4.1.3 陽イオン 多くの金属イオンは、試薬 A, B の添加によって有色の炭酸塩あるいは水酸化物などの沈殿を生じ、水溶液におけるインドチモールの呈色を判定困難にする。しかし、イソブタノールで抽出すれば、インドチモールの青色色素のみがアルコール層に移入するので判定は容易であった。陽イオンの影響を Table III に示した、

ヒドロキシルアミンおよび尿素は、加温によってアンモニアを生ずるので正誤差となり、臭素イオン、ヨウ素イオンおよびヒドラジンなどは次亜塩素酸塩を還元しやういので、インドチモールの生成を阻害するものと考えられる。また、銅の著しい影響は、後藤らの報告⁶⁾ (アルカリ性でフェノール-クロロミン T と黄色錯体を生成することを利用した微量銅の定量法) と同種の反応によって発色を妨害するものと考えられる。

ネスラー法では試料溶液に金属イオンを含む場合、アンモニアガスとして蒸留あるいは揮発分離しなければ適用できないが、本法は多くの場合それらの処理が不要で、しかもネスラー法 (検出限界: アンモニアとして $0.025 \mu\text{g}^{7)}$ より高感度であった。

5 結 言

(1) アンモニア窒素の微量定性分析に、インドチモール-イソブタノール抽出法を応用した。

(2) 水浴 (90°C 以上) 中で加熱すれば、30 秒程度で発色し、窒素としての検出限界は $0.0025 \mu\text{g}$ であった。

(3) 多くの共存物質について、その影響を検討した。終わりに、終始ご指導を賜った平野四蔵教授に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) R. Th. Roskam, D. de Langen: *Anal. Chim. Acta*, **30**, 56 (1964).
- 2) 橋谷 博, 吉田秀世: 本誌, **17**, 1136 (1968).
- 3) 藤沼 弘, 嶋田好孝, 平野四蔵: 同上, **20**, 131 (1971).
- 4) 後藤秀弘, 柿田八千代, 厚谷郁夫: 同上, **12**, 727 (1963).
- 5) J. W. Mellor: "A Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry", Supp. II, Part I, p. 551 (1956), (Longmans, Green and Co. Ltd., London).
- 6) 後藤秀弘, 柿田八千代, 並木美智子: 日本化学会第 18 年会講演要旨集, p. 352 (1965).
- 7) F. Feigl: "Spot Tests in Inorganic Analysis", 5th Ed., p. 238 (1961), (Maruzen Asian Ed.).

Micro-qualitative analysis of ammonia-nitrogen. Hiroshi FUJINUMA and Yoshitaka SHIMADA (Faculty of Engineering, Toyo University, Kujirai-Nakanodai, Kawagoe-shi, Saitama-ken)

A drop (ca. 0.05 ml) of test solution involving ammonia-nitrogen was taken in a small test tube. To it were added with thorough mixing a drop of hypochlorite-carbonate buffer (Dissolve 5 g of NaHCO_3 and 8 g of Na_2CO_3 in 500 ml of water. Then add 100 ml of NaClO with available chlorine 0.3% and dilute to 1 l) and a drop of thymol solution (Dissolve 5 g of thymol in acetone to make 50 ml and add equal volume of $0.7M$ NaOH solution). It was immersed in a hot water bath (90°C or higher) for 30 sec. to develop blue color of iodothymol. The detection limit was $0.005 \mu\text{g}$ as N.

Alternatively, The test tube was removed from the water bath, and 2 drops of isobutanol was added with vigorous shaking. After standing, the blue color was transferred into the butanol layer. The detection limit was $0.0025 \mu\text{g}$ as N.

The reagent blank should be referred to.

(Received Jan. 16, 1971)

テトラブロムフェノールフタレイ ンエチルエステルによるホマトロ ピンの比色定量法

坪内 正弘*

(1971 年 2 月 8 日受理)

1 緒 言

一般にフタレイン系酸性色素はアミン類と有色化合物を生成することが知られている¹⁾²⁾。酸性色素の一種であるテトラブロムフェノールフタレインエチルエステルは pH $4.5 \sim 5.5$ で変色する pH 指示薬として利用されている。既報³⁾において、この試薬を用いて種々のアミン類やアルカロイド類などを有機溶媒に抽出したところ赤紫および青色を呈するものがあることを見だし、そのうち赤紫色を呈するものとしてエゼリンについて³⁾、また青色を呈するものの例としてテトラエチルアンモニウム塩の吸光光度定量法について報告した⁴⁾。本報は、抽出によって赤紫色を呈するホマトロピンについて検討したものであり、この呈色を利用したホマトロピンの比色定量法および赤紫や青色を呈して抽出された化学種の

* 鳥取大学教育学部: 鳥取市湖山町

溶存状態について検討した結果を報告する。

ホマトロピンは医薬品として散どうや調節まひに用いられており、その定量法は水酸化ナトリウムによる間接滴定法⁹⁾が用いられている。

2 実 験

2.1 装置および試薬

吸光度測定には島津製 QR-50 型光電分光光度計を使用し、セルは光路長 10 mm の石英セルを用いた。pH の測定には東亜電波製 HM-5A 型ガラス電極 pH メーターを、電気伝導度の測定には東亜電波製 CM-2A 型電気伝導度計を用いた。振り混ぜ機はイワキ製の KM 式万能シェーカーを使用した。

テトラブромフェノールフタレインエチルエステル (以下 TBPE と略記) カリウム塩 (和光純薬製) の一定量をエタノールに溶かして $4 \times 10^{-3} M$ 溶液を調製し使用した。ホマトロピン標準溶液は、臭化水素酸ホマトロピン (東京化成製, $105^{\circ}C$ で乾燥) の一定量を水に溶かして $2.0 \times 10^{-3} M$ 溶液を調製し、水で希釈して使用した。0.1M ほう砂溶液に 0.3M リン酸二水素カリウム溶液を加えて、pH 8.5 に調節したものをつくり緩衝溶液として使用した。

2.2 実験操作

ホマトロピン溶液 ($2.0 \times 10^{-5} M$) 2~10 ml, 緩衝溶液 5 ml および TBPE 溶液 ($4 \times 10^{-3} M$) 2 ml を分液漏斗にとり、水を加えて 25 ml に希釈する。1,2-ジクロロエタン 10 ml を加えて約 2 分間振り混ぜる。約 5 分間静置したのち、有機層を分離し、ろ紙でろ過して混入している水滴を除く。水または試薬ブランクを対照として 570 m μ における吸光度を測定する。この操作は以後の諸条件を検討した結果に基づいて作成したものである。

3 結果と考察

3.1 定量条件の検討

抽出液の吸収極大波長は 570 m μ であり、その吸収曲線の形はエゼリンの場合⁹⁾によく似ていた。最大の呈色が見られる pH 範囲は 8.0~9.5 であり、pH 7.0 および 11.0 では吸光度が約 20% 程度減少することがわかった。ホマトロピンに対して TBPE の濃度が 40 倍モル以上のときに最大一定の吸光度が得られた。また緩衝溶液の添加量が 3 ml から 8 ml まで変わっても吸光度に変化は認められなかった。抽出平衡に達するためには 1 分間以上振り混ぜる必要があり、抽出液を室温 ($10 \sim 14^{\circ}C$) で放置しても 30 分間は吸光度に変化はなかった。抽出液媒としてジクロロエタンのほかに、ニト

ロメタン、ニトロベンゼン、イソamilアルコール、四塩化炭素、トルエンなどについて検討したが、試薬ブランクの吸光度が低くてしかもホマトロピンの存在によって強い呈色の得られるのはジクロロエタンであった。抽出したジクロロエタン中に混入している水分を除いて透明な溶液を得るためにろ紙でろ過する方法と、無水硫酸ナトリウムで脱水する方法について検討した。それぞれの場合について 10 回のくりかえし精度を求めたところ、水溶液中のホマトロピンの濃度が $4.0 \times 10^{-6} M$ に対して試薬ブランク対照で得られた平均吸光度は、ろ紙の場合 0.448、無水硫酸ナトリウムを使用した場合は 0.457 であった。また標準偏差はろ紙の場合 0.95% で、無水硫酸ナトリウムを使用すると 2.2% であり、ろ紙を用いて脱水するほうが精度が良好であった。

2.2 の実験操作に従って検量線を作成したところ、水溶液中におけるホマトロピンの濃度が $1.6 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-6} M$ の範囲で濃度と吸光度の間に直線関係が得られた。そのときのモル吸光係数は $1.12 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot l$ であった。塩化ナトリウムや硝酸アンモニウムなど通常の無機塩、酢酸塩、サリチル酸塩、エタノール、アスコルビン酸、フェノール、ぶどう糖などはホマトロピンの 1000 倍モル共存しても妨害しない。アルカロイド類は妨害する。

Fig. 1 Continuous variation plots

[Homatropine]+[TBPE] : $4 \times 10^{-5} M$; Reference :
Reagent blank; 1: 570 m μ ; 2: 600 m μ ; † TBPE :
Tetrabromophenolphthalein ethyl ester

3・2 呈色種の組成

使用する酸性色素が二塩基酸の場合には、抽出される呈色種として試薬と 1:1, 1:2 あるいはその混合した割合からなる組成の生成物が可能であり、このことは pH の影響を受けやすいこと⁶⁾、さらに再現性もわるいことに結びつくのではないかと考えられる。この点 TBPE は一塩基酸であり、さらに水和性の強いスルホン酸基などが無いのでより安定に抽出されるものと思われる。570 m μ と 600 m μ における連続変化法の結果を Fig. 1 に示す。試薬とホマトロピンが 1:1 で反応していることは明らかである。また抽出液の電気伝導度を測定した結果を Table I に示す。第 4 級アンモニウム塩では抽出液中でイオンに解離している（青色）のに対して、ホマトロピンのようなアルカロイドでは分子として存在する（赤紫色）ものと推定される。したがってその呈色種は [第 4 級アンモニウムイオン]⁺・[TBPE]⁻ および [ホマトロピン塩基]・[H(TBPE)] と考えられる。

Table I Electrical conductivity of dichloroethane extracts

Aqueous phase (50 ml) contained†	Color of extracts	Electrical conductivity of 1,2-dichloroethane extracts††(μ S/cm at 25°C)
$3 \times 10^{-4} M$ Homatropine or $(C_2H_5)_4NBr$ only	Colorless	0.0
$3 \times 10^{-4} M$ TBPE††† only	Yellow	0.0
$3 \times 10^{-4} M$ $(C_2H_5)_4NBr$ and $3 \times 10^{-4} M$ TBPE†††	Blue	9.77
$3 \times 10^{-4} M$ Homatropine and $3 \times 10^{-4} M$ TBPE†††	Red-violet	0.0

† The pH was kept at 8.5 with borate-phosphate buffer; †† The extracts with 50 ml of dichloroethane was filtrated with a filter paper to remove any droplets of water; ††† TBPE: Tetrabromophenolphthalein ethyl ester

終わりに、有益なご助言を賜った岡山大学桐栄恭二教授および広島大学山本勇蔵教授に感謝いたします。

文 献

- 1) M. E. Auerbach: *Anal. Chem.*, **15**, 492(1943).
- 2) 堀岡正義: 薬誌, **77**, 200 (1957).
- 3) 坪内正弘: 本誌, **20**, 314 (1971).
- 4) 坪内正弘: 同上, **20**, 83 (1971).
- 5) 日局 VII-1, 分冊 II, p. 621 (1965), (南江堂).
- 6) V. D. Gupta, D. E. Cadwallader: *J. Pharm. Sci.*, **57**, 112 (1968).

☆

Colorimetric determination of homatropine with tetrabromophenolphthalein ethyl ester.
Masahiro TSUBOUCHI (Faculty of Education, Tottori University, Koyama-cho, Tottori-shi)

A colorimetric method for the determination of homatropine has been developed by means of solvent

extraction. In the recommended procedure for preparing calibration curve, 2~10 ml of a standard homatropine solution ($2.0 \times 10^{-5} M$) is taken in a separatory funnel, and 5 ml of borate (0.1M)-phosphate (0.3M) buffer (pH 8.5) and 2 ml of a tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) ethanol solution ($4 \times 10^{-3} M$) are added. It is diluted to 25 ml with water, and shaken with 10 ml of 1,2-dichloroethane for 2 min. The extract is filtered through a dried filter paper to remove droplets of water. The absorbance is measured at 570 m μ against a reagent blank.

The colored species was assumed to be [homatropine]・[H(TBPE)] (red-violet) and [quaternary ammonium ion]⁺・[TBPE]⁻ (blue).

(Received Feb. 8, 1971)

銀ポートを用いるハロゲンの微量定量

本間 春雄, 吉田 睦子,
鈴木 啓子, 江 本 栄*

(1971 年 2 月 18 日受理)

1 緒 言

マイクロカリス法は、普通の有機化合物中の塩素、臭素の定量のみでなく、揮発性液体や燃焼困難な試料、アルカリ金属、アルカリ土類金属、イオウなどを含有する試料などに適用でき、すぐれた特徴がある。

しかし一方、分析操作が煩雑で熟練を要することや、ヨウ素の分析値に誤差が大きいなどの欠点をもっている。著者らはこの方法について、試料はかりとり方法の改良と精度の向上、分析操作の簡易化、適用範囲の拡大などを目的として実験を行なった。すなわち、銀製の試料ポートを自製してはかりとり精度を検討した。このポートに標準試料をはかりとり、封管中で硝酸銀を加えず、発煙硝酸を加えて熱分解し、ハロゲンを定量した。また、ヨウ素の定量条件についても若干の検討を加えた。

2 実験方法

2・1 試薬および器具

発煙硝酸、硝酸銀、エチルアルコールは特級（和光純薬）を常法¹⁾どおり調製した。標準試料は元素分析用（キシダ化学製）を用いた。封管、分解炉、フィルター、フィルター乾燥器は常法¹⁾のものを使用。微量化学はかりは島津 MDP-5（感量 0.001 mg）を使用した。

* 理化学研究所：埼玉県和光市広沢 2 丁目