

報 文

アルミニウム(III)-モリンけい光錯体を検出試薬とする 無機陰イオンのクロマトグラフィー*

奥村 保**, 西川 泰治***

(1976 年 2 月 6 日受理)

ペーパークロマトグラフィー(PC)及びセルローズ薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて、ハロゲンイオン、酸素酸イオン、シアノ鉄イオン、含硫黄イオン、クロム酸イオンなど約 30 種類を分離した。これらの陰イオンのけい光反応(消光反応)を利用し、アルミニウム(III)-モリンけい光錯体をクロマトグラムにスプレーし、それぞれの陰イオンを消光スポットとして確認することができた。一般に無機イオンの可視発色法には、煩雑な実験操作を必要とする場合が多い。本検出法は消光能を有する無機陰イオンの非破壊的な迅速検出法として有用と考える。

1 緒 言

無機陰イオンのペーパークロマトグラフィー¹⁾²⁾、及び薄層クロマトグラフィー^{3)~10)}による定性分析については、多数の報告がある。その際に分離された各イオンの可視化による検出法には、煩雑な実験操作を必要とする場合が多い¹¹⁾。これらの陰イオンのなかで、 I^- 、 Br^- 、 Cl^- 、 SCN^- 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 SO_3^{2-} などはキニーネ、フルオレッセイン、エオシンなどのけい光を消光し、 IO_3^- 、 BrO_3^- 、 NO_3^- などはアントラニル酸、 α -ナフトールに対して、消光能を有していることが知られている¹²⁾。又金属イオンについても、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Ni^{2+} などの遷移金属イオンが消光作用を有している¹³⁾。著者の一人、西川はモリン金属錯体のけい光特性を利用した各種金属イオンのけい光定量への適用性を検討した¹⁴⁾。著者らは上述の可視検出法の代わりとなる迅速で簡便な方法として、アルミニウム(III)-モリンけい光錯体(励起極大波長 460 nm, けい光極大波長 495 nm)のけい光消失性を利用する検出法の検討を行い、約 25 種類の陰イオンについて、有効に適用することができたので報告する。

2 試薬及び装置

2.1 試 薬

陰イオン原液はそのナトリウム塩あるいはカリウム塩から陰イオン濃度(10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)の水溶液を調製した。用いた化合物は次のとおりである。

F^- (NaF); Cl^- (NaCl, KCl); Br^- (NaBr, KBr); I^- (NaI, KI); IO_3^- (NaIO₃, KIO₃); IO_4^- (NaIO₄); BrO_3^- (KBrO₃); ClO_2^- (NaClO₂); ClO_3^- (NaClO₃); ClO_4^- (NaClO₄, KClO₄); S^{2-} (Na₂S); $S_2O_3^{2-}$ (Na₂S₂O₃); SO_4^{2-} (Na₂SO₄); SO_3^{2-} (Na₂SO₃); SCN^- (KSCN); PO_4^{3-} (Na₂HPO₄, K₂HPO₄); NO_2^- (NaNO₂); NO_3^- (NaNO₃); $Fe(CN)_6^{4-}$ { $K_4Fe(CN)_6$ }; $Fe(CN)_6^{3-}$ { $K_3Fe(CN)_6$ }; CrO_4^{2-} (K₂CrO₄); $Cr_2O_7^{2-}$ (K₂Cr₂O₇); AsO_2^- (NaAsO₂); AsO_4^{3-} (Na₂HAsO₄); SeO_3^{2-} (Na₂SeO₃); SeO_4^{2-} (Na₂SeO₄·10 H₂O); MoO_4^{2-} (Na₂MoO₄·2 H₂O); WO_4^{2-} (Na₂WO₄·2 H₂O); VO_4^{3-} (Na₃VO₄·H₂O); VO_3^- (NaVO₃·4 H₂O)。以上、いずれも JIS 特級品を用いた。アルミニウム-モリンけい光錯体は既報¹⁵⁾に従って調製した。塩化アルミニウム及びモリン各 5mg を 30% 酢酸 10 ml に溶かし、98% エタノール 20 ml 及び水 20 ml を加えて全容 50 ml とする。本試薬を陰イオンのクロマトグラムにスプレーした。Table 1 に溶液中及びセルローズ薄層プレート上における本けい光錯体のけい光特性と安定性を示した。いずれも少なくとも 24 時間は安定であることが分かる。

2.2 TLC プレート及び PC 用紙

3 種類の TLC 用吸着剤(シリカゲル, アルミナ, セルローズ)のなかから、著者らの実験目的に沿うものと

* 無機化合物のクロマトグラフィー(第1報)

** 塩野義製薬株式会社研究所:大阪府大阪市福島区鷺州 5-12-4

*** 近畿大学理工学部化学教室:大阪府東大阪市小若江 3-4-1

Table 1 Fluorescence properties of aluminum (III)-morin fluorescent complex

Solution	E_x/E_m (nm)	Peak height of RFI (mm)				
		0.5	1.5	3.0	4.5	24 (h)
Al(III)-morin†	460/495	180	184	182	181	183
Morin	422/495	7	8	—	—	—
TLC plate††						
Al(III)-morin	421/492	201	205	208	208	211
Morin	421/492	4	—	—	—	8

† Each 5 mg of AlCl_3 and morin dissolved in 10 ml of 30% AcOH, 20 ml of 98% EtOH and 20 ml of $\text{H}_2\text{O}^{15)}$; †† Merck TLC glass plate cellulose

して、メルクの TLC ガラスプレートセルロース（製品番号 5716, 5732）を選択した。PC 用濾紙は東洋クロマトグラフィー PC 用濾紙 No. 51A を用いた。

2.3 装置

溶液及び TLC プレート上のアルミニウム-モリンけい光錯体のけい光特性及び安定性の測定は、日立けい光分光光度計 204 型及びその薄層クロマトグラフ付属装置を用いて行った。PC の展開には東洋科学産業のペーパークロマトグラフ装置 C 号器を用いた。TLC はふた付きの角形あるいは円筒形ガラス展開そうで行った。クロマトグラム上の陰イオンスポットの検出には、東京光学のけい光検査燈 FI-3L 形（紫外線波長 365 nm）を用いた。PC の R_f 値の測定は東洋科学産業のペーパークロマトグラフィー用 R_f 値測定ゴムひもを使用した。

3 実験方法

3.1 TLC 及び PC

各種試料溶液を $1\mu\text{l}$ ずつ、TERUMO MICRO SYRINGE MS-10 を用い、TLC プレートの原点（下端から 2cm）あるいは PPC 濾紙の原点（下端から 5cm）にスポットし、風乾後、展開に供した。展開様式はいずれも上昇法で、展開距離は TLC, 10cm, PC, 20cm である。各種陰イオンのクロマトグラフィー分析には、4 種類の展開溶媒系、I. 28% アンモニア水-アセトン-*n*-ブタノール (60 : 130 : 30, v/v); II. 28% アンモニア水-アセトン (2 : 3, v/v); III. ジオキサン-水 (3 : 2, v/v); IV. アセトン-酢酸-水 (20 : 1 : 10, v/v) を用いた。展開の終わったクロマトグラムは展開溶媒を風乾あるいは必要に応じて、 $\{(100\sim 110)^\circ\text{C}, (3\sim 5)\text{分}\}$ 加熱乾燥を行った。

3.2 アルミニウム-モリンけい光錯体による検出

クロマトグラム上の各陰イオンスポットの検出は、次のようにして行った。I. 2.1 で調製したアルミニウム-モリン試薬を、クロマトグラムへ均一になるように適当

量スプレーする。比較のためにモリンの代わりに II. ケルセチン¹⁶⁾, III. オキシシン¹⁷⁾ も使用した。I 及び II はけい光検出に引き続き、各イオンの可視化試薬による発色も可能であった。検出の再現性はモリンが最もよかった。

4 無機陰イオンのクロマトグラフィー

4.1 ハロゲンイオン

Fig. 1 に展開溶媒系 I を用いたときのクロマトグラムを示す。各陰イオンは緑黄色けい光背景（以下の陰イオンについても同じ）に、青色スポットとして確認された。

カウンターイオンのナトリウムあるいはカリウムは白色ないしは薄桃色のスポットとして、原点近くに存在している。ハロゲンイオンの消光効果は中程度であった。

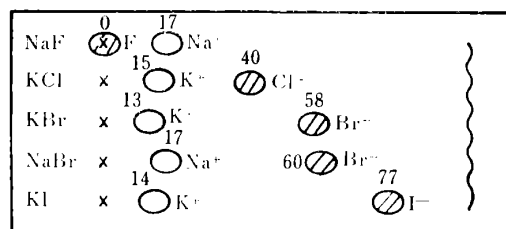


Fig. 1 TLC of halogen ions

Solvent, 28% NH_4OH -acetone-*n*-butanol (60 : 130 : 30); Detection, quenching spots at UV_{365} with Al(III)-morin

4.2 ハロゲン酸素酸イオン

Fig. 2 に展開溶媒系 I で分離を行ったクロマトグラムを示す。 ClO_2^- , ClO_3^- , ClO_4^- の有効な分離が可能である。

IO_3^- と IO_4^- の分離をよくするため、溶媒系 III を用いたが、高い R_f 値が得られるのみで成功しなかった (Table 2). IO_3^- , IO_4^- , BrO_3^- のけい光消光色は紫色で、強い消光効果を有している。一方、 ClO_2^- , ClO_3^- , ClO_4^- は黄色で、消光効果は弱い。

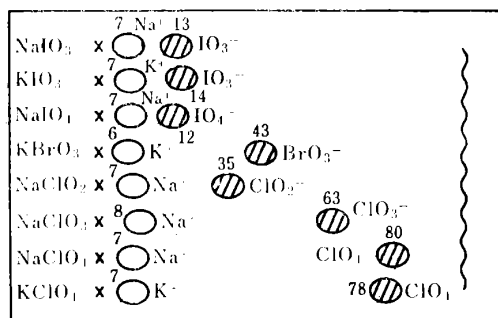


Fig. 2 TLC of halogenooxyacid ions

Solvent and detection, same as in Fig. 1

4.3 含硫黄陰イオン

Fig. 3 に SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SCN^- の分離結果を示す. 4.2 と同じく 2 種類 (I と III) の溶媒系を用いたが, SO_3^{2-} と SO_4^{2-} , S^{2-} と $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ の分離は十分でない. SO_3^{2-} と SO_4^{2-} の消光効果は強く (紫色), S^{2-} と $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ のそれは中程度 (青色けい光), SCN^- は弱い (黄色けい光).

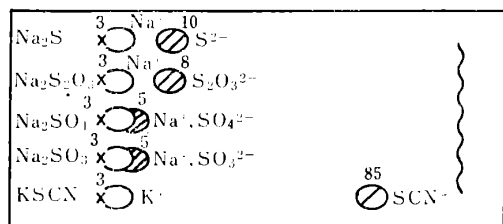


Fig. 3 TLC of sulfur containing anions

Solvent and detection, same as in Fig. 1

4.4 シアノ鉄錯イオン及びクロム酸イオン

Fig. 4 にシアノ鉄錯イオン (展開溶媒系 I) 及びクロム酸イオン (展開溶媒系 III) の分離結果を示す. フェロシアンイオン, フェリシアンイオンの展開溶媒系 I における hR_f 値はそれぞれ 2, 32 で, 価数の異なるこれらのイオンの相互分離が完全であった. 塩基性溶媒系 I では, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ が CrO_4^{2-} とほぼ同じ R_f 値をとることが認められるが, 中性溶媒系 III で Fig. 4, Table 2 に示すように両者は完全に分離する. これらの陰イオン 4 種類の消光効果は強い.

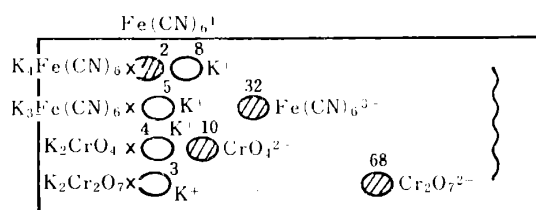


Fig. 4 TLC of cyanoferrates (II, III) and chromates ions

Solvent, same as in Fig. 1 (cyanoferrates), dioxane-water (3:2, chromates); Detection, same as in Fig. 1

4.5 亜硝酸イオン, 硝酸イオン及びリン酸イオン

Fig. 5 に展開溶媒系 I を用いた 3 陰イオンのクロマトグラムを示す. 本溶媒系では NO_2^- , NO_3^- 両イオン混合物の分離は不十分であるが, 消光効果は 3 陰イオンすべて強い (紫色).

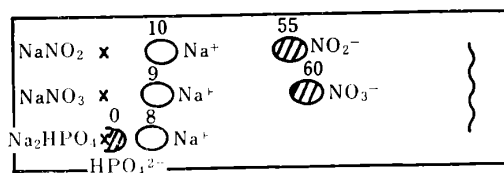


Fig. 5 TLC of nitrite, nitrate and phosphate ions

Solvent and detection, same as in Fig. 1

4.6 タングステン酸イオン, モリブデン酸イオン, バナジン酸イオン

Fig. 6 に WO_4^{2-} , MoO_4^{2-} (展開溶媒系 II) 及び VO_3^- , VO_4^{3-} (展開溶媒系 III) を用いた分離を示す. WO_4^{2-} と MoO_4^{2-} は強いけい光 (黄色と緑色) を呈し, VO_3^- と VO_4^{3-} は強い消光効果を示した (青色). いずれも相互の分離は不完全である.

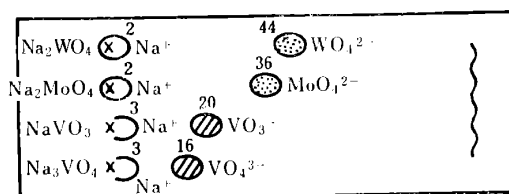


Fig. 6 TLC of tungstate, molybdate, meta and orthovanadates ions

Solvent, 28% NH_4OH -acetone (2:3, tungstate and molybdate), dioxane-water (3:2, vanadates); Detection, same as in Fig. 1

4.7 ヒ酸イオンとセレン酸イオン

Fig. 7 に展開溶媒系 IV を用いたときの AsO_2^- , AsO_4^{3-} , SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-} の分離を示す. 展開溶媒系 II 及び III ではいずれの陰イオンもテーリングを起こし, 金属イオンとの分離も不十分であった. 消光効果も弱く, 更に分離と検出について検討の余地がある.

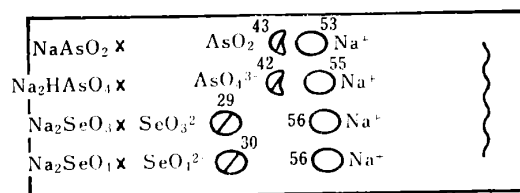


Fig. 7 TLC of arsenite, arsenate, selenite and selenate ions

Solvent, acetone-acetic acid-water (20:1:10); Detection, same as in Fig. 1

5 考 察

4で行った実験結果から次の事実が分かった.

1. 被検イオン約 30 種類の大部分にアルミニウム-モ

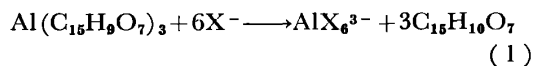
Table 2 $R_f \times 100 (hR_f)$ values of inorganic anions in various systems and their detection

Anion	Cation	hR_f value of anion ^{a)}		Fluorescent color ^{b)}	Visualisation
		TLC	PPC		
F ⁻	Na ⁺	0	0	blue	AgNO ₃ -UV 254
Cl ⁻	K ⁺	40	45	"	"
Br ⁻	K ⁺	58	57	"	"
Br ⁻	Na ⁺	60	57	"	"
I ⁻	K ⁺	77, 78 ^{c)}	72	"	"
IO ₃ ⁻	Na ⁺	13, 30 ^{c)}	16	violet	KI-HCl
IO ₃ ⁻	K ⁺	14	19	"	"
IO ₄ ⁻	Na ⁺	12, 31 ^{c)}	24	"	"
BrO ₃ ⁻	K ⁺	43	57	"	"
ClO ₂ ⁻	Na ⁺	35	45	yellow	"
ClO ₃ ⁻	"	63	70	"	"
ClO ₄ ⁻	"	80	78	"	"
ClO ₄ ⁻	K ⁺	78	70	"	"
SO ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻	Na ⁺	5	3	violet	AcOH-BaCl ₂ -Na rhodizonate
S ²⁻	Na ⁺	10, 33 ^{b)}	11	blue	AgNO ₃
S ₂ O ₃ ²⁻	"	8, 30 ^{b)}	9	"	"
SCN ⁻	K ⁺	85	70	yellow	Fe(NO ₃) ₃ -HNO ₃
Fe(CN) ₆ ⁴⁻	K ⁺	2	3	violet	Fe(NO ₃) ₃ -HNO ₃
Fe(CN) ₆ ³⁻	"	32	20	"	"
CrO ₄ ²⁻	"	6 ^{a)} , 10 ^{d)}	6	"	Pb(OAc) ₂
Cr ₂ O ₇ ²⁻	"	9 ^{a)} , 68 ^{d)}	9	"	"
NO ⁻	Na ⁺	55	62	violet	sulfanilic acid etc.
NO ₃ ⁻	"	60	72	"	"
PO ₄ ³⁻	Na ⁺ , K ⁺	0	0	"	H ₂ SO ₄ -(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄
WO ₄ ²⁻	Na ⁺	44 ^{b)}	—	yellow	AgNO ₃
MoO ₄ ²⁻	"	36 ^{b)}	—	green	"
VO ₃ ⁻	"	20 ^{b)}	—	blue	diaminobenzidine-KI-SnCl ₂ -HCl
VO ₄ ³⁻	"	16 ^{b)}	—	"	"
AsO ₂ ⁻	Na ⁺	43 ^{d)}	—	weak yellow	dithizon-HCl
AsO ₄ ³⁻	"	42 ^{d)}	—	"	"
SeO ₃ ²⁻	"	29 ^{d)}	—	"	SnCl ₂ -HCl
SeO ₄ ²⁻	"	30 ^{d)}	—	"	"

a) Solvent system : 28% NH₄OH-acetone-*n*-BuOH (60 : 130 : 30, v/v), TLC : Merck precoated cellulose plate, 90 min/10 cm, PPC : Toyo filter paper No. 51A, 180 min/20 cm, Sample size : 10 μg/μl; b) Acetone-28% NH₄OH (3 : 2) : 90 min/10 cm; c) Dioxane-H₂O (3 : 2) : 90 min/10 cm; d) Acetone-acetic acid-water (20 : 1 : 10) : 120 min/10 cm; e) Under UV irradiation at 365 nm after spraying aluminum morin complex

リンけい光錯体の消光作用が認められた (モリンのみではけい光強度は弱く, 検出が困難であった). 消光効果は次の3段階; 比較的強いもの, 中程度のもの, 弱いものに分類しうる.

2. 一般にアルミニウム-モリンけい光錯体の陰イオンによる消光作用は式 (1) に示すように, 陰イオンを配位子とするアルミニウム錯体の生成, すなわち配位子置換反応によるモリンの遊離に起因すると解釈される.



ただし X⁻ : 一座配位子

このような配置子置換反応においては, 配位子陰イオンのアルミニウム錯体生成における安定度定数が置換反応の難易を支配する. しかしながらこれらの置換反応は溶液内置換反応と異なり, 固-液相間の配位子置換反応であるため, 溶液内の配位子置換反応のようにアルミニ

ウム-陰イオン錯体の安定度定数の順位で, 消光能の大小の実験結果を考察することはできなかった. いずれにしても消光能の大きい陰イオンのクロマトグラムでは, アルミニウム-モリン錯体の緑黄色のけい光は完全に消失し, アルミニウム-陰イオン錯体の生成によるモリン配位子の遊離のため紫色スポットが観察された.

3. 展開溶媒系 I は多くの塩からの陰イオンと金属イオンの分離が良好である. ナトリウム塩, カリウム塩はいずれも本溶媒系による同一陰イオンの分離に与える影響は少ない {Br⁻ の hR_f 値 : 60 (NaBr), 57 (KBr)}. Fig. 8 に示したようにハロゲンイオンの場合, その電気陰性度の強さ¹⁸⁾と R_f 値の間には逆相関性が, 又イオン半径¹⁸⁾と R_f 値の間には正の相関性が認められる (Fig. 8 曲線 1, 2).

各種イオンの分子構造とクロマトグラフ系の定数 (R_f 値など) との関係については, 改めて報告する.

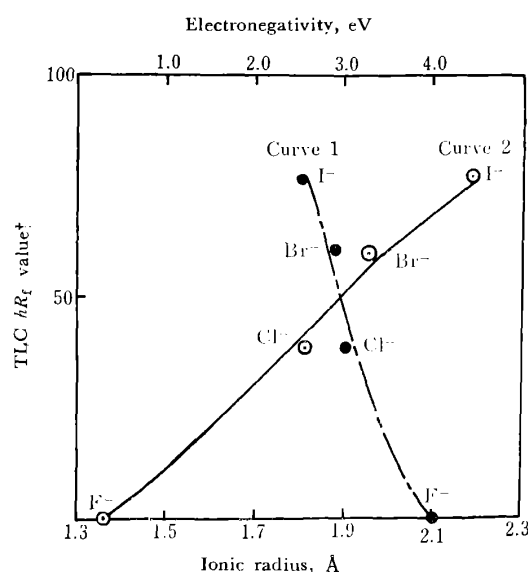


Fig. 8 Relationship between hR_f values, electronegativities and ionic radii of halogen anions

† 28% NH_4OH -acetone- n -BuOH (60 : 130 : 30)/cellulose;
Curve 1: Electronegativity- hR_f value; Curve 2: Ionic radius- hR_f value

Table 2 に実験結果を総括した. PC の場合も TLC の場合と同じ分離結果が得られた. 本検出法を, 本報において分離に使用した展開溶媒系と組み合わせることにより, 無機陰イオンのいっせい分析が可能である.

本研究についてご助言頂いた当研究所主任研究員天野為之博士に感謝します.

文 献

- 1) 仲野尚一: 日化, **74**, 56 (1953).
- 2) 仲野尚一: 同上, **75**, 70 (1954).
- 3) 川鍋康治, 滝谷昭司, 宮崎元一, 田村善蔵: 本誌, **13**, 976 (1964).
- 4) 川鍋康治, 滝谷昭司, 宮崎元一, 田村善蔵: 同上, **14**, 354 (1965).
- 5) 滝谷昭司, 福岡紀子, 岩崎芳子, 長谷川斎: 同上, **14**, 652 (1965).
- 6) 竹内俊夫, 角田義和: 日化, **87**, 251 (1966).
- 7) L. S. Bark, R. J. Graham, D. McCormick: *Anal. Chim. Acta*, **35**, 270 (1966).
- 8) 中村 洋, 田村善蔵: 本誌, **22**, 1356 (1973).
- 9) M. Lederer, C. Polcaro: *J. Chromatogr.*, **84**, 379 (1973).
- 10) R. Frache, A. Dadone, F. Baffi: *Chromatographia*, **7**, 305 (1974).
- 11) 石川正幸, 原 昭二, 古谷 力, 中沢泰男 編: “薄層クロマトグラフィー 基礎と応用”, p. 225 (1970), (南山堂).
- 12) R. W. Stoughton, K. G. Rollefson: *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 2632 (1939).
- 13) J. Bouchard: *J. Chim. Physique*, **38**, 325 (1936).
- 14) 西川泰治, 平木敬三, 森重清利, 重松恒信: 近畿大学理工学部研究報告, **No. 4**, 159 (1969).

- 15) 石橋雅義, 重松恒信, 中川泰治: 本誌, **3**, 294 (1954).
- 16) 日本化学会編: “実験化学講座”, 続 7, p. 137 (1966), (丸善).
- 17) E. Goon, J. E. McMullen, W. H. Wieberley: *Anal. Chem.*, **25**, 609 (1953).
- 18) L. Pauling: “The Nature of the Chemical Bond”, p. 88, 526 (1960), (Cornell University Press).

☆

Chromatography of inorganic anions by using aluminum (III)-morin fluorescent complex as a detection reagent. (Chromatography of inorganic compounds. I.) Tamotsu OKUMURA* and Yasuharu NISHIKAWA** (*Shionogi, Research Laboratory, Shionogi, & Co., Ltd., 5-12-4, Sagisu, Fukushima-ku, Osaka-shi, Osaka; **Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Kinki University, 3-4-1, Kowakae, Higashiosaka-shi, Osaka)

A simple and rapid detection method of inorganic anions was investigated by using aluminum (III)-morin fluorescent complex.

Thirty kinds of inorganic anions developed on paper and cellulose thin-layer and located under UV 365 nm after spraying with this complex. Among these anions, twenty five ions such as halogen, halogenooxyacids, sulfur containing anions, cyanoferrates, chromates, nitrile, nitrate, phosphate, tungstate, molybdate and vanadates showed the fluorescence quenching on chromatograms.

The remaining anions (arsenite, selenite and selenate) did not show the remarkable quenching effect.

From the experimental result, fluorescence quenching effect of anions was classified into three grades: strong (violet color: iod- and bromooxyacids, sulfite, sulfate, cyanoferrates, chromates, nitrite, nitrate, phosphate), medium (blue color: halogen, sulfide, vanadates) and weak (yellow color: chlorooxyacids, thiocyanate, tungstate).

The mechanism of fluorescence quenching caused by these inorganic anions might involve a chemical reaction which convert aluminum-morin fluorescent complex into aluminum salts with no fluorescence ability.

When a basic solvent system containing 28% ammonium hydroxide-acetone- n -butanol (60 : 130 : 30) was used, a rather clear relationship among R_f values, electronegativities and ionic radii of halogen was observed. Namely, the R_f values became higher as the electronegativity of halogen decreased or the ionic radius increased.

(Received Feb. 6, 1976)

Keywords

Aluminum (III)-morin fluorescent complex
Fluorescence quenching effect
Inorganic anions separation
Paper partition chromatography
Thin-layer chromatography