chlorate, sodium nitrate and sodium sulfate solutions were found adequate to supporting electrolytes in neutral media. Sodium perchlorate (about 3 M) solution seemed to be the most adequate from the view of separation of cyanate ion peak from the mercury discharging curve. Under these conditions, the peak of cyanate ion (1×10^{-4} M) was appeared at +0.27 V (vs. SCE) at 5°C. But this peak shifted slightly to the positive side with the increase of cyanate ion concentration. A linear relationship held over the concentration range from 2×10^{-5} M to 1.4×10^{-4} M of cyanate ion.

From the results of preliminary experiments using sodium perchlorate as a supporting electrolyte, the following procedure was recommended: A sample solution is first adjusted to pH 6~8 with 0.01 N sodium hydroxide or 0.01 N perchloric acid, because the hydrolysis of the cyanate ion progresses rapidly below pH 6.0 and above pH 9.8 the peak due to hydroxide ion interferes with that of cyanate ion. The sample, sodium perchlorate and gelatin are adjusted to 2×10^{-5} M~ 1.4×10^{-4} M, 3 M and 0.01% respectively in the solution for measuring cyanate ion. After bubbling nitrogen gas for about 15 minutes, an aliquot of the solution is put into a usual polarographic cell with a mercury pool. The cell is held at 5°C, since the peak of cyanate ion becomes higher (the temperature coefficient of the peak was +0.39%/°C) but the separation of cyanate ion peak from mercury dis-

charging curve becomes obscure, with temperature rising.

From the results of effects with diverse ions, it was found that some ions such as SCN^- , Cl^- , I^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ etc, which formed slightly soluble and slightly dissociating salts with mercurous and mercuric ions, interfered with determination (See Table I).

In particular, chloride and thiocyanate ions brought +20% error even if these ions existed less than ca. 10% relative to the cyanate ion, since these peak potentials were about equal to that of cyanate ion. However, cyanate ion could be determined, involving ca. $\pm 4\%$ relative error, by making the sample acid to decompose the cyanate ion up to about equal to the concentration of chloride or thiocyanate ion.

The electrode reaction produced at the peak potential of cyanate ion was investigated by dc polarography as the usual method. According to this polarography, it was found that a plot of E against $\log \{i/(i_d - i)^2\}$ produced a straight line with a slope of 0.028 at 5°C, in good agreement with the theoretical value 0.027 for $n=2$. And film was appeared evidently around a dropping mercury electrode at high concentration of cyanate ion. Therefore, the equation of the wave was assumed as follows.

(Received May 16, 1974)

ブチルヒドロキシアニソールのけい光定量*

海東 常敏, 板垣 和雄, 相楽 和彦, 伊藤 裕二**

(1974 年 5 月 28 日受理)

フェリシアン化カリウムによる 3-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール (BHA) のけい光定量法を検討した。

BHA を pH 10.0 においてフェリシアン化カリウムで酸化し, 得られた酸化生成物をベンゼンで抽出したのち, ジメチルホルムアミド (DMF) を加えると, 可視部に強いけい光を発し, ベンゼン: DMF が 4:10 のとき, 最も安定したけい光を示した。この混液における励起極大波長は 358 nm, けい光極大波長は 440 nm にあり, 最終濃度 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ~2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で原点を通る直線関係が成立した。また定量法における酸化生成物を単離し, その構造を調べ, ヒドロキシル基のオルト位で結合した物質であることを確認した。

* フェノール誘導体のけい光分析 (第4報)。前報は海東常敏, 相楽和彦: 薬誌, **94**, 639 (1974)

** 大正製薬株式会社品質管理部: 埼玉県大宮市吉野町 1-403

1 緒 言

医薬品または食品などの抗酸化剤として用いられる BHA の定量法には比色法として, 2,6-ジブロムキノクロロイミドによる方法¹⁾²⁾, ニトロソ化による方法³⁾, またガスクロマトグラフ法^{4)~6)}などが報告されている. けい光法に関しては BHA 自身の紫外けい光⁷⁾ による方法が報告されているが可視領域のけい光法については報告がみられない.

著者らはさきにアセトアミノフェンのフェリシアン化カリウム酸化による可視けい光定量法⁸⁾を報告したが, BHA についてもアルカリ性でフェリシアン化カリウムにより酸化し, この酸化生成物を DMF に溶かすと可視部に強いけい光を発することを知り, 各種条件検討を行ない定量法を確立した. 本法では市販 BHA 中に 0~数%含まれている 2-*tert*-プチル-4-ヒドロキシアニソール (2-BHA) は主成分である BHA に比べ約 1/3 のけい光強度を示すが, 共存する場合は逆に若干負の妨害を与えることがわかった. また保存剤 8 種および抗酸化剤 7 種の影響を調べたところ, 後述するようにそれら保存剤については 10 倍量共存してもまったく影響なく, 他の抗酸化剤もプチルヒドロキシルエン (BHT), グアヤク脂以外は同量共存の場合はまったく影響しないことを確かめた. なおアセトアミノフェンは本定量条件においてもけい光を発するが, 通常 BHA とは共存しないので妨害のおそれはない. 次に本法におけるけい光物質を単離し, その構造の推定を行ない, 2,2'-ジヒドロキシ-5,5'-ジメトキシ-3,3'-ジ-*tert*-プチルビフェニルであることを確認した.

2 試料, 試薬および装置

2.1 試料および試薬

BHA: 市販の BHA を石油 エーテルから数回再結晶し, 薄層クロマトグラフで 2-BHA のスポットのないものを用いた. mp 64°C.

0.5% フェリシアン化カリウム溶液.

1% アスコルビン酸溶液.

緩衝液: *M*/20 炭酸ナトリウム溶液に *M*/20 ホウ酸ナトリウム溶液を加えて pH 10.0 に調節する.

2-BHA: 国立衛生試験所食品添加物部 より分与されたものを用いた.

2.2 装 置

日立分光けい光光度計 MPF-2A 型, 島津ダブルビーム分光光度計 UV-200 型, 日本分光赤外分光光度計 DS70IG 型, 日立マススペクトロメーター RMS-4 型, 日立核磁気共鳴スペクトロメーター R-20 型 (60MHz).

3 定 量 法

BHA (5 μ g/ml) のエタノール溶液 2 ml を 20 ml の遠心沈殿管にとり, pH 10.0 の緩衝液 1 ml および 0.5% フェリシアン化カリウム溶液 1 ml を加え, 20°C で 2 分間放置後ただちに 1% アスコルビン酸溶液 1 ml を加え, さらにベンゼン 10 ml を加え 1 分間振り混ぜたのち遠心分離する. 上層のベンゼン溶液 4 ml に DMF 10 ml を加え, 励起波長 358 nm, けい光測定波長 440 nm におけるけい光強度を測定する.

4 定量条件の検討

4.1 フェリシアン化カリウム濃度の影響

フェリシアン化カリウムの濃度を 0.1%~3% に変化させ, 他は定量法に従って操作したところ, Fig. 1 に示すように 0.1%~3% の間でけい光強度は一定値を示したので, フェリシアン化カリウムの濃度は 0.5% と定めた.

Fig. 1 Effect of $K_3Fe(CN)_6$ concentration on fluorescence intensity

4.2 pH の影響

M/20 炭酸ナトリウム溶液と *M*/20 ホウ酸ナトリウム溶液を用いて pH 9.2~11.0 の緩衝液を調製し, その 1 ml ずつを用いけい光強度を測定したところ, Fig. 2 に示すように pH 9.75~10.5 の間でけい光は最大となり, また一定値を示した. したがって定量法では pH 10.0 の緩衝液を用いることとした.

4.3 アスコルビン酸添加量の影響

アスコルビン酸の濃度を 1% と定め, その量を 0 ml ~3 ml に変化させ測定したところ, Fig. 3 に示すようにアスコルビン酸の量が 1 ml~3 ml の間で最高かつ一

Fig. 2 Effect of pH on fluorescence intensity

† $M/20 \text{ Na}_2\text{CO}_3$ - $M/20 \text{ Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ buffer solution

Fig. 3 Effect of amount of 1% ascorbic acid on fluorescence intensity

定値を示したので、定量法では 1 ml と定めた。

4.4 反応温度および時間による影響

反応温度を 0°C および 20°C とし、反応時間を 15 秒から 10 分まで変化させ測定したところ、Fig. 4 に示す

Fig. 4 Relation between reaction time and temperature on fluorescence intensity

—●— 20°C ; —○— 0°C

ように、 20°C では 1 分～4 分で最高かつ一定値を示し、 0°C では 10 分でほぼ最高となり、以後 30 分後でも一定値を示したが、本法では短時間で操作できるように 20°C 、2 分と定めた。

4.5 けい光の安定性

定量法によって得たベンゼン抽出液のみではけい光は非常に弱い、これに DMF を添加するとけい光ははるかに強くなる。そこでベンゼンを留去したのち、DMF に溶かし、けい光の安定性を測定したところ、Fig. 5 に示すように励起光中ではきわめて不安定であった。しか

Fig. 5 Stabilities of fluorescence in DMF and benzene mixed solution

—●— 10:4; —○— 11:3; —▲— 12:2; —△— 13:1; —□— 14:0

しベンゼンの量が増加するにしたがって安定性が増し, DMF:ベンゼン (10:4) 混液を用いたとき最も安定となった. したがって定量法では DMF:ベンゼン (10:4) 混液を用いることにした. また本混液におけるけい光は室内光中では, 10分~60分後もほとんど安定であった. なお抽出溶媒としてベンゼン以外にキシレン, トルエン, *n*-ヘキサン, イソオクタンなども使用したが, キシレン, トルエンではベンゼンとほとんど変わりなく, *n*-ヘキサン, イソオクタンは DMF と容易に混和しないので, ベンゼンを用いることとした.

4.6 検量線

BHA 2.5 $\mu\text{g/ml}$ ~ 25 $\mu\text{g/ml}$ を含むエタノール溶液を調製し, その各 2 ml ずつをとり測定したところ, 原点を通る直線が得られた.

5 けい光反応の特異性

5.1 2-BHA および *p*-メトキシフェノール

原料中に共存が予想される 2-BHA および *p*-メトキシフェノールについて BHA と同量を用い, 定量法に従って操作した結果, Table I に示すように BHA に比べると弱いがいずれもけい光の発現が見られた. 次に BHA にこれらの同量を共存させ測定したところ, 予期に反していずれも負の妨害を与えたため, 共存量を 0%~5% まで変化させ測定した結果, Table II に示すように共存量の増加に伴い妨害は大きくなった. これらの除

Table I Fluorescence intensities of 2-BHA and *p*-methoxyphenol

Compound	$\lambda_{\text{ex}}^{\dagger}$ (nm)	$\lambda_{\text{em}}^{\dagger\dagger}$ (nm)	Fluorescence intensity
BHA	358	440	100.0
2-BHA	358	440	30.9
<i>p</i> -Methoxyphenol	365	445	17.6

$\dagger$ Excitation maximum; $\dagger\dagger$ Emission maximum

Table II Interference by 2-BHA and *p*-methoxyphenol

Compound	Added (μg)	BHA found	
		(μg)	(%)
2-BHA	5	497.9	99.6
	10	491.1	98.2
	15	484.7	96.9
	20	485.5	97.1
	25	478.1	95.8
<i>p</i> -Methoxyphenol	5	490.1	98.0
	10	488.8	97.8
	15	473.5	94.7
	20	464.9	93.0
	25	469.8	94.0

BHA taken : 500 μg

去法については現在のところ未検討であるが, 食品添加物公定書解説書⁹⁾によれば, *p*-メトキシフェノールの許容限度は 0.5% であり, BHA も最近品質が向上し純品に近いものが多いといわれるので実用上は支障ないものと考ええる.

5.2 他の抗酸化剤および保存剤

抗酸化剤および保存剤 14 種について定量法に従って操作したところ, グアヤク脂に励起極大波長 315 および 344 nm, けい光極大波長 400 nm に微弱なけい光が見られたが, その他の化合物では認められなかった. 次に BHA にこれらの化合物を共存させ操作したところ, Table III に示すように保存剤は 10 倍量共存してもほとんど影響なく, 抗酸化剤では BHT およびグアヤク脂が同量配合の場合でも負に影響した. したがって, これらが共存する場合にはあらかじめ除去操作を行なう必要がある.

Table III Interference by other antioxidants and preservatives

Compounds added	BHA found (%)	
	A $\dagger$	B $\dagger\dagger$
Ethyl- <i>p</i> -hydroxybenzoate	98.1	—
Propyl- <i>p</i> -hydroxybenzoate	100.9	—
Butyl- <i>p</i> -hydroxybenzoate	99.1	—
Benzoic acid	97.0	—
Sodium benzoate	97.3	—
Salicylic acid	97.9	—
Sodium dehydroacetate	101.0	—
Sorbic acid	100.9	—
Dibutyl hydroxytoluene	16.6	89.0
<i>iso</i> -Amyl gallate	47.8	98.6
<i>n</i> -Propyl gallate	35.0	97.8
Gum guaiac	11.3	64.8
Erisorbic acid	98.0	—
<i>dl</i> - α -Tocopherol	97.7	—
Ethyl protocatechuate	37.5	101.3

$\dagger$ BHA 5 $\mu\text{g/ml}$, other compounds 50 $\mu\text{g/ml}$; $\dagger\dagger$ BHA 5 $\mu\text{g/ml}$, other compounds 5 $\mu\text{g/ml}$; — Not measured

5.3 製剤中の定量

親水軟こう (局方品) 100 g 中に酢酸トコフェロール 200mg, パルミチン酸レチノール 100000 IU, BHA が 100 mg および 50mg 含まれるように調製した軟こう中の定量を試みた.

軟こう約 1 g を精密に量り, エタノール 20 ml を加えて 60°C の水浴中で加温し, 温時振り混ぜたのち氷冷する. ただちに遠心分離し上澄液を 100 ml のメスフラスコに入れ, さらに同様の操作を 2 回行ない, エタノー

ルを加えて正確に 100 ml とし試料溶液とする。試料溶液 2 ml について、定量法に従い測定した結果を Table IV に示した。

Table IV Determination of BHA in ointment

No.	Found (%)	
	Sample A†	Sample B††
1	97.3	99.1
2	99.4	101.2
3	99.4	100.1
4	100.5	100.8
5	102.5	97.7
Mean	99.8	99.8
CV (%)	1.89	1.41

† BHA 100 mg, tocopherol acetate 200 mg, retinol palmitate 100000 IU in hydrophilic ointment (JP. 8) 100 g; †† BHA 50 mg, tocopherol acetate 200 mg, retinol palmitate 100000 IU in hydrophilic ointment (JP. 8) 100 g

6 酸化生成物の同定

6.1 単離法

BHA 1 g をエタノール 20 ml に溶かし、これに pH 10.0 の M/20 炭酸ナトリウム-M/20 ホウ酸ナトリウム緩衝液 10 ml を加えよく振り混ぜ、10% フェリシアン化カリウム溶液を液が微黄色になるまで滴加したのち、ただちに 10% アスכולビン酸溶液を反応液が微酸性になるまで加える。これに *n*-ヘキサン 200 ml を加えて 10 分間振り混ぜ、分離した *n*-ヘキサン層をろ過し、溶媒を留去したのち残留物をイソオクタンから再結晶し、白色さいころ状結晶を得る。mp 229°C, anal. calcd. (C₁₁H₁₈O₂)₂: C 73.71%, H 8.44%, found: C 74.15%, H 8.24%.

6.2 薄層クロマトグラム

BHA, 定量法で得たけい光物質の溶液および単離したけい光物質 (単離品) について薄層クロマトグラフィーを行なったのち、「薄層板: リプレート (ヤマト科学製), 展開溶媒: DMF を飽和したイソオクタン」3650 Å の紫外線を照射したところ, Fig. 6 に示すように, 定量法で得たけい光物質 および単離品はそれぞれ R_f 0.65 に単一の青紫色けい光スポットを認め, BHA には認められなかった。さらに 1% 2,6-ジブロムキノクロリミドエタノール溶液を用いて発色させたとき, BHA は R_f 0.46 または定量法で得たけい光物質 および単離品はさきと同じ R_f 0.65 にそれぞれ青色の単一スポットが認められた。

6.3 紫外吸収スペクトル

BHA および単離品 についてエタノールおよび DMF

Fig. 6 Thin layer chromatograms of 3-BHA (a), its reaction product (b) and fluorescent product (c)

Solvent: Isooctane saturated with DMF

Fig. 7 Ultraviolet spectra of 3-BHA and fluorescent product

— 3-BHA (20 µg/ml); --- Fluorescent product (20 µg/ml); Solvent: (a) Ethanol, (b) DMF

中の紫外吸収スペクトルを測定したところ, Fig. 7 に示すように極大波長はエタノール中で BHA は 293 nm, 単離品は 300 nm にあり, また DMF 中ではそれぞれ

294 nm, 306 nm にあった. さらに単離品には 358 nm にエタノール中では認められなかった吸収が出現した. この吸収は本法における励起極大波長に一致した.

6.4 けい光スペクトルおよび溶媒効果

定量法によって得た液と単離品を定量法と同じ溶媒系に溶かし, それぞれのけい光スペクトルを測定したところ, Fig. 8 に示すように, いずれも励起極大波長は 358 nm, けい光極大波長は 440 nm にあり, 両者のけい光スペクトルは一致した. 次に単離品を各種溶媒に溶かしたときの励起, けい光極大波長および相対けい光強度を測定し, Table V に示した. また比較のため, BHA 自身のけい光も測定して示した.

Fig. 8 Excitation and emission spectra

(a) Excitation spectra; (b) Emission spectra; — Reaction solution on determination; --- Fluorescent product

Table V Solvent effects on fluorescence intensities of fluorescent product and 3-BHA

Solvent	$\lambda_{\text{ex}}^{\dagger}$ (nm)		$\lambda_{\text{em}}^{\ddagger}$ (nm)		Relative fluorescence intensity	
	I	II	I	II	I	II
DMF	358	300	440	324	100.0	9.0
Benzene	296	296	330	322	9.0	59.2
DMF : Benzene (10 : 4)	358	300	440	324	100.0	9.5
Water	302	293	334	324	5.6	53.8
Methanol	302	296	370	324	69.8	168.8
Ethanol	302	296	370	324	73.2	185.9
Isopropanol	302	296	370	324	77.2	191.1

$\dagger$ Excitation maximum; $\ddagger$ Emission maximum; I: Fluorescent product (0.1 $\mu\text{g/ml}$); II: 3-BHA (1.0 $\mu\text{g/ml}$)

6.5 赤外吸収スペクトル

BHA および単離品の臭化カリウム錠剤法によるスペクトルを Fig. 9 に示す. BHA では 3400cm^{-1} に $-\text{OH}$, 2970cm^{-1} 付近に $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ および $-\text{OCH}_3$, 1505cm^{-1} , 1470cm^{-1} および 1418cm^{-1} にベンゼン環の $-\text{C}=\text{C}-$, 1200cm^{-1} に $=\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$ の $\text{C}-\text{O}$, 1035cm^{-1} に $=\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$ の $=\text{C}-\text{O}$ による吸収が見られ, 単離品における吸収もほぼ一致しており, 原物質と類似の構造をもつことが予測される.

Fig. 9 Infrared absorption spectra of 3-BHA and fluorescent product in KBr tablet

A: 3-BHA; B: Fluorescent product

6.6 マススペクトル

BHA および単離品のマススペクトルを Fig. 10 に示す. Fig. 10 より単離品の分子ピーク m/e は 358 とみなされ, BHA の分子ピーク m/e は 180 であることと赤外吸収スペクトルより BHA が 2 分子結合したものであることが予測される.

Fig. 10 Mass spectra of 3-BHA (a) and fluorescent product (b)

6.7 NMR スペクトル

BHA および単離品を重クロロホルム溶液で測定した結果を Fig. 11 に示す. NMR スペクトルは, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$

基, $-\text{OCH}_3$ 基, $-\text{OH}$ 基および芳香族プロトンの存在を示し, シグナル強度(積分値)は BHA では $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ 9H, $-\text{OCH}_3$ 3H, $-\text{OH}$ 1H および芳香族プロトン 3H 分を与え, 単離品ではそれぞれ 9H, 3H, 1H および 2H 分を与え芳香族プロトン 1H 分が消失している. さらに単離品における芳香族プロトン 3.37, 3.03 τ (ダブルレット, $J=3.0$ Hz) のシグナルはメタ関係にあると考えられ, 4 および 6 位のプロトンに帰属できる.

Fig. 11 Nuclear magnetic resonance spectra of 3-BHA (a) and fluorescent product (b) in CDCl_3

したがって 定量法におけるけい光物質は, 2,2'-ジヒドロキシ-5,5'-ジメトキシ-3,3'-ジ-*tert*-ブチルビフェニルであると推定した.

Chart 1

7 結 語

本けい光定量法は, エタノールを溶媒に用いる BHA 自身の紫外けい光法に比べ, 励起極大波長は 62 nm, けい光極大波長は 116 nm 長波長側にシフトし, 感度もいくぶん向上する. この波長の移動および感度向上は溶媒に DMF を加えることにより得られた. すなわち操作法で他成分の妨害を少なくする目的で酸化生成物をベンゼンで抽出分離するが, ベンゼン溶液だけではけい光が微弱なため, DMF を加えることによりけい光強度の増大をはかることができた. また本法における酸化生成物の構造は, 元素分析, IR, MS, NMR スペクトルなど

により解析し, BHA が 5 位の位置で結合した 2,2'-ジヒドロキシ-5,5'-ジメトキシ-3,3'-ジ-*tert*-ブチルビフェニルであると推定した. これは吳地¹⁰⁾が BHA の光酸化反応より得た 2 種の化合物のうちの一つと同一である.

終わりに, 本研究の発表の機会を与えられた大正製薬株式会社寺島文一郎常務ならびに 元素分析, IR, MS および NMR を測定された 当社機器分析室の諸氏に感謝いたします.

(1973 年 11 月, 本会第 22 年会において発表)

文 献

- 1) C. R. Sgalkowski, J. B. Garber : *J. Agr. Food Chem.*, **10**, 491 (1962).
- 2) V. J. Filipic, C. L. Ogg : *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, **43**, 795 (1960).
- 3) D. P. Johnson : *ibid.*, **50**, 1298 (1967).
- 4) D. M. Takahashi : *ibid.*, **49**, 704 (1966).
- 5) W. M. Schwecke, J. H. Nelson : *J. Agr. Food Chem.*, **12**, 87 (1964).
- 6) 吳地伝夫, 加藤昌宏, 荻野喜文 : *衛生化学*, **10**, 247 (1964).
- 7) R. T. Hurtubise, H. W. Latz : *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 377 (1970).
- 8) 海東常敏, 相楽和彦, 吉田継親, 伊藤裕二 : *薬誌*, **94**, 633 (1974).
- 9) 刈米達夫編 : “第三版食品添加物公定書解説書”, p. B-794 (1973), (広川書店).
- 10) 吳地伝夫 : *衛生化学*, **13**, 191 (1967).

☆

Fluorometric determination of butyl hydroxy-anisole. (Studies on fluorometric analysis of phenol derivatives. IV.) Tsunetoshi KAITO, Kazuo ITAGAKI, Kazuhiko SAGARA and Yuji ITO (Quality Control Laboratory, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd., 1-403, Yoshino-cho, Omiya-shi, Saitama)

A fluorescent product which was formed from the oxidation of butyl hydroxyanisole (BHA) with ferricyanide ion was isolated and characterized by infrared, nuclear magnetic resonance, and mass spectroscopy. The product was assigned to be 2,2'-dihydroxy-5,5'-dimethoxy-3,3'-di-*tert*-butylbiphenyl. The fluorescence of this product is applied to the fluorometry of BHA. The recommended procedure is as follows:

To 2 ml of BHA-ethanol solution containing about 10 microgram of BHA, add 1 ml of pH 10 buffer solution (*M*/20 sodium carbonate-*M*/20 borax), and 1 ml of 0.5% potassium ferricyanide solution. After standing the mixture for 2 minutes at 20°C, add 1 ml of 1% ascorbic acid solution and 10 ml of benzene, then shake the mixture for 1 minute vigorously. After centrifugation, take 4 ml of the benzene layer and add 10 ml of dimethylformamide, swirl the mixture, and measure the fluorescence at 440 nm by an excitation at 358 nm. Make corrections for the blank test in the same way.

The intensity of fluorescence of acontaminant(2,4-

isomer), which is contained in commercial samples less than several percent was only one-third of that of BHA. Butyl hydroxytoluene (BHA) and guaiac resin caused

only a little negative interference, even in the presence of the same amount of BHA.

(Received May 28, 1974)

水銀(II)-MTB 錯体とゼフィラミンとを用いる微量ハロゲン化物イオンの同時抽出吸光度定量

野村 俊明, 木村 元一*

(1974 年 5 月 30 日受理)

水銀(II)-メチルチモールブルー錯体とハロゲン化物イオンとで混合配位子錯体を生成させ、さらにゼフィラミンとイオン会合体を生成させてクロロホルム相に抽出し、その吸光度を測定することにより微量ハロゲン化物イオンの同時吸光度定量法を確立した。すなわち、ハロゲン混合配位子錯体のイオン会合体のクロロホルム相への抽出 pH 範囲および見かけのモル吸光係数はハロゲン化物イオンにより異なるので、pH 7.0, 8.5, 10.0 での抽出後の有機相の吸光度 (A_s) を測定し、さらにそれぞれの pH でのそれぞれの錯体の見かけのモル吸光係数 (ϵ) を求め、次式を解くことによりハロゲン化物イオンの濃度 (C) を求める (添字 1, 2, 3 はそれぞれ pH 7.0, 8.5, 10.0 での値)。

$$\begin{cases} A_{s1} = \epsilon_{Cl^1} C_{Cl} + \epsilon_{Br^1} C_{Br} + \epsilon_I^1 C_I \\ A_{s2} = \epsilon_{Br^2} C_{Br} + \epsilon_I^2 C_I \\ A_{s3} = \epsilon_{Br^3} C_{Br} + \epsilon_I^3 C_I \end{cases}$$

また、ハロゲン化物イオンのいずれかが 40 倍程度まで含まれているときには、抽出有機相を洗浄液で 1~2 回洗うことにより検量線より求めることができる。

妨害イオンとして陰イオンではシアニ化物、チオシアン酸、チオ硫酸の各イオンがあるが、これらは過酸化水素水で前処理を行なうことにより除くことができた。

1 緒 言

水銀(II) とメチルチモールブルー (MTB) とで生成される水銀(II)-MTB 錯体¹⁾ はチオシアン酸²⁾、ハロゲン化物³⁾、シアニ化物⁴⁾ の各陰イオンと反応して混合配位子錯体を生成する。これらのうち、チオシアナト混合配位子錯体は第 4 級アンモニウム塩であるゼフィラミンとイオン会合体を生成させるとクロロホルム相に抽出されるので、これを利用して微量のチオシアン酸イオンの抽出吸光度定量法を確立した⁵⁾。本報では、同様にハロゲン化物イオンの混合配位子錯体をゼフィラミンとイオン会合させ、クロロホルム相に抽出することにより、微量ハロゲン化物イオン (数 μg ~数十 μg) の同時吸光度定量を試みた。

ハロゲン化物イオンの同時定量法は種々報告されてい

る。たとえば、イオン交換樹脂を用いて分離し定量する方法⁶⁾、銀電極を用いる電位差滴定法⁷⁾、含まれているハロゲン化物イオンにより定量法を変えて行なう吸光度法⁸⁾ などがある。本法はこれらの定量法に比べて微量であるために相対誤差は大きいと操作が比較的簡単であり、しかも感度が非常によいなどの利点があり、微量ハロゲン化物イオンの同時定量法としてじゅうぶん利用できるものと考ええる。

2 試薬および装置

2.1 試 薬

MTB 溶液: 同仁薬化学製ドータイト MTB 78.0mg を少量の水に溶かし、メタノール 50 ml を加え、さらに水で全容 100 ml にしたものをつかき色びんに入れ、冷暗所に保存する。使用時に水で 10 倍にうすめ $1 \times 10^{-4} M$ 溶液にした。

硝酸水銀(II) 溶液: 特級硝酸水銀(II) 1.68 g を少量

* 信州大学理学部化学教室: 長野県松本市旭 3-1-1