—ノ—ト—

(日本化学会誌, 1982, (3), p. 530~533)

© 1982 The Chemical Society of Japan

改良インジゴカルミン法による溶存酸素の比色定量

(1981年5月18日受理)

成田 栄一*・Kook-Nam HAN**・Frank LAWSON***

1 緒 言

液中に溶存している酸素は、化学工業、湿式製錬、腐食、発酵、廃水処理など広い分野において重要な役割を果たしており、このため数多くの酸素溶解度が測定されているが、需要のすべてを既往の文献やデータ集で満たすにはいたっていない。電解質水溶液中の酸素溶解度におよぼす塩析効果については、二三の推算法¹⁾²⁾が提案されているが、これらの方法は希薄な強電解質水溶液に対して開発されたものであり、溶質濃度が大きい場合や弱電解質が溶解している場合には誤差が大きい。また、現実には溶質成分が多種にわたり、その種類や溶解量が不明な溶液を取り扱う機会も多い。したがって、対象とする溶液の種類にかかわらず、溶存酸素量を迅速・簡便に、かつ良好な精度をもって測定できる方法があれば便利である。

そこで著者らはインジゴカルミン（以下 IC と略記する）試薬を発色剤とする比色定量法³⁾をとりあげ、従来よく知られていない発色反応におよぼす各種因子の影響を調べるとともに、定量法の改良を試みた。原理は、まず IC を強アルカリ性水溶液中において加熱しながらグルコースなどの還元剤によって還元型インジゴカルミン（以下 RIC と略記する）とし、これを試料に添加して溶存酸素によって再酸化されて生成した IC の濃度を測定するものである。本研究では、1) pH 緩衝液を希釈液として用いる、2) 試料の採取と発色反応を同一の注射器内で行なう、の2点について改良を行ない、測定の精度、酸素濃度範囲および所用時間において従来法にまさり、かつ特殊な装置を必要としない改良法を開発したので報告する。

2 実験方法

インジゴカルミン法はいくつ^{4)~8)}があるが⁹, European Bre-

wing Convention によりビール中の溶存酸素の標準分析法の一つとして採用されている Jenkinson らの方法⁹⁾がもっとも一般的である。ここでは基本的手法としてこの方法に準拠し、これに改良を加えることにした。

2.1 試 薬

インジゴカルミン (IC) 溶液: 0.1g の市販 IC 試薬と 0.05g の D-グルコースを 50cm³ の蒸留水に溶かし、これに 50cm³ のグリセリンを加えてよくふりまぜる。溶液は冷暗所に保存し、使用前に濃度を確かめた。

水酸化カリウム溶液: 0.5g の水酸化カリウムを蒸留水に溶かし、100cm³ とした。

希釈液: 1mol・dm⁻³ の NH₄Cl と 1mol・dm⁻³ のアンモニア水から調製した pH 緩衝液 (pH 8~9) を用いた。

標準 IC 溶液: 14.56/Pg の IC を 50cm³ の蒸留水に溶かし、グリセリンを加えて 100cm³ とした (P は純度%)。この溶液は 100mg・dm⁻³ の酸素と反応したときに生成する IC 溶液の濃度に相当する。この溶液を蒸留水で適当に希釈し、極大吸収波長 620nm において検量線を作成した。

2.2 装 置

注射器: 市販の 20cm³ のガラス製目盛り付き注射器に No. 22 の注射針を付けて用いた。

吸光度測定用セル: 市販の丸口セル (層長 10mm) にシリコーンゴム栓を付けて用いた。発色させた溶液をセル内に注入するさいには、あらかじめ注射針 (No. 22) 付きの管を通して脱気と純窒素ガスの送入を数回くり返し、最終的にセル内を減圧状態にしておいた。

希釈液の脱酸素用容器: 三つ口付 Woulff 瓶にガス導入管、ガス排出管および希釈液採取口¹⁰⁾を取り付けたものを用いた。希釈液を入れ、マグネツスターラーでかきまぜながら純窒素ガスを通して溶存酸素を除去した。

比色計: Unicam SP 800 UV 分光光度計を用いた。

2.3 定量操作

IC の還元: 10cm³ の IC 溶液を小さなビーカーにとり、これ

東北大学工学部応用化学科, 980 仙台市荒巻字青葉

** Department of Metallurgical Engineering, South Dakota School of Mines and Technology, Rapid City, SD 57701, U.S.A.

*** Department of Chemical Engineering, Monash University, Clayton, Victoria 3168, AUSTRALIA

1) P. V. Danckwerts, "Gas-Liquid Reactions", McGraw-Hill (1970) p. 17.

2) A. Schumpe, I. Adler, W. D. Deckwer, *Biotechnol. Bioeng.*, 20, 145(1978); 21, 1075(1979).

3) F. D. Snell, C. T. Snell, "Colorimetric Method of Analysis", New York, D. Van Nostrand Co. (1945) p. 726.

4) W. Efimov, *Biochem. Z.*, 155, 371(1925).

5) W. F. Loomis, *Anal. Chem.*, 26, 402(1954); 28, 1347(1956).

6) L. W. Buchoff, N. M. Ingber, J. H. Brady, *Anal. Chem.*, 27, 1401(1955).

7) H. Rothchild, I. M. Stone, *J. Inst. Brewing*, 44, 425(1938).

8) P. Jenkinson, J. Compton, *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.*, 73(1960).

9) 過マンガン酸カリウム標準溶液を用いる酸化還元滴定によって決定した⁹⁾.

10) 薄いゴムシートでおおい、希釈液の採取中空気が混入しないようにした。

に 0.3cm^3 の水酸化カリウム溶液を添加し、よくかきまぜる。この混合溶液約 2cm^3 を注射器にとり、針先をゴム片で止めておく。この注射器を $80\sim 90^\circ\text{C}$ の熱水に浸し、溶液の色が黄褐色に変化するまで $5\sim 15$ 分間保持したのち、水中で冷やす。この溶液は $600\sim 700\text{nm}$ の波長領域に吸収を示さない。

発色反応および吸光度の測定: 針先をゴム片から抜き出し、注射器内の RIC 溶液を 1cm^3 に調節する。この注射器に酸素を除去した希釈液を適量とり、全体量を正確にしておく。ついで、同様にして $1\sim 10\text{cm}^3$ の試料溶液を正確にとる¹¹⁾。針先をゴム片で止め、よくふりまぜて発色反応を行なわせる。 $5\sim 10$ 分後、注射器の発色溶液を減圧状態のセルに注入し、再酸化されて生成した IC の濃度を波長 620nm における比色定量によって求める。

3 結果と考察

3.1 希釈液の影響

希釈液としては、RIC と溶存酸素との反応を妨害しないものであれば制限はないが、pH の影響が予想されるので、ここでは希釈液として純水、希薄硫酸 ($0.2\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) および $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3$ 緩衝液 (pH 8.5) を用い、温度 25°C 、酸素圧 1.0atm 下の純水の酸素溶解度を調べてみた。RIC 溶液と希釈液と試料溶液の容積混合割合 (混合比) は $1:17:1$ である。結果を図 1 に示した。

純水の場合、混合溶液は青色から緑色を経て紫色に変化し、 562nm に極大吸収を示した。これは部分酸化された RIC によるものである。この吸収も安定ではなく、時間とともに吸収強度は弱まった。RIC 溶液は水酸化カリウムを含んでいるので、純水を希釈液とした場合、溶液の pH は高く、このため溶存酸素との反応により生成した IC がふたたび過剰のグルコースによって還元されたものと考えられる。希薄硫酸の場合、混合溶液は淡青色を呈し、 620nm に極大吸収を示したが、時間とともに吸光度は増大し、酸素溶解度の文献値から計算された吸光度を越えてしまった。また、未反応の RIC の吸収は希釈液採取のさいに消失してしまった。これらの原因は不明であるが、希釈液に希薄酸を用い

Fig. 1 Effect of kind of diluent on absorbance of reoxidized indigo carmine

Diluent:

A; Pure water (5min), B 1~4; $0.2\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ H_2SO_4 (1: 15, 2: 30, 3: 45, 4: 60min), C; $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3$ buffer solution

Table 1 Solubility data of oxygen in pure water^{a)} and organic solvents^{b)}

Solvent	Solubility of oxygen	
	Measured ($\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$)	Reported in literature ¹²⁾ ($\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$)
Water (25°C)	40.2	40.5, 41.5, 40.6
Water (50°C)	29.1	29.7
Ethanol (96%)	31.7	31.5
Methanol	32.9	32.5
Acetone	34.2	36.7
Ethanol + Acetone (1+1)	33.2	33.4
Benzene	29.8	29.1
Toluene	31.2	—
Cyclohexane	35.5	36.4
Carbon tetrachloride	38.0	39.4

a) P_{O_2} : 1atm. b) P_{O_2} : 0.1atm, Temp: 25°C .

ることも望ましくないことが確かめられた。これに対し、 $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3$ 緩衝液の場合は、混合溶液はただちに青緑色を呈し、その後 30 分間、吸光度は一定であった。pH を変えてみると、pH $8\sim 9$ の範囲でまったく同一の結果が得られた。すなわち、この pH 範囲では、溶存酸素と RIC との反応速度が大きく、しかも生成した IC と過剰グルコースとの反応が起こらないことを意味する。温度 25°C と 50°C における実測値を表 1 に示したが、いずれも文献値¹²⁾とよく一致している。

3.2 D-グルコース/IC 比の影響

RIC を調製するさい、IC 以外に溶液中の溶存酸素を還元しなければならぬことおよび還元に要する時間を短縮したいことから、理論量より過剰のグルコースを用いている。しかしながら、グルコース量が多過ぎると、測定の際生成 IC の再還元が起こりやすくなる。ここではその最適量を求めた。IC 量を一定としてグルコースの添加量を増し、グルコース/IC 重量比 (G/I 比) を 0.5, 1.0 および 3.0 と変えて実験を行なった結果を図 2 に示した。

試料は温度 25°C 、酸素圧 0.21atm 下の純水、混合比は $1:13:5$ である。G/I 比が 0.5 では、pH が高くても発色後 30 分間は吸光度が一定であった。pH が 9 より大きい場合には吸光度の減少が若干認められる。一方、G/I 比が大きくなると吸光度の減少がいちじるしくなり、pH が高いほどこの傾向は顕著となった。G/I 比が 0.5 では RIC の調製にも支障がないので、この値が最適と考えられる。

以下の実験は希釈液として pH 8.5 の $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3$ 緩衝液を用い、G/I 比 0.5 の条件で測定を行なった。

3.3 共存塩の影響

理論的には、酸素より酸化力の強い物質、もしくはグルコースより還元力の強い物質を含む溶液に対しては本法は適用できない。一例として酸化性塩として KNO_3 、還元性塩として NaNO_2 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ および NaHSO_3 のそれぞれを $0.1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 溶解させた各水溶液について、温度 25°C 、酸素圧 0.21atm 下の酸素溶解度を測定した。結果を表 2 に示した。 KNO_3 、 NaNO_2 および $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ の水溶液については、塩析効果を Danckwerts 法¹⁾

12) A. Seidell, W. F. Linke, "Solubilities of Inorganic and Metal-Organic Compounds", Vol. II, 4th ed., Am. Chem. Soc., Washington D. C. (1965).

11) 本実験では溶液の総量をすべて 19cm^3 とした。

Fig. 2 Effect of D-glucose/indigo carmine ratio on absorbance of reoxidized indigo carmine

(G/I) ratio :

○ ; 0.5, △ ; 1.0, □ ; 3.0

pH :

— ; 8.5, - - - ; 9.5

Table 2 Effects of salts and metal ions dissolved in water^{a)}

Additives (mol·dm ⁻³)	Solubility of oxygen		Precipitate ^{c)}
	Measured (mg·dm ⁻³)	Predicted ^{b)} (mg·dm ⁻³)	
none	8.44	8.51	△
KNO ₃	8.02	8.32	△
NaNO ₂	8.23	8.30	△
Na ₂ S ₂ O ₃	7.46	7.75 ^{d)}	△
NaHSO ₃	0		△
Mn ²⁺	8.98	8.06	△
Fe ³⁺	8.30		○
Co ²⁺	8.32		△
Ni ²⁺	8.19		△
Cu ²⁺	—		△
Zn ²⁺	8.40	8.38	△
Cd ²⁺	8.48		△

a) P_{O_2} : 0.21 atm, Temp.: 25°C. b) By Danckwerts method¹⁾. c) ○ : Precipitate, △ : No precipitate.

d) Predicted datum of Na₂SO₄ solution.

によって補正した文献値とほぼ一致した値が得られたが、NaHSO₃水溶液は生成 IC を還元するため、620nm に吸収はまったく認められなかった。

3.4 金属イオンの影響

Mn²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ および Cd²⁺ の硫酸塩を 1×10^{-2} mol·dm⁻³ 溶解させた各水溶液について、温度 25°C, 酸素圧 0.21 atm 下の酸素溶解度を測定した。結果を表 2 に示した。これからわかるように、Cu²⁺ 以外は溶存酸素と RIC との反応に影響をおよぼさないことがわかった。Cu²⁺ 共存の場合、異常に高い吸光度が得られ測定不可能となったが、これは RIC が Cu²⁺ によって酸化されたためと考えられる。また、Fe³⁺ 以外の金属イオンは測定中沈殿を生じなかった。これは希釈液中のアンモニアが金属イオンに配位し、水溶性のアンミン錯体を形成するためである。これは希釈液として NH₄Cl-NH₃ 緩衝液を用

Fig. 3 S/S_0 as a function of ammonium salt concentration for different partial pressures of oxygen

P_{O_2} (atm) :

△ ; 0.1, ○ ; 0.21, □ ; 0.5, ■ ; 1.0

Predicted values :

- - - ; Danckwerts¹⁾, — — — ; Schumpe et al.²⁾

いる利点の一つに挙げられる。Fe³⁺ 共存の場合には、溶液をふりまぜたのち針先を上方に向けて含水酸化鉄を沈降させ、沈殿が混入しないように溶液のみをセル内に注入し、測定を行なった。

3.5 水溶液中の酸素溶解度測定例

一例として (NH₄)₂SO₄ 水溶液と NH₄Cl 水溶液について、温度を 25, 50°C, 酸素圧を 0.1, 0.21, 0.5, 1.0 atm と変えて酸素を飽和させ、その溶解度を測定した結果を図 3 に示した。縦軸は純水中の溶解度に対する水溶液の溶解度の比 (S/S_0) を示した。酸素溶解度は酸素圧や温度に関係なく、塩濃度の増加とともに減少していることがわかる。NH₄Cl 水溶液については信頼できる文献値はないが、(NH₄)₂SO₄ 水溶液については Bruhn¹³⁾ の文献値とほぼ一致している。また、Danckwerts¹⁾ や Schumpe²⁾ の方法による推算値とも大体一致している。

本法によりアルカリ水溶液や酸水溶液中の溶存酸素量を測定する場合、溶質濃度が大きいと混合溶液の pH が適正範囲からはずれ、誤差が大きくなる。このような場合には、2.2 で述べた希釈液の脱酸素用容器をもう一つ用意して、液性が試料溶液と反対の溶液を入れ、脱酸素したのち希釈液とともに適量注射器に採取しておくことにより測定は可能である¹⁴⁾。

3.6 有機溶媒中の酸素溶解度の測定例

一般に有機溶媒は水溶液にくらべて酸素溶解度がかなり大きい。そこで温度 25°C, 酸素圧 0.1 atm の条件で各有機溶媒に酸素を飽和させ、その酸素溶解度を測定した。エタノール、メタノール、アセトンおよびエタノール-アセトン (1+1) 混合溶媒についての測定値を表 1 に示した。アセトンについては文献値¹²⁾ よりいくぶん低い、そのほかについてはよく一致している。これらの有機溶媒は水溶液と均一に混合するので定量操作はこれまでと変わらない。また、これら有機溶媒と水との混合系に対しても測定は可能である。

水と混合しない有機溶媒に対しても、ふりまぜ操作に加えることにより本法の適用が可能である。代表的な溶媒であるベンゼ

13) G. Bruhn, J. Gerlach, F. Pawlek, Z. Anorg. Allg. Chem., 337, 68(1965).

14) E. Narita, K. N. Han, F. Lawson, Hydrometallurgy, 印刷中。

ン, トルエン, シクロヘキサンおよび四塩化炭素について試みた。酸素飽和の条件および試料採取までの操作はこれまでと同じである。ただし, 試料採取後注射器を 10~20 分間はげしくふり, 2 相の接触を十分行なった。この操作により有機溶媒中の溶存酸素は水相に移行し, 水相中では溶存酸素は RIC との反応に消費されてしまうので, ふりまぜ中有機相の溶存酸素は水相に完全に移行する。数分間静置したのち, 水相のみをセル内に注入し, 吸光度を測定することにより溶存酸素量を求めることができる。結

果を表 1 に示した。いずれも文献値¹²⁾とよく一致している。ふりまぜの程度と時間が足りない場合には低い値が得られるので注意を要する。

本研究で行なった改良により, 有機溶媒に対してもインジゴカルミン法を適用できることが示された。

本研究を行なう機会を与えて下さいました東北大学岡部泰二郎教授に厚くお礼申し上げます。

A Colorimetric Determination of Dissolved Oxygen by an Improved Indigo Carmine Technique

Eiichi NARITA*, Kook-Nam HAN** and Frank LAWSON***

Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Tohoku University; Aramaki, Sendai-shi 980 Japan

*** Department of Metallurgical Engineering, South Dakota School of Mines and Technology; Rapid City, SD 57701, U. S. A.*

**** Department of Chemical Engineering, Monash University; Clayton Vic. 3168, Australia*

The indigo carmine method employed for the determination of dissolved oxygen has been improved. An $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3$ buffer was used as a diluent for the sample solution so that a wide range of the dissolved oxygen concentrations could be determined. The reduced indigo carmine was prepared in a graduated syringe and the diluent and a pre-determined quantity of the electrolyte solution containing the dissolved oxygen was subsequently introduced into the syringe. The final pH of the solution thus obtained lay between 8 and 9. The oxidation of the indigo carmine with the dissolved oxygen occurred almost instantaneously and re-reduction of the indigo carmine color so produced by any excess D-glucose present in the solution did not occur for about 30 min at an initial glucose/indigo carmine weight ratio of 0.5. The concentration of the re-oxidized indigo carmine was estimated by measuring absorption at 620 nm. This improved technique shows excellent reproducibility and accuracy in the determination of the dissolved oxygen over a wide range of electrolyte concentrations in spite of the diluent being used. The technique has been applicable not only to aqueous solution but also to organic solvent.