

용매추출과 원자흡수분광법에 의한 혈청시료중 카드뮴의 분리 및 정량

李錫基* · 鄭昌雄†

동안엔지니어링(주) 부설연구소
순천향대학교 자연과학대학 화학과
(1998. 10. 27 접수)

Separation and Determination of Cadmium in Blood Serum by Solvent Extraction and Atomic Absorption Spectrophotometry

Seok Ki Lee* and Chang Ung Joung†

R & D Center, Dongahn Engineering Co. Ltd, 281-20 Songsu-dong, Sungdong-ku, Seoul 133-123, Korea

†Department of Chemistry, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam 336-745, Korea

(Received October 27, 1998)

요 약. 미량의 카드뮴을 KSCN용액에서 착이온을 생성시키고, 4차아민염을 유기용매인 MIBK에 녹여서 카드뮴을 추출 분리시키는 실험을 수행하였다. 추출용기로 분액깔대기 대신 나사식 마개가 있는 시험관과 비중이 물보다 작은 희석제를 사용하여 상분리를 하지 않고 신속하게 분석할 수 있었고, 분석시 방해가 거의 없고, 선택성이 높으며, 22배의 농축효과를 나타냈다. 검출한계가 0.7 ppb로 극미량의 카드뮴도 용이하게 분석할 수 있었고, 제안된 분석법을 혈청 중의 카드뮴 분석에 적용한 결과, 종래의 trichloroacetic acid법과 비교하여 표준편차가 2.8이하로 재현성이 높았으며, 극미량의 카드뮴을 볼꽃 원자흡수분광법으로 정량 가능하였다. 유기층으로 추출된 카드뮴착염은 장시간 안정하였고, 또한 추출 메커니즘을 규명하였다.

ABSTRACT. Trace amount of cadmium was quantitatively extracted with 1% Aliquat 336-MIBK from 0.2M KSCN and 0.01M-HCl. Test tubes with a screw cap stopper were used for extraction in place of conventional separating funnels and organic solvents used were less dense than water. In this analysis, 22 times concentration effect was achieved with higher selectivity without interference. The detection limit of cadmium was 0.7ppb, therefore trace cadmium was easily analyzed by this method. The proposed method was applied to the determination of cadmium in blood serum and extraction mechanism was elucidated.

서 론

카드뮴은 분진이나 증기 형태로 발산되어 작업환경에서 인체에 영향을 주는 등 직업적으로 카드뮴에 노출되는 일이 점차로 증가하고 있는 반면, 비직업적인 카드뮴 폭포로서 토양이나 수질오염과 같은 환경요인과 흡연, 식품 등을 통해서 일반 지역주민들도 카드뮴에 폭로되기도 한다. 대표적인 사건으로는 일본의 Itai-Itai병이 있다.¹

카드뮴은 호흡기로 흡입된 양의 50% 정도가 체내에 흡수되며, 위장관을 통한 흡수는 10% 미만이다.

일반적으로 혈액에 존재하는 카드뮴의 70% 이상이 적혈구에서 발견되며, 뼈에 가장 많이 침착하여 생물학적 반감기가 10~30년으로 천천히 배설된다.^{1~3} 카드뮴의 체내 축적량은 호흡기 질환, 고혈압과 관련이 있으며, 또한, 뼈, 신장 및 간에 손상을 준다. 카드뮴은 필수금속이 아니며 체내에 극미량수준(0.5~10 ng/mL)이 존재하여 그 농도를 분석하는 데 많은 어려움이 뒤따른다.^{4~5}

생체시료인 혈청 중에 있는 이 원소들을 정량하기 위한 전처리 과정에는 trichloroacetic acid(TCA) 용액

과 혈액을 1:1로 혼합하고 물 증탕에서 가온하여 단백질을 침전시킨 후 그 상등액을 분석용액으로 하는 TCA법, 회석법, 습식회화법 등이 잘 알려져 있다. 그러나 이 방법은 분석 용액과 바탕 용액간의 성분 물질의 차이가 크고 혈청 내에 각종 무기 금속 이온들을 동반하므로 정량시 방해물을 주는가 하면 회석으로 인하여 극미량 원소들은 더욱 묽어져 분석을 어렵게 한다.⁶

이와 같은 어려움이 있어 전처리된 시료 중 이 원소를 추출하기 위해서 흔히 사용하는 추출제로는 일반적으로 APDC(ammonium pyrrolidine dithiocarbamate), DDTC(diethylammonium diethyldithiocarbamate) 및 dithizone 등이 있는데 그중 APDC가 가장 널리 사용되며 추출율도 매우 우수하다. APDC를 사용하는 경우 질산, 과염소산, 황산 등과 같은 산으로 시료를 습식회화하여 이를 MIBK(methyl isobutyl ketone), 또는 chloroform 등의 유기용매로 추출하여 분리 농축한다.⁶

본 연구는 혈청시료 중 카드뮴의 분석에 있어 아민염을 이용한 용매 추출과 원자흡광분광법을 이용하여 여러 개의 시료를 단기간에 정량 할 수 있는 신속한 방법과 분석감도를 증가시키는데 목적을 두고, 본 연구를 시도하였다. 혈청시료를 습식분해한 후, thiocyanate를 가하고, 산 농도를 변화시키면서 금속착이온의 생성이 용이한 최적 산도를 구하였고, 이 조건에서 각각의 아민염과 농도를 변화시키면서 최적의 추출조건을 검토하였다.

실 험

기기 및 시약

기 기. 분석에 사용한 기기는 불꽃 및 흑연로 원자흡수분광광도계(GFAAS, Model AA-6701, Japan, Shimadzu)로 내부에는 D₂ 바탕보정장치가 장착되어 있으며, GFA-6500(graphite furnace atomizer)과 ASC-6100 자동시료주입장치(auto sampler)가 부착된 기기를 사용하였고, 기기의 작동조건은 Table 1에 나타냈다.

사용된 모든 초자기구는 20% 질산에 24시간 담구었다가 다시 초순수에 24시간 이상 담근 후, 사용직전 초순수로 여러 번 세척하여 완전히 건조한 후 사용하였다. 아민을 사용한 기구는 알콜을 용액에 24시간 담

Table 1. Instrumental parameters for AAS determination of Cd

Wavelength (nm)	228.8
Silt width (nm)	0.5
Lamp current (mA)	8
Flame	Air-C ₂ H ₂
Fuel gas flow (L/min)	1.8
Observation height (mm)	8

근 후, 위와 같은 과정으로 세척하였다.

미국 Continental사의 Model LBUV2-2020 초순수 제조장치를 사용했으며, 이때 저항값은 18.2 MΩ 이었다. 진탕기는 시판제품을 사용하지 않고, 자체 제작하여 80 mL시험관 100여개를 넣어 진탕할 수 있는 나무상자를 부착하여 사용하였다. 진폭은 6 cm이고, 회전수는 분당 154회였다.

시 약. 본 실험에 사용한 시약은 특별한 언급이 없는 한 A.R급을 사용하였고, 질산(70%)과 염산(40%) 및 황산(98%)은 등우반도체약품의 전자급 시약들을 사용하였다.

카드뮴의 표준용액은 원자흡수분광용(Wako, Japan 1000 mg/L) 용액을 단계적으로 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

Cd-MIBK 표준 용액제조. MIBK(Methy Isobutyl Ketone)용매로 추출한 카드뮴의 thiocyanate착물은 3주 일 이상이 지나도 일정한 흡광도를 유지하였고, 일시에 진한 Cd-MIBK용액을 제조하여 마개가 있는 무게다는 병에 넣어 저장하였고, 순수한 MIBK로서 필요한 농도로 희석하여 Cd-MIBK표준용액을 제조하였다. 제조방법은 100 mL 분액갈대기에 20 µg/mL의 카드뮴을 1 mL취하고, 0.5 M 염산 용액 1 mL와 0.2 M-KSCN용액으로 전체가 50 mL가 되게 가한 후, 1% Aliquat 336-MIBK 5 mL로 2회 추출하여 유기층을 무게다는 병에 받아서 2 ppm의 Cd-MIBK용액을 제조하였다.

Amine류. Amberlite LA-1과 LA-2는 Fisher Scientific Co. 제품, Alamine 336과 Aliquat 336은 Henkel Co. 제품, 사용하였으며, 회석제로는 MIBK를 사용하였다.

추출 및 정량방법. 분액갈대기 대신에 나사식 마개가 있는 시험관 80 mL에 7.5 µg/mL 카드뮴 1 mL를 취하고, 0.5 M 염산용액 1 mL를 가한 후, 0.2 M KSCN용액으로 전체의 부피가 50 mL가 되게 하였다. 여기에 비중이 물보다 작은 유기용매인 1% Aliquat

336-MIBK 용액을 10 mL 가하고, 마개를 단단히 막은 후, 진탕기를 이용하여 10분간 진탕한 후, 10분간 정착하였다. 별도의 상분리 과정이 없이, 수용액층과 유기층이 분리되면, 분리된 유기층을 시료로 하여, 유기층과 같은 MIBK를 바탕용액으로 사용하여, 원자흡수분광광도계로 카드뮴의 흡광도를 측정하였다.

시료의 전처리. 건강한 성인으로부터 채혈한 혈액으로부터 얻은 혈청을 100 mL 테프론 비이커 2개에 각각 20 mL씩 정확히 취하여, Delves⁷ 방법을 약간 변경하여 탈이온수 3~4 mL로 비이커의 벽을 씻어 내린 후 진한 질산 25 mL와 진한 과염소산 5 mL, 5 M-황산 용액 1 mL를 가하여 잘 혼합하여 주었다. 15분 방치한 후, 150°C로 가열된 가열판 위에서 맑은 황갈색 용액으로 될 때까지 가열하였다. 온도를 200°C로 올려 과염소산의 흰 연기를 발생시키고, 용액을 증발 건조하였다. 증발 건조된 혈청을 0.01 M-염산용액 10 mL로 비이커 벽을 씻어 내린 후, 시계접시로 비이커를 덮고, 잔사가 완전히 녹을 때까지 잠시동안 온화하게 가열한다. 시계접시를 산용액으로 씻어 내리고, 냉각한 후, 이 용액을 50 mL 용량 플라스크에 옮기고, 0.01M-HCl용액으로 표선 까지 채웠다.

결과 및 고찰

추출조건. AAS에서 카드뮴 수용액(0.75 mg/L)의 흡광도는 0.200 Abs를 얻을 수 있다. 용매추출에 사용한 thiocyanate 착물을 Aliquat 336-MIBK로 추출할 때 여러 산의 농도의 영향을 검토한 결과(Fig. 1) 산의 농도가 0.001~0.01 M까지는 0.440Abs의 흡광도를 나타냈으며, 그 이상의 농도에서는 흡광도가 급격히 감소하였다. 0.01 M 이하에서는 에멀전 현상으로 상분리

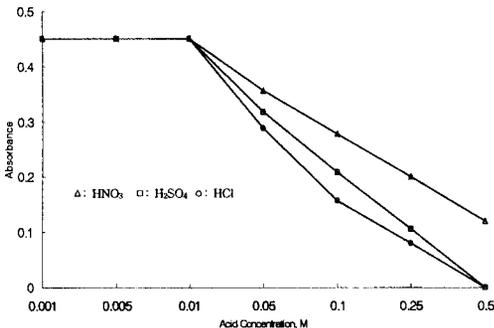


Fig. 1. Effect of acid concentrations on Cd (II) extraction with 1% Aliquat 336-MIBK.

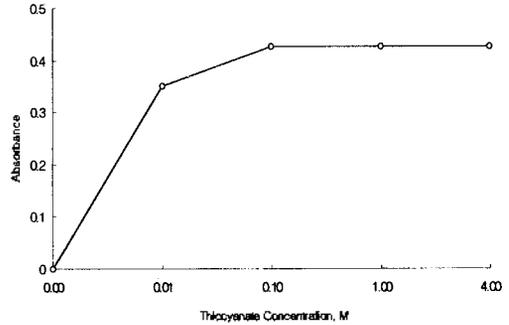


Fig. 2. Effect of thiocyanate concentration on Cd(II) extraction with 1% Aliquat 336-MIBK.

에 시간이 많이 걸리기 때문에 이후 실험은 0.01 M 염산용액으로 산농도를 일정하게 유지하여 실시하였다.

금속 착이온의 추출율은 매질의 산도에 영향을 받는데, 산의 농도가 증가하면 추출율이 감소하는 이유는 H₂O⁺의 농도 증가가 금속 착이온의 안정도를 감소시키는 것으로 생각된다. 또한 산의 종류에 따라 추출율이 상이한 것은 수용액에서 Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻의 용매화 정도와 아민 양이온과 친화도의 차이라고 설명할 수 있다.

Cd²⁺ 착이온을 생성하는 SCN⁻ 리간드의 최적조건을 검토하기 위하여 SCN⁻의 농도를 변경하면서 흡광도를 측정하였다. 이때 0.1~4.0 M까지는 흡광도가 거의 일정하였다(Fig. 2). 카드뮴이 리간드와 착물을 만들 때에는 리간드 농도에 따라 금속이온: SCN⁻의 몰 비가 1:2, 1:3, 1:4 로 변하는데⁸, 본 실험에서는 1:4 이었다.

숯πον기, 카르복실기를 가진 액상교환체나 4차 아민류는 표면활성으로 사용에 제한이 따른다.⁹ 본 실험에서는 산과 SCN⁻의 농도가 에멀전 현상이 생성되지 않는 범위내이고 4차 아민의 일종인 Aliquat 336의 농도 또한 1%로 묽어 문체가 되지 않았다.

추출제의 선택. 카드뮴 추출을 위해 2차 아민으로 Amberlite LA-1과 LA-2를, 3차 아민으로 Alamine 336, 4차 아민으로 Aliquat 336을 MIBK 용매에 녹여 1%로 만들어 사용하였는데, 아민의 종류에 따라 각각 다른 흡광도를 나타내었는데(Fig. 3), 이 중에서 흡광도가 가장 높게 측정된 Aliquat 336을 선택하였다.

유기용매의 영향. 불꽃 분광법에 사용하는 유기용매는 분무화 효율이 높고, 연소가 잘 되며, 원자화효율

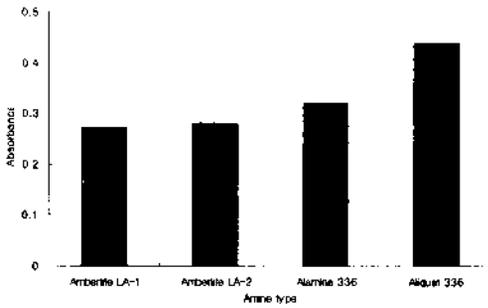


Fig. 3. Comparison of various amines for cadmium extraction with 1% Amines-MIBK.

을 촉진시키고, 잡음으로 인한 분석결과의 오차가 생기지 않고 바탕흡수와 방출이 낮고, 연소시에 독성물질을 만들지 않아야 한다. 또한 휘발성이 낮고, 수용액에 대한 용해도가 작고, 분배계수가 크며, 용매자체의 독성이 작아 취급이 용이하고, 가격이 저렴하며, 순수한 상태로 이용할 수 있는 용매가 이상적이다. 비교적 좋은 용매로는 탄소의 수가 5~7범위인 케톤과 에스테류이며, 분자량이 크지 않은 지방족 알코올 등이다. 일반적으로 불꽃이 환원성 조건일 때, 시료의 원지화가 촉진되는데, 사용되는 유기용매 분자의 산소와 탄소수의 비율에 따라 $C/O > 1$ 이면 불꽃을 환원상태로 되게 하는 환원성용매(MIBK, C_2H_5OH)이고 $C/O = 0$ 이면 영향을 주지 않는 중성용매(CH_3OH), $C/O < 1$ 일 때, 산화용매($HCOOH$)로 설명한 논문도 있다.¹⁰ 케톤류의 용매인 MIBK는 특별한 독성과 불쾌한 냄새가 없고, 가격이 저렴하며, 강한 산성용액을 제외하고는 수용액에서 난용성이고, 점성도가 낮으며, 분무화 효율과 연소성이 뛰어나 불꽃 분광법에 널리 사용되고 있다. 에스테류로는 에틸, n-프로필, n-부틸, iso-부틸 아세테이트는 분무화 효율이 높아 널리 사용되는데, 부틸아세테이트는 독성이 있어 취급에 주의가 필요하다. 알코올류는 대부분 물에 완전히 녹기 때문에 비교적 용해도가 작은 n-부탄올, sec-부틸알코올을 단독으로 사용하거나 MIBK와 혼합해서 사용한다. 본 실험에서는 여

러 종류의 유기용매를 검토한 결과 MIBK를 사용하였을 때가 흡광도가 가장 우수하였는데, 수용액에서 보다 감도가 2.2배만큼 증가하였다(Table 2). 이런 결과는 MIBK가 분무화 효율과 원자화효율이 가장 좋은 것으로 생각된다. De^{11} 등은 용매의 유전상수가 클수록 추출율은 증가한다고 하였는데 본 실험에서는 amylalcohol을 제외하고 유전상수가 큰 유기용매에서 흡광도가 높았다.

방해이온의 영향. 카드뮴의 추출, 정량에 여러 양이온과 음이온들의 영향을 검토하기 위하여 사람의 혈청 주성분 원소들을 2배 이상 가하고 방해여부를 조사하였으나 큰 방해영향은 없었다(Table 3).

검정곡선과 추출 메커니즘. 수용액 50 mL 중에서 $Cd(II)$ 농도를 증가시키면서 1% Aliquat 336-MIBK 10 mL로 추출하였을 때의 흡광도 변화를 살펴본 결과,

Table 3. Effect of diverse ions on extraction of cadmium with Aliquat 336-MIBK Aqueous phase; 50 mL ($Cd(II)$ 7.5 μg , 0.01M-HCl, 0.2M- SCN^-) Organic phase; 1% Aliquat 336-MIBK 10mL

Diverse ions	Source	Amount added (μg)	Absorbance
No addition	-	-	
Pb^{2+}	$Pb(NO_3)_2$	1000	0.44
Al^{3+}	$AlCl_3$	500	0.44
Ca^{2+}	$CaCl_2$	500	0.44
		5000	0.44
Zn^{2+}	$Zn(NO_3)_2$	500	0.44
		2000	0.42
Sb^{3+}	$SbCl_3$	100	0.44
Fe^{3+}	$FeCl_3$	4×10^4 (a)	0.44
Cu^{2+}	$Cu(NO_3)_2$	2×10^4 (b)	0.44
K^+	KNO_3	4×10^4	0.44
Mg^{2+}	$MgCl_2$	1500	0.44
Na^+	$NaNO_3$	2×10^5	0.45
Cl^-	$NaCl$	2×10^5	0.45
PO_4^{3-}	Na_2HPO_4	1×10^4	0.43
S^{2-}	Na_2S	3×10^4	0.44

(a) Added 0.6g of NaF

(b) Added small amounts of thiourea

Table 2. Comparison of various organic solvents for $Cd(II)$ measurement by AAS

Organic Solvents	Formula	*Solubility	Dielectric constant	Absorbance
n-Hexane	$CH_3(CH_2)_4CH_3$	i	0.89	0.08
Iso-Amylacetate	$CH_3CO_2(CH_2)_2CH(CH_3)_2$	V.S.I.S	4.75	0.34
MIBK	$(CH_3)_2CHCH_2COCH_3$	2	13.1	0.44
Iso-Amylalcohol	$(CH_3)_2CH(CH_2)_2OH$	2	13.9	0.01

*Solubility in 100 parts water, i: insoluble, V.S.I.S: Very slightly soluble

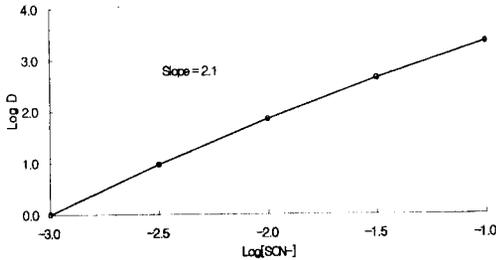


Fig. 4. Plot of log D against log [SCN⁻] at constant [Amine]. Aqueous phase; 50 mL (Cd(II) 0.15 ppm, 0.01M-HCl, M-SCN⁻) Amine; 10 mL (0.018 M, Aliquat 336-MIBK).

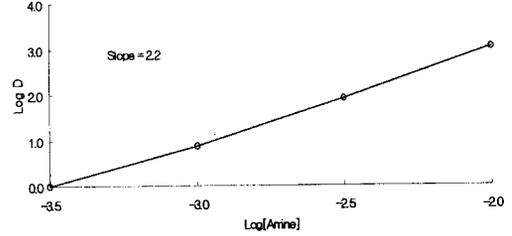


Fig. 5. Plot of log D against log [Amine] at constant [SCN⁻] Aqueous phase; 50 mL (Cd(II) 0.15 ppm, 0.01 M-HCl, 0.2 M-SCN⁻) Amine; 10 mL (M, Aliquat 336-MIBK).

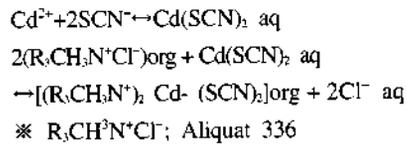
0~1.2 ppm까지 Beer법칙이 적용되었다. 수용액 중 카드뮴을 유기용매 10 mL로 추출하여 20회 측정된 흡광도 값으로 다음식¹⁾에 의하여 검출한계를 구해본 결과 검출한계는 0.7 ppb이었다.

$$\text{Detection limit} = \frac{\text{standard concentration} \times 2 \text{ standard deviation}}{\text{mean absorbance}}$$

$$\text{Cd} = \frac{0.02(\mu\text{g/mL}) \times 2 \times 0.0012}{0.068} = 7.0 \times 10^{-4} \text{ (mg/mL)}$$

수용액에서 생성되는 카드뮴착이온의 조성을 검토하기 위하여 De¹⁾의 방법에 따라 추출제인 Aliquat 336-MIBK의 농도를 0.018M(1%)로 일정하게 하고, SCN⁻의 농도를 변경시키면서 유기 층으로 추출되는 분배계수를 구하여 최소자승법으로 도식한 결과, 이때 직선의 기울기는 약 2인데(Fig. 4), 이것은 중성추출 계에서는 Cd(II): SCN⁻=1:2의 몰 비로 반응한다고 설명할 수 있고, 추출에 관여하는 아민의 몰 비를 검토하기 위하여 SCN⁻의 농도를 0.2 M로 고정시키고 아민의 농도를 변경시키면서 도식한 결과 기울기는 약 2인데(Fig. 5), 이것은 Cd(SCN)₂: 아민=1:2의 몰 비로 반응하고 있음을 나타낸다. 이와 같은 실험결과를 토대로 하여 다음과 같은 추출 반응메커니즘을 제안할 수 있

다.



시료의 분석, 80 mL 나사식 마개가 있는 시험관에 전처리된 혈청 50 mL를 취하고, 여기에 KSCN 시약을 직접가해 0.2 M이 되게 한 다음, 1% Aliquat 336-MIBK 5 mL로도 충분히 추출이 가능하였으므로 10배의 농축효과를 거둘수 있고 감도증가가 2.2배 이므로 농축계수는 22배로 불꽃원자흡수분광기를 사용하여 분석이 가능하였다. Table 4는 본 방법과 TCA 법을 비교하여 분석한 결과로 표준편차 2.8을 넘지 않는 비교적 높은 재현성을 나타내었으며, TCA법에서는 혈청내의 미량의 카드뮴을 불꽃 원자흡수분광법으로는 측정이 불가능하여 흑연로 원자흡수분광법(GFAAS)을 사용하였다.

결 론

미량의 카드뮴을 KSCN용액에서 착이온을 생성시키고, 고분자 4차 알킬아민을 MIBK에 녹여 수용액 중의 카드뮴을 유기용매 층으로 추출 농축시키는 일련의 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Table 4. Determination of cadmium in blood serum

Unit: $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$

Serum sample suppliers	Proposed method		TCA method*	
	unspiked	spiked (5 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$)	unspiked	spiked (5 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$)
A	0.30 \pm 0.011	5.34 \pm 0.016	0.34 \pm 0.027	5.30 \pm 0.030
B	0.23 \pm 0.009	5.22 \pm 0.012	0.20 \pm 0.030	5.23 \pm 0.041
C	0.25 \pm 0.020	5.27 \pm 0.015	0.23 \pm 0.040	5.20 \pm 0.044
D	0.35 \pm 0.013	5.36 \pm 0.020	0.33 \pm 0.030	5.35 \pm 0.057

* TCA method was performed by GFAAS

Values of determination are 5 replicates

(1) 추출용기로 분액깔대기 대신 나사식 마개가 있는 시험관과 비중이 물보다 작은 유기용매를 사용하여 별도의 상분리 없이 신속하게 시료분석이 가능하였다.

(2) 분석시 방해가 거의 없고, 선택성이 높으며, 22배의 농축효과를 나타냈다. 검출한계가 0.7 ppb로 극미량의 카드뮴도 용이하게 분석할 수 있었다.

(3) 본 방법을 혈청 중의 카드뮴 분석에 적용한 결과, 종래의 TCA법과 비교하여 표준편차 2.8을 넘지 않는 비교적 재현성이 높은 결과를 얻었으며, TCA법에서는 불가능한 극미량의 카드뮴을 불꽃 원자흡수분광법으로 정량 가능하였다.

(4) 유기층으로 추출된 카드뮴착염은 장시간 안정하였고, 또한 추출 메커니즘을 규명하였다.

인용문헌

1. 和田攻.; *金屬とヒト-エコトキシコロジーと臨床*, 朝倉書店: 東京, JAPAN, 1992; p 246-258.
2. Tsalev, D. L., Zaprianov, Z. K.; *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Determination of individual elements*; CRC Press: Boca Raton, F. L., 1983, Vol. I, p 105.
3. Watanabe, T.; Ikeda, M. *et al. Environ. Research.* **1983**, *31*, 472.
4. Tsalev, D. L.; *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Determination of individual elements*; CRC Press: Boca Raton, F. L., 1984; Vol. II, p 39.
5. Tsalev, D. L.; *Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Determination of individual elements*; CRC Press: Boca Raton, F. L., 1995; Vol. III, p 51.
6. Sanzalone, R. F.; Chao, T. T.; Crenshaw, G. L. *Anal. Chim. Acta.* **1979**, *105*, 247.
7. Delves, H. T.; Shepherd, G.; and Vinter, P. *Analyst.* **1971**, *96*, 260.
8. Rozycki, C.; Lachowicz, E.; Jodelka, J. *Chem Anal.* **1974**, *19*, 639.
9. Marinsky, J. A., Marcus, Y.; *Ion Exchange and Solvent Extraction*; Marcel Dekker: New York, U. S. A., 1989; Vol. 4, p 158.
10. Kim, C. H. *Progress in Chemistry and Chemical Industry* **1976**, *16*, 304.
11. De, A. K. *J. Indian Chem. Soc.* **1982**, *59*, 1334.
12. Amos, M. D., *et al.*; *Basic Atomic Absorption Spectroscopy*; Varian Techtron Pty. Ltd: Australia, 1975; p 104.