ハイドロキシフルオランおよび、その誘導体の有機試薬としての利用研究 (第 12 報¹⁾)

3,4,5,6-Tetrachloro-3',4',5',6'-tetrahydroxyfluoran Methyl Ester

を用いる I^- , NO_2^- の定量²⁾

森 逸男

大阪薬科大学³⁾

Studies on Hydroxyfluoran and Its Derivatives as Organic Reagents. XII.¹⁾

Determination of I^- and NO_2^- with 3,4,5,6-Tetrachloro-

3',4',5',6'-tetrahydroxyfluoran Methyl Ester²⁾

ITSUO MORI

Osaka College of Pharmacy³⁾

(Received February 26, 1970)

Examinations were made on the absorption spectrophotometric determination of I^- and NO_2^- using 3,4,5,6-tetrachloro-3',4',5',6'-tetrahydroxyfluoran methyl ester (Cl-gall- CH_3).

For the determination of I^- , calibration curve of 0.1—0.6 $\mu g/10$ ml of I^- was prepared with 1.0 ml of 1.0×10^{-2} M cetylpyridinium chloride, 1.0 ml of 20% H_2O_2 solution, and 1.0 ml of 1.0×10^{-3} M Cl-gall- CH_3 solution, in sulfuric acidity, brought to 10 ml with water and the same solution added with definite amount of I^- by measuring their optical density at 510 m μ .

For the determination of NO_2^- , the calibration curve was prepared with 0—18.4 $\mu g/10$ ml of NO_2^- with 1.0 ml of 1.0% poly vinyl alcohol and 1.0 ml of 1.0×10^{-3} M Cl-gall- CH_3 solution brought to 10 ml with water and heated at 60° for 10 min and the same solution added with definite amount of NO_2^- by measuring their optical density at 490 m μ .

Determination of NO_2^- was little interfered by other ions but any ion present gave negative error in the determination of I^- .

従来 I^- イオンの定量には $Ce(IV)$ - As_2O_3 法,^{4a)} $Fe(SCN)_3$ 錯塩法,^{4b)} pyrocatechol violet (PV)- H_2O_2 退色法^{4c)} などが、また NO_2^- イオンの定量にはアゾ色素反応法^{4d)} などが利用されている。著者は 3,4,5,6-tetrachloro-3',4',5',6'-tetrahydroxyfluoran methyl ester (Cl-gall- CH_3) の酸性溶液が H_2O_2 が存在すると I^- で退色すること、また Cl-gall- CH_3 の酸性溶液が NO_2^- で同じように退色することを認め Cl-gall- CH_3 を用いる I^- および NO_2^- の定量について検討した。

実 験 の 部

試薬および装置 Cl-gall- CH_3 溶液——前報^{1,5)} にしたがって 1.0×10^{-3} M Cl-gall- CH_3 メタノール液を調製した。

塩化セチルピリジニウム (CPC), ポリビニルアルコール (PVA) 溶液——半井化学社製 CPC, および和光純薬製 PVA を用いて前報⁵⁾ と同じように調製した。

I^- , NO_2^- 標準溶液——和光純薬製試薬特級ヨウ化カリウムを 110° で約 4 時間乾燥後、その 130.8 mg を 1000 ml の水に溶解する。また NO_2^- 液はキシダ化学社製試薬特級亜硝酸ナトリウムを用い、 1.0×10^{-2} M $KMnO_4$ に

1) 第 11 報：森 逸男，薬誌，90, 778 (1970)。

2) 日本薬学会第 90 年会で一部発表予定，札幌，1970 年 7 月。

3) Location: Kawai-machi, Matsubara, Osaka.

4) a) E.B. Sandell, I.M. Kolthoff, *Mikrochim. Acta*, 1, 9 (1937); 後藤秀弘，須藤恵美子，日化，63, 1324 (1942); b) 内海 諭，塩田 勝，岩崎岩次，米原 範，日化，85, 32 (1964); c) 大岩幸一郎，木村多恵子，牧野秀夫，分化，17, 805 (1968); d) “分析化学便覧” 日本分析化学会編，丸善，1956, p. 469.

5) 森 逸男，薬誌，89, 475 (1969)。

よる電位差滴定法により $1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ NO_2^- 液を調製し、用時適宜希釈した。

H_2O_2 溶液——三菱江戸川化学社製試薬特級 30% H_2O_2 を水で希釈して 20% 溶液とした。なお水は再蒸留水、その他の試薬もすべて特級品を用いた。

吸光度測定——島津 QV 50 型分光光電光度計を用いた。

pH 測定、電位差測定——東亜電波 HM 5A 型ガラス電極 pH メーター、メトローム社製ポテンショグラフ E336A 型、電極に複合 Ag 電極および Pt 電極を用いた。

実験結果

I⁻ の定量 吸収スペクトル—— H_2SO_4 酸性で $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 溶液に H_2O_2 を添加した溶液は不安定で沈殿を生じ易いので、分散剤に PVA、陽イオン性界面活性剤の CPC のいずれかを添加して吸収スペクトルを測定した。Fig. 1 に見られるように、CPC 共存下で最大の吸光度を示す 510 $\text{m}\mu$ において I⁻ 濃度に比例して吸光度は減少して 425 $\text{m}\mu$ 付近に等吸収点を認める。

CPC 量と H_2SO_4 量の影響——CPC の添加量を変えて $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ 液と $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$ 液の吸光度の差を求めたところ、I⁻ 濃度に関係なしに $1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ CPC 溶液を 0.5 ml/10 ml 以上用いれば、ほぼ一定の吸光度が得られる。また 3% H_2SO_4 を 0.5—1.25 ml/10 ml 用いたとき、 $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ と $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$ 液の吸光度の差がほぼ一定となる。したがって定量には CPC 液を 1.0 ml/10 ml, 3% H_2SO_4 を 1.0 ml/10 ml 用いることにした。

H_2O_2 量、温度の影響と呈色の安定性——0.3 μg I⁻, $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液 1.0 ml を含む全量 10 ml 溶液について

温度の変化と H_2O_2 量との関係を求めた。25° で 60 分間、または 50° で 5 分間加温した時、それぞれ吸光度の差は I⁻ 濃度に関係なく 20% H_2O_2 液を 0.75—1.5 ml 用いればほぼ一定の吸光度が得られた。上の操作で得た $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$, $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$ 液の吸光度の差は約 100 分間安定であった。

試薬濃度の影響——0.3 μg I⁻ および 0.4 μg I⁻ に対する $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液の量について求めたところ、Fig. 2 に見られるように、いずれも $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液を 0.75 ml/10 ml 以上添加すれば、 $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ と $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$ 液の吸光度の差がほぼ一定するので定量には $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液を 1.0 ml 用いることとした。

定量操作および検量線——0.7 μg 以下の I⁻ に 3% H_2SO_4 1.0 ml, $1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ CPC 液 1.0 ml, $10 \times 10^{-3} \text{M}$ $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液 1.0 ml, 20% H_2O_2 液 1.0 ml を加え、ついで水を加えて全量 10.0 ml とし、別に I⁻ のみ除いて同様処理した $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液をつくり、ともに 50° で約 5 分間加温反応後、水を対照として 510 $\text{m}\mu$ における吸光度より I⁻ 濃度を求める。I⁻ の検量線は Fig. 3 に見られるように 0.1—0.6 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$ I⁻ 濃度ではほぼ直線となる。

共存イオンの影響——Table I に見られるように Th (IV) は正の誤差を、その他の金属イオンはほとんど負の誤差を与えるので、あらかじめ分離除去する必要がある。

NO_2^- の定量 吸収スペクトル—— $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液は不安定で沈殿を生成しやすいので分散剤に 1% PVA を用いて吸収スペクトルを測定した。Fig. 4 に見られるように PVA を用いた場合と、用いない場合の 490 $\text{m}\mu$ における吸光度には差はなく分散剤の影響は認められなかった。しかし、I⁻ の場合と異なり PVA を加えると、 $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ および $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液の呈色は安定で陽イオン性界面活性剤を共存させたよりも良好な結果を示した。

つぎに $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 溶液に NO_2^- 添加量を変えて $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液の吸収スペクトルを測定した。Fig. 5 に見られるように $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$ 液の極大吸収波長 490 $\text{m}\mu$ における $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液の吸収は NO_2^- 濃度に比例して減少し、430 $\text{m}\mu$ 付近に等吸収点を示す。 $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ NO_2^- 液を 0.8 ml 以上添加しても前述の $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液の吸収スペクトルに新たな変化が認められない。

PVA 量の影響——1% PVA 添加量の相異による $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$, $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{NO}_2^-$ 液の吸光度を求めたところ、 NO_2^- 濃度に関係なしに 1% PVA 液を 0.5—1.5 ml/10 ml 用いた場合にはほぼ一定の吸光度が得られた。

H_2SO_4 量と温度の影響および呈色の安定性——3% H_2SO_4 0.75—2.0 ml/10 ml を用いるときはほぼ一定の吸光度の差が得られる。また 50° 以上加熱して約 5—10 分間静置した場合、ほぼ一定の吸光度を示し、その呈色は約 120 分間一定した。したがって定量の検討には 3% H_2SO_4 1.0 ml/10 ml を加え 60° で 5—10 分間加温、つ

Fig. 1. Absorption Spectra of $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ and $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$

$\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3$: $5.0 \times 10^{-3} \text{M}$

20% H_2O_2 : 1 ml/10 ml

CPC: $1.0 \times 10^{-2} \text{M}$

reference: water

—: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$

---: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$, I⁻ 0.05 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$

△—△: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$, I⁻ 0.15 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$

●—●: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$, I⁻ 0.20 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$

○—○: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$, I⁻ 0.23 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$

—·—·: $\text{Cl} \cdot \text{gall} \cdot \text{CH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{I}^-$, I⁻ 0.30 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$

Fig. 2. Effect of Concentration of Cl·gall·CH₃

Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-3}M$

I⁻ —x—x—: 0.3 μg, —·—·—: 0.4 μg

CPC: $1.0 \times 10^{-3}M$

reference: water

Fig. 3. Calibration Curve for I⁻

Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-4}M$

CPC: $1.0 \times 10^{-3}M$

20% H₂O₂: 1.0 ml/10 ml

reference: water

TABLE I. Effect of Foreign Ions

Foreign ions	Added ml/10 ml ^{a)}	Difference of absorbance at 510 mμ	Relative error %
None	—	0.245	—
Th(NO ₃) ₄	0.1	0.260	+ 6
Zr(NO ₃) ₄	0.2	0.220	+10
Al(NO ₃) ₃	0.2	0.245	± 0
Bi(NO ₃) ₃	0.1	0.140	-42
Co(NO ₃) ₂	0.1	0.245	± 0
Hg(NO ₃) ₂	0.2	0.220	-10
NaNO ₃	0.3	0.245	± 0
Sn(SO ₄) ₂	0.1	0.180	-26
Sb ₂ (SO ₄) ₃	0.1	0.180	-26
Fe(ClO ₄) ₃	0.1	0.245	± 0
PbCl ₂	0.1	0.220	-10
NaCl	0.1	0.240	- 2
NH ₄ F	0.2	0.250	+ 2
NaNO ₂	0.1	0.220	-10

^{a)} $5.0 \times 10^{-4}M$

I⁻ taken: 0.3 μg/10 ml, Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-4}M$, CPC: $1.0 \times 10^{-3}M$, 20% H₂O₂: 1.0 ml/10 ml

reference: water

Fig. 4. Absorption Spectra for Cl·gall·CH₃ and Cl·gall·CH₃-NO₂⁻

Cl·gall·CH₃: $5.0 \times 10^{-4} \text{M}$
 NO₂⁻: $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$
 PVA: 1.0 ml/10 ml
 curve I: Cl·gall·CH₃, curve II: Cl·gall·CH₃-NO₂⁻
 —: without 1% PVA, - - -: with 1% PVA
 reference: water

Fig. 5. Absorption Spectra for Cl·gall·CH₃ and Cl·gall·CH₃-NO₂⁻

Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ NO₂⁻: $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$
 PVA: 1.0 ml/10 ml reference: water
 NO₂⁻ concentration
 —: 0 ml, - - -: 0.2 ml, —△—△: 0.4 ml,
 —○—○: 0.6 ml, —·—·: 0.8 ml

Fig. 6. Effect of Concentration of Cl·gall·CH₃

Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$
 NO₂⁻: 13.8 μg
 PVA: 1.0 ml/10 ml
 reference: water

Fig. 7. Calibration Curve for NO₂⁻

Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$
 NO₂⁻: $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$
 PVA: 1.0 ml/10 ml
 reference: water

TABLE II. Effect of Foreign Ions

Foreign ions	Added ml/10 ml ^{a)}	Difference of absorbance at 490 m μ	Relative error %
None	—	0.370	—
Th(NO ₃) ₄	0.2	0.295	-20
Zr(NO ₃) ₄	0.1	0.285	-23
Bi(NO ₃) ₃	0.2	0.410	+11
Ni(NO ₃) ₂	0.2	0.370	± 0
NaNO ₃	0.2	0.370	± 0
Sb ₂ (SO ₄) ₃	0.1	0.320	-14
Sn(SO ₄) ₂	0.1	0.260	-30
Na ₂ SO ₄	0.1	0.370	± 0
PbCl ₂	0.2	0.370	± 0
TlCl	0.1	0.375	+1
NaCl	2.0	0.375	+1
Fe(ClO ₄) ₃	0.2	0.370	± 0
NH ₄ F	0.1	0.405	+9

a) $5.0 \times 10^{-4} \text{M}$,
 NO₂⁻ taken: 9.2 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$, Cl·gall·CH₃: $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$, PVA: 1.0 ml/10 ml,
 reference: water

いで約 10 分間静置して吸光度を求めた。なお 25° における Cl·gall·CH₃ および Cl·gall·CH₃-NO₂⁻ 液の吸光度が一定に達するには約 180 分を要した。

試薬量の影響——前述の条件で 13.8 μg の NO₂⁻ 量に対する $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ Cl·gall·CH₃ 液の濃度の変化による Cl·gall·CH₃ と Cl·gall·CH₃-NO₂⁻ 液の吸光度の差を求めたところ、Fig. 6 に見られるように NO₂⁻ 濃度の約 3 倍以上に Cl·gall·CH₃ 液を用いるときはほぼ一定の吸光度が得られた。

定量操作および検量線——18.4 μg 以下の NO₂⁻ 液に 3% H₂SO₄ 1.0 ml, 1% PVA 液 1.0 ml, $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ Cl·gall·CH₃ 液 1.0 ml を加え、水を加えて全量 10.0 ml とする。60° で 5—10 分間加温後、10 分間静置し 490 m μ における吸光度を測定する。べつに NO₂⁻ のみ除いて同様に処理して得た Cl·gall·CH₃ 液の 490 m μ における吸光度を求め、両者の吸光度の差から NO₂⁻ 濃度を求める。NO₂⁻ の検量線は Fig. 7 に見られるように 0—18.4 $\mu\text{g}/10 \text{ ml}$ NO₂⁻ の濃度範囲で、Beer's の法則にしたがい、ほぼ直線となる。

共存イオンの影響——K (I), Na (I), NH₄ (I), Fe (III), Al (III), Pb (II), Ni (II), Cd (II), Cl⁻, Br⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, C₆H₄·OH·COO⁻, C₃H₇O₇³⁻, CH₃COO⁻ などのイオンの共存はほとんど妨害しない。しかし Th (IV), Zr (IV), Bi (III), Sb (III), Sn (IV), F⁻, I⁻, CrO₄²⁻, O₂²⁻ などのイオンは妨害するので除去する必要がある。

結果および考察

Cl·gall·CH₃ を用いた I⁻ の吸光度定量法は PV を用いる I⁻ 定量法⁴⁾ に比べて反応温度の影響、酸濃度の影響などが比較的少ない。特に陽イオン性界面活性剤の CPC の添加により Cl·gall·CH₃-I⁻ 液の吸光度は短時間に一定して Cl·gall·CH₃ および Cl·gall·CH₃-I⁻ 液の呈色も、より安定となり両者の吸光度の差も大きくなる。また Cl·gall·CH₃ を用いた NO₂⁻ の吸光度定量法は従来のアゾ色素反応による定量法に比べて操作が簡便な利点を有する。

謝辞 終わりにのぞみ終始御指導御鞭撻を賜った京都大学薬学部 宇野豊三教授に深謝します。また終始有益な御助言、御激励を賜った本学宮道悦男学長、榎健寿教授に深謝します。