

内95-30

早稲田大学大学院理工学研究科

博士論文概要

論文題目

スズ、セレン及び水銀の原子吸光分析法に
おけるマトリックス修飾剤の開発と生体中
のセレン、水銀含有化合物のキャラクタリ
ゼーションへの応用

申請者

李 暉

Hui LI

化学専攻・無機錯体化学研究

1995年11月

炭素炉原子吸光法では、分析対象になる金属元素の化学的、物理的性質及びその化学形態の違い、及び共存元素の種類によって、その分析の精度、感度に変化する。無機形態あるいは有機形態のスズはその影響の特に大きい元素の一つである。従って、炭素炉中で生成するスズの化合物とその熱解離、炭素炉中のスズ化合物と炭素炉表面との相互作用、マトリックス修飾剤との物理的あるいは化学的相互作用などの問題に関する検討は、スズの感度向上、マトリックス修飾剤の増感機構と干渉の抑制機構などの問題に、有用な情報を提供する。炭素炉原子吸光法は有機スズを定量できる分析法であるが、そのままでは感度が低く、一般には用いられない。そこで本研究では、炭素炉に有機パラジウム[PdCl₂(CH₃CN)₂]をマトリックス修飾剤として導入する有機溶媒中の有機スズの直接定量方法を検討した。この方法により人工海水、水道水中の全有機スズの定量を行った。また、炭素炉原子吸光法(GFAAS)、電気加熱炉-誘導結合高周波プラズマ-質量分析法(ETV-ICP-MS)、走査電子顕微鏡(SEM)、X線回折法(XRD)を用いて、有機スズの炭素炉原子吸光法における増感機構、原子化機構及び他の化学種の存在による影響などを検討した。一方、生体中の重金属の化学形態は、これまで適当な分析法がないため、不明のことが多い。海洋動物のイルカは、肝臓中にセレン及び水銀を100ppm以上という高濃度で蓄積しているものがある。しかも両者のモル比は約1:1になっている。また、これらのイルカはこのような重金属の蓄積にもかかわらず健康である。イルカ肝臓中に蓄積された水銀のうち、メチル水銀はその全水銀の2~14%しか占めないことから、残りの約90%の化学形態を解明することは、水銀の中毒、解毒の機構並びにセレン、水銀の環境中での動態を明らかにする上で重要である。本研究では、マトリックス修飾剤を用いて、これらの元素に関する分析法の開発、及びイルカ肝臓からの水銀、セレンを含む化合物の抽出と精製を試みた。

本論文は9章より構成されている。第1章は序論で、炭素炉原子吸光法におけるマトリックス修飾剤の役割、無機及び有機スズの分析に関する背景、意義、目的を明らかにした。

第2章では、マトリックス修飾剤の添加による有機スズの炭素炉原子吸光法における増感効果と有機スズの分析法の検討について述べた。有機スズの炭素炉原子吸光法では、原子化前の乾燥、灰化段階での有機スズの揮発損失のため、有機スズをそのまま炭素炉に直接導入しても、正確な値を得ることは困難であった。有機パラジウム[PdCl₂(CH₃CN)₂]をマトリックス修飾剤として添加すると、トルエン、酢酸エチル、トリブチルリン酸(TBP)溶媒中のテトラブチルスズ(TeBT)、塩化トリブチルスズ(TBTC)、ジ酢酸ジブチルスズ(DBTDA)、ジラウリル酸ジブチルスズ(DBTDL)はいずれも、灰化段階での揮発損失がなくなり、高い感度が得られることを明らかにした。特にTBP中ではいずれの有機スズも、有機パラジウムの添加により、2500倍以上の増感倍率を示した。この方法を水道水、人工海水中の

有機スズの分析へ応用したところ、検出限界は0.002 Sn ng(2σ)で、良好な結果が得られた。また本章では、有機スズの分析において、炭素(C₆₀)、有機パラジウム+炭素(C₆₀)の混合マトリックス修飾剤の増感効果も検討した。

第3章では、炭素炉原子吸光法におけるスズのピークプロファイルについて述べた。有機パラジウムの添加の有無にかかわらず、いずれの有機溶媒中でも、DBTDL、DBTDAがTeBT、TBTCより高感度を示したことから、スズが原子化前に酸化物(SnOやSnO₂)の形で存在すれば、感度が高いと考えられた。一方、有機パラジウムを添加しない場合、トルエン、酢酸エチル中ではいずれの有機スズも、二重の原子化吸収ピークを生じたが、有機パラジウムの添加あるいは灰化温度の上昇により、二重のピークを一つのピークにできることを明らかにした。またTBP中では、有機パラジウムを添加しなくても、いずれの有機スズも唯一つのピークを示し、高感度であった。

第4章では、ETV-ICP-MSを用いて有機スズの感度に及ぼす他の化学種の影響及び有機パラジウムの添加効果を検討した。TBPによる有機スズの増感効果は、ETV-ICP-MS法においても確認された。また有機パラジウムを添加したTBPの場合、ETV炉の温度を2700℃(スズの原子化温度)まで上昇させると、スズ、パラジウム、リン、酸素が同時に検出できた。このことは、原子化前にスズの酸化物のみならず、リン酸塩、パラジウムとの金属間化合物なども生成していることを示唆している。

第5章では、SEM、XRD法によりマトリックス修飾剤の増感機構とスズの原子化機構を検討した。水溶液中で無機パラジウムと血清をマトリックス修飾剤とした場合、無機スズは灰化の段階で、Pd₃Sn₂のような金属間化合物を作ることXRD法で初めて確認した。さらに、SEM、XRD法を併用することによって、有機スズに有機パラジウムを添加した場合、トルエン中でも、PdSn、Pd₂Sn、Pd₃Sn、PdSn₃、Pd₃Sn₂のような金属間化合物が形成することを明らかにした。これらの金属間化合物の形成により、灰化段階での有機スズの揮発損失が抑えられるため高感度になると考えられる。またTBPの場合、上記の金属間化合物のほかに、Sn₂P₂O₇、SnP₂O₇のようなピロリン酸塩も生成することを確認した。

第6章は、生物圏中のセレン、水銀の分布、存在形態、相関関係などについての序論である。本章では、イルカ肝臓中の水銀、セレンの研究における背景、意義、目的を述べた。

第7章では、生体試料中の水銀、セレンの高感度かつ迅速な分析法の開発について述べた。通常分析法は微量の水銀の定量に適用できない。そこで、有機パラジウムを予め炭素炉に注入して炭素炉表面をパラジウムで被覆した後、水銀を定量する方法を開発した。本法による有機水銀の検出限界は0.3 Hg ng(3σ)で、通常の方法の300倍以上の増感倍率を得た。また同様の方法を用いて有機セレンでは検出限界0.1 Se ng(3σ)、増感倍率は3.0を得た。ここで開発した水銀、セレ

ンの分析法をイルカ肝臓中の水銀、セレンの定量に応用した。

第8章では、イルカ肝臓試料の蛍光X線分析、肝臓試料からの各種溶媒による抽出及び不可溶画分の可溶化、またその可溶化物の精製と化学的性質について述べた。イルカ肝臓中に水銀、セレンが高濃度に蓄積される現象はかなり以前に発見されたが、イルカ肝臓中の水銀、セレンを含む化合物の化学形態は全く不明で、しかもこの化合物の分離、精製は極めて困難とされてきた。ここでは、蛍光X線分析法並びに炭素炉原子吸光法を用いた分析により、10匹のイルカの肝臓を調べたところ、いずれも水銀、300ppm以上、セレン、100ppm以上という高濃度に蓄積していることを確認した。これらの肝臓をアセトン、80%エタノール及び0.2M酢酸アンモニウムを用いて順次、抽出を行ったが、いずれも低い抽出率(<1%)であったため、水銀、セレンは不溶性の高分子化合物に含まれていると考えられた。水銀、セレンは不溶性のタンパク質に含まれていると推定し、5種類のタンパク質消化酵素を用い可溶化を試みたところ、1%ドデシル硫酸ナトリウムの存在下に、サーモリシンで消化した場合、セレンは全体の約30%、水銀は約5%の最も高い可溶化率を示した。この結果から、イルカ肝臓中の水銀、セレンは、かなりの部分がタンパク質中に含まれており、さらに水銀とセレンの両方を含む(モル比約1:1)タンパク質のみならず、水銀のみ、セレンのみを含むタンパク質として存在すると考えられた。また不溶性画分を6N HClで加水分解すると、水銀、セレンはともに全体の70%(モル比1:1)以上が可溶化された。この加水分解物をゲルろ過(Sephadex G-25)にかけたところ、水銀、セレンは主に低分子量(<1000)域に溶出された。一方、同じ加水分解物を陽イオン交換クロマトグラフィーで分離したところ、水銀、セレンは主にpH5.0~9.3の範囲に溶出された。以上の結果は、塩酸加水分解によって、水銀、セレンを含む化合物がアミノ酸やペプチドの単位にまで分解されたことを示している。

第9章では、本研究で得られた結果を総括した。炭素炉原子吸光法において、有機パラジウムを導入することにより、有機溶媒中で有機スズの定量が可能になった。TBPは有機スズに関する最も良い溶媒で、灰化の段階でスズのピロリン酸塩、金属間化合物を形成することによって、スズの揮発損失を抑え、高い感度を与える。イルカ肝臓中の水銀、セレンの大部分は高分子不溶性タンパク質に含まれ、タンパク質消化酵素を用いることにより、部分的に可溶化はできるが、可溶化された画分中にセレン30%、水銀5%(モル比約6:1)を含むことから、水銀とセレンの両方を含むタンパク質だけでなく、水銀のみ、セレンのみを含むタンパク質として存在することが推定された。これらの結果は、今後の水銀、セレンの生物無機化学的、環境化学的研究に有用な知見を与えるものである。