

Spectrophotometer 에 의한 金屬의 微量定量法에 관한 研究 (第 2 報)

Dithizone 에 의한 Pb의 微量定量法

魯 一 協

II Hyub Ro : Studies on the Micro-determination of Metals

by Spectrophotometry (II)

Micro-determination of pb by Dithizone Method

(College of Pharmacy, Sook Myung Womans University)

Micro-determination of Lead by Dithizone Method was studied as follows: Max. absorption wave length of Dithizone-pb complex in CCl_4 soln. is $510 m\mu$. 2) at the range of $5\gamma \sim 120\gamma$ pb content, Bouguer-Beer's law hold good, 3) co-existence of Fe^{++} Zn^{++} , and Cu^{++} interfere.

(Received December 3, 1959)

1. 緒 言

飲食物中の Pb, Cu 及 Zn의 定量法에 對한 研究는 C.Reese J.Drost 及 L.Grünhut의 變法인 L.W. Winkler 法等이 施行되어왔다. L. W. Winkler C. Reese 及 J. Drost 法은 比色法 또는 沈澱法을 應用한것이다. H. Fisher 及 Grete-Leopoldi 兩氏는 1933年에 飲食物中の Pb, Cu, 及 Zn 等を 定量하는데 一定한 條件下에서 Stufen-Photometer(filter. S. 58)를 使用하여 Cu의 含量 $0.1 mg \sim 0.6 mg$ 範圍에서 定量하는 方法을 發表하였다.

本人은 이 方法을 Coleman Spectrophotometer (Junior-Spectrophotometer Model 6A)를 使用해서 Cu의 含量 $0.005mg \sim 0.03mg$ ($5\gamma \sim 30\gamma$) 範圍內에서 Pb, Fe, Zn 共有下에서 障害없이 定量하는 方法은 第 1報에서 發表하였다. 今般 繼續하여 Pb의 含量 $5\gamma \sim 120\gamma$ 의 範圍內에서 定量할 수 있는 方法을 講究하였으므로 그 結果를 報告하는 바이다.

本法에 있어서 測定法은 混色法과 單色法의 二種類가 있다 前者는 過剩의 Dithizon 存在下에서 測定하는 方法이고 後者는 過剩의 Dithizon을 分離除去後에 測定하는 方法이다. 兩者 모두 Bouguer-Beer의 法則에 合致하며 第 1報에서도 後者를 擇한故로 今般 試驗에서도 單色法을 擇하였고 抽出時의 pH는 大概 10.5이다.

2. 實 驗 之 部

(1) 試液

A) Dithizon 溶液: Dithizon 20 mg를 四鹽化炭素 100cc에 溶解함. 이 溶液은 普通 綠色을 呈하는데 間或 酸化成績體에 依해서 黃色을 呈하는 故로 稀 Ammonia (濃 Ammonia 1 cc + Aq. 200 cc)로서 振盪 精製함. 이때 Dithizon은 NH_4OH 層에 移行되고 着色酸化成績體는 四鹽化炭素層에 殘留하므로 이 四鹽化炭素層을 除去하고 새로이 四鹽化炭素 100 cc를 加함. (添加前에 少量의 CCl_4 를 加하여 振盪하면서 着色有無를 檢査함) NH_4OH 性 Dithizon 溶液을 分液瀝斗에서 鹽酸 酸性으로 振盪하면 Dithizon은 四鹽化炭素層에 移行한다. 다음 Aq로서 數回 振盪하여 過剩의 HCl을 除去後에 瀝過함. 四鹽化炭素를 加해서 全量 400cc로 하였다. 本液은 長時間 放置하면 容易하게 酸化되므로 事前에 多量 調製하였다가 使用前에 上記와 如히 處理하는 것이 좋다.

B) 5%-KCN 溶液: 精製된 KCN으로서 5% 溶液으로 하고 上記 Dithizon 溶液을 500 cc에 10 cc 比例로 加해서 抽出하고 다음 Dithizon 層은 버린後 精製 四鹽化炭素로서 抽出하여 不純物을 除去하였다.

C) Alkaline-KCN 溶液: 再蒸溜水 500 cc 에 上記 5% KCN 溶液 10 cc 를 加하고 濃 Ammonia 5cc 를 加한것을 上記와 如히 Dithizon 및 四鹽化炭素 處理를 하였다.

D) Pb標準溶液: 精製된 Pb(NO₃)₂ 1.5985 g 를 0.1% HNO₃ 溶液 100 cc 에 녹히고 이 溶液 1 cc 를 取하여 再蒸溜水를 加해서 1000 cc 로 하였다. (1 cc=0.01 mg of Lead)

E) 四鹽化炭素溶液: 化學用純品을 再蒸溜하였다.

F) 精製蒸溜水: 普通蒸溜水 1 l 에 0.25% KMnO₄ 溶液 約 5 cc 와 濃 H₂SO₄ 5 滴을 加하고 硬質蒸溜器로 서 再蒸溜하되 中間部分을 取하였다. 試藥調製에는 이를 使用하였다.

(2) Dithizon 錯化合物의 抽出

標準鉛溶液 一定量을 硬質分液漏斗에 取하고 5% KCN 溶液 5 cc 및 Dithizon 10 cc 100 以上 의것에는 20 cc)를 加하여 分液漏斗를 使用해서 抽出한다. 注意해서 分離되는 溶媒層을 取하고 水層을 버린 後 溶媒層에 20cc의 Alkaline-KCN 溶液을 加해서 2回 抽出하여 過剩의 Dithizon 을 除去한後에 溶媒層에 注意하면서 四鹽化炭素를 加하면서 mess flask 에 옮겨 50cc 로 하고 이 溶液을 다음 各項의 測定에 使用하였다.

(3) 測定

上記方法으로 濃度既知의 鉛溶液에서 抽出한 錯化合物溶液에 對해서 Coleman Spectrophotometer (Junior-Spectrophotometer Model 6A)를 使用하여 極大吸收波長 透過度와 時間, 濃도와 透過度와의 關係를 다음 條件下에서 測定하였다.

가) 光源用蓄電池는 6 Volt 鉛蓄電池를 使用하였다.

나) 透過度測定은 點火하고 約 5 分 正常電流가 나타날때 測定하였다.

다) 電流計의 눈금窓에 눈금盤을 固定하여 零點을 調節하고 盲檢液에는 四鹽化炭素를 使用하여 100% 示度를 檢査하였다.

라) Cuvett 는 7~304 를 使用하였다.

極大吸收波長의 決定

前記方法에 依해서 抽出한 Pb-Dithizon 錯化合物溶液을 濃度別로 4種 (Pb로서 各各 5γ, 10γ, 50γ, 100γ) 을 Cuvett 에 넣고 波長 400~690 mμ 의 範圍內에서 測定한 透過度 (Transmittancy)의 値는 다음과 같다.

透過度와 時間經過와의 關係

抽出한 Dithizon-Pb 錯化合物溶液의 色相變化는 本實驗의 安定度를 左右하는 故로 抽出直後부터 三〇分間

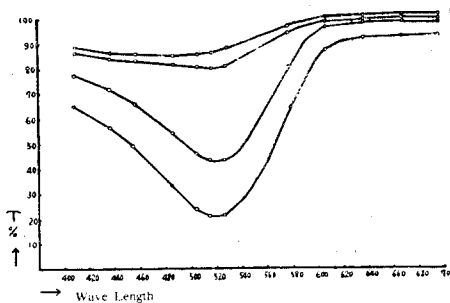


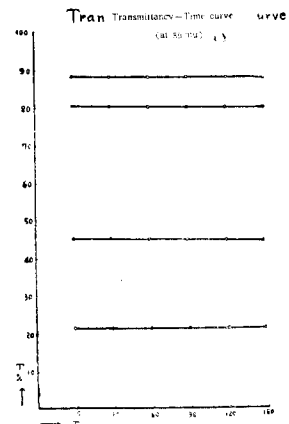
Fig. 1 Spectro-Transmittancy curve

隔으로 挿出後 150分까지 510 mμ에서 測定한 測定値는 다음과 같다. (Fig 2) 이때 使用한 檢液은 Pb 含量에 따라 5γ, 10γ, 50γ, 100γ의 4種을 使用하였다.

濃도와 透過度

前記와 如히 抽出한 Dithizon-Pb 錯化合物溶液에 對해서 Bouguer-Beer 의 法則에 合致되는 範圍를 求하려고 下記와 같은 濃度範圍內에서 6回에 亶하여 測定하였다.

- ① 5γ~100γ 範圍內에서 4種 (5γ, 10γ, 50γ, 100γ)
- ② 5γ~150γ 範圍內에서 6種 (5γ, 10γ, 50γ, 70γ, 100γ, 120γ)
- ③ 5γ~150γ 範圍內에서 6種 (②의 反覆)
- ④ 50γ~120γ 範圍內에서 5種 (50γ, 70γ, 90γ, 100γ, 120γ.)
- ⑤ 5γ~150γ 範圍內에서 7種 (50γ, 10γ, 50γ, 70γ, 90γ, 100γ, 150γ.)



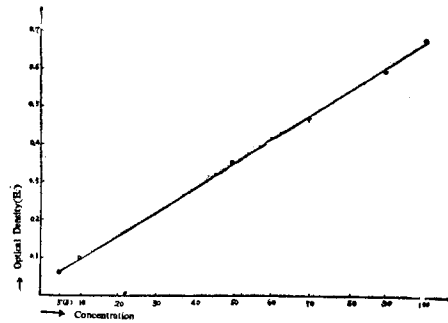
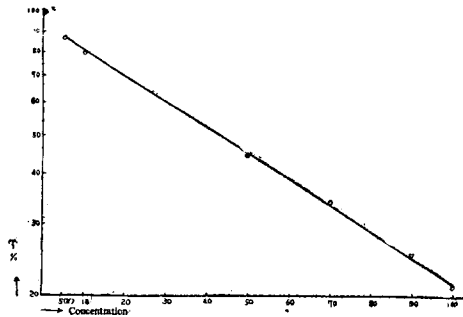
(第2圖)

⑥ 5γ~150γ 範圍內에서 7種 (⑤의 反覆)

위와 같이 六連에 亘한 實驗에서 各濃度에 따라 近似한 測定値는 다음과 같다.

濃 度	5γ	10γ	50γ	70γ	90γ	100γ
透 過 度(%)	87	80	44.5	34	25.5	21
吸 光 度	0.0605	0.0969	0.3516	0.469	0.5935	0.678

片對數圖表(Semilogarithmic-Paper)의 橫軸에 濃度縱軸에 透過度를 記入하여 Fig 3을 作成하고 普通 圖表의 橫軸에 亦是 濃度 縱軸에 吸光度를 取하여 Fig 4를 作成하였다.



妨害物質의 影響

Pb外에 Fe Cu Zn를 添加하여 妨害物質의 影響을 調査할 目的으로 添加하는 Fe Cu 及 Zn의 濃度를 다 음 두가지 限界에서 實驗하였다.

- a) [Pb⁺⁺]에 比해서 各各 10倍量의 [Fe⁺⁺][Cu⁺⁺][Zn⁺⁺]를 各各 添加하는 경우.
- b) [Pb⁺⁺]와 同濃度의 [Fe⁺⁺][Cu⁺⁺][Zn⁺⁺]를 各各 添加하는 경우.

a) 條件에서는 [Pb⁺⁺]의 100γ 溶液 및 150γ 溶液에서 Dithizon 添加前에 벌써 水層이 靑色으로 着色하였 으며 繼續하여 Dithizon으로 抽出하니 溶媒層에 部分的인 沈澱을 生成하였고 本來의 Dithizon-Pb 錯化合物의 靑色과 相異하며 또 透過度의 差異가 크다.

b) 條件에서는 Dithizon 添加前에 變色하지 않으나 上記와 如히 處理한 抽出溶液의 Transmittancy는 下記와 같으며 檢査線作成時보담 不規則的으로 變動되는 Transmittancy를 認한다.

濃 度	5γ	10γ	50γ	70γ	90γ	100γ	150γ
透 過 度(%)	95	90	78	74	76	54	58

3. 結 論

1. Dithizon-Pb 錯鹽의 四鹽化炭素溶液의 極大吸收波長은 510 mμ이다.
2. Dithizon-Pb 錯鹽의 四鹽化炭素溶液에서의 510 mμ時間經過에 對한透過度의 變化를 調査한바 抽出直後부 터 150分後까지 別로 變動이 없다.

Pb⁺⁺의 含量 5γ~120γ에서 Bouguer-Beer의 法則이 成立된다.

4. Pb⁺⁺ 濃度의 10倍濃度 및 같은 濃度의 [Fe⁺⁺][Zn⁺⁺] 及 [Cu⁺⁺]을 各各 添加하여 抽出한 錯化合物溶液의 透過度를 測定한 結果 不規則한 變化를 招來하는 故로 上記濃度의 共存物質에 依해서 障害된다고 본다. 따라서 이것의 分離除去가 必要하다.

끝으로 本實驗에 測定便宜를 보아주시 國立中央化學研究所長 許鈞先生, 副所長蔡禮錫先生 및 衛生化學科長 金星翊先生에게 謝意를 表하는 바이다.

文 獻

1. Mellan I. : Organic reagents in Inorganic Analysis (1941)
2. 內藤多喜夫著 : 有機試藥に 依る 分析法
3. 柳澤文正編 : 光電比色計의 實際
4. 武藤義一著 : 比色分析法
5. 魯 一 協 : 中央化學研究所 報告 第四卷

에 넣고, $\frac{N}{10}$ H₂SO₄ 50ml와 펩신(pepsin) 10mg을 넣는다. 37°C에서 一夜 放置後 K₂HPO₄ · 12H₂O 3.0g을 넣은 다음 pH 6.8로 만든다. 여기에 다시 트립신(trypsin) 10mg을 넣어 37°C에서 48時間 放置한다. pH를 6.8로 조절한 다음 물로 稀釋하여 一定量으로 만든다. (約 100ml로 하되, 檢液 1ml中 10~12 γ tryptophan이 되도록 한다.) 이 檢液을 無水에틸과 함께 잘 混濁하여 痕跡으로 存在하는 anthranilic acid 또는 indole을 除去한다. (L. arabinosus 菌은 이 兩物質에 依하여 영향을 받기 때문이다.) 上記 37°C에서 放置하는 期間中에는 硫黃이 들어 있지 않은 톨루엔(toluene)을 몇 방울 加하고, 자주 混濁어 준다. 檢液調製와 同時에 위에서 使用된 量의 10 倍되는 酵素를 同一하게 處理하여 盲試驗用으로 한다. 檢體測定值의 總量에서 檢體分解에 使用된 酵素量中에 들어 있는 tryptophan 量을 減한 量이 檢體中의 tryptophan 量이다.

定量方法

定量用培地

Solution A: (Amino Acid Mixture)¹¹⁾

DL-Alanine	200mg	DL-Isoleucine	40mg
DL-Aspartic acid	200 //	DL-Methionine	40 //
L-Glutamic acid	200 //	DL-Phenylalanine	40 //
L-Arginine HCl	40 //	DL-Serine	40 //
L-Lysine HCl	40 //	DL-Threonine	40 //
L-Cystine	20 //	DL-Tryptophan	40 //
L-Histidine	20 //	DL-Valine	40 //
L-Leucine	20 //	Glycine	20 //
L-Proline	20 //		1080mg
L-Tyrosine	20 //		

이 混合物을 물에 녹여 50ml로 만든다. (100個 試驗管에 充分함)

Solution B: (Vitamin-Salt-Buffer Mixture)¹¹⁾

Glucose	4.0g
Potassium citrate	4.1 //
Sodium acetate	0.2 //
Ammonium chloride	0.4 //
Di-potassium phosphate	1.0 //
Salt C solution	4.0ml ①
A.G.U.X solution	2.0 // ②
Vitamin solution	2.0 // ③
Tween 80 solution (1%)	1.0 //

① Salt C solution

MgSO ₄ · 7H ₂ O	10.0g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.5 //
MnSO ₄ · 7H ₂ O	2.0 //
Conc. HCl	0.5ml

더운 물에 녹여서 전체량을 250ml로 만든다.

② A.G.U.X. solution

Adenine sulfate	250mg
Guanine HCl	250 //
Uracil	250 //
Xanthine	250 //

소량의 KOH에 녹이고 물을 加하여 전체량을 250ml로 만든다.

③ Vitamin solution

Niacin	250mg
B ₁ · HCl	25 //
Pyridoxal	5 //
Ca-Pantothenate	25 //