モリブドリン酸イオン-マラカイトグリーンイオン会合体生成に 及ぼすアルコールの反応促進効果とそれを利用する リンの高感度フローインジェクション分析

(1991 年 7 月 5 日 受理)

本水昌二*・安田祐子・大島光子

モリブドリン酸イオン (PMo) とマラカイトグリーン (MG⁺) は酸性溶液中で反応し発色する。この反応はイオン会合体 (MG⁺-PMo) 形成反応であり、生成反応は次のように表される。

ただし HMG²⁺ は MG⁺ のプロトン付加体を表し黄色 ($\lambda_{\text{max}}=446\text{ nm}$) であるが、イオン会合体になると MG⁺ の緑青色 ($\lambda_{\text{max}}=650\text{ nm}$) になる。MG⁺ は PMo の生成を促進する役割も大きいことがわかった。有機溶媒は PMo の生成促進のみならず、MG⁺-PMo の生成も促進することがわかった。陰イオン界面活性剤は反応を減速させるが、フローインジェクション分析におけるベースラインのドリフト抑制に寄与することがわかった。反応促進剤とベースライン抑制剤の使用により、短い反応コイルで数 ppb の低濃度域まで良好な直線関係を示す FIA システムを確立することができた。

1 緒 言

オルトリン酸またはその塩の形で存在するリンの吸光光度法は、モリブデン酸との反応生成物 (ヘテロポリ酸) を用いるものが大部分であり、黄色のモリブデン酸 (モリブデン黄) および還元生成物 (モリブデン青) を用いる方法がある^{1)~9)}。一般的にはモリブデン青を用いる方法が感度がよい。還元条件により異なるが、モル吸光係数は $(1 \sim 2) \times 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 程度であり、操作が面倒なうえにあまり高感度とはいえない。

モリブドリン酸は、トリフェニルメタン系陽イオン染料のマラカイトグリーン (MG⁺)、クリスタルバイオレット (CV⁺) などと酸性条件下で呈色反応を示すことが知られている⁴⁾⁵⁾。Motomizu らは MG⁺ を用いる発色法を河川水中の微量リンの吸光光度法に 응용した (以下 MG 法と略記)⁶⁾。この場合のモル吸光係数は約 $8 \times 10^4 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (測定波長: 650 nm) であり、モリブデン青法に比べかなり高感度であり、操作も非常に簡単である。MG

法はフローインジェクション法 (FIA) にも適用され、数 ppb ($\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$) のリンの定量も可能となった⁷⁾。さらに青柳らにより全リン定量用 FIA にも適用された⁸⁾⁹⁾。

著者は MG 法の発色原理は、次式に従うイオン会合体生成反応であると考えている。

ここで HMG²⁺ は MG⁺ のプロトン付加体で黄色 ($\lambda_{\text{max}}=446\text{ nm}$) である。これがヘテロポリ酸の H⁺ と順次交換しイオン会合体となり、最終的には (1:3) の組成の沈殿を生成する。バッチ法では試薬溶液添加後、直ちにポリ(ビニルアルコール) (PVA) を加えて反応を停止させている。これによりほぼ (1:1) のイオン会合体が得られ、沈殿生成は抑制できる。この場合、反応試薬溶液にあらかじめ PVA を加えておくことと反応収率は非常に悪く、再現性も悪くなる。したがって、FIA に適用する場合に PVA を用いることができず、高感度化をはかるため反応コイルを長くするとイオン会合体が析出し、コイル、フローセルなどに吸着しやすくなり、ベースラインのドリフトの原因となる。

本研究では、染料陽イオンの役割の基礎検討と、イオン会合体生成の反応速度におよぼす有機溶媒、界面活性剤の影響を検討し

岡山大学理学部, 700 岡山市津島中 3-1-1

- 1) 無機応用比色分析編集委員会編, “応用比色分析”, 4 巻, 共立出版 (1975), p.130.
- 2) JIS K 0102-1986, p.158; K 0101-1986, p.162.
- 3) L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, R. R. Trussell, ed., “Standard Method for the Examination of Water and Waste Water”, 17 th Ed., (1989) pp.4-166.
- 4) K. Itaya, M. Ui, *Clin. Chim. Acta*, **14**, 361(1966).
- 5) A. G. Fogg, S. Soleymanloo, D. T. Burns, *Anal. Chim. Acta*, **88**, 197(1977).
- 6) S. Motomizu, T. Wakimoto, K. Tōei, *Analyst (London)*, **108**, 361(1983).

- 7) S. Motomizu, T. Wakimoto, K. Tōei, *Talanta*, **30**, 333(1983).
- 8) M. Aoyagi, Y. Yasumasa, A. Nishida, *Anal. Chim. Acta*, **214**, 229(1988).
- 9) M. Aoyagi, Y. Yasumasa, A. Nishida, *Anal. Sci.*, **5**, 235(1989).

た。さらにこれらの結果に基づき、イオン会合体の析出を防ぎ試料処理速度の迅速化を図るため、反応コイル長を既報^{7)~9)}の 1/5 の 1 m とする FIA を確立することを目的として、反応試薬溶液組成について検討した。反応試薬溶液としては、(1) ベースラインドリフトが小さい、(2) 検量線の直線性が良好である、(3) 高感度であることを選定の眼目とした。

2 実 験

2.1 装 置

反応速度測定装置: 前報¹⁰⁾と同様に試料側のセルホルダーを改良し、1 cm の角型吸収セルの下に小型攪拌モーターを置き、迅速に攪拌できるようにした。高速ミキシング装置とダイオードアレイ分光光度計を用いるストップフロー法も適宜使用した。

FIA 装置: ポンプはサヌキ工業製 FIA-3000, 検出器は相馬光学製波長可変可視分光検出器 S-3250 を用いて構成した。吸光度変化は東亜電波製 FBR-251 A 記録計で記録した。採用した流れ系を図 1 に示す。流路構成に用いたチューブは内径 0.5 mm のポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 製のものである。既報⁷⁾では、脈流低下のためにポンプのすぐ下流に 10 m のダンピングコイルと空気ダンパーを用いたが、本 FIA 装置では不要であった。また、反応コイルは 5 m (内径 0.5 mm) を用いていたが、本 FIA では 1 m (内径 0.5 mm) を用いた。なお使用後はアセトンで流路、フローセルに付着したイオン会合体を洗浄した。

2.2 試 薬

反応試薬溶液: モリブデン酸アンモニウム (和光純薬製特級), MG (シュウ酸塩: 東京化成工業製 Ace) および濃硫酸 (和光純薬製特級) を必要量とり蒸留水に溶解する。最終的に採用した FIA 用反応試薬溶液組成は、Mo(VI) として 0.11 M, H₂SO₄ 1.26 M, MG 2×10^{-4} M であり、さらに 25% (v/v) エタノールと界面活性剤溶液 (エーロゾル: TECHNICON Wetting Agent Aerosol 22, 藤沢薬品工業) 0.16% (v/v) を加えたものである。なお、エタノールを含む溶液は暗所で 2 カ月間の保存に耐えるが、これにエーロゾル 22 を加えた溶液は 1 日しか使用できない。

有機溶媒: 反応促進剤としてメタノール, エタノール, 1-プロパノール, 1,4-ジオキサン, アセトンについて検討した。

その他の反応促進剤: 陰イオン界面活性剤として SSS {sodi-

um 1,2-bis(2-ethylhexyloxycarbonyl)ethane-1-sulfonate) および DBS (ナトリウムドデシルベンゼンスルホン酸) について検討した。

2.3 操 作

生成反応速度の測定: 試料 (または反応試薬) 溶液 1.25 ml を吸収セルに入れ、かきまぜ状態でこれに同容積の反応試薬 (または試料) 溶液を一気に加えて混合する。この装置では完全な混合までに約 2 秒を要する。またストップフロー法では混合後 0.1 秒からデータをコンピューターに取り込むことができる。

FIA 操作: 図 1 の流路系を用い、キャリアー液、反応試薬溶液共に 0.4 ml·min⁻¹ で送液し、リン酸イオンを含む試料をループ付き六方注入バルブでキャリアー流れに導入した。吸光度変化はピーク高を記録した。

3 結果および考察

3.1 MG の存在状態とモリブデン酸との反応

図 2 にモリブデン酸 (Mo(VI) と略記) 共存下での MG の吸収曲線を示す。400 nm 以下の大きい吸収は Mo(VI) のものであり、400 nm 以上には Mo(VI) の吸収はほとんどない。HMG²⁺ の吸収は 446 nm, MG⁺ の短波長側の吸収は 420 nm にある。図 3 には MG の存在種の割合を pH に対してプロットしたものを示す。これは Cigen¹⁰⁾ と同様な実験をストップフロー法によ

Fig. 2 Absorption spectra

MG, 1×10^{-5} M. 1, 3, Without Mo(VI); 2, 4, with 0.024 M Mo(VI). pH: 1, 1.31; 2, 1.44; 3, 2.30; 4, 2.26.

Fig. 3 pH dependent distribution curves

Fig. 1 Flow diagram for phosphorus (orthophosphate)

CS: H₂O; RS: 0.11 M Mo(VI), 1.26 M H₂SO₄, 2×10^{-4} M malachite green (MG), 25% ethanol, nonionic surfactant (Aerosol 22, 0.16 v/v%)

10) 本水昌二, 大島光子, 松本 剛, 分析化学, 投稿中.

11) S. Bodforss, S. Ahrland, R. Cigen, Z. Physik. Chem., 203, 73(1954).

Fig. 4 Effect of pH on the formation of the ion associate (HMG²⁺-PMo)

1, Without Mo(VI); 2, with 0.024 M Mo(VI).
λ, 446 nm; MG, 1×10⁻⁵ M.

Fig. 5 Reaction rate of molybdate and malachite green

1, Reagent blank; 2, 3, 4.8×10⁻³ M Mo(VI);
3, net absorbance. λ, 446 nm; MG, 4×10⁻⁵ M;
pH, 1.2.

り行い、得られた値を用いて計算したものである。本研究におけるモリブドリン酸と MG の反応条件下である pH 1.5 以下では、MG の 95% は無色のカルピノール体 H₂MGOH²⁺ となり、残りは大部分黄色の HMG²⁺ になっている。図 2 において、Mo(VI) が存在すると 420, 446 nm および 570 nm 付近の吸光度が増加していることがわかる。これは MG⁺ および HMG²⁺ が Mo(VI) のイソポリ酸とイオン会合体を形成しているものと考えられる。なお Mo(VI) 存在下での 570 nm の大きな吸収は MG⁺ の吸収よりもブロードであるが、後述のモリブドリン酸とのイオン会合体の吸収と非常によく似ている。このことからイソポリ酸を生成しやすい比較的高い pH 領域では、MG⁺ がイオン会合体を形成することがわかる。図 4 には Mo(VI) と HMG²⁺ との反応について pH を変えて調べた結果を示す。最も吸光度差の大きい pH は 1.5 付近であり、これより酸性側ではイソポリ酸の生成割合、アルカリ側では HMG²⁺ の存在割合が少なくなるために HMG²⁺ と Mo(VI) 錯体が生成しにくくなるものと考えられ

る。

図 5 に HMG²⁺ と Mo(VI) との錯体 (HMG²⁺-Mo(VI) と略記) の生成反応速度について検討した結果を示す。これは Mo(VI) の硫酸性溶液に MG の水溶液 (pH 5) を加えたものである。混合後約 10 分間でブランクとの差は最高となり、以後時間とともに減少していく。これは次の (1), (2) の反応が進行し、最終的にはこの pH で安定な HMG²⁺-Mo(VI) になることを示している。

3.2 モリブドリン酸生成反応に及ぼす MG の寄与

既に、水溶液での MG 発色法に基づくリン定量法がバッチ法および流れ法 (FIA) に用いられてきた。これらの方法における MG の主な役割は、ヘテロポリ酸の対イオンとなりその大きなモル吸光係数による高感度化達成であると考えてきた。しかし、既報では有機オニウムイオンがモリブドリン酸 (以後 PMo と略記) の生成を促進するのに大きく寄与していることを見いだした¹⁰⁾。特に二価陽イオンのパラカト (PQ: 1,1'-ジメチル-4,4'-ビピリジニウムイオン) の促進効果が大きいことを見いだされた。これらとの関連において HMG²⁺、あるいは MG⁺ の促進効果も興味深い問題である。

図 6 に PMo および MG⁺ と PMo とのイオン会合体 (以後 MG⁺-PMo と略記) の吸収曲線を示す。図 6 の条件下では PMo はほとんど生成していないが、MG⁺ を加えると、長波長の 650 nm 付近の吸光度が増大する。これは MG⁺ 自身の吸収曲線よりもブロードになっているが、MG⁺ が再生されたことを示し、次式 (3) により MG⁺-PMo が生成していると考えてよい。

長時間の放置により生成する n=3 の沈殿は、メンブランフィルターに捕集され、また溶媒抽出される。しかし、既報⁹⁾のように試薬溶液添加後直ちに PVA を加えると長時間呈色は安定であり、ε は約 8×10⁴ (650 nm) となる。MG⁺ の 600 nm 付近の ε は約 (9~10)×10⁴ であることから、まず最初に生成したイオ

Fig. 6 Absorption spectra

1, 2, Without MG; 3, 4, with MG; 1, 3, reagent blank; 2, 4, 2×10⁻⁶ M phosphate. H₂SO₄, 0.62 M; Mo(VI), 0.055 M; MG, 1×10⁻⁴ M.

Fig. 7 Comparison of reaction rates of molybdophosphate formation

(a) Reagent solution : 1.26 M H_2SO_4 , 0.11 M Mo(V) ; λ , 400 nm. (b) Reagent solution : 1.26 M H_2SO_4 , 0.11 M Mo(V) , 2×10^{-4} M MG; λ , 650 nm. 1, 4, Reagent blank. Phosphate (10^{-6} M): 2, 20; 3, 40; 5, 1; 6, 2; 7, 4. Phosphate solutions were mixed with identical volume of reagent solutions.

ン会合体は $n=1$ のものであると予想でき、これが時間と共に $n=2$, $n=3$ のイオン会合体になると考えられる。

図 7 に PMo および $\text{MG}^+\text{-PMo}$ の生成速度について調べた結果を示す。この条件下では PMo の生成平衡は約 30 秒間で完了し、平衡状態の 90% 到達に要する時間 (以後 $t_{0.9}$ と略記) はリン酸イオン 4×10^{-5} M, 2×10^{-5} M のとき約 10 秒である。400 nm での見かけのモル吸光係数 ($\epsilon/\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) は 370 にすぎない。既報で調べたように、PMo がほぼ完全に生成したと考えられる場合の ϵ は約 3000 であり、これから推測すると PMo はリン酸イオンの約 12% しか生成していないことになる。

一方、 $\text{MG}^+\text{-PMo}$ の生成は 80 秒後でもわずかに吸光度は増加しているが、60 秒後を基準とした $t_{0.9}$ はリン酸イオンが 4×10^{-6} M, 2×10^{-6} M と低濃度であるにもかかわらず約 15 秒である。650 nm での ϵ は 8×10^4 と 400 nm での値にくらべ約 200 倍であり、 MG^+ の ϵ から予想すると 80~90% の PMo が生成していることになる。すなわち、リン酸イオンがモリブデン黄法の 10 分の 1 の濃度であるにもかかわらず、MG 法では PMo の反応が促進され非常に反応収率が高くなっていることがわかる。

室温では PMo の反応収率は低いが、加熱によりほぼ反応は完結し、 $\epsilon=3000$ (400 nm) の PMo となる¹⁰⁾。図 8 は沸騰水中 10 分間の加熱により生成した PMo と MG との反応について比較的長時間にわたり調べたものである。図 8 (a) の 2, 4, 6, 8 は MG の水溶液、1, 3, 5, 7 は酸性溶液 (2×10^{-4} M MG, 0.4 M H_2SO_4) 5 ml を PMo の溶液 20 ml に加え最終濃度 (2×10^{-6} M P, 0.04 M Mo(V) , 0.4 M H_2SO_4 , 4×10^{-5} M MG) としたものである。また (b) は MG を含む反応試薬混合液 (2 M H_2SO_4 , 0.2 M Mo(V) , 2×10^{-4} M MG) 5 ml をリン酸塩溶液 20 ml に加えたものである。(b) の場合には図 7 の試薬溶液にくらべ酸濃度が高いので $\text{MG}^+\text{-PMo}$ の生成速度は遅い。加熱なしで

Fig. 8 Effect of the acidity of malachite green solution on the formation of the ion associates ($\text{MG}^+\text{-PMo}$)

1, 3, 5, 7: MG in 0.4 M H_2SO_4 ; 2, 4, 6, 8: MG in H_2O ; 9, 10, 11: mixed reagent solution; 1, 2, 9: reagent blank (reference, water); 3, 4, 10: 2×10^{-6} M phosphate; 1~6: solutions were heated for 10 min in boiling water, and then mixed with MG solution. Mixed reagent solution: 2 M H_2SO_4 , 0.2 M Mo(V) , 2×10^{-4} M MG. The final concentrations: 2×10^{-6} M P, 0.4 M H_2SO_4 , 0.04 M Mo(V) , 4×10^{-5} M MG.

MG 水溶液を加えた場合は非常に高い ϵ を示すが、時間とともに減少していく。これは、MG を加えると直ちに HMG^{2+} となり、これが PMo の生成を促進し多量の $\text{MG}^+\text{-PMo}$ イオン会合体を生成する。しかし HMG^{2+} は時間とともにカルビノール体 ($\text{H}_2\text{-MGOH}^{2+}$) に変わるため、 $\text{MG}^+\text{-PMo}$ が減少していくことになる。酸性 MG 溶液を加えると、 $\text{H}_2\text{-MGOH}^{2+}$ から MG^+ を再生するのに時間を要する。しかも $\text{MG}^+\text{-PMo}$ の反応収率は悪い。沸騰水中で加熱した場合 PMo の生成はほぼ完結しているはずであるが、 MG^+ との反応終結に要する時間は長く、 $\text{MG}^+\text{-PMo}$ の反応収率も悪い。特に MG 水溶液を加えた場合最高の ϵ に到達するのに約 20 分間を要し、しかも ϵ の値は加熱なしの場合に比べかなり小さい。これは加熱により生成した PMo と、MG 共存下で生成した PMo が異なることを示唆している。加熱による PMo は安定な α 体であり、 MG^+ とのイオン会合体をつくりにくく、MG が加えられるとイオン会合体をつくりやすい PMo に徐々に変わっていくものと考えられる。図 8 (b) には混合試薬溶液 (Mo(V) : 0.2 M; H_2SO_4 : 2 M; MG: 2×10^{-4} M) 5 ml をリン酸塩溶液 20 ml に加えた場合の結果を示す。混合試薬溶液の酸性度は高いが反応は 10 分以内に終結し、また反応収率も酸性 MG 溶液を加えた場合よりも大きい。これらの結果は、既報¹⁰⁾で PQ (1,1-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) の影響について調べた結果と一致し、PMo 生成時に有機陽イオンが存在すると生成収率が大きくなることを示している。

以上のことをまとめると、MG は室温で PMo の生成を促進

Fig. 9 Effect of organic solvent on ion associate formation

Reagent solution : 1.26 M H_2SO_4 , 0.11 M Mo(V) , 2×10^{-4} M MG^+ , 30 v/v% organic solvent. (a) Acetone (1~4) and dioxane (5, 6); (b) methanol (7, 8), ethanol (9, 10); propanol (11, 12). Phosphate (10^{-6} M) 1, 5, 7, 9, 11: 0; 2: 1; 3: 2; 4, 6, 8, 10, 12: 4.

し, PMo 生成時に存在していることがより効果的である。また加熱により生成する PMo は, MG^+ と反応しにくいということである。

3.3 イオン会合体 ($\text{MG}^+ - \text{PMo}$) 生成に及ぼす有機溶媒の影響

図 9 に水と混ざり合う有機溶媒共存下での生成速度について調べた結果を示す。図 7 (b) とくらべると, 有機溶媒の存在により生成速度が増していることがわかる。 $t_{0.9}$ (60 秒における吸光度を基準とする) はアセトン, メタノール, エタノール, 1-プロパノール, 1,4-ジオキサンで 20, 10, 5, 5, 6 秒となり, 共存しない場合 (15 秒) とくらべ短時間となっている。そして ϵ (60 秒の吸光度より計算) も 7.5×10^4 , 9×10^4 , 10×10^4 , 9.5×10^4 , 9.5×10^4 アセトン以外は約 20% の増大となっている。またアセトン以外の溶媒においては, 有機溶媒の混合割合が増すにつれて速度は速くなる。有機溶媒の効果は既報¹⁰⁾で調べたように, PMo の生成速度を増すことに加えて, MG^+ 体の存在割合を増すことも加わり, イオン会合体の生成をしやすいと考えられる。有機溶媒の添加により MG^+ 体が増すことは, 図 9 の試薬ブランクの吸光度が増していることからわかる。

3.4 イオン会合体生成に及ぼす界面活性剤の影響

図 10 に陰イオン界面活性剤 (SSS, DBS) およびエーロゾル 22 の影響を示す。いずれも反応速度は遅くなり ϵ も小さくなるが, エタノールの共存により速度, ϵ はほぼ回復する。エーロゾル 22 の成分の詳細はわからないが, 染料イオンのエチルバイオレットとイオン会合体としてトルエンに抽出されるものが存在す

Fig. 10 Effect of surfactants on ion association formation

1, 2: 0.16% Aerosol; 3, 4: 0.16% Aerosol and 30% ethanol; 5, 6, 2.5×10^{-6} M SSS; 7, 8, 2.5×10^{-6} M SSS and 30% ethanol; 9, 10, 2.5×10^{-6} M DBS. Other conditions of the reagent solution are the same as Fig. 9.

Fig. 11 Effect of 25% ethanol and 0.16% Aerosol 22 on ion association formation of arsenate and silicate

1, Reagent blank; 2, 2×10^{-6} M phosphate; 3, 2×10^{-7} M arsenate; 4, 2×10^{-6} M arsenate; 5, 5×10^{-4} M silicate. Other conditions of the reagent solution are the same as Fig. 9.

るので, 陰イオン界面活性剤が含まれていると考えられる。これらの界面活性剤の影響は MG^+ とのイオン会合体生成による MG^+ の減少効果より説明される。

25% エタノールと 0.16% エーロゾル 22 を含む反応溶液を用いて, ケイ酸とヒ酸の反応速度について検討した。結果を図 11 に示す。 5×10^{-4} M ケイ酸, 2×10^{-6} M ヒ酸の反応速度はリン酸の反応速度とくらべて極めて遅いことがわかる。したがって, FIA では通常存在する程度のケイ酸, ヒ酸の妨害は無視できる。

3.5 モリブデン酸, 硫酸, マラカイトグリーン濃度の影響

図 12 (a)~(c) に Mo(V) の濃度の影響を示す。 Mo(V)

Fig. 12 Effect of molybdate concentration on the formation of the ion associate

MG, 2×10^{-4} M; H_2SO_4 , 1.26 M. Mo(VI) (M): (a), 0.056; (b), 0.11; (c), 0.2. Phosphate (10^{-6} M): 1, 0; 2, 1; 3, 2; 4, 4. Reference, water; $\lambda = 650$ nm

Fig. 13 Effect of malachite green concentration on the formation of the ion associate

H_2SO_4 , 1.26 M; Mo(VI) , 0.11 M. MG (10^{-4} M): (a), 1; (b), 2; (c), 4. Phosphate (10^{-6} M): 1, 0; 2, 1; 3, 2; 4, 4. Reference, water; $\lambda = 650$ nm.

濃度の増大とともに反応速度も増すが、同時に試薬ブランクも増大する。両者と約 15 秒後の検量線の直線性 (1 m の反応チューブを通過するに要する時間) を勘案すると、FIA には 0.11 M 程度が好ましいであろう。

H_2SO_4 濃度の影響について、0.64~1.64 M の範囲で調べた。 H_2SO_4 濃度の増大とともに反応速度は遅くなり、試薬ブランクも小さくなった。また 1 M 以下となるとケイ酸、ヒ酸も反応し、妨害となる。15 秒後の検量線の直線性も考慮して 1.26 M を用いることとした。

図 13 に MG 濃度の影響を示す。MG 濃度が低すぎると、反応初期においてイオン会合するのに必要な HMG^{2+} が不足し、検量線は直線性を示さない。 2×10^{-4} M 以上存在すれば検量線の直線性もよい。試薬ブランクも考慮し、 2×10^{-4} M を使用すること

Fig. 14 Effect of alcohol on the linearity of the calibration graph

Reagent solution: 1.26 M H_2SO_4 , 2×10^{-4} M MG, 0.11 M molybdate and 25% alcohol. (a) without alcohol; (b), methanol; (c), ethanol; (d), propanol. Phosphate (10^{-6} M) A, 0; B, 2; C, 4; D, 8.

Fig. 15 Effect of alcohol and surfactants on the linearity of the calibration graph

Reagent solution: 1.26 M H_2SO_4 , 2×10^{-4} M MG, 0.11 M molybdate, 25% alcohol and 0.16% Aerosol 22. (a), methanol; (b), ethanol; (c), propanol. Phosphate (10^{-6} M): A, 0; B, 2; C, 4; D, 8.

とした。

3.6 フローインジェクション分析用試薬溶液

3.1~3.5 の検討結果を基に、2.2 の試薬溶液を調製し検討した。結果の一部を図 14 に示す。有機溶媒が共存しない場合、リン酸イオンが低濃度域で検量線は直線とはならないが、エタノールを添加すると広い濃度範囲で直線性を示す。しかし、高濃度試料を注入するとベースラインのドリフトがいちじるしくなる。図 15 のように 25% アルコールと 0.16% エーロゾル 22 を共存

Fig. 16 Flow signals for orthophosphate

Reagent solution : 1.26 M H_2SO_4 , 2×10^{-4} M MG, 0.11 M molybdate, 25% alcohol and 0.16% Aerosol 22. A, tap water ($\text{P} : 1.5 \times 10^{-7}$ M); B, Zasu River; L, Zasu River ($\text{P} : 6.3 \times 10^{-6}$ M). C~K, standard phosphate solution (10^{-6} M) : C, 0; D, 0.5; E, 1.0; F, 2.0; G, 0; H, 2; I, 4; J, 6; K, 8.

させると、検量線の直線性が改善されベースラインのドリフトもかなり小さくなる。

アルコール、エーロゾル 22 共存の反応試薬溶液を用いた場合、 5×10^{-4} M ケイ酸はまったく妨害せず、 5×10^{-3} M ケイ酸で 4×10^{-7} M のリン酸に相当するピーク高を与えるのみであった。また、 3×10^{-6} M ヒ酸はリンの定量を妨害せず、 3×10^{-5} M の場合、 1×10^{-7} M のリン酸に相当するピーク高を与えた。

図 16 に水道水、河川水試料のシグナルと低濃度、高濃度領域の検量線用シグナル例を示す。 10^{-7} M から 10^{-5} M (数 ppb~数 100 ppb) 程度のリン酸イオンを含む試料に適用できることがわかる。本 FIA は、既報⁷⁾のものにくらべ、反応コイルを 5 分の 1 に短くすることができ、ドリフトの抑制が可能となった。検量線も低濃度まで直線性を示し、数 ppb のリン(オルトリン酸イオン)の測定も可能となり、高感度化が達成された。

4 結 語

流れ分析への応用を志向して、モリブドリン酸生成反応におけるマラカイトグリーンへの役割、有機溶媒による反応促進効果、界面活性剤の効果について検討した。反応促進効果と検量線の直線性改善の観点から、エタノールの効果は大きい。そしてある種の陰イオン界面活性剤は反応を減速し、好ましいとは言えないが、FIA におけるベースラインのドリフトを低減させる効果を持っている。これらを共存させることにより、高感度なリンの FIA が確立された。

本研究は文部省科学研究費補助金一般研究 (B) (課題番号 01470037) によった。

Acceleration Effect of Alcohols on Ion Association of Molybdophosphate with Malachite Green and Its Use to the Sensitive Flow-Injection Determination of Phosphate

Shoji MOTOMIZU, Yuko YASUDA and Mitsuko OSHIMA

*Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University;
3-1-1 Tsushimanaka, Okayama-shi 700 Japan*

Molybdophosphoric acid (PMo) reacts with malachite green (MG^+) to form colored complex in an acidic medium. This reaction can be assumed to be the formation of an ion associate ($\text{MG}^+\text{-PMo}$) as follows: $n\text{HMG}^{2+} + \text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40} \longrightarrow (\text{MG}^+)_n\text{H}_{3-n}\text{PMo}_{12}\text{O}_{40} + 2n\text{H}^+$ ($n \leq 3$) where HMG^{2+} is a protonated form of MG^+ . HMG^{2+} shows the absorption maximum at 446 nm, whereas the ion associate shows the absorption maximum at about 650 nm. It was found that MG acts as an accelerator for the formation of PMo, as well as a counter ion of the ion associate. Organic solvent such as methanol, ethanol and propanol, which are miscible with water, also accelerate the formation of $\text{MG}^+\text{-PMo}$ as well as the formation of PMo. On the other hand some anionic surfactants acted as a moderator. However, this degraded formation rate of $\text{MG}^+\text{-PMo}$ was restored by the addition of alcohols. The coexistence of surface active agent (TECHNICON Wetting agent, Aerosol 22) and 25% ethanol in the reagent solution can diminish the baseline drift in a flow injection analysis (FIA). The addition of ethanol contributed to the improvement of the linearity of a calibration graph of phosphate, as well as the sensitivity enhancement. Using the proposed reagent solution (0.11 M Mo(V) , 1.26 M H_2SO_4 , 2×10^{-4} M MG^+ , 25% ethanol and 0.16 v/v% Aerosol 22), orthophosphate at the concentration ranges of 1~500 ppb in water samples could be determined by FIA.