dibenzylidithiocarbamate was the most sensitive and selective reagent for copper and that carbon tetrachloride or chloroform solution of this reagent was stable even when it was shaken with 5*N* hydrochloric acid.

Twenty ml of a sample solution is extracted successively with a 4~5 ml portion of $10^{-3}M$ antimony dibenzylidithiocarbamate in carbon tetrachloride, until the last portion shows no color. The whole extract is made up to 20 ml with carbon tetrachloride. After

filtration, absorbance is measured at 440 m μ against reagent blank. The extracted complex is stable within 24 hours and Beer's law hold for 0.25~2.0 μ g per ml. In this method, 1000 times of Fe, Ni, Cd and Pb, 100 times of Co and 10 times of Ag and Hg did not interfere. The interference from large amounts of Ag and Hg was removed by a preextraction with the reagent solution and that from Bi could be avoided by shaking the extract with 4.5*N* hydrochloric acid.

(Received Mar. 22, 1971)

クエン酸の熱分解ガスクロマトグラフィーおよびその分析的応用

宇野 豊三, 中川 照真*, 松本 幹生**

(1971 年 3 月 24 日受理)

ガスクロマトグラフ試料室中におけるクエン酸の熱分解反応を検討し, その分解生成物によるクエン酸の定量法を考案した. 180~360°C における熱分解生成物は, 無水イタコン酸, 無水シトラコン酸およびアセトンであることが標品との同定により確認された. これら生成物のうち無水イタコン酸と無水シトラコン酸について分解の温度依存性などの基礎的検討により得られた知見に基づいて, 分析条件を設定した. すなわち, 試料室温度 (分解温度) 250°C, カラム充てん剤 20% PEG 20M クロモゾルブ W (60~80 メッシュ), カラム温度 175°C, カラム長さ 1.5m, キャリヤーガス窒素 45 ml/min, 検出器水素炎イオン化型であった. 本法をミグレン製剤中のクエン酸の定量に応用し, 満足すべき結果を得た.

1 緒 言

多価カルボン酸のガスクロマトグラフィーは, 従来メチルエステル^{1)~3)}, あるいはトリメチルシリルエステル⁴⁾としたのち行なわれてきたが, これらの前処理操作を省略し, 簡易な分析法を得るため熱分解ガスクロマトグラフィーの適用を試みた.

多価カルボン酸の一つであるクエン酸の試験管中での熱分解反応は, すでに知られているが^{5)~7)}, それを熱分解ガスクロマトグラフィーに応用した例は見られない. そこで著者らは, まずキャリヤーガスとして用いた窒素気流中での, ガスクロマトグラフ試料室 (以下 GC 試料室と略記) におけるクエン酸の熱分解反応, およびその温度依存性を調べ, 得られた知見に基づいて定量法を考

案し, 市販製剤への応用を試みた.

2 試薬および装置

2.1 試 薬

ジアセトアミド: 精製乾燥したアセトアミド 1g をトルエン 13 ml に溶かし, 塩化アセチル 1.4 ml および硫酸 0.1 ml を加えかき混ぜながら 2 時間還流したのち, 減圧で溶媒を留去し, 残留物をエーテルより再結晶した. 白色針状結晶, mp 79.5°C.

無水カフェイン, アンチピリン, エトキシベンズアミド: 局方品.

無水イタコン酸: 市販 1 級品をエタノールより再結晶して用いた.

その他の試薬はすべて市販特級品を用いた.

2.2 装 置

島津製作所製 GC-1C 型ガスクロマトグラフおよび柳本製作所製 GCG 550 FT 型ガスクロマトグラフ.

JASCO-DC 301 型紫外分光計.

Metrohm 社製電位滴定装置.

* 京都大学薬学部薬品分析学教室: 京都市左京区吉田下阿達町

** 田辺製薬株式会社中央検査所: 大阪市東淀川区加島町

Fig. 1 Gas chromatogram of pyrolyzates of citric acid in injection port at various temperatures

1: 170°C, 2: 220°C, 3: 240°C, 4: 250°C; Condition: 3.5% QF-1 on silanized Chromosorb W (60~80 mesh), stainless steel, 3 mm×2.25 m, temp.: column 185°C, detector 220°C, carrier gas: N₂, flow rate 25 ml/min, sens.: 1000, range 3.2

3 GC 試料室中における クエン酸の熱分解反応

GC 試料室中におけるクエン酸の熱分解反応を明らかにするために、種々の温度で分解生成物を検索した。

まず、試料室温度を、170, 220, 240, 250°C に変え(その他の条件は、Fig. 1 に示したとおりに一定とした)クエン酸水溶液を注入した結果、Fig. 1 に示すようなクロマトグラムを得た。

分解温度の上昇にともなって、ピークの形および保持時間に若干の変化が見られたが、これは GC 試料室中における熱分解の速度の差によるものと考えられる。なお 240°C 以上の試料室温度に関しては、ピークの形および保持時間は一定となった。ここに得られた 2 本のピークは、

(i) 標品の無水イタコン酸を同じ条件の試料室に注入したとき、まったく同じ保持時間を持つ 2 本のピークが得られたこと、

(ii) 標品の無水シトラコン酸を注入したとき、Fig. 1 (A) に一致する 1 本のピークが得られたこと、

(iii) (A) のピーク部分を分取し、IR スペクトルを測定した結果、標品の無水シトラコン酸のそれにまったく一致したこと (Fig. 2),

などの事実より、(A) は無水シトラコン酸、(B) は

Fig. 2 Infrared absorption spectra

(1) Component A of pyrolyzates in Fig. 1; (2) Authentic sample of citraconic anhydride

無水イタコン酸であると判断した。

次に GC 条件を、固定液相 20% PEG 400 (Chromosorb W, 60~80 メッシュ), カラム温度 90°C, キャリヤーガス窒素, 30 ml/min, 試料室温度 250°C に設定して、クエン酸水溶液を注入したところ、標品のアセトンと一致する保持時間を持つピークの出現が認められた。またこの部分を分取し IR スペクトルを測定した結果も、アセトンのそれとまったく一致したことから GC

試料室中におけるクエン酸の熱分解反応は、次のように示されることがわかった。

4 クエン酸の定量への応用

4.1 定量条件の設定

上記生成物のうちの無水シトラコン酸または、無水イタコン酸のピークを用いてクエン酸の定量を行なうことを試みたが、250°C に加熱した GC 試料室に一定量のクエン酸水溶液をくりかえし注入したとき、これら2本のピーク高さの比が一定とならなかったため、この試みは不適当と判断した。そこで、これら異性体の単位重量あたりの FID レスポンスは等しいものと考えられるので、両者の重なり合ったピークを用いてクエン酸の定量を行なうことにした。試料室温度のみを、240~330°C に種々変化して、分解生成物の量（無水シトラコン酸と無水イタコン酸の合計量）を、あらかじめ無水シトラコン酸を用いて作成した検量線より求めた結果、Fig. 3 に示すように、240~280°C の間で、分解生成物の生成率は、理論値に対し、ほぼ一定の値（約 87%）を示した

Fig. 3 Percentage decomposition of citric acid as a function of temperature

ので、定量操作においては、GC 試料室温度を 250°C とした。以下に定量条件を示す。

充てん剤: 20% PEG 20M (Chromosorb W, 60~80 メッシュ, 酸およびシラン処理)。

カラム: 1.5m, 内径 3 mm, ステンレス。

温度: カラム 175°C, 試料室 250°C, 検出器 240°C。

キャリアーガス: 窒素, 流速 45 ml/min。

感度: 1000, レンジ: 3.2。

検出器: FID。

4.2 検量線の作成

じゅうぶんに乾燥したクエン酸 5, 10, 15, 20 mg を精ひょうし、そのおのおのに、内部標準ジアセトアミド 50 mg/10 ml の水溶液 0.5 ml を加えた溶液の 2 μ l を注入し、得られたクロマトグラム上の無水イタコン酸と無水シトラコン酸の重なり合ったピークと、内部標準のピークの高さの比より検量線を作成した。検量線は原点を通る直線となった。

5 製剤分析への応用

クエン酸を含む検体として、ミグレニン（アンチピリン：カフェイン：クエン酸=90：9：1）を取り上げ、その成分の定量を行なった。

5.1 クエン酸の定量

ミグレニン 2.0 g を精密に量り、水 2 ml およびクロロホルム 10 ml を加えて、よく振り混ぜたのち遠心分離し、水層 1 ml を正確に取り出し、ジアセトアミド 50 mg/10 ml の水溶液 0.5 ml を正確に加えて試料液とし、検量線作成時と同じ GC 条件（4.1）でクロマトグラムを描き検量線に照合して、クエン酸量を定量した。このときのクロマトグラムを Fig. 4 に示した。

なお、クロロホルム抽出を行なった理由は、クエン酸に対し大量のカフェイン、アンチピリンが共存すると、クエン酸分解生成物のピークの先鋭度がわるくなる現象が見られたので、それを避け、かつ分析時間を短縮するためである。またこのときのクロロホルム層のガスクロマトグラムからは、クエン酸分解生成物のピークの出現は、まったく認められなかった。

5.2 アンチピリンおよびカフェインの定量

5.2.1 GC 条件の決定 解熱鎮痛剤のガスクロマトグラフ分析に関しては、多くの報告があり、カフェイン、アンチピリンの分離に良好な条件が示されているが³⁾、この条件下では、クエン酸分解生成物と溶媒ピー

Fig. 4 Gas chromatogram

1: Pyrolyzates of citric acid; 2: Diacetamide
(internal standard)

ク分離がわるく、また、クエン酸の分析に用いた 20% PEG 20M では、アンチピリン、カフェインについて良好なピークが得られなかった。そこでアンチピリン、カフェインについては、固定液相に 3% OV-17 を、内部標準にエトキシベンズアミドを用いて分析した。その条件は、

充てん剤: 3% OV-17 (Chromosorb W, 80~100 メッシュ)。

カラム: 1.5m, 内径 3mm, ステンレス。

温度: カラム 230°C, 試料室 230°C, 検出器 240°C。

キャリアーガス: ヘリウム, 流速 50 ml/min。

感度: アンチピリン $10^7 \times 1/2$, カフェイン $10^8 \times 1/2$ 。
検出器: FID。

5.2.2 検量線の作成 エトキシベンズアミド 100 mg に対し、無水カフェイン、アンチピリンの種々の量を混合し、これをエタノールに溶かして 10 ml として標準溶液とした。ただし高濃度では、エタノールに完全に溶解しないためエタノール-クロロホルム混合溶媒を用いた。また、アンチピリンとカフェインの配合量がかなり異なるので、同一感度ではカフェインのピークが非常に小さくなるため感度切り替えによりピーク高さの相対比を求め検量線を作成した。その結果、検量線はいずれ

も原点を通る直線を示した。

5.2.3 製剤中のアンチピリン、カフェインの定量

ミグレニン約 1.0 g を精密に量り、内部標準物質としてエトキシベンズアミド 100 mg を加え、エタノールに加熱して溶かし、冷後エタノールで正確に 10 ml とし、これを試料液として、検量線より定量した。このときのクロマトグラムを Fig. 5 に示す。ガスクロマトグラフの条件は 5.2.1 に記した。

Fig. 5 Gas chromatogram

1: Ethoxybenzamide (internal standard); 2: Caffeine;
3: Antipyrine

6 回収率および市販製剤の分析結果

まず局方表示の処方に従ってミグレニンを調製し、回収率を求めた (Table I)。また本法による市販製剤の分析値を Table II に示した。なおクエン酸については、電位差滴定法により求めた分析値を付記した。これらの結果によると、その測定値は定量誤差範囲内にあると思われ、本法は簡易定量法としてじゅうぶん利用できるものと考えられる。

Table I Recovery test of synthetic mixture

Component	1	2	3	Mean
Citric acid	99.3 %	98.8 %	102.5 %	100.2
Caffeine anhyd.	98.8	101.8	98.8	99.8
Antipyrine	97.8	101.7	99.8	99.8

Table II Determination of the components in Migraine

872 (1964).

☆

Component	Preparation A	Preparation B	Preparation C	Preparation D
Citric acid	11.6† mg 11.1††	9.4† mg 9.7††	10.4† mg 9.9††	9.6† mg 10.1††
Caffeine anhyd.	86.0	82.5	82.5	81.0
Antipyrine	892.0	910.0	910.0	894.0
Total (in 1 g of sample)	989.6	1001.9	1002.9	984.6

† G. C. method; †† Potentiometric titration (with NaOH)

Pyrolysis gas chromatography of citric acid and its analytical application. Toyozo UNO, Terumichi NAKAGAWA* and Mikio MATSUMOTO** (*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto-shi; **Tanabe Seiyaku Co., Ltd., Products Control Laboratory, Higashiyodogawa-ku, Osaka-shi)

The gas chromatographic analysis of polybasic carboxylic acids has been performed usually by their methyl esters or trimethyl silyl derivatives. To simplify this time consuming procedure, authors tried to apply the pyrolysis gas chromatographic technique. The pyrolysis of polybasic carboxylic acids in flush heater chamber of a gas chromatograph would give the corresponding acid anhydrides, with which the determination of the original acids can be carried out. The present paper deals with the case of citric acid and the application to the determination of citric acid in Migraine (antipyrine-caffeine citrate).

The main pyrolyzates of the citric acid were identified as citraconic anhydride and itaconic anhydride. An overlapped peak of these two pyrolyzates was used for the determination of citric acid in commercial Migraine.

The analytical results showed a good agreement with those of titrimetric method.

(Received Mar. 24, 1971)

文 献

- 1) F. L. Estes, R. C. Bachman : *Anal. Chem.*, **38**, 1178 (1966).
- 2) K. Salminen, P. Koiristonen : *Acta Chem. Scand.*, **21**, 1495 (1957).
- 3) M. A. Harman, H. W. Doelle : *J. Chromatog.*, **42**, 157 (1969).
- 4) Z. Horii, M. Makita : *Chem. Ind. (London)*, August 21, 1494 (1965).
- 5) R. R. Umbdenstock, P. E. Bruins : *Ind. Eng. Chem.*, **37**, 963 (1945).
- 6) F. A. Askew, A. R. H. Tawn : *J. Soc. Chem. Ind.*, **69**, April 97 (1950).
- 7) R. L. Shriner, S. G. Ford : "Organic Synthesis", Coll. Vol. II, p. 140, 368.
- 8) 河合 聡, 服部哲靖, 小滝美和子 : 本誌, **13**,

8-ヒドロキシキノリン-5-スルホン酸-銅(II)-ゼフィラミンの三元錯体の溶媒抽出

神原 富民, 前山 三千代, 長谷部 清*

(1971 年 3 月 25 日受理)

8-ヒドロキシキノリン-5-スルホン酸 (H_2QS) はゼフィラミン (ZCl : 塩化テトラデシル-ジメチルベンジル-アンモニウム) の存在で銅(II) と反応し, 黄緑色の三元錯体となる. この錯体はクロロホルムに抽出され, 波長 $410 m\mu$ に吸収極大を示す. pH 3.5~6.0 の範囲において抽出率は 98.3% で, 抽出液は一定の吸光度を示す. 最適条件のもとで有機相中の銅(II) 濃度 $4.37 \sim 43.7 \mu g/10 ml$ の範囲でベールの法則が成立する. モル吸光係数は, $9.45 \times 10^3 cm^{-1} \cdot mol^{-1} \cdot l$ である. 三元錯体の組成は, $Cu^{2+} \cdot (QS^{2-})_2 \cdot (Z^+)_2$ と推定され, その抽出平衡定数 K は

$$K = \frac{[Cu^{2+} \cdot (QS^{2-})_2 \cdot (Z^+)_2]_o}{[Cu^{2+}] [HQS^- \cdot Z^+]_o^2 [OH^-]^2}$$

によって与えられ, $\log K = 25.72 \pm 0.20$ である.

* 北海道大学理学部化学教室: 札幌市北 10 条西 8 丁目