

ポルフィリンを用いるマグネシウムの蛍光検出—FIA 装置の開発

野田 直広*, 大戸 時喜雄*, 五十嵐 淑郎**, 青山 英司**

* (株)富士電機総合研究所 : 240-0194 神奈川県横須賀市長坂 2-2-1

** 茨城大学工学部 : 316-8511 茨城県日立市中成沢町 4-12-1

Development of FIA Apparatus for Monitoring Magnesium Level in Water Using Porphyrin with Fluorescence Detection

Naohiro NODA* , Tokio OHTO* , Shukuro IGARASHI** and Eiji AOYAMA**

* Fuji Electric Corporate Research and Development, Ltd.,
Nagasaka 2-2-1, Yokosuka, 240-0194, Japan

** Department of Materials Science, Faculty of Engineering,
Ibaraki University, Nakanarusawa 4-12-1, Hitachi, 316-8511, Japan

Abstract

The determination of magnesium ion in water sample was performed by utilizing fluorometric detection with 5,10,15,20-tetrakis (4-sulfonatophenyl) porphine. Then, the prototype of "Mg-FIA apparatus" was developed and was evaluated the performance. This prototype was able to determine Mg^{2+} in the range of 1.5 to 100 mg/L. The detection limit (3σ) was 1.5 mg/L and the coefficient of variation was 5.8 % for Mg^{2+} 10 mg/L (6 determinations). As results of measurement for tap water, the river water, pond water and lake water, good correlation was obtained compared to ICP spectrometry.

Keywords : magnesium, FIA-apparatus, fluorescence detection, porphyrin, water quality

1. 緒言

マグネシウムは珪酸塩として地殻を構成し、岩石、海水など地球上に広く分布している元素である。また、生体内では4番目に豊富に存在

するカチオンであり生命活動に不可欠な物質である。アデノシン三リン酸の加水分解に関与し、様々な酵素の補助因子として作用するほか、植物ではクロロフィルの中心金属として光エネルギーの獲得に関わっている。このような生理学

的重要性を背景として、浄水処理における微生物の活性制御に対する効果¹⁾や、マグネシウム施肥による光合成能への寄与²⁾などが研究されている。こうした研究を進める上で Mg^{2+} の自動計測は有用なツールである。

従来の Mg^{2+} 分析法としては、イオンクロマトグラフィーや ICP 発光分析がある。しかし、これらは装置が高価な上、自動化のためには複雑なサンプリング機構が必要であり、手軽に使用できる機器ではない。また、キシリジルブルーによる比色分析装置があるが、広範な普及には至っていない。この原因は、共存イオンのマスキング³⁾ および、試薬可溶化のための有機溶媒の使用等が問題と考えられる。

こうした現状を踏まえ、著者らはポルフィリンを配位子として用いる Mg^{2+} の蛍光分析法⁴⁾ を水系の実サンプルに適用するため、この技術の装置化を試みた。本報では、計測原理、試作した装置の内容、測定性能の評価結果などについて記述する。

2. 実験方法

2.1 試薬

TSPP: 5,10,15,20-テトラ(4-スルホナトフェニル)ポルフィン四ナトリウム・12 水和物 $C_{44}H_{26}N_4Na_4O_{10}S_4 \cdot 12H_2O$ (和光純薬工業(株)製) を用いた。マグネシウム標準溶液: 硫酸マグネシウム・7 水和物 $Mg_2SO_4 \cdot 7H_2O$ (和光純薬工業(株)製) を所定濃度になるよう超純水に溶解した。pH 緩衝液: 炭酸水素ナトリウム $NaHCO_3$ (和光純薬工業(株)製) と炭酸ナトリウム Na_2CO_3 (和光純薬工業(株)製) とをそれぞれ 0.025 M になるよう超純水に溶解した (25 °C における pH 値 10.0)。洗浄用希硫酸溶液: 硫酸 H_2SO_4 (和光純薬工業(株)製) を

0.1 M になるよう超純水に溶解した。超純水はミリポア(株)製超純水製造装置によって製造されたものを使用した。その他の試薬は特にことわらない限り、市販特級品をそのまま使用した。

2.2 標準試料による基本性能評価

硫酸マグネシウムを超純水に溶解し、0~100 mg/L の範囲で様々な濃度の標準液を調製した。これらを後述の FIA 分析装置によって測定した。

2.3 共存イオンの影響評価

環境水の分析を想定し、共存の可能性のある金属イオンとして Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Ca^{2+} を取り上げ、Mg 測定への影響を評価した。評価方法としては、 Mg^{2+} 10 mg/L 測定時に上記金属イオンを添加し、測定値に対する影響の有無を検討した。

2.4 水道水、河川水および湖沼水の測定

従来法である ICP 発光分析法と今回開発した Mg-FIA 装置とで実試料測定値の比較を行い、本装置の実用性能を評価した。ICP 発光分析の操作は JIS K 0101 に従った。使用した装置は、セイコーインスツルメンツ(株)製 ICP 発光分析装置 (SPS1200AR) である。測定した試料水は、弊社実験棟内の水道水(相模川水系)、荒川の水、多摩川の水、印旛沼の水、桂沢ダム湖の水の 5 種類である。

3. 結果と考察

3.1 測定原理

ポルフィリンはポルフィン核をもつ化合物の総称である。ポルフィン核は、Fig. 1 に示す

ように4つのピロールがメチン基を介して環状に繋がった構造をしており、四座配位子として多くの金属イオンと錯体を形成する。親水性基の導入により、水溶性のポルフィリンが合成されるようになった後は、多くの研究者により、水系に含まれる各種イオンの吸光・蛍光・りん光分析にポルフィリンが利用されてきた^{5), 6)}。

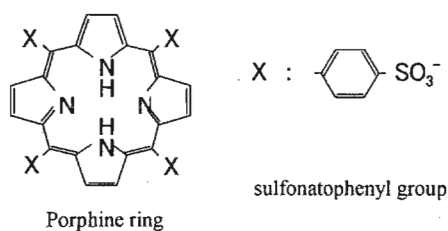
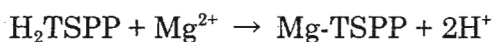


Fig.1 The structure formula of porphyrin (TSPP)

ポルフィリンは、400~450 nm の波長領域に Soret 帯と呼ばれる強い光吸収帯を持つ。一方、600~700 nm において蛍光を発する。また、金属イオンとの錯形成反応により吸収特性や蛍光特性が変化する場合が多い。こうした特性を利用すれば、ポルフィリンとの錯形成と蛍光測定を組み合せにより、目的とする金属イオン（本研究では Mg^{2+} ）の計測系が構築可能である。

今回使用したポルフィリンは、5,10,15,20-テトラキス(4-スルホナトフェニル)ポルフィン (Fig.1 参照、以下 TSPP と略称) である。TSPP はアルカリ水溶液中で下式のような反応により Mg^{2+} と錯体を形成する。



TSPP の選定にあたっては、水溶性で入手が容易であること、毒性が極めて小さいこと、 Mg^{2+} との錯形成反応の速度が比較的大きい

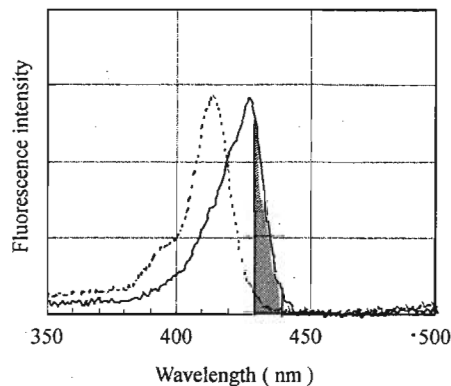


Fig.2 Excitation spectra of TSPP and Mg-TSPP
solid line : Mg-TSPP ($\lambda_{em} = 622 \text{ nm}$)
dotted line : TSPP ($\lambda_{em} = 645 \text{ nm}$)

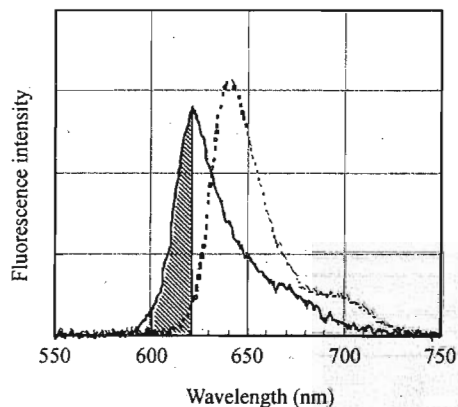


Fig.3 Emission spectra of TSPP and Mg-TSPP.
solid line : Mg-TSPP ($\lambda_{ex} = 428 \text{ nm}$)
dotted line : TSPP ($\lambda_{ex} = 414 \text{ nm}$)

ことなどを考慮した。

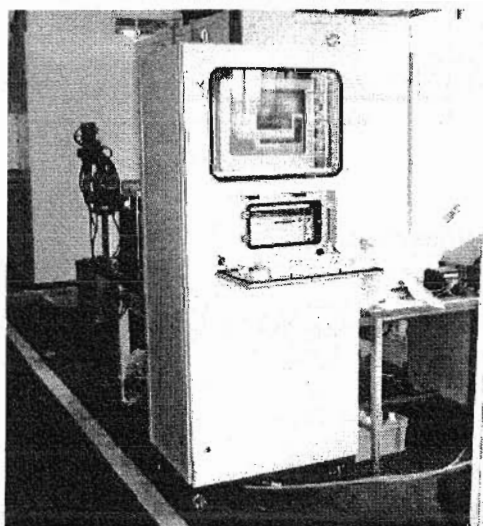
Mg 錯体が形成される前後での TSPP の励起スペクトルを Fig. 2 に示す (蛍光検出波長は各々の蛍光スペクトルのピークに設定)。また、 Mg-TSPP 錯体の蛍光スペクトルを Fig. 3 に示す (励起波長は各々の励起スペクトルのピークに設定)。励起および蛍光スペクトルの測定は、

島津製作所製蛍光分光光度計 (RF5300-PC) によって行った。

これらの結果から、TSPP は Mg との錯形成反応によって、励起スペクトルは長波長側に、蛍光スペクトルは短波長側にシフトすることが分かる。この特性を利用すれば、未反応の TSPP による蛍光に妨害されることなく、Mg-TSPP 錯体に帰属する蛍光を測定できる。実際の装置では、励起波長を 435 nm 半値幅 10 nm (Fig.2 斜線部分)、蛍光検出波長を 610 nm 半値幅 18 nm (Fig.3 斜線部分) に設定した。

3.2 自動計測装置

写真は Mg 自動計測 FIA 装置の試作機の外觀である。Fig.4 は自動計測装置による計測フローを示したものである。以下で Fig.4 を引用し、主な構成部品を説明しながら測定の流れを解説する。



Photography : The prototype of Mg-FIA apparatus

試料水は、中空糸フィルタ (ポアサイズ 1 μm) によって除濁された後、pH 緩衝液およ

び 3.2 mM TSPP 溶液と混合され、Mg-TSPP 錯体形成のための反応部に送られる。送液はイスマテック(株)製チューブポンプ (MS-CA4/8)、流路切換えは高砂電気(株)製クリーンバルブ (MTV-3T-M6G) により行う。流速は、毎分 0.4 mL である。

Mg²⁺と TSPP とを錯形成させる反応部は、SUS316 のチューブを自作のアルミブロックに螺旋状に巻きつけて、それを 100 W のラバー状のヒーター (坂口電熱(株)製) 2 枚でサンドイッチしたものである。反応部の中心付近に白金測温抵抗体を挿入し、温度調節器 (富士電機(株)製 : PXZ-7) を組合せることで反応部の温度を 90 °C に一定制御する。

送液の中断によって試料水を反応部に滞在させ、錯形成反応を行わせる。15 分間の反応後送液を再開し、試料水を蛍光検出器 (日本分光(株)製 820FP、光源 150 W キセノンランプ) に送る。蛍光検出器では、前述の励起および蛍光検出条件で試料水の蛍光量を測定する。

得られた測定結果は制御用のパソコン (富士通(株)製 : FMV-DP97Y5) に送られ、予め Mg²⁺ 濃度 0 mg/L および 50 mg/L の標準溶液を測定することで自動校正されている検量線に基づき、Mg²⁺ 濃度として算出する。

測定 1 サイクルに要する時間は 30 分である。その内訳は、試料水、TSPP 溶液および pH 緩衝液の送液に 9 分、錯形成のための反応時間が 15 分、蛍光検出と洗浄 6 分となっている。

3.3 標準試料による基本性能の評価

Fig.5 に標準液の測定結果を示す。1.5~100 mg/L の範囲で、標準液濃度と本装置の測定結果は相関係数 $r^2=0.9978$ と良好な相関を示すことが分かった。Mg²⁺ 濃度ゼロ液測定時の標準偏差 σ に対して 3σ をノイズ域と見なした

ところ、得られた検出下限は、1.5 mg/Lであった。環境水を試料としたときの実測域に近いと考えられる10 mg/Lの標準液を測定した場合のCV値は5.8%であった。

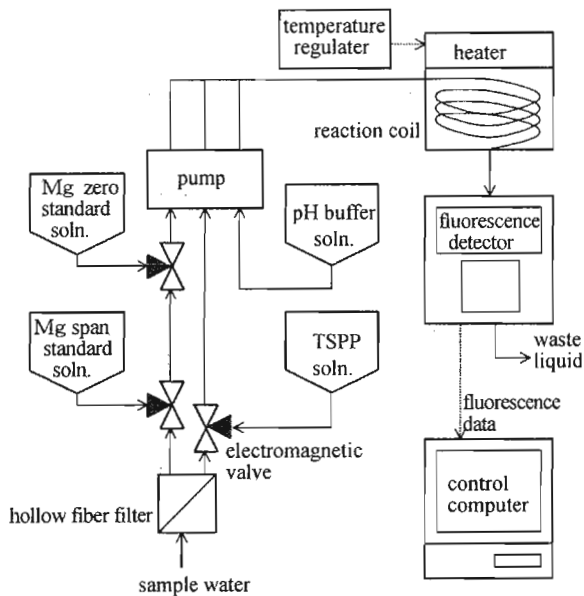


Fig.4 The flow system of Mg-FIA apparatus

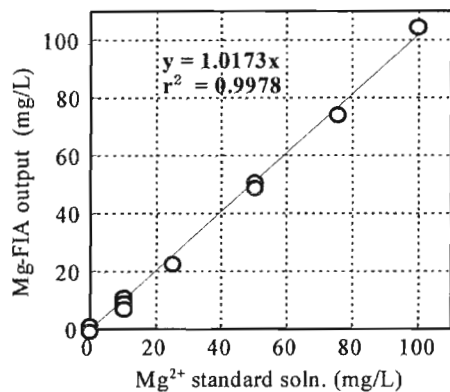


Fig.5 The results of measurement for standard sample

3.4 共存イオンの影響評価

結果を Table 1 にまとめて示す。それによると、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} は、通常的环境水で

起こりうる濃度域では、 Mg^{2+} 測定に影響しないことが分かった。一方、 Al^{3+} は今回試作した装置の Mg^{2+} 測定に若干影響を及ぼすことが示唆された。

Al^{3+} 濃度は、一般の河川水では 3 mg/L 程度だが、pH が酸性になっている場合は、土壤中で安定だったアルミニウム化合物がイオン化してその濃度が高まることが知られている。今回の実験結果から、酸性雨など何らかの理由で pH が低い環境下において、本装置を用いて Mg^{2+} 濃度測定を行う場合は、 Al^{3+} の影響を抑える工夫が必要と思われる。

Table 1 The interference of foreign metal ions.

coexist ion	result
Fe^{2+}	It was not interfered up to 2 mg/L.
Fe^{3+}	It was not interfered up to 2 mg/L.
Al^{3+}	The fluorescence data was reduced at 10 or 20 mg/L.
Ca^{2+}	It was not interfered up to 75 mg/L.

3.5 水道水、河川水および湖沼水の測定

結果を Fig.6 に示す。5種類の実試料水について、本装置で Mg^{2+} 濃度を測定した結果は、従来法である ICP 発光分析法と良い相関を示すことを確認できた (相関係数 $r^2=0.9357$)。したがって、本装置は mg/L オーダーである環境水を計測するには充分である。

各試料における測定結果のバラツキは、主に、気泡による出力変動や、蛍光検出器出力の定常的ふらつきに起因している。すなわち、原理的な問題ではなく、装置に関わる問題である。装置側の改良によって、さらに測定性能が向上する余地があると考えられる。

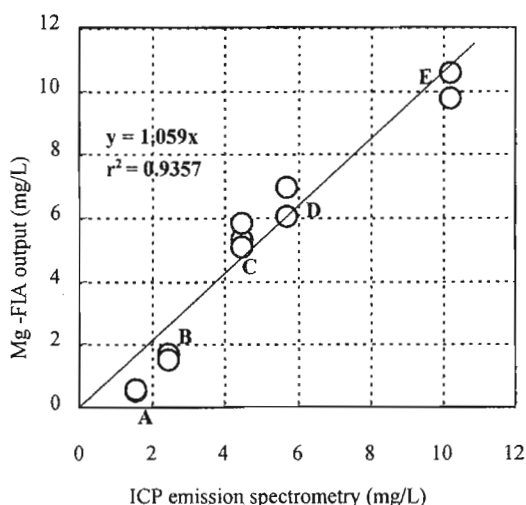


Fig.6 The results of measurement for tap water, river water, pond water and lake water

- A : Katsurasawadam lake water (pH7.4)
- B : Tamagawa river water (pH7.4)
- C : Tap water in Yokosuka city (pH7.6)
- D : Arakawa river water (pH7.7)
- E : Inbanuma pond water (pH7.9)

4. まとめ

今回の成果を以下に列挙する。

- ・TSPP 錯体の蛍光検出により Mg^{2+} を定量できた。本 FIA 装置の測定範囲は 1.5~100 mg/L、検出下限は 1.5 mg/L、 Mg^{2+} 濃度 10 mg/L 測定時の CV 値は 6 回繰り返し測定で、5.8%であった。
- ・共存するイオンの中で Al^{3+} は、酸性条件で Mg^{2+} 濃度測定を妨害する恐れがあることが分かった。
- ・水道水、河川水、湖沼水を測定し、従来法 (ICP) とクロスチェックを行ったところ、良い相関を得た。

文献

- 1) 日本水道協会：「生物起因の異臭味水対策の指針」, p.311-315 (1999).
- 2) E. Dreyer, J. Fichter and M. Bonneau, *Plant and soil*, **160**, 1, 67 (1994).
- 3) 渡辺寛人, 田中裕晃, *分析化学*, **26**, 635 (1977).
- 4) 五十嵐淑郎, 四ッ柳隆夫, 青村和夫, *日本化学会誌*, No.1, 60 (1981).
- 5) 四ッ柳隆夫, *化学*, **35**, 3,233 (1979).
- 6) 五十嵐淑郎, *分析化学*, **46**, 1, 1 (1997).

(Received May 5, 2000)

(Accepted June 7, 2000)