

薄層クロマトグラフィーによる
市販ジフェニルカルバゾン試薬の品質の検討

The Quality-Test of Diphenylcarbazone Reagent
by Thin Layer Chromatography

内 田 正 男
Masao Uchida

仲 佐 美 恵 子
Mieko Nakasa

市販特級ジフェニルカルバゾンを硝酸水銀(II)で発色させたときの色調には、その特級試薬個々によって可成りの差異が認められる⁽¹⁾。この原因の1つは、市販特級試薬に夾雑物が相当量含まれるためであると考え、これの分析に薄層クロマトグラフィーを適用したところジフェニルカルバゾンとほぼ同量のジフェニルカルバジドが共存することがわかった。薄層クロマトグラフィーにより、ジフェニルカルバジドとジフェニルカルバゾンとを簡単に分離確認することができるし、更に展開されたスポットの面積を標準系列のそれらと比較することによって定量することができた。有機試薬の品質の良否の判定や含有量の定量には、薄層クロマトグラフィーは簡単で、有力な手段と思われる。

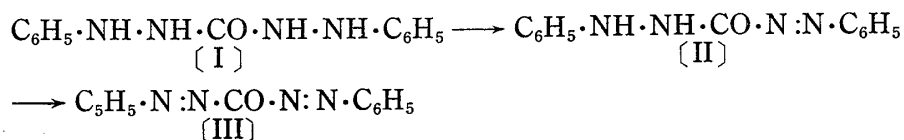
I. 緒 言

科学教育、試験研究、分析実験等に用いられる試薬は、工業生産物として品質、純度、夾雑物の試験法等を JIS 規格 K (化学工業部門) のうちの試薬の項できめられており、教育や研究の現場ではそれぞれの目的に応じて、特級、1 級等明示された純度のものを選択使用していることは周知のことである。しかし、規格というものの性格から、純度や夾雑物の含有量がある一定の許容限度内にあるものはすべて規格合格品であることを保証されるが、個々の試薬 1 本 1 本についての絶対的な含有濃度、共存する不純物の絶対量は不明であるとみななければならない。

ある種の金属イオンと選択的に反応し、しかもその反応が鋭敏である分析用有機試薬は、特に微量の金属イオンを検出するという見地に立つ時、規格に示された許容限度やその許容限度内で個々の試薬がもつ鋭敏度のバラツキは、試薬を実際に使用するにあたって深く留意しなければならない。

ジフェニルカルバゾンは多くの金属イオンと反応して有色の錯体をつくる⁽²⁾⁽³⁾。中でも水銀とは微量でも鋭敏に反応して鮮明な紫色を呈するのでその検出に、またそれらを使った分析用の有機試薬として多く用いられている。

ジフェニルカルバゾン〔II〕はジフェニルカルバジド〔I〕の酸化生成物であり、普通〔I〕を過酸化水素で酸化して〔II〕を得ている⁽²⁾が、この酸化反応が更に進むとすれば〔III〕の生成も考えられる。ジフェニルカルバゾン〔II〕は〔I〕から〔III〕への酸化過程の中間生成物とも見なし得るし、しかも三者の性質は似ているため、試薬としてのジフェニルカルバゾ



ンの中には、不純物としてジフェニルカルバジド及び(III)が共存すると思われる。市販の特級ジフェニルカルバゾンと硝酸水銀(II)との反応で、発色の鋭敏度が個々の試薬によって異なることの原因の1つがここにあるものと考えた。

著者等はシリカゲルを吸着剤とし、各種の展開剤を用いた薄層クロマトグラフィーにより、ジフェニルカルバゾンとジフェニルカルバジドの分離を試みた。更に市販特級ジフェニルカルバゾンの純度を簡単に検査する方法として、薄層クロマトグラフィーによる定量分析を行った。定量には標準試料系列と未知試料とを同時展開し、あらわれたスポットの面積比較法によった。

II. 試薬及び試料

(I) 吸着剤

シリカゲル薄層は定性、定量共にシリカライダー(第一化学薬品)を250 μ の厚みに塗布し、電気乾燥器(島津)で105 $^{\circ}\text{C}$ 30分乾燥活性化した後青色シリカゲルデシケーター中に保存した。

(II) 展開溶媒

展開溶媒は何れも和光純薬製のものを使用した。特級及び1級試薬は常法⁽⁴⁾により精製し、また薄層クロマトグラフィー用試薬はそのまま使用した。

エチルアルコール(特級)

エチルエーテル(薄層クロマトグラフィー用)

氷酢酸(1級)

四塩化炭素(薄層クロマトグラフィー用)

n-ヘキサン()

ベンゼン(特級)

(III) 試料溶液

〔定性〕ジフェニルカルバゾン(和光純薬特級)、ジフェニルカルバジド(和光純薬特級)は共に、ベンゼン-エチルアルコール(24:1)の混合溶媒に20 mg/100 mlの濃度に溶かした。

〔定量〕未知試料: A, B 共特級ジフェニルカルバゾン(和光純薬)

ジフェニルカルバゾン標準試薬: 特級品(和光純薬)をIII. (I). (3)により精製した。

ジフェニルカルバジド標準試薬: 特級品(和光純薬)をそのまま使用した。

試料はすべて定性試験と同様にベンゼン-エチルアルコール(24:1)の混合溶媒に20 mg/100 mlの濃度に溶かして試料溶液とした。

(IV) 発色試薬

発色試薬: 0.05 mol/l 硝酸水銀(II)溶液を噴霧試薬とした。

(V) 試料のつけ方と展開法

〔定性〕試料溶液をマイクロシリンジ(仁丹テルモ)にて各5 μ lつけ、展開溶媒がベンゼンの時は多重展開法を、エチルエーテルその他の時は一次元上昇法を採用し、展開距離はプレパレート薄層上5~6 cmとした。

〔定量〕 標準試料による標準系列と未知試料とを同時展開し、それらの面積比較法により定量を行った。

試料溶液は定性と同様マイクロシリンジ（仁丹テルモ）にてつけた。

ジフェニルカルバゾンの定量には、未知試料溶液を $4.0\ \mu\text{l}$ 、標準試料溶液は $1.0, 2.0, 3.0, 4.0\ \mu\text{l}$ の系列及び、 $2.0, 2.2, 2.4, 2.6\ \mu\text{l}$ の系列をつくり比較した。ジフェニルカルバジドの定量には、未知試料溶液を $4.0\ \mu\text{l}$ 、これと比較する標準試料溶液は $1.8, 2.0, 2.2, 2.4\ \mu\text{l}$ の系列とした。

展開溶媒は何れもエチルエーテルを使用し一次元上昇法で展開した。スポットの量的把握を容易にするため $10\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ の薄層プレートを横長にして用い、展開距離は 2 cm とした。

III. 実験結果と考察

（I）定 性

（1）ジフェニルカルバゾンとジフェニルカルバジドの単一溶媒による展開。

ジフェニルカルバゾンとジフェニルカルバジドの分離にあたって、これに適切な溶媒を探すため先ず種々な単一溶媒による展開を試みた。その結果を表1に示す。エチルアルコール及び、氷酢酸の場合はジフェニルカルバゾンとジフェニルカルバジドの移動距離は同じで分離は不可能である。エチルエーテルにおいては、市販ジフェニルカルバゾンのスポットにわずかにテーリングが認められたが、両者ははっきりと移動距離を異にし分離可能といえる。ベンゼンにおいては、3回の多重展開⁽⁵⁾できれいなスポットに分離し得た。しかし、極性がエチルエーテルとベンゼンとの中間にある四塩化炭素では移動は全く見られず、ベンゼンつまり極性の弱い n -ヘキサンにあっても全く展開されなかった。

表1. 市販ジフェニルカルバゾン (D. O.) とジフェニルカルバジド (D. I.) の展開剤と R_f との関係

展開溶媒	エチルアルコール	氷酢酸	エチルエーテル	四塩化炭素	ベンゼン	n -ヘキサン
(D. O.)	0.78~0.82	0.88~0.84	0.81~0.80	0	多重展開で僅かに上昇	0
(D. I.)	0.78~0.82	0.88~0.78	0.22~0.30	0	0	0

以上の結果から展開溶媒をエチルエーテルにし、市販ジフェニルカルバゾンとジフェニルカルバジドの同時展開を行った結果が図1である。展開直後の状態において（図1イ），市販ジフェニルカルバゾンは2つのスポット（紫赤色… $R_f=0.83$ ，赤色… $R_f=0.79$ ）に分離するのが見られた。次に硝酸水銀（II）発色液を噴霧すると（図1ロ）最先端部の紫赤色（ $R_f=0.83$ ）のスポットには呈色反応は見えず、すぐその下にあった赤色スポット（ $R_f=0.79$ ）が反応して赤紫色を呈した。

更に、噴霧前には見られなかった点（ $R_f=$

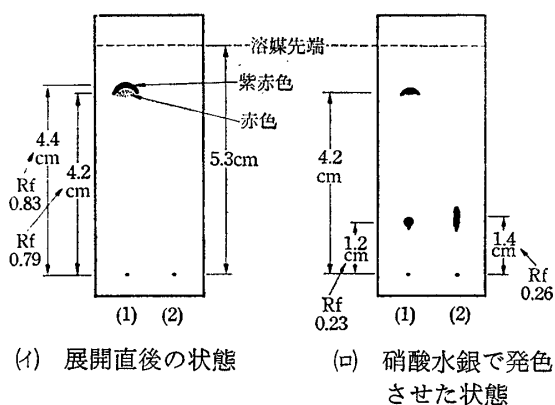


図1. 市販特級ジフェニルカルバゾン (1) と市販特級ジフェニルカルバジド (2) とのエチルエーテルで展開

0.23) に青紫色のスポットがあらわれた。これは、展開中は無色のため認められなかったジフェニルカルバジドが硝酸水銀 (II) と反応して青紫色を呈したもので、ジフェニルカルバジドのみを展開、発色させたものの $R_f (=0.26)$ と一致する。従って市販特級ジフェニルカルバゾンにはジフェニルカルバジドがかなり含まれていることがわかった。

(2) ジフェニルカルバゾンの製法⁽²⁾の検討

試薬註解に示された製法において、原料物質のジフェニルカルバジド (D. I.) に対して酸化剤としての過酸化水素の量を変えると、生成物であるジフェニルカルバゾン (D. O.) の量がどのように変わるかを、反応後エチルエーテルで薄層上に展開させた結果が、図 2 及び表 2 である。

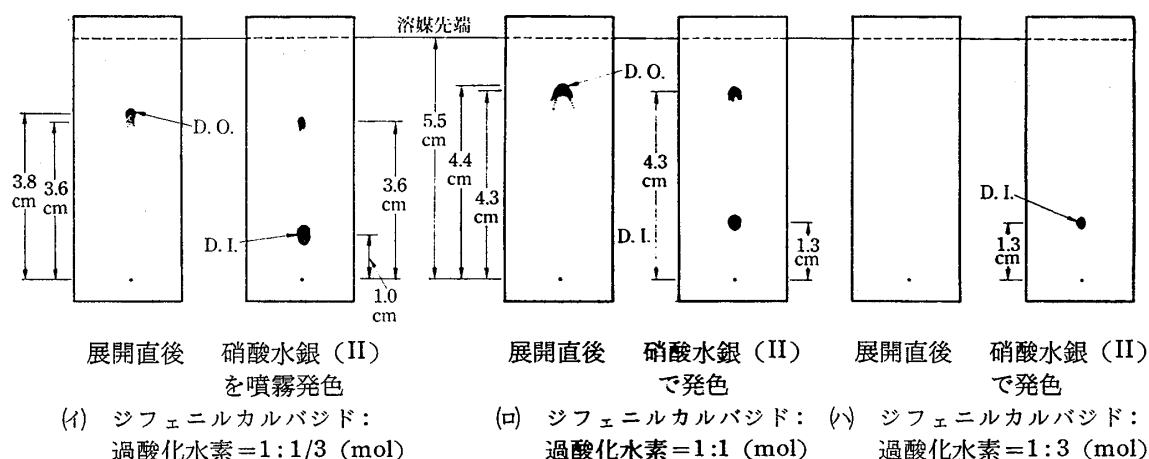


図 2. ジフェニルカルバゾン (D. O.) の製法の検討
ジフェニルカルバジド (D. I.) に対して、過酸化水素の量を変えて反応させた後、エチルエーテルで展開した。

表 2. ジフェニルカルバジド (D. I.) の過酸化水素での酸化によるジフェニルカルバゾン (D. O.) の製法の検討

	反応前原料の mol 数比 D. I. : H_2O_2	展開後のスポットの大きさ	
		D. O.	D. I.
実験 イ,	1:1/3	+	卅
実験 ロ,	1:1	卅	卅
実験 ハ,	1:3	0 (+)	+

ジフェニルカルバジドに対する過酸化水素のモル数を 1:1/3 (試薬註解に記載のものと同じ)、1:1 (反応式から考えられる割合)、1:3 と変えて反応させても、何れの場合にも未変化で残存するジフェニルカルバジドの量は可成り多い。他方目的物であるジフェニルカルバゾンの量は、1:1 の場合が最も多く生成が認められ、過剰に過酸化水素を反応させた場合は反応途中で分解したと考えられる。この実験考察は、ただ酸化剤としての過酸化水素の量に注目したのみで、しかも 3 例に過ぎず、他のすべての条件を吟味した再検討は今後の課題としたい。

(3) ジフェニルカルバゾンの精製法⁽⁶⁾の検討

III (I) (1) から特級ジフェニルカルバゾン試薬にはかなり多量のジフェニルカルバジドが含まれていることを知り、また III. (I). 2. から高純度のジフェニルカルバゾンはそれを市販試薬に求めることは不可能なことがわかったので、文献⁽⁶⁾記載の精製法を追試し、その結果

を薄層クロマトグラフィーにかけて検討した。

この精製法の最終過程で、廃液である酸性母液を薄層で展開すると多量のジフェニルカルバジドやジフェニルカルバゾンが残っているのが認められ、収量の悪い精製法とはいえない。最後に得られた精製ジフェニルカルバゾンの中には、僅かにジフェニルカルバジドを残しているが、その量はジフェニルカルバゾンに比して無視し得るので、このものを定量実験の標準物質として使用した。

(II) 定 量

市販ジフェニルカルバゾン特級試薬の純度を求める目的で定量実験を行った。それには、未知試料と標準試料系列を同時に展開した後、スポットの面積を比較する方法を採用した。

(1) 標準試料における試量と展開後の面積との関係

ジフェニルカルバゾン標準溶液は精製ジフェニルカルバゾン III. (I). (3) を、またジフェニルカルバジド標準溶液は市販ジフェニルカルバジド特級試薬を、それぞれ共にベンゼン—エチルアルコール (24:1) 混合溶媒に 20 mg/100 ml の濃度に溶かしたものをエチルエーテルで展開した。この結果を図 3 に示す。

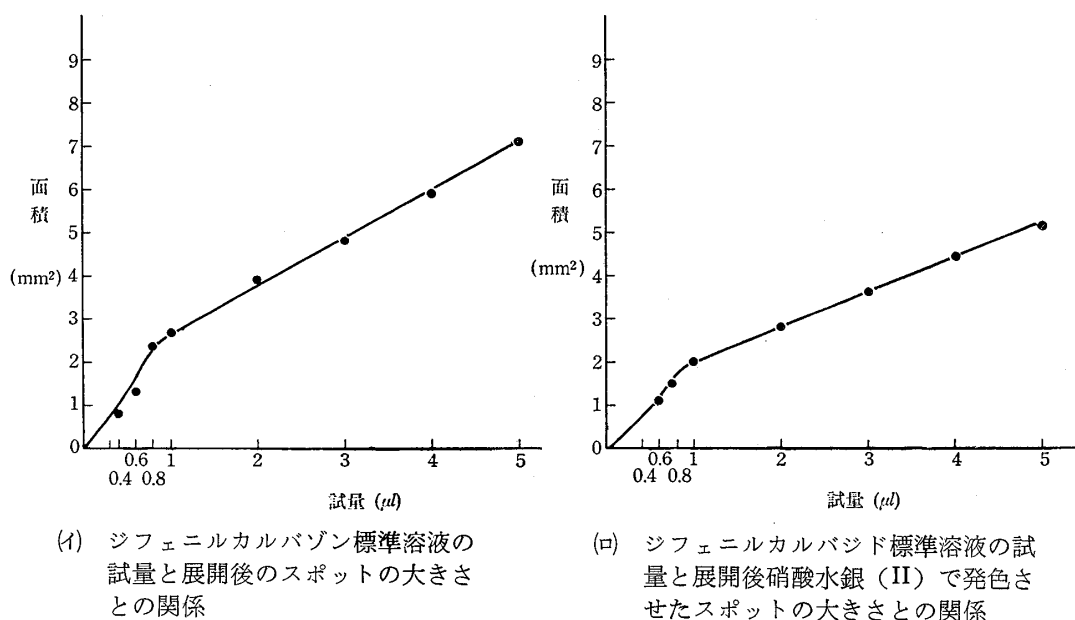


図 3. 標準試料溶液の採取量 (試量) とエチルエーテルで展開後のスポットの面積との関係

この図から、標準系列として面積比較のために展開すべき試量は、誤差が少なくしかも肉眼で識別し得る範囲を検討したところ、ジフェニルカルバゾン、ジフェニルカルバジド共に 2 μl を中心とした前後が適当であると考えた。

(2) 未知試料 A (市販特級ジフェニルカルバゾン) の中のジフェニルカルバゾンの定量

(III) (II) (1) から、標準ジフェニルカルバジド溶液の 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 μl を標準系列とし、これに対して未知試料 A は、これに含まれるジフェニルカルバゾンの量を約 50% と仮定して、4 μl をつけてエ

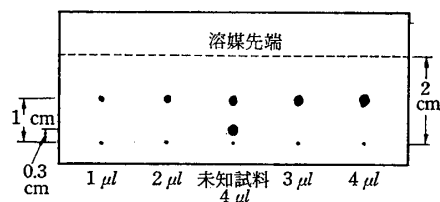


図 4. 未知試料 A 4 μl とジフェニルカルバゾン標準試料系列。エチルエーテルで展開。
参考のため、硝酸水銀 (II) を噴霧してジフェニルカルバジドを発色させた (高さ 0.3 cm のもの)

チルエーテルで同時展開した。この結果が図4である。
この図から未知試料 A 中のジフェニルカルバゾンの量は $2\sim 3\mu\text{l}$ の間にあることがわかった。そこで更にこの間を $0.2\mu\text{l}$ づつ5等分して展開した結果が図5である。
この図からジフェニルカルバゾンの量は $2.0\sim 2.2\mu\text{l}$ の間にあることを知った。従って、この未知試料 A (市販特級ジフェニルカルバゾン) 0.8γ 中に純ジフェニルカルバゾンは $0.4\sim 0.44\gamma$ ($50\sim 55\%$) しか含まれていないことがわかった。

(3) 未知試料 A (市販特級ジフェニルカルバゾン) 中のジフェニルカルバジドの定量

III. (I). (1). から未知試料 A 中のジフェニルカルバジドの含有量を 50% 前後と仮定して、未知試料溶液は、 $4\mu\text{l}$ を、これに対して標準ジフェニルカルバジド溶液は、III. (II). (1). および III. (II). (2) の結果から推定して、 $1.8, 2.0, 2.2, 2.4\mu\text{l}$ と、 $0.2\mu\text{l}$ きざみにつけて、ジフェニルカルバゾンの場合と同様にエチルエーテルで展開した後、 0.05mol 硝酸水銀 (II) を噴霧発色させた結果が図6である。これによると、未知試料 A 中のジフェニルカルバジドのスポットの大きさは、標準系列の $1.8\mu\text{l}$ のものと同じであるが、色は $1.8\mu\text{l}$ のものより少し濃く $2.0\mu\text{l}$ のものより淡い。そこで $1.8\sim 2.0\mu\text{l}$ の間にあると判断した。従ってこの未知試料 A (市販特級ジフェニルカルバゾン) 0.8γ 中にはジフェニルカルバジドが $0.36\sim 0.4\gamma$ ($45\sim 50\%$) が夾雑されていることがわかった。

更に別の未知試料 B (市販特級ジフェニルカルバゾン試薬 検討した中では最悪品) の溶液 $4\mu\text{l}$ を III. (II). (2). と同様に展開したところ、ジフェニルカルバゾンの標準系列の $0.6\sim 0.8\mu\text{l}$ のスポットと大きさ、色の濃淡共に一致した。従ってこの最悪品ジフェニルカルバゾン 0.8γ 中には $0.14\sim 0.16\gamma$ ($17\sim 20\%$) の純ジフェニルカルバゾンしか含まれていないことになる。

以上、定量の結果から、市販特級ジフェニルカルバゾンの中に含まれる純ジフェニルカルバゾンと純ジフェニルカルバジドの割合は $1:1$ またはそれ以下であることがわかった。

IV. 結 言

(I) ジフェニルカルバジドとジフェニルカルバゾンの混合物は、それをベンゼン—エチルアルコール ($24:1$) 混合溶媒にとかして、シリカゲル薄層につけてエチルエーテルで展開した後、硝酸水銀 (II) で発色させることにより、簡単に分離確認することができた。ベンゼンを展開溶媒に用いるときは多重展開法で分離できた。

(II) シリカゲル薄層上に展開したジフェニルカルバゾン標準系列と未知試料とのそれぞれのスポットの面積を比較することにより、未知試料中のジフェニルカルバゾンを簡単に定量することができた。

また、同様に未知試料中のジフェニルカルバジドも定量することができた。

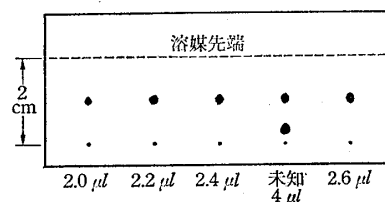


図5. 未知試料 A $4\mu\text{l}$ と、ジフェニルカルバゾン標準試料系列 ($0.2\mu\text{l}$ きざみ) エチルエーテルで展開。
硝酸水銀 (II) にてジフェニルカルバジドを発色させた。

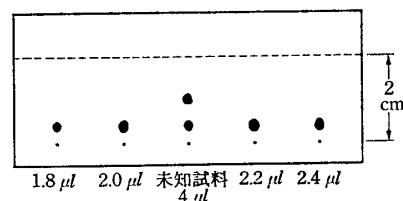


図6. 未知試料 A $4\mu\text{l}$ と、ジフェニルカルバジド標準試料系列 ($0.2\mu\text{l}$ きざみ) エチルエーテルで展開後、硝酸水銀 (II) で発色

(III) 市販特級ジフェニルカルバゾン試薬の中には多量のジフェニルカルバジドが共存していて、純ジフェニルカルバゾンの含有量は、良品で50~55%、最悪品で17~20%であることがわかった。

(IV) 薄層クロマトグラフィーは、有機試薬の品質の良否の判定、含有量の定量には、簡単で有力な手段であることがわかった。

終わりに、本研究を行うにあたり、終始御指導をいただいた友成明久助教授に厚くお礼申し上げます。

参 考 文 献

- (1) 友成明久：日化，82，866 (1961)
- (2) 三堀，石原，加藤共編：試薬註解，第3巻，南江堂（昭29）
- (3) Beilstein 文献集
- (4) 実験化学講座：基礎技術，P 78. 82. 丸善
後藤廉平編：物理化学実験法，P 90，共立全書
試薬註解（1，2，3巻）南江堂（昭29）その他
- (5) 鈴木郁生：薄層クロマトグラフィーの実際，P 21，広川書店
- (6) J. L. Gerlach, R. G. Frazier: Anal. Chem. 30, 1142 (1958)