

毛 髮 에 對 한 研 究* (第 2 報)

Circular Paper Chromatography 法에 依한 Trace Elements 의 定量法에 對하여

李 海 彬 吳 聖 禮 許 鈴

Hae Bin Lee, Sung Yea Oh, and Kum Haw : Biochemical studies on Hair(II)

Circular Paper Chromatographic Method for Estimation of Trace Elements

(Pharmacognosy Section, National Chemistry Laboratories)

The method for the estimation of trace elements in hair is studied on this paper modifying the circular paper chromatography method shown by Giri and Balakrishnan for the estimation of vitamins from the multivitamin preparation. The elements studied are Ni, Al, Mn, Mg, Zn, Ca, Co, Cu, and Fe.

The content of the element is estimated quantitatively by comparison the size and the color density of spots of the standard chromatogram prepared by the known amount of each standard substance and the chromatogram prepared from sample solution, after checking those chromatogram qualitatively.

The comparative study has been made between the results from this method and the results from the other methods which are applying routinely at this laboratories. The experimental errors at each elements were within 10% limits. There was no interference between each elements.

It is recommendable that this method can be applied to treat numerous specimens saving times within experimental error of 10%.

(Received October 29, 1958)

I. 緒 論

本報 第1報⁽¹⁾에서 愼및許는 韓國人頭髮 275種에 對하여 Trace Element로서 Fe, Cu, Co, Mn, Zn, Ni 및 Al의 定性的 分布狀態에 對하여 報告한바 있거니와 頭髮에 對한 Trace Element의 意義에 對하여서는 定量的인 分布狀態를 調查하여야 하므로 本報告에 있어서는 前報에서 定性的으로 調查한 方法을 定量的으로 調查할 수 있게 그 方法을 Fe, Cu, Co, Zn, Ni, Al, Ca, Mn 및 Mg에 對하여 案出하여 報告하는 바이다.

II. 實 驗 方 法

Trace Element의 定量에는 現在 普通使用되고 있는 方法으로서는 Spectrophotometer에 依한 方法⁽²⁾ Dinta氏等에 依한 Flamephotometer와 Spectrometer法에 依한 方法⁽³⁾과 Pollarograph法⁽⁴⁾ Paper chromatography法⁽⁵⁾ 등이 있으나 本實驗에서는 Giri氏가 綜名비타민製劑에서 各 Vitamin의 分離定量에 利用한 Circular Paper Chromatography法⁽⁵⁾을 應用하였다. 本實驗에 使用한 蒸溜水는 Pyrex 裝置로서 再蒸溜한 것이다.

1. 標準溶液의 調製

本實驗에 있어서 定量用對照로 使用한 標準溶液은 化學적으로 純粹한 第1表의 試藥을 가지고 0.0100%, 0.0250%, 0.0750%, 0.0500%, 0.1000%의 各各元素로서의 濃度の溶液을 調製하여 各各 標準溶液으로 하였다.

* 大韓藥學會 第7回總會發表 (4291年 10月 13日)

試 藥 名	化 學 式	規 格	製 造 所 名
窒酸알루미늄 Aluminum Nitrate	$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	Certified Reagent	Fisher Scientific Company
窒 酸 鐵 Ferric Nitrate	$Fe(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$	〃	〃
窒 酸 亞 鉛 Zinc Nitrate	$Zn(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	〃	〃
黃酸망강 Manganese (ous) Sulfate	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	〃	〃
窒 酸 칼 시 음 Calcium Nitrate	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	〃	〃
黃 酸 銅 Cupric Sulfate	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	〃	〃
窒 酸 닉 켈 Nickel (ous) Nitrate	$Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	〃	〃
窒酸막네시움Magnesium Nitrate	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	〃	〃
窒酸코발트Cobalt Nitrate	$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	〃	〃

2. 展 開 液

本實驗에 使用한 展開液은 Alcohol : 5N-HCl(10%)로서 여기에 使用한 Alcohol과 鹽酸은 Fisher Scientific Company 製를 使用하였다.

3. 濾 過 紙

徑 11cm의 東洋定量濾過紙 No. 5B

4. 呈 色 試 液

0.5%의 Alizarin-Alcohol 溶液이며 여기에 使用한 Alizarin도 또한 Fisher Scientific Company 製品이다.

5. 定 量 的 實 施

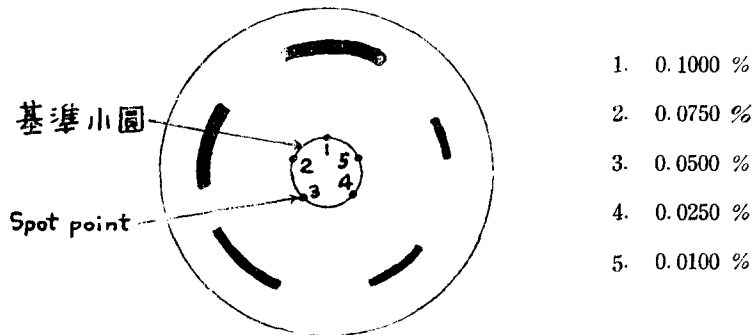
徑 11cm 東洋定量濾過紙 No. 5B에 徑 2.5cm의 基準小圓을 그리고 그 위에 0.0100%로부터 0.1000%의 標準溶液을 順次로 돌아가며 Paper Chromatography用 micropipett를 使用하여 0.002 cc. 式 spot하고 展開는 本報 第1報⁽¹⁾의 毛髮의 Trace Element에 使用한 바와 같이 desiccator를 chamber로 하고 上記한 展開液에 依하여 展開시켰다. 展開한 濾紙를 60°~70°C에서 完全히 乾燥시키고 呈色試液을 spray한 다음 乾燥하고 Ammonia水(Fisher scientific Company 製)를 spray하여 Chromatogram을 얻었다.

呈色試液과 Ammonia水の spray는 注意를 하여 各展開時마다 均一하게 spray되도록 努力하였다.

6. 標準 Chromatogram의 作成

本實驗에서 使用한 標準 Chromatogram은 標準物質의 各濃度の 標準液을 가지고 上記한 操作에 依하여 展開하여 第1圖과 같이 作成하였고 各標準物質에 對하여 各各 標準 Chromatogram을 作成하였다.

第 1 圖 Chromatogram



7. 定 量

定量에는 檢液을 가지고 Trace Element를 먼저 確認하고자 本報 第1報⁽¹⁾에서 實施한 新法에 準하여 試液과 各標準物質의 0.1000% 標準液을 取하여 2枚의 徑 11cm 東洋定量濾過紙에 No. 5B에 나누어 展開시켜 얻은 第2圖과 같은 Chromatogram에 依하여 試液과 標準物質의 spot를 比較하여 同心圓上에 나타나는 것으로 溶液에 들어 있는 Trace Element를 確認하였고 다음에 檢液에 含有되어 있는 Trace Element를 定量하기

爲하여 따로 東洋定量濾過紙 No. 5B 에 檢液만으로 4點에 spot 하여 展開시켜서 얻은 Chromatogram 을 各標準物質의 標準 Chromatogram 과 比較하여 肉眼으로서 그 spot 의 크기와 形色의 色度の 差異로서 檢液에서 얻은 spot 가 標準物質에서 얻은 그 元素의 標準 Chromatogram 上의 어떤 濃度の spot 와 同一한가를 決定한 다음에 檢液中の element 의 含量을 計算하였다. 이때 檢液에 含有되고 있는 Trace Element 의 濃도가 標準 Chromatogram 에 比較할 수 없이 濃厚할 때는 그 檢液을 稀釋하여 使用하였다. 그 spot 의 比較에 있어 同一치 않을 때는, 肉眼으로서 大略 該當되고 있는 標準溶液의 濃度間의 中間值 或은 $1/4$, $3/4$ 에 該當하는 濃度の 標準溶液을 다시 調製하여 다시 標準 Chromatogram 을 만들어 定量에 使用하였다.

第 2 圖



III. 他方法과의 比較

任意의 檢體에 對하여 本方法에 依하여 얻은 成績과 現在 使用되고 있는 他方法에 依하여 얻은 成績을 比較하면 다음 第2表와 같다.

第2表 比較試驗成績

方 法 元 素	Cu	Ni	Co	Fe	Ca	Al	Zn	Mn	Mg
本方法에 依한成績(%)	0.25	0.35	0.30	0.20	0.35	0.35	0.45	0.35	0.40
他方法에 依한成績(%)	0.38	0.38	0.31	0.21	0.37	0.35	0.42	0.31	0.36

上記 表에서 他方法에 依한 成績이라 함은 現在 中央化學研究所에서 各元素의 定量方法으로 使用하고 있는 方法으로서

Fe ⁺⁺⁺	KMnO ₄ 滴定法
Zn ⁺⁺	K ₄ Fe(CN) ₆ 滴定法
Ca ⁺⁺	KMnO ₄ 滴定法
Co ⁺⁺ , Cu ⁺⁺ , Ni ⁺⁺ ...	Colorimeter 를 使用하는 比色法
Mn ⁺⁺	蒼鉛酸鹽法
Al ⁺⁺⁺	Al ₂ O ₃ 로 하여 秤量하는 重量法
Mg ⁺⁺	Mg ₂ P ₂ O ₆ 로 하여 秤量하는 重量法이다.

IV. 考 察 및 結 論

上記 成績에 依하면 任意의 檢體에 對하여 本方法에 依한 成績과 他方法에 依한 成績과를 比較하면 그 差異는 大概 10%以內이며 多數의 檢體를 取扱함에 있어서는 大端히 簡便한 方法이라 思慮되는 바이며 未知可檢物에 對한 成績은 別途로 報告되는 毛髮의 Trace Element 의 含量에 依한 것과 같이 各元素의 檢出이 明確히 區別이 되며 또한 各元素相互間에 interfere 도 없으므로 混合檢體에 對하여서도 簡單히 實驗할 수 있다는 것을 確認하였다.

本方法에 依하면 本報告에서 檢討한 各 element 間의 interfere 는 上記한 바와 같이 없으며 其外의 element 에 對한 interfere 가 있는가 없는가에 對하여서는 本方法에 對한 統計學的檢討와 함께 앞으로 檢討하고자 하는 바이다.

끝으로 本調査에 있어 未知可檢物에 對하여 各元素의 定量을 現在 各實驗室에서 實施하고 있는 方法에 準하여 定量하여 주신 鄭寅洙, 劉貞烈, 徐仁昌諸氏에게 謝意를 表하는 바이다.

(中央化學研究所 生藥科)

文 獻

- (1) 許鈴, 楨亨撰; 中央化學研究所 報告 第六卷 49~56面(1957)
- (2) E.B. Sandell; Colorimetric Determination of Trace of metals (1950)
- (3) Dinta; U.N Secretariat ST/SOA/SEA. K/63 (1957)
- (4) W. Stiles; Trace Elements in plant and animals (1946)
- (5) Lederer and Lederer; Chromatography, Page 317 (1955)
- (6) Giri and Balakrishnan; Anal. Chem, Vol 27, page 1178 (1955)