報 文

イオンクロマトグラフィーによる有機化合物中の微量
リンの定量長 島 潜^{®*}, 窪山 和男^{*}

Microdetermination of phosphorus in organic compounds by ion chromatography

Hisomu NAGASHIMA^{*} and Kazuo KUBOYAMA^{**}^{*} Product Development Laboratories, Sankyo Co., Ltd., 1-2-58, Hiromachi, Shinagawa-ku, Tokyo 140^{**} Institute of Science and Technology, Inc., 3-10-2, Kitashinagawa, Shinagawa-ku, Tokyo 140

(Received 15 May 1996, Accepted 20 June 1996)

A modified ion chromatographic (IC) microdetermination of phosphorus in organic compounds was developed. The recoveries of phosphorus (measured as PO_4^{3-}) by the conventional flask combustion method were rather low and dispersed, 47~98% (4 compounds), when dilute aqueous hydrogen peroxide was used as an absorbing solution for collecting the combustion products, probably due to the production of phosphorus-containing anions other than phosphate. The IC method was applied to separate the polyphosphate components collected in the combustion solution, demonstrating the presence of orthophosphate (PO_4^{3-}), pyrophosphate ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) and tripolyphosphate ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$). Boiling of the combustion sample solution in the presence of dilute sulfuric acid on a hot plate (200°C) for 20 min was shown to convert all the phosphorus-containing anion species to orthophosphate. The simultaneous microdetermination of chlorine, bromine, sulfur and phosphorus in organic compounds was achieved by incorporating this post-combustion hydrolysis step into the conventional procedure. The analytical values thus obtained were in good agreement, within $\pm 0.3\%$, with the theoretical values for four compounds tested.

Keywords : ion chromatography; conductometric detector; microdetermination of organic phosphorus; separation of polyphosphates; oxygen flask combustion.

1 緒 言

近年、有機元素分析の分野においても、既に自動化された炭素、水素及び窒素の同時分析法と同様の手軽さで、ハロゲンや硫黄などヘテロ原子を含む試料の一斉分析法が広く要望されている。著者らは先に、酸素フラスコ燃焼法とイオンクロマトグラフィー（以下 IC と略

記）とを組み合わせ、有機化合物のヨウ素を除く 3 種ハロゲンと硫黄¹⁾及び 4 種ハロゲンと硫黄²⁾の一斉分析法を報告した。しかし、有機化合物のリンについてはフラスコ燃焼法の条件下でオルトリン酸に定量的に変換されないため、IC による日常的な分析法はかなり困難とされている。最近、前処理法と分析法とを系統化し、同一操作内での簡便な方法が望まれていることから、有機リンについても二、三の検討報告が見られる。試料に過酸化ナトリウムを加え Parr ボンベ中で加熱分解し、電気透析によりナトリウムを除去した後 IC による測定³⁾、フラスコ燃焼法の吸収液に過酸化水素を加えて加

^{*} 三共(株)第一生産技術研究所: 140 東京都品川区広町 1-2-58

^{**} (株) 科学技術研究所: 140 東京都品川区北品川 3-10-2

熱、加水分解した後 IC による測定⁴⁾⁵⁾及びフローインジェクション法⁶⁾等が報告されている。

本報では、まず酸素フラスコ燃焼法による有機リン由来の分解生成物を明らかにした。次いで、燃焼過程で生じたポリリン酸をオルトリン酸へ変換するため、フラスコ燃焼後の試料溶液に硫酸を加えて加熱し、その加水分解条件を検討した。又、硫酸を用いて加水分解することから、高濃度硫酸溶液中に存在する少量のリン酸を精度よく、かつ長期にわたり測定することとなるため、両者の分離能並びにカラムの耐久性が要求される。そこで、基材にエステル構造を持たないポリビニルアルコール系カラムを用いて、有機リンと併せて同一化合物中に含有する塩素、臭素及び硫黄の一斉分析を行った。その結果、有機元素分析法として満足できる結果を得たので報告する。

2 実 験

2.1 装 置

イオンクロマトグラフは、東亜電波製 ICA-5200 型イオンクロマトグラフ、カラム恒温槽に同社製 ICA-3052 型恒温槽、分離カラムに横河アナリティカルシステムズ製 Excelpak ICS-A23 を、サプレッサーに Dionex 製陰イオンマイクロメンブランサプレッサー (AMMS) 及び日立製作所製 D-2500 型データ処理装置を用いて構成した。又、電子はかりは Mettler 製 ME-22 型を、酸素燃焼フラスコには白金製バスケットの付いた 500 ml パイレックス製フラスコを用いた⁷⁾。

2.2 試薬類

移動相に用いる炭酸ナトリウム及び炭酸水素ナトリウム溶液は、和光純薬製特級品より 1 M 溶液を調製し、適当な濃度に希釈して使用した。又、水は日本ミリポア製の Milli Q-II により精製した。

標準試料溶液 (Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-}) 及びポリリン酸溶液 ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$) はいずれも和光純薬製特級品のナトリウム又はカリウム塩を用いて調製した。又、濾紙は東洋濾紙 No. 7 を用い、その他の試薬も市販特級品を使用した。分析試料には元素分析用標準品 (キシダ化学製) 及び自製試料を用いた。

2.3 定量操作

試料 2~8 mg を無灰濾紙に包み、水 15 ml 及び 1% 過酸化水素水 100 μl を加えた 500 ml 燃焼フラスコ中で燃焼及び吸収を行った。吸収後、25 ml 容のメスフラスコに移し水で定容とした後、①同液の一部を直接 IC に

Fig. 1 Ion chromatogram of standard mixture
Ion ($\mu\text{g/ml}$): 1) F^- (2.5); 2) Cl^- (5.0); 3) NO_2^- (7.5); 4) Br^- (10); 5) NO_3^- (10); 6) HPO_4^{2-} (15); 7) SO_4^{2-} (15); 8) I^- (25)

Table 1 Operating conditions for ion chromatography

Column	Excelpak ICS-A23 (4.6 mm i.d. $\times$ 7.5 cm, Yokogawa Analytical Systems)			
Eluent	3 mM Na_2CO_3 solution			
Column temperature	32°C			
Flow rate	1.2 ml/min			
Injection volume	50 μl			
Suppressor	Anion	micro	membrane	suppressor (AMMS)
Scavenger	12.5 mM H_2SO_4 solution			
Detection	conductivity			

導入し、有機塩素、臭素及び硫黄の定量を行った。②次いで同液より 5.0 ml を 25 ml の三角フラスコに採り、0.1 M 硫酸 0.2 ml を加えてホットプレート (約 200°C) 上で乾固寸前まで濃縮し、更に水 5 ml を加えて計約 20

Table 2 Precision in ion chromatographic analysis determined from peak area

Anion	Concentration/ $\mu\text{g ml}^{-1}$	Linearity ($r=6$)	Reproducibility		
			$\mu\text{g ml}^{-1}$	Peak area	RSD, %
a) Aqueous solution					
Cl^{-}	2.0-20	0.9999	10	3686	0.31
Br^{-}	2.5-25	0.9998	20	3352	0.37
SO_4^{2-}	2.5-25	0.9999	20	5259	0.28
HPO_4^{2-}	5.0-50	0.9998	40	3981	0.47
b) 4 mM H_2SO_4 solution					
HPO_4^{2-}	5.0-50	0.9994	40	3885	0.76

分間加熱した。冷後, 5 ml 容メスフラスコに移して水で定容とした後, その一部を IC に導入し, 有機リンの定量を行った。なお, 計算は分離された各イオンのピーク面積とあらかじめ既知濃度の標準液より, 最小二乗法に基づき作成された検量線から試料中の各イオン (各元素) の含量を求めた。本法の IC 測定条件を Table 1 に, 標準溶液のクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

3 結果及び考察

3・1 IC による各イオンの分析精度

本報では有機リンと併せて有機塩素, 臭素及び硫黄の一斉分析を行うため, 標準液としてリン酸水素イオンのほかに塩化物, 臭化物及び硫酸イオンについても検討した。塩化物イオンでは 2, 4, 8, 12, 16 及び 20 $\mu\text{g/ml}$, 臭化物及び硫酸イオンでは 2. 5, 5, 10, 15, 20 及び 25 $\mu\text{g/ml}$, 又リン酸水素イオンでは 5, 10, 20, 30, 40 及び 50 $\mu\text{g/ml}$ を含む標準溶液を調製し, 検量線の直線性 (相関係数) 並びに一定濃度溶液の繰り返し注入による再現性 (相対標準偏差) を調べた。又, リン酸水素イオンについては実試料と同一条件にするため 5 ml 容に対して 0.1 M 硫酸 0.2 ml を添加し (終濃度: 4 mM 硫酸), 同様に測定した。ピーク面積法により得られた結果を Table 2 に示す。なお, 定量限界 ($S/N=10$) は, 塩化物イオン 0.02, 臭化物イオン 0.04, リン酸水素イオン 0.15, 又硫酸イオンでは 0.08 $\mu\text{g/ml}$ であった。

イオン種によってかなり感度は異なるが, 検量線の相関係数 (r) はいずれも 0.999 以上を示し, 繰り返し注入による相対標準偏差 (RSD, %) も純水溶液では 0.2~0.5% ($n=10$) を示した。しかし, 硫酸溶液中のリン酸水素イオンでは, RSD は 0.8% ($n=10$) と若干高い値を示し, 一定濃度溶液のピーク面積値も純水溶液に比較して 97.6% と, 感度的にも低下した。このことから標準溶液には, 有機塩素, 臭素及び硫黄の定量にはそ

れぞれ対応するイオン種の純水溶液を, 又有機リンには対応するイオンの 4 mM 硫酸溶液を用いることとした。

3・2 酸素フラスコ燃焼法による燃焼生成物

フラスコ燃焼法の条件下ではオルトリン酸のほかにポリリン酸を生成すると言われているが⁵⁾, 不明な点が多いためその組成について検討した。ポリリン酸 ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ 等) の分離が可能な Dionex 製の HPIC-AG11 カラムと AS11 カラムを用いて, 40 mM 水酸化ナトリウムを移動相として溶出した。試料として, 標準的なトリフェニルホスフィンのほかに, ビタミン B_1 誘導体で難燃性のベンフォチアミンを用いて, 前述のフラスコ燃焼法により処理し, IC により測定した。そのときの測定条件及びクロマトグラムを Fig. 2 に示す。又, クロマトグラム上オルトリン酸のほかにピロリン酸及びトリポリリン酸が検出されることから, 各々の標品を用いて生成量を求め, 結果を Table 3 に示す。化合物によってオルトリン酸の生成量は大きく異なるが, 2 種のポリリン酸をオルトリン酸量に換算して加算すると両化合物ともほぼ 100% となり, 燃焼生成物の組成を明らかにすることができた。

3・3 オルトリン酸への加水分解

ポリリン酸は通常の IC 条件では測定困難なため, オルトリン酸に加水分解する必要がある。そこで, ピロリン酸とトリポリリン酸の標準液を調製し, 作製直後の溶液について加水分解条件を検討した。リンとして 100 μg を含むポリリン酸水溶液 5 ml を採り, 0.1 M 硫酸 0~0.5 ml を加えてホットプレート上で前述の操作法に従って加熱処理を行った。冷後, 水で 5 ml 定容とした後, その一部を IC に注入した。結果は, Fig. 3 に示すように 0.1 M 硫酸 0.2 ml 以上加えればほぼ定量的にオ

Table 3 Determination of several phosphorus-containing oxyanions produced from organic compounds by oxygen flask combustion

	Calcd., %	Phosphorus, Found, %			
		PO_4^{2-}	$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$	$\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$	Total
a) Triphenylphosphine	11.81 (100)	10.92 (92.5)	0.76 (6.4)	0.12 (1.0)	11.80 (99.9)
b) Benfothiamine	6.44 (100)	3.13 (47.1)	2.19 (33.0)	1.43 (21.5)	6.75 (101.6)

Average of three determinations, sample size: 4~7 mg. Chromatographic conditions were the same as those in Fig. 2

Fig. 2 Ion chromatograms of combustion solutions obtained from organic phosphorus compounds

Sample: a) triphenylphosphine (5.25 mg), b) benfothiamine (6.01 mg)

Peaks: 1) HPO_4^{2-} ; 2) $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$; 3) $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$; 4) SO_4^{2-}

Ion chromatographic conditions: column, Ion Pac AG 11 (4×50 mm) and Ion Pac AS 11 (4×200 mm, Dionex); eluent, 40 mM NaOH; flow rate, 1.5 ml/min; suppressor, AMMS; detection, conductivity

ルトリン酸に変換されることが分かった。なお、ピロリン酸の場合、厳密には 100% に達していないが、その理由としてナトリウム塩の水和物を用いたため、ひょう

Fig. 3 Effect of the amount of sulfuric acid on the hydrolysis of polyphosphates

1) $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ solution; 2) $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ solution.

Phosphorus (P) concentration: 100 $\mu\text{g}/5\text{ ml}$; Hydrolysis: boiling for 20 min on a hot plate (200°C)

Table 4 Effect of strong acids on the determination of phosphorus after oxygen flask combustion

Acid	Sample, Benfothiamine		
	a) Calcd., %	b) Found, %	c) b/a × 100
Direct (non addition)	6.64	3.12	47.0
0.1 M HCl, 0.2 ml		5.68	85.5
0.1 M HNO ₃ , 0.2 ml		5.90	88.9
0.1 M HClO ₄ , 0.2 ml		6.56	98.8
0.1 M H ₂ SO ₄ , 0.2 ml		6.61	99.5

Sample: 6~7 mg/25 ml, $n=2$

Table 5 Simultaneous determination of phosphorus, chlorine, bromine and sulfur in organic compounds by oxygen flask combustion-ion chromatography

Sample	Calcd., %	Found ¹⁾ , %	
		Direct injection	After hydrolysis
a) Triphenylphosphine	P 11.81	10.92 (92.5%)	11.76 (99.6%)
b) Benfothiamine	P 6.68	3.12 (47.0%)	6.61 (99.5%)
	S 6.87	6.61	
c) Allyltriphenyl phosphonium bromide	P 8.08	7.08 (87.6%)	8.09 (100.1%)
	Br 20.85	20.82	
d) CCDP ²⁾	P 10.13	9.43 (93.1%)	10.13 (100.0%)
	Cl 11.06	11.15	
	S 10.49	10.46	

¹⁾ Average of three determinations, sample size 3 ~ 8 mg. ²⁾ CCDP: *o*-2-chloro-4-cyanophenyl-*o*,*o*-diethyl phosphorothioate. ³⁾ a), C₁₈H₁₅P; b), C₁₉H₂₃N₄O₆PS; c), C₂₁H₂₀PBr; d), C₁₁H₁₃NO₃PSCl

Fig. 4 Ion chromatograms of combustion solutions obtained from benfothiamine (6.87 mg)

a): before hydrolysis; b): after hydrolysis by boiling on a hot plate (200°C) for 20 min; Peaks: 1) Cl⁻; 2) NO₂⁻; 3) NO₃⁻; 4) HPO₄²⁻; 5) SO₄²⁻

Fig. 5 Ion chromatograms of combustion solutions obtained from allyltriphenylphosphonium bromide (4.48 mg)

a): before hydrolysis; b): after hydrolysis by boiling on a hot plate (200°C) for 20 min; Peaks: 1) Cl⁻; 2) Br⁻; 3) NO₃⁻; 4) HPO₄²⁻; 5) SO₄²⁻

量の際に吸湿したものと思われる。又、加水分解助剤の効果を実試料について確認するため、硫酸のほか同一モル濃度の塩酸、硝酸及び過塩素酸を用いて、最も難燃性のベンフォチアミンを燃焼した後、前述の方法により加水分解を行いオルトリン酸の生成率を調べた (Table

4)。その結果、無添加の生成率が 47% であったのに対し、塩酸及び硝酸では 85~90% を、又過塩素酸及び硫酸ではほぼ 100% の生成率を示し、強酸添加による加水分解法は実試料にもそのまま適用することができた。しかし、過塩素酸添加では定量的に変換されるものの、

過塩素酸イオンの溶離に 40~50 分と 1 検体当たりの分析に時間を要することから除外し、硫酸添加による加水分解法を採用した。

3・4 有機化合物中のリン、塩素、臭素及び硫黄の定量結果

化合物として、前述のトリフェニルホスフィン(a)、分子内にリンと硫黄を含むベンゾチアミン(b)、トリフェニルホスフィンの誘導体でリンと臭素の共含有物(c)及びパラチオン系の誘導体でリン、塩素及び硫黄を含む化合物(d)の計4種を用いて各元素の定量を行った。分析結果をTable 5に示す。又、(b)及び(c)試料をフラスコ燃焼法により処理し、加水分解前及び硫酸添加、加水分解後に得られたクロマトグラムをFig. 4, 5に示す。加水分解前の吸収液を直接注入したとき、4化合物(a~d)のオルトリン酸生成率はそれぞれ94, 47, 88及び93%となり、化合物の形態によって異なる結果を示した。いずれの化合物も硫酸添加、加熱処理により生成率は98%以上に上昇し、有機リンの定量結果(絶対値)は有機元素分析の許容誤差(0.3%)以内で測定できることが分かった。又、同一分子中に存在する塩素、臭素及び硫黄についても、フラスコ燃焼法の同一操作内で精度よく測定することができた。

本研究では、フラスコ燃焼後の試料溶液を用いてポリリン酸からオルトリン酸への変換条件を検討し、硫酸添加、加熱処理による加水分解法を確立した。同一化合物内に存在するリンと併せて塩素、臭素及び硫黄の一斉分析を行い、有機元素分析法として満足できる結果を得た。なお、カラムは約6か月にわたり精度よく測定することができた。今後、日常分析への適用並びに対象元素の拡大を図りたい。

(1993年5月, 第60回有機微量分析研究)
(懇談会シンポジウムにおいて一部発表)

文 献

- 1) 長島 潜, 窪山和男, 小野菊繁: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **34**, 381 (1985).
- 2) 長島 潜, 折田昭三, 窪山和男: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **38**, 378 (1989).
- 3) M. Novic, A. Dovzan, B. Pihlar, V. Hudnik: *J. Chromatogr. A*, **704**, 530 (1995).
- 4) R. Toniolo, G. Bontempelli, M. Zancato, A. Pietrogrande: *J. Chromatogr. A*, **662**, 185 (1994).
- 5) J. C. Umali, G. M. Moran, P. R. Haddad: *J. Chromatogr. A*, **706**, 199 (1995).
- 6) Y. Ikeguchi, H. Nakamura, T. Nakajima: *Anal. Sci.*, **9**, 397 (1993).
- 7) 日本公定書協会編: “第十二改正日本薬局方解説書”, p. B-160 (1991), (廣川書店).

要 旨

イオンクロマトグラフィー(IC)による有機化合物中のリンの微量定量法を確立した。酸素燃焼フラスコを用いる通常の方法, すなわち燃焼生成物を捕集するため希過酸化水素水を吸収液に用いたとき, リンの回収率(PO_4^{3-} として測定)は47~94%(4化合物)とやや低く, かつ値が一定していない。他の陰イオンの存在が考えられたため, ICによりポリリン酸の分離を行ったところ, オルトリン酸のほかにピロリン酸及びトリポリリン酸の存在が確認された。希硫酸溶液中ホットプレート上(200°C), 約20分間加熱することにより, 全ポリリン酸はオルトリン酸に変換された。有機化合物中の塩素, 臭素, 硫黄及びリンの一斉微量分析は, 今回確立した燃焼後の加水分解手順を従来の操作法に追加することにより達成した。4化合物について得られた値は, 理論値に対して偏差 $\pm 0.3\%$ 以内でよく一致した。