湿式灰化法，硝酸による湿式灰化法ともに，4元素の回収率は良好な値を示した。

また，硝酸を用いる湿式灰化法では，硫酸・硝酸を用いる湿式灰化法に比べ，CaSO₄の沈殿を生じる事なく，試料液の濃縮が可能であった。

したがって，生体試料からの希土類の分析には，硝酸を用いる湿式灰化法により試料液を調製し，ICP発光分析法で試料液を直接定量するのが最適であると考えられた。

総 括

1) 希土類元素のうち Dy, Eu, Yb 及び Y の 4 元素の定量を，原子吸光分析法，蛍光分析法，ICP 発光分析法の 3 法で比較検討した。3 法のうち，ICP 発光分析法がデータの再現性が良く，定量感度が高かった。したがって，生体試料からの分析は ICP 発光分析法で行うこととした。

2) 上記 4 元素について，APDC-MIBK 系，D 2-EHPA 系の 2 種の溶媒系について，溶媒抽出法を検

討したが，いずれも満足な結果は得られなかった。

3) 生体試料を用い，4 元素を 25—2500 ppm の濃度となるように添加して，乾式灰化法及び湿式灰化法での回収率を比較検討した。乾式灰化法では，灰化が完全に行われた臓器についてはほぼ良好な回収率を示したが，大腿骨や糞のように灰化が不完全な試料については回収率は低かった。一方，硫酸・硝酸による湿式灰化法では，4 元素の回収率は 77.6—100.7%と良好な値を示した。また，硝酸による湿式灰化法でも 4 元素の回収率は 85.3—100.5%と良好な値を示した。

4) 硝酸を用いる湿式灰化法では，硫酸・硝酸を用いる湿式灰化法に比べ，硫酸カルシウムの沈殿を生じる事なく，試料液の濃縮が可能であった。

したがって，生体試料からの希土類の分析には，硝酸を用いる湿式灰化法により試料液を調製し，ICP 発光分析法で試料液を直接定量するのが最適であると考えられた。

TABLE VI. Recovery Test of Dy, Eu, Yb and Y by the Wet Digestion Method

(A) H ₂ SO ₄ -HNO ₃ digestion ¹⁾		Recovery (%)					
Elements Added	concentrations (ppm)	Liver 0.5 g	Whole blood 0.5 g	Spleen 0.5 g	Kidney 0.5 g	Dried feces 0.5 g	Femur 0.5 g
Dy	250	98.1±2.1 ^{a)}	90.2, 82.2	91.6	94.8±4.8 ^{a)}	82.4	90.0, 84.6
Eu	250	97.2±2.1 ^{a)}	89.2, 81.4	83.2	92.1±5.3 ^{a)}	81.0	89.0, 77.6
Yb	250	99.7±2.3 ^{a)}	91.4, 83.6	85.0	95.2±5.7 ^{a)}	83.4	89.2, 87.2
Y	250	100.7±2.7 ^{a)}	92.6, 84.6	86.8	93.0±4.2 ^{a)}	84.4	90.6, 88.8

(B) HNO ₃ digestion ²⁾		Recovery (%)							
Elements Added	concentrations (ppm)	Liver 0.5 g	Whole blood 0.5 g	Spleen 0.5 g	Kidney 0.5 g	Dried feces 0.5 g	Femur 0.5 g	Urine 0.5 g	F-2 pellet 0.5 g
Dy	25	96.0±5.9 ^{a)}	95.6±8.8 ^{b)}	95.0±5.2 ^{b)}	99.3±2.2 ^{a)}	85.3±1.3 ^{c)}	98.1±3.7 ^{b)}	93.3±6.8 ^{b)}	90.3±3.8 ^{a)}
Eu	25	100.5±6.5 ^{a)}	98.1±6.2 ^{b)}	99.6±5.0 ^{b)}	99.0±2.2 ^{a)}	91.5±4.1 ^{c)}	100.0±4.0 ^{b)}	98.8±5.5 ^{b)}	93.3±7.6 ^{a)}
Yb	25	93.1±3.6 ^{a)}	97.1±8.2 ^{b)}	95.6±3.3 ^{b)}	99.0±2.3 ^{a)}	92.2±2.1 ^{c)}	94.3±3.1 ^{b)}	93.9±6.2 ^{b)}	93.3±6.8 ^{a)}
Y	25	93.1±3.3 ^{a)}	96.4±9.2 ^{b)}	96.0±3.6 ^{b)}	96.8±3.6 ^{a)}	88.7±2.0 ^{c)}	95.4±6.8 ^{b)}	95.0±4.1 ^{b)}	92.5±7.0 ^{a)}

1) Male rats of 400–425 g body weight were anesthetized under diethylether and the heparinized blood were collected by heart puncture. Then, livers, spleens, kidneys, and femora were excised and stored at -20°C until analyzed. Feces of rats were dried at 60°C overnight and ground with pestle. Viscera were cut into slices. Each 0.5 g of sample was taken into the crystal crucible (φ 4.0 cm×4.0 cm high) and 250 ppm of Dy, Eu, Yb and Y were added. The organic matters were decomposed with 5 ml of H₂SO₄ and adequate amounts of HNO₃ on the hotplate. After the wet digestion, residues were dissolved in distilled water and the volume was adjusted to 250 ml. Contents of Dy, Eu, Yb and Y were analyzed by ICP-AES. Conditions of ICP-AES are represented in Table I.

2) The biological samples were taken as described above. Each 0.5 g of sample was taken into the test tube and 25 ppm of Dy, Eu, Yb and Y were added. The organic matters were decomposed with the adequate amounts of HNO₃ using the hot block baths TB-620 (Advantec). H₂O₂ was added dropwise if necessary. After the wet digestion, HNO₃ and distilled water was added to be 100 ml of 1 N HNO₃ solution. Contents of Dy, Eu, Yb and Y were analyzed by ICP-AES. Conditions of ICP-AES are represented in Table I.

3) Data are represented as Mean±SD for 3^{a)}, 4^{b)} or 5^{c)} trials.

謝辞 本研究は、環境庁公害予算により行ったものであり、班長である国立衛生試験所環境衛生化学部の武田明治部長に深謝する。また、ICP-AESによる分析に便宜を図ってくださった柳本商事の山本博幸氏に深謝する。

引用文献

- 1) N.E. Topp, 塩川二郎・足立吟也共訳, “希土類元素の化学,” 化学同人, 東京, 1974, pp.1–207.
- 2) 加納 剛, 柳田博明編著, “レア・アース—その物性と応用—,” 技報堂出版, 東京, 1980, pp.1–405.
- 3) 小林幸二郎, 鉦山, **41** (8), 28–41 (1988).
- 4) 小林幸二郎, 鉦山, **41** (9), 24–37 (1988).
- 5) 塩川二郎, 触媒, **25**, 185 (1983).
- 6) 今川速夫, 触媒, **25**, 202 (1983).
- 7) 似島泰平, 中村悌二, 御園生誠, 表面, **21**, 206 (1983).
- 8) P.B. O'Hara, *Photochem. Photobiol.*, **46**, 1067 (1987).
- 9) I. Hemmilä, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **48**, 389 (1988).
- 10) 久田欣一, 癌の臨床, **18**, 831 (1982).
- 11) D.P. Hutcheson, B. Venugopal, D.H. Gray, T. Luckey, *J. Nutr.*, **109**, 702 (1979).
- 12) Guo Bo-sheng, *Inorg. Chim. Acta*, **140**, 353 (1987).
- 13) 後藤重義, *Hiken Kaiho*, **41**, 22 (1988).
- 14) P. Alvela, *Prog. Pharm.*, **2**, 69 (1979).
- 15) 石塚紀夫, 砂原広志, 田中一彦, 分析化学, **21**, 847 (1972).
- 16) T. Sato, *Hydrometallurgy*, **22**, 121 (1989).
- 17) V.A. Fassel, V.G. Mossotti, *Anal. Chem.*, **35**, 252 (1963).

- 18) M.D. Amos, J.B. Wills, *Spectrochim. Acta*, **22**, 1325 (1966).
- 19) R.J. Jaworowski, R.P. Weberling, J. Bracco, *Anal. Chim. Acta*, **37**, 284 (1967).
- 20) J.C. van Loon, J.H. Galbraith, H.M. Aarden, *Analyst* (London), **96**, 47 (1971).
- 21) 長谷川敬彦, 保田和雄, “原子吸光分析,” 講談社, 東京, 1972, pp.1—379.
- 22) O. Menis, T.C. Rains, J.A. Dean, *Anal. Chim. Acta*, **19**, 179 (1958).
- 23) O. Menis, T.C. Rains, J.A. Dean, *Anal. Chem.*, **31**, 187 (1959).
- 24) V.A. Fassel, R.H. Curry, R.N. Kniseley, *Spectrochim. Acta*, **18**, 1127 (1962).
- 25) A.P. D'Silva, R.N. Kniseley, V.A. Fassel, R.H. Curry, R.B. Myers, *Anal. Chem.*, **36**, 532 (1964).
- 26) 石塚紀夫, 砂原広志, 分析化学, **22**, 59 (1973).
- 27) 石塚紀夫, 上養義則, 砂原広志, 分析化学, **22**, 1450 (1973).
- 28) J.G.S. Gupta, *Talanta*, **23**, 343 (1976).
- 29) 大道寺英弘, 田村正平, 松原道夫, 分析化学, **34**, 340 (1985).
- 30) 藤野 治, 荒木克則, 米谷欣宣, 杉山雅人, 松井正和, 分析化学, **34**, 386 (1985).
- 31) 橋本正雄, 鳶島妙子, 上武成吾, 保田和雄, 分析化学, **34**, 600 (1985).
- 32) 大道寺英弘, 松原道夫, 分析化学, **34**, T 123 (1985).
- 33) 原口紘丞, “ICP 発光分析の基礎と応用,” 講談社, 東京, 1986, pp.1—291.
- 34) C.A. Burgett, J.S. Fritz, *Anal. Chem.*, **44**, 1738 (1972).
- 35) C.A. Burgett, J.S. Fritz, *Talanta*, **20**, 363 (1973).
- 36) 桑本 融, 化学, **32**, 794 (1977).
- 37) V. Kubán, D.B. Gladilovich, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **53**, 1664 (1988).
- 38) 渋谷政夫, ふんせき, **6**, 374 (1981).
- 39) E. Sabbioni, R. Pietra, P. Gaglione, G. Vocaturo, F. Colombo, M. Zanoni, F. Roda, *Sci. Total Environ.*, **26**, 19 (1982).
- 40) P.S. Tjioe, K.J. Volkers, J.J. Kroon, J.J.M. de Goeji, *J. Radioanal. Chem.*, **80**, 129 (1983).
- 41) 高山祐一, 合田四郎, 森重清利, 重松常信, 西川泰治, 分析化学, **34**, 465 (1985).
- 42) 黄 漢国, 耿 晓霞, 分析化学, **35**, 579 (1986).
- 43) 上野祐資, 笹岡伸光, 重松常信, 西川泰治, 分析化学, **37**, 263 (1988).
- 44) Jing-he Yang, Gui-yun Zhu, Hong Wang, *Analyst* (London), **114**, 1417 (1989).
- 45) 猪熊康夫, 遠藤 丈, 分析化学, **37**, 503 (1988).
- 46) Wang Zhen-di, Gao Xiao-xiao, *Science in China (Ser. B)*, **32**, 33 (1989).
- 47) O. Menis, T.C. Rains, J.A. Dean, *Anal. Chem.*, **31**, 187 (1959).
- 48) D. Scargill, K. Alcock, J.M. Fletcher, E. Hesford, H.A.C. McKay, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **4**, 304 (1957).
- 49) 佐藤太一, 佐藤馨一, 希土類, **14**, 144 (1989).
- 50) T.B. Pierce, P.F. Peck, *Analyst* (London), **88**, 217 (1963).
- 51) O.B. Michelsen, M. Smutz, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **33**, 265 (1971).
- 52) N.E. Thomas, L.E. Burkhart, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **36**, 1369 (1974).
- 53) 沖 恒生, 三方雅文, 塩川二郎, 平島克享, 希土類, **14**, 142 (1989).
- 54) T.T. Gorsuch, “The Destruction of Organic Matter,” Pergamon Press Ltd., Oxford, 1970, pp.1—151.