

pounds in biological sample also had no appreciable effect on the determination, whereas thiol compounds such as glutathione and cysteine interfered with the analysis. However, the interference could be blocked by treating the sample with *N*-ethylmaleimide prior to the fluorescence reaction. The linear calibration curve was obtained over the concentration range (0.4~50) nmol arginine in 3 ml of the reaction mixture in the presence of (10~100) nmol of each of 21 amino acids and glutathione. The coefficient of variation

of this method was 3.8% ($n=16$) for 1.0 nmol of arginine.

(Received June 12, 1981)

Keyword phrases

specific determination of arginine; 2,3-naphthalenedicarbaldehyde; β -cyclodextrin; fluorescence reaction; modified reagent of *o*-phthalaldehyde.

黒鉛炉原子吸光法による尿中のカドミウムの定量

清水 得夫[®], 四条 好雄, 酒井 馨*

(1981年6月29日受理)

黒鉛炉原子吸光法は高感度であるが、尿中のカドミウムの直接定量においては、尿中マトリックスが影響し、十分な精度は得られない。そのため、尿中有機物には、従来どおり硝酸-過酸化水素水法による湿式分解を適用し、尿中無機塩類には、2倍希釈とタングステンカーバイド処理管及びランプモードの適用で干渉を除去した。

本法の定量下限は、0.1 $\mu\text{g Cd/l-urine}$ であるが、これは過酸化水素水のカドミウム空試験値の変動を考慮した結果であり、超高純度品があれば更に改善される。24時間尿 (0.36 $\mu\text{g Cd/l-urine}$) を用いた場合の変動係数は 1.76% と良好であった。

1 緒 言

近年、環境中に放出される無機・有機汚染物質が、直接あるいは間接に生物に影響を及ぼすことが問題となり、関連する生体試料の高感度分析法の確立が望まれている。既に著者らは尿中の全クロム¹⁾、及びクロム(III)とクロム(VI)の分別定量²⁾について報告した。本報では、カドミウムの人体負荷を反映し診断上にも有効³⁾とされている尿中のカドミウムの定量について報告する。

尿中の微量金属の分析には誘導結合プラズマ発光分光法による多元素同時定量があるが³⁾⁴⁾、装置の普及度やデータの信頼性からも黒鉛炉や金属炉方式の原子吸光法による定量法の確立は意味がある。一般的な尿中のカドミウムの分析法は、湿式分解又は乾式灰化後、APDC-MIBK抽出し、原子吸光分析する方式がとられる⁵⁾⁶⁾。直接あるいは硝酸添加定量法では、黒鉛炉の温度を抵

抗⁷⁾、又は光学的⁸⁾に制御したものなどがある。又、白金フィラメントに尿中のカドミウムを電着した後原子吸光分析したもの⁹⁾や尿を湿式分解又は蒸発乾固して完全分解後、黒鉛炉原子吸光分析したものもある¹⁰⁾。その他、尿及び血中の金属の定量において、干渉抑制剤(リン酸、リン酸塩、アスコルビン酸、硝酸アンモニウムなど)を使用した例が幾つかある^{11)~13)}。又、モリブデンカーバイド処理管も用いられている⁸⁾¹²⁾。

著者らは、最初、直接定量法を試みたが、尿中の有機物、無機塩類の影響が大きく、干渉抑制剤を用いても、カドミウムのシグナルがバックグラウンド吸収と区別しにくく、十分な精度は得られなかった。又、尿中のクロム分析に用いた水酸化鉄(III)共沈法¹⁾²⁾を試みたが、カドミウムの回収率の変動が大きかった。そこで、装置面ではランプモードを用いて、カドミウムのシグナルとバックグラウンド吸収を分離し、金属カーバイド処理管を使用するなどの対策をし、試料処理面では湿式分解と希釈法を適用して好結果を得たので報告する。

* 宇都宮大学工学部環境化学科：栃木県宇都宮市石井町 2753

2 試薬と装置

2.1 試薬

合成尿: 既報¹⁾²⁾と同様に西島ら¹⁴⁾に準じ調製した。

カドミウム標準溶液 (1000 mg/l): 金属カドミウム (和光純薬製, 99.999%) を用い, JIS K 0102 (1974) に準じ調製した。使用の都度, 適宜希釈して用いた。

30% 過酸化水素水: 三菱瓦斯化学製特級, 和光純薬製原子吸光分析用, 及び三徳化学製特級を用いた。

水は蒸留水を更に脱イオンしたものをを用い, その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

2.2 装置

日立 170-50A 型原子吸光度計に, 同社製 GA-2 型グラファイトアトマイザーを取り付け使用した。光源には同社製カドミウム中空陰極ランプを, 原子化時のバックグラウンド補正には同社製高輝度重水素ランプを使用した。試料の注入には, エッペンドルフ社製マイクロピペット (10 μ l 用) を使用した。尿の湿式分解は, 田口ら¹⁵⁾が考案した首長フラスコ中で行った。

3 実験方法

3.1 黒鉛炉原子吸光法の測定条件

合成尿にカドミウムを段階的に添加し, 3.3 の標準操作によって得た測定試料, 及びカドミウム標準溶液を用い, 黒鉛炉原子吸光法の測定条件を検討し, Table 1 に示す条件に定めた。なお, 温度はメーカーのデータにより, 又, バックグラウンド吸収とシグナルとをともに 2 ペンレコーダーに記録した。

Table 1 Operating conditions

Analytical line	228.8 nm
Lamp current	7.5 mA
Argon gas flow	2.0 kg/cm ² , 2.6 l/min
Drying	150 °C, 30 s
Ashing	300 °C, 30 s
Atomizing (ramp mode)	1800 °C, 8 s
Injecting volume	10 μ l

3.2 金属カーバイド処理

Zatka¹⁶⁾ の方法に準じ, タンタル及びタングステン処理を行った。

3.3 標準操作

尿試料 25 ml を首長フラスコに採り, 濃硝酸 5 ml, 30% 過酸化水素水 10 ml を加え, ホットプレート上で 200 °C, 約 2 時間加熱分解する。放冷後, 再び 30% 過酸化水素水 5 ml を加え, 約 1 時間加熱する。この操作を 4 回繰り返し, 30% 過酸化水素水の総使用量は 30 ml と

した。放冷後, 分解試料を 50 ml メスフラスコに移し, 水で定容とする。これを測定試料とし, タングステンカーバイド処理管を用いた黒鉛炉原子吸光法によりカドミウム濃度を定量する。

4 結果及び考察

4.1 灰化条件の検討

カドミウムの場合, 共存物質の影響を除くために, 灰化温度を上げ過ぎたり, 灰化時間を長くし過ぎると, 灰化時にカドミウムが揮散する。有機物を含まない合成尿にカドミウムを一定量添加し, タングステンカーバイド処理管を用いて, 灰化温度と無機塩類との影響を調べた結果を Fig. 1 に示す。ここに, 縦軸の数値はカドミウム標準溶液を用いた場合を 100 として, 影響を相対値で表した。原子化温度は 1500 °C とした。灰化温度 150 °C の値は灰化を省略したときのものである。標準溶液を用いた場合も, 灰化温度 400 °C 以上ではカドミウムが揮散するので, 以後灰化温度は 300 °C とした。他の方法⁷⁾⁸⁾と比較すると, およそ 100 °C 低い値である。なお, 灰化時間も検討し 30 秒と定めた。

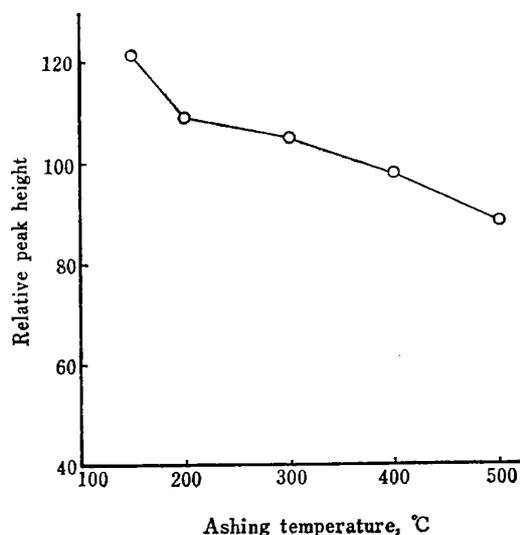


Fig. 1 Effect of ashing temperature on the relative peak height of cadmium in synthetic urine

Cd: 2 μ g/l; Tungsten carbide treated tube

4.2 原子化温度の検討と金属カーバイド処理管の特性

4.1 と同様に原子化温度と無機塩類の影響を調べた。灰化温度は 300 °C とし, 原子化にはランプモードを用いた。Fig. 2 は, タングステンカーバイド処理管を用い, 1800 °C で原子化した場合, 標準溶液の値とよく一

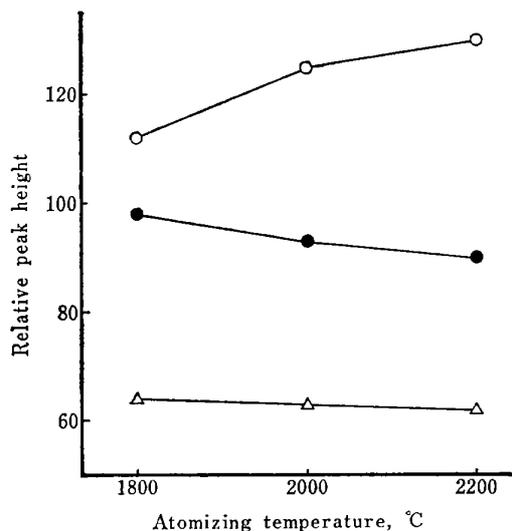


Fig. 2 Effect of atomizing temperature on the relative peak height of cadmium in synthetic urine

Cd: 2 µg/l; —○— Untreated tube; —●— Tungsten carbide treated tube; —△— Tantalum carbide treated tube

致することを示している。

一般にカドミウムの原子化は 1500 °C 前後がよく用いられ、直接定量法⁷⁾⁸⁾では、1000 °C 前後であり、いずれにしても、ステップモードでは、設定原子化温度に達するまでに、カドミウムの吸収が現れる。更に尿中の無機塩類による吸収も相前後して現れ、両者を区別しにくい。一方ランプモードを用いると、区別は容易になる。無機塩類を個々に添加して調べた結果、最初のピークはリン酸塩などによるもの、2番目がカドミウム自身、3番目が塩化ナトリウムなどによるものと分かった。以上の検討から、原子化にはランプモードを採用し、約 8 秒間で 300 °C から 1800 °C となるように加熱速度を調整した。

4.3 酸及び共存元素の影響

原子吸光測定に及ぼす酸及び共存元素の影響は、未処理管を用いる従来法に比べ、タングステンカーバイド処理管を用いることにより、干渉は少なくなった。尿の分解に用いる酸としては、硝酸、硫酸、過塩素酸などが考えられるが、硝酸の場合、1.0 N から 2.0 N ではほぼ一定の値を示すので、本法では一般的な硝酸-過酸化水素水法を用いることとし、濃硝酸の使用量は 5 ml とした。

尿中に存在する主な妨害元素は、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リンなどである。Fig. 3 はこれら元素の広い濃度範囲におけるカドミウムの原子吸光への影響を示す。いずれも、尿中の無機塩類の濃

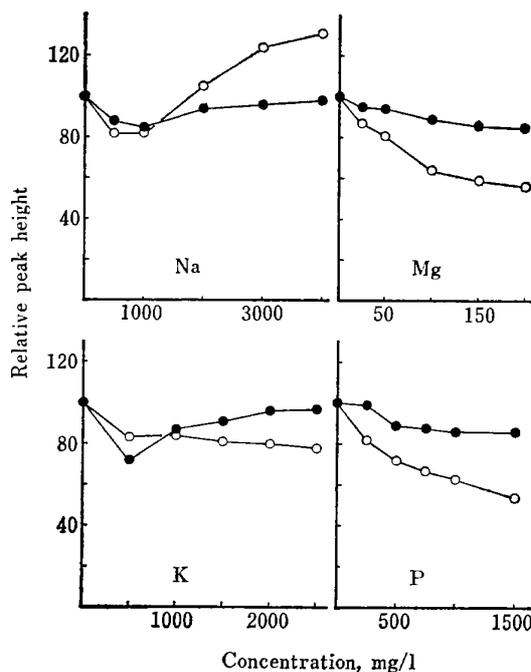


Fig. 3 Interferences of coexistent elements on the relative peak heights of cadmium

Cd: 2 µg/l; —○— Untreated tube; —●— Tungsten carbide treated tube

度範囲では、タングステンカーバイド処理管を用いると、干渉は少ないことが分かる。ここに、リンはリン酸一アンモニウムを、他は塩化物を用いた。

4.4 湿式分解と希釈の効果

尿中のカドミウムは 55 % が高分子たん白と結合している⁹⁾といわれており、直接あるいは硝酸添加後、黒鉛炉原子吸光測定しても、低い灰化温度のため、有機物の影響が問題となる。そこで、硝酸-過酸化水素水法により湿式分解を行ったが、分解液の希釈率により、分析値が異なった。Fig. 4 に、過酸化水素水の使用量と希釈倍率を変えたときのカドミウムのシグナルのピーク高さの変化を示す。過酸化水素水 20 ml の場合、希釈倍率を上げてもピーク高さは変わらず、従って定量値も一定とならない。しかし、30 ml の場合、希釈倍率を上げると、それに応じてピーク高さは減少し、2 倍希釈以上では一定の定量値を示した。このことから、尿中のカドミウムは湿式分解後、2 倍希釈して初めて真の定量値が得られるもので、直接定量法は行わないほうがよいと思われる。

4.5 試薬空試験

硝酸のカドミウム空試験値は、特級及び精密分析用試薬いずれも顕著でなかった。ところが、過酸化水素水のカドミウム空試験値は高く、三菱瓦斯化学製（鉛として

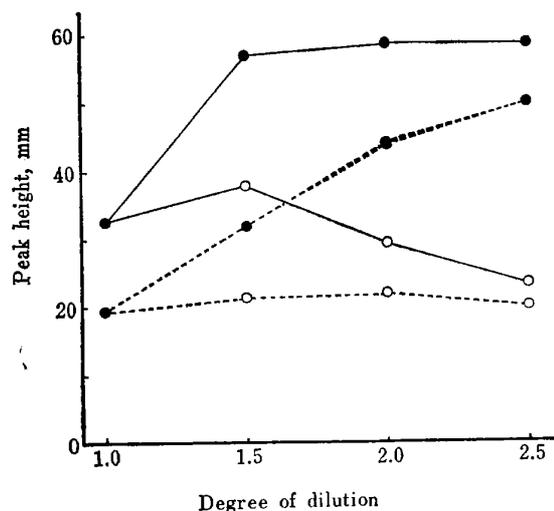


Fig. 4 Effect of dilution on the determination of cadmium in human urine

— H₂O₂ 30 ml; ---- H₂O₂ 20 ml; —○— Signal peak height obtained; —●— Signal peak height × degree of dilution

0.00005%以下)は平均 2.15 μg/l と尿中のカドミウムレベルより高かった。それに対し, 和光純薬製の原子吸光用(カドミウム最大値 1 μg/l, 鉛最大値 10 μg/l)では, 平均 0.45 μg/l であった。三徳化学製特級は 1 μg/l 程度であった。従って, 実試料の測定においては試薬空試験値を差し引く必要があった。又, 安全のため, 湿式分解前にカドミウムを添加する標準添加法を採用したが, 標準溶液による検量線の傾きとほぼ同じ傾きであるので, 水中のカドミウム分析に用いた富永ら¹⁷⁾の簡易標準添加法も適用可能である。

しかし, 尿中マトリックスは, 各個人により, 又採取時期により異なるので, 検量線法は用いないほうが無難である。又, マイクロピペット用チップで酸性溶液を採取すると, 初期にカドミウムの溶出が認められる¹⁸⁾ので, チップは 2 N 硝酸に 1 昼夜以上浸せきしておいた。

標準溶液による検出限界は, 未処理管で 0.02 μg/l (タンタルカーバイド処理管は 1.5 倍, タングステンカーバイド処理管は 1.2 倍高感度となる) であるが, 本法の定量下限は, 試薬空試験値と 2 倍希釈を考慮すると, およそ 0.1 μg Cd/l-urine となる。

4.6 実試料への応用

成人男性 5 人 (A~E) について, 起床第一尿, 午前 10 時ごろの尿, 又は 24 時間尿を採取し, 3.3 の標準操作により尿中のカドミウム濃度を測定した結果を Table 2 に示す。ここに, 尿は採取後直ちに湿式分解し, 24 時間尿はたまるまで冷蔵庫に保存しておいた。なお, 本法は

Table 2 Analytical results of human urine

Sample ^{a) b)}	Cd found (μg/l)	Sample ^{a) b)}	Cd found (μg/l)
A	0.36	E ₁ ^{c)}	0.77
B	1.00	E ₂	0.66
C	1.21	E ₃	1.22
D ₁	1.01	E ₄ ^{d)}	0.36
D ₂ ^{c)}	1.17	E ₅ ^{d)}	0.51

a) Sampling time : 10:00 a. m. except D₂, E₁, E₄, E₅; b) Numerals (1, 2, 3-) shows different sampling date; c) First urine; d) 24 h urine

複雑な操作を含んでいないので, 他法との比較は特に行わなかった。

E₄ について変動係数を求めたところ, 1.76% (n=4) と良好な値を得, 回収率についても 99.7%, その変動係数 3.23% (n=5) となった。一般に尿中のカドミウム濃度は, 測定者により幅があり, 又, カドミウム摂取量に相違があるので断定できないが, Legotte ら¹⁹⁾によると (0.16~1.65) μg Cd/l-urine 程度であり, カドミウム暴露を受けない場合, 日本人では 1.0 μg Cd/l-urine 程度と思われる。

5 結 言

尿中のカドミウムを, 硝酸-過酸化水素水法で湿式分解した後, 2 倍に希釈し, タングステンカーバイド処理管を用いた黒鉛炉原子吸光法で, ランプモードにより定量した。全操作時間は約 8 時間から 10 時間と長い, 簡易標準添加法を用いれば多数試料の能率的な分析も可能である。又, 直接定量法に比べ測定精度は高かった。標準的方法との比較はないが, 数値から信頼性も高いと思われる。なお, 過酸化水素水中のカドミウム空試験値に関する知見も得られた。

本研究の一部は, 昭和 55 年度文部省科学研究費特定研究 (1) によりなされた。

文 献

- 1) 清水得夫, 檜山敏明, 四条好雄, 酒井 馨: 分化, **29**, 680 (1980).
- 2) 清水得夫, 木本良輔, 四条好雄, 酒井 馨: 分化, **30**, 66 (1981).
- 3) C. W. McLeod, 原口紘彦: 化学の領域, 増刊 127 号, "ICP 発光分析", 第 10 章 (1980), (南江堂).
- 4) R. M. Barnes, J. S. Genna: *Anal. Chem.*, **51**, 1065 (1979).
- 5) 野見山一生: 化学の領域, 増刊 126 号, "環境汚染物質と毒性 (無機物質編)", 第 8 章 (1980), (南江堂).
- 6) 山根 登: 分化, **20**, 515 (1971).
- 7) O. Vesterberg, K. Wrangskogh: *Clin. Chem.*, **24**, 681 (1978).

- 8) G. D. Carmack, M. A. Evenson : *Anal. Chem.*, **51**, 907 (1979).
- 9) W. Lund, B. V. Larson : *Anal. Chim. Acta*, **81**, 319 (1976).
- 10) P. A. Legotte, W. C. Rosa, D. C. Satton : *Talanta*, **27**, 39 (1980).
- 11) J. G. T. Regan, J. Warren : *Analyst* (London), **101**, 220 (1976).
- 12) D. J. Hodges : *Analyst* (London), **102**, 66 (1977).
- 13) H. T. Delves : *Analyst* (London), **102**, 403 (1977).
- 14) 西島帯刀, 土器屋由紀子, 飯塚秀夫, 戸田昭三 : 分化, **26**, 349 (1977).
- 15) 田口 正, 保田健二, 橋本征利, 戸田昭三 : 分化, **28**, T33 (1979).
- 16) V. J. Zatka : *Anal. Chem.*, **50**, 538 (1978).
- 17) 富永 衛, 木村 明, 宮崎 章, 梅崎芳美 : 分化, **24**, 61 (1975).
- 18) S. Salmela, E. Vuori : *Talanta*, **26**, 175 (1979).

☆

Determination of cadmium in human urine by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Tokuo SHIMIZU, Yoshio SHIJO and Kaoru SAKAI (Department of Environmental Chemistry, Faculty of Engineering, Utsunomiya University, 2753, Ishii, Utsunomiya-shi, Tochigi)

A trace amount of cadmium in human urine was

determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry. A urine sample (25 ml) was digested with 5 ml of HNO₃ and 30 ml of H₂O₂ in a long-neck flask on a hot-plate (200 °C), then diluted to 50 ml. The standard addition method was carried out before digesting. Ten μl of the resulted solution was injected into a tube treated with tungsten carbide, and the cadmium signal was measured with the ramp mode atomization. Interference induced by organic materials in urine was avoided by HNO₃-H₂O₂ digestion. Interference induced by inorganic salts could be reduced by 2-fold dilution and tungsten carbide treatment. The cadmium signal was separated sufficiently from the molecular absorption due to NaCl etc. by the ramp mode atomization. Since the blank level of H₂O₂ was relatively high, the determination was limited to about 0.1 μg/l. The coefficient of variation was 1.76 % at 0.36 μg/l in 24 h human urine (n=4). The time required was (8~10) h. The precision of this method was higher than those of direct methods, and the reasonable values of urine levels of cadmium were obtained.

(Received June 29, 1981)

Keyword phrases

determination of cadmium in human urine; graphite furnace atomic absorption spectrometry; tungsten carbide treated tube; effect of dilution.

ラマンマイクロプローブによる環境中のアスベストの分析

立石和男, 古谷圭一[Ⓐ], 菊地 正*, 石田英之, 石谷 炯**

(1981年6月25日受理)

悪性しゅようの原因の一つと考えられる大気中のアスベスト粉じんに関してレーザーマイクロプローブ法を適用した。用いた試料は、角せん石族アスベスト鉱物の一つであるアンソフィライト岩石標本粉末、福島県下アスベスト粉砕工場廃屋内沈積ダスト、地下鉄構内ダスト2種である。アンソフィライトアスベスト粒子とアンソフィライト塊状粒子からはともに同じ 674 cm⁻¹, 1045 cm⁻¹ にピークを持つスペクトルが得られ、工場廃屋内ダストからも同様なスペクトルが検出された。なお、この試料からは、炭酸塩鉱物、リン酸塩鉱物及びセメント成分のアリットに帰因すると思われるラマン線も観察された。地下鉄構内ダストに関してはアンソフィライトに相当する粒子は認められず、試料Aではセルロースと思われる繊維状粒子からのスペクトルが得られた。なお、674 cm⁻¹ におけるラマン像が測定されたが、アスベストの識別はやや困難であった。

* 東京理科大学理学部応用化学科：東京都新宿区神楽坂 1-3

** 東レリサーチセンター：滋賀県大津市園山 3-2-1