ガスクロマトグラフィーによる水中のオキシシン銅の定量

大野浩之, 青山大器
名古屋市衛生研究所

Determination of Oxine-Copper in Water by Gas Chromatography

HIROYUKI OHNO and TAIKI AOYAMA

*Nagoya City Public Health Research Institute, 1-11, Hagiya-cho,
Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan*

(Received June 19, 1991)

A gas chromatographic (GC) method for the determination of trace amounts of oxine-copper (Ox-Cu) in water is described. A 500 ml volume of sample water (pH 6.5–6.8) was passed through Sep Pak C₁₈ cartridge at a flowrate of 5 ml/min. Then Ox-Cu absorbed on the cartridge was eluted with 4 ml of methanol. After removing the solvent from the eluate, 2 ml of 0.01 M disodium ethylenediaminetetraacetate solution was added to the residue and the formation of 8-hydroxyquinoline (8-HQ) was facilitated by ultrasonic treatment and vigorous shaking. 8-HQ was extracted twice with 1 ml of benzene and determined with a flame-thermoionic detector (FTD)-GC using a megabore capillary column (DB-1). The recoveries of Ox-Cu from 6 kinds of sample water were 81–97% and the relative standard deviation were 2.5–5.7%. The limit of detection was 0.5 µg/l.

Keywords—— oxine-copper; 8-hydroxyquinoline; FTD-GC; megabore capillary column; Sep Pak C₁₈ cartridge

緒 言

近年, ゴルフ場で使用される農薬による環境汚染が社会問題化し, 特に飲料水源への汚染が懸念されるようになってきた。そのため飲料水源及び飲料水の汚染状況を正確に把握することが急務となってきた。1990年, 厚生省は飲料水の安全性を確保するため, 21種類のゴルフ場使用農薬について暫定水質目標値¹⁾を設定した。このうち, 芝の雪腐病の防除²⁾に用いられるオキシシン銅の水質目標値は40 µg/l以下に設定された。オキシシン銅は8-ヒドロキシキノリンの銅キレート構造を有する殺菌剤であり, 野菜や果樹への使用頻度も高く, 残留性も比較的大きい³⁾とされている。実際にもゴルフ場周辺の水質調査の結果, オキシシン銅を検出した例⁴⁾やゴルフ場近くの養魚場で魚が大量斃死した事故⁵⁾が報告されている。このため簡便・迅速な分析法の確立が求められている。

オキシシン銅の分析法としては, 食品中のオキシシン銅を8-ヒドロキシキノリンとした後, アゾ色素を生成させて比色分析する方法や銅を原子吸光法で測定する方法⁶⁾が知られている。しかしながら, これらの方法は選択性に乏しい上に微量分析に適していない。また, オレンジ中のオキシシン銅を pentafluorobenzyl bromide により誘導体化した後, パックドカラムを用いるガスクロマトグラフィー (GC) により分析した例⁷⁾も報告されているが, 簡便な方法とは言えず, 水中の微量オキシシン銅の分析への応用はむずかしい。

一方, 水中のオキシシン銅の分析として, 厚生省は溶媒抽出後, 逆相カラムを用いる高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析する方法⁸⁾を提示している。しかしながらこの方法では, カラム充填剤中に存在する金属の影響を除去するため, 長時間のカラム洗浄が必要である上, 市販カラムの種類によってピーク形状に大きなばらつきがみられ, また

HPLC 流路系の各種金属製部品の影響のため、溶媒フィルターやラインフィルターをはずすなどの措置を講じる必要性についての小川ら⁹⁾の報告がある。さらにこの方法では波長 240 nm の UV 検出器を用いるため、他の共存物質の影響を受けやすく、選択性に乏しい。このため、HPLC 法でオキシ銅のピークが出現した場合にはガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) 等による確認が必要である。しかし、これまで水中の微量オキシ銅を GC 分析した報告はみあたらないため、GC-MS による確認は困難である。

そこで GC-MS による確認を可能とするため、GC による微量オキシ銅の分析法について検討した。著者らは水中のトリアジン系除草剤の分析¹⁰⁾の際に、Sep Pak C₁₈ カートリッジを用いる前処理法について報告した。今回オキシ銅の分析にも Sep Pak C₁₈ カートリッジを用いて前処理を行った後、オキシ銅を 8-ヒドロキシキノリンに変換して GC 分析を可能とした。その結果、GC-MS による確認が容易となった上、検出精度が高められ、若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料水 愛知県内の水道原水 5 検体及び本研究所内で水道水を採取したもの 1 検体、計 6 検体を試料水とした。水道水は亜硫酸ナトリウム (0.5 w/v%) を用いて残留塩素を除去した後、用いた。

2. 試薬・器具 各種有機溶媒——すべて残留農薬分析用 (片山化学) を用いた。

オキシ銅 (Ox-Cu) 標準溶液——Ox-Cu 標準品 (和光純薬) 50 mg を精秤し、メタノール 500 ml に溶解して 100 µg/ml 標準原液を調製し、適宜メタノールで希釈し、所要濃度の標準溶液を調製した。

8-ヒドロキシキノリン (8-HQ) 標準溶液——8-HQ (試薬特級, 和光純薬) をベンゼンを用いて溶解し、Ox-Cu 標準溶液と同様に調製した。

0.01 M EDTA 溶液——エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム・二水和物 (試薬特級, 片山化学) を再結晶¹¹⁾により精製し、その 3.72 g を蒸留水 1 l に溶解して調製した (用時調製)。

0.01 M EDTA 溶液 (pH 3.5)——上記の EDTA 溶液に 0.2 M リン酸及びリン酸一カリウムを加え、調製した。

Sep Pak C₁₈ カートリッジ——Waters Associates 社製。あらかじめ 0.01 M EDTA 溶液、蒸留水、メタノール各 5 ml 及び蒸留水 10 ml をこの順で通

してコンディショニングしたものを使用した。

3. 装置 ガスクロマトグラフ (GC)——島津 GC-14 A (水素炎熱イオン検出器 (FTD) 付)。

ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS)——日本電子 JMS-DX 300 及び JMS-DA 5000 (データシステム)。

高速液体クロマトグラフ (HPLC)——日本分光 880-PU 型ポンプ, 875-UV 型検出器, 860-CO 型カラムオープン。

自記分光光度計——島津 UV-265 FS 型。

4. 測定条件 4-1. FTD-GC 条件——カラム: DB-1 (0.53 mm i.d.×30 m, 膜厚 1.5 µm, J & W Scientific, Inc.), カラム温度: 130°C, 注入口及び検出器温度: 270°C, キャリヤーガス: 窒素 13 ml/min, 水素ガス: 3 ml/min, 空気: 150 ml/min, 注入量: 4 µl。

4-2. GC-MS 条件——カラム: DB-1 (0.53 mm i.d.×30 m, 膜厚 1.5 µm, J & W Scientific, Inc.), カラム温度: 130°C, 注入口温度: 270°C, セパレータ温度: 250°C, イオン源温度: 230°C, キャリヤーガス: ヘリウム 14 ml/min, スキャベンジガス: ヘリウム 50 ml/min, イオン化電圧: 70 eV, トラップ電流: 300 µA, 加速電圧: 3 kV, イオンモード: 電子衝撃イオン化 (EI) 法, イオン検出: 正イオン, スキャン時間: 1.0 s, スキャン範囲: m/z 35—200, 注入量: 4 µl。

4-3. HPLC 条件——カラム: Asahipak ODP-50 (4.6 mm i.d.×150 mm, 旭化成工業), 移動相: 0.2% EDTA・2 Na 含有 5 mM クエン酸緩衝液 (pH 3.5)–アセトニトリル=80:20, 流速: 0.8 ml/min, UV 検出波長: 240 nm, カラム温度: 35°C, 注入量: 20 µl。

5. 分析操作 試料水 500 ml (必要があれば綿栓汙過により浮遊物を除去する) を 1 N HCl 及び 1 N NaOH を用いて pH 6.5—6.8 に調整し、毎分 5 ml の速さで Sep Pak C₁₈ カートリッジに注入する。注入後、注射筒を用いてメタノール 4 ml で溶出し、ロータリーエバポレータ (水浴 35—40°C) で減圧濃縮を行って約 0.5 ml にした後、窒素ガスを吹き付けて乾固する。この残渣に 0.01 M EDTA 溶液 (pH 3.5) 2 ml を加え、超音波を 15 min 照射し、さらに振とうを 1 h 行った後、ベンゼン 1 ml で 2 回抽出を行う。得られたベンゼン溶液を 4 µl FTD-GC に注入し、クロマトグラム上の 8-HQ ピーク高より絶対検量線法で 8-HQ の定量を行い、次式により、試料水中の Ox-Cu 濃度を算出する。

$$\begin{aligned}
 \text{Ox-Cu 濃度}(\mu\text{g/l}) &= 8\text{-HQ 濃度}(\mu\text{g/ml}) \\
 &\times \frac{\text{Ox-Cu 分子量}}{2 \times (8\text{-HQ 分子量})} \\
 &\times \frac{\text{最終液量}}{\text{試料水量}} \times 1000 \\
 &= 8\text{-HQ 濃度}(\mu\text{g/ml}) \times 4.9
 \end{aligned}$$

結果と考察

1. Sep Pak C₁₈ カートリッジによる前処理法の検討

前報¹⁰⁾で、水中のトリアジン系除草剤の分析のための Sep Pak C₁₈ カートリッジを用いた簡便な前処理法について報告した。今回、Ox-Cu の分析にもこの方法を応用し、以下に述べる諸条件について検討した。

1-1. Ox-Cu の捕集効率に対する試料水の pH の影響 Ox-Cu 20 μg を添加した水道水 500 ml を 1 N HCl および 1 N NaOH を用いて pH 3.5—7.5 に調整し、Sep Pak C₁₈ カートリッジに通した後、メタノール 4 ml で溶出し、溶出液中の Ox-Cu の量を HPLC 法により求めた。Fig. 1 に Ox-Cu の回収率に対する試料水の pH の影響を示す。これから Sep Pak C₁₈ カートリッジによる Ox-Cu の捕集効率は試料水の pH に強く依存し、pH 6.0—7.0 において 90% 以上の高い値を示すこ

Fig. 1. pH Dependence of Absorption Efficiency for Ox-Cu on Sep Pak C₁₈ Cartridge from Water

A 500 ml of drinking water (pH 3.5—7.5) containing 20 μg of Ox-Cu was passed through Sep Pak C₁₈ cartridge. Ox-Cu absorbed on the cartridge was eluted with 4 ml of methanol and determined by HPLC method.

とが分かった。特に pH 6.5—6.8 では 95% 以上の良好な捕集効率を示した。したがって、本法では試料水を pH 6.5—6.8 に調整した後に Sep Pak C₁₈ カートリッジを通すこととした。

1-2. 溶出溶媒の検討 Ox-Cu 20 μg を添加した水道水 500 ml を pH 6.5—6.8 に調整して Sep Pak C₁₈ カートリッジに通し、Ox-Cu をカートリッジに吸着させた後、7 種の溶媒（溶媒量 1, 2 及び 4 ml）により溶出し、溶出液中の Ox-Cu の量を HPLC 法により求めた。その結果を Table I に示す。メタノールを除く 6 種の溶媒の溶出効率はいずれも低く、溶媒量 4 ml でも 8—42% と不十分であった。一方、メタノールは 1 ml で 81%, 2 ml で 95%, 4 ml で 98% と高い溶出効率を示した。したがって、Sep Pak C₁₈ カートリッジからの Ox-Cu の溶出にはメタノール 4 ml を用いることとした。

1-3. Sep Pak C₁₈ カートリッジのコンディショニング 通常、Sep Pak C₁₈ カートリッジは洗浄や活性化の目的で溶出溶媒等によるコンディショニングを行った後に使われる。そこでまずメタノール 5 ml 及び蒸留水 10 ml を通して洗浄した Sep Pak C₁₈ カートリッジを用いて Ox-Cu 20 μg を添加した水道水 (pH 6.5—6.8) 500 ml からの Ox-Cu の回収実験を行ったところ、10% 以下と著しく低い回収率を示すことが分かった。この低い回収率の原因は Sep Pak C₁₈ カートリッジ中に存在する金属が Ox-Cu と相互作用することによるものと考えられる。こうした金属の影響は厚生省の提示した ODP カラムを用いる HPLC 法⁸⁾においても問題となっており、移動相に EDTA を添加することによってその影響を抑えている。そこで本法においても Sep Pak C₁₈

TABLE I. Elution Efficiencies of 7 Kinds of Solvents for Ox-Cu from Sep Pak C₁₈ Cartridge

	Ox-Cu found in the eluate (%)		
	Elution volume 1ml	2ml	4ml
Hexane	0	0	8
Diethylether	0	4	17
Dichloromethane	5	10	23
Ethyl acetate	13	21	31
Acetone	9	14	23
Acetonitrile	19	27	42
Methanol	81	95	98

Twenty μg of Ox-Cu was absorbed on a Sep Pak C₁₈ cartridge and eluted with above solvents. Ox-Cu in the eluates was determined by HPLC method.

TABLE II. Comparison of the Recoveries of Ox-Cu between Two Pretreatment Methods using Sep Pak C₁₈ Cartridge and Solvent Extraction

Ox-Cu added (μ g)	Sep Pak C ₁₈ cartridge ^{c)}		Solvent extraction ^{d)}	
	Recovery ^{a)}	C. V. ^{b)} (%)	Recovery ^{a)}	C.V. ^{b)} (%)
2	95	3.1	81	4.4
20	98	2.4	85	3.9
50	94	3.3	83	4.3

a) Mean values obtained from four determinations.

b) C. V.: coefficient of variation.

c) A 500ml of drinking water (pH 6.5–6.8) containing Ox-Cu was passed through Sep Pak C₁₈ cartridge. Ox-Cu absorbed on the cartridge was eluted with 4ml of methanol and determined by HPLC method.

d) A 500ml of drinking water containing Ox-Cu was acidified to pH < 2 and washed with 100ml of dichloromethane. The aqueous phase was adjusted to pH 8 and added 50g of sodium chloride. Ox-Cu was extracted twice with 100ml of dichloromethane and determined by HPLC method.

カートリッジのコンディショニングに EDTA による洗浄操作を加えてみることにした。すなわち、0.01 M EDTA 溶液、蒸留水、メタノール各 5 ml、さらに蒸留水 10 ml をこの順に通して洗浄したカートリッジを用いて上記と同様の回収実験を行ったところ、 $98 \pm 2.4\%$ ($n=4$) と良好な回収率が得られた。

1-4. 溶媒抽出法との比較 Ox-Cu 2, 20 及び 50 μ g を添加した水道水 500 ml を用い、本法の Sep Pak C₁₈ カートリッジを用いた前処理法と厚生省法の溶媒抽出法⁸⁾との間で Ox-Cu の回収率を比較した (Table II)。本法の前処理法では、いずれの添加量でも 93–98% の高い回収率を示し、標準偏差 (2.4–3.3%) も良好であった。一方、溶媒抽出法による回収率は本法に比べて若干低く、81–85% (標準偏差 3.9–4.4%) であった。一般に Sep Pak C₁₈ カートリッジによる前処理法は溶媒抽出法に比べて使用溶媒が少量ですみ、かつ操作が簡便・迅速であることが知られているが、この結果から回収率の点からも有用性が認められた。

2. 8-HQ の生成と抽出

EDTA を用いて Ox-Cu から銅を奪いとして 8-HQ を生成させ、これを抽出して GC 分析する方法について検討した。

2-1. 8-HQ の生成率に対する pH の影響 Ox-Cu 20 μ g を含む標準溶液を採って窒素ガスを吹きつけて乾固した後、pH 2.0–4.6 に調整した 0.01 M EDTA 溶液 2 ml を加え、超音波を 15 min 照射し、さらに振とうを 1 h 行って 8-HQ の生成を促した。ベンゼン 1 ml を用いて 2 回抽出し、このうち 4 μ l を FTD-GC に注入して 8-HQ の生成率に対する pH の影響について検討した。Fig. 2 に示したように、8-HQ の生成率は pH 3.5 で 96% と最も高い値を示したことから、EDTA 溶液は pH 3.5 に調整し

Fig. 2. pH Dependence of 8-HQ Formation from Ox-Cu

て用いることとした。

2-2. 超音波処理及び振とうの効果 Ox-Cu 2, 20 及び 50 μ g に 0.01 M EDTA 溶液 (pH 3.5) 2 ml を加え、超音波を照射 (0, 5 及び 15 min) し、さらに振とう (0, 1, 2 及び 3 h) を行って 8-HQ の生成を促した後、FTD-GC により生成した 8-HQ の量を測定した。その結果を Fig. 3 に示す。超音波照射を行わず振とうのみを行った場合 (A) の 8-HQ 生成率はいずれの添加量においても低く、振とう 3 h でも 40–53% であった。超音波 5 min 照射の場合 (B) は添加量 2 及び 20 μ g での 8-HQ 生成率は振とう 2 h 以上で約 90% と高い値を示したが、添加量 50 μ g での 8-HQ 生成率は振とう 3 h でも 73% であった。一方、超音波 15 min 照射の場合 (C) はいずれの添加量でも振とう 1 h 以上で 92–96% と高い生成率が得られた。したがって、EDTA による Ox-Cu から 8-HQ への変換は超音波を 15 min 照射し、さら

Fig. 3. Effect of Ultrasonic Treatment and Shaking Times on 8-HQ Formation from Ox-Cu

Ox-Cu added; ○—○ 2 µg, ●—● 20 µg, ⊙—⊙ 50 µg.
 (A): Ultrasonic treatment 0 min.
 (B): Ultrasonic treatment 5 min.
 (C): Ultrasonic treatment 15 min.

に振とうを1h行うことで完了するものと考えられる。

2-3. 8-HQの抽出 8-HQはクロロホルム¹²⁾によって定量的に抽出されることが知られている。しかしながら、クロロホルムはFTD-GCの注入溶媒として適さないため、これを抽出溶媒として用いた場合には抽出後に他の溶媒へ8-HQを転溶する必要がある。そこで、まず8-HQのクロロホルム溶液を減圧下で濃縮した後、窒素ガスを用いて乾固し、ベンゼンに転溶してFTD-GCで分析したところ、約30%の8-HQの損失が認められ、クロロホルムは本法における抽出溶媒として適していないことが分った。そこで、次にFTD-GCに注入可能であり、8-HQの溶解性も比較的高いベンゼンを用いて検討した。その結果、ベンゼン1mlで2回抽出することにより、Ox-Cu添加量2, 20及び50 µgのいずれの場合も92–95%の高い回収率が得られることが分った。

3. GC-MS及びUVによる確認

Ox-Cuから8-HQが生成していることを確認するため、GC-MS及びUV測定を行った。Ox-Cu 20 µgを水道水500 mlに添加し、本法に従って操作して得られたベンゼン溶液を約0.2 mlに濃縮し、GC-MS分析を行った。8-HQに相当するピークのマスマスペクトルをFig. 4に示す。 m/z 145に8-HQの分子イオンピークが認められるとともに、その他のフラグメントイオンのパターンも標準の8-HQのマスマスペクトルとよく一致したことから、8-HQの生成が確認された。さらに、このベンゼン溶液を乾固し、メタノールに溶解してUV測定を行ったところ、

Fig. 4. Mass Spectrum (EI) of 8-HQ Formed from Ox-Cu

Fig. 5. UV Spectrum of 8-HQ Formed from Ox-Cu

242 nm に極大を有するスペクトルが得られ、8-HQ 標準溶液のものとよく一致した (Fig. 5).

4. FTD-GC による 8-HQ の定量

まず、4 種のパックドカラム (3%OV-1, 2%OV-17, 5%DC-200, 20%DC-550) (すべて 3 mm i.d. × 2 m) を用いて 8-HQ の GC 分析を試みた。しかしながら、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の標準溶液 4 μl を注入してもいずれのカラムの場合も 8-HQ のピークを認めることができなかった。これはカラム中に存在する金属の影響によるものと考えられ、パックドカラムによる 8-HQ の分析は困難であることが分った。そこでメガボアキャピラリーカラム (DB-1, 0.53 mm i.d. × 30 m) を用いて検討したところ、実験方法の 4-1. に示した FTD-GC 条件で保持時間 (R.T.) 5.5 min に 8-HQ のピークが認められた (Fig. 6)。このときの 8-HQ の定量限界は 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、検量線は 0.1–2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で良好な直線性を示した。また、標準溶液の注入を 4 回くり返した時のピーク高さのばらつきは、いずれの濃度においても相対標準偏差で 2.5% 以下と良好であった。以上の結果から、誘導体化等の煩雑な操作を行うことなく、8-HQ を FTD-GC 分析できることが分った。

次に、8-HQ の分析を他の農薬が妨害しないかどうか検討した。すなわち、厚生省がゴルフ場使用農薬として GC 分析を指定した 18 種及びその他の 4 種 (ジクロロボス、フェノブカーブ、EPN、ベンチオカーブ) の農薬について本法の FTD-GC 条件でクロマトグラムを測定し、 t_R を求めた。その結果、ジクロロボス及びフェノブカーブのピークが 8-HQ のピークの最も近くに現われたが、それらの t_R はそれぞれ 3.3 及び 8.1 min であり、8-HQ (5.5 min) とは十分分離していた。またその他の農薬の t_R はいずれ

Fig. 6. Gas Chromatogram of 8-HQ Standard Solution (2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

TABLE III. Recoveries of Ox-Cu from Sample Water

Sample No. ^{a)}	Ox-Cu added			
	2 μg		20 μg	
	Recovery ^{a)}	C. V. ^{b)} (%)	Recovery	C. V. (%)
1	83	3.6	85	4.6
2	97	4.8	91	3.2
3	86	2.9	89	4.1
4	86	3.8	91	3.6
5	81	5.7	83	4.4
6	94	2.5	93	3.0

a) Mean values obtained from four determinations.

b) C. V.: coefficient of variation.

c) No.1–5 were sampled from sources of drinking water, and No.6 was sampled from tap water of our laboratory.

も 10 min 以上であった。したがって、上述の農薬の中には 8-HQ の分析を妨害するものはないことが明らかとなった。

5. 実測定及び添加回収実験

愛知県内 5 ヶ所の水道原水及び本研究所の水道水から得た 6 種の試料水について、本法により分析を行ったところ、Ox-Cu はいずれからも検出されなかった。また、8-HQ のピーク付近に測定を妨害するようなピークも認められなかった。

そこで 6 種の試料水 500 ml にそれぞれ Ox-Cu 2 および 20 μg を添加して添加回収実験 ($n=4$) を

行った。その結果を Table III に示す。添加量 2 μg の場合の平均回収率は 81–97%，標準偏差は 2.5–5.7%，また、添加量 20 μg の場合の平均回収率は 83–93%，標準偏差は 3.0–4.6% と、いずれの試料水においてもほぼ良好な回収率が得られた。本法の定量限界は Ox-Cu として 0.5 $\mu\text{g/l}$ であった。

謝辞 本実験に際し、懇篤なご指導及び適切なご助言を賜った名古屋市立大学薬学部 八代 有助教授、並びに本研究所環境化学部 津山明宣部長に謝意を表わします。

引用文献

- 1) 厚生省生活衛生局, 「ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について」, 衛水第 152 号, 平成 2 年 5 月 31 日.
- 2) 細辻豊二, 吉田正義 (編), “新版 芝生の病虫害と雑草,” 全国農村教育協会, 東京, 1989, p.263.
- 3) 後藤真康, 加藤誠哉 (編), “増補 残留農薬分析法,” ソフトサイエンス社, 東京, 1987, pp.131–132.
- 4) 中村陽子, 衛生化学, **36**, xii–xv (1990).
- 5) 小川 広, 桂 英二, 兼俊明夫, 小島弘幸, 金島弘恭, 日本薬学会第 111 年会講演要旨集 4, 東京, 1991, p.165.
- 6) 後藤真康, 加藤誠哉 (編), “残留農薬分析法,” ソフトサイエンス社, 東京, 1990, p.198.
- 7) H. Kobayashi, O. Matano, S. Goto, *J. Chromatogr.*, **474**, 381 (1989).
- 8) 厚生省生活衛生局, 「ゴルフ場使用農薬に係る検査方法について」, 衛水第 37 号, 平成 3 年 2 月 28 日.
- 9) 小川 広, 桂 英二, 兼俊明夫, 金島弘恭, 衛生化学, **37**, 246 (1991).
- 10) 大野浩之, 服部昌子, 青山大器, 衛生化学, **35**, 454 (1989).
- 11) 水島三一郎 (編), “化学大辞典 1,” 共立出版, 東京, 1967, p.912.
- 12) 坂口武一, 上野景平 (編), “金属キレート (II),” 南江堂, 東京, 1971, pp.217–219.