2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-(*N*-プロピル-*N*-スルホプロピルアミノ)アニリン-鉄(II) 錯体のオゾン酸化脱色反応を用いる水中オゾンの吸光光度定量とフローインジェクション分析

男 成 妥 夫*

(1994 年 3 月 16 日受理)

2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-(*N*-プロピル-*N*-スルホプロピルアミノ)アニリン-Fe(II) 錯体のオゾン酸化脱色反応を応用した水中オゾンの吸光光度定量法とフローインジェクション分析法 (FIA) について検討した。吸光光度法の場合、オゾンの見掛けのモル吸光係数は $3604 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (波長 560 nm) となり、検量線は良好な直線性 (測定回数, 6; 相関係数, 0.999_g; 有意水準, 0.001) を示し、サブ $\text{mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ レベルの水中オゾンを精度よく定量できることが分かった。この場合の検出下限はおおよそ $30 \mu\text{g dm}^{-3}$ であった。FIA の場合は、サブ $\text{mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ レベルの水中オゾンを再現性 (O_3 , 1.47 mg dm^{-3} ; 測定回数, 5; 相対標準偏差, 0.48%) よく、迅速 (およそ 40 h^{-1}) に定量できることが分かった。これらの方法では、自然水中に一般的なレベルで溶存する無機成分は測定に影響しなかった。

1 緒 言

オゾンは酸化力が極めて強く、種々の有機物や無機物の酸化分解及び細菌類やウイルス類等の殺菌等に有用である。こうしたことからオゾンは飲料水や工業用排水の処理等の目的で、広く水処理に用いられつつある。オゾンを用いて水処理を行う場合、オゾンの効果的な利用を図るためには水中オゾン濃度を把握することが必要で、オゾンを簡便迅速に定量しなければならない。しかし、オゾンは常温ではガスであり、自己分解を起こしやすくその反応が熱、光、水、アルカリ等によって促進されることなどからその精度の高い定量は容易であるとは言えない。従来オゾンはヨードメトリーや紫外吸光度法により定量されてきたが、これらの方法を用いる場合、滴定に多くの時間と労力を要したり妨害物が多く感度が高くないなどの問題点を有している。これらのことから、水中オゾンを簡便迅速に測定することのできる新しい定量法が望まれる。

オゾンは酸化力が強く、水中で着色成分を酸化して容

易に脱色することから、こうした反応を応用した水中オゾンの測定法が知られている^{1)~3)}。著者はオゾンによる二価の鉄の酸化反応が極めて速い⁴⁾ことに注目し、二価の鉄と二価もしくは三価の鉄のうちのいずれかの一方のみと錯生成を行う金属指示薬とが共存する水溶液にオゾンを含む試料溶液を加えると、二価の鉄が選択的にオゾン酸化され脱色もしくは発色が生じることを応用した水中オゾンの定量法について検討している⁵⁾。本法では、新たに二価の鉄の高感度比色定量試薬として知られる、2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-(*N*-プロピル-*N*-スルホプロピルアミノ)アニリン (5-Br-PSAA)-Fe(II) 錯体⁶⁾⁷⁾のオゾン酸化脱色反応を応用した、水中オゾンの簡便で迅速な吸光光度定量法とそのフローインジェクション分析 (FIA) への応用について検討した。

2 実 験

2・1 試 薬

用いた 5-Br-PSAA は市販品 (同仁化学研究所製) である。5-Br-PSAA は水溶液中でアミノ基に由来するプロトン解離平衡が存在する。そこで、そのプロトン解離定数を分光法によって求めたところ、 pK_a 6.1 $\pm$ 0.1

* 三重県工業技術センター: 514 三重県津市高茶屋小森町大塚 3485

強度 0.2 (KNO₃); 温度 21°C) となり, 文献値⁶⁾と良い一致を示し指示薬としての純度 (モル吸光係数の測定値から求めた純度は 91% である) は良好と判断されたのでそのまま実験に供した. 又, 硫酸第一鉄 (七水和物), 塩酸及びエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) はいずれも市販特級品を用いた.

2・2 試薬溶液の調製

2・2・1 吸光光度定量用試薬溶液の調製 5-Br-PSAA は Fe(II) 以外にも酸性域で Ni(II), Cu(II) 及び Co(III) と錯生成を行うことが知られている⁶⁾⁷⁾. 又, 水中オゾンは溶液の pH が高くなると自己分解速度が速くなる⁸⁾ので, そのために測定誤差を生じることとなる. これらのことから, 試薬溶液を HCl でおよそ pH 3 とすることによりオゾンの自己分解や Ni(II) の影響を抑制することにした. 又, pH 3 付近でも Cu(II) や Co(III) は 5-Br-PSAA と錯生成が可能であるため, もしもこれらの金属イオン類が試料中に溶存した場合には誤差要因となる. そこで, Cu(II) や Co(III) のマスキングの目的で試薬溶液に EDTA を共存させることにした. 試薬溶液の組成は, 上述のことを考慮して以下のとおりとした. 5-Br-PSAA, 1.826×10^{-6} mol dm⁻³; Fe(II), 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; HCl, 1.0×10^{-3} mol dm⁻³; EDTA, 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; pH 3.07.

2・2・2 FIA 用試薬溶液の調製 吸光光度定量時の 5-Br-PSAA-Fe(II) の濃度と同一の濃度を用いるとバックグラウンドの吸収が高いため, 感度を上げて測定することが難しくなる. そこで, 吸光光度定量用試薬溶液の場合よりも 5-Br-PSAA-Fe(II) 濃度を下げることにし, 以下の組成からなる試薬溶液を用いた. 5-Br-PSAA, 8.8×10^{-7} mol dm⁻³; Fe(II), 8.8×10^{-7} mol dm⁻³; HCl, 1.0×10^{-3} mol dm⁻³; EDTA, 2.0×10^{-5} mol dm⁻³; pH 3.01.

2・3 実験操作

2・3・1 吸光光度定量 試験管に試薬溶液を 2 cm³ ずつ採る. この試薬溶液に各々 2 cm³ の試料溶液を加え混合し反応させる. ほぼ瞬時に 5-Br-PSAA-Fe(II) 錯体の酸化脱色が生じるので, 直ちにこの溶液の可視吸収スペクトル (410~620 nm) を分光光度計 (日立 323 型自記分光光度計) により水を対照とし室温下光路長 10 mm の石英セルを用いて測定する.

2・3・2 FIA 実験に用いた FIA の流路系を Fig. 1 に示す. 試薬溶液の送液にはガスクロ工業製 MPD-3G 型プランジャーポンプを, 試料溶液の送液に

Fig. 1 Schematic flow diagram of FIA

RS: reagent solution ($1.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$); S: sample solution ($2.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$); P₁: plunger pump (RS); P₂: peristaltic pump (S); DC: damper coil; SV: six-way valve (sample volume: 66 μl); RC: reaction coil (0.5 mm i.d. teflon Tubing, 100 cm); D: detector (spectrophotometer, at 580 nm); R: recorder

は東京理化機械製 MP-3 型ペリスタ式ポンプを用いた. 試料溶液 66 μl を, 試薬溶液の流れの中に六方バルブを用いてパルスのように注入する. 試料溶液は反応コイル (内径 0.5 mm のテフロンチューブ) を流れる間に 5-Br-PSAA-Fe(II) 溶液と混合され酸化脱色反応が生じる. この変化を分光光度計 (日本分光 UVIDECE-100 型, 光路長 10 mm) を用い 560 nm の吸光度で連続的に測定し記録する.

3 結果と考察

3・1 可視吸収スペクトル変化

5-Br-PSAA-Fe(II) のオゾン酸化脱色反応に伴い, どのようにその可視吸収スペクトルが変化するかについて検討するため, 2 cm³ の吸光光度定量用試薬溶液に段階的に濃度の異なるオゾン水溶液 2 cm³ を加え, その溶液の可視吸収スペクトルを測定した結果を Fig. 2 に示す. この図の結果から分かるように測定試料中のオゾン濃度が高いほど, 可視吸収スペクトルの吸光度は全体的により大きく低下した. しかし, この場合吸収極大波長のシフトは見られなかった. 以上のことから, 吸収極大波長 (560 nm) における吸光度の減少量を用いてオゾンの定量が可能であると判断された.

3・2 吸光光度定量

3・2・1 検量線 同一サンプルについてヨードメトリーと 5-Br-PSAA-Fe(II) による吸光光度法とによってオゾン濃度を測定し, ヨードメトリーによって求められたオゾン濃度に対して, 5-Br-PSAA-Fe(II) 錯体の吸収極大波長 (λ_{max} : 560 nm) における吸光度の減少量 (ΔA_{560}) をプロットし, 検量線を作成した. その結果検量線は良好な直線性 ($\Delta A_{560} = 2.81 \times 10^{-5} + 3.75 \times$

Fig. 2 Visible spectral change of 5-Br-PSAA-Fe(II) complex with ozone oxidation

1, $O_3 = 0 \text{ mg dm}^{-3}$; 2, $O_3 = 1.91 \text{ mg dm}^{-3}$; 3, $O_3 = 2.52 \text{ mg dm}^{-3}$; 4, $O_3 = 3.02 \text{ mg dm}^{-3}$; 5, $O_3 = 3.66 \text{ mg dm}^{-3}$; 6, $O_3 = 4.50 \text{ mg dm}^{-3}$; 7, $O_3 = 4.88 \text{ mg dm}^{-3}$

$10^{-2}[O_3]$, 測定回数, 6; 相関係数, 0.999₈; 有意水準, 0.001)を示した. この場合のオゾンの見掛けのモル吸光係数(添加されたオゾン 1 mol dm^{-3} 当たりの吸光度の減少量)は $3604 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, はん用の分光光度計を用いた場合の検出下限はおおよそ $30 \mu\text{g dm}^{-3}$ で, サブ $\text{mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ レベルのオゾンの簡便で迅速な定量が可能なが分かった.

3・2・2 実試料への適用 残留塩素を除去した後の水道水 {硬度 (CaCO_3 として) $\leq 50.83 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Cl}^- \leq 9.7 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{NO}_3^- \leq 4.1 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{SO}_4^{2-} \leq 25.6 \text{ mg dm}^{-3}$ } にオゾンを注入し, そのオゾン濃度をヨードメトリーと本法とにより測定した. 二つの方法によって得られた測定結果は実験誤差(約 2.5%)範囲内で良い一致を示し, 本法による水中オゾンの測定値が, 一般の飲料水中に溶存するレベルの無機成分によっては影響を受けないことが分かった. 本法は負のピークを測定する方法であるため, ダイナミックレンジにはおのずと制約があるが, 試薬の濃度, 測定セルの光路長等を選択することによりこの問題をクリアすることは容易で, 実際の水処理において用いられるサブ $\text{mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ レベルの水中オゾンの簡便な定量法として有用であると考えられる. 本法の特長は, オゾンの自己分解速度が極めて小さい pH 3.0 程度の低 pH の試薬溶液を用いても, 定量操作に必要な酸化脱色反応はほとんど瞬時に完了することから, 脱色反応中におけるオゾンの自己分解による誤差を生じるおそれがないことと, 分析が迅速に行えることである.

3・3 FIA

5-Br-PSAA-Fe(II) のオゾン酸化脱色を応用した水中

オゾンの吸光度定量法が有用なが分かったので, この方法に基づき更に迅速な水中オゾンの定量を行うため FIA について検討した. オゾン分析時の測定誤差の主要な要因は, オゾンが常温ではガス状態であること及び自己分解しやすいことなどの性質を有するため, 試料採取時にオゾンの揮発が生じたり, 試料溶液を採取してから試薬溶液と混合するまでのタイムラグの間にオゾンが自己分解を生じるなどのことにより, 水中オゾンの濃度が減少することにあるが, FIA を用いると吸光度定量法に比べ単に測定回数が多くなるだけでなく, 測定試料が密閉された細管を通り迅速に採取され試薬溶液中に注入されることから, 試料採取操作時の揮発や自己分解などに基づく誤差を抑制することが可能な点で優れている.

3・3・1 試薬溶液の組成の影響 試薬溶液の組成の影響について, 反応コイル長: 300 cm , 試薬溶液の流量: $1.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ の条件下で検討した. 試薬溶液を $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ の HCl 酸性溶液 (pH 3.0) から $2 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ の $\text{H}_3\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 中性溶液 (pH 7.0) に変えたところ感度は大きく低下し(検量線の傾きでみると 87.4% 低下), 測定回数もピーク幅の増大のため 31 h^{-1} から 18 h^{-1} に減少した. 試薬溶液の 5-Br-PSAA : Fe(II) 比を 1 : 1 から 2 : 1 (この場合 5-Br-PSAA の濃度は前者で $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$, 後者では $1.76 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ であり, Fe(II) の濃度は双方共 $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ であった)に変化させたと, 感度が増大し(検量線の傾きでみると 57.3% 増大), 測定回数も 31 h^{-1} から 40 h^{-1} に増大した. しかし, 後者では検量線が原点を通る直線とならなかった. 試薬溶液の 5-Br-PSAA : Fe(II) 比を 1 : 1 とし, これらの試薬の濃度をいずれも $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ から $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ に増大させたと, 感度はやや増大し, 測定回数も 31 h^{-1} から 35 h^{-1} に増大した. 以上のことから, 試薬溶液は HCl 酸性溶液 (pH 3.0) とするほうが高い感度を得るうえでも有利である. 又, 5-Br-PSAA : Fe(II) 比は 1 : 1 が適当であると考えられる.

3・3・2 試薬溶液の流量の影響 試薬溶液の流量の影響について, 試薬溶液: 5-Br-PSAA, $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$; Fe(II), $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$; HCl, $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$; EDTA, $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, 反応コイル長: 200 cm の条件下で $1 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ から $2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ の範囲で調べた. その結果, 感度はあまり変化しなかったが, 測定回数は流量の増大とともに 33 h^{-1} から 60 h^{-1} に増大した. これらのことから試薬溶液の流量は $1.5 \sim 2.0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ が適当であると考えられる.

Fig. 3 Effect of reaction coil length

1, 50 cm (sampling rate, 54 samples h^{-1}); 2, 100 cm (sampling rate, 40 samples h^{-1}), peak height (mm) = $1.00 + 10.19[\text{O}_3]$, $n=5$, $r=0.996$, $a=0.001$; 3, 200 cm (sampling rate, 37 samples h^{-1}), peak height (mm) = $-6.64 + 11.13[\text{O}_3]$, $n=7$, $r=0.999$, $a=0.001$; 4, 300 cm (sampling rate, 31 samples h^{-1}), peak height (mm) = $-3.86 + 8.64[\text{O}_3]$, $n=7$, $r=0.998$, $a=0.001$.

3・3・3 反応コイル長の影響 反応コイル長の影響について、試薬溶液: 5-Br-PSAA, $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$; Fe(II), $8.8 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$; HCl, $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$; EDTA, $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, 試薬溶液の流量: $1.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ の条件下で 50 cm から 300 cm の範囲で検討した。その結果を Fig. 3 に示す。この図から分かるように反応コイル長があまり長くなると、検量線は原点を通る直線でなくなり、測定回数も反応コイル長に伴い 54 h^{-1} (50 cm) から 31 h^{-1} (300 cm) に低下する。しかし、逆にあまり反応コイル長が短くなると、反応コイル中でのサンプルゾーンの分散度が小さくなるため検出上限値が小さくなる。これらのことから反応コイル長は 100 cm 程度が適当であると考えられる。

3・3・4 測定条件と測定精度 以上の実験結果より、FIA の測定条件は以下のとおりとした。試薬溶液, 2・2・2 に示す組成; 試薬溶液の流量, $1.5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$; 反応コイル長, 100 cm. この条件下でのサンプルゾーンの分散度 (D) は 1.9 で、測定回数は 40 h^{-1} であった。検量線は直線部分では Fig. 3 に示すように

Fig. 4 Typical FIA signals for O_3
Concn. of O_3 : 1.47 mg dm^{-3} ; n : 5; RSD: 0.48%

良好な直線性を示した。得られたシグナルの例を Fig. 4 に示す。この図から分かるように、シグナルの繰り返し精度は良好 (O_3 , 1.47 mg dm^{-3} ; 測定回数, 5; 相対標準偏差, 0.48%) であった。

3・3・5 実試料への適用 残留塩素を除去した後の水道水 (溶存する無機成分の濃度は 3・2・2 に示すとおりである) にオゾン注入し、そのオゾン濃度をヨードメトリーと本法とにより測定した。その結果、本法による水中オゾンの測定値が、一般の飲料水中に溶存するレベルの無機成分によって影響を受けないことが分かった。本法は負のピークを測定する方法であるため、ダイナミックレンジは制約を受けるが、試薬の濃度、フローセルの光路長、反応コイル長、反応溶液の流量等を選択することにより、この問題をクリアすることは容易で、実際の水処理において用いられるサブ mg dm^{-3} ~ mg dm^{-3} レベルの水中オゾンの迅速な定量法として有用であると考えられる。

文 献

- 1) H. Barder, J. Hoigne: *Water Res.*, **15**, 449 (1981).
- 2) W. J. Masschelein, G. Fransalet: *J. Am. Water Works Assoc.*, **69**, 461 (1977).
- 3) 男成妥夫: *Chem. Express*, **4**, 369 (1989).
- 4) T. C. Yang, W. C. Neely: *Anal. Chem.*, **58**, 1551 (1986).
- 5) Y. Onari: *Anal. Sci.*, **7** (suppl.), 305 (1991).
- 6) D. Horiguchi, M. Saito, T. Imamura, K. Kina: *Anal. Chim. Acta*, **151**, 457 (1983).
- 7) T. Makino: *Clin. Chim. Acta*, **185**, 7 (1989).
- 8) Y. Onari: *Anal. Sci.*, **4**, 645 (1988).

Spectrophotometric determination and FIA of aqueous ozone based on the ozone decoloration reaction of 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(*N*-propyl-*N*-sulfopropyl-amino)aniline-Iron(II) complex. Yasuo ONARI (Mie Industrial Research Institute, Takajayakomori-cho, Tsu-shi, Mie 514)

The spectrophotometric and the flow injection determination of aqueous ozone based on the oxidation reaction of 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(*N*-propyl-*N*-sulfopropylamino)aniline-Fe(II) complex with ozone were examined. The results of the spectrophotometric technique are as follows. The apparent molar absorptivity for ozone added at $\lambda_{\max}$ 560 nm was $3604 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The calibration curve showed good linearity (number of samples, 6; correlation coefficient, 0.9998; significant level, 0.001), and rapid determinations of $\text{sub mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ levels of aqueous ozone were achieved. The detection limit of this method was about $30 \mu\text{g dm}^{-3} \text{ O}_3$. The results of the FIA were as given below. The reproducibility of the FIA signal (O_3 , 1.47 mg dm^{-3} ; number of samples, 5; RSD, 0.48%) was good, and determinations of $\text{sub mg dm}^{-3} \sim \text{mg dm}^{-3}$ levels of aqueous ozone were achieved at a sampling frequency of about 40 samples h^{-1} . Aqueous solutes in usual drinking water {Hardness(as CaCO_3) $\leq 50.83 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Cl}^- \leq 9.7 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{NO}_3^- \leq 4.1 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{SO}_4^{2-} \leq 25.6 \text{ mg dm}^{-3}$ } were shown not to interfere with the ozone determinations by these methods.

(Received March 16, 1994)

Keyword phrases

spectrophotometric determination of ozone; FIA of ozone; 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(*N*-propyl-*N*-sulfopropylamino)aniline-Fe(II) complex reagent; aqueous ozone.