

緩衝液との反応を利用するフローインジェクション滴定分析法

今任稔彦

九州大学工学部 〒812 福岡市東区箱崎6-10-1

Flow-injection titration using reaction with buffer solution

Toshihiko IMATO

Faculty of Engineering, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku,
Fukuoka 812 Japan

1. はじめに
2. 中和滴定
 - 2.1 電位差及び吸光度検出に基づく酸・塩基の定量原理
 - 2.2 濃厚酸塩基の定量
 - 2.3 アミノ酸の定量
 - 2.4 非水溶媒中の酸塩基の定量
 - 2.5 油分のけん化価測定
3. キレート滴定
 - 3.1 吸光度検出に基づく金属イオンの定量原理
 - 3.2 電位差検出に基づく金属イオンの定量原理
 - 3.3 水中の全硬度の測定
 - 3.4 遷移金属イオンの定量
 - 3.5 希土類イオンの定量
 - 3.6 吸光光度検出に基づくマグネシウムイオンの定量原理
 - 3.7 吸光光度検出に基づく亜鉛イオンの定量
 - 3.8 吸光光度検出に基づくランタンイオンの定量
4. 酸化還元滴定
 - 4.1 電位検出に基づく酸化還元性成分の定量原理
 - 4.2 濃厚過酸化水素の定量
 - 4.3 残留塩素の定量
 - 4.4 臭素酸イオンの定量
 - 4.5 還元糖の定量
 - 4.6 アルコールの定量
 - 4.7 クロム(VI)の定量
 - 4.8 ORP電極-臭化物イオン電極複合電極検出器を用いるフェノール及び不飽和化合物の定量
5. おわりに

1. はじめに

滴定分析法は、常量ではあるが精度の高い分析法として今日もなお化学工業における工程管理や品質管理分析、医薬品や食品の分析、あるいは環境分析や臨床分析において広く利用されている。滴定分析法は一般に時間を要する方法で、自動滴定装置の普及とともに省力化されてはいるが、なお手動的な面を残しており、さらなる迅速化が期待されている。

流れを利用して滴定分析を迅速化する試みは、これまでに多くの研究者によってなされてきている。Ruzickaら¹⁾はFIA研究の初期から「FIA滴定法」と称して、滴定分析法のFIA化を検討している。その方法は、流れの中に注入された試料が指数関数的な濃度勾配をもつ試料ゾーンとなることを利用している。すなわちFIAマニホールドに滴定剤を含む試薬溶液を流しつつ、これに試料液を注入すると、試薬溶液の液性(pHなど)は試料注入により変化するが、この時点から試料と滴定剤との反応によって液性が元にもどる時点までに加えられる試薬溶液の容積(「ピーク幅」に相当する)が定量に用いられている。この方法では「ピーク幅」を定量尺度とするためにFIA法の迅速性がやや低下し、しかも連続分析法ではなく間欠分析法である。これに対して、Astrom²⁾は「ピーク幅」ではなく「ピーク高さ」を定量尺度とする中和滴定法を考案し、「Single Point Titration」法と呼んでいる。この場合の試薬溶液の流れには、溶液のpHが加えられた試料の酸や塩基の量に対して直線的に変化するよう調製した溶液を用いている。彼の方法ではガラス電極の電位変化をピーク高さとして検出するもので、分析速度は極めて速く、キャリア液の流量を増加することにより最高720 sample/hrの分析速度を実現している。

著者らは、Astromの方法をさらに発展させ、単純なpH緩衝液と適切に選択した中和指示薬との混合液を利用することにより、電位検出法のみならず吸光光度検出法に適用できることを明かにし、濃厚な酸塩基の定量、ホルモール滴定法に応用したアミノ酸の定量、さらには非水溶媒中和滴定法に展開した。さらに著者らの方法をキレート滴定及び酸化還元滴定法にも拡大している。著者らの方法の特徴は、いずれの滴定においても対応する緩衝液を試薬流れに用いる点にある。すなわち、中和滴定法においてはpH緩衝液の流れを、キレート滴定法には金属イオン濃度緩衝液を、酸化還元滴定法においては酸化還元系電位緩衝液を利用する。例えば、中和滴定法における酸の分析では、pH緩衝液に酸試料を注入すると、緩衝液の組成が変化するが、この変化をpHガラス電極検出器や、緩衝液に含ませたpH指示薬の変色を吸光光度検出器などで検出するものである。本ミニレビューではこれまでに報告した種々の分析例について述べる。

2. 中和滴定

2.1 電位差及び吸光度検出に基づく酸・塩基の定量

原理

Fig.1にフロー系を示す。一方の流路(RS)に試薬溶液として指示薬HInを含む弱酸HA及びその共役塩基AからなるpH緩衝液を流し、他方の流路(CS)の水の流れの中に試料を注入する。緩衝液及び水を同じ流量で送液する。HA及びHInの解離定数をそれぞれ $K_{a,HA}$ 及び $K_{a,HIn}$ とすると、試料が注入されていないときの検出器Dにおける混合液のpHは式(1)、(2)で表わされる。

$$pH = pK_{a,HA} + \log(C_A/C_{HA}) \quad (1)$$

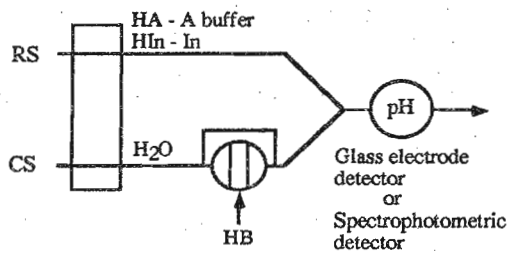


Fig. 1 Manifold of FIA for acids and bases using pH buffer solution

$$\text{pH} = \text{p}K_{a, \text{HIn}} + \log(C_{\text{In}}/C_{\text{HIn}}) \quad (2)$$

ここで、 C_{HA} および C_{A} はそれぞれ緩衝液中の酸HAとその共役塩基A⁻の濃度であり、 C_{HIn} および C_{In} はそれぞれ緩衝液中の酸型および塩基型の指示薬濃度である。(1)(2)式から(3)式の関係が得られる

$$C_{\text{A}}/C_{\text{HA}} = k_r (C_{\text{In}}/C_{\text{HIn}}) \quad (3)$$

ここで、 $k_r = K_{a, \text{HA}}/K_{a, \text{HIn}}$ である。いま、水の流りに試料の例えば酸HBが注入されると、緩衝液と混合し、式(4)の反応によって、緩衝液中の $C_{\text{A}}/C_{\text{HA}}$ の割合が変化する。



この変化は式(3)に従い指示薬の $C_{\text{In}}/C_{\text{HIn}}$ の変化となり、吸光光度検出器を用いる場合、 C_{In} 、 C_{HIn} の変化を測定することにより試料HBの濃度を吸光度変化のピーク高として定量できる。また、ガラス電極検出器を用いる場合、同様に、 $C_{\text{A}}/C_{\text{HA}}$ の変化を緩衝液のpH変化として直接ガラス電極によりその電位変化のピーク高として測定できる。

ここで、本法の定量的考察のために、Fig.1の水の流れの代わりに試料を連続的に流す場合を考える。吸光光度検出の場合、試料HBの混合による指示薬のHInの濃度変化 ΔC_{HIn} を指示薬全濃度 C_{HIn}^T 、緩衝液中の酸の全濃度 C_{HA}^T 及び試料HBの濃度 C_{HB} を用いて表わすと、式(5)ようになる。

$$\Delta C_{\text{HIn}}/C_{\text{HIn}}^T = [k_r (C_{\text{HA}} + C_{\text{HB}}) / \{C_{\text{A}} - C_{\text{HB}} + k_r (C_{\text{HA}} + C_{\text{HB}})\} - k_r C_{\text{HA}} / (C_{\text{A}} + k_r C_{\text{HA}})] / 2 \quad (5)$$

Fig.2に式(5)の計算曲線を示す。 $k_r=1$ のとき、すなわち緩衝液の酸HAと指示薬HInの酸解離定数が等しいときは ΔC_{HIn} は C_{HB} と直線の関係が成立することが分かる。したがって、HInの吸光度変化は試料の酸の濃度に比例するので、吸光度へ変化を測定することにより酸の定量が可能である。

ガラス電極による電位差検出の場合は、試料HBの混合による電位変化 ΔE は(6)式で表される。

$$\Delta E = 0.059 \log \left[\frac{1 + C_{\text{X}}/C_{\text{HA}}}{1 - C_{\text{X}}/C_{\text{A}}} \right] \quad (\text{V}, 25^\circ\text{C}) \quad (6)$$

ここで、 C_{X} は式(4)の反応によって生成したHAの濃度であり、HBが解離定数 $K_{a, \text{HB}}$ の弱酸であるとき C_{X} は次式で表される。

$$C_{\text{X}} = \left[K_r (C_{\text{A}} + C_{\text{HB}}) + C_{\text{HA}} - \sqrt{\{K_r (C_{\text{A}} + C_{\text{HB}}) + C_{\text{HA}}\}^2 - 4(K_r - 1)K_r C_{\text{A}} C_{\text{HB}}} \right] / 2(K_r - 1) \quad (7)$$

ここで、 $K_r = K_{a, \text{HB}}/K_{a, \text{HA}}$ であり、HBが強酸ならば $C_{\text{X}}=C_{\text{HB}}$ となる。

緩衝液中の酸と共役塩基の初濃度が等しいとき、すなわち $C_{\text{HA}}=C_{\text{A}}$ のとき、式(6)(7)を用いて ΔE と $C_{\text{HB}}/C_{\text{HA}}$

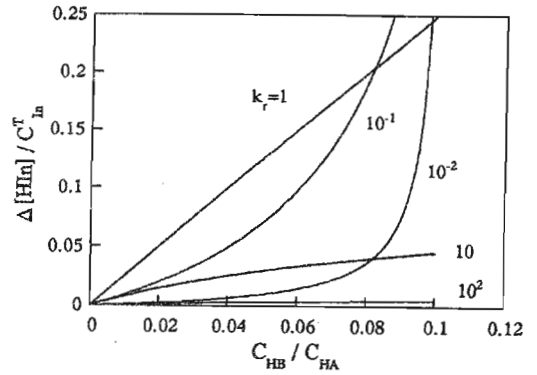


Fig. 2 Theoretical calibration curves for acid based on spectrophotometric detection (Eq. 5)

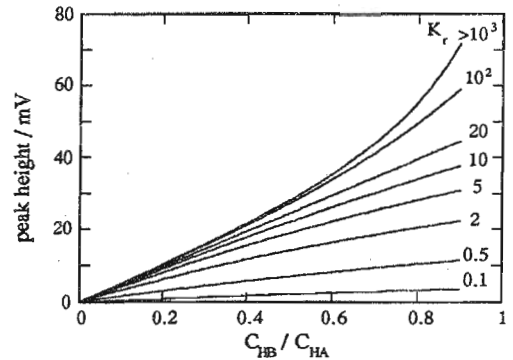


Fig. 3 Theoretical calibration curves for acids based on potentiometric detection (Eqs. 6 and 7)

の関係を表わした計算曲線をFig.3に示す。 C_{HA} は一定であるので、 C_{HB}/C_{HA} が0.5程度までは ΔE は C_{HB} にほぼ比例していることが分かる。 ΔE と C_{HB}/C_{HA} の間の直線関係の傾き(感度)は緩衝液中の酸HAと試料の酸HBの酸解離定数の比 K_1 が大きくなるにしたがって増加し、 K_1 が 10^3 以上になると同一の検量線となる。

Fig.1のフロー系のような試料を注入するFIA法では、検出器に到達するまでの試料ゾーンの希釈(分散度)を考慮する必要があるが、分散度がコントロールされたフロー条件では、検出器での分散度は一定と考えられる。従ってFIA法においては、上述の連続流れ系で導出した吸光度変化量及び電位変化量に比例した変化量が応答ピークとして得られる。このピーク高さより試料の酸が定量される。塩基が試料の場合も同様の原理に基づいて定量される。

2.2 濃厚酸塩基の定量³⁾

本法による酸塩基の測定の濃度範囲及び感度は使用するpH緩衝液の濃度に依存する。従って濃厚な酸や塩基の定量を本法により行うためには、できるだけ高い濃度の緩衝液を用いればよい。また、FIA法の特徴は試料の分散度(流れの中での希釈度)が自由に制御できる点である。注入容積を小さくすることにより、注入試料を大分散させ、試料を希釈できる。Fig.4は以上の考慮により10M程度のリン酸を直接定量した例である。同様にして、濃厚な硫酸やガラス電極では測定が困難である水酸化ナトリウムも定量が可能であった。

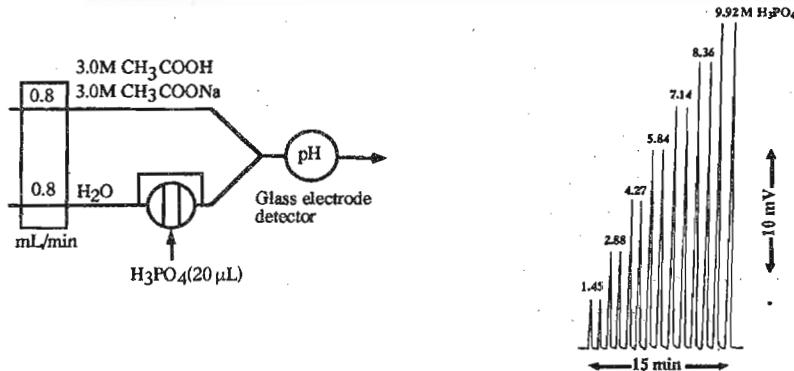


Fig. 4 Flow system for determination of concentrated acids and bases and calibration peak of phosphoric acid

2.3 アミノ酸の定量⁹⁾

両性イオン基を有するアミノ酸たとえばグリシン、L-バリン、 β -アラニン、L-グルタミン酸などの水中での酸としての酸解離定数 pK_a 値は9~10程度である。従ってアミノ酸を直接中和滴定で定量することはできないが、ホルモール滴定法により定量できる。すなわち、アミノ酸をホルマリンと反応させることによりその塩基性を消失させ、アミノ酸をより強い酸(例えば約10%ホルマリン中での pK_a 値は6~7程度になる)に転換し、水酸化ナトリウム水溶液で滴定することができる。例えばグリシンを例にとると式(8)に示すようにグリシンはホルマリンと反応してN-ジ(ヒドロキシメチル)アミノ酸を生成する。この酸の10%ホルマリン中で pK_a 値は約5.7-5.9である。



このホルモール滴定法を本法に応用したアミノ酸の分析例を示す。フロー系とグリシンの検量線ピーク例をFig.5に示す。注入されたアミノ酸試料はまずホルマリン水溶液と合流し、式(8)の反応によりより強い

酸に変換されたのち、アルカリ性リン酸系pH緩衝液(Na_2HPO_4 - Na_3HPO_4)と合流する。転換されたアミノ酸とpH緩衝液との反応により生じたpH変化をガラス電極で検出している。この他、バリン、アラニンやグルタミン酸などもグリシン同様定量できる。バリンとアラニンはグリシンとはほぼ同じ感度を示し、グルタミン酸(二塩基酸)はグリシンの約2倍の検出感度であった。これも有機酸の分析の場合と同様に、グルタミン酸とホルマリンとの反応により生成した酸が二塩基酸として挙動するためである。また、本法をクロマトグラフ法と連結すればアミノ酸の分離定量が可能であることも示している。

清酒中にはエチルアルコールや糖類のほか、コハク酸や乳酸などの有機酸やグリシンをはじめとするアミノ酸が含まれており、これらは清酒の品質を決める重要な成分である。本法を清酒中の全有機酸及び全アミノ酸の定量に適用したところ、本法による定量値は国税庁が定める所定分析法(滴定分析法)による定量値と良い相関関係があった。

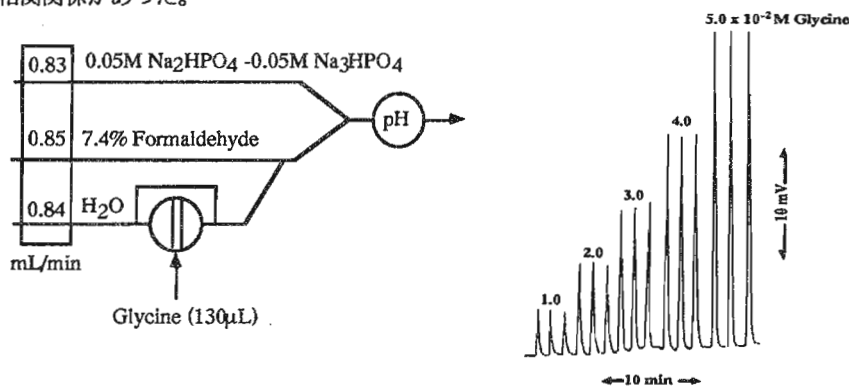


Fig 5 Flow system for determination of amino acid and calibration peaks for glycine

2.4 非水溶媒中の酸塩基の定量^{12,14)}

非水溶媒中和滴定は、水に不溶性又は水中では酸や塩基としての強度が弱く、滴定が困難な弱酸や弱塩基の定量に有用な方法である。この滴定法は、医薬品あるいは潤滑油や食料油中の酸塩基の定量に応用されている。この項では、2.2項で述べた水溶液系のFIA中和滴定法を非水溶媒系に拡張するため、2-プロパノール/トルエン混合溶媒やエタノールなどの非水溶媒を用いた酸、塩基の吸光光度検出法並びに電位差検出法に基づくFIA法について述べる。

モクロロ酢酸-モノクロロ酢酸ナトリウムを2-プロパノール/トルエン混合溶媒に溶解したpH緩衝液に適した吸光指示薬を探索したところ、プロモフェノールブルーが2.1項を述べた条件を満足することが分かった。エタノールを溶媒とする酪酸系緩衝液(酪酸(見掛けの pK_a , $\text{pK}_a=8.1$)と水酸化テトラブチルアンモニウム(TBAOH)の混合液)(BA緩衝液)の流れを用いて、サリチル酸やトリオクチルアミンなどの試料について測定したところ、水溶液系の場合と同様にガラス電極の電位変化(ピーク高さ)が試料濃度に比例した検量線が得られた。この場合の種々の酸や塩基に対する感度は、水溶液中の酸及び塩基の場合と同様に、緩衝液中の酸と試料の酸の解離定数の比(K_r)に依存している。すなわち、酢酸の α 位塩素置換体の一つであるモノクロロ酢酸($\text{pK}_a=5.8$)とそのTBA塩溶液から成るモノクロロ酢酸系緩衝液(MCA緩衝液)を用いた場合、塩酸やトリクロロ酢酸(見掛けの $\text{pK}_a=2.8$)及びp-トルエンスルホン酸(見掛けの $\text{pK}_a=0.5$)に対する感度(検量線の直線部分の傾き)は6~7 mV/mMで、ほぼ同程度であったが、 pK_a がモノクロロ酢酸とほぼ等しいサリ

チル酸(pKa=5.7)の感度は上述の酸の1/2の感度であり、モノクロロ酢酸よりも大きなpKaをもつ安息香酸(pKa=7.6)はほとんど検出されなかった。

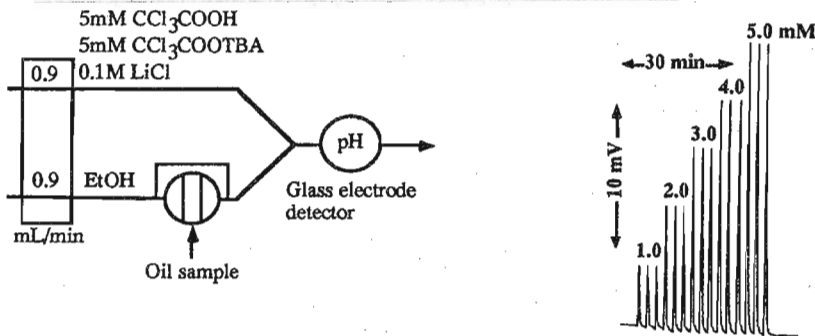


Fig. 6 Flow system for determination of total alkalinity in nonaqueous solvent and calibration peak of trioctylamine in ethanol

BAやMCA緩衝液及び異種の酢酸の α 位塩素置換体とTBA塩からなる4種の緩衝液を用いた場合のアミン類の検出感度をTable 1に示す。BA緩衝液を用いた場合、プロピルアミンに対する感度はそれらのpKaの序列と一致して一級>二級>三級の順に小さくなる。MCA緩衝液及びジクロロ酢酸(pKa=4.2)、トリクロロ酢酸(pKa=2.8)からなるDCA、TCA緩衝液ではプロピルアミン(pKa=7.5~9.1)に対する感度はアミンの級に関わらずほぼ同程度である。一方、芳香族アミン(pKa=2.2~3.5)の場合、BA、MCA緩衝液では検出できないが、DCAさらにはTCA緩衝液へとpKa値が小さくなるにしたがって、検出感度は大きくなり、他のアニリン誘導体に対する感度の高低

も、pKa値の大小に対応している。すなわち、アミンの感度の差異は、2.1項で述べた理論的予測と一致して緩衝液中の酸と試料のアミン類のpKaの差に依存する。

Fig. 6に示すフロー系を用いて潤滑油中の全アルカリ価を測定した結果をTable 2に示す。分析値はバッチ系(JIS法)とフ

ロー系(本法)とによる全アルカリ価である。潤滑油試料AとBにはジシクロヘキシルアミン、Dにはモノエタノールアミン、CとEにはジエタノールアミンが含まれている。それぞれのアミンを標準試料として作成した検量線を用いることにより、フロー系において求めた全アルカリ価は、バッチ系での分析値とよく一致している。本法が潤滑油だけでなく、食料油など油脂製品中の酸価、アルカリ価の迅速定量へ応用できるものと期待している。

Table 1. Sensitivity to amines

Amines and apparent pKa**	Buffer***: apparent pKa** of buffer acid	Sensitivity* (mV/mM)			
		butyrate buffer	monochloro-acetate buffer	dichloro-acetate buffer	trichloro-acetate buffer
		8.1	5.8	4.2	2.8
C ₃ H ₇ NH ₂	9.1	8.1	6.8	6.8	6.8
(C ₃ H ₇) ₂ NH	8.8	7.2	6.7	6.8	7.0
(C ₃ H ₇) ₃ N	7.5	4.4	6.7	7.0	7.3
(C ₂ H ₅) ₃ N	8.2	5.8	6.8	7.2	6.6
(C ₆ H ₁₃) ₃ N	7.4	4.1	6.0	6.1	6.1
(C ₈ H ₁₇) ₃ N	7.4	4.2	6.4	6.6	6.2
C ₆ H ₅ NH ₂	3.4	ND	ND	1.8	6.8
C ₆ H ₅ NH(CH ₃)	2.4	ND	ND	ND	4.3
C ₆ H ₅ N(CH ₃) ₂	2.2	ND	ND	ND	3.5

* Sensitivity obtained by the glass-pH electrode detector, ** Apparent pKa obtained by titration in EtOH, *** Buffer solution: 5 mM acid-5mM tetrabutylammonium salt of acid, Solvent: EtOH, ND: not detected

Table 2 Total alkalinity of lubricating oil

Lubricating oil	Total alkalinities (mg KOH / g-oil)	
	Batch system	Flow system
(A)	45.9 ± 0.2	47.5 ± 0.5
(B)	53.0 ± 0.2	52.1 ± 0.7
(C)	21.4 ± 0.1	21.4 ± 0.4
(D)	95.3 ± 1.4	93.4 ± 1.4
(E)	54.8 ± 0.1	53.0 ± 0.9

Buffer: ethanol solution of 5 mM CCl₃COOTBA-5 mM CCl₃COOH containing 0.1 M LiCl

2.5 油分のけん化価測定²⁰⁾

従来、油脂のけん化価測定は、試料の油脂を過剰に加えた水酸化カリウムでけん化し、未反応の水酸化カリウムを塩酸液で滴定することにより行われているが、けん化反応(加水分解)だけでも30分以上の加熱時間が必要とされている。そこで、エタノール溶媒としてメチルレッドを含む酪酸-酪酸カリウム系緩衝液を用いて、この緩衝液の組成変化をガラス電極の電位変化、また吸光度検出器法でメチルレッドの吸光度変化を測定し、油分のけん化を測定する方法を開発した。フロー系をFig.7に示す。けん化反応に用いるの塩基溶液としては、吉草酸エチル試料より鎖長の長い脂肪酸エステル試料の場合、水酸化カリウムの代わりに水酸化テトラブチルアンモニウム(TBA·OH)溶液が適していた。これは、水酸化カリウムを用いた場合にはけん化反応により生成するカリウム塩の溶媒のエタノールに対する溶解度が低く、反応コイルを閉塞する危険性があるが、TBA·OHの場合はその危険性がないためである。ガラス電極検出器により得られたオレイン酸エチルの検量線ピークをFig.7に示す。反応コイルR.C.₁中の試料の滞留時間は20分程度であるが、注入試料200 μ lでは3分間隔の注入においてもピーク間のキャリアーオーバーは無視できる。

種々のエステルに対する感度を調べたところ、吉草酸エチルの感度は酢酸エチルのその1/2程度であるが、他の脂肪酸エステルに対する感度もアルキル鎖長の長さに依らず両検出法とも吉草酸エチルの感度と同感度をであり、酢酸エチル以外の他のエステルはけん化反応の進行度が同じ程度である。なお、リノール酸エチルの場合、けん化反応後の生成物が黄色に着色するため、吸光度検出器では誤差が大きく、ガラス電極検出器を用いた方が適していた。

本法を市販のバターのけん化価測定に応用した。その場合、ラウリン酸エチルを標準試料として検量線を作成し、これよりバターのけん化価を求めた結果、その値は 199 ± 4 (mgKOH/g)で、従来法による分析値 201 ± 7 (mg KOH/g)とよく一致した。

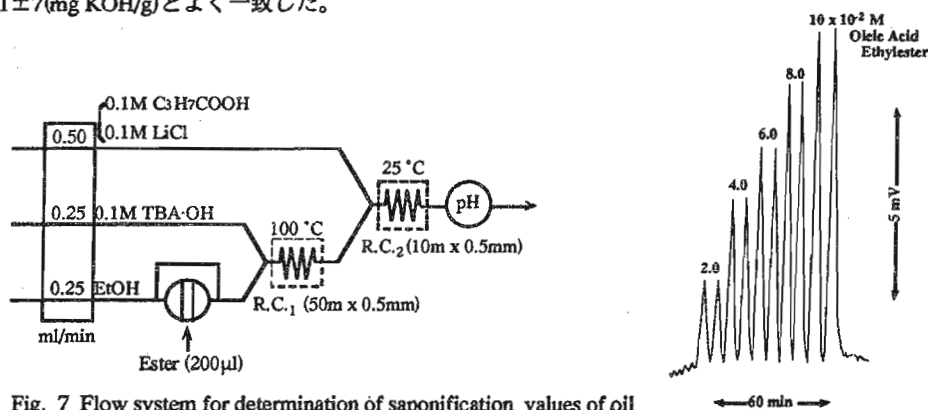


Fig. 7 Flow system for determination of saponification values of oil

3. キレート滴定

3.1 吸光度検出に基づく金属イオンの定量原理⁴⁾

本法により金属イオンを光学的に定量する場合は、Fig.8に示すフロー系を用いる。すなわち、一方の流路には金属キレート指示薬Inを含む金属イオン M^{2+} （以下イオン価数を省略）と配位子Lからなる金属イオン緩衝液を流し、他方にはキャリアー液として水を流す。指示薬を含有する金属イオン緩衝液は、金属イオンと金属イオンに対して過剰濃度の配位子からなる溶液であるので、試料を注入しないときの二流路の合流後の溶液に対して次の二つの平衡関係が成立する。

$$M + L = ML \quad K_{ML} = C_{ML}/(C_M \cdot C_L) \quad (8)$$

$$M + In = MIn \quad K_{MIn} = C_{MIn}/(C_M \cdot C_{In}) \quad (9)$$

ここで K_{ML} 及び K_{MIn} はそれぞれML錯体及びMIn錯体の安定度定数である。また C_i は化学種 i の濃度である。

水の流路に金属イオンMを含む試料が注入されると、試料は水の流路によって運ばれ、指示薬含有金属イオン緩衝液の流れと合流する。試料中の金属イオンは緩衝液中の遊離のL及びInと錯形成するため、ML錯体及びMIn錯体の濃度が増加する。もし、ML錯体とMIn錯体の安定度定数が等しい場合には、注入した金属イオンは式(10)が成立するように遊離の配位子L及び指示薬Inに等しい濃度比になるように分配されて錯形成する。注入された金属イオン濃度に比例してMIn錯体濃度が増加するので、MIn錯体の吸光度あるいは蛍光強度の変化を測定すれば、金属イオンの定量が可能となる。

$$C_{ML}/C_L = C_{MIn}/C_{In} \quad (10)$$

そこで、注入した金属イオン濃度と生成するMIn錯体濃度の関係は以下のような計算により求めることができる。金属イオンM、配位子L及び指示薬Inについての質量均衡は次式で表される。

$$C_M^T = C_M + C_{ML} + C_{MIn} \quad (11)$$

$$C_L^T = C_L + C_{ML} \quad (12)$$

$$C_{In}^T = C_{In} + C_{MIn} \quad (13)$$

ここで、 C_M^T 、 C_L^T 、 C_{In}^T はそれぞれ金属イオン、配位子及び指示薬の分析濃度を示す。式(8)、(9)および式(11)~(13)より次の C_{MIn} に関する3次方程式が得られ、この解より C_{MIn} を求めることができる。

$$K_{ML} \cdot K_{MIn} \cdot C_M^3 + [(K_{ML} + K_{MIn}) + K_{ML} \cdot K_{MIn} (C_L^T + C_{In}^T - C_M^T)] C_M^2 + [K_{ML} \cdot C_L^T + K_{MIn} \cdot C_{In}^T - C_M^T (K_{ML} + K_{MIn}) + 1] C_M - C_M^T = 0 \quad (14)$$

Fig.9は、式(14)の解から得られた C_M^T と C_{MIn} の関係を示す、いわゆる検量線の計算曲線である。Fig.9から分かるように、ML錯体の安定度定数とMIn錯体の安定度定数が等しいときには、検量線は直線となる。また、 $K_{ML} > K_{MIn}$ の場合には下に凸の曲線となる。 $K_{ML} < K_{MIn}$ の場合には上に凸の曲線となる。これは注入された金属イオンが、前者は配位子の方に、後者の場合は指示薬の方に優先的に結合するためである。本法の感度(検量線の傾き)に及ぼす緩衝液濃度及び指示薬濃度の影響も式(14)の解から予測できる。緩衝液濃度が減少するにつれて、すなわち配位子濃度が低くなるにつれて感度が増加するが、分析可能な濃度範囲(検量線が直線となる範囲)が狭くなる。これは配位子濃度が低くなるにつれ、同じ濃度の金属イオンが注入されても生成するMIn錯体の濃度が増加するためである。また一方、指示薬濃度が増加するに従い感度が高くなる。これも同様の理由であ

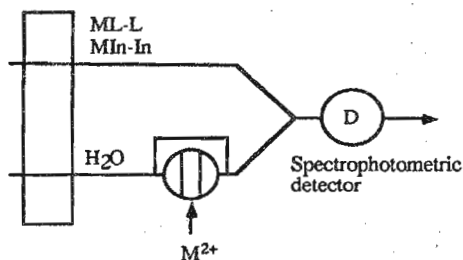


Fig. 8 Spectrophotometric determination of metal ion by using metal buffer solution

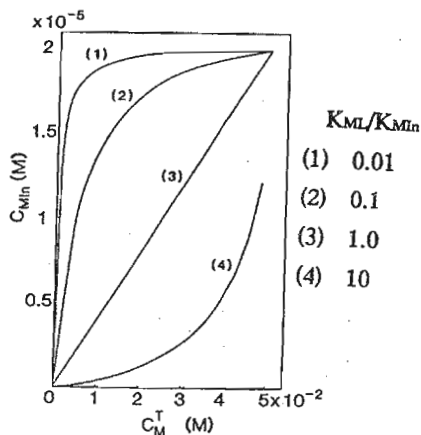


Fig. 9 Theoretical calibration for metal ions

る。以上のことから、ML錯体及びMIn錯体の安定度定数の等しい指示薬と金属緩衝液を選択すること、また緩衝液の組成を適当に選択することにより検量線の直線性及び分析可能な金属イオンの濃度範囲及び感度を調節できることが予測される。さらに、錯体の安定度の大きさは緩衝液中の配位子と金属試料との錯体の生成に伴う溶液のpH調整にも影響し、分析感度に依存することになる。

3.2 電位検出に基づく金属イオンの定量の原理⁵⁾

金属イオン濃度緩衝液を利用した金属イオンの分析を電位検出器で行う場合、その分析原理は光学的検出法とほぼ同様である。例えば、金属イオン濃度緩衝液として一定の濃度比の配位子Lと銅イオン Cu^{2+} からなる銅イオン濃度緩衝液と銅イオン電極検出器を用いる場合を考える。フロー系はFig.8と同様である。キャリアの水の流れに金属イオンMを含む試料を注入すると、金属イオンは銅イオン濃度緩衝液中の配位子と錯体MLを形成し、銅イオン濃度緩衝液中の配位子の濃度が減少するので、銅イオン濃度緩衝液中の CuL 錯体が解離し、遊離の Cu^{2+} イオン濃度が増加することになる。この増加した銅イオン濃度は下に示すように注入した金属イオン濃度と関係があるので、この遊離の銅イオン濃度の変化を銅イオン

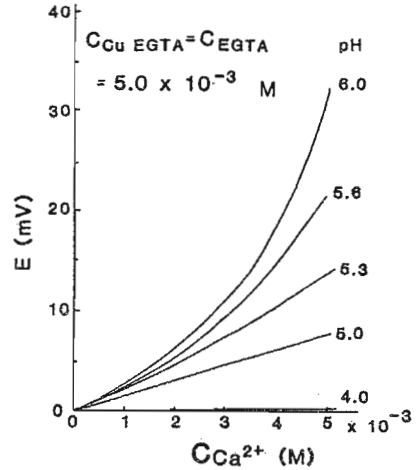


Fig. 10 Theoretical calibration curve for calcium ion

電極の電位変化として検出することにより、金属イオン試料を間接的に定量できる。銅イオン電極の試料の混合による電位変化 $\Delta E(V)$ はNicolisky式に従って(15)式で表される。ここで $C_{Cu,0}$ および C_{Cu} はそれぞれ金属イオン試料を注入前及び注入後の銅イオン濃度緩衝液中の遊離の銅イオン濃度で、(16)式の解である。 $C_{Cu,0}$ は $C_M^T=0$ のときの(16)の解に対応する。 $k_{Cu,M}^{pot}$ は銅イオン電極の M^{2+} イオンに対する選択係数である。

$$\Delta E = 0.030 \log \left[\frac{(C_{Cu} + k_{Cu,M}^{pot} C_M)}{C_{Cu}^0} \right] \quad (\text{Volt, } 25^\circ\text{C}) \quad (15)$$

$$K_{CuL}(K_{CuL} - K_{ML})C_{Cu}^3 + [(C_L^T - C_{Cu}^T)K_{Cu}^L + (2C_{Cu}^T + C_M^T - C_L^T)K_{CuL}K_{ML} + K_{CuL} - K_{ML}]C_{Cu}^2 - [(K_{CuL} - 2K_{ML}) + (C_{Cu}^T + C_M^T - C_L^T)K_{CuL}K_{ML}]C_{Cu}^T C_{Cu} - (C_{Cu}^T)^2 \cdot K_{ML} = 0 \quad (16)$$

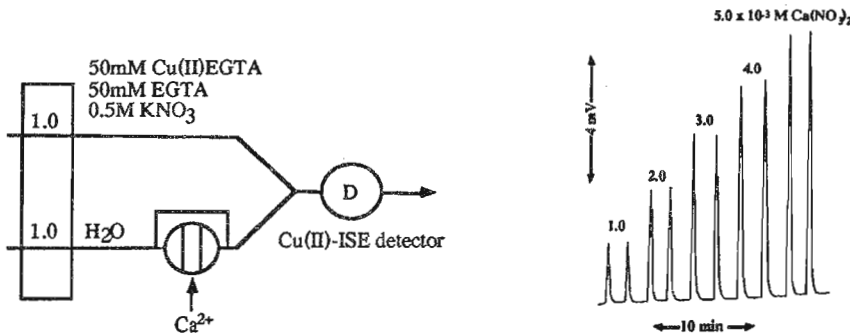


Fig. 11 Flow system for selective determination of calcium ion and calibration peaks for calcium ion

(15)式と(16)式の計算曲線の一例として、銅イオンとEGTAからなる銅イオン濃度緩衝液を用いた場合のカルシウムイオンに対する応答電位をFig.10に示す。このような計算によって銅イオン濃度緩衝液のpHとカルシウムイオンとマグネシウムイオンに対する応答感度を算出し、緩衝液のpHを5付近にすることによりEGTAの特徴を生かしてカルシウムイオンを選択的に定量する条件を設定できる。検量線ピークをFig.11に示す。この場合、0.01Mのマグネシウムイオンの共存はカルシウムイオンの定量に影響しない。

3.3 水中の全硬度の測定^{16,22)}

水道水やボイラー水などの水試料に対して、全硬度は重要な管理項目となっている。従来、水の硬度測定にはEDTAによるキレート滴定法が用いられている。ここでは、EDTA-銅系緩衝液を用いることによって、 Ca^{2+} イオンと Mg^{2+} イオンを同じ感度で検出できる全硬度定量について述べる。フロー系と Ca^{2+} イオンと Mg^{2+} イオンの検量線ピークをFig.12に示す。3.2項で述べたように、応答感度は試料金属イオンと緩衝液中の配位子EDTAとの錯形成により遊離した Cu^{2+} 濃度の増加量により決まる。(15),(16)式の計算結果より、緩衝液のpHを8以上に調整すると両イオンに対する感度が等しくなると予測され、実際、Fig. 12に示すように、緩衝液のpHを9.4に設定した場合に Ca^{2+} イオンと Mg^{2+} イオンに対する感度が等しいことが分かる。本法を水道水や海水の全硬度測定に適用する場合、共存する Na^+ イオンや Cl^- イオンなどの影響を除くためにTrien(トリエチレンテトラミン)/ KNO_3 から成る混合液を緩衝液に添加した。その結果、本法を水道水や海水の全硬度定量に応用したところ、キレート滴定法による定量値をよく一致した。

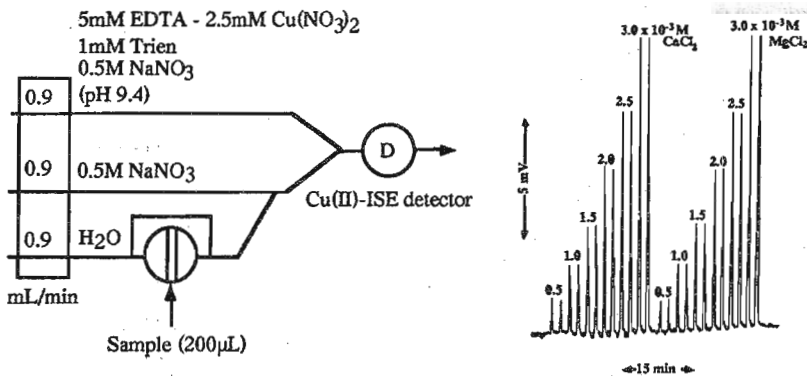


Fig. 12 Flow system for determination of total water hardness and calibration peaks for calcium and magnesium ions

3.4 遷移金属イオンの定量⁵⁾

本法の金属イオンに対する分析感度と選択性は、3.2項で示したように用いる配位子と生成する金属錯体の安定度定数の大きさに依存する。EGTAのようなカルシウムイオンに選択的な配位子を用いればカルシウムイオンの選択的定量が可能であるし、EDTA-銅イオンからなる緩衝液を用いることによりカルシウムイオンとマグネシウムイオンを等しい感度で定量できる。金属イオン緩衝液としてNTA-銅イオンからなる緩衝液を用いれば、酸性領域で、ニッケルイオン、カドミウムイオンなどの遷移金属イオンを全く同じ感度で定量できる。これはNTAと種々の金属錯体の安定度定数($K_{\text{Cu-NTA}} = 5.0 \times 10^{12}$, $K_{\text{Cd-NTA}} = 1.3 \times 10^{10}$, $K_{\text{Co-NTA}} = 4.0 \times 10^{10}$, $K_{\text{Zn-NTA}} = 3.2 \times 10^{10}$, $K_{\text{Ni-NTA}} = 2.0 \times 10^{11}$)には大きな差がないためである。また、本法の感度

と測定濃度範囲は緩衝液の濃度に依存するので、高濃度の金属イオンの定量にはFig.13のようなフロー系を用いるとよい。ここでは濃厚な亜鉛イオンの定量の例を示している。メッキ浴などの工程管理などに適用が考えられる。

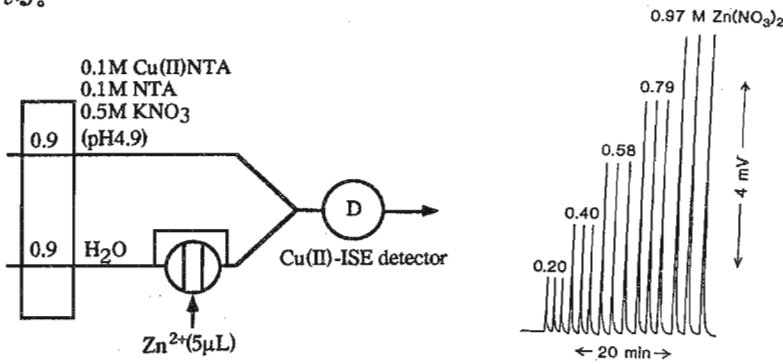


Fig. 13 Flow system for determination of transition metal and calibration peaks for concentrated zinc ion

3.5 希土類イオンの定量

Fig. 14は銅イオン-EDTAからなる銅イオン濃度緩衝液を用いた希土類イオンの定量の例である。銅イオン-NTAからなる緩衝液の場合は希土類イオン間により感度が異なるが、EDTAを緩衝液の配位子として用いることによりサマリウム、ネオジムおよびセリウムイオンを全く同じ感度で定量できるので、全希土類の定量法として期待できる。

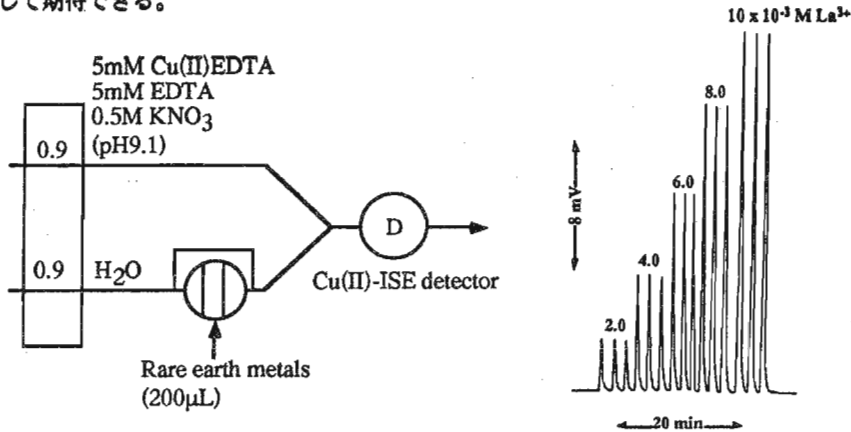


Fig. 14 Flow system for determination of rare earth metals and calibration peaks for lanthanum ion

3.6 吸光度検出法に基づくマグネシウムイオンの定量^{4,22)}

カルマタイトとマグネシウムとの錯体の安定度定数はpH9-10付近でNTAとマグネシウム錯体のそれとほぼ等しくなるので、3.1項で述べた条件を満足する。そこで、カルマタイトを含むNTA-MgとNTAからなるマグネシウムイオン濃度緩衝液を用いたマグネシウムイオンの定量について検討した。フロー系とマグネシウムイオンの検量線ピークをFig.15に示す。理論的な予測と一致して、ピーク高さは濃度に比例している。このフロー系にEDTA溶液の流れをつけ加えた3流路系にすることによりでカルシウムとマグネシウムイオンの含量の測定も可能であり、電位差検出法で示したように水道水や海水中の全硬度の定量が可能であった。

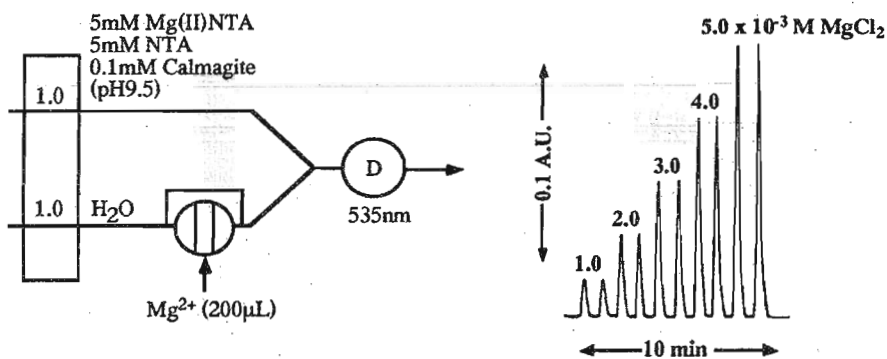


Fig. 15 Flow system for determination of magnesium ion and calibration peak for magnesium ion

3.7 吸光度検出法に基づく亜鉛イオンの定量¹³⁾

キシレノールオレンジ(XO)の亜鉛イオン錯体の安定度定数はpH5-6において、NTA-亜鉛イオン錯体のそれとほぼ等しい。そこで、Fig.16のようなフロー系を構成し、亜鉛イオンに対する検量線を作成した。吸光度検出器の検出波長はXO-亜鉛錯体の極大吸収波長である578nmに設定している。緩衝液のpHが4程度では検量線は下に凸の曲線となる。これは、pH4付近ではNTA-亜鉛イオン錯体の安定度定数がXO-亜鉛イオン錯体のそれよりも大きいため、注入された亜鉛イオンがXOより優先的にNTAと結合するためであり、Fig.9の理論曲線の予測とよく一致している。Fig.16の検量線ピークはpH6.1に調整した緩衝液を用いた場合のもので、ピーク高さは試料の亜鉛イオン濃度とよい直線関係がある。この場合、注入容積を5 μ Lとし、緩衝液濃度を高くして濃厚な亜鉛イオンの測定を可能にしている。

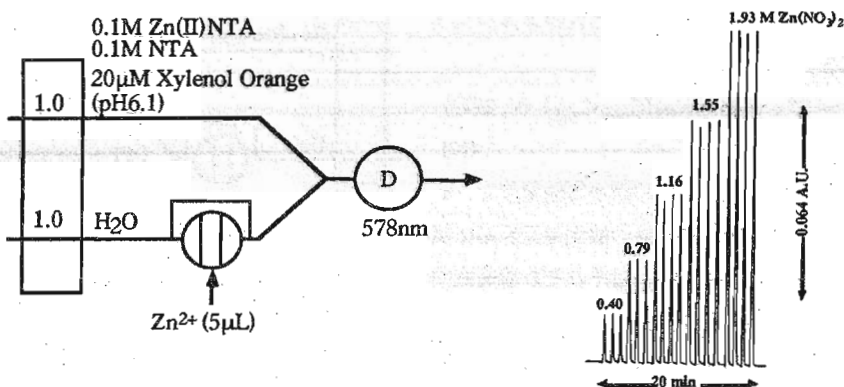


Fig. 16 Flow system for determination of zinc ion and calibration peak for zinc ion

3.8 吸光度検出法に基づくランタンイオンの定量¹³⁾

アルセナゾⅢは希土類の比色分析試薬として知られているが、この吸光試薬とEDTA希土類イオン系緩衝液を著者らの方法に適用するために、ランタンイオンを対象として、アルセナゾⅢ錯体とEDTA錯体の安定度定数が同程度になるようなpH条件を検討した。pHを4.5に調節することにより、655nmにおけるランタン-アルセナゾⅢ錯体の極大吸収波長での吸光度がランタン濃度と比例して増加することが分かったので、この条件をもとにFig.17のフロー系を構成した。ランタンイオンの検量線ピークをFig.17に示す。

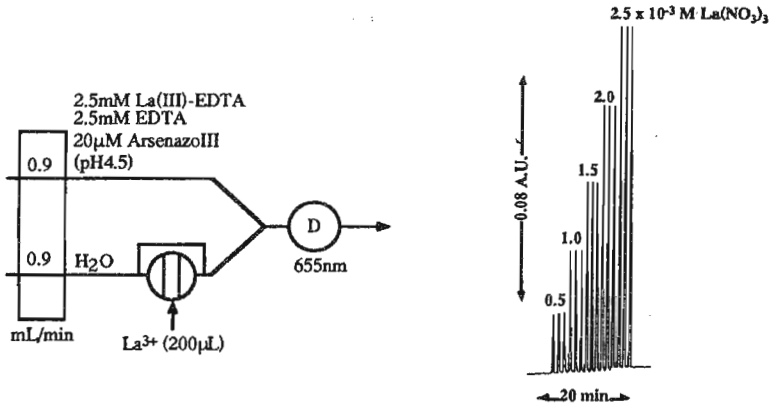


Fig. 17 Flow system for determination of lanthanum ion and calibration peak for lanthanum

4. 酸化還元滴定

4.1 電位検出に基づく酸化還元性成分の定量原理

本法の原理は、緩衝液として共役な一対の酸化体と還元体からなる電位緩衝液を、電極として酸化還元(ORP)電極を用いる点を除けば、2及び3項で述べたガラス電極及び銅イオン電極を用いる電位差分析法とほぼ同様である。Fig.18にフロー系を示す。ここでは、酸化性成分の分析を例とする。一方の流路に共役な酸化体と還元体(Ox₁-Red₁)からなる電位緩衝液を、他方の流路に試料のキャリアーとして水を流す系を考える。それぞれの流量は同じとし、計算の簡単化のために、水の流れの代わりに試料溶液を連続的に流す場合を考える。試料の代わりに水が流れている場合、ORP電極の電位がベース電位E₁(V)となり、これはネルンスト式(17)で表される。

$$E_1 = E^\circ + (0.059/n) \log [C_{Ox1}/C_{Red1}] \quad (V, 25^\circ C) \quad (17)$$

ただし、E^oは濃度基準の見かけの標準電極電位で、nは電位緩衝液に含まれる酸化還元対の酸化還元反応に関与する電子数である。C_{Ox1}及びC_{Red1}はそれぞれ緩衝液中の酸化体及び還元体の濃度である。

次に、キャリアーの流路に濃度C_{Ox2}の酸化性成分試料を連続的に流すとM点で緩衝液と混合し、緩衝液中の還元体(Red₁)が酸化される(式(18))。



ここで、mは1モルのOx₂を還元するのにするRed₁の反応モル数である。

式(18)の反応が完結すると、電位緩衝液中の濃度比 (C_{Ox1}/C_{Red1}) の変化に対して、ORP電極の電位E₂は式(19)で表される。

$$E_2 = E^\circ + (0.059/n) \log [C_{Ox1} + m \cdot C_{Ox2} / C_{Red1} - m \cdot C_{Ox2}] \quad (19)$$

ベース電位からの電位変化ΔE(=E₂-E₁)は式(20)で表される。

$$\Delta E = (0.059/n) \log [(1 + m \cdot C_{Ox2} / C_{Ox1}) / (1 - m \cdot C_{Ox2} / C_{Red1})] \quad (V, 25^\circ C) \quad (20)$$

式(20)における電位変化ΔEと試料濃度C_{Ox2}との関係は電位緩衝液の組成、すなわちC_{Ox1}/C_{Red1}の濃度比に

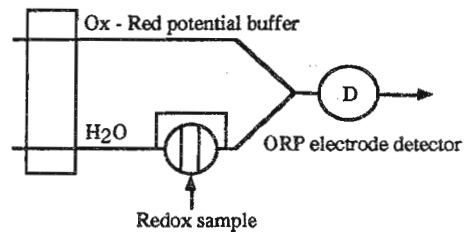


Fig. 18 Flow system for determination of redox compounds by using redox buffer solution and ORP electrode

よって変化する。例えば、Fig.19は C_{Ox1}/C_{Red1} の濃度比を0.33~3.0の範囲で変えた場合の、式(20)の計算曲線で、 ΔE と $C_{Ox2}/C_{Ox1}+C_{Red1}$ の関係を示す。ここでは、酸化体と還元体の全濃度(= $C_{Ox1}+C_{Red1}$)を一定とし、 $m=n=1$ とした場合である。濃度比(C_{Ox1}/C_{Red1})が0.33付近である電位緩衝液を用いた場合、電位変化と試料濃度の間に直線関係が得られるが、濃度比が大きくなると下に凸形の曲線を示す。試料が還元剤の場合、電位変化は式(20)の分子、分母の符号を変えることにより得られる。本法の分析感度はFig.19に示したように電位緩衝液を構成する酸化体と還元体の濃度比に依存するとともに緩衝液濃度にも依存する。また電位緩衝液の種類はその酸化還元系標準電極電位の値の大きさから推測されるように、分析目的成分との反応性に密接に関連して、目的に応じた電位緩衝液の選択が必要である。後述するように、電位緩衝液として、 Fe^{3+}/Fe^{2+} ($E^{\circ}=0.77\text{ V}$)、 Ce^{4+}/Ce^{3+} ($E^{\circ}=1.68\text{ V}$)及 $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ 系 ($E^{\circ}=0.36\text{ V}$)などを用いることができる。

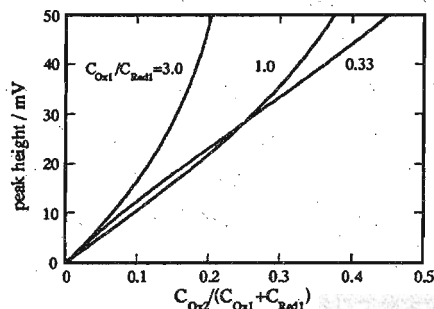


Fig. 19 Theoretical calibration curves of Eq. 20

4.2 濃厚過酸化水素の定量²³⁾

本FIA法の測定濃度範囲は電位緩衝液の濃度によって限定され、試料濃度レベルに応じた緩衝液濃度を調整する必要がある。緩衝液濃度を調整することによって、微量から高濃度までの広い範囲の分析が可能とされている。高濃度の分析には流れの中での試料の分散効果を積極的に利用できる。硫酸酸性 $Fe^{3+}-Fe^{2+}$ 系電位緩衝液を用いた濃厚過酸化水素定量のためのフロー系とその検量線ピークをFig.20に示す。過酸化水素は反応式(21)に従って、緩衝液中の Fe^{2+} を酸化し、電位緩衝液の組成を変化させる。この変化をORP電極の電位変化として検出する。

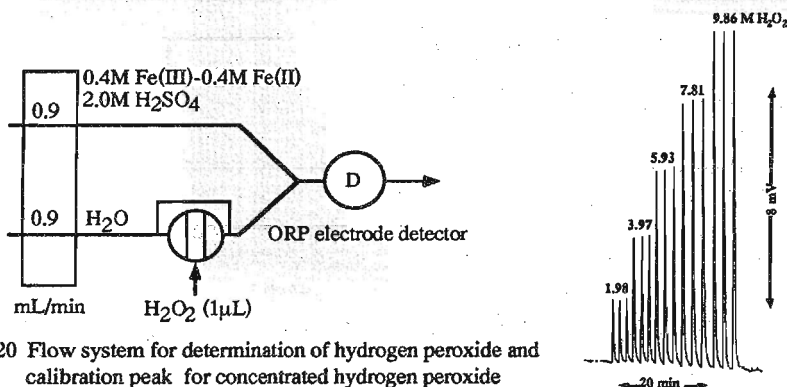


Fig. 20 Flow system for determination of hydrogen peroxide and calibration peak for concentrated hydrogen peroxide

本法の測定濃度範囲は、電位緩衝液濃度($10^{-3}\text{ M}\sim 0.1\text{ M}$)を調整することによって、 $10^{-5}\text{ M}\sim 10^{-2}\text{ M}$ の広い範囲の分析が可能である。また、Fig. 20に示す検量線ピークは、試料注入量を $1\mu\text{L}$ とした場合に得られたもので、流れの中で試料を約20~50倍に分散させることにより、約10 M(30%)の高濃度な1時間当り35検体の処理速度で直接分析が可能であることを示している。このような高濃度な過酸化水素の分析は染織物工業などの工程分析へ期待されている。さらに、この電位緩衝液を用いての酸化性成分としては、クロム(VI)、過

マンガン酸イオンやセリウム(IV)などの分析も可能である。また、アスコルビン酸やシュウ酸などの還元性成分の分析には、 Fe^{3+} - Fe^{2+} 系よりも酸化還元電位がさらに高い Ce^{4+} - Ce^{3+} 系電位緩衝液を用いることにより、十分感度良く定量でき、ヒドロキシルアミンやヒドラジンの分析にも適用できる。

4.3 残留塩素の定量¹¹⁾

Fig. 21は残留塩素定量のためのフロー系と残留塩素の標準物質としての次亜塩素酸イオンの検量線ピークを示す。この場合、感度向上のために鉄系電位緩衝液に塩化カリウムを含ませている。これにより、次亜塩素酸に対する検出感度が塩化カリウムを含ませない緩衝液を用いた場合の約1500倍高くなる。検出下限濃度は $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ ($3.5 \mu\text{g l}^{-1} \text{ Cl}_2$)であり、公定法の α -トリジン法と比べて5~10倍程度感度が高い。分析の繰り返し再現性は相対標準偏差1.1~2.5%と良好であり、分析速度は45検体/時である。本法を水道水の残留塩素の分析に応用した結果、遊離塩素の分析値は公定法による値とよく一致しており、飲料水中の微量遊離塩素の分析法として有用であることを示している。また、本法では、塩化カリウムを含ませない Fe(III) - Fe(II) 系電位緩衝液だけを用いれば 10^{-2} M レベルの比較的濃度の高い次亜塩素酸の定量も可能であり、メッキ廃液処理工程や浄水過程の次亜塩素酸のモニタリングなどへの応用も期待できる。さらに、本法の電位緩衝液中の硫酸濃度を増加させることにより亜塩素酸イオンや塩素酸イオンなどの分析も可能である。

本法の次亜塩素酸に対する感度が塩化カリウムの添加により増大した要因は、電位緩衝液と次亜塩素酸との反応の素反応を考慮することにより説明できる。すなわち、次亜塩素酸が緩衝液中の塩化物イオンを反応し反応中間体として塩素を生成することにより、鉄系の緩衝液の電位から Cl_2/Cl^- 系($E^\circ(\text{Cl}_2/\text{Cl}^-) = 1.36 \text{ V}$)の高い酸化還元電位にシフトし、この過渡的電位変化をタイミング良くFIA法により検出しているためである。

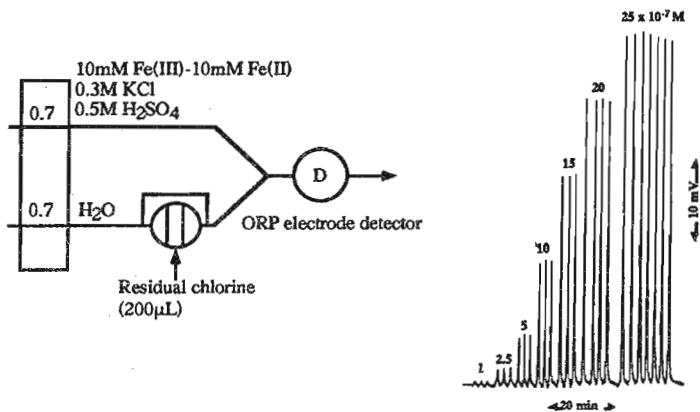


Fig. 21 Flow system for determination of residual chlorine and calibration peak for residual chlorine

4.4 臭素酸イオンの定量⁷⁾

臭素酸イオンはその酸化性を利用して、食品添加物として食パン製造用の小麦粉や魚肉ねり製品の品質改良に使用されているが、食品中の残存量の分析はそれらの安全評価において重要である。そこで臭素酸の微量分析法を検討した。フロー系と臭素酸イオンの検量線ピークをFig.22に示す。電位緩衝液として鉄系電位緩衝液に臭化ナトリウムを含ませた硫酸酸性溶液を用いている。感度向上のために、臭化ナトリウムを電位緩衝液に添加している。臭素酸イオンに対する感度は、臭化ナトリウムを含まない場合に比べて約180倍高

い。この感度向上の要因も、残留塩素の分析の場合と類似した機構で説明できる。すなわち、臭素酸イオンが緩衝液中の鉄(II)を酸化するよりも優先的に臭化物イオンを酸化し、反応中間体として臭素を生成する。電位緩衝液の電位は鉄系の電位から $\text{Br}_2(\text{or Br}_3^-)/\text{Br}^-$ 系 ($E^\circ(\text{Br}_2/\text{Br}^-) = 1.08 \text{ V}$ or $E^\circ(\text{Br}_3^-/\text{Br}^-) = 1.05 \text{ V}$) の電位にシフトする。この過渡的な大きな電位変化をFIA法でタイミング良く検出することにより、感度向上を達成している。その結果、臭素酸イオンの検出下限としては $4 \times 10^{-7} \text{ M}$ であった。過渡的電位変化の検出時間によって臭素酸イオンに対する感度は異なるが、任意の反応時間において検量線は直線的な関係が得られる。また、臭素酸イオンの定量に対する塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン及びリン酸イオン共存の影響は極めて小さい。

又、臭素酸イオンのFIA法における過渡的電位変化とその反応で生成した反応中間体(臭素)との関係について、ストップフロー法を用いて速度論的に検討した結果、過渡的過程における臭素の生成及び減少速度がいずれも臭素酸イオン濃度に対して1次の総括速度式で表されることが分かった。このことは、任意の反応時間において生成した臭素量と臭素酸イオンの初濃度との間に比例関係があることを意味しており、FIA法において反応時間によらず直線関係のある検量線が得られたことを裏付けている²⁰⁾。

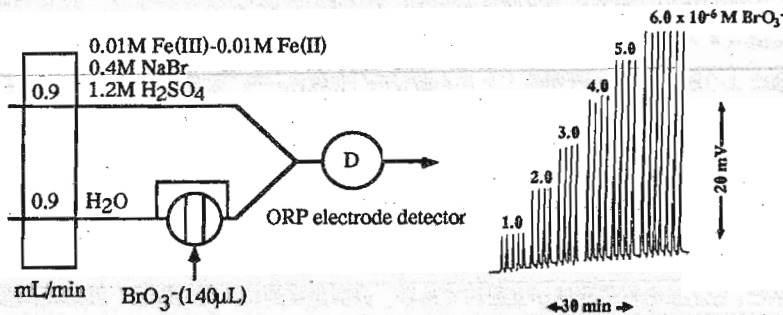
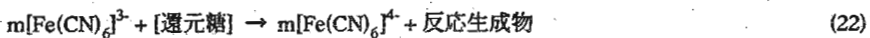


Fig. 22 Flow system for determination of bromate and calibration peak for bromate

4.5 還元糖の定量^{7,8,14)}

ヘキサシアノ鉄(III)酸が式(22)に示すように、塩基の存在可で還元糖を酸化することを利用した還元糖類のFIA法を検討した。緩衝液としては $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 系電位緩衝液を用いた。



ここで、 m は1モルの還元糖の酸化に要する $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ の反応モル数である。

本法の感度については、緩衝液濃度はもちろん還元糖と電位緩衝液との反応時間、反応温度および塩基の濃度に依存する。これらの条件について種々検討し、反応温度 85°C 、反応時間約6分、電位緩衝液中の水酸化ナトリウム濃度 0.6 M 以上とした。フロー系とグルコースに対する検量線ピークをFig. 23に示す。グルコースなどの単糖類やマルトースなどの二糖類の分析に対して、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 系電位緩衝液濃度を $0.1 \text{ M} \sim 10^{-5} \text{ M}$ に変えることによって、 $10^{-2} \text{ M} \sim 10^{-7} \text{ M}$ 程度の広い濃度範囲の還元糖の分析が可能であった。 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ 電位緩衝液を用いた場合においてもベース電位の変動は 0.3 mV 以下で、ドリフトは 0.8 mV/h であり、 10^{-7} M レベルの分析も精度及び再現性に優れていることを示した。この方法をポストカラム的に利用することにより、還元糖の分離定量が可能であった。また、本法を利用して、インペルターゼ固定化カラムを流流の中に組み込み、スクロースなどの非還元糖を還元糖に転化してスクロースを定量する方法を開発している。また、デンプンをグルコースに転換するジアスターゼ酵素の活性を測定することも可能である。

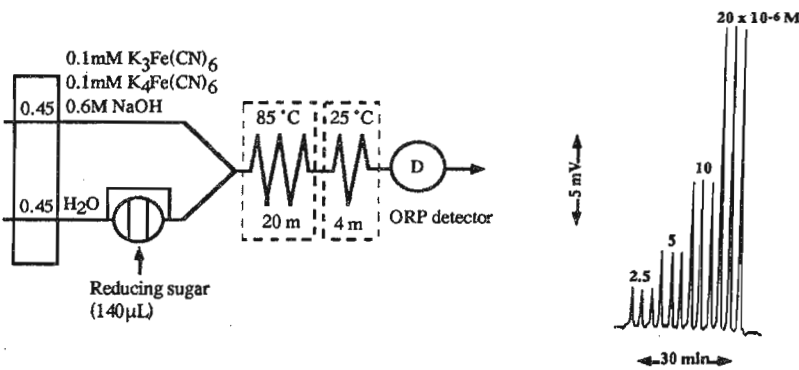
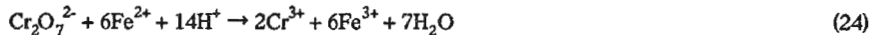
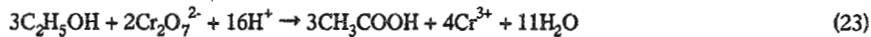


Fig. 23 Flow system for determination of reducing sugar and calibration peak of glucose

4.6 アルコールの定量^{10,14)}

ガス拡散分離ユニットを組み入れた酒類中アルコールの分析について述べる。フロー系は Fig.24に示すような三流路系である。ガス拡散分離ユニット(G.D.)は二つのダイフロン製ブロックの間に多孔質のポリテトラフルオロエチレン(PTFE)膜を平面状に挟む構造である。水の流れに注入されたエタノール含有試料がガス拡散分離ユニットに流入するとエタノール蒸気のみが多孔性膜を透過して二クロム酸溶液側拡散する。エタノールは二クロム酸により酸化され、過剰の二クロム酸は Fe^{2+} を酸化し Fe^{3+} を生成する。これにより Fe^{3+} - Fe^{2+} 系電位緩衝液の組成が変化するので、その変化をORP電極の電位変化として測定し、エタノールを定量する。



二クロム酸酸化法は、式(23)の反応速度が支配的であり、分析化学的には反応温度、反応時間及び試薬溶液の酸性度が感度に大きく依存している。さらに、通常アルコール飲料水中のエタノール含量を直接分析するとなると、エタノール濃度5 v/v % ~ 40 v/v %の範囲の高濃度な分析になり、反応(式23)が完結しなくても十分な感度を得られることになる。また、エタノールガスの膜透過率は温度の上昇とともに増加するが、膜の細孔径の違いはエタノールに対する感度に影響を与えなかった。分析値(ピーク高さ)の繰り返し再現性(相対標準偏差)は0.85 % (n = 6)であり、Fig.24のフロー条件では1時間あたり約25検体の分析速度となる。

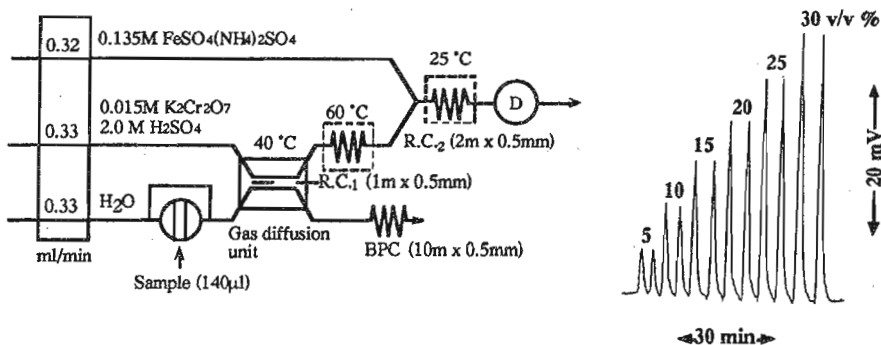


Fig. 24 Flow system for determination of ethanol and calibration peak for ethanol

本FIA法を数種のアルコール飲料水中のエタノールの定量に適用したところ、本法による定量値は、比重

法やガスクロマトグラフ法 (GC法) とよく一致し、また、相対標準偏差も比重法及びGC法と比べて小さく再現性のよい結果が得られている。ガス拡散分離ユニットを組み込まないFIA法では、ビール、ワインおよび清酒についてはGC法による定量値より20%~30%高い値が得られ、ガス透過膜による分離処理が必要なことを示している。

4.7 クロム (VI) の定量²⁵⁾

クロム (VI) 化合物は、メッキ、皮なめし、顔料などの化学薬品としてや工業用冷却水の配管系の腐食抑制剤などとして広く化学工業の分野において利用されている。一方六価クロムは水質汚濁防止法により、排水基準濃度が500ppb以下に定められている。そこで、クロム処理廃液が海水へ排水される場合を想定して、海水中のクロム (VI) の迅速かつ高感度な分析法を開発した。

フロー系をFig.25に示す。R Sの流路に臭化物イオンを含む1.2Mの硫酸酸性鉄 (III) -鉄 (II) 系電位緩衝液を、キャリアー液として水を流す。海水中のクロムを対象とする場合には、電極検出器に及ぼすイオン強度の影響を考慮して人工海水を用いている。電位緩衝液に臭化物イオンを含まない場合には、クロムと電位緩衝液の反応は次式で表される、そのときの電位変化は4.1項で述べた理論式に従うが、電位緩衝液に臭化物イオンを加えることにより、予測よりもきわめて大きな電位変化を与えることを見いだした。反応の素反応を検討したところ、クロム (VI) が直接臭化物イオンと反応して臭素を発生させるのではなく、クロム (VI) が鉄 (II) と反応してクロム (V) を生成し、これが臭化物イオンと反応を誘発して臭素を生成させることが分かった。検量線ピークをFig.25に示す。キャリアーが水の場合のクロムの検出下限濃度は 2×10^{-8} (2ppb)であったが、海水中のクロムの定量では 10^{-7} Mレベルの試料に対しては回収率が低下し、信頼できる定量限界は 10^{-6} Mレベルであり、現行の排水基準の分析には十分適用できる。また、 4×10^{-7} Mクロム (VI) の定量に対する共存物の影響を調べたところ、許容できる共存濃度はニッケル、銅、亜鉛などの金属イオンは 10^{-4} M、カルシウムやマグネシウムイオンなどは 5×10^{-3} Mまでは問題がなかった。

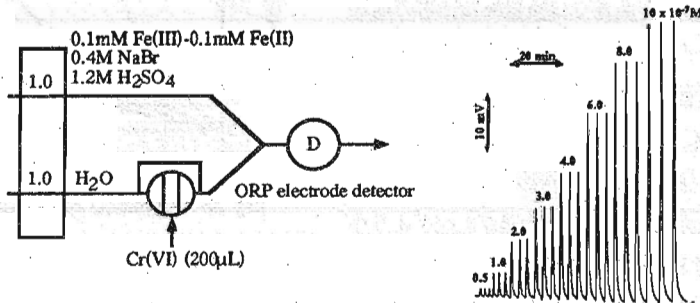


Fig. 25 Flow system for determination of chromium(VI) and calibration peak for chromium(VI)

4.8 ORP電極-臭化物イオン電極複合電極検出器を用いるフェノール及び不飽和化合物の定量

4.8.1 電極検出器と応答原理

フェノール及び不飽和化合物の定量のために、臭素化反応を利用して酸化還元(ORP)電極と臭化物イオン電極との複合電極を検出器とする電位差分析について述べる。Fig.26は2流路フロー系を示す。フロー系のC.S.の水 (非水溶媒の場合はエタノールなどの溶媒) の流れに試料を注入し、この流れとR.S.から流してい

る臭化物イオンを含む酸性臭素溶液と合流させる。反応コイル中で試料のフェノールや不飽和化合物は臭素化される。この反応によりRS中の臭素濃度が減少するので、この変化をFig.27に示す複合電極検出器(D)で電位変化として検出し、記録計上にピーク状信号として記録する。Fig.26のフロー系において、試料を注入しないときには臭化物イオン電極及びORP電極の電位は次式で表される。

$$E_{Br} = E^{\circ} - 59.1 \log [Br] \quad (\text{mV}, 25^{\circ}\text{C}) \quad (25)$$

$$E_{ORP} = E^{\circ} - (59.1/2) \log ([Br_2] / [Br]^2) \quad (26)$$

E° 及び E° はそれぞれの電極の標準電極電位である。従って、両電極の電位差は(27)式で表される。

$$E = \text{const.} + (59.1/2) \log [Br_2] \quad (27)$$

濃度Cの不飽和化合物のエタノール溶液試料が注入されると、 Br_2 濃度が減少し、電位変化 ΔE は(28)式で表される。

$$\Delta E = (59.1/2) \log ([Br_2] - C / [Br_2]) \quad (28)$$

Fig.28は(28)式の計算曲線である。緩衝液中の臭素濃度により感度と測定範囲が決まることが分かる。臭素濃度が低いほど感度が高いが、測定範囲が狭くなる。

4.8.2 フェノールの定量¹⁸⁾

Fig.29はフェノールの定量のためのフロー系と検量線ピークである。Fig.28の計算曲線では検量線は凹形の曲線となるが、検量線ピークのピーク高さとは直線関係がみられる。これは、計算曲線は臭素化反応が完結している場合のものであるが、この系では反応時間を5秒になるように設定し、反応の過渡的信号を検出している。臭素化反応の速度定数kと反応時間tの積、kt値が 3×10^5 より小さくなると試料の濃度とピーク高さの関係は直線となり、しかも、反応時間が短くなるにしたがって、検量線の直線範囲も広くなることを理論的に示している。応答ピークの分析精度については 5×10^{-6} M試料を10回繰り返し測定した相対標準偏差は0.8%であり、ベース電位の変動は0.3 mV以下であった。

Fig. 29のフロー系を用いて他のフェノール類の検量線ピークを調べた結果、フェノールより臭素化速度の小さいp-ニトロフェノールやp-クロロフェノールについてもフェノールと同様に直線関係が得られ、一方、フェノールより反応速度が5~10倍程大きいとされているレゾルシン、m-クレゾールは凹形の検量線を示し、分析感度も大であり、つまり、他のフェノール類についても計算曲線に従った傾向が認められた。また、これらフェノール類の分離定量法として、メタノール-水混合溶離液を用いることによって本法をポストカラム的に適用することが可能であった。

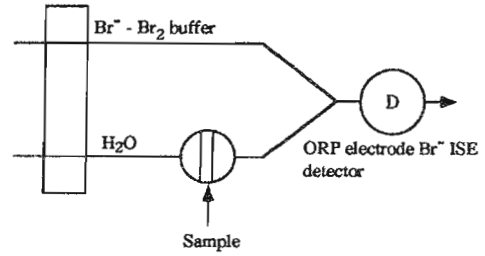


Fig. 26 Flow system using bromination reaction

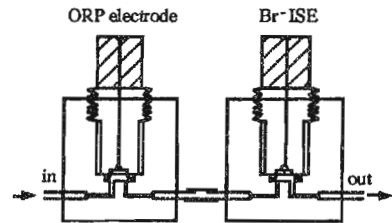


Fig. 27 Flow-through detector combined ORP electrode with bromide ion selective electrode

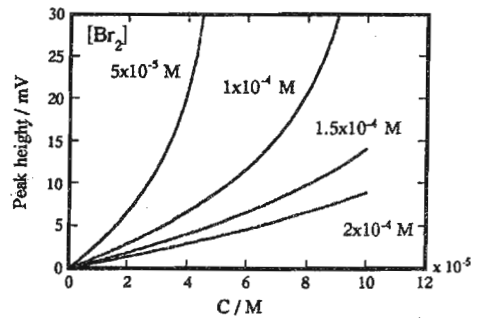


Fig. 28 Theoretical calibration of Eq. (28)

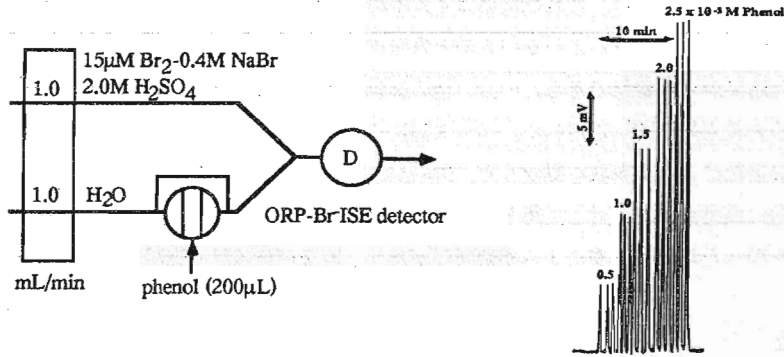


Fig. 29 Flow system for determination of phenol and calibration peak of phenol

4.8.3 不飽和化合物の定量 —臭素価測定—

潤滑油や食品油などの油製品の品質管理において臭素価は重要な検査項目の一つになっている。従来、臭素価測定には非水溶媒滴定法が用いられている。例えば、JIS K2543では、四塩化炭素に溶解した潤滑試料に0.5M臭素酸カリウムと臭化カリウムの酢酸溶液を添加し、不飽和化合物を臭素化した後、15%ヨウ化カリウム溶液を加えヨウ素を生成させ、これをチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。これにより、消費された臭素濃度から油分の臭素価を測定するもので、定量に時間を要する。ここでは、油分の臭素価測定へ適用した結果について述べる。

エタノールなどの溶媒をキャリアーとして、この流れに試料の不飽和化合物を注入する。試料はM点で臭素酸カリウムと臭化リチウムからなる硫酸酸性エタノール溶液と合流させる。不飽和化合物は式(29)に従って臭素化される。この際、試薬溶液中の臭素濃度が減少するので、これを下流に設置した複合電極検出器で検出し、ピーク状信号として記録計に記録する。

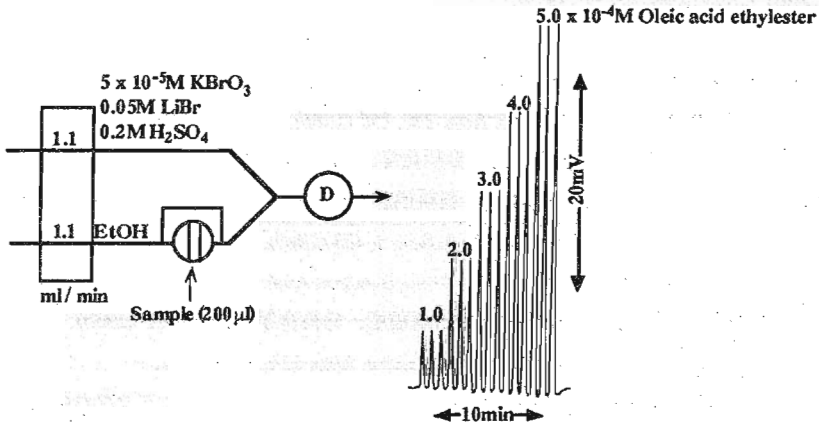
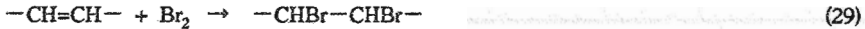


Fig.30 Flow system for determination of bromine value and calibration peak of oleic acid ethylester

Fig.30はエタノールをキャリアー溶媒とした場合のオレイン酸エチルの検量線ピークを示している。この

ほか、リノール酸エチル、シクロヘキセンや1-ペンテンなどについても同様の検量線が得られる。1-ペンテンについては感度が低い、これは反応コイル中の反応時間を30秒になるようにしている、1-ペンテンの臭素化反応が十分に完結していないものと推測される。実際、臭素液と1-ペンテンの反応を吸光光度計で追跡した結果からも確認できる。一方、他の試料についてはほぼ同一の検量線と一致している。そこで、本法を潤滑油の臭素価測定に適用した。ベース油にオレイン酸エチルを添加したものを試料とし、予め上述の従来法の滴定法により臭素価を測定した。FIA法により、オレイン酸エチル溶液を標準試料として作成した検量線を基に潤滑油試料に対して得られたオレイン酸エチル相当濃度を滴定により得られた臭素価に対する相関関係を調べた結果、両者により相関関係があり、本法が実試料に適用できることを示している。

5. おわりに

本ミニレビューは私どもがこれまで行ってきた研究成果をまとめたものである。緩衝液の流れを用いるFIA滴定分析法の研究は1982年頃に石橋信彦先生の卓越したアイデアから始められたもので、その頃は筆者と研究室の教務員嬢とで細々と始めた研究ではあったが、その後卒業研究や修士論文研究にもとりあげ、さらに九州産業大学の太浦博樹博士が内地研究員としてこの研究に加われ、特に酸化還元緩衝液を用いる方法に大きな進展があった。出光興産(株)との共同研究並びに教務員の片瀨明子さんの協力で非水溶媒系へと発展した。また、研究の当初から、電位差検出器の作製では電気化学計器(株)の浅野泰一博士のご援助があり、いくつものガラス電極検出器を試作いただいた。本年の分析化学学会年会の研究懇談会で筆者が依頼講演を受けたおりに、岡山大学名誉教授の桐栄恭二先生より、石橋先生が始められたこれらの研究の成果をまとめてはとの有り難いお勤めをいただき、同時に本誌編集委員長の河瀧拓治先生よりミニレビューの依頼をうけ、ここに多くのページを割かせていた。以上の方にお礼申し上げるとともに、私どもが開発した方法のいくつかでもが工程管理などに利用されることを期待したい。

文献

1. J. Ruzicka, E. H. Hansen, H. Mosback, *Anal. Chim. Acta*, 92, 235 (1977).
2. O. Astrom, *Anal. Chim. Acta*, 88, 17 (1977).
3. T. Imato, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 1, 481 (1985).
4. N. Ishibashi, T. Imato, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, 323, 244 (1986).
5. N. Ishibashi, T. Imato, K. Tsukiji, *Anal. Chim. Acta*, 190, 185 (1986).
6. 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*, 35, 349 (1986).
7. 大浦博樹、今任稔彦、浅野泰一、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*, 35, 807 (1986).
8. H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 3, 453 (1987).
9. 今任稔彦、畦森智恵、浅野泰一、石橋信彦、*J. Flow Injection Anal.*, 3, 103 (1987).
10. 今任稔彦、大浦博樹、浅野泰一、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*, 37, T105 (1988).
11. N. Ishibashi, T. Imato, H. Ohura, S. Yamasaki, *Anal. Chim. Acta*, 214, 349 (1988).
12. T. Imato, A. Katafuchi, T. Hamazoe, J. Yagi, K. Takahara, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 5, 777 (1989).
13. 今任稔彦、石井一也、斉藤恒、川畑祐司、石橋信彦、*J. Flow Injection Anal.*, 6, 160 (1989).
14. H. Ohura, T. Imato, Y. Asano, S. Yamasaki, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 6, 541 (1990).
15. 片瀨明子、今任稔彦、八木純一、高原孝三、石橋信彦、*分析化学*, 39, 109 (1990).

16. 今任稔彦、石井一也、石橋信彦、分析化学、39、135 (1990).
17. H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki, N. Ishibashi, Anal. Sci., 6, 777 (1990).
18. 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、分析化学、40、93 (1991).
19. 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、J. Flow Injection Anal., 8, 2 (1991).
20. 片瀨明子、今任稔彦、八木純一、高原孝三、石橋信彦、分析化学、40、49 (1991).
21. N. Ishibashi, T. Imato, S. Yamasaki, H. Ohura, Anal. Chim. Acta, 261, 405 (1992).
22. T. Imato, K. Ishii, N. Ishibashi, Anal. Sci., 8, 631 (1992).
23. 前嶋義夫、乾拓雄、坂井亜紀、辺見彰秀、伊東哲、浅野泰一、今任稔彦、J. Flow Injection Anal., 9, 187 (1992).
24. T. Imato, K. Saito, Y. Kawabata, N. Ishibashi, Seventh Sympo. on Salt, Vol. II, 563 (1993).
25. 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、分析化学、43、31 (1994).
26. 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、日化誌、797 (1992).

Summary

The methodology of flow injection titration of acids, bases, metals and redox compounds using a buffer solution with respect to pH, free metal ion concentration or redox potential has been proposed and applications of the proposed method to neutralization titration, chelate titration and redox titration are reviewed. The method is based on detection of variation in a property of the buffer solution due to a reaction with a sample injected in the buffer stream potentiometrically or spectrophotometrically. pH buffer solution and a glass electrode are utilized for determination of concentrated acids and bases, total amino acids in the Sake (Japanese rice wine). pH titration in non aqueous solvent is applied to the determination of total alkalinity of lubrication oil and saponification values in food oil.

The copper (II) ion buffer solutions consist of copper(II) and excess NTA, EGTA or EDTA are used for determination of total water hardness, calcium ion, transition metals, rear earth metals using a copper(II) ion selective electrode. The Mg-NTA buffer containing the Calmagite indicator, the Zn-NTA buffer containing the Xylenol Orange indicator and La-EDTA buffer containing ArsenazoIII indicator are useful for photometric determination of Mg^{2+} , Zn^{2+} and La^{3+} , respectively.

Potentiometric determination of hydrogen peroxide, residual chlorine, bromate, reducing sugar, Cr(VI) and ethanol in alcoholic beverage are performed by using, Fe(III)-Fe(II), $[Fe(CN)_6]^{3-}$ - $[Fe(CN)_6]^{4-}$, Ce(IV)-Ce(III) potential buffers and an oxidation-reduction potential (ORP) electrode. The combined detector of the ORP electrode with a bromide ion-selective electrode is used for determination of phenol and bromine value of oils based on bromination reaction with a bromine-bromide potential buffer.