報 文

3-ヒドロキシ-4'-エトキシフラボンを用いるアンチモン(III)
のフローインジェクション分析西岡 洋^{**}, 熊谷 哲^{*}, 永廣 徹^{*}

Flow injection analysis for antimony(III) using 3-hydroxy-4'-ethoxyflavone

Hiroshi NISHIOKA, Tetsu KUMAGAI and Tohru NAGAIRO^{*}^{*}Faculty of Engineering, Himeji Institute of Technology, 2167, Shosha, Himeji-shi, Hyogo 671-22

(Received 1 December 1995, Accepted 28 January 1996)

A flow injection system was studied for the determination of antimony(III). This method was based on the formation of a fluorescent complex with 3-hydroxy-4'-ethoxyflavone. The maximum wavelengths of its excitation and emission spectra were 420 and 475 nm, respectively. A 200 μ l aliquot of sample solution is injected into a carrier (H_2O), which is pumped at 1.7 ml/min. The reagent solution is prepared by dissolving flavone in a mixture of 40 v/v% perchloric acid (60%) and 60 v/v% methanol to give a 1×10^{-4} M solution. The reagent solution is also pumped at 1.7 ml/min. Antimony(III) in the sample solution reacts with flavone in the coil (0.5 mm i.d. $\times$ 1 m) to form a fluorescent complex. A linear relationship was observed between peak heights and antimony(III) concentrations in the range of 10~1000 μ g/l. The relative standard deviation for five replicate injections was 0.3% for the determination of 100 μ g/l of antimony(III). A routine sampling rate of 150 determinations per hour can be achieved by the proposed method.

Keywords : antimony (III); FIA; fluorometry; 3-hydroxy-4'-ethoxyflavone.

1 緒 言

アンチモンは主に鉛との合金として鉛蓄電池に用いられるのをはじめ、活字用合金や電子工業用材料、窯業の分野でも使用されている。

環境庁は1993年3月に環境庁告示第16号により新しい環境基準を告示し、セレン、トリクロロエチレンなど15の物質を新たに設定した。アンチモンは現在のところ環境基準項目には含まれていないが、新たに設けられた“要監視項目”の枠組みに含まれている¹⁾。このこ

とは、アンチモンも将来の環境基準の見直しにおいて環境基準項目に含まれる可能性を示している。その場合、現在の指針値の0.002 mg/l以下をそのまま環境基準値と仮定すれば、ほかの多くの基準項目物質と同様に考えて排水基準値は0.02 mg/l程度と予測される。従って、工場の排水処理施設等においてもこの濃度レベルのアンチモンの簡便で迅速な定量法が必要となってくる。

工場排水中のアンチモンの定量法としてJIS法²⁾では、水素化物発生原子吸光法及びローダミンBを用いる吸光光度法が示されている。そのほかの分析法として水素化物発生誘導結合プラズマ発光分析法¹⁾もある。これらの分析法は高感度ではあるが、装置は高価で占有空

^{*} 姫路工業大学工学部基礎工学教室: 671-22 兵庫県姫路市書写 2167

間も大きく、付帯設備やランニングコストの点でもあまり簡便な分析法とは言えない。又、ローダミン B を使用する吸光光度法では装置は比較的廉価であるが、分析操作が煩雑で自動化しにくいという難点がある。吸光光度法よりも一般的に感度が高く、簡便な分析法として蛍光分析法がある。アンチモンはフラボン誘導体と蛍光性錯体を生成する³⁾ことから、これらの誘導体を用いるアンチモンの蛍光分析も報告されている⁴⁾⁵⁾。そこで、本研究では 3-ヒドロキシフラボンの誘導体を数種合成し、アンチモン(III) の定量における蛍光性試薬としての有用性を確認し、フローインジェクション分析 (FIA) への適用を試みたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

アンチモン(III) 溶液: 原子吸光分析用標準液 (1 g/l) を水で適宜正確に希釈して使用した。

フラボン溶液: 検討したフラボン誘導体は、すべて合成したものをメタノールで再結晶し、メタノールと過塩素酸の混合溶液に溶かして使用した。なお、合成はいずれのフラボン誘導体についても、2-ヒドロキシアセトフェノン又はその誘導体にベンズアルデヒド又はその誘導体作用させてカルコンとし、これをアルカリ性で過酸化水素により閉環する常法⁶⁾によった。合成法の概略を Fig. 1 に示す。

過塩素酸: 試薬特級の過塩素酸 (60%) を使用した。

その他の試薬はいずれも市販の特級品を使用し、水はイオン交換水を更に蒸留したものを使用した。

2.2 装置及び測定条件

FIA システムの概略図を Fig. 2 に示す。ポンプ P は日本精密工業製 SP-D-3201 型ダブルプランジャーポンプを使用し、サンプルインジェクター S には Rheodyne 製ロータリーバルブ 5020 型、検出器 D には 40 μ l の液体クロマトグラフ用フローセルを装着した日立製 F-1150 型分光蛍光光度計を使用し、420 nm で励起、475 nm で測光した。流路は内径 0.5 mm のテフロンチューブを用いた。CS はキャリア溶液で水を使用し、RS は試薬溶液で 3-ヒドロキシ-4'-エトキシフラボンをメタノールと過塩素酸の混合溶液 (体積比=60:40) に溶解して、 1×10^{-4} M の溶液とした。流量は CS, RS 共に毎分 1.7 ml とした。RC は反応コイル (0.5 mm i.d. $\times$ 1 m), R はレコーダー、W は廃液である。

Fig. 1 Synthesis of 3-hydroxyflavone⁶⁾

X=F, CH₃, OCH₃; Y=CH₃, OC₂H₅

Fig. 2 Schematic diagram of FIA for anti-mony(III) determination

CS: carrier solution (distilled water); RS: reagent solution; P: pump; S: sample injection (200 μ l); RC: reaction coil (0.5 mm i.d. $\times$ 1 m); D: fluorometric detector equipped with a flow cell (40 μ l); R: recorder; W: waste

3 結果と考察

3.1 試薬の選択

装置の感度を一定にし、各錯体を励起極大波長で励起し、蛍光極大波長で測光した場合の蛍光強度の相対値を Table 1 に示す。アンチモン濃度は 50 μ g/l とし、2.2 に示した測定条件で行った。4' 位にメチル基又はエトキシル基、又 7 位にメトキシル基を置換した試薬の錯体は、母体の 3-ヒドロキシフラボンの錯体より蛍光が強くなり、その効果は 4'-エトキシル置換体が最大で、母体の場合の 7 倍の蛍光強度を示した。又、試薬空試験値も比較的小さく、ほかの試薬よりも合成時の収率が高かったことから、3-ヒドロキシ-4'-エトキシフラボンが最適と考えられ、本試薬による蛍光定量法を検討することにした。

Table 1 Fluorescent characteristics of antimony complexes with 3-hydroxyflavone and its derivatives

3-Hydroxy flavone derivatives	Wavelength/nm		Fluorescence intensity [†]	
	Excitation	Emission	Complex	Reagent blank
Not substituted	393	451	14	1
6-Fluoro	394	453	6	1
6-Methyl	350	520	3	3
6-Methoxy	355	458	1	1
7-Methoxy	402	457	50	1
4'-Methyl	398	457	52	3
4'-Ethoxy	420	475	100	3

†: Relative to 3-hydroxy-4'-ethoxyflavone complex

Fig. 3 Effect of perchloric acid (60%) in reagent solution on peak height

Reagent solution: flavone in a mixture of perchloric acid and methanol. Sb(III): ○ 100, ● 50 µg/l

3・2 酸の種類と濃度の影響

酸としては過塩素酸, 硫酸及び塩酸について, 又有機溶媒としてはメタノール, エタノール及びアセトンについて検討した結果, 過塩素酸とメタノールを使用した場合に感度のよい結果を示した。そこで, 次にメタノールと過塩素酸の混合比率を変化させて, 2・2 の条件に従って測定した結果, Fig. 3 に示すように過塩素酸とメタノールの体積比が 60 : 40 の場合に最大蛍光強度を示した。しかし, 過塩素酸の体積比が 60% 以上ではベースラインが不安定となり, 錯体の蛍光強度も低下する傾向が見られた。ベースラインが不安定になる理由としては, 酸濃度の増加に伴う試薬空試験値の増大が考えられ

Fig. 4 Effect of flavone concentration on peak height

Sb(III): ○ 100, ● 50 µg/l

るが, 錯体の蛍光強度の低下に関しては, 酸濃度の増加によるものか, メタノールの減少に起因するものかは不明である。過塩素酸の体積比が 40% の場合では最大値と比較して 7% 程度の感度の低下はあるものの, 安定したベースラインが得られた。又, FIA においては試薬の析出はチューブの閉そくにもつながるので, 感度に影響のない範囲でメタノール濃度は高いほうが望ましい。以上の点を考慮して過塩素酸 (60%) とメタノール

の体積比は 40 : 60 とした。

3・3 試薬濃度の影響

試薬濃度の影響について検討した結果、Fig. 4 に示すように試薬濃度の増加とともに蛍光強度も増加した。しかし、 1.5×10^{-4} M 以上ではベースラインが不安定となり再現性も低下したため、本法では試薬濃度を 1×10^{-4} M に設定した。但し、再現性よりも感度を重視する場合にはこれより高濃度での使用も可能と思われる。

3・4 反応コイル長の影響

反応コイルの長さについて検討した。その結果、Fig. 5 に示すように、反応コイル長の増加による効果は見られず、試料ゾーンの分散による感度の低下のみが認められた。このことからアンチモン(III) と 3-ヒドロキシ-4'-エトキシフラボンとの錯形成は、ほかのフラボン誘導体の場合⁵⁾と同様に速やかに行われているものと考えられる。従って本法では反応コイル長を 1 m とした。

3・5 流量の影響

分析速度の向上にもつなげるため、感度や再現性に影響のない範囲で流量は大きいほうが望ましい。キャリアー流れと試薬流れの流量をそれぞれ 0.6 から 2.9 ml min⁻¹ の範囲で変化させた場合の蛍光強度の変化を Fig. 6 に示す。横軸はキャリアー流れと試薬流れが合流した後の計算流量を示している。本法では迅速性と感度のバランスを考慮して各流量を 1.7 ml min⁻¹ とした。

3・6 その他の測定条件

試料注入量について 50~250 μ l の範囲で変化させて調べた結果、200 μ l の場合には 50 μ l の場合の 3 倍の蛍光強度が認められた。従って、試料注入量は 200 μ l とした。なお、試料注入量はこれ以上増加させても感度の顕著な増加は見られなかった。

又、試薬溶液の安定性について試薬溶液調製時から 48 時間後までの範囲で調べた結果、この範囲で一定の蛍光強度を示した。従って、試薬溶液は少なくとも調製時より 2 日間は安定であることが分かった。

3・7 検量線

以上検討した定量条件に従って検量線を作成した。アンチモン(III) 濃度 10~100 μ g l⁻¹ の範囲で良好な直線性が得られ、その相関係数は 0.999 であった。ピーク高 H (mm) とアンチモン(III) 濃度 C (μ g l⁻¹) の関係式を式 (1) に示す。

Fig. 5 Effect of coil length on peak height
Sb(III): ○ 100, ● 50 μ g/l

Fig. 6 Effect of flow rate on peak height
Sb(III): ○ 100, ● 50 μ g/l

$$H = 0.41 C - 1.3 \quad (1)$$

なお、本条件では 1000 μ g l⁻¹ まで直線応答を示すことが確認できた。又、100 μ g l⁻¹ のアンチモン(III) 溶液を用いた 5 回の繰り返し注入における相対標準偏差は 0.3% であった。分析速度は 1 時間当たり 150 試料であ

Table 2 Effect of diverse ions on the determination of antimony(III)

Tolerance ratio ^{a)} [Ion]/[Sb(III)]	Diverse ion
1000	Ag(I), Cs(I), K(I), Na(I), Zn(II), Co(II), Cu(II), Ni(II), Fe(III), In(III), Rh(III), Y(III), fluoride, chloride, bromide, iodide, nitrate, sulfate, borate, carbonate, phosphate
100	Mn(II), Pb(II), Sr(II), As(III), Ti(IV), Ta(V), metavanadate
10	Rb(I), Ca(II), Cd(II), Hg(II), Mg(II), Pd(II), Al(III), Bi(III), Ga(III), Sc(III), tetrachloroaurate, molybdate, hexachloroplatinate, selenite, Cr(VI) ^{b)}
1	Ru(III), Os(IV), Sn(IV), Nb(V), germanate, tellurite, tungstate
0.1	Cr(VI)

Sb(III): 50 $\mu\text{g l}^{-1}$. a): Errors are within $\pm 5\%$. b): This was tested in the presence of 1% ascorbic acid.

り, 迅速な定量ができるものと考えられる. なお, 試薬溶液の調製ごとに検量線のこう配に若干の変動が見られたので, 検量線は一連の分析ごとに新しく作成した.

3・8 共存イオンの影響

共存イオンの影響について検討した結果を Table 2 に示す. 50 $\mu\text{g l}^{-1}$ のアンチモン(III) の定量に対して許容誤差が $\pm 5\%$ 以内のイオンの濃度 ($\mu\text{g l}^{-1}$) 比を示している. アンチモン(III) の定量に対して最も著しい妨害を示したのはクロム酸イオンであり, 等濃度共存した場合には 30% 以上の負の誤差を与えた. これはクロム酸イオンの酸化作用によるものと考え, 還元剤としてアスコルビン酸を用いる方法を検討した. その結果, 1% のアスコルビン酸存在下では, 少なくとも 10 倍の濃度まで共存が許容されることを認めた. しかし, クロ

ム酸に限らず酸化性の物質が共存する実試料を分析する場合には, あらかじめ試料に適切な還元処理を施しておく必要があるものと考えられる.

文 献

- 1) 環境庁水質保全局水質規制課監修, 環境化学研究会編: “新しい排水基準とその分析法” (1994), (環境化学研究会).
- 2) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1993).
- 3) 無機応用比色分析編集委員会編: “無機応用比色分析” 第 6 巻, p. 86 (1979), (共立出版).
- 4) 村田 旭, 大前利隆, 鈴木哲夫: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **29**, 780 (1980).
- 5) 山田真吉, 前島勝己, 村田 旭: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **40**, 455 (1991).
- 6) 小沢 光, 奥田朝晴, 川西正純, 藤井輝一: 薬学雑誌, **71**, 1178 (1951).

要 旨

3-ヒドロキシ-4'-エトキシフラボンを用いるアンチモン(III) のフローインジェクション/蛍光定量について検討した. 4' 位にエトキシル基を導入した本試薬では無置換の 3-ヒドロキシフラボンを使用した場合と比較して約 7 倍の蛍光強度が得られた. 蛍光性錯体の励起極大波長は 420 nm, 蛍光極大波長は 475 nm であった. 本法においてアンチモン濃度 10~100 $\mu\text{g/l}$ の範囲で良好な直線関係 ($r=0.999$) が得られた. アンチモン濃度 100 $\mu\text{g/l}$ における 5 回の繰り返し注入による相対標準偏差は 0.3% であった. 本法によって 1 時間当たり 150 試料の分析が可能であった. 試料がクロム(VI) などの酸化性物質を含む場合には負の誤差が見られたため, 酸化性物質が共存する試料については適切な予備還元操作が必要であった.