UDC 615.739[577.164.2] : 543.24[543.4]

282. 下村 滋：光度滴定法による薬品分析法の研究(第10報^{*1}) フェリシアン化
カリウムを使用するビタミン C の定量について

Shigeru Shimomura : Studies on the Analysis of Pharmaceuticals
by Photometric Titration Method. X. Determination
of Vitamin C by Potassium Ferricyanide

(Faculty of Pharmacy, Tokushima University^{*2})

In the photometric titration of ascorbic acid with potassium ferricyanide, titration conditions for potentiometric titration with 0.01N potassium ferricyanide was examined. It was found that the determination can be made without the effect of hydrogen sulfite, hydrogen metasilicate, Rongalit, or thiamine if the sample solution and phosphate buffer are prepared with 0.01M to 0.02M ethylenediamine tetraacetate, and the titration carried out at pH 7~8. This result was applied in the case of photometric titration. It was found that the determination is also possible in this case by the use of 0.001M potassium ferricyanide and the wave length of 275 mμ, but it seemed more advantageous, when the amount of the sample is minute, to use the photometric titration which can determine the equivalence point as the crossing of two straight lines.

(Received January 23, 1961)

容量法によるビタミン C の定量法に関してはヨウ素、インドフェノールなど種々の規定液を使用した報告が数多くなされているが、フェリシアン化カリウム規定液を使用する方法については電流滴定に適用¹⁾した報告があるほかは例がない。著者は光度滴定法によるビタミン C の定量をいろいろ規定液をかけて実施したが、このうちフェリシアン化カリウムを規定液として pH 7~8 で滴定すれば、製剤中に含有を予想される安定剤の影響を比較的うけにくく、かつその際 EDTA を添加することにより安定した定量値を得ることができることを知った。そこで、まず基礎研究として 0.01N フェリシアン化カリウムを使用し、電圧滴定法により添加 EDTA の量、至適 pH など条件を検討し、その結果をふたたび光度滴定に適用し 0.001N フェリシアン化カリウムを用いて定量を行なったところ、微量で滴定可能であり、かつ酸性で行なう滴定法より安定剤に比較的影響されないことがわかった。

まず電圧滴定法であるが、0.01N フェリシアン化カリウムを使用して pH を 5 から 10 まで変えて滴定を行なった。その結果を Fig. 1 に示したが、これからも明らかなように EDTA を加えない場合は pH 7 にて行な

Fig. 1.

Effect of pH on the Potentiometric Titration
of Vitamin C by $K_3Fe(CN)_6$
(normality determined iodimetrically)

- 1: addition of EDTA, fresh solution
- 2: addition of EDTA, 1 hr. in laboratory
- 3: no addition of EDTA, fresh solution
- 4: no addition of EDTA, 1 hr. in laboratory

えばビタミン C の分解を防いでやや良好な結果が得られる。しかしそれも 1 時間後には相当の分解がおこり定量値の劣下をきたしている。この安定化に著者は EDTA を用いた。すなわち試料の溶解および使用緩衝液の調製に EDTA 溶液を使用すれば、定量値の劣下はおこらず、試料液調製直後であれば pH 7~10 までかわらない

*1 第9報：本誌 81, 1412(1961).

*2 Sho-machi, Tokushima.

1) Krystyna Hubica : C. A. 52, 1336(1958).

値を示している。しかしながら 1 時間後には pH 9, 10 においては相当の分解を起こしているの、ビタミン C を定量する際には pH 7~8 が至適であると考え。また、EDTA の添加量ならびに影響については Table I

Table I. Effect of EDTA on the Potentiometric Determination of Vitamin C (pH 8.0)

0.005M V.C (cc.)	EDTA (mol.)	0.01N $K_3Fe(CN)_6$ (cc.)	Time in laboratory (min.)	V.C (%)
20	0	17.21	60	86.0
20	0	16.55	100	82.7
20	0.005	19.79	60	98.9
20	0.005	19.45	150	97.2
20	0.02	19.91	0	99.5
20	0.02	19.65	40	98.9
20	0.02	19.89	60	99.4
20	0.1	20.00	0	100.0
20	0.1	20.13	30	100.6
20	0.1	20.00	60	100.0

に示したが、溶解などに蒸留水を使用した場合は定量値の劣下がおこるが、pH 7~8 の緩衝液の調製、試料の溶解などすべて蒸留水のかわりに 0.005~0.1M EDTA を使用した際に安定した値が得られた。また EDTA の濃度変化に対しても定量値の変化が少なく、したがって EDTA 自身の影響はほとんどないと思われる。よつて以後の滴定はすべて 0.01~0.02M EDTA 溶液で調製した試料、緩衝液を使用することにした。

つぎに製剤中に添加される可能性のある安定剤ならびにビタミン B₁ の本滴定法に対する影響について考察した。その結果を Table II に示したが、メタ重亜硫酸塩、ロンガリットは影響はないと考えられる。また重亜硫

Table II. Effect of Stabilizers and V.B₁ on the Potentiometric Titration of Vitamin C by $K_3Fe(CN)_6$ (pH 8.0 addn. of EDTA)

0.005M V.C (cc.)	Stabilizer	Stabilizer V.C (%)	V.C recovered (%)
20		0	99.0
20	$Na_2S_2O_5$	100	99.4
		200	99.4
20		0	99.0
20	Rongalite	100	99.2
20		200	99.0
20		0	100.6
20	$NaHSO_3$	100	99.5
20		200	98.8
20		0	98.0
20		1000	96.0
20		1000 ^{a)}	94.6
20		0	99.7
20	Mohr's salt	100	99.3
20		100 ^{a)}	90.0
20		0	100.4
20	V.B ₁	100	97.5
20		100	97.4
20		50	100.3
20		50	98.5

a) Standing 100 min. in laboratory.

酸塩の場合もビタミン C の 10 倍量においてすこし影響がある程度で影響は少ない。第一鉄塩の場合は調製直後に定量を行なえばあまり影響があらわれないが、溶液の状態で放置すると急激に分解がおこるようである。またビタミン B₁ の場合は 50% 以下の添加は本滴定に影響をおよぼさない。

以上の結果より、ビタミン C を滴定する際に EDTA を添加し、pH 7~8 でフェリシアン化カリウム規定液を使用すれば、安定剤の影響が酸性で行なう滴定法よりも少ないので、安定剤を含むビタミン C の定量に有効な方法であると考えられる。

以上の電圧滴定法によつて判明した結果を光度滴定法に応用した。

まず pH 7 でビタミン C およびデヒドロアスコルビン酸の UV 吸収を測定したところ、ビタミン C は 275 m μ に吸収極大があるにかかわらずデヒドロアスコルビン酸はほとんど吸収を有しない。このことよりビタミン C を光度滴定する際に 275 m μ を測定波長としてえらんだ。すなわち 0.01M EDTA で溶解したビタミン C の 10^{-3} M 溶液 2 cc を光度滴定槽にとり、おなじく 0.01M EDTA で溶解して作成した pH 7~8 のリン酸緩衝液で全容約 40 cc とする。分光光度計を 275 m μ にセットし、0.001N フェリシアン化カリウムで滴定し、各点における吸光度をグラフ上に記録する。Fig. 2 はその光度滴定曲線であるが、ビタミン C がデヒドロアスコルビン

Fig. 2.
Spectrophotometric Titration of Vitamin C
by 0.001N $K_3Fe(CN)_6$ at 275 m μ

酸になるにつれて吸光度は減少し、当量点後はフェリシアン化カリウムの基礎線があらわれる。屈折点を当量点として計算すれば Table III に示すような結果が得られた。これによれば、光度滴定法により二直線の交点として微量のビタミン C を定量できることがわかる。

Table III. Photometric Titration of Vitamin C by $K_3Fe(CN)_6$
at 275 m μ (addition of EDTA)

Vitamin C (mg.)	0.001N $K_3Fe(CN)_6$ (cc.)	Vitamin C recovered	
		(mg.)	(%)
0.1786	2.03	0.1788	100.1
0.1701	1.95	0.1717	100.9
0.1701	1.97	0.1708	100.4

つぎに添加剤の影響をしらべた。結果は Table IV に示したが、電圧滴定法の場合と同様に重亜硫酸塩、メタ重亜硫酸塩、ロンガリットおよびビタミン B₁ の影響はほとんどないが、第一鉄塩の場合には一部酸化により生じた第二鉄塩の影響が低い値を示した。

Table IV. Effect of Stabilizers and V.B₁ on the Photometric Titration
of Vitamin C by 0.001M $K_3Fe(CN)_6$

Vitamin C (mg.)	Stabilizer	Stabilizer V.C (%)	Vitamin C recovered	
			(mg.)	(%)
0.1775	NaHSO ₃	0	0.1732	97.6
0.1775		100	0.1732	97.6
0.1775		200	0.1732	97.6
0.1775		300	0.1740	98.0
0.1775		500	0.1740	98.0
0.1775	Na ₂ S ₂ O ₅	0	0.1740	98.0
0.1775		100	0.1740	98.0
0.1775		200	0.1732	97.6

0.1775		300	0.1740	98.0
0.1775		500	0.1779	100.2
0.1735		0	0.1704	98.2
0.1735	Rongalit	324	0.1695	97.7
0.1735		972	0.1704	98.2
0.1762		0	0.1728	98.1
0.1762	Mohr's salt	227	0.1616	91.7
0.1762		1114	0.1640	93.1
0.1775		0	0.1740	98.0
0.1775	Thiamine	100	0.1740	98.0
0.1775		200	0.1748	98.5

以上のように重亜硫酸塩，メタ重亜硫酸塩，ロンガリット，EDTAなどを安定剤として含有する製剤およびビタミン B₁ を含有する製剤を定量する際には EDTA を添加して，リン酸緩衝液で pH 7~8 とし，フェリシアニ化カリウム液で滴定すれば，それらの影響をうけることなく滴定可能であるが，特に微量の際には，二直線の交点として当量点が求められる光度滴定法が有利であると考えられる。

実 験 の 部

分析装置 光度滴定には島津分光光度計 QB-50 型に同光度滴定装置を装着，内径 3.5 cm の石英ビーカーを使用。

試料および試薬 ビタミン C は和光特級品，K₃[Fe(CN)₆] 液はいつたん 0.1N 溶液を調製してヨウ素法または純ビタミン C を標準として EDTA を添加し pH 8 で標定したものを用時 0.01, 0.001N に正確に希釈して使用。緩衝液は，pH 6~8 は KH₂PO₄・Na₂HPO₄，pH 9 は KH₂PO₄・ホウ砂，pH 10 は Na₂CO₃・ホウ砂を使用。

終わりに臨み御指導を賜わった京都大学 宇野豊三先生並びに中垣正幸先生に深謝するとともに，御鞭撻を賜わった石黒武雄先生，棚瀬彌一郎先生に感謝します。また実験に協力された小笹征以子，種村和子両氏に感謝します。

徳島大学薬学部