

## 動物臓器に対するフッ素の挙動の研究

## 第 1 編

## 動植物組織中の微量フッ素の定量法

岡山大学理学部化学教室 (指導・江見浩一教授)

速 水 説

〔昭和 34 年 5 月 6 日受稿〕

## 目 次

第 1 章 緒 言	(iii) 灰化温度による影響
第 2 章 Th-Neo-Thorin の基礎実験	(iv) 本湿式法によるフッ素回収率の精度
1) 試 薬	(v) 飼料中のフッ素含有量
2) 操 作 法	第 4 章 動物組織中の微量フッ素の定量法
3) pH による影響	1) 目 的
4) 検量曲線	2) 試 薬
5) 妨害イオンの影響	3) 試料調製法の決定
6) 妨害イオンからフッ素イオンの蒸留分離	(i) 磁製ルツボの空試験
7) フッ素含有天然水の試料調製法	(ii) 酸化カルシウムの量による影響
第 3 章 植物組織中の微量フッ素の定量法	(iii) 灰化温度による影響
1) 目 的	(iv) 灰化時間による影響
2) 試 薬	(v) 本研究によるフッ素回収率の精度
3) 試料の処理法	第 5 章 総括並びに考察
(i) 処理法によるフッ素の影響	第 6 章 結 論
(ii) 酸化カルシウムの量による影響	

## 第 1 章 緒 言

最近、フッ素化学に関する研究の進展にともない、フッ素に関する医学的および歯学的研究も盛んに行なわれるようになった。すなわちフッ素に起因する起因する斑状歯、または微量フッ素による齲蝕予防、或いはフッ素と身体障害等の関係はすでに医学、歯学の両方面でその研究が重要視されている。われわれが日常生活で欠くことのできない動物組織並びに植物組織の中にもかなりのフッ素が含有されており<sup>1)</sup>、人間の生命は知らぬ間にその影響を受けている。とくにフッ素地帯の飲料水はフッ素中毒症を起す最も大きな原因の一つである。これらの微量フッ素を含有している飲料水、動植物組織等のフッ素含有量を正確かつ迅速に定量することはフッ素化学に

対しては絶対に必要なことである。著者はこの測定に新比色試剤 Neo-Thorin(2-(1,8-dihydroxy-3,6-disulfo-7-naphthylazo)-benzene arsonic acid) と  $\text{Th}(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  を使用し動植物組織および鉱物体中の微量フッ素の定量法の基礎的条件を確立した。

従来フッ素定量試剤として、Zr-Alizarin 法<sup>2)3)</sup> Al-Hemctovylin 法<sup>4)</sup>、Th-Alizarin 法<sup>5)</sup>、Th-Thoron 法<sup>6)</sup>、Fe-Thiocyanate 法<sup>7)</sup>、Fe-Salicylate 法<sup>8)</sup> および Zr-p-Dimethylamino azo phenyl arsonic acid Lake 法<sup>9)</sup> 等の報告も出ている。これらは何れもフッ素イオンで色調の減退することを利用して定量を行なっている。本法においても同一原理であるが、その精度が  $1/100$  p. p. m. のフッ素にもよく退色が認められ、長時間安定であり、色調の変化も紫から赤になるため、定性的に肉眼観察も可能

であるという諸条件を具備していることで以後の実験に特にこの試薬を選んだのである。

すべての試料中のフッ素の定量に際して最も重要なことは、試料の処理法並びに妨害イオンからフッ素を分離することである。この分離操作に Willard および Winter<sup>10)</sup> 氏法の改良法によつた。以下 Th-Neo-Thorin 法による微量フッ素の比色定量法により動植物組織中のフッ素定量の基礎的条件を確立し、実験動物の飼料および動物の諸臓器中のフッ素含有量を求めた。

## 第2章 Th-Neo-Thorin の基礎 実験

### 1) 試 薬

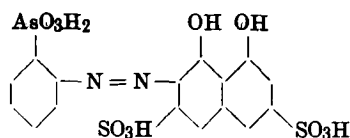
標準フッ化ソーダ溶液：市販の特級品を使用し、フッ素量が 1 mg/ml に調製しその濃度を決定した<sup>11)</sup>。

硝酸トリウム溶液：市販の特級品を使用しトリウムが 1.1 mg/ml に調製しその濃度を決定した<sup>12)</sup>。

ヒドロキシルアミン塩酸溶液：1%水溶液  
塩酸：1/10 N

Neo-Thorin 溶液：0.05%水溶液

Neo-Thorin の構造式を示すと次のようである。



### 2) 操作 法

この操作法に使用した標準フッ化ソーダ溶液はいずれも 1) の溶液を 100 倍と 10 倍に希釈し、F<sup>-</sup> と Th<sup>4+</sup> との濃度を 10 γ/ml, 110 γ/ml とした。

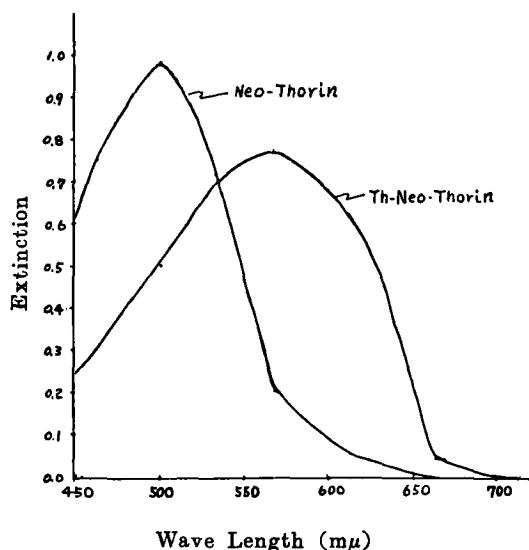
Neo-Thorin の極大吸収：Neo-Thorin 1 ml にヒドロキシルアミン溶液 1 ml を加え、蒸留水で全容を 500 ml にし、pH=2.3 に調製し A. K. A. 5 号 D 型の光電比色計を用いて吸収を測定した結果 500 mμ の極大吸収を得た。

Neo-Thorin-Th の極大吸収：Neo-Thorin 溶液 1 ml にヒドロキシルアミン溶液およびトリウム溶液をそれぞれ 1 ml ずつ加え蒸留水で全容を 50 ml にし、pH=2.3 において 570 mμ の極大吸収を得た (第 1 図参照)。

### 3) pH による影響

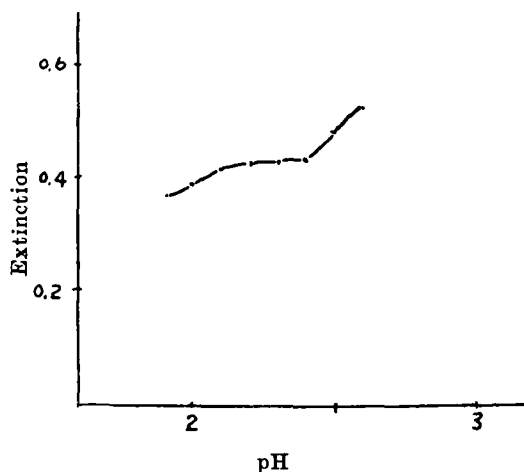
Neo-Thorin 溶液 1 ml にヒドロキシルアミン溶液、硝酸トリウム溶液をそれぞれ 1 ml ずつ加え、

第 1 図 Neo-Thorin および Th-Neo-Thorin の吸収曲線



さらにこれにフッ素 50 γ を加えて全容を 50 ml とし、最大吸収波長 570 mμ における pH の影響を見た (第 2 図参照)。第 2 図から pH=2.1~2.4 においては吸収感度に変化がないことが判つた。

第 2 図 pH の影響



### 4) 検量曲線

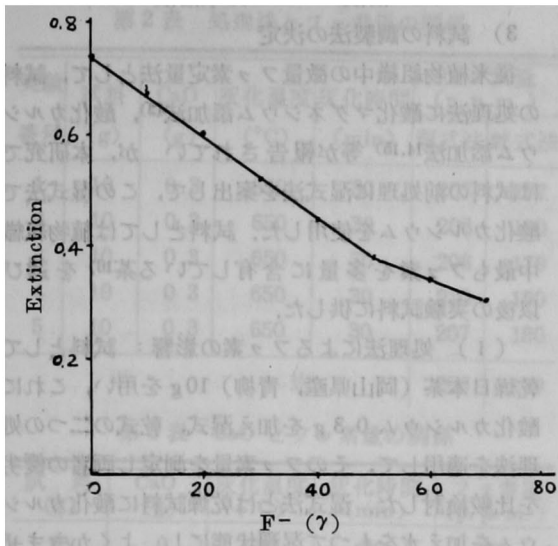
比色試薬 50 ml 中に F<sup>-</sup> が 0, 10, 20, 30, 40, 50 γ の割で溶存するような試料を作り、pH=2.3 で液層 3 cm を用いて検量線を求めた (第 3 図参照)。

### 5) 妨害イオンの影響

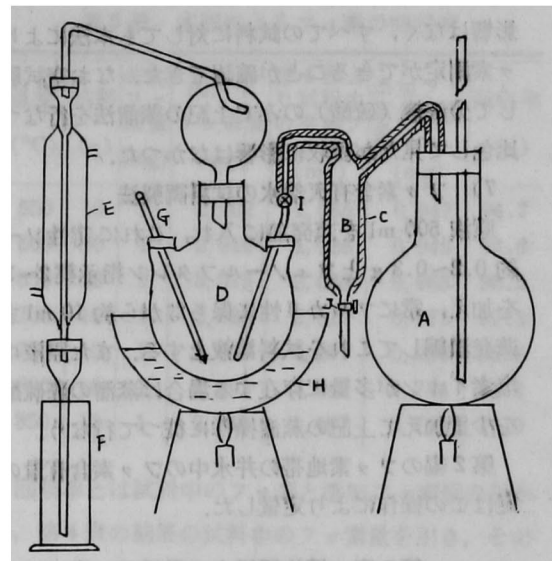
フッ素 0.5 p. p. m. の濃度に対して下記のようなイオンを加えて比色を行ない妨害イオンの最大許容範囲、およびそのときの誤差を求めた。

その結果は第 1 表のようである。

第3図 検量曲線



第4図 フッ素蒸留装置



第1表 妨害イオンの影響

妨害イオン	許容範囲 (p. p. m.)	誤差 (%)
Cl	2000	+ 4
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	100	+ 5
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.5	+ 5
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2000	影響なし
Al <sup>3+</sup>	0.5	- 2
Fe <sup>3+</sup>	5	- 4
Ca <sup>2+</sup>	300	+ 4
Mg <sup>2+</sup>	400	+ 4

以上のような妨害イオンを含有する検液では直接に比色定量することができないから、もしこれらのイオンが共存するときは、あらかじめこれからフッ素を分離して、その溶液について比色定量を行わなければならない。その分離には次のような蒸留装置を用いた。

6) 妨害イオンからフッ素イオンの蒸留分離

装置(第4図参照) Aは水蒸気発生フラスコ, Bはトラップ, Cは保温装置, Dは300 ml 硬質三ツ頸蒸溜フラスコ, Eは冷却器, Fは蒸溜受器, Gは温度計, Hは温度調節用オイルバス, Iは水蒸気導入コック, Jは排出コック。

蒸留操作: 第4図中の水蒸気発生フラスコAを加熱沸騰せしめ, Jのコックを開いて最初の蒸気を排出させる。一方Fの溜出受器には粒状苛性ソーダ約0.3~0.4 gを入れ蒸溜水25 mlに溶解させ, この溶液中に蒸溜アダプターを浸漬する。試料をまず蒸溜フラスコに入れガラス粒(米粒位)約1 gを投入し, これに硫酸(比重1.60)約50 mlを一度に

加えて後加熱する。蒸溜フラスコ内の温度が約105°C 近くになったときにIのコックを開いて水蒸気を送入する。このとき急激に温度の上昇が起るが, この濃度の硫酸では145°C 以上には上昇しない。蒸溜フラスコ内の温度を常に135°~140°C に保ちながら蒸溜を行なつて溜出液150 mlをとる。この溜出液はフェノールフタレンを指示薬として塩酸で中和して後全容を200 mlとする。

比色に際しては含有フッ素の多少により分取する液量を加減する。たとえば1 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml等をとつて前記の試薬と共に全容を50 mlとして比色試料とする。この装置によると水蒸気発生装置の突沸により導入する水, および冷却水等はすべてトラップ中に溜り, 蒸溜フラスコ内の濃度の変化を少なくし蒸溜率をよくすることができる。

分析実例: F<sup>-</sup> 1 mg に対し PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 15 mg, Al<sup>3+</sup> 5 mg, Fe<sup>3+</sup> 50 mg, Ca<sup>2+</sup> 500 mg, Mg<sup>2+</sup> 500 mgを加えた混合溶液を調製し, これから上記の蒸溜操作法によつてフッ素を分離し, それについてフッ素を測定した。その結果を第2表に示す。

以上の実験結果からフッ素蒸溜分離において蒸溜

第2表 フッ素蒸溜精度

実験番号	F <sup>-</sup> 添加量 (mg)	F <sup>-</sup> 測定値 (mg)
1	1	1.020
2	1	1.000
3	1	1.040
4	1	0.970
5	1	1.000

温度が 135°~145°C では  $PO_4^{3-}$  等の共存イオンの影響はなく、すべての試料に対しても本法によりフッ素測定ができることが確認できた。なお空試験として分解液（硫酸）のみで上記の蒸溜法を行なつて比色して見たが吸収に影響はなかつた。

#### 7) フッ素含有天然水の試料調製法

原液 500 ml を蒸発皿に入れ、これに苛性ソーダ約 0.2~0.3 g とフェノールフタレン指示薬 2~3 滴を加え、常にアルカリ性に保ちながら約 10 ml まで蒸発濃縮してこれを試料溶液とする。また原液中に塩素イオンが多量に存在する場合は蒸溜の際硫酸銀を少量加えて上記の蒸溜操作に従つて行なう。

第 2 編のフッ素地帯の井水中のフッ素含有量の測定はこの操作により定量した。

### 第 3 章 植物組織中の微量フッ素の定量法

#### 1) 目 的

自然界では飲料水中はもちろん、われわれが日常欠くことのできない飲食物すなわち、米、魚介、野菜、果物、茶等の殆んどすべてのものに亘つて幾らかのフッ素が存在していて、これを飲食することにより、われわれの生命は知らぬ間にそれらの影響を受けているのである。そのフッ素摂取量が生理的な量を越えるか越えないかによつてフッ素の中毒を起す原因となり極めて危険性のある元素である。

著者は動物組織に対するフッ素の挙動の研究を行なう前に是非必要とされる植物組織中の微量フッ素の定量法を確立した。この定量法に基づいて第 2, 3 編に記する動物実験に使用する家兎の飼料（豆腐粕、フスマ）中のフッ素を予め測定するの必要を認めたので本研究を行なつた。以下この基礎的条件の実験法を示す。

#### 2) 試 薬

酸化カルシウム・市販 1 級品を使用した。酸化カルシウム中にフッ素の有無を確かめるため粉末にした酸化カルシウム 0.5 g をとり、第 2 章に記した硫酸分解でケイフッ化水素酸蒸溜法で蒸溜を行ない、溜出液 200 ml を採集した。この溜出液の一定量を取り比色定量を行なつた。その結果酸化カルシウム 1 g 当り 15 γ のフッ素を含有していることを確認した。

硝酸トリウム溶液： 110 γ/ml 溶液

塩酸ヒドロキシルアミン溶液： 1% 水溶液

塩酸： 1/10 N 溶液

Neo-Thorin 溶液： 0.05% 水溶液

#### 3) 試料の調製法の決定

従来植物組織中の微量フッ素定量法として、試料の処理法に酸化マグネシウム添加法<sup>13)</sup>、酸化カルシウム添加法<sup>14,15)</sup>等が報告されているが、本研究では試料の前処理に湿式法を案出して、この湿式法で酸化カルシウムを使用した。試料としては植物組織中最もフッ素を多量に含有している茶<sup>16)</sup>を選び以後の実験試料に供した。

(i) 処理法によるフッ素の影響：試料として乾燥日本茶（岡山県産、青柳）10 g を用い、これに酸化カルシウム 0.3 g を加え湿式、乾式の二つの処理法を適用して、そのフッ素量を測定し両者の優劣を比較検討した。湿式法とは乾燥試料に酸化カルシウムを加え水をもつて湿潤状態にし、よくかきまぜながら湯煎上で再度乾燥し電気炉中で灰化する法。乾式法とは乾燥試料に酸化カルシウムを加えそのまま灰化する法、この両者の試料を灰化するには容量 100 ml の磁製ルツボに入れ、マッフル炉中で 650°C で灰化し 30 分後に取り出し、冷却し、硫酸分解法で蒸溜を行ない、A. K. A. 5 号 D 型光電比色計を用いて測定した。本実験に使用する磁製ルツボの空試験のため、酸化カルシウム 0.3 g、F-1 mg を入れ 650°C で 30 分間焼成し、冷却後添加フッ素の回収量を検討した結果、第 1 表に示すようにフッ素の損失

第 1 表 磁製ルツボの空試験

実験番号	CaO (g)	添加フッ素量 (mg)	焼成温度 (°C)	焼成時間 (min)	回収フッ素量 (mg)
1	0.3	1.0	650	30	0.99
2	0.3	1.0	650	30	0.985
3	0.3	1.0	650	30	0.99
4	0.3	1.0	650	30	0.98

はほとんど認められなかつた。なおこの回収量は酸化カルシウム中に含有している 15 γ/g のフッ素量を差引いたものである。

また湿式法、乾式法の両者の処理法とフッ素量の関係を第 2 表に示す。

(ii) 酸化カルシウムの量による影響：第 2 表の結果から同一試料を使用した場合、湿式法が乾式法に比べて高収率を得たので、この処理法に対し酸化カルシウムの添加量によるフッ素の影響を見た。第 3 表にその結果を示す。

以上の結果から 10 g 程度の試料に対しては、酸化カルシウムの量が 0.2~0.3 g であれば大体均一

第2表 処理法とフッ素量の関係

実験 番号	試料 (g)	CaO (g)	灰化温度 (°C)	灰化時間 (min)	フッ素量 (p. p. m.)	
					湿式法	乾式法
1	10	0.3	650	30	207	177
2	10	0.3	650	30	208	180
3	10	0.3	650	30	208	179
4	10	0.3	650	30	210	180
5	10	0.3	650	30	207	180
平均					208	179

第3表 CaO とフッ素量の関係

試料 (g)	CaO (g)	灰化温度 (°C)	灰化時間 (min)	フッ素量 (p. p. m.)
10	0	650	30	170
10	0.1	650	30	196
10	0.2	650	30	208.5
10	0.3	650	30	209.0

な結果が得られた。

(iii) 灰化温度による影響：第3表の結果から酸化カルシウムの最適量が決定したので灰化温度に対する影響を見た。試料の灰化にさきだち250°~300°Cで揮発分を完全に除去してのち、漸次温度を上昇を始めて灰化を行なう。温度測定には白金-白金ロジウムのサーモカップルとミリボルトメーターを用いた。第4表にその結果を示す。

第4表 灰化温度とフッ素量の関係

灰化温度 (°C)	灰化時間 (min)	フッ素量 (p. p. m.)	灰の状態
550	30	195.50	淡灰白色
600	30	196.75	淡灰白色
650	30	208.75	淡灰色
700	30	201.70	淡灰色
750	30	198.65	淡灰黒色
800	30	154.75	灰黒色
850	30	149.70	灰黒色

以上の結果からフッ素量は灰化温度650°Cで最高値を示し、この温度より低いときまたは高いときはどちらも低値を示した。とくに800°C以上になると灰の色は黒色を増し、少し粘結を示すようになる。

(iv) 本湿式法によるフッ素回収率の精度：以上第3, 4表から酸化カルシウムおよび灰化温度が限定されたので、その精度を確かめるため既知量のフッ素を試料に添加し、各温度による添加フッ素量の回収率を測定した。その結果を第5表に示す。

第5表 本法によるフッ素の回収率

温度 (°C)	試料 (g)	添加フッ 素量 (mg)	測定全 フッ素量 (mg)	第4表より 試料中の 平均フッ 素量 (mg)	添加フッ 素の回収 量 (mg)	回収率 (%)
550	10	1	2,902	1,955	0,947	94.7
600	10	1	2,916	1,968	0,948	94.8
650	10	1	3,075	2,088	0,985	98.5
700	10	1	2,990	2,017	0,973	97.3
750	10	1	2,943	1,987	0,956	95.6
800	10	1	2,291	1,547	0,744	74.4
850	10	1	2,216	1,497	0,719	71.9

回収率とは試料中のフッ素と添加フッ素量の和から、第4表の結果の試料中のフッ素量を引き、その差から百分率を算出したものである。

(v) 飼料中のフッ素含有量：第2編および第3編に記載した実験動物の飼料(豆腐粕並びにフスマ)の中のフッ素量を本法に従って測定した。その結果を第6表に示す。

第6表 飼料中のフッ素量

実験番号	豆腐粕 (p. p. m.)	フスマ (p. p. m.)
1	1.85	1.00
2	2.50	0.90
3	2.80	1.25
4	2.50	1.10
平均	2.41	1.06

以上の結果から植物組織試料の処理法として湿式法を採用し、添加する酸化カルシウムは試料に対して約3%で灰化温度650°Cで処理することにより、含有フッ素は98.5%の回収率でフッ素の定量ができることが確認された<sup>17)</sup>。

#### 第4章 動物組織中の微量フッ素 の定量法

##### 1) 目的

自然界に存在する生物中には、その生命の保持のため幾らかのフッ素を必要とし、その体内に含有している。われわれ人類を始め、他の諸動物も色々な分野から微量フッ素を間接または直接に摂取して、あらゆる諸器官の調節に役立ち全身の発育に大きな作用を行なっている。しかし、そのフッ素量が生理的な量以上に生体内に摂取された場合は急性のフッ素中毒症を起すことは既によく知られている。この

ようなフッ素中毒の問題を解決するためには、摂取されたフッ素が生体内の各臓器に対して、どのような量で移行沈着を起しているか、または陽イオン元素の存在において各臓器に対してフッ素がどのような挙動を起すかを究明することが最も大切なことである。この究明に際して先づ必要な条件は試料中の微量フッ素を正確に定量することである。

著者はそれらの目的で動物組織中の微量フッ素の定量法の基礎的研究を行ない、含有フッ素を98.3%の回収率で定量することができたので以下この実験法を示す<sup>19)</sup>。なお第2編の臓器中のフッ素の定量は本法により行なつた。

### 2) 試 薬

酸化カルシウム：市販1級品を使用しこの試薬中にフッ素の有無を確かめるため、微粉にした酸化カルシウム1gをとり、硫酸分解法でケイフッ化水素酸蒸溜法<sup>19)</sup>を行ない、溜出液200mlを集め全容を250mlに稀釈した。この稀釈液の一定量(5mlあるいは10ml)をとり50mlに稀釈し、 $1/10$ N塩酸をもつて $pH=2.3$ に調製し、A. K. A. 5号D型光電比色計を用いて吸収を測定した。その操作は第2章に記したTh-Neo-Thorin法<sup>20)</sup>に従つた。フッ素量は15.7/gの割に含有していた。

硝酸トリウム溶液：110.7/ml溶液

塩酸ヒドロキシルアミン溶液：1%水溶液

塩酸： $1/10$ N溶液

Neo-Thorin溶液：0.05%水溶液

### 3) 試料の調製法の決定

第3章の植物組織中の微量フッ素の定量法の際に適用した酸化カルシウム添加による湿式処理法を適用し、実験試料としては含有フッ素の比較的多い頭足類のいか<sup>21)</sup>の乾燥物である「するめ」を選び、フッ素定量の基礎的条件である試料の調製に使用した。

(i) 磁製ルツボの空試験：試料を灰化するのに磁製ルツボを使用するので測定にさきだちルツボの空試験を行なつた。すなわち、100mlの磁製ルツボに酸化カルシウム1g、フッ素1mgを入れ $700^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ で30分間焼成し、冷却後フッ素の蒸溜を行ない、溜出液についてフッ素の回収量を検討した結果、第1表に示すようにフッ素の損失はほとんど認められなかつた。

以上の回収量は測定フッ素量から酸化カルシウム中に含有するF-15.7/gを差引いたものである。

第1表 磁製ルツボの空試験

実験番号	CaO (g)	添加 F- (mg)	焼成温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	焼成時間 (min)	回 収 F- 量 (mg)
1	1	1.0	700	30	0.985
2	1	1.0	700	30	0.99
3	1	1.0	700	30	0.99

(ii) 酸化カルシウムの量による影響：酸化カルシウム添加処理については第3章の植物組織中のフッ素の定量で湿式法を採用することによつて、その回収率に好結果を得たので、動物組織中のフッ素の定量法にその処理法を応用した。乾燥試料に対し粉末酸化カルシウムの添加量によるフッ素量の影響を検討した。その結果を第2表に示す。

第2表 CaO とフッ素量の関係

試料 (g)	CaO (g)	灰化温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	灰化時間 (min)	F- 量 (p. p. m.)
10	0.5	700	30	17,00
10	1.0	700	30	18,50
10	1.5	700	30	23,40
10	2.0	700	30	23,40

以上の結果から乾燥試料に対し15~20%の酸化カルシウムを加えることにより均一な結果が得られた。

(iii) 灰化温度による影響：第2表から酸化カルシウムの最適量が決定したので、添加石灰の一定量に対する灰化温度の影響を検討した。試料に酸化カルシウムを添加して $350^{\circ}\sim 450^{\circ}\text{C}$ で揮発分およびタール分を完全に除去したのち、しだいに温度を上昇させて灰化を行なつた。試料の灰化には電気マッフル炉を使用し、温度測定には白金-白金ロジウムのサーモカップルとミリボルトメーターを用いた。第3表にその結果を示す。

第3表 灰化温度とフッ素量の関係

灰化温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	灰化時間 (min)	試料 (g)	F- 量 (p. p. m.)			
			CaO 添加量 (g)			
			0.5	1.0	1.5	2.0
850	30	10	12.90	18.20	22.70	22.75
800	30	10	13.50	18.25	23.00	23.12
750	30	10	16.75	18.25	23.37	23.20
700	30	10	17.00	18.50	23.42	23.40
650	30	10	14.00	17.75	18.00	18.87
600	30	10	13.31	16.62	17.30	17.50

以上の結果からフッ素量は灰化温度 $700^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ で最高値を示し、この温度より低いとき、または高

いときはいずれも低値を示した。

(iv) 灰化時間による影響：前記第2, 3表から石灰添加量および灰化温度等の条件を確立した。なお焼成時間に対するフッ素量の変化を検討するた

第4表 灰化時間とフッ素量の関係

実験 番号	焼成 温度 (°C)	CaO (g)	試料 (g)	測定 F- 量 (p. p. m.)			
				焼成時間 (hr)			
				0.5	1.0	1.5	2.0
1	700	1.5	10	23.42	23.42	23.35	23.40
2	700	1.5	10	23.40	23.30	23.42	23.35
3	700	1.5	10	23.35	23.40	23.40	23.35

第5表 フッ素回収精度

焼成温度 (°C)	試料 (g)	CaO (g)	添加 F-量 (mg)	試料中の F-量 (γ)	CaO中の F-量 (γ)	測定全 F-量 (γ)	添加 F- の回収量 (mg)	回収率 (%)
850	10	1.5	1	227.00	22.5	1225.00	0.975	97.5
800	10	1.5	1	230.10	22.5	1240.00	0.987	98.7
750	10	1.5	1	233.70	22.5	1245.00	0.989	98.9
700	10	1.5	1	234.20	22.5	1246.00	0.989	98.9
650	10	1.5	1	180.00	22.5	1147.00	0.944	94.4
600	10	1.5	1	173.00	22.5	1135.00	0.939	93.9

### 第5章 総括並びに考察

以上のフッ素定量法の基礎的研究について、最も新しい高精度の試薬 Neo-Thorin は微量の  $\text{Th}^{4+}$  とで錯化合物を生成して紫色に発色するが、その着色は  $\text{F}^-$  が  $\text{Th}^{4+}$  とよく錯塩を生成するため分解退色する。しかも微量の  $\text{F}^-$  の共存においても、その色調の変化はきわめて顕著に現われるので、本試薬は  $\text{F}^-$  の定量のためのすこぶる鋭敏な試薬であることが認められた。またこの試薬を使用する場合の定量条件、すなわち Th-Neo-Thorin の発色々調が  $575 \text{ m}\mu$  で  $\text{pH}=2.1\sim 2.4$  において、その感度は  $1/100 \text{ p. p. m.}$  のフッ素を定量することが可能であることが確認された。

従来報告<sup>2-7)</sup> されている数種の比色試薬を本試薬に比較検討すると、測定に要する時間が長いもの、または試薬の安定性が悪いもの、および精度、感度が低いもの等があり、微量フッ素の定量に対しては困難を認められる点もある。例えば Thorium-Alizarin 法は  $\text{SO}_4^{2-}$  により妨害が著しく、またその感度も Thorium-Alizarin 法および Zirconium-Alizarin 法は共に  $0.1 \text{ p. p. m.}$  程度であり、Ferric-Thiocyanate 法は Ferric-Salicylate 法は共に約

め、0.5, 1, 1.5, 2時間の4種目について実験を行なったが、いずれも温度  $700^\circ\text{C}$  では焼成時間の変化に対してもフッ素量は一定値であつた。なお焼成時間はマッフル炉中で試料が完全灰化してさらに焼成した時間である。その結果を第4表に示す。

(v) 本研究によるフッ素回収率の精度：上記の諸実験の結果から灰化温度、酸化カルシウムの添加量、焼成時間等が限定されたので、その精度を確かめるため既知量のフッ素を試料に加え、各温度による添加フッ素の回収率を測定した。その精度を第5表に示す。

$10 \text{ p. p. m.}$  Aluminium-Hematoxylin 法では約  $1.5 \text{ p. p. m.}$  である。本試薬 Thorium-Neo-Thorin 法の  $0.01 \text{ p. p. m.}$  に比較すると、その感度に大きな差異が認められ、少量の試料や含有フッ素量が微量の場合はその定量に一考を要するものである。

次に有機物体すなわち、動物組織並びに植物組織中の微量フッ素の定量法において試料の処理法の如何によつて、その定量値に誤差を生ずることは明らかなことである。そのためにはフッ素とよく結合し、灰化においても安全な金属イオンを添加して、試料中に含有されているフッ素の全部を充分金属イオンと結合させてから、灰化することが処理法として最も重要なことである。今迄の報告によると試料中に直接フッ素の固定剤として  $\text{MgO}^{13)}$  或いは  $\text{CaO}^{14)15)}$  を加えて灰化を行なっている。これらの処理法は試料中に多量のフッ素を含有する場合はその誤差は少ないが、微量のフッ素に対しては不適當と認められるので、著者はその改良法として湿式法を案出して、動物組織並びに植物組織中の微量フッ素の定量法を確立した。また動物組織、植物組織のそれぞれの灰化温度も決定した。動物組織では  $700^\circ\sim 750^\circ\text{C}$  で 98.93%, 植物組織では  $650^\circ\text{C}$  で 98.5%の回収精度で微量フッ素の定量法が確立でき

た。

以上の基礎的諸実験に従い第2編の実験動物の各臓器中のフッ素含有量を求めた。

### 第6章 結 論

(1) Th-Neo-Thorin 試薬法によると微量フッ素の定量が容易にできる。またフッ素に対してその色調は紫から赤色になるため、肉眼観察による定性試験も可能である。なお $1/100$  p. p. m. のフッ素も測定できる。

(2) 植物組織の試料に対し3%のCaOと少量の水を加えて混合してから蒸発乾燥した後、 $250^{\circ}\sim 300^{\circ}\text{C}$ で揮発分を除去し $650^{\circ}\text{C}$ で焼成すると最高の

回収が得られその結果は98.5%である。

(3) 動物組織中の微量フッ素の測定に対しては、試料にCaOを15~20%と少量の水を加えて混合し蒸発してから、この混合物を $350^{\circ}\sim 400^{\circ}\text{C}$ で炭化し $700^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ で焼成すると、フッ素の回収は最高値であり、回収率は98.93%である。

### 引 用 文 献

- 1) 勝：フッ素総合研究委員会記事, No. 3 (1952)  
勝：フッ素総合研究委員会記事, No. 7 (1953)
- 2) W. L. Lamer : Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 17, 148 (1945)
- 3) H. E. Bumsted, J. C. wells : Anal. Chem. 24, 1595 (1952)
- 4) M. J. Price O. J. Walker : Anal. Chem. 24, 1593 (1952)
- 5) J. M. Icken, B. M. Blank : Anal. Chem. 25, 1741 (1953)
- 6) A. D. Horton, P. F. Thomason, F. J. Miller : Anal. Chem. 24, 548 (1952)
- 7) R. S. Ingols, E. H. Show. W. H. Eberhardt, J. C. Hildebrand : Anal. Chem. 22, 799 (1950)
- 8) M. Kortinum-Seiler : Angew. Chem. A59, 159 (1947)
- 9) 鎌田, 大西 日本化学雑誌, 80, 275 (1959)
- 10) H. H. Willard, O. B. Winrte : Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 5, 7 (1933)
- 11) Scott's, "Standard Methods of Chemical Analysis" Vol. 1, 5 thed, p.404 (1939)
- 12) Scott's, "Standard Methods of Chemical Analysis" Vol. 1, 5 thed, p.953 (1939)
- 13) O. D. Smith, T. D. Parks : Anal. Chem. 27, 998 (1955)
- 14) W. M. Hoskins, C. A. Ferris : Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 8, 6 (1936)
- 15) 多田：分析化学, 3, 170 (1954)
- 16) 松浦：日本化学会第6年会講演。
- 17) 江見, 速水：日本化学雑誌, 77, 1656 (1956)
- 18) 江見, 速水：日本化学雑誌, 78, 1532 (1957)
- 19) W. B. Huckabay, E. T. Welch, A. V. Metter, Anal. Chem. 19, 154 (1947)
- 20) 江見, 速水：日本化学雑誌, 76, 1291 (1955)
- 21) 松浦, 国分, 渡辺：日本化学会第7年会講演 (1954)



## Studies on Behavior of Fluorine for Animal Organs

Part 1. Determination of Small amounts of fluorine  
in plant and animal tissue

By

Tadashi Hayami

Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University  
(Director: Prof. Koichi Emi)

Fundamental studies of this subject were carried out in the following method.

A new reagent "Neo-Thorin" (2-(1,8-dihydroxy-3,6-disulfo-2-naphthylazo)-benzene arsonic acid) (max. absorption, 500 m $\mu$  in an aq. solution of pH 2.3) was synthesised and complex of this reagent with thorium (max. absorption, 570 m $\mu$  at pH 2.3) was studied for the determination of F (<50  $\gamma$  in 50 ml). The extinctions of both Neo-Thorin and its complex with Th are sensitive towards change in pH, but remain constant between pH 2.1 and 2.4, the extinction of the complex decreasing in proportion to the amount of F<sup>-</sup>.

Common ions, including Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, and Mg<sup>2+</sup>, interfere. Any F in the sample is distilled from an H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soln. in the presence of SiO<sub>2</sub>.

(1) By using the Thorium-Neo-Thorin method, small amounts of fluorine may be easily determined.

Color of this reagent changes from red to purple with small amounts of fluorine ion. So that the visual qualitative test for fluorine is possible. Realisable limit of fluorine is 1/100 p. p. m.

(2) After the plant tissue was mixed with CaO (3% by weight of dry sample) and a small amount of water, it was evaporated to dryness and the volatile matter was expelled at 250 to 300°C and then ignited at 650°C.

Maximum recovery of fluorine was 98.5%.

(3) A small amount of fluorine in animal tissue was satisfactorily determined by the same procedure as in plant tissue. Namely, the sample was calcinated with CaO in proportion of 15 to 20% by weight of dry sample, charred at 350 to 400°C and ignited at 750°C. Maximum recovery of fluorine was 98.93%.

---