

218. Dosage fluorimétrique de quantités de bore de l'ordre du submicrogramme par la dihydroxy-2,4-benzophénone (D.H.B.)

par D. Monnier, A. Marcantonatos et M. Marcantonatos

(4 VII 64)

Le présent travail fait partie d'une série de recherches [1]¹⁾ sur le dosage photométrique de traces de bore. Nous proposons dans cette publication une réaction fluorescente qui permet le dosage de submicrogramme de bore.

Le complexe fluorescent utilisé se forme lorsqu'on fait agir, en milieu sulfurique concentré ou peu dilué, la dihydroxy-2,4-benzophénone (D.H.B.) sur des traces d'acide borique. Le spectre apparent d'excitation présente un maximum à $2,66 \mu^{-1}$ ($376 \text{ m}\mu$), et celui de fluorescence, à $1,99 \mu^{-1}$ ($503 \text{ m}\mu$), la fréquence des demi-pics étant de $2,26 \mu^{-1}$ et $1,79 \mu^{-1}$ respectivement. L'intensité de la fluorescence est, dans des conditions appropriées, proportionnelle à la quantité de bore mise en jeu et permet de doser avec une bonne précision de 0,0036 à 0,18 $\mu\text{g/ml}$ de bore (volume total: 3 ml).

Réactifs et appareillage. a) Dihydroxy-2,4-benzophénone *purum* FLUKA AG, purifiée par double recristallisation dans une solution à 30% d'hexane dans du chloroforme (remarque 1, p. 1885). – b) Acide sulfurique ($d = 1,84$) *p. a.* MERCK. – c) Acide borique *p. a.* MERCK. – d) Réactif: 0,006425% de D.H.B. dans H_2SO_4 conc. – e) Eau bidistillée dans du quartz. – f) Tubes à essai en quartz transparent, diamètre 14 mm, longueur 130 mm, SOCIÉTÉ ELECTROCHIMIQUE DE LA TOUR-DE-TRÈME (remarque 2, p. 1885). – g) Flacons en quartz (pour la conservation des solutions de référence d'acide borique). – h) Spectrofluorimètre ZEISS à deux monochromateurs, modèle ZFM4. – i) Lampes au xénon et à mercure. – k) Filtre de WOOD $365 \text{ m}\mu$. – l) Cuves de quartz, $l = 1 \text{ cm}$. – m) Etalon de fluorescence ZEISS (remarque 3, p. 1885).

Etude analytique. Nous avons recherché les conditions pour lesquelles la fluorescence du complexe est proportionnelle à la concentration du bore, et étudié les facteurs pouvant influencer sur l'équilibre $\text{BO}_3\text{H}_3 + \text{D.H.B.} \rightleftharpoons$ complexe, et par conséquent sur la sensibilité de la méthode et la reproductibilité des résultats. Nous avons donc recherché 1. les conditions de la formation du complexe; 2. la composition de celui-ci et l'effet de la concentration de la D.H.B. sur la fluorescence; 3. l'action de l'eau sur la formation et la stabilité du complexe; 4. le comportement d'un grand nombre d'ions en présence du réactif.

1. Le complexe fluorescent se forme en milieu sulfurique dans une réaction réversible entre l'acide borique libre et la D.H.B. A la température ordinaire, l'équilibre de cette réaction (maximum d'intensité de fluorescence) n'est atteint qu'après environ 10 h. Dans ces conditions les blancs donnent une fluorescence relativement élevée, provenant d'une oxydation partielle de la D.H.B. en produits fluorescents. Cette altération se traduit d'ailleurs par une légère modification de la composition spectrale de la lumière émise et par l'apparition de fluorescences parasites. On peut éviter ce phénomène en travaillant à 70° . L'équilibre s'établit alors en moins de 20 min.

¹⁾ Les chiffres entre crochets renvoient à la bibliographie, p. 1986.

La pureté de l'acide utilisé est un facteur essentiel. Avec un acide sulfurique de pureté moyenne on observe assez souvent des photodécompositions qui augmentent la fluorescence des blancs et modifient les caractéristiques spectrales du complexe. Avec un acide de pureté analytique (p. ex. ac. sulfurique *p. a.* МЕРСК) les phénomènes de photodécomposition sont négligeables, les résultats sont très reproductibles, et la valeur des blancs, peu élevée.

2. Nous avons étudié l'influence du rapport moléculaire $[D. H. B.]/[BO_3H_3]$. A cet effet nous avons chauffé à 70° pendant 5–120 min une série de solutions préparées par addition, à 0,5 ml d'une solution sulfurique conc. d'acide borique $10^{-4}M$ ($1,082 \mu g$ B/ml), de 2,5 ml d' H_2SO_4 renfermant des quantités variables de D. H. B., choisies de sorte que le rapport $[D. H. B.]/[BO_3H_3] = \tau$ varie de 1 à 4. La fluorescence (v. fig. 1) est maximum pour $\tau = 2,0$ et constante pour une durée de chauffage comprise entre 15 et 120 min.

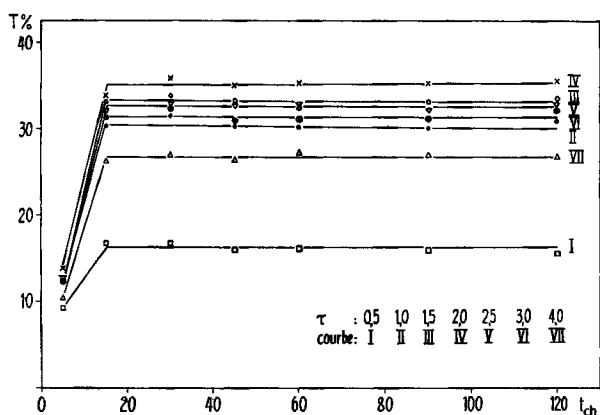


Fig. 1. Intensité de fluorescence de solutions renfermant dans 3 ml d'acide sulfurique concentré $0,541 \mu g$ de bore et des quantités variables de D. H. B., en fonction de la durée du chauffage (t_{ch} en min) à 70° . Lampe au xénon : largeur de la bande d'excitation $0,054 \mu^{-1}$ à $2,66 \mu^{-1}$; largeur de la bande de fluorescence $0,073 \mu^{-1}$ à $1,99 \mu^{-1}$.

Les valeurs correspondantes des blancs (v. tableau I) sont faibles et reproductibles. Elles varient très peu avec la durée de chauffage et la concentration du réactif, qui n'est pas fluorescent par lui-même. Ces faits sont donc particulièrement favorables à un dosage fluorimétrique.

Pour avoir une idée de la composition et la stabilité du complexe, nous avons tracé la courbe donnant l'intensité de fluorescence en fonction de τ (durée de chauffage entre 15 et 120 min), pour deux concentrations de bore. Courbe A : $0,541 \mu g$ B/3 ml; courbe B : $0,2164 \mu g$ B/3 ml.

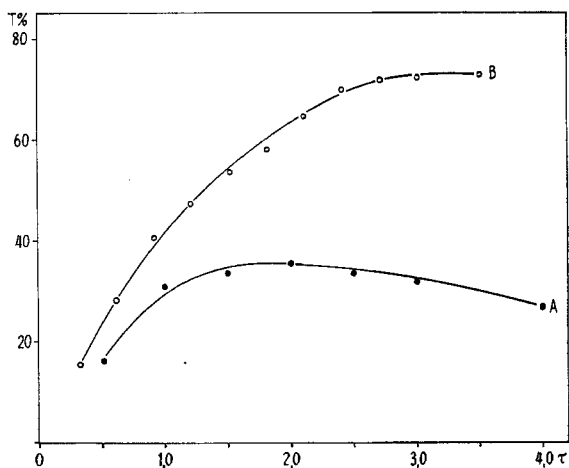
La courbe A ne présente pas de brusques changements, mais on observe un maximum de l'intensité de fluorescence pour $\tau = 2,0$, phénomène qu'on peut attribuer à un effet interne de filtre, dû à l'absorption des radiations excitatrices par le réactif en excès.

Le spectre d'absorption du réactif (fig. 3) présente en effet pour une concentration correspondant à $\tau = 3$ ($0,541 \mu g$ B/3 ml) une forte absorption dans la région du spectre UV. utilisé pour l'excitation des solutions du complexe ($376 m\mu$).

Tableau I. *Intensités des fluorescences des blancs en transmission %*

$t_{ch} \backslash \tau$	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3	4
5	2,1	3	2,8	3,1	2,9	3,7	2,5
15	2,3	3,2	3,5	3,4	3,5	3,5	3,2
30	2,3	3,3	3,6	3,5	3,6	3,7	3,5
45	2,4	3,3	3,7	3,7	3,8	3,8	3,5
60	2,4	3,4	3,7	3,8	3,8	3,8	3,5
90	2,5	3,9	4,0	4,0	4,5	3,9	3,5
120	2,4	3,8	4,0	3,9	4,1	4,1	3,8

$\tau = [D.H.B.]/[BO_3H_3]$
 t_{ch} = durée de chauffage en min

Fig. 2. *Variation de l'intensité de fluorescence en fonction de $\tau = [D.H.B.]/[BO_3H_3]$*

- A: 0,541 μg B/3 ml: largeur de la bande d'excitation 0,054 μ^{-1} à 2,66 μ^{-1}
 largeur de la bande de fluorescence 0,073 μ^{-1} à 1,99 μ^{-1}
- B: 0,2164 μg B/3 ml: largeur de la bande d'excitation 0,071 μ^{-1} à 2,66 μ^{-1}
 largeur de la bande de fluorescence 0,089 μ^{-1} à 1,99 μ^{-1}

Il faut donc diminuer autant que possible la concentration du réactif. Dans ce but nous avons étudié la fluorescence d'une série de solutions renfermant 0,2164 μg de bore/3 ml H_2SO_4 conc. au lieu de 0,541 μg , et des quantités variables de D.H.B.

Après chauffage des solutions durant 30 min dans une étuve à 70°, nous avons mesuré l'émission à 1,99 μ^{-1} (503 m μ). La courbe $T\% = f(\tau)$ qui en résulte (fig. 2, courbe B) ne possède pas de maximum ce qui montre que l'effet de filtre est fortement diminué. L'allure générale montre que le degré de complexation n'est pas élevé. Cette courbe ne permet pas de déterminer la composition du complexe; aussi nous avons eu recours à la méthode des variations continues (JOB).

La courbe $T\% = f([BO_3H_3]/[BO_3H_3] + [D.H.B.])$ (fig. 4) montre sans ambiguïté que le complexe est formé d'une molécule de D.H.B. et d'un reste borique.

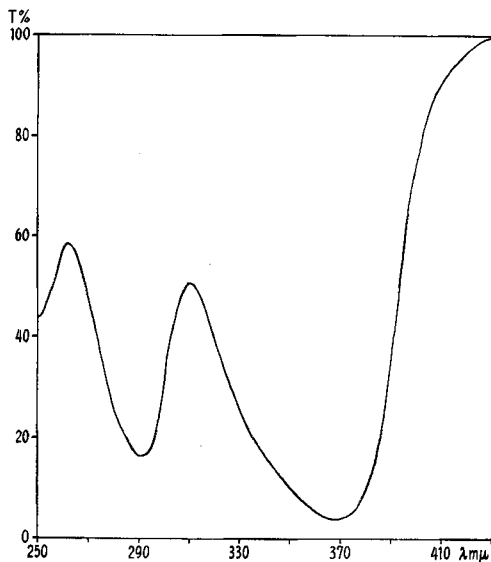


Fig. 3. Spectre d'absorption du réactif (quantité de D. H. B. correspondant à $\tau = 3$)

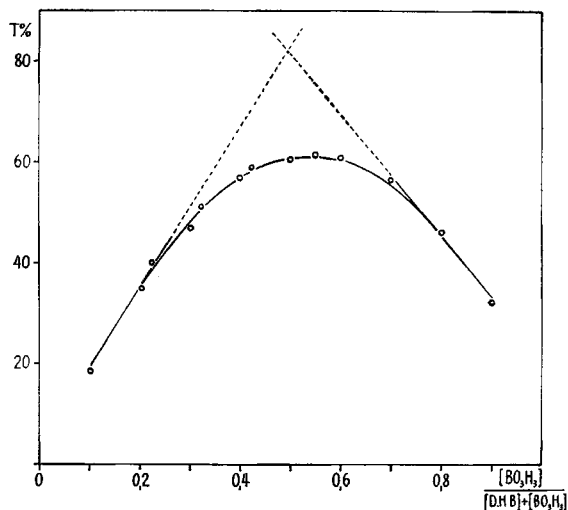


Fig. 4. Courbe de Job

$[\text{BO}_3\text{H}_3]$ $\left\{ \begin{array}{l} 1,666 \cdot 10^{-6} \text{ mole/l (0,0183 } \mu\text{g B/ml) pour l'abscisse 0,1} \\ 1,499 \cdot 10^{-5} \text{ mole/l (0,1623 } \mu\text{g B/ml) pour l'abscisse 0,9} \end{array} \right.$
 $t_{\text{ch}} = 30 \text{ min}$

Largeur de la bande d'excitation $0,071 \mu^{-1}$ à $2,66 \mu^{-1}$
 Largeur de la bande de fluorescence $0,089 \mu^{-1}$ à $1,99 \mu^{-1}$

Les études précédentes nous ont permis de fixer la composition optimum du réactif (voir p. 1980) qui ne doit être ni trop faible (réactions quantitatives) ni trop forte (effet de filtre).

3. Jusqu'à une teneur de 20% d'eau, ni le spectre d'excitation et de fluorescence du complexe, ni sa composition (déterminée par la méthode de JOB) ne sont modifiés. L'eau peut cependant influencer sur l'équilibre $D.H.B. + BO_3H_3 \rightleftharpoons$ complexe, car l'intensité de fluorescence est fonction de la teneur en eau des solutions sulfuriques du complexe (fig. 5). Cette intensité est en effet maximum lorsqu'on forme le complexe en milieu sulfurique concentré. Mais comme dans la pratique on est le plus souvent en présence de solutions aqueuses d'acide borique, nous avons établi les courbes d'étalonnage en milieu sulfurique à 10% d'eau. Remarquons que, bien que l'équilibre ne soit probablement pas complètement déplacé vers la droite, la fluorescence est, dans les limites fixées, rigoureusement proportionnelle à la concentration de bore. Quant à la vitesse de formation du complexe dans ces conditions, on remarque qu'il faut procéder au développement de la fluorescence à 70°. En effet à cette température, après 40 min la fluorescence est indépendante de la durée de chauffage. A première vue il est difficile d'expliquer le mécanisme de formation du complexe à la température ordinaire (fig. 6).

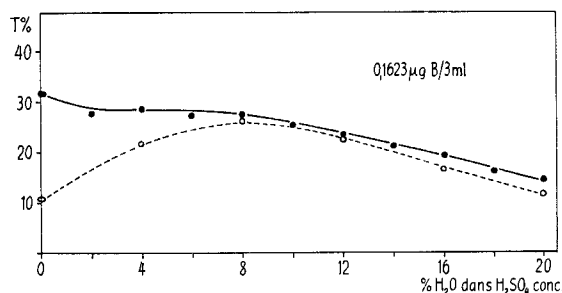


Fig. 5. Variation de l'intensité de fluorescence en fonction de la teneur en eau, de solutions sulfuriques d'acide borique et de D.H.B.

Lampe à Hg, filtre 365 m μ , largeur de la bande de fluorescence: 0,015 μ^{-1} à 1,99 μ^{-1}
30 min à 70° ———; 30 min à la température ordinaire - - - -

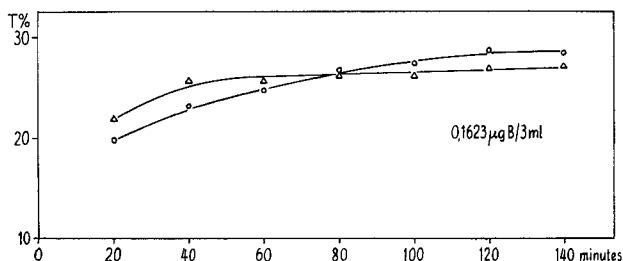


Fig. 6. Variation de l'intensité de la fluorescence de solutions d'acide borique et de D.H.B. en milieu sulfurique à 10% d'eau, en fonction du temps

Δ valeurs obtenues après chauffage à 70° \circ valeurs obtenues à la température ambiante

4. Nous avons recherché l'effet, dans les conditions du dosage du bore, de la D.H.B. sur les éléments suivants (quantité de l'ordre de 1 mg): Rb⁺, Be²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Sc⁶⁺, Th⁴⁺, Ti⁴⁺, Zr⁴⁺, V⁵⁺, Nb⁵⁺, Ta⁵⁺, Cr³⁺, Mo⁶⁺, W⁶⁺, Mn²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Ni²⁺,

Cu^{2+} , Ag^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+} , Sn^{2+} , Pb^{2+} , As^{3+} , Sb^{3+} , Bi^{3+} . Dans les conditions du dosage seul le vanadium V donne une fluorescence bleuâtre qui peut être gênante si la quantité est cent fois plus grande que celle du bore. La D.H.B. est donc un réactif très spécifique du bore. Il est évident que les éléments qui précipitent dans le milieu choisi doivent être éliminés.

Dosage fluorimétrique du bore: mode opératoire. Dans un tube à essai on ajoute à 2 ml d'une solution de 10% d'eau dans l'acide sulfurique renfermant 0,01082 à 0,541 μg de bore, 0,5 ml d'acide sulfurique concentré et 0,5 ml de réactif (v. p. 1980). On homogénéise la solution, chauffe 40 min dans une étuve à 70°, laisse refroidir, introduit la solution dans une cuve de quartz de 1 cm et mesure la transmission à 1,99 μ^{-1} (503 m μ) par rapport à un témoin constitué de 2 ml d'une solution d'acide sulfurique à 10% d'eau + 0,5 ml H_2SO_4 conc. et de 0,5 ml de réactif. L'excitation se fait au moyen du triplet de Hg 2,73 μ^{-1} (filtre 365 m μ).

Au tableau II figurent, à titre d'exemple, les valeurs de deux courbes d'étalonnage établies pour deux largeurs de la bande de fluorescence.

Tableau II. *Courbes d'étalonnage établies pour deux largeurs de la bande de fluorescence*

Largeur de la bande	$\mu\text{g/ml}$	T	S	Sm	$\pm t_{Sm}$	$E\%$
0,015 μ^{-1} à 1,99 μ^{-1}	0,03607	20,3	$\pm 1,02$	$\pm 0,46$	1,27	$\pm 6,26$
	0,07213	40,9	$\pm 1,02$	$\pm 0,46$	1,27	$\pm 3,10$
	0,1082	60,4	$\pm 0,92$	$\pm 0,41$	1,14	$\pm 1,89$
	0,1443	79,8	$\pm 1,77$	$\pm 0,79$	2,19	$\pm 2,74$
	0,1803	96,5*)	$\pm 1,85$	$\pm 0,83$	2,30	$\pm 2,38$
	témoin	9,6				
0,021 μ^{-1} à 1,99 μ^{-1}	0,003607	5,0	$\pm 0,54$	$\pm 0,24$	0,67	$\pm 13,3$
	0,007213	9,7	$\pm 0,66$	$\pm 0,29$	0,82	$\pm 8,44$
	0,01443	19,8	$\pm 0,78$	$\pm 0,35$	0,97	$\pm 4,87$
	0,02164	29,2	$\pm 0,73$	$\pm 0,33$	0,90	$\pm 3,09$
	0,03607	48,4	$\pm 1,09$	$\pm 0,49$	1,35	$\pm 2,79$
	témoin	23,8				

*) valeur faible, effet de filtre

T = transmission par rapport au témoin; moyenne arithmétique de 5 dosages complets effectués en parallèle.

S = écart-type.

Sm = erreur-type (S/\sqrt{N} où N = nombre d'essais)

$\pm t_{Sm}$ = limite de confiance; t (95%) = 2,776 pour quatre degrés de liberté

$E\%$ = erreur relative sur la série considérée (= $100 t_{Sm}/T$)

Remarques. – 1. Le matériel utilisé pour les recrystallisations doit être en quartz et les solvants doivent être de pureté analytique. Les filtres employés sont traités par HCl dilué et rincés à l'eau bidistillée.

2. Les tubes à essai et les pipettes sont nettoyés avec de l'acide nitrique concentré et rincés avec de l'eau bidistillée.

3. Avant chaque mesure de fluorescence, le fluorimètre est calibré à l'aide de l'étalon fluorescent de la Maison ZEISS.

4. Quelques essais effectués sur le fluorimètre EPPENDORF ont donné des résultats satisfaisants, mais la sensibilité est environ 5 fois moins grande.

Nous remercions le FONDS NATIONAL SUISSE, COMMISSION POUR LA SCIENCE ATOMIQUE, grâce auquel nous avons pu entreprendre ce travail.

RÉSUMÉ

La dihydroxy-2,4-benzophénone (D.H.B.) qui donne avec l'acide borique un complexe fluorescent est proposée pour le dosage fluorimétrique du bore. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle à la concentration du bore entre 0,0036 et 0,18 $\mu\text{g/ml}$. Le complexe se forme en milieu sulfurique concentré ou peu dilué. La composition du complexe (1:1) a été établie par la méthode de JOB et l'effet de filtre dû au réactif a été déterminé, ainsi que la vitesse de formation du complexe à deux températures, l'effet de l'eau sur l'intensité de la fluorescence et la reproductibilité des blancs. L'étude statistique montre que dans une prise de 3 ml, on peut doser 0,0036 $\mu\text{g/ml}$ de bore (0,01082 $\mu\text{g}/3$ ml) avec une erreur de $\pm 13\%$ et que pour 0,1803 $\mu\text{g/ml}$ de bore (0,541 $\mu\text{g}/3$ ml) l'erreur est de l'ordre de $\pm 3\%$.

Laboratoires de chimie minérale et analytique
de l'Université de Genève

BIBLIOGRAPHIE

- [1] D. MONNIER, M. MARCANTONATOS, R. FERAUD & W. HAERDI, *Helv.* **46**, 104 (1963);
M. MARCANTONATOS, D. MONNIER & A. MARCANTONATOS, *Helv.* **47**, 706 (1964).

219. Über die Alkylierung von Indazolonen

von J. Schmutz, F. Hunziker und W. Michaelis

(29. VIII. 64)

Die Alkylierung von Indazol (V) ist noch nicht beschrieben worden. Die bisher bekannten N_1 -Alkyl- und Benzyl-Derivate X wurden durch Erhitzen von α -substituierten Phenylhydrazinen mit Harnstoff [1]¹⁾ oder nach STOLLÉ [2] [3] durch thermischen Ringschluss der Carbaminsäure-azide IX synthetisiert, die N_2 -Benzyl-Derivate VII durch Lactamisierung von β -substituierten *o*-Hydrazinobenzoesäuren IV [4]. Am Sauerstoff substituierte Indazol-Derivate VI sind nicht bekannt²⁾.

Die Alkylierung von Indazol (V) lässt die Derivate VI, VII und X sowie disubstituierte Verbindungen erwarten. Die Art der Substitution kann leicht mittels IR.- und UV.-Spektroskopie erkannt werden. Die hierzu geeigneten spektroskopischen Daten sind tabellarisch zusammengestellt.

Indazol (V) [4, 7] liegt im festen Zustand zum grössten Teil in der Lactamform Va vor [8], allerdings scheint das Tautomere Vb in geringem Masse mitbeteiligt [6]. Indazol besitzt keine merklichen basischen, dagegen saure Eigenschaften³⁾.

JANSSEN [6] hat gezeigt, dass die *1*-substituierten *Indazolone* in fester Form in der Lactim-Form X vorliegen: ihr IR.-Spektrum zeigt keine C=O-Bande, wohl aber eine C=N-Absorption. In Lösung scheint die Lactam-Form mitbeteiligt zu

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 1996.

²⁾ Nach Abschluss unseres Manuskriptes wurde die Synthese von 1-Carbäthoxy-2-methyl-indazol und 1-Carbäthoxy-3-methoxy-indazol durch Methylierung von 1-Carbäthoxy-indazol mit Dimethylsulfat bzw. Diazomethan beschrieben [5].

³⁾ $\text{p}K_a^{\text{I}}$ (protoniert): < 2 ; $\text{p}K_a^{\text{II}}$ (deprotoniert): $8,04 \pm 0,02$; (Indazol $\text{p}K_a = 1,3 \pm 2$ [9]).