

—一般論文—

日本薬局方収載 Fajans 法の改良

奥村典子、江坂幸宏、瀬戸邦匡、後藤正志、河合 聡、宇野文二*

要約：日本薬局方収載の医薬品定量法である Fajans 法の滴定終点を明瞭にするために、その改良法を開発した。Fajans 法に用いる指示薬フルオレセインナトリウムの共役酸フルオレセインの pK_a 値は分光学的方法により 6.67 と求められ、この指示薬は被滴定液中ではほとんど解離していないことが分かった。その結果、局方収載の方法ではアニオン性吸着指示薬の効果が小さく、明瞭な終点指示ができにくいものと考えられた。そこで、種々の緩衝液を用いて終点指示の鋭敏さとその精度を検討した結果、炭酸緩衝液が最も適することが分かった。以上述べたごとく、被滴定液に炭酸水素ナトリウム（初期濃度を約 0.01 mol/L とする）を加える簡便な改良 Fajans 法を開発した。なお、この方法で得られた結果は、既存の Mohr 法で得られた結果とよく一致した。

索引用語：沈殿滴定、銀滴定、Fajans 法、Mohr 法、フルオレセインナトリウム、日本薬局方

Improvement of the Fajans Method Described in the Japanese PharmacopoeiaNoriko OKUMURA, Yukihiro ESAKA, Kunimasa SETO, Masashi GOTO,
Satoshi KAWAI, and Bunji UNO*

Abstract: The Fajans method described in the Japanese Pharmacopoeia has been improved for clear coloration at the end point of argentimetry. The pK_a value of fluorescein as an indicator in this method was spectroscopically found to be 6.67. In this method, the end point is difficult to discern owing to suppression of the acid dissociation of the indicator in titrated solution. The sensitivity and accuracy of coloration at the end point were evaluated in these methods using various buffer solutions to find means to enhance the accuracy of the Fajans method, the results indicating that the argentimetry in carbonate buffer solutions is most suitable for discernment of the equivalent point. The desired improvement has been achieved by adding sodium hydrogen carbonate at initial concentration of 0.01 mol/L. The experimental results in this method agreed well with those by the Mohr method in sensitivity of coloration and the equivalent point.

Keyphrases: precipitation titration, argentimetry, the Fajans method, the Mohr method, sodium fluorescein, the Japanese Pharmacopoeia

緒言

沈殿滴定は、目的物質と作用して、定量的に沈殿を生じる物質の溶液を標準液として用いる容量分析法である。その中でも最もよく用いられるのは、銀イオンとハロゲンイオン、シアニオン、チオシアン酸イオンなどとの反応を用いた銀滴定法である。第十三改正日本薬局方の中でも、生理食塩水中の塩化ナトリウムの定量、ブロム

ワレリル尿素の定量などを始めとした多くの局方医薬品の定量法として、銀滴定を用いる沈殿滴定法が定められている。

指示薬を用いるハロゲンイオンの直接的な銀滴定では、その指示薬の違いにより、Mohr 法²⁾と Fajans 法³⁻⁵⁾に分けられる。Mohr 法は、終点における呈色が極めて鋭敏であるために、広く用いられてきたが、指示薬に用いるクロム酸カリウムの毒性が大変な問題となる。この理由に

より、日本薬局方でも第十一改正の追補以後、Mohr 法は削除され、吸着指示薬を用いる Fajans 法に変更された⁶⁾。しかし、吸着指示薬を用いる方法は条件によっては呈色が曖昧であるため、精度の高い定量には難点がある場合がある。事実、第十三改正日本薬局方記載の操作に従って学生実習を行っても、なかなか精度の良い定量値を得ることができなかった。これは学生の操作の未熟さのみが原因とは考えにくく、この操作の改良を試みることにした。

本研究では、塩化ナトリウムを標準物質とした硝酸銀標準液の標定をモデル系とし、既存の Mohr 法と比較の上、Fajans 法における pH 条件の設定を中心とした改良法を検討した。

実験

試料・試薬の調製：0.1 mol/L 硝酸銀標準液、クロム酸カリウム試液、フルオレセインナトリウム試液は、第十三改正日本薬局方に従って調製した。硝酸銀はキシダ化学(株)、クロム酸カリウムおよびフルオレセインナトリウムは東京化成工業(株)特級試薬を精製することなく用いた。塩化ナトリウムはナカライテスク(株)の容量分析用標準試薬を、薬局方の規定に従い約 500 °C で 50 分間乾燥して用いた。

緩衝液の調製：滴定に用いる緩衝液は、緩衝液成分が銀滴定に直接影響することを避けるため、硝酸塩およびナトリウム塩を用いた。用いた緩衝液は弱塩基性の pH を調製することが可能な、リン酸緩衝液、炭酸緩衝液お

よびアンモニア緩衝液である。一方、スペクトル測定の際は、pH 12 近傍および pH 6–7.5 には 0.1 mol/L リン酸緩衝液、pH 4.5–6 には 0.1 mol/L 酢酸緩衝液を通常の方法で調製して用いた⁴⁾。

滴定操作：第十三改正日本薬局方の 0.1 mol/L 硝酸銀液の標定操作に従って行った。ただし、被滴定溶液は、硝酸銀の滴定量がおよそ 10 mL くらいになるように調製し、常に一定量の標準物質(塩化ナトリウム)を含むようにするため、次のように調製した。塩化ナトリウム約 6 g を精密に秤り、水を加えて正確に 1000 mL とする。この液 10 mL を正確にはかり、調製した 0.1 mol/L 硝酸銀液で滴定した。

スペクトル測定：指示薬フルオレセインの pK_a を測定するため、種々の緩衝液中で紫外可視吸収スペクトルを測定した。なお、測定には島津自記分光光度計 UV-240 型を用いた。

結果と考察

フルオレセインナトリウムの酸解離と薬局方収載 Fajans 法による被滴定溶液の pH 変化：Fig. 1 に Fajans

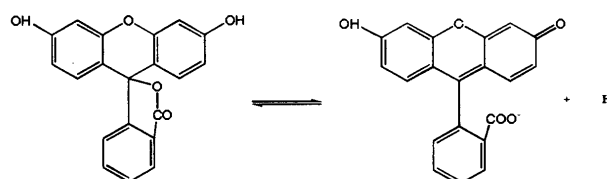


Fig. 1. Acid dissociation equilibrium of fluorescein.

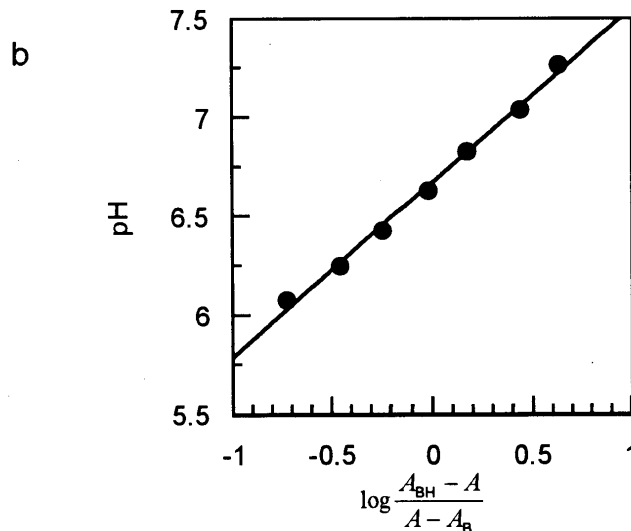
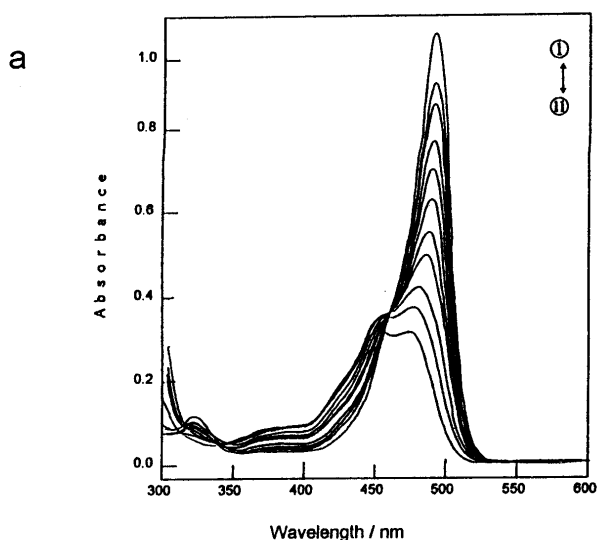


Fig. 2. Spectral change of 1.48×10^{-5} mol/L fluorescein at various pHs (a) and linear relation of pH to $\log(A_{BH} - A)/(A - A_B)$ values at 488 nm (b). The pH values for Fig. (a) are (1) 12.00, (2) 7.26, (3) 7.03, (4) 6.82, (5) 6.62, (6) 6.42, (7) 6.24, (8) 6.07, (9) 5.83, (10) 5.49, (11) 4.80. The regression equation obtained by the least square method is $pH = 0.885 \times \log(A_{BH} - A)/(A - A_B) + 6.67$.

法で用いる代表的な指示薬、フルオレセインの構造とその酸解離平衡を示した。これ以外にも、ジヨードフルオレセイン、エオシンなどが用いられるが、全て同じ骨格を持った陰イオン型吸着指示薬である。塩化ナトリウムを硝酸銀液で滴定する時、はじめ塩化銀の一部はコロイドとなって分散しているが、当量点近くではコロイドは凝集して沈殿する。これは塩素イオンが多く存在する間は塩化銀微粒子の表面に塩素イオンが吸着され、その外側をナトリウムイオンが取り巻いてコロイドを安定化しているが、塩素イオンの減少に伴い、この構造が破れるためである。そして、当量点を過ぎてごくわずかに銀イオンが過剰になると、銀イオンを吸着して再びコロイド化の傾向を示し、陰イオン型吸着指示薬は銀イオンが吸着しているコロイド表面に吸着して変色する。このため、フルオレセインが吸着指示薬の効果を果たすためには、被滴定溶液の pH がフルオレセインの解離に十分な塩基性であることが望まれる。Fig. 2(a)に種々の pH におけるフルオレセインのスペクトル変化を示した。明瞭な等吸収点が観測され、Fig. 1 に示した酸解離平衡に対応するスペクトル変化であることが理解できる。各 pH 溶液中で測定された見掛けの吸光度 (A) は次の関係にある⁷⁾。

$$pH = \log \frac{A_{BH} - A}{A - A_B} + pK_a$$

ここで、 A_{BH} および A_B は非解離型および解離型のみの場合の吸光度を示す。Fig. 2(a)に示したスペクトルの 488 nm における上式の関係性を Fig. 2(b)に示し、その切片よりフルオレセインの $pK_a = 6.67$ と評価した。

一方、薬局方の記述通りの操作により、塩化ナトリウムを Fajans 法で滴定すると、まず、塩化銀の白色沈殿を生じ、さらに注意しながら一滴ずつよく振り混ぜながら滴下していくと、沈殿が細かくなり少し灰赤色に染まった。この変化は鋭敏でなく、また、薬局方に記載の終点の呈色に関する記述とは異なっていた。これは、先に記

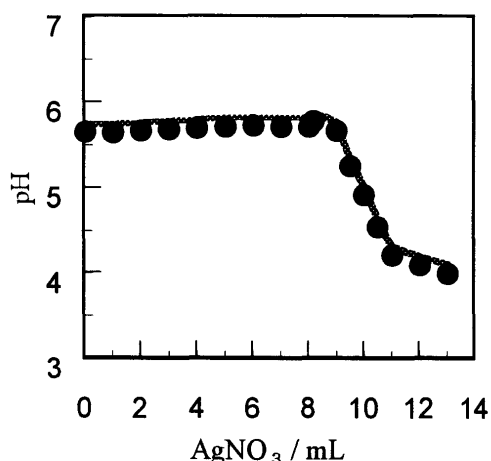


Fig. 3. Change in pH of the titrated solution with titration by the 0.1 mol/L $AgNO_3$ standard solution.

した当量点近傍でのコロイドの凝集による変化と考えられる。この変化を滴定の終点として、10 回の繰り返し実験により求めたファクターは 1.002 ± 0.0026 、その標準偏差は 0.0037 であった。この値は、後述する Mohr 法による結果に比べ、やや大きな値であり、まだ当量点にわずかに達していないものと考えられる。また、この滴定における被滴定溶液の pH 変化を Fig. 3 に示した。終点付近での被滴定溶液の pH は弱酸性となり、指示薬の pK_a より大きく酸性側に偏っていることが分かった。従って、当量点付近では、フルオレセインの多くは非解離型として存在するため、陰イオン型吸着指示薬の効果を果たさず、明瞭な呈色を示さないものと考えられる。

種々の緩衝溶液中での Fajans 法：上述の結果を考慮し、被滴定溶液に緩衝液を用いて、滴定中の pH を弱塩基性に制御することを試みた。また、先に記したように、吸着指示薬の呈色は他の電解質の影響を受けるので、その緩衝液成分についても検討した。フルオレセインの pK_a を考慮して、中性から弱塩基性の緩衝液を調製し得るリン酸緩衝液 (pH = 7)、アンモニア緩衝液 (pH = 10)、炭酸緩衝液 (pH = 6) を用いた。これらの成分は、銀滴定に直接影響することを避けるため、硝酸塩およびナトリウム塩とした。

リン酸緩衝液 (pH = 7) を用いた場合の結果を Fig. 4 に示した。以下の図における滴定終点の判定(図中の Judge に記された項目)は、○印が薬局方に記された終点での呈色を示し滴定終点の変化が鋭敏であった場合、×印は

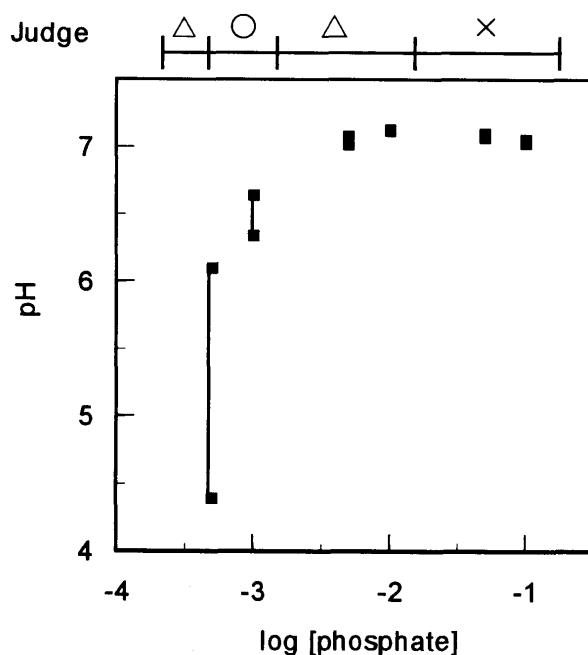


Fig. 4. Dependence of the pH change in the titrated solution upon initial concentrations of the phosphate buffer solutions during the titration, and possibility for designation of the end point. See the text for detail.

緩衝液を用いない時と同様に終点判定が困難な場合、△印は、被滴定溶液は少しだいたい色となるが、沈殿が灰色を帯び、終点の呈色がそれほど鋭敏でなく、その判定はわずかに見難い場合を表している。リン酸緩衝液の場合には、滴定終点でもフルオレセインが十分解離できる pH に保たれているにもかかわらず、滴定前の被滴定溶液の緩衝液濃度が高くなるに従って、終点判定が困難となる。これは緩衝液中のリン酸二水素イオンまたはリン酸一水素イオンが終点でのフルオレセインイオンの吸着を阻害していることによるものと考えられる。一方、緩衝液が薄い場合には、その緩衝能が低く当量点付近では十分な指示薬の解離が期待できないため、終点指示の呈色が見難くなる傾向があった。従って、滴定前の被滴定溶液中での緩衝液濃度が 10^{-3} mol/L 付近の狭い範囲でのみ滴定終点が明瞭となった。従って、リン酸緩衝液を用いる場合にはその濃度条件を厳密にする必要に迫られ、定量法には適していないと言える。

アンモニア緩衝液 (pH = 10) を用いた場合の結果を Fig. 5 に示した。緩衝液濃度が高い場合、リン酸緩衝液の場合と同様に、pH は十分塩基性であるにもかかわらず、フルオレセインの吸着による終点判定は困難であった。しかし、その阻害様式は必ずしもリン酸緩衝液を用いた場合と同様ではなく、アンモニウムイオンが陽イオンであるため、電解質が塩化銀コロイド表面へ吸着した時の構

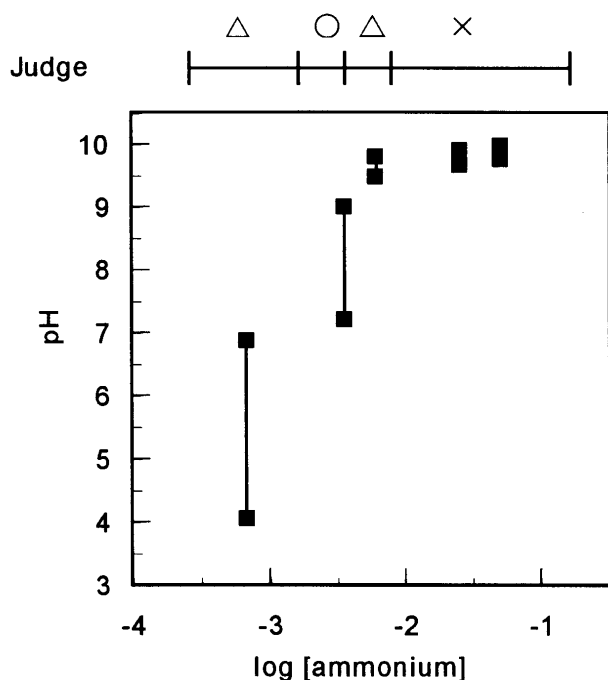


Fig. 5. Dependence of the pH change in the titrated solution upon initial concentrations of the ammonium buffer solutions during titration, and possibility for designation of the end point. See the text for detail.

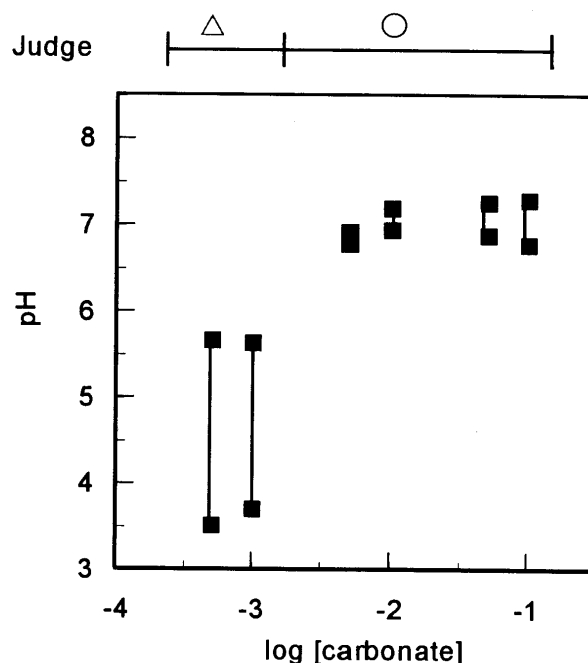
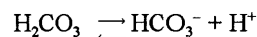


Fig. 6. Dependence of the pH change in the titrated solution upon initial concentrations of the carbonate buffer solutions during titration, and possibility for designation of the end point. See the text for detail.

造の違いによるものと考えられる。また、緩衝液濃度が低い場合には、終点の判定が困難となり、ごく狭い緩衝液濃度の時しか鋭敏に終点を判定することができなかった。

一方、炭酸緩衝液 (pH = 7) を用いた場合には、広い緩衝液濃度で薬局方に記載通りの鋭敏な終点指示の呈色を示した。これらの結果を Fig. 6 に示した。緩衝液成分の初期濃度が 0.001 mol/L 以下となると、当量点付近での被滴定液の pH が酸性に傾き、十分なフルオレセインの陰イオンが存在しないため、滴定終点の判定がやや困難になる。しかし、 0.005 mol/L 以上の濃度であれば、炭酸イオンおよび炭酸水素イオンはかなり高濃度でもフルオレセインの吸着指示薬としての機能を阻害しないことが理解できる。また、これらの実験条件下での滴定値は、緩衝液濃度に依存せず完全に一致していた。

簡便な改良 Fajans 法：以上の結果から、改良 Fajans 法として、炭酸緩衝液 (pH = 7) を用いる方法が最も鋭敏な終点指示を与えることが分かった。炭酸の pK_a は 6.35 および 10.33 であるから、pH = 7 の緩衝液は、



の平衡系を利用した緩衝能である。従って、硝酸銀溶液のような弱酸性の水溶液を滴下する場合には、被滴定溶液に炭酸水素ナトリウムを加えておけば自動的に、その pK_a (6.35) 付近での緩衝能が生じることになる。従って、

緩衝液を調製する代わりに、一定量の炭酸水素ナトリウムを加えて滴定すればよい。この方法による結果は、滴定初期の被滴定溶液の pH が高いことを除いて、Fig. 6 に示す結果と全く同じであった。従って、滴定前の被滴定溶液中に 0.005 mol/L 以上の炭酸水素ナトリウムを共存させる方法が最も簡便な改良法として提案できる。

Mohr 法と改良 Fajans 法の精度の比較：改良 Fajans 法の精度を検討するため、既存の Mohr 法と比較の上、10 回の繰り返し実験を行った。Mohr 法は第十一改正以前の薬局方の方法により、改良 Fajans 法では滴定前の被滴定溶液中に炭酸水素ナトリウムが約 0.01 mol/L となるように調製した。得られた結果は次のようになった。Mohr 法の場合、得られたファクターは 0.9516 ± 0.0010 、その標準偏差は 0.0014 であった。また、改良 Fajans 法では、ファクターは 0.9539 ± 0.0010 、その標準偏差は 0.0011 であった。この結果は、改良 Fajans 法が Mohr 法と同じように精度が高く、得られる結果も Mohr 法とよく一致していることを示している。

結 論

以上の結果から、日本薬局方の Fajans 法を精度良く再現性ある方法として用いるためには、Fajans 法を用いる定量操作の中に、「滴定する前の被滴定溶液中に炭酸水素ナトリウムを加え、その濃度を 0.01 mol/L 程度にする」という操作が必要である。従って、第十三改正日本薬局方中の Fajans 法の定量操作は、例えば 0.1 mol/L 硝酸銀標準液の標定操作では「標定：塩化ナトリウム(標準試薬)を 500~650 °C で 40~50 分間乾燥した後、デシケーター (シリカゲル) 中で放冷し、その約 0.15 g を精密に量り、水 50mL に溶かし、0.1 mol/L 炭酸水素ナトリウム試液 5 mL、フルオレセインナトリウム試液 3 滴を加え、強く降り混ぜながら調製した硝酸銀液で、液の黄緑色が黄色を経て黄だいたい色を呈するまで滴定し、ファクターを計算する。」と記述することを提言したい。

実際、学生実習では、この改良法の操作に従って行っているが、鋭敏な終点指示によって再現性ある結果を得ていることを付記したい。

引用文献

- 1) 日本公定書協会監修，“第十三改正日本薬局方”，廣川書店 (1996).
- 2) F. P. Treadwell and W. T. Hall, “Analytical Chemistry,” Vol. II (1942), p. 648.
- 3) K. Fajans and O. Hassel, *Z. Electrochem.*, 29, 495 (1923).
- 4) I. M. Kolthoff, *Chem. Rev.*, 16, 87 (1935).
- 5) K. Fajans, “Newer Methods of Volumetric Analysis,” W. Bottger, Ed., D. van Nostrand and Co., New York (1938),

Chapter 7.

- 6) 日本公定書協会監修，“第十一改正日本薬局方追補”，廣川書店 (1988).
- 7) K. Kano, B. Uno, N. Kaida, Z.-X. Zhang, T. Kubota, K. Takahashi and Y. Kawazoe, *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 1702 (1987).