

ノ ー ト

オクタデシルシリル化シリカディスクを用いる微量鉛の
イオン対抽出/蛍光目視定量磯江 準一*, 酒井 康裕**,**, 金子恵美子®*, 齋藤 伸吾*,
星 座*, 赤塚 邦彦*Visual fluorimetry of trace lead using ion-pair extraction onto
an octadecylsilanized silica diskJunichi ISOE*, Yasuhiro SAKAI**,**, Emiko KANEKO, Shingo SAITO,
Suwaru HOSHI and Kunihiko AKATSUKA**Department of Applied and Environmental Chemistry, Graduate School of Engineering, Kitami Institute of
Technology, 165, Koen-cho, Kitami-shi, Hokkaido 090-8507**Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Tohoku University, Aramaki, Aoba-ku,
Sendai 980-8579

***Present address: Sysmex Corporation, 1-5-1, Wakino-hama-Kaigandori, Chuo-ku, Kobe 651-0073

(Received 17 May 2002, Accepted 12 August 2002)

A rapid and simple method has been developed for the determination of trace lead ion using an octadecylsilanized (ODS) silica disk cartridge. The ion-pair of a lead complex with 5,6-14,15-dibenzo-4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1.10-diazabicyclohexacosane (DBC 2.2.2) and tetrabromofluorescein (Eosin Y) was extracted from a sample solution onto an ODS filter at pH 7.0. It was found that the addition of 20 wt% ethanol to the sample solution significantly enhanced the solid phase extraction. The lead concentration was determined by visual fluorimetry under ultraviolet light in the dark. The ion-pair has excitation and emission maxima at 530 nm and 560 nm in the solid phase, respectively. When measured with a densitometer, the linear range of this method is up to $2.9 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$ (6 ppb). The detection limit is $5.0 \times 10^{-10} \text{ mol dm}^{-3}$ (100 ppt) by visual determination and $3.4 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ (700 ppt) by densitometry. The relative standard deviation for $1.2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ (2.3 ppb) of lead is 5.6% ($n = 7$). The method is essentially free from matrix interference. The proposed method can easily be performed and provides good precision and accuracy.

Keywords : lead; visual fluorimetry; ion-pair extraction; ODS disk; DBC 2.2.2; Eosin Y.

1 緒 言

鉛は耐食性に優れ加工が容易であるため、紀元前の古くから使用されてきた金属である。現在もその用途は蓄電

池、合金、顔料等の原料として広範にわたっているが、生体中に取り込まれると神経系や消化器系などに障害を引き起こすため要監視項目とされている。

環境試料や生体試料中の鉛の定量法としては、黒鉛炉原子吸光法 (GF-AAS) や誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) が繁用され、これら機器分析のための前段濃縮法としてオクタデシルシリル化 (ODS) シリカカラムを用いる手法¹⁾²⁾や、メンブランフィルター³⁾等の適用が報告されている。そのほかにも近年、溶媒抽出に代わる手法として

° 北見工業大学大学院工学研究科: 090-8507 北海道北見市公園町 165

** 東北大学大学院工学研究科: 980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 07

*** 現 シスメックス(株): 651-0073 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通 1-5-1

固相媒体を用いる前濃縮の研究が数多く報告され、媒体をコーティングしたニードルに抽出する固相マイクロ抽出 (SPME)⁴⁾⁵⁾ や、かくはん子に抽出するスターラーバー固相抽出 (SBSE)⁶⁾ などが開発されている。しかし、鉛のオンサイト分析へ応用可能な簡便法の報告は見られない。

著者らはこれまでに、目視による高感度分析を目的とする一連の研究の中で、固相媒体にポリ塩化ビニル⁷⁾⁸⁾、メンブランフィルター⁹⁾¹⁰⁾、ODS 薄層プレート¹¹⁾¹²⁾を用いる簡易定量法を報告している。また最近、水中微量成分の新しい分離濃縮法として、鉛(II)-5,6,14,15-ジベンゾ-4,7,13,16,21,24-ヘキサオキサ-1,10-ジアザジシクロヘキサコサン (ジベンゾクリプタンド 2.2.2, DBC 2.2.2) 錯体とテトラブromフルオレセインナトリウム (エオシン Y) とのイオン会合体をマイクロチューブ内壁に直接抽出し、分離後、蛍光光度法へ適用する手法を開発し、In-vessel 固相抽出法として報告した¹³⁾。

本研究では、更に高感度かつ簡便な鉛の目視定量のために、このイオン会合体の抽出媒体として、ODS シリカを選択した。ODS は 1970 年代にカラムカートリッジが開発され、固相媒体として原子吸光法や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 等の前濃縮に広く用いられている。最近では通過流量の大きなディスク型カートリッジも市販され、多岐にわたって用いられている。1980 年代に入って固相抽出法が顕著な進展を遂げるとともに、その用途も一段と増大している。しかし、目視テストのための媒体として使われた報告例は見られない。本研究では、目的のイオン会合体を抽出後、ディスクを取り出し、紫外ランプ照射下、対イオンであるエオシン Y の蛍光を目視して、ppb レベルの微量鉛を定量する簡便かつ迅速な新しい手法を開発した。

2 実 験

2.1 試薬及び装置

鉛標準溶液は硝酸鉛 (和光純薬製) を硝酸酸性 (pH 2) で純水に溶解し、 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ とした。DBC 2.2.2 は Merck 製のものを少量のエタノールに溶解し、純水で希釈して $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ とした。エオシン Y は和光純薬製を純水に溶解し、 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ とした。pH 緩衝溶液は、 0.1 mol dm^{-3} の *N*-2-ヒドロキシエチルピペラジン-*N'*-2-エタンスルホン酸 (HEPES)-水酸化リチウム (pH 7.0) を用いた。その他の試薬はいずれも特級を用いた。

ディスクカートリッジとしては、エムポアディスクカートリッジオクタデシル (C₁₈)、エチル (C₂) (以上、住友 3M 製、フィルター直径 4 mm、リザーバー容量 1.5 ml)、カラムカートリッジとしては、ボンドエルトオクタデシル (C₁₈)、オクチル (C₈)、シクロヘキシル (CH)、フェニル (PH)、シアノプロピル (CN-U) (以上、Varian 製、

固相直径 4 mm、充填剤重量 50 mg、リザーバー容量 1.5 ml) の計 7 種類について検討を行った。

目視測定には井内盛栄堂製紫外線ランプ SLUV-6 を用い、固相蛍光の測定には島津製 CS-9300PC 型二波長フライングスポットスキャニングデンシトメーター (ビームサイズ 0.4 mm × 16.0 mm) を用いた。

2.2 標準操作

鉛(II) イオンを含む試料溶液 25 ml に、DBC 2.2.2 溶液を 250 μl、HEPES-LiOH 緩衝溶液 (pH 7.0) を 1000 μl、及びエオシン Y 溶液を 200 μl を加え、最後にエタノールを 20 wt% となるように加える。この溶液のうち 500 μl を ODS ディスクカートリッジのリザーバー部へ分取して通過する。次いで、カートリッジから ODS ディスクを取り出して紫外ランプ照射下、目視による蛍光定量を行った。また、目視法と併行してデンシトメーターを用いる固相の蛍光測定も行った。

3 結果及び考察

3.1 固相媒体の選択

固相媒体として、C₂、C₁₈ ディスクカートリッジ及び C₈、C₁₈、CH、PH、CN-U カラムカートリッジについて検討を行った結果、CH、PH カラムカートリッジでは、エオシン Y の空試験抽出が高く、目視による鉛の定量が困難であった。また、CN-U カラムカートリッジでは目的イオン対の抽出が見られなかった。C₈、C₁₈ カラムカートリッジ、C₂、C₁₈ ディスクカートリッジでは蛍光強度の鉛濃度依存性が見られ、目視による定量が可能であった。特に C₁₈ ディスクカートリッジは空試験の蛍光強度が最も小さく良好であった。したがって、本法では C₁₈ ディスクカートリッジを選択した。

3.2 エオシン Y の特性

ODS ディスクへ抽出されたイオン会合体の固相蛍光スペクトルを Fig. 1 に示す。エオシン Y 濃度の設定に関しては、鉛濃度 $2.0 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ について蛍光強度に及ぼす影響を $2.0 \times 10^{-7} \sim 2.0 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で検討した結果、 $8.0 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ 以上で蛍光強度が最大かつ一定値を示した。したがって、エオシン Y の濃度を $8.0 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ に設定した。pH の影響は Fig. 2 に示すとおりであり、pH 7 で蛍光強度が最大となった。エオシン Y の酸解離定数は $pK_{a1} = 2.81$ 、 $pK_{a2} = 3.75$ であり¹⁴⁾、pH 7 では二価の陰イオンが卓越化学種として鉛-DBC 2.2.2 のイオン対抽出に寄与している。

3.3 エタノール濃度の影響

抽出に及ぼす試料中のエタノール濃度の影響を Fig. 3

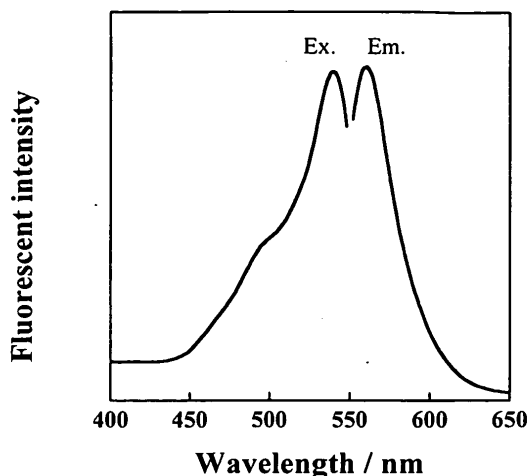


Fig. 1 Fluorescent spectra of Pb-DBC 2.2.2-Eosin Y ion-pair on the ODS disk

[Pb]_T: 1.0×10^{-5} mol dm⁻³; [DBC 2.2.2]_T: 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; [Eosin Y]_T: 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; Ethanol: 20 wt%; pH 7.0; Excitation: 530 nm; Emission: 560 nm

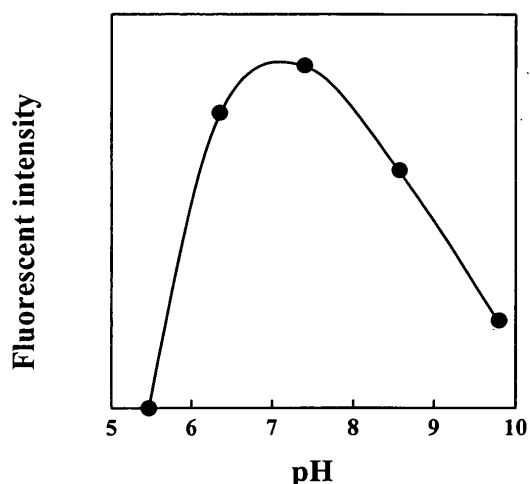


Fig. 2 Effect of pH on the fluorescent intensity of the ODS disk

[Pb]_T: 2.0×10^{-7} mol dm⁻³; [DBC 2.2.2]_T: 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; [Eosin Y]_T: 1.0×10^{-6} mol dm⁻³; Ethanol: 16 wt%

に示す。エタノール濃度 20 wt% でディスクの蛍光強度が最大となった。エタノール濃度が抽出に顕著な影響を与える現象は、ODS 固相の状態によって説明される。ODS と溶媒に関しては HPLC の分野で数多くの研究がなされ、有機溶媒の濃度によって、固相のアルキル鎖が寝込む領域、分配が起こる領域、保持が見られない領域、の三つに区分されることが明らかにされている¹⁵⁾。有機溶媒低濃度領域の場合、C₁₈ 鎖の間に溶媒が入り込まず、アルキル基が寝込みの状態になり、抽出能を持たない。本研究で得ら

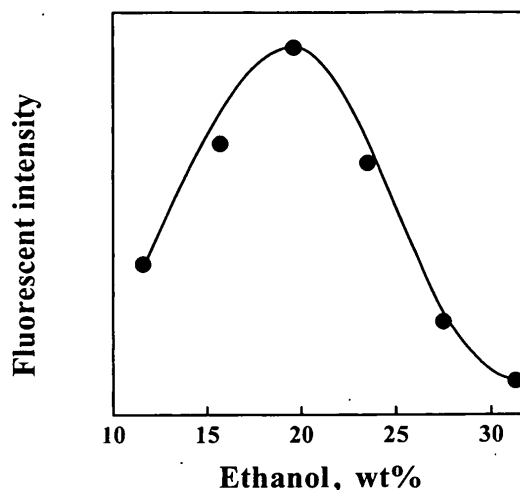


Fig. 3 Effect of ethanol content on the fluorescent intensity of the ODS disk

[Pb]_T: 2.0×10^{-7} mol dm⁻³; [DBC 2.2.2]_T: 1.0×10^{-5} mol dm⁻³; [Eosin Y]_T: 8.0×10^{-7} mol dm⁻³; pH 7.0

れたエタノール濃度の増加に伴いディスクの蛍光強度が増大する結果は、アルキル鎖の間にエタノール分子が入り込むことによって、イオン会合体に対する抽出媒体としての作用が発現したためであると考えられる。更に高濃度のエタノールが試料中に含まれると、抽出は低下する。

3.4 検出限界及び再現性

本法の目視検出下限は 5.0×10^{-10} mol dm⁻³ (100 ppt) と極めて高感度である。第三者によって目視法で判別できる濃度間隔は低濃度領域で 1 ppb ごとであり、高濃度領域 (20 ppb 付近) では 2~4 ppb ごとであった。また、デンストメーターによる検出限界 (3σ) は 3.4×10^{-9} mol dm⁻³ (700 ppt) であり、鉛濃度 1.2×10^{-8} mol dm⁻³ (2.3 ppb) における相対標準偏差は 5.6% ($n=7$) であった。

3.5 共存イオンの影響

本法に及ぼす共存イオンの影響を Table 1 に示す。ナトリウム (I)、カリウム (I) は 100 万倍共存しても妨害を与えなかった。鉛 (II) は DBC 2.2.2 と安定な錯体を形成し、更に二価陰イオンであるエオシン Y とのイオン対抽出における電荷選択性に基づいて、アルカリ金属及びアルカリ土類金属の妨害を回避でき、鉛に対する高い選択性が発現していると考えられる。リン酸イオンは、鉛 (II) と安定な錯体を形成するために負の干渉を与えるが、あらかじめ試料溶液を硝酸酸性とすることで妨害を除去できる。その他のイオンによる妨害はほとんど見られなかった。

本法は、測定機器や特殊な技術を必要としない簡便かつ迅速な微量鉛の定量法として、フィールドテストへの応用

Table 1 Effect of foreign ions

Ion	Added amount/ mg dm ⁻³	Molar ratio foreign ion/Pb ^{II}	Pb found ^{a)} / μg dm ⁻³	Recovery, %
Na ⁺	4600	1000000	41.2	99.5
K ⁺	7800	1000000	41.1	99.2
Mg ²⁺	49	10000	42.1	101
Ca ²⁺	80	10000	40.6	98.0
Al ³⁺	0.54	100	44.4	107
Mn ²⁺	1.1	100	42.8	103
Fe ²⁺	0.55 ^{b)}	50	45.5	109
Fe ³⁺	0.11	10	38.5	92.8
Co ²⁺	0.59	50	39.9	96.2
Cu ⁺	1.3 ^{b)}	100	42.7	103
Cu ²⁺	0.13	10	41.2	104
Zn ²⁺	0.65	50	39.1	94.4
F ⁻	38	10000	42.0	101
Cl ⁻	710	100000	37.6	90.8
SO ₄ ²⁻	190	10000	45.2	109
H _n PO ₄ ⁽³⁻ⁿ⁾⁻	9.5	500	22.5	54.4
H _n PO ₄ ⁽³⁻ⁿ⁾⁻	9.5 ^{c)}	500	39.2	94.9
NO ₃ ⁻	12000	1000000	41.2	99.5
H _n CO ₃ ⁽²⁻ⁿ⁾⁻	120	10000	40.0	96.5
SiO ₂	120	10000	37.5	90.6

a) Pb taken: 41.4 μg dm⁻³ (2.0 × 10⁻⁷ mol dm⁻³); b) With L(+)-ascorbic acid; c) With nitric acid

が可能である。

文 献

- 1) K. Akatsuka, T. Suzuki, N. Nobuyama, S. Hoshi, K. Haraguchi, K. Nakagawa, T. Ogata, T. Kato: *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 271 (1998).
- 2) 大島光子, 大崎隆史, 本水昌二: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47**, 513 (1998).
- 3) 佐藤健二, 奥山浩之, 田中誠之, 赤間美文: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 1013 (1994).
- 4) Z. Zhang, M. J. Yang, J. Pawliszyn: *Anal. Chem.*, **66**, 844 A (1994).
- 5) X. Yu, H. Yuan, T. Gorecki, J. Pawliszyn: *Anal. Chem.*, **71**, 2998 (1999).
- 6) E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. Cramers: *J. Microcolumn Sep.*, **11**, 737 (1999).
- 7) E. Kaneko, H. Tanno, T. Yotsuyanagi: *Mikrochim. Acta* III, **1988**, 333.
- 8) E. Kaneko, H. Tanno, T. Yotsuyanagi: *Mikrochim. Acta* I, **1991**, 37.
- 9) K. Yoshimoto, E. Kaneko, T. Yotsuyanagi: *Chem. Lett.*, **2000**, 6.
- 10) 吉本敬太郎, 金子恵美子, 四ツ柳隆夫: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **49**, 363 (2000).
- 11) H. Mizuguchi, H. Yasuda, E. Kaneko, T. Yotsuyanagi: *Chem. Lett.*, **1997**, 895.
- 12) H. Mizuguchi, E. Kaneko, T. Yotsuyanagi: *Analyst* (Cambridge), **125**, 1667 (2000).
- 13) E. Kaneko, J. Isoe, T. Iwabuchi, S. Hoshi, K. Akatsuka, T. Yotsuyanagi: *Analyst* (Cambridge), **127**, 219 (2002).
- 14) N. O. Mchedlov-Petrosyan, L. B. Adamovich, L. E. Nikishima: *Zh. Analit. Kim.*, **35**, 1495 (1980).
- 15) H. Lu, S. C. Rutan: *Anal. Chem.*, **68**, 1387 (1996).