短 報

黒鉛炉原子吸光法による血液および尿中
カドミウム定量簡素化のための
干渉抑制剤の検討

Comparison of Matrix Modifiers for Simple
Determination of Cadmium in Blood
and Urine by Graphite Furnace Atomic
Absorption Spectrophotometry

Key words: cadmium; blood; matrix modifier; urine; graphite furnace atomic absorption spectrophotometry (GFAAS)

カドミウム (Cd) 作業者の Cd 曝露指標として、血液および尿中 Cd の測定が有効であり¹⁾、これら生体試料中の Cd 測定方法としては黒鉛炉原子吸光法²⁻⁶⁾が広く用いられている。この方法による Cd 定量では、Cd およびその化合物の融点が高いため、原子化段階以前での揮散が問題であり、対策として適当な干渉抑制剤を添加することにより、揮散を抑制する方法がとられている。Cd 定量に対しては、 $\text{HNO}_3^{2-4)}$ 、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4^{3,4)}$ 、 $\text{NH}_4\text{-NO}_3^{3-5)}$ 、 $\text{NH}_4\text{F}^{4,6)}$ および $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2^{5)}$ などが干渉抑制剤として提唱されている。血中 Cd (Cd-B) の定量に從來我々が用いてきた Stoepler 法²⁾は、感度、精度ともに優れているが前処理に時間がかかる欠点がある。Cd-U の定量には、干渉抑制剤として 1% NH_4F を添加する方法⁶⁾を用いているが、クレアチニン 300 mg/dl 以上の濃い尿ではバックグラウンド吸収が大きい。そこで、これらの欠点を解消するために、単純希釈後 Cd を直接定量する方法を検討した。干渉抑制剤の効果や共存塩の影響を調べたところほぼ満足できる分析結果が得られたので報告する。

方 法

分析には、SSC-300 形オートサンブラを取り付けた日立製 Z-8270 形偏光ゼーマン原子吸光度計を使用した。Table 1 に示した条件で、ピーク高さと簡易標準添加法を用いて測定した。干渉抑制剤 10 μl の添加は、オートサンブラによる炉内添加で行った。Cd の定量に際して、干渉抑制剤の添加が Cd の揮散に及ぼす影響を灰化温度の面から検討した。尿試料は 2 倍希釈尿 1 ml に、硝酸 Cd を 0.5% 硝酸溶液で調整した 4 ng/ml Cd 溶液 1 ml を加えた。血液試料は全血 5 倍希釈液 1 ml に、硝酸 Cd を 2% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液 (0.5% トリトン X-100

Table 1. Operating conditions of GFAAS.

Wavelength	228.8 nm
Lamp current	7.5 mA
Slit width	1.3 nm
Cuvette	coated tube
Injection volume	20 μl
Carrier gas (Ar)	200 ml/min
Interrupted gas	30 ml/min
Drying-1	70-90°C 40s
Drying-2	90-120°C 20s
Ashing	Cd-B 800°C 40s
	Cd-U 600°C 40s
Atomizing	1600°C 6s
Cleaning	2200°C 4s

と 0.05% antifoam B を含む) で調整した 8 ng/ml Cd 溶液 1 ml を加えた。干渉抑制剤は (a) 0.5% HNO_3 、(b) 1% NH_4NO_3 、(c) 2% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、(d) 1% NH_4F 、(e) 500 ppm $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ 、(f) 500 ppm $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + 1\%$ NH_4NO_3 の 6 種類を用いた。次に共存塩の影響を調べるために、上記の実験と同様の試料を用い、Cd の回収率を求めた。尿試料では 10 ppm から 200 ppm の Na^+ 、 Ni^{2+} 、 Ca^{2+} の塩酸塩と K^+ の硫酸塩を添加し(e)の共存下で、血液試料は 25~1,000 ppm の NaCl を加え(e)の共存下で、それぞれ Cd の回収率を求めた。尿においては尿の濃さによって干渉が異なるので、尿成分の濃度を变化させて干渉抑制剤(e)の添加効果も調べた。さらに Cd 曝露作業者の血液および尿を用い、本法と従来法を比較し、Cd 非曝露者の血液および尿の参照値を求めた。クレアチニンはアルカリピクリン酸法で測定した。

結果および考察

Fig. 1 は尿に 6 種類の干渉抑制剤 (a~f) を添加し灰化温度および吸光度の関係を調べた結果である。Cd-U では、(c)の共存下で約 300~1,000°C まで一定の吸収感度を得られたが、バックグラウンド吸収量は 1.3 Abs で非常に高かった。これに比べて、(e)または(f)では上限灰化温度は約 300~700°C で、バックグラウンド吸収量は 0.2 Abs 以下であった。(e)と(f)の添加効果は同程度に高いが、Blank の Cd 濃度を比較した場合(e)のほうが小さかった。Cd-B では、Cd-U の結果より 3 種類の干渉抑制剤 (c, d, e) を選んで検討した。なお、(c)と(d)に関しては同時に有機物の分解促進のために、炉内添加で 0.5% HNO_3 10 μl を添加した。

Fig. 2 に明らかなように、(c)の共存下で、灰化温度 1,000°C まで Cd の揮発損失を防ぐことができた。そのときのバックグラウンド吸収量は灰化温度 800°C から著しく低下し 0.2 Abs であった。上記の結果より、干渉抑制剤として Cd-U では(e)、Cd-B では(c)が最適であると結論した。次に、共存塩の影響について調べた結果、

Fig.1. Effect of ashing temperature on absorbance of Cd in urine.

Fig.2. Effect of ashing temperature on absorbance of Cd in blood.

尿試料では(e)の添加効果により共存塩の影響はなかった。血液試料ではNaClの干渉はほとんど認められなかった。次にクレアチニン濃度 56.7 mg/dl, 118.9 mg/dl, 203 mg/dl, 386.5 mg/dl, 438 mg/dl の5種類の尿に既知量のCd標準液および干渉抑制剤(e)を添加して得られた検量線の勾配は0.0069, 0.0068, 0.0069, 0.0069, 0.0068であり、0.5% HNO₃で作成した検量線の勾配0.0069とよく一致し、また直線性も良好であった。以上の最適分析条件下で測定した検出限界は、血中Cdおよび尿中Cd いずれも0.2 ng/ml (blank+2SD)であった。また2種類の濃度の試料を繰り返し分析したときの変動係数は、Cd-Bは2% (0.58 μg/dl, n=10)と1.8% (1.46 μg/dl, n=10), Cd-Uは2.4% (3.2 μg/l, n=10)と0.6% (7.6 μg/l, n=10)で、両者とも再現

性に優れていた。回収率は、100.4% (Cd-B), 100.3% (Cd-U)と良好であった。次に某工場のCd曝露作業者60名の血液および尿を用いて本法と従来法で得られた測定値を比較した結果、Cd-B, Cd-Uともに相関係数 $r=0.99$ と高い相関が得られた。Cd非曝露者41名のCd-B, Cd-Uの平均値および標準偏差は、それぞれ $0.10 \pm 0.04 \mu\text{g/dl}$, $0.45 \pm 0.25 \mu\text{g/g}\cdot\text{Cr}$ であった。以上の結果より、本定量法によると干渉抑制剤の効果により絶対検量線の適用が可能になり、かつ簡便迅速に血液および尿中のCdを定量することができた。多数のサンプルを取り扱う検査法として有用である。

文 献

- 1) 花沢清磨, 城戸照彦, 本多隆文. 尿中カドミウム濃度の暴露指標としての意義, 一般環境カドミウム暴露者. 産業医学 1991; 33: 221-230.
- 2) Stoeppler M, Brandt K. Contributions to automated trace analysis. *Fresenius Z Anal Chem* 1980; 300: 372-380.
- 3) Subramanian KS, Meranger JC, MacKeen JE. Graphite furnace atomic absorption spectrometry with matrix modification for determination of cadmium and lead in human urine. *Anal Chem* 1983; 55: 1064-1067.
- 4) Feitsma KG, Franke JP, Zeeuw RA. Comparison of some matrix modifiers for the determination of cadmium in urine by atomic-absorption spectrometry with electrothermal atomisation. *Analyst* 1984; 109: 789-791.
- 5) Xuefeng Y, Schlemmer G, Welz B. Cadmium determination in biological materials using graphite furnace atomic absorption spectrometry with palladium nitrate-ammonium nitrate modifier. *Anal Chem* 1987; 59: 1462-1466.
- 6) 細田加那江, 桜井治彦. 黒鉛炉原子吸光法による尿中カドミウムの直接定量法の検討. 産業医学 1989; 31: 22-23.

細田加那江, 大前和幸, 小野寺みつ子, 小田健一, 桜井治彦

慶應大学医学部衛生学公衆衛生学教室

Kanae HOSODA, Kazuyuki OMAE, Mitsuko ONODERA, Kenichi ODA and Haruhiko SAKURAI
Department of Preventive Medicine and Public Health,
School of Medicine, Keio University, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

平成5年8月16日受付

通信先: 細田あて, Reprint requests to K. Hosoda