- 2) コルトフ: “容量分析の理論”, 第6版, p. 110 (1955), (共立出版).
- 3) 長野晃三: “金属キレート”, [I], p. 213 (1965), (南江堂).
- 4) 田村文造: 本誌, **16**, 193 (1967).
- 5) 鹿島 哲: 衛生誌, **74**, 9 (1956).

☆

Quantitative determination of weak acids, weak bases and their salts by the absorbance ratio method. (Difference quantitative determination. II.) Bunzō TAMURA, Ikuyo FURUYAMA and Kazuyuki MORIURA (Osaka Plant, Takeda Chemical Industries, Ltd., Higashiyodogawa-ku, Osaka-shi)

The absorbance ratio method⁴⁾ was applied to the quantitative determination of 35 kinds of substances (poly-basic inorganic acids and their salts, alkali salts of organic acids, weak bases and their hydrochlorides, sulfamines and amino acids), which were difficult to be determined precisely by ordinary direct titrations. The determinations were carried out easily, rapidly and accurately, and the standard deviations for all substances tested were within 0.1%.

The determination procedure is as follows:

A sample solution is prepared according to Table I, absorbances at λ_1 and λ_2 are measured, and the r value is calculated from formula (1). Then the x value is estimated from the r value and the working curve which is obtained from Table II, and the content z is calculated from formula (5), where,

S : the weight of the sample taken (mg).

C : the equivalent of the sample (mg/ml).

f : the normality factor of the standard solution.

V' : the volume of the standard solution added (ml).

The standard solution is usually added with a whole pipet, and then the range of S is given by formula (3) and Table II, where,

x_1 and x_2 : the lower and the upper limits of the suitable range of x .

z_1 and z_2 : the lower and the upper limits of the probable content.

If the weight of sample is not within the range of S , the pipet or the buret shown in Fig. 1 is successfully used in place of a whole pipet.

(Received Aug. 11, 1967)

原子吸光分析による亜鉛の定量ならびに 人血清亜鉛定量への応用*

松本 裕之, 常松 潔, 白石 忠雄**

原子吸光分析による亜鉛定量の際の測定条件, 各種酸の亜鉛吸光度に及ぼす影響, 人血清亜鉛定量への応用につき検討した。酸のうちで硝酸および過塩素酸はほとんど影響はなかった。トリクロル酢酸および硫酸においては低濃度の場合は影響なかったが, 高濃度になるとかなりの影響がみられた。人血清亜鉛定量の際, 前処理として5倍単純希釈を行なった。本分析法は従来採用していた dithizone 法に比べて, 迅速性・簡易性の点ではかたにすぐれており, 測定誤差も 2.5% 以内と良好であった。以上の方法による人血清亜鉛定量の実例についても示した。

1 緒 言

著者らは数年来, 諸種疾患, 特に肝, 悪性しゅよう疾患における亜鉛代謝の異常につき検索してきたが, 亜鉛定量法としては dithizone 法^{1,2)}を採用していた。この方法は試薬の調製, 器具の洗浄, 検体の処理, 測定操作などすべての段階で複雑な手技を必要とし, そのために長

時間を費やし, 検体損失および汚染の危険性も大きい。しかし原子吸光分析法の出現によって, これらの難点が一挙に解決されることとなった。

原子吸光分析法は, 1955年オーストラリアの Walsh³⁾によって実用化されて以来急速な発展を遂げ, 医学, 農学, 工学, そのほか多くの方面に応用されつつある。亜鉛は原子吸光分析法において最も感度の高い元素の一つであり, 多くの応用例がみられる⁴⁻¹⁵⁾。著者らは今回本分析による亜鉛定量の際の測定条件, 各種酸の亜鉛吸光度に及ぼす影響, 人血清亜鉛定量への応用につき検討

* 原子吸光分析による生体試料の亜鉛の定量(第1報)

** 北海道大学医学部第三内科学教室: 札幌市北14条西5丁目

を加えたので、その結果を報告する。

2 装置および試薬

2.1 装置

装置は日立 207 型原子吸光分光光度計を使用した。本装置におけるメーターの読み (scale reading) は吸光度を比例拡大したものとして表わしてある。

2.2 試薬

亜鉛標準液：金属亜鉛 (99.99%) 1.00 g を少量の塩酸に溶解したのち、脱イオン水 (蒸留水を一度 Amberlite IR 120, Amberlite IRA 410 のカラムを通したあと、再度 Amberlite IR 120 のカラムを通したもの) で希釈して 亜鉛標準液 (Zn : 1000 ppm) を調製し、使用時にこれを希釈して用いた。

その他の試薬はすべて特級品を使用した。

3 測定条件

測定は Table I の条件のもとで行なったが、これらの値は感度および精度を最高に保つように実験的に求めたものである。

Table I Condition of measurement

Wavelength	2139 Å
Source	8mA, hollow cathode lamp
Burner	Stainless steel, premix
	Vertical position (1)
Air	Pressure : 1.8kg/cm ²
	Flow rate : 13.0 l/min
Fuel	Acetylene, pressure : 0.5kg/cm ²
	Flow rate : 2.5l/min

3.1 バーナーの高さについて

装置にはバーナーの高さを示すめやすとして、(0)～(3)のマークがついており、マーク(0)の位置は光束とバーナーの先端の間隔が 20 mm で、以下 5 mm ごとにマークが示されている。アセチレンガス流量と空気流量の割合を一定にして、これらを変化させたときの各バーナー位置における吸光度の変化を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 からわかるように、各バーナー位置における吸光度に著明な差異はみられなかったが、マーク(1)の位置においてわずかに感度が高くなる傾向にあった。したがってバーナー位置をマーク(1)に選定した。

3.2 アセチレン流量について

空気流量を 13.0 l/min と一定に保ち、アセチレン流量を変化させたときの吸光度の変化を Fig. 2 に示す。

Fig. 2 からわかるように、アセチレン流量が少なくなるほど感度は高くなるが、アセチレン流量が 2.0 l/min

Fig. 1 Effect of variation of acetylene air mixture and burner height on the sensitivity for zinc

() Burner height position (in marks); The acetylene flow rate of acetylene and air were varied as shown. Sample : 1.0ppm Zn standard solution; Wavelength : 2139 Å; Lamp current : 8mA

	Acetylene	Air
△	2.0 l/min,	12.0 l/min
▲	2.5 " ,	13.0 " "
○	3.0 " ,	13.0 " "
●	3.5 " ,	14.0 " "

の場合は炎の状態が不安定となるので、アセチレン流量としては 2.5 l/min を選定した。

3.3 ランプ電流について

中空陰極ランプの作動電流値を変化させたときの吸光度の変化を Fig. 3 に示す。一般にランプ作動電流値が小さくなるほど感度は高くなるといわれ¹²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾, Fig. 3 も同様な傾向を示している。またランプ寿命の点からもランプ電流値はなるべく小さいことが望ましいが、あまり電流値が小さすぎるとノイズが大きくなり誤差の原因となる。そこで著者らは 8 mA を測定電流値とした。

4 検量線および酸の影響

4.1 検量線

2.2 の亜鉛標準液を希釈して種々濃度の溶液を調製し、Table I の条件に従って測定した結果を Fig. 4, 5 に示す。Fig. 4 はスケール拡大せずに比較的高濃度 (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm) につき、Fig. 5 はスケール拡大 3

Fig. 2 Effect of variation of acetylene flow rate on the sensitivity for zinc

The flow rate of air was constant at 13.0 l/min, and that of acetylene was varied. Sample: 3.0 ppm Zn standard solution; Wavelength: 2139 Å; Lamp current: 8 mA, Burner height: Position (1)

Fig. 3 Effect of lamp current on the sensitivity for zinc

Sample: 2.0 ppm Zn standard solution; Wavelength: 2139 Å; Air flow rate: 13.0 l/min; Acetylene flow rate: 25 l/min; Burner height: Position (1)

倍で比較的低濃度 (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ppm) につき作成した検量線である。いずれの場合も良好な直線関係を示している。

4.2 酸の影響

種々の酸の亜鉛吸光度に及ぼす影響を検討した結果を

Fig. 4 Calibration curve for zinc

† No scale expansion

Fig. 5 Calibration curve for zinc

† Three fold scale expansion

Table II に示す。この場合ブランクとして溶媒である各種酸溶液を用いた。Table II に示した吸光度はそれぞれの溶媒の吸光度で補正したものである。硫酸の場合高濃度 (10%, 25%) では明らかに吸光度が減少するが、低濃度 (1%, 5%) ではほとんど影響はみられず、硝酸、過塩素酸の場合はいずれの濃度においても著明な影響はみられなかった。これらについては文献とも一致する^{4,5)}。しかしトリクロル酢酸の場合低濃度では影響

Table II Effect of various acids on the atomic absorption of zinc

Acids	Concn. (%) (v/v)	Absorption†		
		0.25ppm of zinc	0.5ppm of zinc	1.0ppm of zinc
Sulfuric acid	0	12.6	25.4	51.3
	1	12.7	26.2	51.9
	5	11.9	24.8	51.2
	10	9.6	20.4	38.3
	25	4.8	10.5	26.3
Nitric acid	0	12.3	24.8	51.4
	1	12.3	24.9	51.5
	5	12.2	24.9	50.2
	10	12.2	24.9	49.5
	25	12.4	23.9	49.0
Perchloric acid	0	12.8	25.5	50.4
	1	13.1	26.0	51.0
	5	13.0	25.5	50.5
	10	12.4	25.0	50.0
	25	12.5	24.5	48.5
Trichloroacetic acid	0	12.5	24.5	50.0
	1	12.0	26.0	51.0
	5	12.0	25.5	52.0
	10	15.0	30.5	60.0
	25	16.5	31.5	65.0

† Each value is a scale reading.

はなかったが、高濃度になるとかえって吸光度が増加する傾向を示した。トリクロル酢酸についてはほとんど影響がなかったという報告もみられるが¹¹⁾、トリクロル酢酸の影響についての詳細な報告はなされていない。

5 人血清亜鉛定量

5.1 前処理について

血清亜鉛量を原子吸光分析により定量する場合、前処理法としては脱イオン水による単純希釈法およびトリクロル酢酸による除たん白法（以下 T. C. A. 法と略記）そのほかがある。著者らは健康人血清についてこの2種類の前処理法を比較検討した。すなわち種々の倍数に単純希釈した血清の系列と、最終濃度が5%となるようにトリクロル酢酸を加えて同じ倍数に希釈した除たん白血清の系列を作り、それぞれ対応する倍数の希釈血清の吸光度を測定比較した。この際5%トリクロル酢酸は4.2にみるように吸光度に影響を及ぼさない。結果を Table

III に示す。Table III からわかるように、2~4倍希釈においては単純希釈法のほうが T. C. A. 法よりも高い吸光度を示し、6倍希釈以上になると両法ともほぼ同じ吸光度を示した。

さらに単純希釈法の場合に希釈倍数と吸光度の相関関係を検討した結果を Fig. 6 に示す。Fig. 6 からわかるように、4~5倍希釈以上の場合にほぼ直線関係が得られた。このように希釈倍数が小さい場合すなわち血清としての濃度が高い場合に、吸光度が直線関係からずれてくるのは、たん白濃度、粘度などの影響によりアトマイザーを通過する検体の量が減少してくるためと思われる。

Fig. 6 Relation of absorption and dilution in the determination of zinc in human serum

以上の結果から、血清の前処理法として5倍単純希釈を採用した。

5.2 回収実験

健康人血清に前記亜鉛標準溶液を加えて、亜鉛の添加

Table III Comparison of simple dilution method with T. C. A. method in the determination of zinc in human serum

Dilution	Absorption by zinc in human serum†					
	Sample 1		Sample 2		Sample 3	
	Simple dilution method	T. C. A. method	Simple dilution method	T. C. A. method	Simple dilution method	T. C. A. method
2fold	33.3	30.0	38.3	34.5	33.0	31.4
4 "	18.7	15.6	21.4	19.5	18.0	17.1
6 "	12.7	12.8	14.5	14.0	13.0	12.6
8 "	9.5	9.0	11.2	11.1	9.5	9.0
10 "	8.0	7.9	9.0	9.0	8.0	8.1

† Represented by scale readings

Table IV Recovery of (0.5 ppm of) zinc added to serum

Dilution	Sample 1		Sample 2		Sample 3	
	Found (ppm)	Recovery (%)	Found (ppm)	Recovery (%)	Found (ppm)	Recovery (%)
2fold	0.380	76.0	0.378	75.6	0.378	75.6
4 "	0.480	96.0	0.467	93.4	0.464	92.8
5 "	0.480	96.0	0.481	96.2	0.472	94.4
6 "	0.450	90.0	0.490	98.0	0.480	96.0
8 "	0.466	93.2	0.486	97.2	0.474	94.8
10 "	0.476	95.2	0.490	98.0	0.478	95.6

量が 0.5 ppm となるように種々の倍数に希釈して各希釈血清における回収率を調べた。Table IV に示すように、2 倍希釈の場合では回収率はわなかった。4 倍希釈以上になるといずれの場合も 95% 前後の回収率を示したが、希釈倍数と回収率との間に特に相関関係はみられなかった。2 倍希釈の場合に特に回収率がわるいのはやはり 5・1 で述べたような理由によるものであろう。

5.3 再現性について

健康人血清 3 検体について前処理として 5 倍に単純希釈したのち、連続 5~10 回の測定を行ない測定値のばらつきを調べた。Table V に示すように 相対誤差 はいずれの場合も 2.5% 以内であった。

Table V Reproducibility of the determination of zinc in serum

No. of analysis	Serum zinc level ($\mu\text{g/dl}$)		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3
1	105	78	93
2	102	80	90
3	105	78	93
4	105	74	93
5	102	76	90
6	108	75	
7	105	76	
8	105	75	
9	106	76	
10	102	78	
Mean $\pm$ Stand. dev.	104.2 $\pm$ 2.04	76.6 $\pm$ 1.75	91.8 $\pm$ 1.46
Coefficient of variation (%)	2.0	2.3	1.6

5.4 血清亜鉛定量例

原子吸光分析により種々の状態の人血清について亜鉛定量を行なった結果を Fig. 7 に示す。すなわち健康人血清 15 例、悪性しゅようおよび肝疾患患者血清各 5 例の亜鉛含量は、それぞれ 87.8 ± 9.12 , 72.9 ± 5.29 , $59.7 \pm 3.39 \mu\text{g/dl}$ であった。この結果から悪性しゅようとはともかく肝疾患においては明らかに血清亜鉛量の低下がみられた。しかしいずれにしても例数が少ないの

Fig. 7 Serum zinc level by various diseases

で、今後例数を重ねなお検討を加える必要がある。

6 結 言

(1) 原子吸光分析による亜鉛定量の際の測定条件を実験的に求めた。

(2) 高濃度の硫酸は亜鉛吸光度を減少させ、高濃度のトリクロル酢酸は吸光度を増加させるが、低濃度の硫酸およびトリクロル酢酸においては影響はみられなかった。また硝酸および過塩素酸はいずれの濃度においても影響がなかった。

(3) 血清亜鉛定量の際前処理としては単純希釈が簡単でよい。

(4) dithizone 法による血清亜鉛定量に要する時間は 1 検体の場合 4 時間前後であるが、本分析法を用いると 30 分しか要せず分析の迅速化、簡易化をはかることができる。したがって検体の損失、汚染の危険もきわめて少ない。また再現性においては誤差 2.5% 以内とかな

り良好な精確度を示した。

(5) 添加回収実験においては、4 倍希釈以上の血清の場合に回収率 95% 前後という成績を得た。

(6) 原子吸光分析による人血清亜鉛定量の実例について示した。

文 献

- 1) B. G. Malmström: "Methods of Biochemical Analysis", 2nd Ed., Vol. 3, p. 340 (1956), (Interscience Publishers Inc., New York).
- 2) H. P. Wolff: *Biochem. Z.*, **325**, 267 (1954).
- 3) A. Walsh: *Spectrochim. Acta*, **7**, 108 (1955).
- 4) D. J. David: *Analyst*, **83**, 655 (1958).
- 5) J. A. F. Gidley, J. T. Jones: *ibid.*, **85**, 249 (1960).
- 6) J. A. F. Gidley, J. T. Jones: *ibid.*, **86**, 271 (1961).
- 7) J. E. Allan: *ibid.*, **86**, 530 (1961).
- 8) J. B. Willis: *Anal. Chem.*, **34**, 614 (1962).
- 9) L. Erdey, G. Svehla, L. Koltai: *Talanta*, **10**, 531 (1963).
- 10) K. Fuwa, P. Pulido, R. McKay, B. L. Vallee: *Anal. Chem.*, **36**, 2407 (1964).
- 11) A. S. Prasad, D. Oberleas, J. A. Halsted: *J. Lab. & Clin. Med.*, **66**, 508 (1965).
- 12) T. L. Change, T. A. Gover, W. W. Harrison: *Anal. Chim. Acta*, **34**, 17 (1966).
- 13) H. L. Helwig, E. M. Hoffer, W. C. Thielen, A. E. Alcocer, D. R. Hotelling, W. H. Rogers, J. Lench: *Am. J. Clin. Path.*, **45**, 156 (1966).

- 14) B. Hackley, J. C. Smith: *Fed. Proceed.*, **26**, 524 (1967).
- 15) M. M. Parker, F. L. Humoller, D. J. Mahler: *Clin. Chem.*, **13**, 40 (1967).
- 16) B. J. Russel, A. Walsh, J. P. Shelton: *Spectrochim. Acta*, **8**, 317 (1967).
- 17) J. E. Allan: *Analyst*, **83**, 466 (1958).

☆

Determination of zinc by atomic absorption spectroscopy and its application to the analysis of human serum. (Determination of zinc in biological materials by atomic absorption spectroscopy. I.) Hiroshi MATSUMOTO, Kiyoshi TSUNEMATSU and Tadao SHIRAISHI (The Third Department of Internal Medicine, School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo-shi)

Measurement parameters in the atomic absorption method for the determination of zinc together with the influences of various acids were investigated, with an aim of its application to the analysis of human serum.

Nitric acid and perchloric acid had no influences. Trichloroacetic acid and sulfuric acid influenced remarkably in higher concentrations. A simple 5 fold dilution of the sample as the preliminary treatment was sufficient for the analysis of human serum.

The proposed method was far more rapid and simple than the conventional dithizone method, and the relative error was within 2.5%. Several examples of determination of zinc in serum were given.

(Received Aug. 31, 1967)

混合製剤中のアセチルサリチル酸アルミニウムの定量*

立沢 政義** , 下田 通敏***

赤外線吸収スペクトル法による混合製剤中のアセチルサリチル酸アルミニウムの定量法を確立した。アセチルサリチル酸アルミニウムはトリエタノールアミンおよびフッ化水素アンモニウムと反応させると、分解して可溶性のトリエタノールアミン-アセチルサリシレートとなる。これは 1750cm^{-1} を key_band とすれば一成分系として混合製剤中のアセチルサリチル酸アルミニウムの定量ができる。

1 緒 言

総合感冒剤の処方規準改正により最近非ピリン系解熱

* 赤外線吸収 スペクトルによる 医薬品の 分析的研究 (第2報)。第1報は立沢政義: 衛生試, **83**, 53(1965)

** 国立衛生試験所医薬品部: 東京都世田谷区玉川用賀町2丁目

*** 昭和薬品化工株式会社開発研究部: 神奈川県川崎市下野毛字久保東

鎮痛剤としてアセチルサリチル酸アルミニウム(以下ASAIと略記)を配合した処方が多くなった。

現在ASAIの定量法として塩酸性でフッ化ナトリウムを加えて分解し、クロロホルム抽出後紫外吸収法¹⁾²⁾または、鉄塩と反応させ比色定量³⁾⁴⁾⁵⁾する方法などが用いられている。

これらの方法は操作が繁雑で、かつ共存するサリチル酸の影響があるため総サリチル酸量より、共存サリチル