まれる鉛(II)はモル比で(1~2)%であることが分かり、既報¹⁾での仮定が妥当なものであることを確認できた。

(1974年 4月, 日本化学会第)
(30 春季年会において講演)

文 献

- 1) 永井外代士, 松田十四夫, 田中 洋: 本誌, **22**, 1001 (1973).
- 2) R. Přibil, J. Čihálik: *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **20**, 562 (1955).
- 3) 永井外代士, 松田十四夫, 杉井直行: 本誌, **20**, 1412 (1971).
- 4) 日本分析化学会編: “分析化学便覧”, p. 156 (1971), (丸善).

☆

Polarographic determination of lead(II) in a standard solution of lead tetraacetate; Application of separation method of lead(IV) hydroxide precipitates. Toyoshi NAGAI, Toshio MATSUDA and Shinichi ITO (Department of Chemistry, Faculty of Science & Engineering, Ritsumeikan University, Kita-ku, Kyoto-shi, Kyoto)

Lead(II) contained as an impurity in standard solution of lead tetraacetate was determined by the use of the polarographic method, after the separation of lead(IV) hydroxide. In order to prevent the co-precipitation of lead(II), the hydrolysis of lead(IV) was carried out in an acid solution in the presence of a large amount of aluminum(III). Relations between the concentration of lead(II) in the supernatant solution and the concentration of aluminum(III) added, pH and temperature of the solution, and the agitating time were investigated. The proposed procedure is as follows: In the solution (197 cm³) containing 0.5M Al(NO₃)₃, 0.1M HNO₃, and 0.1M KNO₃, and maintained in a thermostat at (25±0.2)°C, 3.00 ml of 0.05M lead tetraacetate standard solution is added dropwise and hydrolyzed. After the mixture is stirred for 2 hours, lead(IV) hydroxide is centrifuged from the solution. The resulting supernatant solution is taken into a polarographic cell and the polarogram is recorded after removal of oxygen. The concentration of lead(II) in the solution is calculated directly from the calibration curve.

By using this method, it was found that lead(II) of 1 to 2% in mole fraction was contained as an impurity in a freshly prepared standard solution of lead tetraacetate. These results agreed with the amount of lead(II) estimated in the previous paper.

(Received Sept. 9, 1974)

Keywords

Co-precipitation

Lead(II) in lead tetraacetate

Polarography

N-ベンゾイル-N-フェニルヒドロキシ ルアミンによる海水中のバナジウムの 吸光光度定量

太田 直一, 久米 芳子,

寺井 稔, 荒木 匡*

(1974 年 10 月 11 日受理)

1 緒 言

海水中のバナジウムの含量は極めて低いので、捕集剤との共沈または溶媒抽出によって濃縮したものにつき、分光分析^{1)~3)}、吸光光度分析^{4)~9)}、ポーラログラフ分析¹⁰⁾、放射化分析¹¹⁾などの方法で定量されてきた。吸光光度分析の場合は、水酸化鉄(III)と共沈させた後、そのまま沈殿を灰化して炭酸ナトリウムと融解⁹⁾するか、またはいったん沈殿を塩酸に溶解してからイオン交換法⁹⁾や沈殿法⁴⁾により鉄(III)を分離し、リンタングステン酸塩法⁴⁾、オキシシ法⁶⁾、ジアミノベンジジン法⁹⁾などで定量されてきた。N-ベンゾイル-N-フェニルヒドロキシルアミン(BPAと略記する)は、強酸性溶液中でバナジウム(V)と選択性に富んだ反応をする¹²⁾ので、金属材料^{13)~16)}、岩石¹³⁾、温泉水¹⁷⁾など各種の試料中のバナジウムの吸光光度定量に用いられてきた。この反応の選択性が、捕集剤として用いられる大量の金属イオンの共存をも許容するのであれば、前記のような呈色前の煩雑な捕集剤の分離は必要がなくなる。著者らはこの点の検討を行い、BPAによる海水中のバナジウムの簡易定量法を確立したので報告する。

2 装置及び試薬

2.1 装 置

吸光度の測定には、島津ボシヨロムスペクトロニッック 20 型を、pH の測定には東亜電波 HM-5A 型 pH メーターを、また ⁵²V の γ 線の測定には ORTEC 製 Ge(Li) 検出器 {1.33 MeV での分解能 2.1 keV, 計数効率は 3×3 in NaI (TI) の約 10%} と Geoscience 製 4096 チャンネル波高分析器とを用いて行った。

2.2 試 薬

バナジウム(V) 標準溶液: メタバナジン酸アンモニ

* 東京都立大学理学部: 東京都世田谷区深沢 2-1-1

ウム 0.2296 g を水に溶かし 200 ml にうすめ原液 (500 $\mu\text{g V/ml}$) とした. これを水でうすめて 4 $\mu\text{g V/ml}$ の標準溶液とした.

BPA 溶液: *N*-ベンゾイル-*N*-フェニルヒドロキシルアミン (同仁薬化学製) 100mg をクロロホルム 100 ml に溶解し 0.1% 溶液とした.

その他の試薬: すべて特級品を使用した.

3 実験及び結果

BPA 法でバナジウム(V) を定量する場合の鉄(III)の影響に関しては, 鉄(III)の量が 50mg 程度まで妨害しないとした報告⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾と 10mg でも妨害するとした報告⁽¹⁴⁾があり, 更に多量の鉄(III)の影響についても明らかでないので検討した. また大量の鉄(III)の共存する場合の分析条件として, 酸の種類と濃度, BPA 及びバナジウムの酸化剤として用いる過マンガン酸カリウムの量についても検討した.

3.1 鉄(III)の影響

(0~200)mg の鉄(III)と 10 及び 20 μg のバナジウム(V)を含む 3N 塩酸溶液 25 ml に, 0.1% BPA-クロロホルム溶液 10 ml を加えて 1 分間振り混ぜ, クロロホルム相の 530nm における吸光度を測定して鉄(III)の影響を調べた. 結果を Fig. 1 に示す. すなわち, 鉄(III)の量が (10~20)mg (バナジウムの存在量の約 1000 倍)になるまでは, 鉄(III)の量が増すにつれて吸光度が少しずつ低下するが, それ以上の鉄(III)量による影響は一定になる.

Fig. 1 The effect of iron on the absorbance of BPA-vanadium complex

Vanadium(V): $\circ$ 10 μg , $\bullet$ 20 μg ; Aqueous phase: 3N HCl 25 ml; Organic phase: 0.1% BPA- CHCl_3 solution 10 ml; Wavelength: 530 nm

3.2 酸の影響

前項の実験における鉄(III)の量を 50mg とし, 塩酸, 硫酸あるいはリン酸を用いて水相の酸の濃度を変え BPA-クロロホルム溶液による抽出を行って酸の影響を調べた (硫酸及びリン酸の場合は 440nm の吸光度を測定した). 結果を Fig. 2 に示す. すなわち, BPA-バナジウム(V)錯体の形成とその抽出量を最大にするためには, 水相を (3~6)N の塩酸酸性にすればよく, 以下の実験はすべて 3N 塩酸酸性で行った.

Fig. 2 Extraction of BPA-vanadium complex from various acid solutions with 0.1% BPA- CHCl_3 solution

$\bullet$ HCl; $\circ$ H_2SO_4 ; $\times$ H_3PO_4 ; Vanadium(V): 20 μg ; Iron(III): 50mg; Aqueous phase: 25 ml; Organic phase: 10 ml; Wavelength: 530 nm for HCl, 440 nm for H_2SO_4 and H_3PO_4

3.3 BPA-クロロホルム溶液の濃度

3.1の実験における鉄(III)の量を 50mg とし, BPA-クロロホルム溶液の濃度を (0.02~0.20)% にして実験を行った. その結果, BPA 溶液の濃度が (0.10~0.20)% で一定の吸光度が得られた (0.1% 以下では低い値となる). 以下の実験では 0.1% 溶液を用いた.

3.4 過マンガン酸カリウムの影響

BPA は 5 価のバナジウムと錯体をつくるので, 低原子価のバナジウムを酸化するための酸化剤として用いる過マンガン酸カリウムの影響を調べた. 20 μg のバナジウムと鉄(III) 50mg を含む溶液に (0.03~0.30)ml の 0.3% 過マンガン酸カリウム溶液を加えて約 30 分間放置し, 過量の過マンガン酸イオンはエタノールを滴下して還元し, 以下前項の操作に準じて実験を行った. その

結果, 最大の吸光度は 0.3% 過マンガン酸カリウム溶液を (0.15~0.25) ml 用いたときに得られた。

3.5 分析法

前項までの実験結果より, 海水など水中の微量のバナジウムは, 次のようにして BPA により吸光度定量することができる。

試料水 (0.45 μ のミリポアフィルターでろしたものの) (2~5) l (50 μ g 以下のバナジウムを含む) に, 鉄みようばん溶液 5 ml {50mg の鉄(III)を含む} を加え, ブロムチモールブルーを指示薬とし, アンモニア水で pH を 6~7 に調節する。1 夜放置後, 上澄液はガラスフィルター (4G) を通して吸引ろ過する (ろ液は加温しても沈殿を生じないことを確かめてから捨てる)。沈殿を 1% 硝酸アンモニウム溶液 10 ml で洗い, 2N の温硫酸 5 ml に溶解する。これに 0.3% 過マンガン酸カリウム溶液 0.2 ml を加え約 30 分間放置する。エタノールを滴加して過量の過マンガン酸イオンを還元し, 3N 塩酸を加えて液量を 25 ml とする。これを分液漏斗に移し, 0.1% BPA-クロロホルム溶液 10 ml を加えて 1 分間振り混ぜる。クロロホルム相の 530nm における吸光度を, 水を対照として測定する。バナジウムを水酸化鉄(III) と共沈させたろ液を用いてから試験を行い, から試験値と回収率 (次項) の補正を行って試料水中のバナジウム量を算出する。

3.6 海水中のバナジウムの回収実験及び分析結果

海水からバナジウムを水酸化鉄(III) と共沈させて除いたろ液を用いてバナジウムの回収実験を行った。すなわち, このろ液 2 l 及びろ液 2 l に 2 μ g のバナジウムを加えたものから, 前項の方法で水酸化鉄(III) を沈殿させてろ別灰化したものと, バナジウム標準溶液をしみ込ませたろ紙片とを, 立教大学原子炉 Triga Mark II 中で 3 分間ずつ照射 (熱中性子束: 5×10^{11} n cm^{-2} s $^{-1}$) し, 3 分間冷却した後 ^{52}V (^{51}V より (n, γ) 反応で生成, 半減期は 3.76 分) の γ 線 (1434.4 keV) の強さを測定し, 共沈の際のバナジウムの回収率を求めた。その結果, 3 回の平均として (93.6 $\pm$ 2.1) % を得た。

海水 (採水直後, 海水 1 l につき濃硝酸 30 ml を加

えたもの) 5 l ずつを用い, 前項の方法で分析を行い, 回収率の補正を行って得られた結果を Table 1 に示す。

4 結 語

海水中の微量のバナジウムを水酸化鉄(III) と共沈させて濃縮し, 捕集剤の鉄(III) を分離することなく, BPA 法で吸光度定量することができた。本法では, 多量の鉄(III) の共存のため感度は若干低下するが, 鉄(III) の量がバナジウムの約 1000 倍以上では吸光度への影響が一定するので, 煩雑な鉄(III) の分離操作を避けることにした。本報は海水中のバナジウムの定量について述べたが, 本法は, 海水以外の天然水や生物試料の分解液などバナジウム含有率の低い試料中のバナジウムの簡易分析法として用いることができると思われる。

終わりに, 放射化分析の便宜を図っていただいた立教大学原子力研究所戸村健児博士に感謝する。

文 献

- 1) I. Noddack, W. Noddack: *Arkiv Zool.*, **32A**, 1 (1939).
- 2) W. A. P. Black, R. L. Mitchell: *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **30**, 575 (1951).
- 3) T. K. Zhavoronkina: *Tr. Morsk. Gidrofiz. Inst., Akad. Nauk SSSR*, **19**, 38 (1960).
- 4) M. Ishibashi, T. Shigematsu, T. Nakagawa, Y. Ishibashi: *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **24**, 68 (1951).
- 5) M. Ishibashi: *Records Oceanog. Works Japan*, **1**, 88 (1953).
- 6) K. Sugawara, M. Tanaka, H. Naito: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **26**, 417 (1953).
- 7) H. Naito, K. Sugawara: *ibid.*, **30**, 799 (1957).
- 8) K. Sugawara, K. Terada, S. Kanamori, S. Okabe: *Earth Sci., Nagoya Univ.*, **10**, 34 (1963).
- 9) K. M. Chan, J. P. Riley: *Anal. Chim. Acta*, **34**, 337 (1966).
- 10) M. Ishibashi, T. Fujinaga, T. Kuwamoto: *Records Oceanog. Works Japan*, **6**, 215 (1962).
- 11) 坂東昭次, 今橋 強: 第 17 回放射化学討論会講演要旨集, p. 44 (1973).
- 12) U. Priyadarshini, S. G. Tandon: *Anal. Chem.*, **33**, 435 (1961).
- 13) D. E. Ryan: *Analyst*, **85**, 569 (1960).
- 14) 神森大彦, 小野昭敏: 本誌, **14**, 1156 (1965).
- 15) Y. Kakita, H. Goto: *Sci. Rept. Res. Inst., Tohoku Univ.*, **17A**, 31 (1965).
- 16) E. M. Donaldson: *Talanta*, **17**, 583 (1970).
- 17) 荒木 匡: 温泉科学, **19**, 69 (1968).

Table 1 Vanadium content of sea water

Locality	Date of sampling	pH	Chlorinity (%)	V (μ g/l)
142°9'E, 26°37'N	Aug. 1971	8.25	19.53	1.2, 1.3, 1.3
128°27'E, 27°1'N	May 1972	8.30	19.31	0.78, 0.90

Spectrophotometric determination of vanadium in sea water with *N*-benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine. Naoichi OHTA, Yoshiko KUME, Minoru TERAI and Tadashi ARAKI (Tokyo Metropolitan University, Setagaya-ku, Tokyo)

To simplify the spectrophotometric determination

of micro amount of vanadium in sea water, the use of *N*-benzoyl-*N*-phenylhydroxylamine (BPA) has been studied. As the effect of large amount of iron(III) was examined, it was found that the absorbance of BPA-vanadium(V) complex decreased slightly with increasing amount of iron(III) until the amount of iron 1000 times as much as that of vanadium was reached. The effects of the concentration of various acids, potassium permanganate and BPA in the presence of large amount of iron(III) were also examined. On the basis of the results of experiments, water samples were analyzed as follows; 50mg of iron(III) was added to 2(-5) l of filtered sea water. Vanadium was coprecipitated with iron(III) hydroxide at pH 6 to 7. The precipitates were dissolved in a small amount of 2N H₂SO₄. Vanadium was oxidized to quinquevalent state with 0.2 ml of 3% KMnO₄ solution. After the reduction of excess permanganate with ethanol, the solution was diluted to 25 ml with 3N HCl. Vanadium was extracted with 10 ml of 0.1% BPA-CHCl₃ solution. The absorbance of CHCl₃ solution was measured at 530nm against water. The recovery of vanadium from sea water was determined radiochemically, and found to be (93.6±2.1)%. The content of vanadium in sea water collected from the seas near the Bonin Islands and Yoron Island were found to be 1.3 and 0.8 µg/l, respectively.

(Received Oct. 11, 1974)

Keywords

N-Benzoylphenylhydroxylamine
Spectrophotometry
Vanadium in sea water

ガスクロマトグラフィーによるアルカリ性ホスファターゼ中の微量糖質の定量

菰田二一, 穂苅 茂, 坂岸良克*

(1974 年 8 月 10 日受理)

1 緒 言

肝性, 骨性, 胎盤性などのアルカリ性ホスファターゼは, いずれもシアル酸を含む糖たんぱく酵素であるが, その中に含まれるシアル酸の役割についてはよく分かっていない。

従来, シアル酸の定量は, 主として比色法によって行

われてきた¹⁾²⁾。近年, ガスクロマトグラフィー (GLC) の進歩にともない, これを用いたシアル酸の定量法も確立されており, Gehrke ら³⁾, Clamp ら⁴⁾ によるトリメチルシリル (TMS) 誘導体, あるいは, 田村ら⁵⁾ によるトリフルオロアセチル (TFA) 誘導体としての GLC が良く知られている。しかし, これらの方法では, TMS化においてオルト誘導体ができるなどのアノマー形成及びメタノイリスによる分解など問題点が多かった。

今回, 著者らは, 3,5-ジヨードサリチル酸リチウムを溶解剤として使用して⁶⁾ シアル酸含有たんぱくを得, DEAE-セファデックス, CM-セファデックス, セファデックス G-150 で糖たんぱくを精製し⁷⁾, これを弱酸またはシアリダーゼによってシアル酸を遊離させ, これをホウ素化水素ナトリウムで還元し, 糖アルコールに導き⁸⁾, *N*-メチルビストリフルオロ酢酸アミド (MBTFAA) で TFA 化してシアル酸の定量を行うとともに, 二, 三の他の糖質についても検討したのでここに報告する。

2 試薬及び装置

シアル酸 (*N*-acetylneuraminic acid, synthetic TYPE IV, Sigma 社製), カゼイン (Bovine milk, Sigma 社製), 3,5-ジヨードサリチル酸リチウム, キシロース, α-ナフチルリン酸 ASBI (アルカリ性ホスファターゼ活性測定用基質), Fast Blue RR 及び胎盤性アルカリ性ホスファターゼ (和光純薬製), 小牛小腸アルカリ性ホスファターゼ (Grade II, No. 15,440: Boehringer 社製), シアリダーゼ (*N*-acetylneuraminatase glycohydrolase, *Vibrio Cholerae*, No. 1,068,200) 並びに MBTFAA (BDH Laboratory Chemicals 製) は市販品を使用した。またヒト肝臓アルカリ性ホスファターゼ酵素標品は, 当教室作製⁹⁾ のものを用いた。ガスクロマトグラフ及びインテグレーター (GC-5AP₃TF, ITG-4A 型) は島津製作所製を用いた。

3 分析方法

まずアルカリ性ホスファターゼ中のシアル酸分析の検討としてのカゼインは, そのまま用い, アルカリ性ホスファターゼ酵素標品は, ディスク電気泳動¹⁰⁾の後, α-ナフチルリン酸 ASBI を基質として Fast Blue RR で活性染色を行い¹¹⁾, この酵素活性を示すバンドを切りとり, これを 20 mM トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.8) で抽出した。この方法によってヒト肝臓アルカリ性ホスファターゼは比活性において粗抽出液の 6020 倍, ヒト胎盤のものでは 9850 倍, 小牛小腸のものでは 14100 倍まで精製できた。

* 埼玉医科大学医学部生化学教室: 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38