以上の特長により本精油定量器は日本薬局方精油定量器よりも応用できる範囲が広い。また微量な精油材料や高価な精油材料の精油の分離、定量法に適する。したがって生薬のほか精油含有製剤、香料、化粧品その他の精油材料から精油を分離、定量する方法に応用できると考える。また蒸留分離中の精油を分取して定量が容易できるので精油の性状の研究にも利用でき、漢方湯液中の精油の研究に応用中である。

〔薬学雑誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
92 (3) 332 - 334 (1972)

UDC 547.653.1.04 : 546.87.04

1,2-Naphthoquinone-2-semicarbazone-4-sulfonic Acid と Bismuth との反応

上田武雄, 高田 純, 小杉邦茂
北里大学薬学部¹⁾

Reaction of 1,2-Naphthoquinone-2-semicarbazone-4-sulfonic Acid with Bismuth

TAKEO UEDA, ATSUSHI TAKADA and KUNISHIGE KOSUGI
School of Pharmaceutical Sciences, Kitasato University¹⁾

(Received July 28, 1971)

Coloration reaction of potassium 1,2-naphthoquinone-2-semicarbazone-4-sulfonate (I) with various metal ions was examined, and Bi^{3+} was found to show specific coloration in 0.05N nitric acid. The limit of detection of Bi^{3+} was found to be 4.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of Bi^{3+} in 0.05N nitric acid. Determination of Bi^{3+} by I within 133 μg and 16.5 μg was found to be possible by the measurement of the absorbance at 515 nm.

1,2-Naphthoquinone-2-semicarbazone-4-sulfonic acid のカリウム塩 (I)²⁾ は淡黄色の結晶で水に溶け易く、その水溶液は淡黄色を呈する。I の水溶液を試薬として Bi^{3+} の硝酸酸性液に加えると強い赤色に変ずる。このような呈色は Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Ce^{3+} , によっても認められるが, HNO_3 の酸性度を 0.05N 以上とすれば Hg^{2+} を除くすべての陽イオンによる障害は消滅する。 Hg^{2+} が唯一の障害性イオンと考えられるが、この影響は SCN^- の添加により除去できる。

I の水溶液 ($4 \times 10^{-5}\text{M}$, 0.05N HNO_3 性) の吸収曲線は Fig. 1B に示したごとく 430 $\text{m}\mu$ に極大吸収が認められる。I と Bi^{3+} との反応液 (Bi^{3+} : 8.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, I について $4 \times 10^{-5}\text{M}$, 0.02N HNO_3 性) は Fig. 1A のごとく, 373

Fig. 1. Absorption Spectra

A Bi^{3+} : 8.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, I: $4.0 \times 10^{-5}\text{M}$, 0.02N HNO_3
B I: $4.0 \times 10^{-5}\text{M}$, 0.02N HNO_3

Fig. 2. Composition of Complex

total amount: $4.3 \times 10^{-4}\text{M}$, 0.02N HNO_3 ,
at 515 $\text{m}\mu$

1) Location: Shirokane, Minato-ku, Tokyo.

2) 上田武雄, 高田 純, 小杉邦茂, 薬誌, 91, 1244 (1971).

TABLE I. Detection Limit of Bismuth Ion

HNO ₃ concentration	Detection limit of Bi ³⁺ (μg/ml)	HNO ₃ concentration	Detection limit of Bi ³⁺ (μg/ml)
0	2.5	0.10N HNO ₃	5.0
0.02N HNO ₃	4.0	0.05N HNO ₃ +	5.0
0.05N HNO ₃	4.5	2.5% KSCN	

ion solution: 1 ml, I: 10⁻³M 1 gt

mμ および 515 mμ に極大吸収を示す。

つぎに Bi³⁺ と I との反応割合を連続的に変化し吸光度を検して行く結合比証明法³⁾によれば, Fig. 2 に示すように Bi³⁺ と I との結合比は 1 対 1 であり, この割合におけるキレートが溶液中で生成したものと考えられる。

呈色反応の鋭敏度

I による Bi³⁺ の検出限界を小試験管を用いるハン点反応で調べた。その結果は Table I のごとくで, HNO₃ の濃度により幾分変動するが, 0.05N で 4.5 μg/ml 程度である。

この反応の鋭敏度は Cl⁻ の共存で低下するので, Cl⁻ の非共存下で行なう工夫が必要である。

この反応による Bi³⁺ の検出は, 日本薬局方収載の Bi³⁺ の定性反応⁴⁾ すなわち, (1) 加水分解反応 (確認限度 30 μg/ml), (2) チオ尿素との反応 (確認限度 10 μg/ml), (3) KI との反応 (確認限度 500 μg/ml) のいずれよりも鋭敏であって, 選択性においても秀れている。

Bi³⁺ 含有薬品の次硝酸ビスマスは過量の HNO₃ に溶解したのち, I の試液を加えて確認できる。次没食子酸ビスマスおよび次サリチル酸ビスマスは日本薬局方記載のごとく有機分を強熱し分解したのち, 残留物を過量の HNO₃ に溶解し I の試液を加えて確認できる。

Bi³⁺ の吸光度定量法

Fig. 1 に示したごとく, I の水溶液の吸収極大は 430 mμ にあり, I と Bi³⁺ とによるキレートのそれは 515 mμ にあるので, この吸収極大を利用して Bi³⁺ の比色定量が可能であろうと考えて, 定量法の条件を精査した。

HNO₃ 濃度の影響

前述のごとく I と Bi³⁺ との呈色反応は障害イオンをマスクするために HNO₃ 酸性で行なうことが有利であることを認めた。また呈色は視覚的に HNO₃ 濃度によって影響を受けることがわかった。吸光比色定量のためには障害イオンをマスクできて, しかも吸光度のできるだけ大きい HNO₃ 濃度があるはずである。このために, Bi³⁺ 溶液 (33.4 mg/liter を含む) 2 ml に I の試液 (3.2 × 10⁻³M 水溶液) 2 ml および 0.01—0.20N HNO₃ 5 ml を加えて発色した液について極大吸収 515 mμ の吸光度を測定した。その結果を Fig. 3 に示す。これによれば吸光度は HNO₃ 濃度の増大にともない低下する。したがって比色定量には小さな pH の変動に許容性のある緩衝液 (HNO₃ および KNO₃ による) を用いるのが得策である。

試薬添加量の影響

比色定量を実施するのに必要な試薬添加量を決定するために, Bi³⁺ 溶液 (Bi³⁺ 33.4 mg/liter を含む) 2 ml に

Fig. 3. Effect of HNO₃ Concentration
Bi³⁺: 66.8 μg/9 ml, I: 7.1 × 10⁻⁴M, at 515 mμ

Fig. 4. Effect of Concentration of Reagent
Bi³⁺: 66.9 μg/9 ml, pH 0.92, at 515 mμ

- 3) Job. P. *Ann. Chim.*, (11) 6, 97 (1936); Vosburgh, W. C., Copper, G. R., *J. Am. Chem. Soc.*, 63, 437 (1941).
4) 第八改正 日本薬局方第一部, 一般試験法, 818, (1971).

HNO_3 緩衝液 (pH 0.92) 5 ml および 1.6×10^{-4} — $64 \times 10^{-4}\text{M}$ の I の試液を 2 ml 加えて極大吸収 $515\text{ m}\mu$ の吸光度を測定した。その結果は Fig. 4 に示すごとく、 Bi^{3+} に対してモル比として I を 20 倍以上加えたとき吸光度が一定となることが認められた。したがって、 Bi^{3+} の定量には 20 倍モル以上の I が必要である。

呈色の安定性

呈色の安定性を知るために呈色の経時変化を測定した。

室温 (20°) で Bi^{3+} 溶液 (Bi^{3+} 8.4—66.9 mg/liter) 2 ml に HNO_3 緩衝液 5 ml および I の試液 ($6.4 \times 10^{-3}\text{M}$ を含む) 2 ml を加え、0—48 時間の極大吸収 $515\text{ m}\mu$ の吸光度変化を測定したところ呈色は安定で 48 時間を経ても吸光度に変化を認めなかった。またこの呈色は温度の変化 (10 — 35°) によっても影響されないことがわかった。

検量線の作成

以上の条件の検討に基づいて Bi^{3+} の比色定量に必要な検量線を作成した。 Bi^{3+} の検液 (16.7—133 μg を含む) 2 ml ずつに HNO_3 緩衝液 5 ml および I の試液 ($6.4 \times 10^{-3}\text{M}$) 2 ml を加えて発色させ、極大吸収 $515\text{ m}\mu$ における吸光度を測定した。その結果は Fig. 5 に示すごとく、この比色条件下では Bi^{3+} 量 16.7—133 μg の範囲内では検量線が直線状 ($y = 6.5 \times 10^{-3}x$) となり Beer の法則にしたがい比色定量が可能である。

また検量線作成に当り HNO_3 緩衝液中の 0.2N HNO_3 の添加量を所定量に対し 10% 増減した範囲内で吸光度を測定してみたが、このためにおこる吸光度の増減は約 5% 以下で比色定量においては無視し得る程度であった。

つぎに前述のごとく Hg^{2+} が HNO_3 酸性においても Bi^{3+} と I との呈色に障害する唯一つのイオンであるが、ビスマス化合物には原料的にも製法的にも Hg^{2+} が混在することはまずないと考えられる、しかし Hg^{2+} が Bi^{3+} と共存する場合を想定して、 Hg^{2+} 共存の影響を SCN^- でマスクして Bi^{3+} の比色定量が行なえる条件を見出した。そのために、 Bi^{3+} 溶液 (Bi^{3+} 16.7—133 mg/liter を含む) 1 ml に Hg^{2+} 溶液 (Hg^{2+} 500 mg/liter を含む) 1 ml を混合し、これに I の試液 ($6.4 \times 10^{-3}\text{M}$) および HNO_3 緩衝液 (KSCN につき 5% 含む) 5 ml を加え極大吸収 $515\text{ m}\mu$ における吸光度を測定した。その結果鋭敏度は若干低下するが、検量線は 0 点を通る直線状となり Hg^{2+} の影響を無視して Bi^{3+} の定量が可能であることがわかった。

以上の検討より次のように定量操作を定めた。すなわち Bi^{3+} の含量が 8.4—70 $\mu\text{g/ml}$ になるとく試料溶液を調製し、この液 2 ml に HNO_3 緩衝液 5 ml および I の試液 ($6.4 \times 10^{-3}\text{M}$ 水溶液) 2 ml を加え呈色させ $515\text{ m}\mu$ における吸光度を測定し検量線に内挿して Bi^{3+} 量を求める。

以上記述したごとく、著者らは I と Bi^{3+} との呈色反応を検討して、この呈色反応が、(1) Bi^{3+} の確認に利用できる。(2) Bi^{3+} の吸光定量に利用できることを見出した。

Fig. 5. Calibration Curve

I: $1.4 \times 10^{-3}\text{M}$, pH 0.92, at $515\text{ m}\mu$

実験の部

装置 吸収曲線の測定には島津製自記分光光度計 MPS-50L 型、吸光度の測定には日立製分光光度計 139 型を使用した。

試薬 I 溶液——前報²⁾に従って合成したものを蒸留水に溶解し溶液を調製し $1.6 \times 10^{-2}\text{M}$ 溶液を調製し使用に際して適当に希釈した。

Bi^{3+} 標準液——試薬特級硝酸ビスマスを 2.7N HNO_3 に溶解し 0.16M 溶液を調製し EDTA 標準液で標定した。使用に際して適当に希釈して用いた。

HNO_3 溶液——試薬特級濃硝酸 (比重 1.38) を蒸留水で希釈し 1N HNO_3 を調製し無水 Na_2CO_3 を標準物質として標定した。使用に際して適当に希釈して用いた。

実験方法 錯塩の組成—— 0.04N HNO_3 5 ml に発色液 (Bi^{3+} および I の濃度の和が $9.6 \times 10^{-4}\text{M}$ になるとく調製した溶液) 4 ml を加えて測定した。

呈色反応の鋭敏度——各濃度の Bi^{3+} 溶液 0.5 ml に 0.5 ml の HNO_3 溶液 (0— 0.2N) または 5% KSCN を含有する 0.1N HNO_3 溶液を加えた溶液に 10^{-3}M の I の溶液 1 滴を加えて呈色の有無を検した。