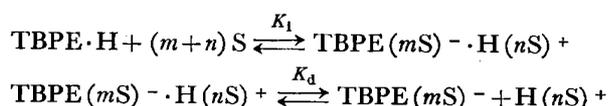


クロロホルム-アルコール混合溶媒中における テトラブロモフェノールフタレインエチルエス テルの発色挙動

細井 康宏, 本水 昌二^{Ⓢ*}

(1988年2月5日受理)

テトラブロモフェノールフタレインエチルエステル (TBPE·H) のアルコール及びアルコールとクロロホルム混合溶媒中における 600 nm 付近の吸収の発現について考察した. TBPE·H はクロロホルム中で 403 nm に吸収極大波長を持つが, アルコール (S) の存在下で 600 nm 付近に新たに吸収を示す. これは次の反応によるイオン対の生成及び解離によるものである.



吸光度測定, 電気伝導度測定により K_1 , K_d の値を求めた. S としてはメタノール, エタノール, プロパノール及びブタノールを用いて検討した. 溶媒和数 ($m+n$) は 3.3~4.7 であり, $\log K_1$ 値は -4.6~-2.4 であった. 純アルコール中の $\log K_d$ 値は -7~-6 であり, イオン解離している割合は非常に小さいことが分かった.

1 緒 言

酸性色素のテトラブロモフェノールフタレインエチルエステル (以下 TBPE 又は TBPE·H と略記) は中和指示薬及びタンパク質の鋭敏な検出試薬として用いられてきた. プロトン解離型の色素 (TBPE⁻ と略記) は TBPE·H (吸収極大波長 400 nm 付近) に比べ, 長波長側 (600 nm 付近) に強い吸収を示し (モル吸光係数約 $9 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), かなり疎水性の大きい陰イオンであるためイオン会合試薬としても興味深い. 酒井らは TBPE⁻ と第四級アンモニウムイオン及びアルカロイドとのイオン会合体の抽出に基づく高感度な吸光光度定量法を報告している^{1)~5)}.

TBPE·H は $\text{p}K_a$ 4.2 の酸であり, 酸性水溶液にはほとんど溶解しないが, アルコール, クロロホルム, 1, 2-ジクロロエタンなどの有機溶媒にはかなり溶解する. クロロホルム, 1, 2-ジクロロエタン溶液は黄色であるが, ある種のアミン類 (エフェドリン, エメチン, キニーネなど) が存在すると 550 nm 付近に吸収極大を持つ赤色溶液となる. これは (TBPE...H...NR₃) のような水素

橋による付加体の形成によるものとされている^{6)~8)}.

著者らは TBPE のイオン会合試薬としての卓越した機能に興味を持ち, この吸光光度試薬としての新たな利用法について検討を進めている過程で, TBPE·H はある種の有機溶媒中では解離型 (TBPE⁻) の吸収を示すことを見いだした. 本報ではクロロホルム-アルコール混合溶媒中における発色挙動について検討した結果を報告する.

2 実 験

2.1 試 薬

TBPE·H 溶液: 市販 (東京化成工業) の TBPE のカリウム塩 (TBPE·K) をエタノールに溶解し, 10^{-3} M とした. この 10 ml を水 50 ml と混合し, 溶液の青色が黄色に変わるまで希塩酸を加え, クロロホルム 20 ml と振り混ぜた. TBPE は TBPE·H 型としてクロロホルム相へ完全に抽出された. クロロホルム相を水で洗浄した後, 適宜クロロホルム又はアルコールで希釈して用いた. 又クロロホルム溶液の一部をピーカーに取りクロロホルムを蒸発除去した後, 析出した TBPE·H をアルコールに溶かすことにより, TBPE·H のアルコール溶液を調製した.

有機溶媒: 市販特級品のクロロホルムはエタノールを

* 岡山大学理学部: 700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

含んでいるため, 当容積の蒸留水で 2~3 回洗浄した後, 使用した. アルコール類は市販特級品をそのまま用いた.

2.2 装置

吸光度は, 光路長 1 cm の角型石英セルを用い, 日立 139 型分光光度計及び島津 UV-300 型自記分光光度計により測定した.

電気伝導度は東亜電波 CM-50AT デジタル電導度計により測定した. 電導度計の調整は塩化カリウム水溶液を用いて行った.

2.3 操作法

TBPE·H 溶液の吸光度測定: TBPE·H のクロロホルム又はアルコール溶液の一定量を 25 ml メスフラスコに取り, クロロホルム, アルコールを適宜加え, アルコールの割合の異なる溶液を調製し (TBPE·H: 1×10^{-5} M), 吸光度を測定する.

TBPE·H 溶液の電気伝導度測定: 既知濃度の TBPE·H を含むクロロホルム, アルコール及びこれらの混合溶媒溶液を調製し, 伝導度を測定する.

3 結果及び考察

3.1 TBPE·H の吸収曲線

TBPE·H はクロロホルム中で 403 nm に吸収極大を示すが, 長波長の 600 nm 付近には全く吸収を示さない. しかし, Fig. 1 に示すようにアルコールが存在すると 600 nm 付近に吸収を示し, アルコール含量の増加と共にその吸収は増加し, 短波長側の吸収は減少する. クロロホルムのみ, 又はアルコールのみの溶媒中での吸収曲線は等吸収点を持たないが, 混合溶媒中では 500

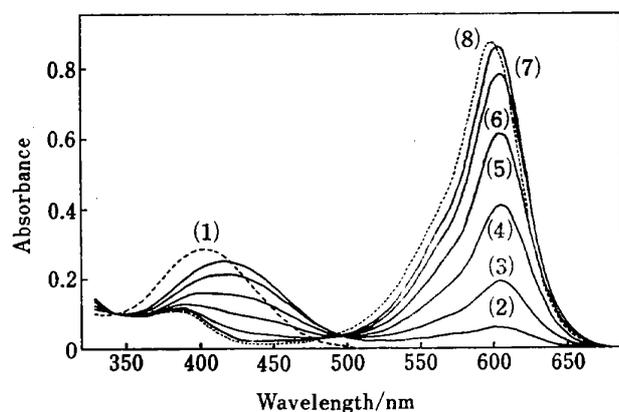


Fig. 1 Absorption spectra in tetrabromophthaloin ethyl ester (TBPE·H) in mixed solvents (chloroform and ethanol)

TBPE·H: 1.0×10^{-5} M; Ethanol (%): (1) 0, (2) 20, (3) 30, (4) 40, (5) 50, (6) 60, (7) 70, (8) 100

nm 付近に等吸収点を示す. これらの事実より, 混合溶媒中では, TBPE·H の存在種は 2 種類であることが分かる. Table 1 に各種溶媒中における吸収波長を示す. 極性が低い溶媒ほど, 600 nm 付近の吸収極大波長は長波長側にあり, 吸収は小さくなることが分かる.

Table 1 Maximum wavelength and absorbance of TBPE·H in organic solvents

Solvent	λ_{\max}/nm		A ^{c)}
	S. W. ^{a)}	L. W. ^{b)}	
Chloroform (CF)	403		
CF+methanol (40%)	380	602	0.85
CF+ethanol (40%)	405	604	0.40
CF+1-propanol (40%)	415	605	0.22
CF+1-butanol (40%)	415	606	0.09
(80%)	415	606	0.36*
CF+nitrobenzene (80%)		608	0.18*
CF+MIBK (80%)	407	613	0.11*

a) At shorter wavelength; b) At longer wavelength; c) Absorbance at λ_{\max} of the longer wavelength TBPE·H = 1.0×10^{-5} M (*: TBPE·H = 2.0×10^{-5} M)

3.2 TBPE·H の長波長側吸収に及ぼすアルコールの種類と濃度の影響

Fig. 2(a) にメタノール, エタノール, プロパノール及びブタノールの濃度の, それぞれの極大波長における吸光度に及ぼす影響を示す. いずれのアルコールにおいても濃度の増大と共に吸光度は増加する. 又, メタノールでは 10 M, エタノールでは 12 M を越えると一定の

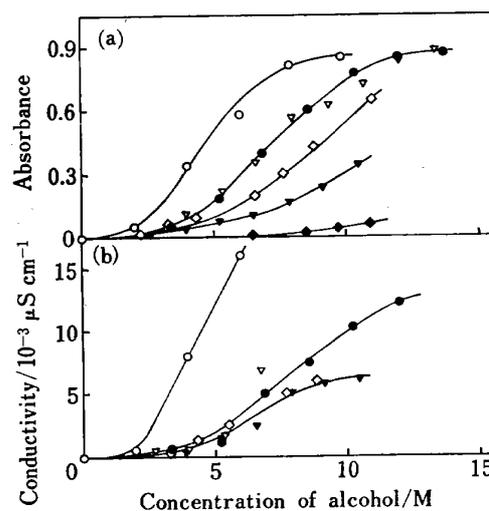


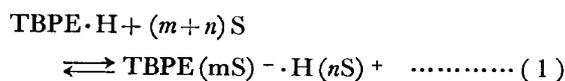
Fig. 2 Relations between (a) absorbance, (b) conductivity and concentration of alcohols in chloroform

TBPE·H: 1.0×10^{-5} M; Alcohol: ○ methanol, ● ethanol, ▽ 1-propanol, ▼ 2-propanol, ◇ 1-butanol, ◆ 2-methyl-2-propanol

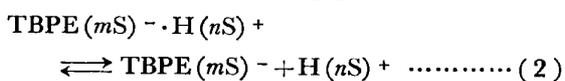
吸光度となり、これらの範囲でのモル吸光係数は約 $8.5 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であった。一方 TBPE·K のエタノール溶液及び中性付近の水溶液では TBPE は可溶性であり、吸収極大波長は 600 nm 及び 590 nm となる。又、これらの波長におけるモル吸光係数は 8.5×10^4 , $7.6 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であった。更に、第四級アンモニウムイオン (例えばゼフィラミンイオン) と TBPE イオン (以後 TBPE⁻ と略記) とのイオン会合体のクロロホルム中での吸収極大波長は 607 nm であり、この波長におけるモル吸光係数は $8.5 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であった。これらの事実より、600 nm 付近の吸収は TBPE·H のイオン化、すなわちイオン対 TBPE⁻·H⁺ の生成によるものと考えられる。

3.3 TBPE·H のイオン化定数

TBPE·H はアルコール存在下で式(1)に従いイオン化し、式(2)に従いイオン解離するものと考えられ、それぞれの平衡定数を K_i (イオン化定数), K_d (解離定数) とすると次のように表される。



$$K_i = \frac{[\text{TBPE}(m\text{S})^- \cdot \text{H}(n\text{S})^+]}{[\text{TBPE} \cdot \text{H}][\text{S}]^{m+n}}$$



$$K_d = \frac{[\text{TBPE}(m\text{S})^-][\text{H}(n\text{S})^+]}{[\text{TBPE}(m\text{S})^- \cdot \text{H}(n\text{S})^+]}$$

Fig. 2 に示すように、アルコール濃度の増大と共に 600 nm 付近の吸収も大きくなる。これは式(1), (2)に従い、TBPE·H のイオン化、及び解離によるものと考え、吸光度測定により K_i 値を求めた。

後述(3.4)の電気伝導度測定の結果から、分かるように式(2)により生じるイオン、TBPE(mS)⁻、の割合はイオン対 TBPE(mS)⁻·H(nS)⁺ に対して非常に小さいので、イオン対濃度に対して無視できる。従って、600 nm 付近の吸光度は、イオン対によるものと見なして差し支えない。イオン対と TBPE·H の濃度比を R とすると、イオン化定数 K_i と R との関係は次式(3), (3') のようになる。

$$K_i = R/[\text{S}]^{m+n} \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$\log R = \log K_i + (m+n)\log[\text{S}] \quad \dots\dots\dots (3')$$

$$R = \frac{[\text{TBPE}(m\text{S})^- \cdot \text{H}(n\text{S})^+]}{[\text{TBPE} \cdot \text{H}]}$$

$$= \frac{(A/\varepsilon l)}{C_0 - (A/\varepsilon l)} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式(4)において A は 600 nm 付近の吸光度を示し、 C_0 は TBPE·H の初濃度、 l は光路長 (cm) を示す。なお、本法では $l=1 \text{ cm}$ を用いた。

ε の値がアルコールの混合割合及び種類によらず等しいとし、メタノール、エタノール、プロパノールにおける値の平均値 $8.70 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を用いることとした。式(4)より R の値を求め、式(3')の $\log R$ を $\log[\text{S}]$ に対してプロットした。結果を Fig. 3 に示す。 $\log R - \log[\text{S}]$ プロットは予想どおり直線関係を示すことが分かる。直線の傾きから溶媒和数 ($m+n$) が、縦軸の切片から $\log K_i$ が求められる。

各種アルコールとクロロホルム混合溶媒において求められた $\log K_i$ と溶媒和数を Table 2 に示す。

アルコールの種類により溶媒和数 ($m+n$) は若干異なる

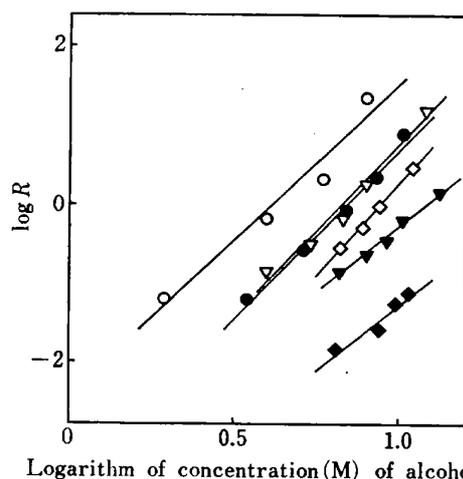


Fig. 3 Relation between $\log R$ and logarithm of concentration of alcohols (S)

$C_0(\text{TBPE}) : 1.0 \times 10^{-5} \text{ M};$ Alcohol (S) :
 ○ methanol, ● ethanol, ▽ 1-propanol, ▼ 2-propanol, ◇ 1-butanol, ◆ 2-methyl-2-propanol

Table 2 Equilibrium constants and solvation number ($m+n$) of alcohol

Alcohol	Solvation number ($m+n$)	$\log K_i$	$\log K_d$ †
Methanol	3.9	-2.4	-7.1
Ethanol	4.4	-3.6	-7.6
1-Propanol	4.3	-3.6	-6.6
2-Propanol	3.4	-3.6	
1-Butanol	4.7	-4.4	-6.4
2-Methyl-2-propanol	3.3	-4.6	

† Obtained in pure alcohols.

るが, ほぼ TBPE·H 1 分子当たりおよそ 3~4 個であろう. 又, この溶媒和数は主に水素イオンに対するものと考えられるが, 本実験の結果から陽イオン, 陰イオンに割り振ることはできない.

3.4 TBPE·H 溶液の電気伝導度とイオン解離定数

Fig. 2(b) に各種アルコールとクロロホルムとの混合溶媒中における TBPE·H の電気伝導度を示す. いずれのアルコールにおいてもアルコール濃度が増すにつれて電気伝導度も増すが, アルコールのアルキル基の炭素数が増すにつれて伝導度は小さくなっている.

Fig. 4 に各種アルコール中における TBPE·K と TBPE·H の電気伝導度を示す. TBPE·K 溶液の伝導度はいずれのアルコールにおいても濃度に対して直線関係を示している. メタノール, エタノール中の H^+ のイオン伝導度は Table 3 に示すように K^+ の約 3 倍であるが, Fig. 4 の TBPE·H 溶液の伝導度は TBPE·K

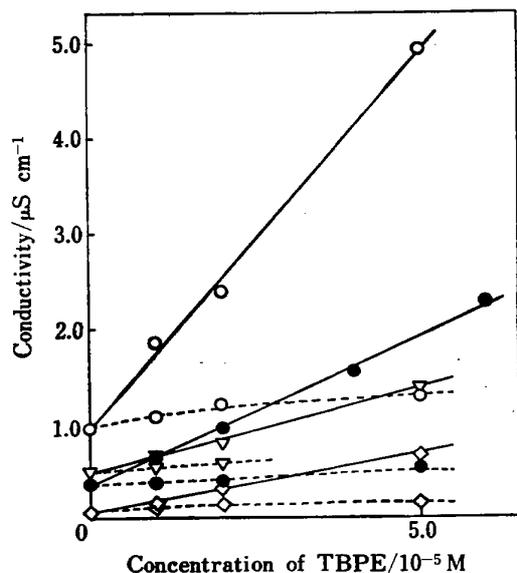


Fig. 4 Conductivity of TBPE solution

Alcohol: ○ methanol, ● ethanol, ▽ 1-propanol, ◇ 1-butanol; —: TBPE·K, - - -: TBPE·H

Table 3 Equivalent conductivities ($\Omega^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$)

A_0, A_0^+, A_0^-	Methanol	Ethanol	1-Propanol	1-Butanol
$A_0^+ (K^+)$	52.45†	23.57†	12.7	8.5
$A_0^+ (H^+)$	146.2†	62.80†	34.5	23.3
$A_0 (TBPE \cdot K)$	79.3	31.9	18.1	12.2
$A_0^- (TBPE^-)$	26.9	8.3	5.4	3.7
$A_0 (TBPE \cdot H)$	173.1	71.1	39.9	27.0

† Values cited from the Ref. (9).

の伝導度の 10 分の 1 以下である. これは TBPE·H のイオンへの解離が非常にわずかであることを示している.

TBPE·K 溶液の伝導度が濃度と直線関係にあることから, 10^{-5}M 程度では TBPE·K はほぼ完全にイオン解離しているものと考え, 傾きから TBPE·K の当量伝導度を求めたものを Table 3 に示す. K^+ のメタノール, エタノール中におけるイオン伝導度 ($A_0^+(K)$) の値を用いて TBPE $^-$ のイオン伝導度 ($A_0^-(TBPE)$) を式(5)より求めた.

$$A_0^-(TBPE) = A_0(TBPE \cdot K) - A_0^+(K) \quad \dots \dots \dots (5)$$

プロパノール, ブタノール中における H^+, K^+ のイオン伝導度は現在求められていないため, 次式(6)が成立するものとし概算した.

$$\frac{A_0(TBPE \cdot K, S_2)}{A_0(TBPE \cdot K, S_1)} = \frac{A_0^+(H^+, S_2)}{A_0^+(H^+, S_1)} = \frac{A_0^+(K^+, S_2)}{A_0^+(K^+, S_1)} \quad \dots \dots \dots (6)$$

式(6)において S_1 はメタノール又はエタノール, S_2 はプロパノール又はブタノールを示す. すなわち, 式(6)は各アルコール溶媒中におけるイオンの伝導度は, TBPE·K の当量伝導度の比に等しいと仮定したものである. Table 3 にはメタノール及びエタノール中における値を用いて計算したプロパノール, ブタノール中における, $A_0^+(K), A_0^+(H)$ の平均値を示す.

Fig. 4 の伝導度の測定結果から当量伝導度 $A(TBPE \cdot H)$ を求め, 式(7)より各濃度における解離度 α を求めた. この α と式(8), (9)よりアルコール中での解離定数 K_d を求めると, TBPE の濃度によらずほぼ一致した値が得られた. 結果を Table 2 に示す.

$$\alpha = \frac{[TBPE(mS)^-]}{C_0} = \frac{[H(nS)^+]}{C_0} = \frac{A(TBPE \cdot H)}{A_0^+(H) + A_0^-(TBPE)} \quad \dots \dots \dots (7)$$

$$K_d = \frac{[TBPE(mS)^-][H(nS)^+]}{C_0} = C_0 \alpha^2 f \quad \dots \dots \dots (8)$$

$$f = \frac{C_0}{[TBPE(mS)^- \cdot H(nS)^+]} = \frac{C_0}{[TBPE(mS)^- \cdot H(nS)^+] + [TBPE(mS)^-] + [TBPE \cdot H]} = 1 + \frac{K_d}{[H(nS)^+]} + \frac{1}{K_1[S]^{m+n}} \approx 1 + \frac{1}{K_1[S]^{m+n}} \quad \dots \dots \dots (9)$$

Fig. 2 から分かるように、メタノール、エタノール、プロパノールではアルコール 100% の溶媒中では TBPE·H はほぼ完全にイオン化し、イオン対 TBPE(mS)⁻·H(nS)⁺ になっていると考えると差し支えない。K_d の値は、(1) TBPE·K は完全解離している、(2) 各アルコール中におけるイオン伝導度と TBPE·K の当量伝導度の比は等しい、という仮定の下に求められたものである。又、伝導度が小さく、測定データも少ないために十分な議論はできないと思われるが、誘電率の大きいメタノールよりも誘電率の小さいブタノールのほうが K_d の値が大きくなる理由は次のように考えられる。すなわち TBPE⁻ 及び H⁺ にアルコールが溶媒和しているため、アルキル基が大きいアルコールほど陽イオンと陰イオン間の距離が大きくなり、解離しやすくなるためであろう。

以上、TBPE·H のアルコール中及びクロロホルム-アルコール混合溶媒中における 600 nm 付近の吸収の出現現象をアルコールの溶媒和によるイオン対 TBPE(mS)⁻·H(nS)⁺ の生成に基づくものとして解析した。

TBPE⁻ は第四級アンモニウムイオン、アルカロイドなどのイオン対抽出-吸光度定量によく用いられるが、抽出溶媒としてはアルコール系溶媒は TBPE·H 自身も発色するために不適当なことが分かる。又、TBPE·H の発色現象は、有機溶媒中のアルコールの検出法としても利用可能と思われる。

文 献

- 1) S. Tsurubo, T. Sakai: *Analyst* (London), **109**, 1397 (1984).
- 2) T. Sakai, N. Ohno, M. Tanaka, T. Okada: *Analyst* (London), **109**, 1569 (1984).
- 3) T. Sakai, N. Ohno: *Talanta*, **33**, 415 (1986).
- 4) T. Sakai, N. Ohno: *Anal. Sci.*, **2**, 275 (1986).
- 5) T. Sakai, N. Ohno: *Analyst* (London), **112**, 149 (1987).
- 6) T. Sakai, I. Hara, M. Tsubouchi: *Chem. Pha-*

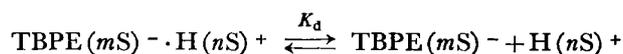
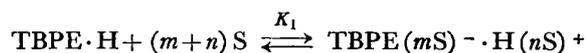
rm. Bull., **24**, 1254 (1976).

- 7) M. Tsubouchi: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **43**, 3164 (1970).
- 8) 酒井忠雄, 小川逸子, 坪内正弘, 鎌田俊彦: *衛生化学*, **21**, 199 (1975).
- 9) 日本化学会編, “改訂三版 化学便覧 基礎編”, p. II-462 (1984), (丸善).

☆

Color-change behavior of tetrabromophenolphthalein ethyl ester in mixed solvents of chloroform and alcohols. Yasuhiro Hosoi and Shoji Motomizu (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

Color change of tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE·H) in several alcohols and their mixtures with chloroform was studied. TBPE·H shows maximum absorption at 430 nm in chloroform, while it shows the maximum absorption near 600 nm in mixed solvents of chloroform and alcohols. The absorption near 600 nm was considered to be due to ion-pair formation. The formation of the ion pair and its dissociation reaction are considered as follows.



where S is an alcohol. Ion-pair formation constants (K₁) and dissociation constants (K_d) were obtained using methanol, ethanol, propanol and butanol as solvation molecules by spectrophotometry and conductometry. The solvation numbers obtained were 3.3 to 4.7, and the values of log K₁ were -4.6 to -2.4. The values of log K_d obtained in pure alcohols were -7 to -6, which indicates that little dissociation occurs.

(Received February 5, 1987)

Keyword phrases

Ion-pair formation and dissociation of tetrabromophenolphthalein ethyl ester; solvation of alcohols; mixed solvents of chloroform and alcohols; spectrophotometric and conductometric studies.