larger than two times and 150 times, respectively, that of copper(II). The pH range for the optimum extraction was 7.5~9.5.

The procedure for determination of copper(II) has been established as follows. To 1.61~16.1 μg of copper(II) in a 100-ml separatory funnel, 1 ml of $6.5 \times 10^{-4} M$ zincon and 3.5 ml of $5 \times 10^{-3} M$ zephiramine are added. The pH of the aqueous layer is adjusted to 8.3~8.5 with borate-hydrochloric acid buffer solution, and the aqueous layer is diluted to 50 ml with deionized water. After being shaken for 10 minutes with 10 ml of chloroform, the mixture is let stand for 10 minutes. The chloroform layer is transferred into a beaker containing anhydrous sodium sulfate, and the dehydrated chloroform solution is placed in a cell.

The absorbance at 625 nm is measured against the reagent blank.

The chloroform extract obtained by the above procedure was found to follow Beer's law in the range of 1.61~16.1 μg Cu(II). The molar absorptivity was $(2.27 \pm 0.09) \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$, and Sandell's sensitivity was $(2.81 \pm 0.085) \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. The sensitivity obtained with the ternary complex in chloroform layer was almost the same as that of the Cu(II)-zincon complex in aqueous layer. The composition of the extracted species was estimated to be $[\text{Cu}^{2+}(\text{Zincon}^{4-})_2(\text{Z}^+)_2]_0$ by means of the continuous variation method and by the mole ratio method as well.

(Received Apr. 11, 1973)

インドフェニン反応を利用したベンゼン中の チオフェンの改良定量法

日原 五郎, 田中 亜輝夫, 永田 暁*

(1973 年 4 月 18 日受理)

インドフェニン反応を利用したベンゼン中のチオフェンの比色定量の再現性を向上させるための研究を行ない, 呈色反応を一定温度に保って比較的ゆるやかに振とうしながら行なうと再現性を改良でき, またイサチン溶液に試料を加えてから振とうを開始するまでの接触時間を一定にすることも有効であることが認められた。反応容器として, なし型フラスコを使用し, 市販の振とう器付き恒温そうで 10 分間振とうして反応を行なえるので, 定量操作は手軽で迅速に行なうことができる。

4.8~64 $\mu\text{l/l}$ の濃度のチオフェンの検量線を, 調整後 3 週間以内のイサチン溶液を使用して作成した際の変動係数は 1% 以内で, 従来の定量法に比べ再現性はかなり向上できた。

1 緒 言

ベンゼン中に溶けているチオフェンを濃硫酸中でイサチンと反応させて, インドフェニンの呈色により比色定量する方法については, 古くは Schwalbe¹⁾, Wray²⁾ らの報告があり, 硫酸水銀法³⁾, 酢酸水銀法⁴⁾ の重量分析法に比べて, 操作が簡単で迅速なため広く利用されてきたが, 再現性の点では劣っている。反応の呈色条件を詳しく検討した安井⁵⁾, 武内⁶⁾, 磯部⁷⁾ らの最近の研究により, 再現性はかなり向上した。安井ら⁵⁾ の特殊な振り混ぜ容器を使った研究では, イサチン溶液とベンゼン試料

とを振とう前に接触させておく時間を長くするほど発色の度合が減少するから, 試料を加え終わると同時に振とうを開始しなければならないと指摘し, 0.01~0.0005% の濃度範囲で再現性が 10% 以内であったと報告している。武内ら⁶⁾ はチオフェンの濃度範囲を三つに分け, その区分に応じてイサチン溶液の使用量を変えて検量線を作成することにより, 0.02~0.00001% の広い範囲で定量しているが, 再現性についてはふれていない。

一方, Snell ら⁸⁾ はその呈色状態は反応時の温度に依存すると指摘しており, さらに磯部ら⁷⁾ は振とう前後で反応液の温度を測り, 両者の平均を分析温度とし, 吸光度とこの分析温度とが 1 次的関係にあることを見だし, 2 者の間の回帰方程式を使って相対誤差 3.5% 以

* 城西大学理学部化学科: 埼玉県入間郡坂戸町多和田 1076

内で $0.012 \sim 0.040 \text{ g/l}$ の範囲のチオフェンを求めている。しかしその方程式はチオフェンの濃度が異なるとそれに従って変わるので、未知試料の分析には困難さがやや伴う。これらの報告から、定量精度を向上させるには呈色反応に重要な影響を及ぼすと思われる反応温度を規制する必要がある、既存の方法のように室温の空气中で振とうするかわりに、一定温度に保った水中で容器を振とうし、反応温度をできるだけ一定にしたほうが有利であると考えられる。しかし、水中で一定温度を保持しながら反応容器を激しく振とうさせることを考えると、装置がかなりおおがかりになるためか、今までこのことについての試みはなされていなかった。

本実験においては、反応の際の発熱がかなり大きいことから、一定温度に保つことの必要性を認め、また振とうがあまり激しくなくても呈色反応はじゅうぶんに進むことがわかったので、反応容器として共せん付きなし型フラスコを使い、これを市販の振とう器付き恒温そう中に浸し、振とう中に水がはいるのを防ぐためフラスコの首の部分の水面に出した状態で比較的ゆるやかに振とうさせつつ反応を行なわせた。振とうの状況は一般に反応に使われるかき混ぜに比べればはるかに弱いものであったが、測定結果は満足すべきもので、従来の方より再現性のすぐれた定量結果が得られた。

2 装置および試薬

2.1 装置

反応容器は共せん付き 100 ml なし型フラスコを、振とうは大和科学製ウォーターバス BT 21 型（水平振幅 1.6 cm , 150 回/min ）を使った。吸光度測定は 10 mm セルで日立分光光度計 101 型を使用した。

2.2 試薬

イサチン溶液：イサチン 100 mg を 95% 濃硫酸 700 ml に溶解し、これに $6N$ 硫酸 34 ml に鉄みょうばん 0.25 g を溶かした溶液を加え、さらに濃硫酸を加えて 1 l としたのち、せん付きびんに移し替え、水蒸気が溶液に吸収されないようにして沸騰水中で 30 分加熱し、冷却後使用する。

ベンゼン：特級試薬を濃硫酸といっしょに振とうし、水洗して無水塩化カルシウムで脱水後蒸留する。

チオフェン標準溶液：市販チオフェン 500 ml を約 40 段相当の充てん塔で全還流で 10 時間精留後、初留分 100 ml を抜き取ったのち、さらに 10 時間全還流で精留して 100 ml を採取し、そのチオフェン 10 ml を正確にはかりベンゼンで正確に 100 ml に希釈する。必要に応じてこの溶液を順次希釈して所要の濃度の標準溶液を調製する。

3 実験方法および結果

3.1 定量操作

イサチン溶液 10 ml を 100 ml 共せん付きなし型フラスコに正確にはかりとり、 $30.6 \pm 0.2^\circ\text{C}$ に調整した恒温そう中に首部まで水に浸すようにして固定する。イサチン溶液が恒温そうの温度になるのを待って、チオフェンを含むベンゼン試料 1 ml を正確に加え、試料を加えはじめてから 30 秒後に振とうを開始し、 10 分間振り続ける。振とう終了後、呈色したイサチン溶液を 10 mm セルに移し入れ、純ベンゼンで同様の操作でつくった試薬ブランクを対照として 540 nm で反応終了後 5 分たってから吸光度を測定する。この方法によって得られた検量線を Fig. 1 に示した。

Fig. 1 Calibration curve

3.2 定量操作の検討

3.2.1 イサチン溶液の調製 この実験で使用したイサチン溶液は安井らの使用したものと同じ組成であるが、その報告にも述べられているように、インドフェニンの吸収極大は調製後、日数が経過するにつれて 590 nm から短波長側に移行し 10 日経過後 540 nm に落ちつく。この経時変化を避けるための手段として調製したとき沸騰水中で 30 分間加熱しておく⁸⁾、冷却直後使用してもその吸収極大は 540 nm となり、以後 3 週間は変化しないことが確かめられた。

3.2.2 接触時間 安井ら⁶⁾によれば, イサチン溶液と試料とを振とうする前の接触時間に吸光度が強く依存するので試料を入れたらすぐに振とうを開始しなければならない。しかし, 試料をホールピペットで入れ終わるのに要する時間には多少の差があり, 後述のように反応温度を一定にして発色させても吸光度にいくぶんばらつきがあった。それで試料の最初の1滴がピペットからイサチン溶液に落下したときから振とうを開始するまでを接触時間として, この時間を変えたのちに振とうし発色させた結果を Fig. 2 に示した。接触時間が 20~40 秒では吸光度がやや減少し, それ以後 5 分までは急速に変化し, 10 分間経過後振とうすれば安定な吸光度を示している。分析の迅速性と接触時間の影響が初期に比較的ゆるやかなことを考え, 接触時間を 30 秒にした。

Fig. 2 Effect of time of contact

3.2.3 呈色反応の温度 従来の方法に従って空気中で振とうして呈色反応を行なわせると, 同じ操作で実験し, また日によって気温があまり違わなくても吸光度に 20~30% の差異を生ずる場合がしばしば認められた。磯部ら⁷⁾の報告のように呈色反応の温度依存性がその原因と考えられたので, 3.1 に述べたように, 反応容器を一定温度に保った水中で振とうして反応を行ない, その温度を変えて実験した結果を Fig. 3 に示した。反応温度が強く呈色状態に影響することがわかった。反応温度を固定すれば, 実験したいずれの温度でも同じ程度の再現性が確認されたので, 本研究では年間の気温変化

Fig. 3 Effect of reaction temperature

Thiophene concentration: —△— 48 $\mu\text{l/l}$; —×— 32 $\mu\text{l/l}$; —○— 16 $\mu\text{l/l}$

を考え恒温そうの温度を 30.6°C に定めた。

3.2.4 振とう時間 この呈色操作は, 常法では激しい振とうを行なっているが, 反応温度を一定に保つため, 市販の振とう器付き恒温そうを用いるとフラスコの中で反応液をゆらす程度の振とうしか行なえず, 反応完了までに長時間を要すると思われた。振とう時間を変えて吸光度を測定した結果を Fig. 4 に示したが, 振とう時間は 10 分が適当であることがわかった。

3.2.5 検量線の再現性 調製後 1, 4, 8, 13 および 18 日経過したイサチン溶液をそれぞれ使い, チオフェン濃度 4.8~64 $\mu\text{l/l}$ の範囲で検量線を作成し, その結果を Table I に示した。代表的な検量線は Fig. 1 に示したとおりで, わずかに上にとつの曲線であった。また吸光度は日数がたつにつれて徐々に上昇する傾向がみられるが, 調製後 3 週間まではイサチン溶液は使用できると考えられる。

変動係数は 4.8 $\mu\text{l/l}$ の場合を除いては 1% 以下におさまリ, 従来の報告よりかなり精度がよくなった。

4 考 察

チオフェンは濃硫酸の存在のもとでイサチンと脱水縮合してインドフェニンを生ずるが, 一方において濃硫酸とも直接に反応して α 位置にスルホン化を起こす⁸⁾ こと

Table I Reproducibility

Concentration of thiophene ($\mu\text{l/l}$)	Absorbance						C. V.†† (%)
	1†	4†	8†	13†	18†	Mean	
4.8	0.072	0.073	0.074	0.075	0.075	0.073 ₈	1.6
8.0	0.122	0.121	0.122	0.121	0.122	0.121 ₆	0.40
16	0.235	0.237	0.239	0.240	0.240	0.238 ₂	0.81
32	0.468	0.469	0.463	0.472	0.470	0.468 ₄	0.64
40	0.572	0.576	0.574	0.579	0.576	0.575 ₄	0.40
48	0.682	0.680	0.670	0.683	0.674	0.677 ₈	0.74
56	0.792	0.794	0.775	0.793	0.791	0.789 ₀	0.89
64	0.867	0.878	0.878	0.884	0.882	0.877 ₈	0.67

† Time of standing in day after preparation of isatin solution;

†† Coefficient of variation

Fig. 4 Effect of shaking time

が知られている。したがって呈色反応に際してこの2種の異なった反応が競合して起こるものと考えられ、反応の温度を変え、または時間を変えることによって呈色状態が変化することからもこのような事実が認められる。しかし、本報告に述べた方法で反応の諸条件、特に温度を厳密に一定に保つことにより呈色反応は再現性よく進行し、比色定量の精度が高められたものと思われる。

呈色反応のときの恒温そう中での振とうはゆるやかなものであったが、実験結果からみて、この反応には激しい振とうが必ずしも必要ではなく、煩雑な手段や実験装置は避けられた。

文 献

- 1) C. Schwalbe: *J. Soc. Chem. Ind.*, **24**, 988 (1905).
- 2) E. Wrag: *ibid.*, **38**, 15 (1919).

- 3) D. Deniges: *Compt. rend.*, **120**, 628 (1895).
- 4) O. Dimroth: *Ber.*, **32**, 759 (1899).
- 5) 安井永三, 鈴木 汎: 工化, **63**, 612 (1960).
- 6) 武内次夫, 紫 弘: コールタール, **9**, 5 (1957).
- 7) 磯部恒雄, 秋吉 修: 工化, **56**, 817 (1953).
- 8) S. T. Snell, C. T. Snell: "Colorimetric Methods of Analysis", Vol. III, 3rd Ed., p. 502 (1953).
- 9) H. D. Hartough: "Thiophene and its derivatives", p. 418 (1952), (Interscience Publishers, Inc., New York).

☆

An improved method for determination of thiophene in benzene using the indophenine reaction. Goro HIHARA, Akio TANAKA and Miharu NAGATA (Department of Chemistry, Josai University, 1076, Tawame, Sakado-machi, Iruma-gun, Saitama)

An improved spectrophotometric method was described for determination of small amounts of thiophene in benzene using the indophenine reaction.

The spectrophotometric measurement of a blue indophenine coloration produced by a reaction of thiophene with isatin in concentrated sulfuric acid solution in the presence of the oxidizing agents such as iron(III) ions or concentrated nitric acid has been widely employed as a rapid and convenient method for determination of thiophene in benzene, although it is less reliable than the gravimetric methods. It was found that the temperature and the time of this reaction should be strictly controlled for good reproducibility to be obtained. The isatin-sulfuric acid solution used in this study, which was heated once at about 100 °C for half an hour when prepared afresh, could be safely used for a period of about 3 weeks.

A part of thiophene seems to react with concentrated sulfuric acid to give a by-product, thiophenesulfonic acid.

An improved procedure is as follows. A stoppered pear-type flask containing 10 ml of isatin-sulfuric acid solution {prepared by adding 0.1 g of isatin and 0.25 g of iron alum to 1000 ml of 92% (by weight) sulfuric acid and then being heated at 100°C for 0.5 h} was fixed to a shaking apparatus in a bath thermostated at (30.6±0.2) °C and allowed to stand until the temperature of the solution became constant. Then 1 ml of benzene sample solution containing thiophene was added from pipet, and after just 30 seconds had

passed from the beginning of adding the benzene solution, shaking of the reaction vessel was started and continued for 10 minutes. The blue colored isatin-sulfuric acid solution was transferred to a 10-mm cell, and after 5 minutes had passed the absorbance at 540 nm was measured against the reagent blank.

The relation between the absorbance and concentration of thiophene was linear within a relative error of less than 1.5% for a concentration range of 4.8~64 μ l/l.

(Received Apr. 18, 1973)

☆

☆

☆

☆