薬学会協定ヒ素試験法（グトツァイト法）の検討

末 永 泉 二（国立公衆衛生院，衛生薬学部）

On the Arsenic Test by Gutzeit Method

Senji Suenaga

(Institute of Public Health, Department of Public Health Pharmaceutics*)

Determination of arsenic by densitometry of mercuric bromide paper in Gutzeit method was investigated.

Determination errors were within 10 %, as coefficient of variation. In comparison of filter paper holder diameters of 6.5 mm and 10 mm, absorbances corrected to unit area were nearly equal. When uncorrected absorbances were approximately equal, error was small with diameter of 10 mm than 6.5 mm. Effects of zinc amount and bath temperature on coloration were not recognized. Dry lead acetate fibre was excellent in removal of hydrogen sulfide and convenient in handling. Natural scattered light in room did not affect the coloration.

(Received November 4, 1964)

薬学会協定衛生試験法¹⁾に収載されているグトツァイト法について検討した。

グトツァイト法については既に多くの研究がなされている。その中で川城らの報告²⁾は、薬学会協定法の基礎となったものであるが、呈色の測定には分光光度計を用い反射率で表わしている。この報告では定量条件、定量範囲および酸濃度とガス発生温度との影響を検討している。

また山本、辻³⁾は同じ定量操作によってろ紙の種類、酸濃度、亜鉛粒度、ガラス綿量およびガス発生時間の影響を統計学的方法によって結論している。

筆者らは、上記の研究を補なう意味で、若干の条件、すなわち吸光度測定法における定量範囲、定量誤差、試験紙固定ガラス管の口径の影響、亜鉛使用量の影響、ガス発生温度の影響および酢酸鉛綿の効果などについて検討したので報告する。

1. ヒ素の試験法

薬学会協定、グトツァイト法（昭和37年度提案）によって実験を行なった。ただし検討すべき条件は、若干変更を行なった。特にヒ素試験装置において臭化水銀紙を固定するガラス管の接続部口径は6.5 mm (± 0.05) の

ものと10 mm (± 0.04) のものの2種を用いた。

吸光度は、日立分光光度計 EPUZA, またはベックマン DU 形により波長 350 m μ において、新しい臭化水銀紙を対照として測定した。この際臭化水銀紙の厚さの違いなどによる吸光度のばらつきは、実用上の簡便性を考えて無視して測定変動の内に含めることにした。吸光度の測定のための試験紙固定器として、Fig. 1 に示すような金属製器具を用いた。

2. 空試験における測定誤差

この場合試薬に対する空試験の意味ではなく、試験に使用しない新しい臭化水銀紙に対する吸光度測定におけ

Fig. 1. Test Paper Holder for Absorbance Reading

* 東京都港区芝白金台町1の39; 1—39 Shiba-shiro-ganedai-machi, Minato-ku, Tokyo.

Table I Standard Deviation in Absorbance of Blank Test Paper

Number of test paper (N) : 1→9			
Times of absorbance reading on each test paper (n) : 1→6			
1	Total mean of absorbance	$\bar{x}$	0.041
2	Standard deviation of means of test paper	$\sigma\bar{x}$	± 0.022
3	Mean of standard deviation of absorbance on each test paper	$\overline{\sigma x_n}$	± 0.005
4	Total standard deviation	σx	± 0.023

る誤差について検討した。すなわち各試験紙間の吸光度誤差（級間変動），および吸光度測定繰返しの誤差（級内変動）を求めた。ただし実験に用いた試験紙は，東洋ろ紙 No. 51 (20 mm×400 mm) 100 枚束の中から 10 枚を無作為に抜きとり，各枚の中間部からろ紙片（約 25 mm 長さ）1 枚ずつを切りとって用いた。また対照試験紙は吸光度が 10 枚の臭化水銀紙中最も小さいものを用いた。Table I に結果を示す。

2. はろ紙のばらつき，3. は吸光度測定のばらつき，4. は 2+3 によるばらつきに相当する。

ろ紙のばらつきは，ろ紙自体の吸光度に対し， $\pm 50\%$ におよび，精密な測定や，微量測定の際には無視できないようである。

3. 吸収曲線と検量線

Fig. 2 は呈色試験紙 (As_2O_3 1 μg) のベックマン分光光度計による吸収曲線である。330 $\text{m}\mu$ 以下は測定不可能であった。鋭敏度をなるべく高くするため，以後，

Fig. 2. Absorption Spectrum of Colored As_2O_3 Test Paper using 6.5 mm Tube Fig. 3. Calibration Curves of As_2O_3

- A.....6.5 mm tube
- B.....6.5 mm tube corrected to 10 mm tube
-10 mm tube

吸光度の測定に 350 $\text{m}\mu$ を用いた。

Fig. 3 は日立分光光度計により，空試験呈色紙を対照として求めた検量線である。

Fig. 4 はベックマン分光光度計により新しい臭化水銀紙を対照として求めた検量線で，試験紙補正を行なったものである。

Fig. 3 において定量範囲は約 0.5~2.0 μg As_2O_3 (口

Fig. 4. Calibration Curve of As_2O_3 in Lower Concentration

径6.5mm)であるが、Fig. 4のように試験紙補正を行えば0.5 μ g以下も大略の定量が可能である。

4. 測定誤差および試験紙固定用ガラス管の口径の影響

試験紙固定用ガラス管の口径は、薬学会協定法、食品添加物公定書⁴⁾および水道協会上水試験法⁵⁾では、6.5mmが用いられ、日局七では5.5mmが用いられている。

つぎに、口径の差の、定量値および誤差におよぼす影響を調べた。

すなわち、試験紙固定用ガラス管の口径6.5mmの場合と10mmの場合との定量値および誤差の比較をTable IIに示す。

まず定量値(吸光度の平均値)については、口径の小さいものと大きいものとの間に(同一口径に換算した場合)差が認められない。

このことは、口径の異なるガラス管を用いた場合でも、単位面積当りの吸光度に換算することにより定量値が相互に比較できることを示している。

測定誤差(吸光度の標準偏差)については、As₂O₃ 2 μ gの場合、口径の大きい方が誤差が大である。その理由としては、口径の大きい場合、測定吸光度の大きさは適度であるが、この値に比べろ紙吸光度のばらつきがそれほど小さくないこと、および試験紙面における呈色の不均一によるものと考えられる。呈色の不均一性は、特にAs₂O₃量に対して口径が大き過ぎるとき、発生ガスのろ紙面通過の不均一が目立つためと思われ、往々肉眼的に著明である。

Table II Effect of Glass Tube Diameter

exp.No.	glass tube diameter	6.5~ 6.7mm	10~ 10.2mm
I	As ₂ O ₃ added	2 μ g	2 μ g
	Times of determination	9	9
	mean of absorbance corrected to 10mm tube*	0.42	0.46
	standard deviation**	0.024	0.049
II	As ₂ O ₃ added	1.6 μ g	4 μ g
	Times of determination	12	12
	mean of absorbance corrected to 2 μ g of As ₂ O ₃ , 10mm tube	0.54	0.52
	standard deviation***	0.041	0.015

* $F_0 = 3.5 < F = 4.5$

** $\frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} = 4.2 > F = 3.4$

*** $\frac{\sigma_1^2}{\sigma_2^2} = 7.5 > F = 2.8$

Table III Effect of the Amount of Zinc (As₂O₃)

	glass tube diameter : 10mm	zinc (860~1900 μ)			
		2g	3g	5g	
I	times of determination	9	7	4	
	mean of absorbance	0.54*	0.50	0.62*	
	standard deviation	0.07	0.04	0.03	
	glass tube diameter : 6.5mm	zinc(500~850 μ)			
		1g	1.5g	2g	3g
II	times of determination	4	4	4	4
	mean of absorbance	1.02	1.04	0.93*	1.09*
	standard deviation	0.11	0.15	0.11	0.14

* $\begin{cases} \text{I } F_0 = 4.6 < F = 4.8 \\ \text{II } F_0 = 3.2 < F = 6.0 \end{cases}$

つぎに As₂O₃ 量をろ紙単位面積当り略同量とした場合では、口径の小さい方が誤差が大である(危険率1%以下)。

この場合、測定吸光度は、両者略同一であるから、その大きさによる誤差は等しいと考えてよい。差違の理由としては、口径の小さい場合、用いた光度計について、光路におけるろ紙面の保持位置のばらつきが、大きく響いたものと考えられる。ろ紙吸光度を測定する専用の装置であれば、この差違は生じないのかも知れない。

5. 亜鉛粒使用量の影響

亜鉛粒の粒度、ふるい860~1,900 μ について2~5g,

Table IV Effect of Bath Temperature (As₂O₃ = 2 μ g)

	glass tube diameter : 10mm	bath temperature	
		25~31°C	37~60°C
I	times of determination	6	4
	mean of absorbance	0.45	0.46
	standard deviation	0.04	0.06
	glass tube diameter : 6.5mm	bath temperature	
		11~14°C	25~26°C
II	times of determination	4	4
	mean of absorbance	0.97	1.04
	standard deviation	0.13	0.17

I $F_0 = 0.13 < F = 5.0$

II $F_0 = 0.5 < F = 6.0$

Table V Effect of Dry and Wet Lead Acetate
Fibre Glass Tube Diameter : 10 mm

	As ₂ O ₃ = 2 μg	
	dry lead acetate fibre	wet lead acetate fibre
times of determination	4	4
means of absorbance	0.66	0.52
standard deviation	0.04	0.05

$$F_0 = 13.0 > F = 5.3$$

Table VI Influence of Dry and Wet Lead Acetate
Fibre on Coloration by Hydrogen Sulfide

	Amount of lead acetate fibre	1 cm	2 cm	3 cm
wet	HgBr ₂ paper	+++	++	+
	lead acetate fibre	100%	100%	30%
dry	HgBr ₂ paper	±	—	—
	lead acetate fibre	100%	70%	30%

粒度, ふるい 500~850 μ について 1~3 g の使用における定量値の比較を Table III に示す。

亜鉛粒 (粒度, ふるい 860~1,900 μ による) の定量値において亜鉛 3 g と 5 g との間に有意差が認められるが 2 g と 3 g また 2 g と 5 g との間に有意差が認められないので, この場合, 亜鉛量が定量値に影響するとは思えない。また亜鉛粒 (粒度, ふるい 500~850 μ による) 場合には, 全ての間に有意差は認められない。

6. 反応温度の影響

反応温度は, 一般に 25° の恒温槽によって調節するのが常法になっているが, Table IV に示すように, 11~14°, 25~26° および 37~60° の場合において定量値および標準偏差に有意差が認められなかった。

7. 乾いた酢酸鉛綿と湿った酢酸鉛綿との比較

7.1 定量値について: ヒ素による臭化水銀紙の着色は, 湿気により褪色するとされている。そこで日局のように, 湿った酢酸鉛綿と, 薬学会協定法のように乾燥した酢酸鉛綿とで, 両者に基づく湿気の差違が着色に及ぼす影響を比較した。ただし乾燥酢酸鉛綿の上には少量の脱水硫酸ナトリウムを置くことによって除湿をより充分にした。

Table V に示すように乾燥したものを用いた場合の方が有意の差で吸光度が高い。

7.2 硫化水素の除去効果について: ガス発生びんに, 硫化ナトリウムを S⁻ として約 1 mg 入れた場合, 乾いた酢酸鉛綿と湿った酢酸鉛綿について, 臭化水銀紙の着色と酢酸鉛綿の着色度 (全体に対する割合) との状態は,

Table VII Effect of Light

As ₂ O ₃ 1.6~4 μg	light	dark
times of determination	12	12
mean of absorbance corrected to 2 μg of As ₂ O ₃ , 10 mm tube	0.524	0.521
standard deviation	0.036	0.040

Table VI に示すようである。乾いた酢酸鉛綿は, 湿めつたものに比べ, 少なくとも同等以上の効果を示すものいえる。

なお使用上の簡便性においても乾いたものの方が優れていると思う。

8. 試験操作中の明るさの影響

薬学会協定法と日局法との違いの主なものは, ろ紙固定部分における光線の影響であろう。薬学会協定法において室内散光下 (曇天時) で測定した場合と, そのろ紙固定部分を黒紙で被覆した場合における測定成績を比較すると Table VII に示すように両者間に全く差違を認めなかった。

む す び

臭化水銀紙の着色を吸光度測定する方法によるヒ素の定量法では, 約 ±10 % 以内の変異係数に相当する誤差がある。着色面の面積が直径 6.5~10 mm の間のとき, 同一面積に換算すれば, 大体相互に成績を比較し得る。しかし同じ程度に着色させる場合では口径の大きい方が測定誤差が少ないようである。亜鉛の量, および水浴の温度は, それ程定量値に影響しない。酢酸鉛綿は乾いたものの方が効率および取扱いにおいて優れている。

操作中における光線の影響は, 室内散光下で行なえば, 余り問題にならない。

本実験に当り, ご協力を得た竹下隆三氏および共立薬科大学学生, 中村紘子, 館美恵子両氏に謝意を表する。また種々御助言を賜った孤田太郎前部長に深謝する。

文 献

- 1) 日本薬学会協定: 衛生試験法 (昭和37年度追加).
- 2) 川城巖, 岡田太郎, 加藤三郎: 衛生化学, **5**, 11 (1957).
- 3) 山本展由, 辻章夫: 厚生科学研究報告 (昭和35年)
- 4) 食品添加物公定書 p.266.
- 5) 水道協会: 上水試験法 p.180 (1960).