3,4,5,6-テトラクロロフルオレセインと 1,10-フェナントロリン を用いる銀(I)の吸光およびけい光光度定量

森 逸 男, 榎 健 寿, 真野 豊子*

(1973 年 3 月 22 日受理)

3,4,5,6-テトラクロロフルオレセイン (T·Cl·Fl) は pH 9.8~11.8 の液性域で 1,10-フェナントロリン (phen) と銀(I) の間に 1:2:1 モル配位と考えられる赤色会合体を生成するとともに T·Cl·Fl 液のけい光が減少するので, T·Cl·Fl と phen を用いる銀(I) の吸光およびけい光光度定量法について検討を加えた. 銀(I) 液に pH 10.8 で $2.0 \times 10^{-4} M$ phen, $1.0 \times 10^{-4} M$ T·Cl·Fl, 1.0% ポリビニルピロリドン (PVP) 液 0.5 ml を加えて得られる会合体を, 銀(I) のみ除いて同じように処理して得られる T·Cl·Fl 液 (から試験液) とともに 20~25°C で約 60 分間静置し, から試験液を対照に 540 nm, 560 nm で吸光度を測定して $5.4 \sim 21.6 \mu\text{g}/10 \text{ ml}$ 銀(I) を吸光光度定量する. また pH 10.8 で銀(I) 液に $2.0 \times 10^{-5} M$ T·Cl·Fl と $1.5 \times 10^{-3} M$ phen, および 0.25% ゼラチン液 0.5 ml を加えて 540 nm におけるけい光強度を測定して, $0.5 \sim 6.0 \mu\text{g}/10 \text{ ml}$ 銀(I) をけい光光度定量する. 本法は鉄(III), アンチモン(III), クエン酸などの共存で負の誤差を与えるが, 比較的共存イオンの影響が少なく, また大量の金属イオンの影響は EDTA, IDA などによってマスクすることができる.

1 緒 言

1,10-フェナントロリン (phen) の共存下にブロムピロガロールレッド, ピロガロールレッド, あるいはフルオレセイン誘導体 (Fl) などを用いる銀(I)^{1)~9)}, カドミウム(II)¹⁰⁾, 希土類元素(III)¹¹⁾¹²⁾, チタン(IV), 銅(II)¹³⁾, スカンジウム(III)¹⁴⁾, 鉄(III)¹⁵⁾ などの金属イオンの吸光, またはけい光光度定量法が報告されている. 著者らは 3,4,5,6-テトラクロロフルオレセイン (T·Cl·Fl) と phen および銀(I) との間に生成する会合体はフルオレセイン (Fl) あるいはエオジンと phen および銀(I) との会合体に比べて, 鮮明な赤色体を生成するとともに, T·Cl·Fl のけい光が減少することを認め, この事実を銀(I) の吸光光度およびけい光光度定量法に応用し, 二, 三の知見を得た.

2 試薬および装置

2.1 試 薬

フルオレセイン誘導体: 2'-モノ-, 4'-モノ-, 2',4'-ジ-, 2',5'-ジ-, 4',5'-ジ-¹⁶⁾, 2',7'-ジ-¹⁷⁾, 2',4',5'-トリ-, 2',4',7'-トリ-¹⁸⁾ および 3,4,5,6-テトラクロロフルオレセイン¹⁸⁾ を, それぞれ $10^{-1} N$ 水酸化ナトリウムと塩酸を用いて精製後, $1.0 \times 10^{-3} M$ メタノール液を調製

し, 適宜希釈して用いた.

銀(I) 液: $1.0 \times 10^{-2} M$ 硝酸銀液について標準塩化ナトリウムを用いて電位差滴定を行ない, 銀(I) 濃度を補正したのち, 適宜 $5.0 \times 10^{-4} M$ 液として水で希釈して用いた.

1,10-フェナントロリン (phen) 液: $4.0 \times 10^{-3} M$ および $1.0 \times 10^{-2} M$ phen の 40% メタノール液として用いた. また緩衝液にリン酸水素二ナトリウム-リン酸二水素カリウム, 水酸化ナトリウム-四ホウ酸ナトリウム液を, 分散剤に 1.0% ポリビニルピロリドン (PVP), ポリビニルアルコール (PVA), 0.25% ゼラチン液などを用いた. なお, 試薬はいずれも特級品を, 水は再蒸留水を用いた.

2.2 装 置

吸光度の測定には島津 QV 50 型, UV-200 分光光電光度計で層長 10 mm の石英製セルを, またけい光およびけい光スペクトルの測定には日立 203 型および日立 MPF-2A 型分光けい光光度計を用いた. また pH の測定には東亜電波 HM 5A 型ガラス電極 pH メーターを, 電位差の測定にはメトローム社製ポテンショグラフ E336A 型を用いて, 銀(I) 濃度を求めた.

3 定量操作

3.1 吸光光度定量

21 μg 以下の銀(I) を含む液に 1.0% PVP 液 0.5 ml, Sørensen の緩衝液 (pH 10.8) 2.0 ml, 4.0×10^{-3}

* 大阪薬科大学: 大阪府松原市河合町 2-10-65

M phen 液 0.5 ml および $1.0 \times 10^{-3} M$ T·Cl·Fl 液 1.0 ml を加える. ついで水を加えて全量を 10.0 ml とし, 別に銀(I) のみ除いて同じように処理して得た T·Cl·Fl 液 (以下から試験液と記す) とともに $20 \sim 25^\circ C$ で約 60 分間静置する. ついで会合体ならびにから試験液の吸光度を 540 nm または 560 nm で測定し, あらかじめ得た $5.4 \sim 21.6 \mu g/10 ml$ 銀(I) の検量線より銀(I) 濃度を求める.

3.2 けい光光度定量

6 μg 以下の銀(I) を含む液に 0.25% ゼラチン液 0.5 ml, 緩衝液 (pH 10.8) 1.5 ml, $1.0 \times 10^{-2} M$ phen 液 1.5 ml, $5.0 \times 10^{-4} M$ T·Cl·Fl 液 0.4 ml を加え, ついで水を加えて全量を 10.0 ml とする. 別から試験液とともに $20 \sim 25^\circ C$ で約 5 分間静置する. ついで励起波長 365 nm で 540 nm における会合体ならびにから試験液のけい光強度を測定し, あらかじめ得た $0.5 \sim 6.0 \mu g/10 ml$ 銀(I) 検量線より銀(I) 濃度を求める.

4 実験操作の検討

4.1 吸光度定量法

4.1.1 吸収スペクトル phen の共存下に 2'-モノ-, 4'-モノ-, 2',4'-ジ-, 2',7'-ジ-, 4',5'-ジ-, 2',5'-ジ-, 2',4',7'-トリ-, 2',4',5'-トリ- および 3,4,5,6-テトラクロロフルオレセイン (T·Cl·Fl), ならびにフルオレセイン (Fl) と銀(I) との間に塩基性域で生成する会合体について吸収スペクトルを測定した. その結果, T·Cl·Fl を用いた場合, Table I に見られるように, から試験液と会合体との吸光度の差が, 最も顕著に認められるので, 以下銀(I) の吸光度定量法に際して T·Cl·

Fl と phen を用いることとした. なお, Fig. 1 に Fl のから試験液と銀(I) 会合体, および T·Cl·Fl のから試験液と銀(I) 会合体の各吸収スペクトルを示した.

Fig. 1 Absorption spectra of T·Cl·Fl and T·Cl·Fl-Ag(I) in the presence of phen

T·Cl·Fl : $2.5 \times 10^{-5} M$; Ag(I) : $2.5 \times 10^{-5} M$; phen: $2.0 \times 10^{-4} M$; pH : 10.8; —×— T·Cl·Fl; ---- T·Cl·Fl-Ag(I); — Fl; — — — Fl-Ag(I); Reference : Water

Table I Absorbance of fluorescein derivatives and fluorescein derivatives-Ag(I) in the presence of phen

Fluorescein deriv.	nm	Absorbance of	
		Fluorescein deriv.	Fluorescein deriv.-Ag(I)
Fl	545	0.009	0.289
2'-Cl·Fl	540	0.013	0.605
4'-Cl·Fl	530	0.129	0.860
2',7'-Cl·Fl	540	0.048	0.520
4',5'-Cl·Fl	535	0.135	0.910
2',5'-Cl·Fl	545	0.064	0.655
2',4'-Cl·Fl	540	0.034	0.798
2',4',5'-Cl·Fl	545	0.071	0.561
2',4',7'-Cl·Fl	545	0.063	0.780
3,4,5,6-Cl·Fl	545	0.061	0.978

Fluorescein deriv. : $5.0 \times 10^{-5} M$; Ag(I) : $2.5 \times 10^{-5} M$; phen : $2.0 \times 10^{-4} M$; pH : 10.8; Reference : Water

次に $2.5 \times 10^{-5} M$ 銀(I) に T·Cl·Fl 液を $5.0 \sim 10.0 \times 10^{-5} M$ に変えて得られる会合体の吸収スペクトルを測定したところ, 540 nm において会合体とから試験液との吸光度の差が極大値を示すとともに, 560 nm において T·Cl·Fl 液量の影響の少ないことが認められた. したがって定量感度を要求する場合には 540 nm を, その他の場合には 560 nm の波長を用いることとした.

4.1.2 pH の影響 pH の変化による会合体とから試験液との吸光度の差を測定したところ, pH 9.8 ~ 11.5 の液性域においてほぼ一定の吸光度が得られるので, 以下 pH 10.8 の液性域を用いることとした.

4.1.3 分散剤の影響 1.0% PVA 液, 1.0% PVP 液あるいはゼラチン液などの分散剤のうち, 1.0% PVP 液を 0.5 ml 以上添加した場合, ほぼ一定の吸光度を示す会合体が得られるので, 以下分散剤として 1.0% PVP 液 0.5 ml を用いることとした.

Fig. 2 Effect of pH

—○— 540 nm; —×— 560 nm; Ag(I) : $1.25 \times 10^{-5} M$;
T·Cl·Fl : $1.0 \times 10^{-4} M$; phen : $2.0 \times 10^{-4} M$; PVP :
1.0 ml; Reference : Reagent blank

4.1.4 phen 量の影響 $1.25 \times 10^{-5} M$ 銀(I) に対する phen 液量について求めたところ、 $4.0 \times 10^{-3} M$ phen 液 0.3 ml 以上の添加により、ほぼ一定の吸光度が得られるので、以下の操作に $4.0 \times 10^{-3} M$ phen 液 0.5 ml を用いることとした。

4.1.5 呈色の安定性と試薬順序の影響 会合体の呈

Fig. 3 Effect of concentration of phen

—○— 540 nm; —×— 560 nm; Ag(I) : $1.25 \times 10^{-5} M$;
T·Cl·Fl : $1.0 \times 10^{-4} M$; pH : 10.8; PVP : 1.0 ml;
Reference : Reagent blank

色は室温で約 40 分間以上の静置を必要とする。一方、加温反応により呈色の安定に要する時間が短縮されるが、やや再現性に欠けるので、以下 20~25°C で約 60 分間静置の操作を用いることとし、3 の定量操作に従う試薬添加順序を用いることとした。

4.1.6 T·Cl·Fl 量の影響 $1.25 \times 10^{-5} M$ 銀(I) に対する最適 T·Cl·Fl 液量について求めたところ、 $1.0 \times 10^{-3} M$ T·Cl·Fl 液 1.0 ml 以上の添加により、ほぼ一定の吸光度が得られるので以下 $1.0 \times 10^{-3} M$ T·Cl·Fl 液 1.0 ml を用いることとした。

4.1.7 検量線の作成 3 の定量操作に従って銀(I) の検量線を作成したところ、Fig. 4 に見られるように 5.4~21.6 $\mu g/10 ml$ 銀(I) の濃度範囲において直線性が得られた。

Fig. 4 Calibration curve for Ag(I)

—○— 540 nm; —×— 560 nm; T·Cl·Fl : $1.0 \times 10^{-4} M$;
phen : $2.0 \times 10^{-4} M$; PVP : 1.0 ml; pH : 10.8;
Reference : Reagent blank

4.2 けい光光度定量法

4.2.1 けい光スペクトル 吸収スペクトルの測定と同じように塩基性域における phen 共存下でクロロフォルオレsein誘導体と銀(I) との会合体についてけい光スペクトルを測定したところ、T·Cl·Fl を用いた場合、から試験液と会合体とのけい光強度の差が最大値を示すとともに、そのけい光も比較的安定であることが認められた。なお、けい光光度定量法においてから試験液と会合体とのけい光光度の差は、Fig. 5 に見られるように、

Fig. 5 Emission spectra of Fl, T·Cl·Fl, Fl-Ag(I) and T·Cl·Fl-Ag(I) in the presence of phen

Fl, T·Cl·Fl: $2.0 \times 10^{-5} M$; phen: $1.5 \times 10^{-3} M$; Ag(I): $27.0 \mu g/10 ml$, gelatin: 0.5 ml, — Fl; —x— Fl-Ag(I); --- T·Cl·Fl; ---- T·Cl·Fl-Ag(I)

Table II Relative fluorescence intensity of chloro-fluorescein derivatives and their-Ag(I) in the presence of phen

Fluorescein deriv.	Emission wavelength (nm)	Fluorescence intensity (%)	
		Fluorescein deriv.	Fluorescein-deriv.-Ag(I)
Fl	520	100.0	71.1
2'-Cl·Fl	525	76.3	59.6
4'-Cl·Fl	530	109.5	39.2
2',7'-Cl·Fl	532	80.9	78.7
4',5'-Cl·Fl	535	70.2	56.9
2',5'-Cl·Fl	535	77.5	59.6
2',4'-Cl·Fl	530	80.0	70.0
2',4',7'-Cl·Fl	535	73.8	37.9
2',4',7'-Cl·Fl	540	77.7	39.5
3,4,5,6-Cl·Fl	535	85.9	35.8

Fluorescein deriv.: $5.0 \times 10^{-5} M$; Ag(I): $2.5 \times 10^{-5} M$; phen: $1.5 \times 10^{-3} M$; pH: 10.8; PVP: 1.0% 1.0 ml

535~540 nm において著明に認められるので, 以下定量法の検討に 540 nm の波長を用いることとした。

4.2.2 pH の影響 pH 10.5~11.8 の液性域においてほぼ一定のけい光光度が得られるので, 以下 pH 10.8 の Sørensen の水酸化ナトリウム-四ホウ酸ナトリウム液 1.5 ml を用いることとした。

Fig. 6 Effect of pH

T·Cl·Fl: $2.0 \times 10^{-5} M$; Ag(I): $3.8 \mu g/10 ml$; phen: $1.5 \times 10^{-3} M$; Gelatin: 0.5 ml

4.2.3 phen 量の影響 $6.4 \mu g$ 銀(I) と T·Cl·Fl $2.0 \times 10^{-5} M$ 液について phen 最適液量を求めたところ, $1.0 \times 10^{-2} M$ phen 液 0.3 ml 以上の添加でほぼ一

Fig. 7 Effect concentration of phen

T·Cl·Fl : $2.0 \times 10^{-5} M$; Ag(I) : $6.4 \mu g/10 ml$; pH : 10.8; Gelatin : 0.5 ml

定のけい光強度が得られるので、以下 $1.0 \times 10^{-2} M$ phen 液 1.5 ml を用いることとした。

4.2.4 分散剤の影響 分散剤として 0.25% ゼラチン液 0.5 ml 以上を添加するとき、最も再現性の高いけい光強度が得られるので、以下 0.25% ゼラチン液 0.5 ml を用いることとした。

Fig. 8 Effect of concentration of gelatin

T·Cl·Fl : $2.0 \times 10^{-5} M$; Ag(I) : $3.8 \mu g/10 ml$; phen : $1.5 \times 10^{-2} M$; pH : 10.8

4.2.5 T·Cl·Fl 量の影響 $3.8 \mu g$ 銀(I) に対する $5.0 \times 10^{-4} M$ T·Cl·Fl 液の減少とともにから試験液と会合体とのけい光強度の差は増大するが、けい光が不安定となるので、以下銀(I)のけい光光度定量に $5.0 \times$

$10^{-4} M$ T·Cl·Fl 液 0.4 ml を正確に用いることとした。

4.2.6 呈色の安定性 銀(I) 会合体についてけい光の安定性を検討したところ、 $50^\circ C$ 以下の温度であれば比較的けい光が安定であるので、以下呈色操作後、約 5 分間静置して得られる会合体のけい光を測定することとした。

4.2.7 検量線の作成 3の定量操作に従って銀(I)の検量線を作成したところ、 $0.5 \sim 6.0 \mu g/10 ml$ 銀(I)濃度範囲においてほぼ直線性を示す検量線が得られた。

Fig. 9 Calibration curve for Ag(I)

T·Cl·Fl : $2.0 \times 10^{-5} M$; phen : $1.5 \times 10^{-2} M$; pH : 10.8; Gelatin : 0.5 ml

4.3 共存イオンの影響

T·Cl·Fl と phen を用いた銀(I)の吸光およびけい光光度定量法における共存イオンの影響について求めたところ、スズ(IV)、アンチモン(III)などの共存は吸光度ならびにけい光強度の減少を、ビスマス(III)、鉄(III)などの共存は吸光度の減少とけい光強度の増大を、また亜鉛(II)、カドミウム(II)、トリウム(IV)、ジルコニウム(IV)、ニッケル(II)、水銀(II)などの共存はけい光の減少を示して妨害となるが、吸光度定量法では、ほとんど妨害とならない。なお、銀(I)と反応する I^- 、 CN^- 、 $S_2O_3^{2-}$ などの陰イオンの共存は吸光度法において負の、けい光光度法において正の誤差を与えて妨害する。また EDTA、NTA あるいは IDA などの錯化剤の共存はいずれもほとんど影響しないので、これら金属イオンの妨害を除去することができる。

Table III Effect of foreign ions

Foreign ions	Added as	Absorbance		Fluorescence	
		Added ($\mu\text{g}/10\text{ ml}$)	at 540 nm	Added ($\mu\text{g}/10\text{ ml}$)	Int. at 540 nm(%)
—	—	—	0.280	—	57.7
Bi(III)	nitrate	156.7	0.268	156.7	60.2
Sb(III)	sulfate	59.4	0.260	6.1	53.9
Sn(IV)	sulfate	60.9	0.260	59.3	53.0
Fe(III)	sulfate	27.9	0.270	8.4	59.3
Th(IV)	nitrate	6.9	0.280	34.8	60.5
Zr(IV)	nitrate	13.7	0.278	13.7	75.3
Cu(II)	nitrate	—	—	4.8	53.3
Pb(II)	nitrate	—	—	5.2	55.8
Cd(II)	nitrate	—	—	16.9	53.9
Zn(II)	nitrate	—	—	3.3	55.0
Ni(II)	nitrate	—	—	3.0	55.4
Hg(II)	nitrate	10.1	0.278	20.1	55.1
I ⁻	potassium	6.3	0.140	6.3	80.2
CN ⁻	potassium	1.3	0.105	2.0	76.0
S ₂ O ₃ ²⁻	sodium	1.5	0.158	1.7	99.0

Ag(I) taken: 9.0 μg (abs.), 5.4 μg (Fl); Tl·Cl·Fl: $1.0 \times 10^{-4} M$ (abs.); $2.0 \times 10^{-5} M$ (Fl); phen: $2.0 \times 10^{-4} M$ (abs.), $1.5 \times 10^{-3} M$ (Fl); pH: 10.8

4.4 会合体の組成

過剰の phen 共存下に生成する会合体について T·Cl·Fl と銀(I) との結合モル比を連続変化法, モル比法により求めたところ, T·Cl·Fl 1: 銀(I) 1 モル配位と考えられる結果を得た. また平衡濃度法⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾ において, T·

Fig. 10 The method of continuous variation applied for Ag(I)-T·Cl·Fl complex in the presence of phen

—×— 540 nm; —○— 550 nm; [Ag(I)+T·Cl·Fl]=
 $1.0 \times 10^{-4} M$; phen: $2.0 \times 10^{-4} M$; pH: 10.8; Reference: Reagent blank

Cl·Fl と銀(I) との会合体を銀(I)-T·Cl·Fl¹⁻ⁿ とすると式 (1) が成立する.

式 (1) の平衡定数 K_1 は式 (2) で表わすことができ, 一定の pH 域で操作するから式 (2) は式 (3) となり, 式 (2) において銀(I), T·Cl·Fl および会合体の濃度をそれぞれ a , b , x とし, b を a の過剰に加えると式 (3) より式 (4)~(6) が誘導できる.

$$K_1 = \frac{[\text{Ag(I)-T·Cl·Fl}^{1-n}][\text{H}^+]^n}{[\text{Ag(I)}][\text{T·Cl·Fl}]^n} \quad (2)$$

$$K_1' = \frac{K_1}{[\text{H}^+]^n} = \frac{[\text{Ag(I)-T·Cl·Fl}^{1-n}]}{[\text{Ag(I)}][\text{T·Cl·Fl}]^n} \quad (3)$$

$$K_1' = \frac{x}{(a-x)(b-x)^n} \quad (4)$$

$$K_1' = \frac{x}{(a-x)b^n} \quad (5)$$

$$x = \frac{ab^n K_1'}{1 + K_1' b^n} \quad (6)$$

今, 上の条件で求められた吸光度を A_s とし, T·Cl·Fl および銀(I) 会合体の分子吸光係数を ε_1 , ε_2 とすると式 (7) となり, T·Cl·Fl の b 濃度の示す吸光度 $A_{s1} = \varepsilon_1 b$ より式 (8) が誘導できる.

$$A_s = \varepsilon_2 x + \varepsilon_1 (b - nx) \quad (7)$$

$$A_{s0} = A_s - A_{s1} = \varepsilon_2 x + \varepsilon_1 (b - nx) - \varepsilon_1 b = x(\varepsilon_2 - \varepsilon_1 n) \quad (8)$$

また, 式 (6) と式 (8) より式 (9) および (10) が誘導でき, $a/A_s - A_{s1}$ と $1/b^n$ との関係を $n=0.5, 1.0, 1.5, 2.0$ などについて求めることにより直線性が得ら

$$A_{s0} = \frac{a(b^n K_1' \varepsilon_2 - b^n n K_1' \varepsilon_1)}{1 + K_1' b^n} \quad (9)$$

$$\frac{a}{A_{s0}} = \frac{a}{A_s - A_{s1}} = \frac{1 + K_1' b^n}{b^n K_1' (\varepsilon_2 - \varepsilon_1 n)} = \frac{1}{b^n} \times \frac{1}{K_1' (\varepsilon_2 - n \varepsilon_1)} + \frac{1}{\varepsilon_2 - n \varepsilon_1} \quad (10)$$

れるはずである. したがって, $1.25 \times 10^{-5} M$ 銀(I) に対して T·Cl·Fl 濃度を変えて得られる会合体の吸光度 A_{s0} を測定して $a/A_s - A_{s1}$ と $1/b^n$ との関係を求めた. その結果, $n=1$ において Fig. 11 に見られるように直線性が成立するので, 銀(I) と T·Cl·Fl の結合モル比は 1:1 モル配位と考えられる. また T·Cl·Fl と銀(I) の 1:1 モル配位の会合体に結合する phen のモル比

Fig. 11 The equilibrium concentrations method

—○— 550 nm; —×— 540 nm; Ag(I) : $1.25 \times 10^{-5} M$;
phen : $2.0 \times 10^{-4} M$; T·Cl·Fl : $1.0 \times 10^{-3} M$, $\times ml$; pH :
10.8; Reference : Water

Fig. 12 The method of continuous variation for Ag(I)-T·Cl·Fl complex in the presence of phen

—○— 540 nm; —×— 550 nm; [phen + Ag(I)-T·Cl·Fl] = $1.0 \times 10^{-4} M$; pH : 10.8; Reference : Reagent blank

を連続変化法, モル比法, 平衡濃度法を用いて求めたところ, 銀(I) 1 : phen 2 モル配位と考えられる結果を得,

T·Cl·Fl : 銀(I) : phen の結合配位は 1 : 1 : 2 モルと推定される。

5 結果および考察

T·Cl·Fl 1 : 銀(I) 1 : phen 2 モル配位と考えられる会合体の呈色を用いた銀(I) の吸光光度定量法, ならびにけい光光度定量法は, 従来, 銀(I) の定量法としては用いられている銀(I)-ジチゾン抽出定量などに比べて, 操作が簡便で分析所要時間が少なく, かつ共存イオンの影響も比較的少ないなどの利点があり, 特にけい光光度定量法はより微量の銀(I) を短時間に感度よく定量することができる。

(1973 年 4 月, 日本薬学会第 93 年会において発表)

文 献

- 1) R. M. Dagnall, T. S. West: *Talanta*, **11**, 1533, 1627 (1964).
- 2) W. A. Gordon: *Nasa Tech. Note*, 1968, *Nasa-TN-D* 4769, 31p; *Chem. Abstr.*, **69**, 113173 (1968).
- 3) D. N. Lisitsyna, D. P. Shcherhov: *Issled Tsvet. Fluorescent Reakt Opređ. Blagorod Metal*, 91 (1969); *Chem. Abstr.*, **74**, 106923 (1971).
- 4) M. T. El Ghamry, R. W. Frei, G. W. Higgs: *Anal. Chim. Acta*, **47**, 41 (1969).
- 5) D. N. Lisitsyna, D. P. Shcherhov: *Zh. Analit. Khim.*, **25**, 2310 (1970); *Chem. Abstr.*, **74**, 71230 (1971).
- 6) M. T. El Ghamry, R. W. Fric: *Anal. Chem.*, **40**, 1986 (1968).
- 7) D. L. Nash: *Appl. Spectry.*, **21**, 126 (1967); 分化進歩総説, **18**, 1R (1969).
- 8) S. O. Rovyakova, V. M. Savestina, N. L. Lovbichina: *Zh. Analit. Khim.*, **25**, 1348 (1970); 文献速報, **13**, 32109317 (1971).
- 9) D. N. Lisitsyna, D. P. Shcherhov: *Zh. Analit. Khim.*, **25**, 1986 (1970).
- 10) 出口正一, 丹野一雄, 坂井紘治: 本誌, **19**, 1291 (1970).
- 11) N. S. Poluektov, M. A. Sandu: *Zh. Analit. Khim.*, **25**, 1510 (1970); *Chem. Abstr.*, **74**, 18986 (1971).
- 12) L. A. Allinovskaya, L. I. Ganago: *Zh. Analit. Khim.*, **25**, 2347 (1970); *Chem. Abstr.*, **74**, 90430 (1971).
- 13) I. A. Tserkovnitskaya, E. I. Novikova: *Zh. Analit. Khim.*, **24**, 1160 (1969); *Anal. Abstr.*, **20**, 952 (1971).
- 14) B. W. Bailey, R. M. Dagnall, T. S. West: *Talanta*, **13**, 753, 1661 (1966).
- 15) I. P. Alimarin, A. L. Kirika, V. I. Fadeeva: *Vest. mosk. gos. Univ., Ser. khim.*, 70 (1970); *Anal. Abstr.*, **20**, 917 (1971).
- 16) 大野武男, 森 逸男: 岐阜薬大紀要, **10**, 60 (1960).
- 17) I. M. Kolthoff, W. M. Laure, C. J. Sunde:

- J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 3274 (1929).
18) H. Orndorff: *ibid.*, **36**, 686, 711 (1914).
19) H. McConnel, N. Davidson: *ibid.*, **69**, 1321 (1947); **72**, 3164 (1950).
20) 日本化学会編: “実験化学講座”, 続 7, p. 202 (丸善).

☆

Spectrophotometric and fluorometric determination of silver(I) with 3, 4, 5, 6-tetrachlorofluorescein and 1, 10-phenanthroline.

ITSUO MORI, Takehisa ENOKI and Toyoko MANO (Osaka College of Pharmacy, 2-10-65, Kawai-cho, Matsubara-shi, Osaka)

An improved method for the absorption spectrophotometric and fluorometric determination of micro amounts of silver(I) has been carried out by using nine chloro derivatives of fluorescein (Fl) and 1, 10-phenanthroline as the reagents. The absorbances and fluorescence intensities of silver(I) complexes of the chloro derivatives of Fl were examined as shown in Table I and II. Among them 3, 4, 5, 6-tetrachloro-Fl (T·Cl·Fl) formed a very stable, reddish orange complex with silver(I) in the presence of excess 1, 10-phenanthroline, and a marked decrease in the intensity of T·Cl·Fl accompanied with the complex formation. The absorption and fluorescence intensity of T·Cl·Fl-silver(I) complex in the presence of excess 1, 10-phenanthroline were applied to the absorption spectrophotometric and fluorometric determination of silver(I). The absorbance of T·Cl·Fl-silver(I) complex was constant over the pH range of 9.8~11.5, and the fluorescence intensity was constant over the pH range of 10.5~11.8. The absorption maximum wavelength and emission wavelengths of T·Cl·Fl-1, 10-phenanthroline-silver(I) were about 540 nm. The calibration curves were linear in the range of 5.4~21.6 μg silver(I)/10 ml for the absorption spectrophotometric method

and in the range of 0.5~6.0 μg silver(I)/10 ml for the fluorometric method. The reaction is quite sensitive, and the procedure does not require a long time. The recommended analytical procedure of silver(I) is as follow.

Absorption spectrophotometric method.

A sample solution containing less than 20 μg of silver(I) taken in a 10.0 ml measuring flask, 1.0 ml of $1.0 \times 10^{-3} M$ T·Cl·Fl methanolic solution, 0.5 ml of $4.0 \times 10^{-3} M$ 1, 10-phenanthroline solution, 2.0 ml of Sørensen buffer solution, and 1.5 ml of 1.0% polyvinylpyrrolidone solution are added. The whole is made up to the mark with distilled water, and the solution is kept at 20~25°C for 60 min, then the absorbance of T·Cl·F-1, 10-phenanthroline-silver(I) solution is measured at 540 nm or 560 nm against the reagent blank.

Fluorometric method.

A sample containing 0.5~6.0 μg of silver(I) is taken in a 10.0 ml measuring flask, 0.4 ml of $5.0 \times 10^{-4} M$ T·Cl·Fl methanolic solution, 1.5 ml of $1.0 \times 10^{-2} M$ 1, 10-phenanthroline solution, 1.5 ml of Sørensen buffer solution, 0.5 ml of 0.25% gelatin solution are added. The whole volume is brought to the mark with distilled water, and the solution is kept at 20~25°C for 5 min, then the fluorescence intensity of T·Cl·Fl-1, 10-phenanthroline-silver(I) solution is measured at 540 nm.

The effects of foreign ions on the absorbance and fluorescence intensity of the complex were examined (in Table III). Bismuth(III), thorium(IV), zinc(II), iron(III) and zirconium(IV) could be masked by addition of EDTA solution. The mole ratio of silver(I), T·Cl·Fl and 1, 10-phenanthroline in the complex was estimated to be 1:1:2 by the continuous variation method and the mole ratio method.

(Received Mar. 22, 1973)