

マラカイトグリーンを用いる水中のリン酸の定量法の検討と
環境水への適用

青木明弘、佐藤敬子、田村康一郎、田中義光

大阪府立工業高等専門学校工業化学科
〒572-8572 寝屋川市幸町26-12

Method for Determination of Phosphate in Water with Malachite Green
and Application to Environmental Waters

Akihiro Aoki, Keiko Sato, Koichiro Tamura and Yoshimitsu Tanaka
Department of Industrial Chemistry,
Osaka Prefectural College of Technology
26-12 Saiwai-cho, Neyagawa, 572-8572 Japan

Flow injection analysis for phosphate in water with molybdate and malachite green was presented. Addition of Tergitol as neutral detergent could suppress increase in baseline due to adsorption of ion-pair of molybdophosphate and malachite green on flow cell in spectrophotometer. The calibration curve was proportional in the concentration of $2 \times 10^{-6} \text{M}$ to $2 \times 10^{-8} \text{M}$. The detection limit derived from 3 standard deviation at $2 \times 10^{-6} \text{M}$ was $5 \times 10^{-9} \text{M}$. The time required to a peak after sample injection was 1.35 minutes. The present method was not interfered from silicate at $1 \times 10^{-4} \text{M}$. We applied this method to determine phosphate in river waters. A good match was found for the concentrations determined by the present method and the molybdenum blue method.

1. はじめに

水中のリン酸の定量法としては、モリブデンブルー法¹⁾が一般的である。しかし、人為汚染の少ない環境水中のリン酸を定量する場合は、この方法は感度が充分でない。ItayaとUiは、モリブドリン酸がマラカイトグリーとイオン対を生成し、高感度で水中のリン酸を比色定量できることを報告した²⁾。Motomizu et al.,は、この方法をFIAに適用し、良好な結果を報告した³⁾。

マラカイトグリーン法は高感度であるが、問題点としては、モリブドリン酸とのイオン対の溶解度がすこし低いため、再現性が悪いことであった。最近、中性

界面活性剤であるTergitolをマラカイトグリーンを含む反応溶液に添加して、海水中の微量のリン酸を定量する方法をCamareroが報告した⁴⁾。著者らは琵琶湖湖水中のリン酸などの栄養塩の動態を調べている⁶⁾が、Camareroの方法をFIAに応用するための基礎検討を行い、モリブデンブルー法と比較した。さらに、本法を環境水に適用したので以下に報告する。

2. 実験

2. 1 試薬

特に断らない限り、試薬は特級品を用いた。マラカイトグリーン・シュウ酸塩（和光製）0.45gを蒸留水に溶解し、1000mLに調製した（A液）。モリブデン酸アンモニウム4水和物（和光製）2.1gを8N硫酸50mLに溶解する（B液）。A液とB液を3：1で混合し、この液で中性界面活性剤であるTergitol(nonylphenoxy-polyethoxyethanol、Sigma製 Type NP-10)0.6mLを溶解し、100mLに調製した。その後20分間スターラーで攪拌後、沈殿物をガラスフィルター(Whatman製 Type GF C)で除去し、ろ液を反応試薬とした。

河川水などの環境水中のリン酸の定量は、採水後、その日の内に上述のガラスフィルターでろ過後、本法とモリブデンブルー比色法で定量した。

2. 2 方法

図1に本法の概略図を示した。0.15%Tergitolを含む2N硫酸(S)をペリスターポンプ(Oriental Motor製 Type PS425-201) (P)を用いて送り、サンプルインジェクター(Rheodyne製 Type 5020)からリン酸を含む試料水を500 μ L注入した。この液は、2. 1項で記載の反応液(R)と混合コイル(テフロン製 外径1.5mm、内径1.0 mm、長さ1000mm) (M)で混合され、検出器(日本分光製紫外可視分光器 Type 870-UV) (D)に送られた。検出器の測定波長は660nmに設定した。S液、R液の流量は、ともに2.6 ml/minに設定した。

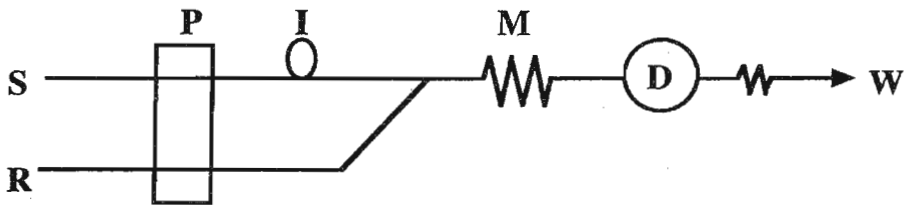


Fig.1 Schematic diagram of a flow system for determination of phosphate

S: 1M sulfuric acid (0.15% Tergitol), R: reagent solution, P: pump,
I: sample injector, M: mixing coil, D: photometer (660nm), W: waste.

3. 結果および考察

3. 1 測定条件の最適化
反応液中のマラカイトグリーンとモリブデン酸濃度は、予備実験で基礎検討したが、Camareroの報告した濃度が適当であったので、ここではそれ以外の条件を検討した。特に断らない限り、以下では $1 \times 10^{-5} \text{M}$ のリソ酸濃度の溶液を用いて最適化の実験を行った。

S液とR液は、同一のポンプで送っているが、これらの流量の影響を検討した。図2にはピーク高さに与える流量の影響を示した。流量の増大と共にピークは鋭くなるとともに、ピーク高さは増大した。しかし、 2.6 ml/min 以上では全体のラインに負担が懸かりすぎるため、 2.6 ml/min に流量を設定した。

次に、界面活性剤の影響を検討した。はじめはS液から界面活性剤を含まない 2N 硫酸のみを流していたが、この場合、R液の界面活性剤のみでは、生成したイオン対を十分に分散できないため、比色計のフローセルの窓に付着し、ベースラインが時間とともに上昇した。そこでS液にも界面活性剤を添加して、その影響を調べた。図3には添加量と繰り返し測定における相対標準偏差の関係を示した。界面活性剤の含有量が 0.15%

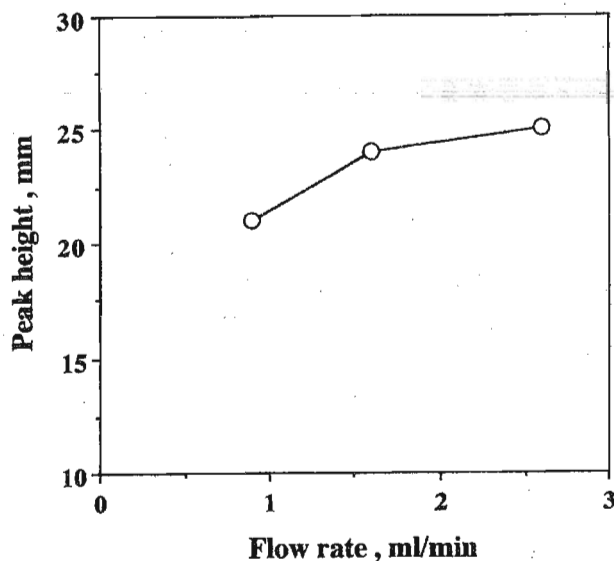


Fig.2 Effect of flow rate on peak height

Concn of phosphate : $1 \times 10^{-5} \text{M}$.

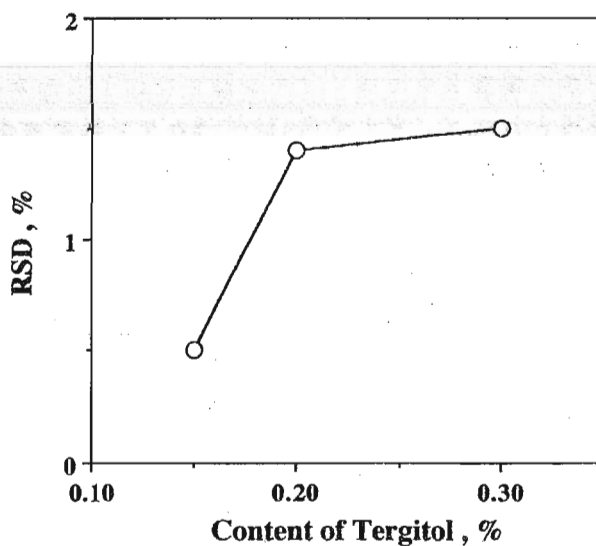


Fig.3 Effect of content of Tergitol in S solution on relative standard deviation (RSD)

RSD was calculated from repetitive measurements ($n=4$) at $1 \times 10^{-5} \text{M}$ of phosphate.

以上でベースラインの上昇は見られなくなったが、それ以上の含有量ではピークのばらつきが増大した。そのため0.15%をTergitolの最適含有量と決定した。

3. 2 検量線と干渉

以上までに決定した設定値でのリン酸の検量線を図4に示した。測定したピーク高さとしてリン酸濃度 $2 \times 10^{-6} \text{M}$ から $20 \times 10^{-6} \text{M}$ の間で良好な直線関係が得られた。その相関係数は0.99であった。 $2 \times 10^{-6} \text{M}$ での繰り返し測定($n=5$)の相対標準偏差は0.81%であった。この標準偏差の3倍を検出限界と定義した場合のリン酸濃度は $5 \times 10^{-8} \text{M}$ であった。試料水を注入してからピークに達するまでの時間は1.35分であった。

一般の環境水中でモリブデン酸と反応する化学種としてはリン酸以外にはケイ酸が考えられる。表1には $1 \times 10^{-5} \text{M}$ のリン酸の共存下でケイ酸の濃度を変えた場合のリン酸の回収率を示した。 $1 \times 10^{-4} \text{M}$ のケイ酸の共存下でも、ほぼ100%リン酸を回収することができた。

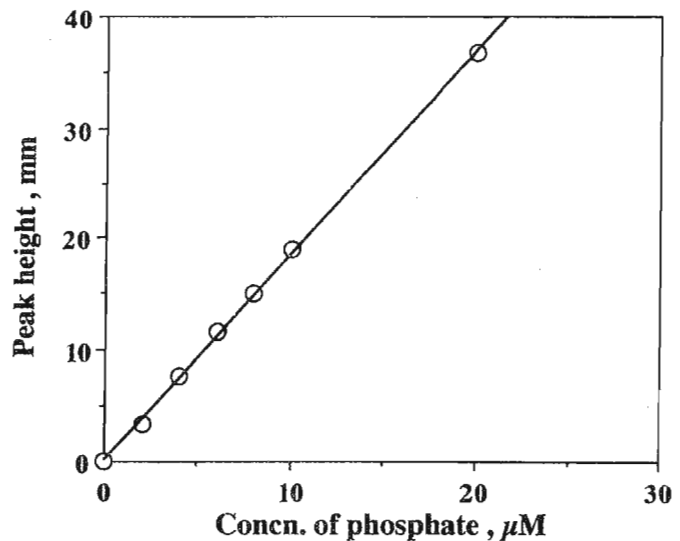


Fig.4 Calibration curve for the determination of phosphate

Table 1. Recovery of phosphate ($1 \times 10^{-5} \text{M}$) in the presence of silicate

Concn. of silicate, $\times 10^{-5} \text{M}$	Recovery, %
0	100
2	99
4	103
6	101
8	101
10	99

3. 3 実際の環境水への適用

大阪近辺を流れる河川水に本法と標準法であるモリブデンブルー比色法で定量した結果を表2に示した。測定日は1996年から1998年の間の3日行った。寝屋川の2回の測定の濃度の違いは、晴天時と雨の日の違いである。雨天時の濃度が低いのは、晴天時に比べ流量が増大し、希釈されたためと考えられる。両方で得られた濃度の相関係数は0.989と、高度な相関が認められた。

Table 2. Comparison of concentrations of phosphate in environmental waters by present method(FIA) with those by molybdenum blue method(MB)

Concentration of phosphate, $\times 10^{-6} M$			
Site	Date	FIA	MB
Yahata(R. Katsura)	12/17/1996	9	8
Yahata(R. Uji)	12/17/1996	12	11
Yahata(R. Kizu)	12/17/1996	4	4
Hirakata(R. Yodo)	12/17/1996	9	8
Torikai(R. Yodo)	12/17/1996	5	3
Toyono(R. Neyagawa)	12/22/1997*	15	13
Toyono(R. Neyagawa)	1/8/1998**	5	5

weather condition : * fine, ** rain.

文献

1. APHA-AWWA-WPCF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", American Public Health Association, Washington DC, 16th edn., p.1268 (1985).
2. K. Itaya and M. Ui : Clin. Chim. Acta, 14, 361(1966).
3. S. Motomizu, T. Wakimoto, and K. Toei : Talanta, 30, 333(1983).
4. L. Camarero : Limnol. Oceanogr., 39, 707(1994).
5. T. Aoki, Y. Hayami, T. Fujiwara, H. Mukai, and Y. Tanaka : J. Great Lakes Res., 22, 331(1996).

(Received July 1, 1998)

(Accepted August 19, 1998)