

報 文

ジメチルグリオキサールビス(4-フェニル-3-チオセミカルバゾン)担持樹脂による濃縮と吸光検出逆相高速液体クロマトグラフィーとの組み合わせによる微量水銀の定量

星 座[®], 藤澤 英樹*, 宇都 正幸**

(1994年3月7日受理)

ジメチルグリオキサールビス(4-フェニル-3-チオセミカルバゾン) (DMBS) をアンバーライト XAD-7 樹脂に担持した金属イオンの捕集剤を調製し, 水溶液中から微量水銀(II)を捕集する方法に利用した. 0.1 g の試薬担持樹脂を用い, バッチ法により 100 ml の酸性水溶液から 1 µg 以下の水銀(II)を短い振り混ぜ時間で定量的に捕集できる条件を見いだした. 又, 捕集後, 樹脂から少量の *N,N*-ジメチルホルムアミドにより水銀(II)-DMBS キレートとして簡単に溶離できるため, 吸光検出逆相 HPLC により定量する際の前処理濃縮法として応用した. この方法により水溶液中のサブ ppb レベルの水銀の定量が可能であった.

1 緒 言

ジチオセミカルバゾン系キレート試薬は *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) などの特殊な溶媒を除き極めて溶解度が低い. このため, 溶媒抽出のような分離法に適用できない欠点を持つ. しかし, これら試薬群はパラジウムや銅と反応して特徴のある吸収スペクトルを与えるため, これら金属イオンの吸光分析試薬として¹⁾²⁾, 又生成する金属キレートが不活性であるため HPLC による相互分離に利用可能である^{3)~5)}.

ある種の担体にキレート試薬を保持させたものを用いて, 水溶液中の低濃度の金属イオンを簡便, 迅速に濃縮分離する方法が古くから行われている. 代表的な担体としてはシリカゲル⁶⁾, ポリウレタンホーム⁷⁾, アンバーライト XAD 樹脂⁸⁾及びイオン交換樹脂⁹⁾などが挙げられる. これら試薬担持樹脂はいわゆるキレート樹脂¹⁰⁾に比較して安定性や捕集容量が小さいという欠点はあるものの調製が容易であり, 目的に応じて様々なキレート試薬と担体の組み合わせが可能であるという利点を持つ.

過去に著者らは, 分析試薬として高いポテンシャルをもつジチオセミカルバゾン化合物を分離分析法の中でより機能的に使う目的で, 様々な骨格構造を有する市販品を容易に入手可能なアンバーライト XAD 樹脂上に担持させ, 水溶液中から金属イオンを捕集する方法に利用することを試みた¹¹⁾. 本研究では, 捕集後少量の DMF により樹脂から金属キレートとして簡単に溶離可能なことを利用して, この濃縮-溶離法を吸光検出逆相 HPLC の前処理法に応用し, 微量水銀の定量法の開発を試みた.

2 実 験

2・1 試 薬

ジメチルグリオキサールビス(4-フェニル-3-チオセミカルバゾン) (DMBS) は文献²⁾に従って合成し DMF 溶液として使用した.

アンバーライト XAD-7 樹脂 (アクリル酸エステル型) (XAD7) は Rohm and Haas 製の市販品を使い, 5 M 塩酸水溶液, 蒸留水及びメタノールで洗浄した後, 真空乾燥機により 40°C で 24 時間乾燥して使用した.

水銀標準溶液 (1000 µg/ml) は塩化水銀(II)を 0.1 M 塩酸水溶液に溶解して調製し, キレート滴定により標定したのち必要に応じて希釈して使用した.

他の試薬類はすべて特級あるいは HPLC 用の市販品

* 北見工業大学化学システム工学科: 090 北海道北見市公園町 165

** 北見工業大学機能材料工学科: 090 北海道北見市公園町 165

を利用した。

2・2 装置

吸光度の測定は 1 cm 石英セルを用いて日立 U-2000 分光光度計によりなされた。pH の測定には日立-堀場 F-7_{AD} 型 pH メーターを使用した。振り混ぜはイワキ V-SN 型シェーカーを使用して行った。HPLC における測定には日立 L-4200 型紫外-可視吸光検出器及び日立 D-2500 クロマトインテグレーター付属の日立 L-6200 型 HPLC 装置を用い、カラムは逆相用の ERC-ODS 1282 (内径 6 mm×高さ 250 mm, エルマ光学製) を使用した。

2・3 実験操作

2・3・1 試薬担持樹脂の調製 洗浄済みの XAD-7 25 g に対し、0.01 M DMBS-DMF 溶液 50 ml を加え約 2 時間かき混ぜる。その後、G4 ガラスフィルターで濾過し蒸留水で洗浄した後、真空乾燥機により 40°C で 48 時間乾燥する。

2・3・2 定量操作 DMBS-XAD7 0.1 g を 150 ml のスクリーキャップ付きガラス瓶に採り、これに水銀 1 µg までを含み、5 M 硝酸によりその濃度が 0.01 M になるように調製された酸性水溶液 100 ml を加え、15 分間振り混ぜる。その後水銀を捕集した樹脂をポリエチレン製カラム (内径 9 mm×高さ 65 mm, 孔径 20 µm ポリエチレンフィルター付き) に回収し水で洗浄した後、1 ml の DMF により水銀-DMBS キレート樹脂から溶離する。この溶液 5 µl を HPLC に注入する。なお、樹脂への水銀の捕集率を算出する際には、水銀標準溶液により 80(v/v)% DMF-水混合液中で DMBS と定量的に錯形成⁴⁾させた試料を用いて HPLC により検量線を作成し、これを利用して求めた。

3 結果及び考察

3・1 試薬担持樹脂への捕集及び溶離条件の検討

DMBS-XAD7 はグラム当たり 22.9 µmol の DMBS を担持していた。銅(II) イオンを用いて最大捕集容量を求めた結果、21.0 µmol/g と得られ¹¹⁾、80(v/v)% DMF-水混合液中で 1:1 の錯形成反応をすること⁴⁾とよく対応していた。

水銀の DMBS-XAD7 への捕集に及ぼす pH の影響を調べた結果を Fig. 1 に示す。水銀は 1 M 硝酸溶液 (pH=0) からでも定量的に捕集可能であるが、Fig. 2 に示すように 30 分間以上の振り混ぜ時間が必要であった。一方、0.01 M 硝酸溶液 (pH=2) からは 10 分間以

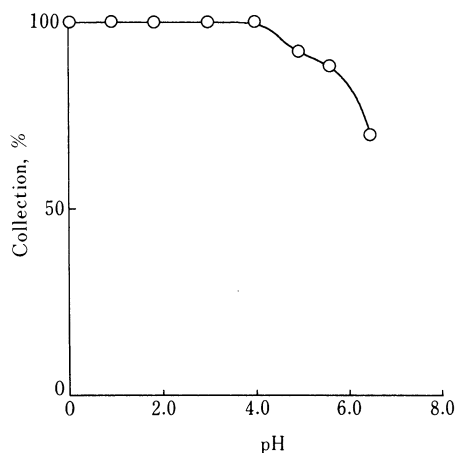


Fig. 1 Effect of pH on the collection of mercury
Hg(II): 1 µg in 100 ml of aqueous solution; Shaking time: 60 min

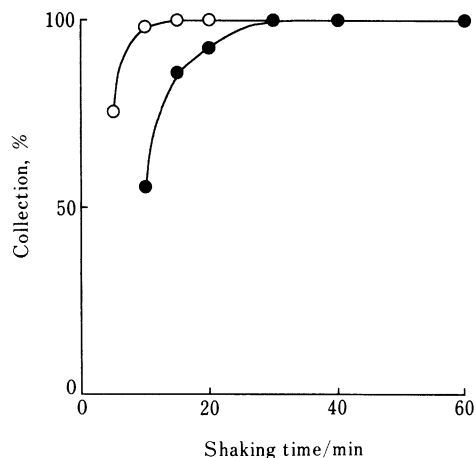


Fig. 2 Effect of shaking time on the collection of mercury
Hg(II): 1 µg in 100 ml of aqueous solution; DMBS-XAD7: 0.1 g; pH: (○)=2 and (●)=0; Eluted with 1 ml of DMF

上の振り混ぜ時間で水銀は定量的に捕集された。塩酸及び硫酸を用いても同様の結果が得られた。水銀の捕集に及ぼす樹脂量の影響について、DMBS-XAD7 を 0.05 g から 0.2 g まで変化させて捕集挙動を観察した。この範囲で水銀は定量的に捕集されるが、0.15 g 以上の樹脂を用いた場合 DMF 1 ml で水銀キレートを定量的に溶離させることができなかった。このような点から、ここで

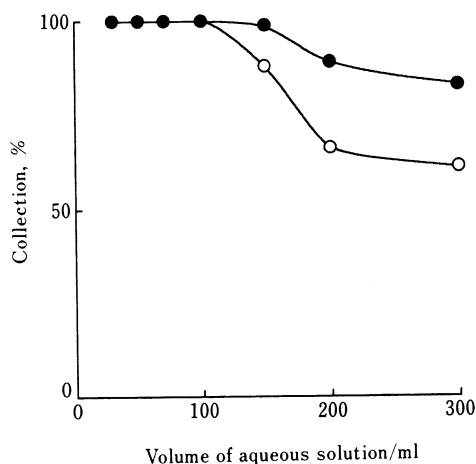


Fig. 3 Effect of aqueous volume on the collection of mercury

Hg(II): 1 μ g in aqueous solution at pH 2; DMBS-XAD7: 0.1 g; Shaking time: (○) 15 min and (●) 60 min; Eluted with 1 ml of DMF

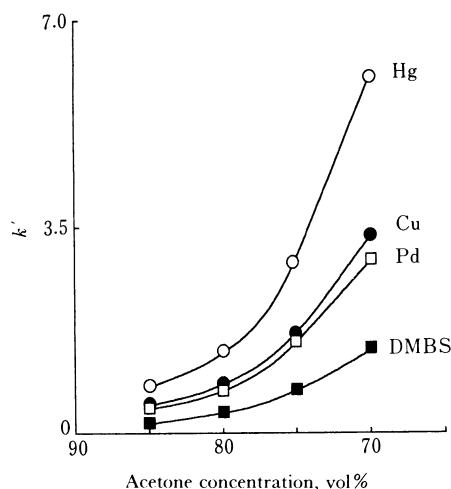


Fig. 4 Relationship between capacity factor (k') of dimethylglyoxal bis(4-phenyl-3-thiosemicarbazone) (DMBS) and their metal chelates and acetone concentration in the mobile phase

Mobile phase: acetone-water containing 0.01 M EDTA

は 0.1 g の DMBS-XAD7 を使用した。又、水相体積を変化させて検討した結果、水銀は 100 ml の水溶液からでも 0.1 g の樹脂に定量的に捕集された (Fig. 3)。又、Fig. 3 に示すように振り混ぜ時間を長くすることにより

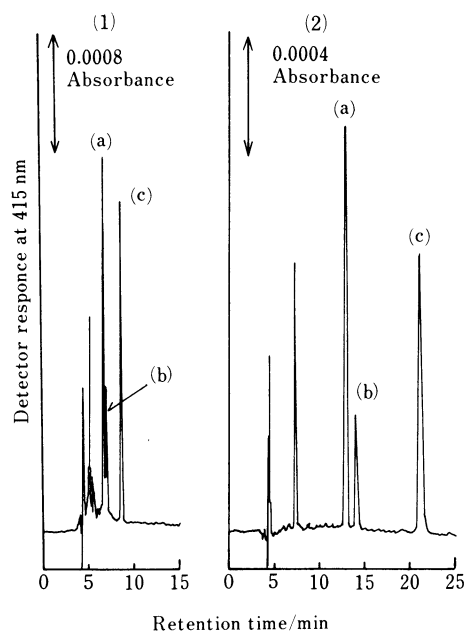


Fig. 5 Chromatograms of metal-DMBS chelates.

(a) Pd(II)-, (b) Cu(II)- and (c) Hg(II)-DMBS. The sample injected was prepared by following the procedure 2·3·2 from aqueous solution containing 1 μ g of Hg(II) and Cu(II), and 0.5 μ g of Pd(II). Mobile phase: (1) 80 (v/v)% acetone-water and (2) 70 (v/v)% acetone-water containing 0.01 M EDTA; Flow rate: 1 ml/min; Sample volume: 5 μ l

更に濃縮倍率を上げることが可能であった。樹脂からの分離については試薬及びその金属キレートの高溶解度の高い DMF を用いた。その結果、0.1 g の DMBS-XAD7 に捕集された水銀キレートを最初の DMF 1 ml で定量的に溶出させることができた。以上の検討結果より定量操作を 2·3·2 のようにした。

3·2 HPLC による定量条件の検討

過去に検討したように¹¹⁾pH=2 付近で水銀を DMBS-XAD7 に捕集する場合、パラジウムや銅も一部捕集されるため、これら金属イオンが共存する条件で検討を行った。移動相条件は過去に検討した結果を参考にアセトン-水移動相を用いた。測定波長は 400 nm から 450 nm の範囲で 5 nm ずつ波長を変化させて検討した結果から、水銀に対して最も高いピーク高さを与えた 415 nm とした。Fig. 4 に DMBS 及び各キレートの容量比 (k') と移動相中のアセトンの割合との関係を、又

Fig. 5 には典型的なクロマトグラムを示す。水銀-DMBS キレートはパラジウムや銅キレートのピーク位置と離れているためほとんど影響しない、移動相中のアセトンの割合を低くすることにより 3 元素の同時分析も可能と思われるが、今回は水銀の定量を目的としたため、80(v/v)% アセトン-水移動相を用いた。

吸光度フルスケール 0.0025 におけるピーク高さ (H) と濃度 (C) の関係を用いて検量線を作成したところ次式に示す直線関係が得られた。

$$C_{\text{Hg}}(\mu\text{g}) = 0.094 \times H(\text{cm}) + 0.014$$

SN 比 3 で定量下限は 0.04 μg と得られ、本法によりサブ ppb レベルの水銀の定量が可能であることが示唆された。又、水銀 0.5 μg を含む 100 ml の溶液を用い、2・3・2 の操作に従って得られた 5 回繰り返し測定 of 相対標準偏差は 2.2% であった。

3・3 実試料への応用

本法の実試料への適用性を検討するため、国立環境研究所 (NIES) の頭髪標準試料及び北見市周辺の池底質中の水銀(II) の定量を試みた。

頭髪試料は硝酸-過塩素酸法、底質試料は硫酸-硝酸-過マンガン酸カリウム法により、いずれも還流冷却器付属の丸底フラスコ中で低温湿式灰化¹²⁾した後、2・3・2 の操作に従って水銀(II) を定量した。底質試料については還元気化 AAS 法による分析値と比較した。得られた結果を Table 1 に示す。

若干の差は認められるが本法による定量結果と保証値及び AAS による定量値はおおむね一致した。

ここで利用した試薬担持樹脂は調製が簡単であり、デシケーター中で保存すれば 3 か月後でもその性能は変わらない。本法は DMF により試薬担持樹脂から試薬及びそのキレートを溶離させるため、1 回の使用しかで

Table 1 Application of the present method to the NIES standard material, Hair, and pond sediments around this institute comparing the data with those obtained by cold vapor AAS ($\mu\text{g g}^{-1}$)

NIES Hair	Pond Sediment	AAS
4.53 \pm 0.09 (n=3)	1.47 \pm 0.04 (n=3)	1.58
4.40 (certified)	0.89 \pm 0.10 (n=3)	1.09
	1.32 \pm 0.02 (n=3)	1.75

きないが、使用後の樹脂は DMF 及び酸により洗浄後、試薬担持樹脂として簡単に再生可能である。今後 DMBS と反応する他の金属イオンの吸光検出逆相 HPLC の前処理法としての応用が期待できる。

文 献

- 1) 星 座, 四ツ柳隆夫, 青村和夫: 分析化学, **26**, 592 (1977).
- 2) A. G. Asuero, J. M. Cano: *Analyst* (London), **103**, 140 (1978).
- 3) P. Heizmann, K. Ballschmiter: *J. Chromatogr.*, **137**, 153 (1977).
- 4) 星 座, 高橋則充, 井上貞信, 松原睦哉: 分析化学, **35**, 819 (1986).
- 5) 星 座, 加藤 信, 奈良雅史, 松原睦哉: 分析化学, **40**, 429 (1991).
- 6) K. Terada, A. Inoue, J. Inamura, T. Kiba: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **50**, 1060 (1977).
- 7) T. Braun, A. B. Farag: *Anal. Chim. Acta*, **71**, 133 (1974).
- 8) A. G. Howard, M. H. Arbab-Zavar: *Talanta*, **26**, 895 (1979).
- 9) M. Chikuma, M. Nakayama, T. Itoh, H. Tanaka: *Talanta*, **27**, 807 (1980).
- 10) C. Kantipury, S. Katragadda, A. Chow, H. D. Gesser: *Talanta*, **37**, 491 (1990).
- 11) S. Hoshi, H. Fujisawa, K. Nakamura, S. Nakata, M. Uto, K. Akatsuka: *Talanta*, **41**, 503 (1994).
- 12) 三島昌夫編著: “環境中の微量金属の測定—試料の前処理法”, p. 42, 180 (1985), (東京化学同人).



Determination of trace mercury(II) by reversed-phase HPLC with spectrophotometric detection after preconcentration with resin coated with dimethylglyoxal bis(4-phenyl-3-thiosemicarbazone). Suwaru HOSHI, Hideki FUJISAWA* and Masayuki UTO** (Department of *Applied and Environmental Chemistry and of **Functional Materials, Kitami Institute of Technology, 165, Koen-cho, Kitami-shi, Hokkaido 090)

Amberlite XAD-7 resin coated with dimethylglyoxal bis(4-phenyl-3-thiosemicarbazone)(DMBS) was prepared, and applied to the preconcentration of trace Hg(II) from aqueous solution. Hg(II) was quantitatively collected with the resin coated with the reagent (DMBS-XAD7) from acidic solution by the batch method. After collection, Hg(II) was eluted easily as its DMBS chelate with a small volume of *N,N*-dimethylformamide(DMF). This collection and elution method was applied to the determination of trace Hg(II). The recommended procedure is follows: to 100 ml of solution containing up to 1 µg of Hg(II) adjusted pH 2 with 5 M nitric acid in a 150 ml screw-capped glass bottle, add 0.1 g of DMBS-XAD7 and shake for 15 min. Filter the solution with a polyethylene column (i.d. 9 mm×65 mm height), and then elute Hg(II)-DMBS chelate from the resin with 1 ml of DMF, and inject 5 µl of the DMF solution to HPLC with spectrophotometric detection by using an ODS column (i.d. 6 mm×250 mm in length) and 80(v/v)% acetone-water mixed solution as a mobile phase. The calibration curves of peak height was linear in the concentration range of 0.1~1 µg for Hg(II) (0.0025 absorbance unit full-scale at 415 nm). The relative standard deviation (sample size concentration of 0.5 µg and 5 determinations) was 2.2%. The proposed method was applied successfully to the determination of mercury in hair (NIES standard sample) and other.

(Received March 7, 1994)

Keyword phrases

preconcentration of mercury(II); amberlite XAD-7 resin coated with dimethylglyoxal bis(4-phenyl-3-thiosemicarbazone); determination of mercury(II) by reversed-phase HPLC with spectrophotometric detection; mercury(II)-dimethylglyoxal bis(4-phenyl-3-thiosemicarbazone) chelate.
