

# F I A法による容量分析の迅速化と連続自動化

(九大工) 石橋 信彦 今任 稔彦

## Flow Injection Analysis based on Volumetric Analysis-Reaction with Buffer Solutions.

Nobuhiko Ishibashi Toshihiko Imato

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

1. 緒言 容量分析法は、機器分析法が発達した現在でも、化学実験室、研究室あるいは生産現場で重要な基本分析法としての役割を果たしているが、その欠点をあげれば、迅速性に欠け、自動滴定法といえどもなお手動的な面を残していることであろう。この点について、滴定を連続流れの中で行なう試みが多く<sup>1-4)</sup>の研究<sup>5,6)</sup>者によってなされており、J. RuzickaらはF I A法研究の初期から容量分析的分析法をF I A法で迅速に行なうことを検討し、成功している。しかし、その方法論は、原理的には通常の容量分析法と同様である。すなわちF I Aマニホールド系に、滴定剤を含む溶液を流通させつつ、これに試料液を注入する。この際流通液の液性(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流通液中の滴定剤との反応によって液性が元に戻る時点までに必要な流通液の容積(ピーク幅に相当する)が定量に用いられる。E. PungorらはRuzickaより先に流れ分析による容量分析の自動化、迅速化を検討し、滴定終点を電位検出する方法を創案しているが、これも終点までの滴定剤の量から分析する点では同様である。筆者はこれに対して、“ピーク高”を定量尺度とするF I A滴定法を考案した。<sup>7)</sup>この方法ではマニホールドにpH緩衝液、酸化還元緩衝液などを流し、これに試料を注入する。そして試料注入による液性の変化の大きさそのものを検出し、これにより定量する。同様の原理に基づきユニバーサルなpH緩衝液の流れとガラス電極を用いる酸、塩基の滴定がAstromによって報告されているが、<sup>8)</sup>検出は指示薬の吸光度変化でも、電位変化でもよい。指示薬の場合には、緩衝液の液性変化を鋭敏に反映するものを選ぶ。たとえば、中和滴定では、緩衝液の酸と同じ解離定数をもつ中和指示薬を用いる。さらにこの方法では“Injection”による分析だけでなく、連続流の分析も可能である。以下その原理と実例を述べる。

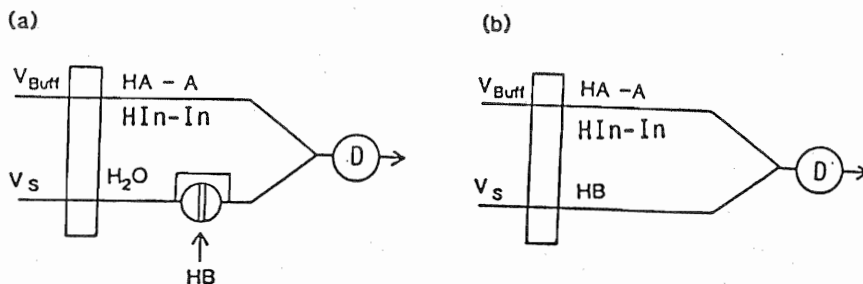


Fig.1 Flow diagrams of analysis

(a) Sample injection method

(b) Continuous flowing sample method

2. 緩衝液を用いる FIA 滴定の方法論 酸の分析を例とする。キレート滴定、及び酸化還元滴定もほぼ同様に取り扱える。図 1 (a) に示す 2 流路系を考える。一方の流路に指示薬 HIn を含み弱酸 HA 及びその共役塩基 A<sup>-</sup> からなる緩衝液を、他方に、水をそれぞれ V<sub>Buff</sub> V<sub>S</sub> の流量で送液する。HA 及び HIn の解離定数を K<sub>a,HA</sub> 及び K<sub>In</sub> とすると、検出器 (D) における pH は

$$\text{pH} = \text{p}K_{a,HA} + \log (C_A/C_{HA}) \dots \dots (1)$$

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

両式から

$$C_A/C_{HA} = \alpha (C_{In}/C_{HIn}) \quad \alpha = K_{a,HA}/K_{In} \dots \dots (3)$$

の関係が得られる。従って、水の流路に、試料の酸 HB が注入されると、緩衝液と混合し A<sup>-</sup> + HB → HA + B<sup>-</sup> の反応により、C<sub>A</sub>/C<sub>HA</sub> の割合が変化する。この変化は (3) 式に従い指示薬の C<sub>In</sub>/C<sub>HIn</sub> の変化となるので、C<sub>In</sub>/C<sub>HIn</sub> の変化を吸光度測定などで知ることにより試料 HB の濃度を吸光度ピーク高として定量できる。同様に、C<sub>A</sub>/C<sub>HA</sub> の変化を直接ガラス電極の電位変化 (ピーク) として検出できる。ここで、本法の定量的考察のため、図 1 (b) の様に、試料を連続的に流す場合を考える。試料 HB の混合による指示薬の HIn の濃度変化量は指示薬の全濃度及び試料 HB の濃度 C<sub>HA</sub><sup>Tot</sup>, C<sub>HB</sub> を用いると α = 1

のときは  $\Delta C_{\text{HIn}} = (C_{\text{HIn}}^{\text{Tot}}/C_{\text{A}}^{\text{Tot}}) C_{\text{HB}} / (1+f) \dots (4)$  と簡略化される。

$C_{\text{HIn}}$  は  $C_{\text{HB}}$  と直線関係が成立する。ガラス電極で検出するときは、試料HBの混合による電位変化 $\Delta E$ (V)は次式で表わされる。 $C_x$ はHBとの反応によるHAの生成量である

$$\Delta E = 0.059 \log \left\{ \frac{1+f(C_{\text{A}}/C_{\text{HA}})}{1-f(C_{\text{x}}/C_{\text{A}})} \right\} \dots (5)$$

HBが解離定数 $K_{\text{a,HB}}$ の弱酸であるとき $C_x$ は次式で表わされる。

$$C_x = \frac{[K_r(C_{\text{A}}+C_{\text{HB}})+C_{\text{HA}}^-]}{\sqrt{\{K_r(C_{\text{A}}+C_{\text{HB}})+C_{\text{HA}}\}^2 - 4(K_r-1)K_r C_{\text{A}} C_{\text{HB}}}} / 2(K_r-1) \dots (6)$$

ここで  $K_r = K_{\text{a,HB}}/K_{\text{a,HB}}$  HBが強酸ならば  $C_x = C_{\text{HB}}$  である。

$C_{\text{A}} = C_{\text{HA}}$  のとき (5)、(6) 式の計算曲線を図2に示す。 $\Delta E$ は  $C_{\text{HB}}/C_{\text{HA}}$  の比が小さいとき  $C_{\text{HB}}$  とほぼ比例する。感度は、 $K_r$ に依存し、 $K_r$ が $10^8$ 以上になると同一の検量線となる。

FIA法では、注入された試料は、細管中を流れる間に分散し希釈されるが、分散度がコントロールされた流動条件では、検出器での分散度は一定と考えられる。従ってFIA法においても、(4)式や(5)(6)式で計算された量に比例した応答ピークが得られる。また図1(b)のフロー系では、流動溶液分析の連続化が可能である。

### 3. 酸-塩基滴定

(1) HClの分析 FIA系と検量線ピークを図3に示す。緩衝液に酢酸-酢酸ナトリウムを用いるときは指示薬としてはメチルレッド ( $pK_{\text{In}} = 5.0$ ) が適当である。ピーク高は注入HCl濃度に比例している。酢酸と類似の解離定数をもつプロモクレゾールグリーン ( $pK_{\text{In}} = 4.7$ ) でも同様の結果が得られる。プロモフェノールブルー ( $pK_{\text{In}} = 3.85$ )

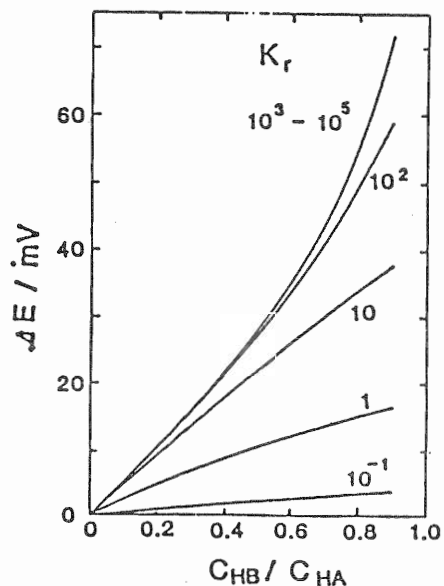


Fig.2 Theoretical estimates of the potential change [see Eq.(5)]

やプロモクレゾールパープル ( $pK_{In} = 6.12$ ) では、注入HCl 濃度に対して直線的な検量線は得られない。図3に示すように吸光度ピークと同様にガラス電極による電位検出ピーク高も注入HCl 濃度に比例している。指示薬法における検出感度は注入試料濃度に対する緩衝液総濃度の相対比、指示薬濃度及びその流量に依存し、また電位検出法の感度も同様に、緩衝液総濃度及び緩衝液と試料の酸解離定数の相対比に依存する。それらの諸条件の検討結果は(4)及び(5)式による予測と一致した。

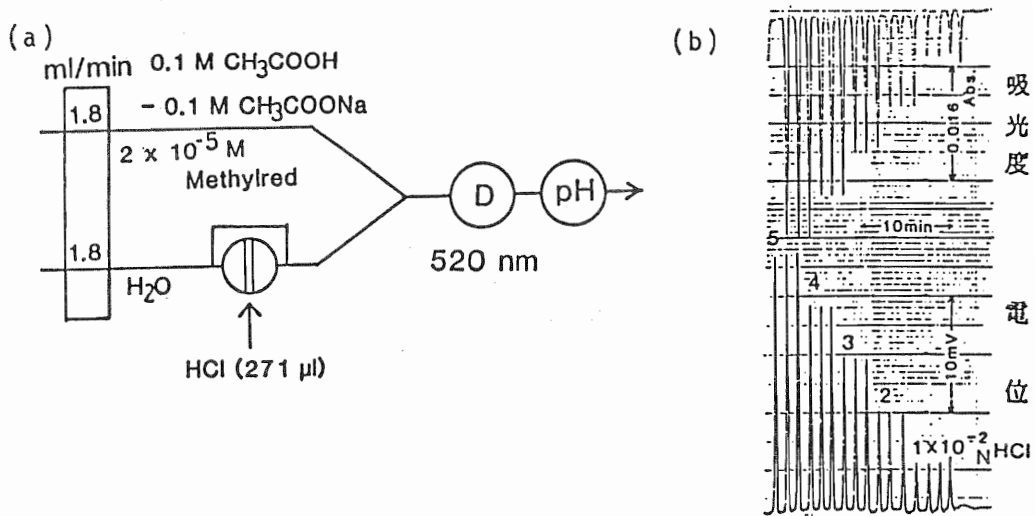


Fig.3 Analysis of HCl

(a) flow diagram

(b) calibration peak

(2)  $NH_3$  の分析 図4にフロー系と指示薬法による検出ピークを示す。HCl のような2ライン系でもよい。 $NH_3$  との反応によって減少した HCl濃度から間接的に $NH_3$  を分析する方法である。

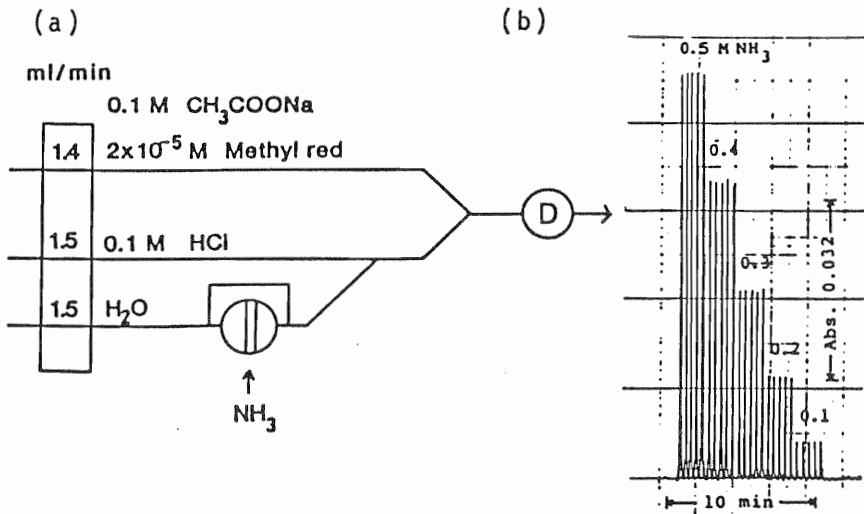


Fig.4 Analysis of ammonia

(a) flow diagram

(b) calibration peak

(3) アミノ酸の分析 Sorensen滴定法を本法に適用した。フロー系とグリシンの検量線ピークを図5に示す。アミノ酸がホルムアルデヒドの流れと合流し、N-ジ(ヒドロキシメチル)アミノ酸を生成し、再び  $\text{HPO}_4^{2-} - \text{PO}_4^{3-}$  緩衝液と合流する。このときのpHの変化をガラス電極で検出したものである。バリンやアラニンほぼ同じ感度を示し、グルタミン酸はそれらの約2倍の感度で検出可能である。ホルムアルデヒドと反応したグルタミン酸が二塩基酸となることを示している。本法を清酒中の全アミノ酸の定量に適用した結果、バッチ法による測定結果とよく一致した。クロマトグラフ法と連結すれば分離定量も可能である。図6にその例を示す。

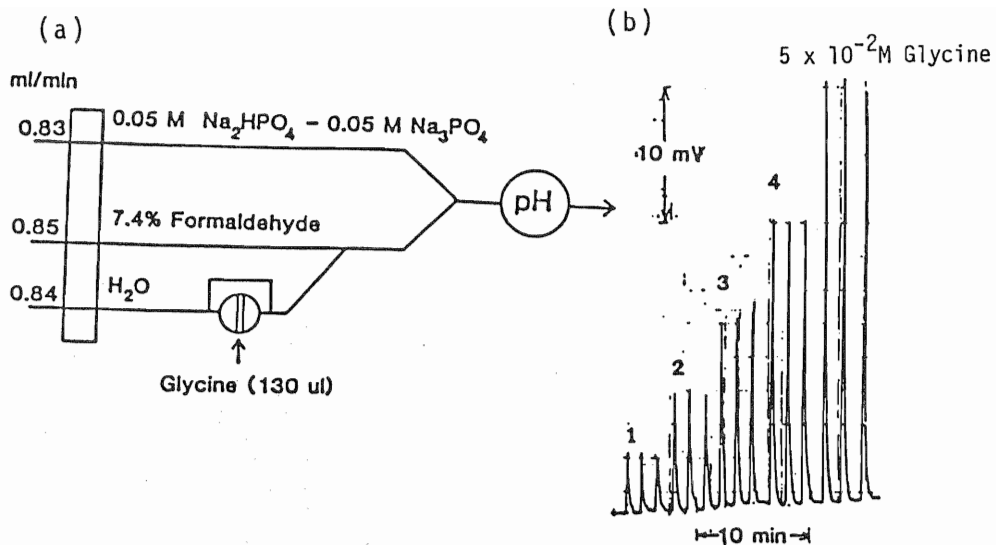


Fig.5 Analysis of amino acids

(a) flow diagram

(b) calibration peak of glycine

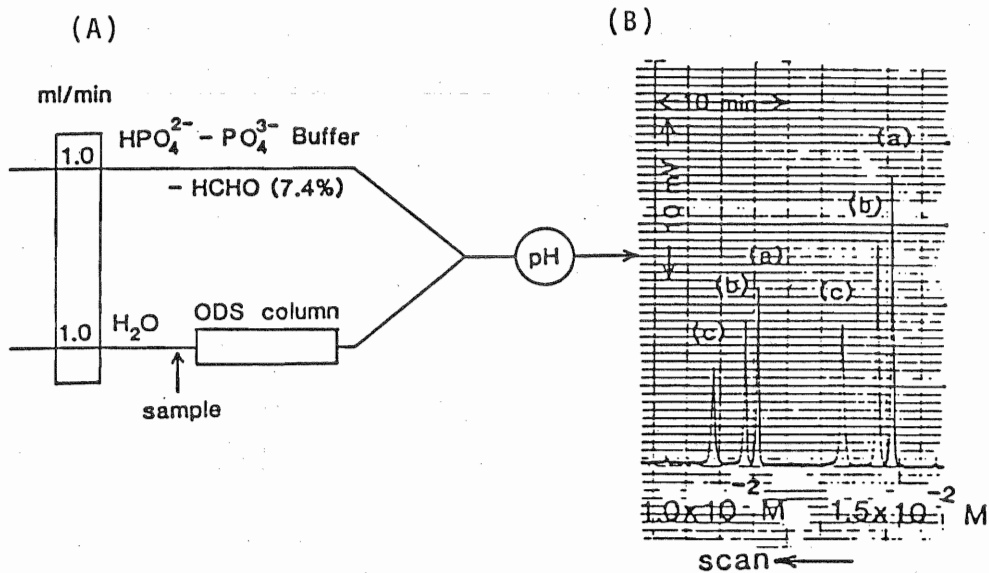


Fig.6 Separation of amino acids

(A) flow diagram (B) chromatograms

(a) glycine, (b) L-valine, (c) L-leucine

#### 4. キレート滴定

(1)  $Mg^{2+}$  の分析 FIA系と検量線ピークを図7に示す。 $Mg^{2+}$ -NTAの錯形成定数が $Mg^{2+}$ -カルマタイトのそれとpH9-10でほぼ等しいことを利用している。検出波長は $Mg^{2+}$ -カルマタイト錯体の極大吸収波長535 nmである。カルマタイトと同様の錯形成定数をもつBT指示薬も用い得る。

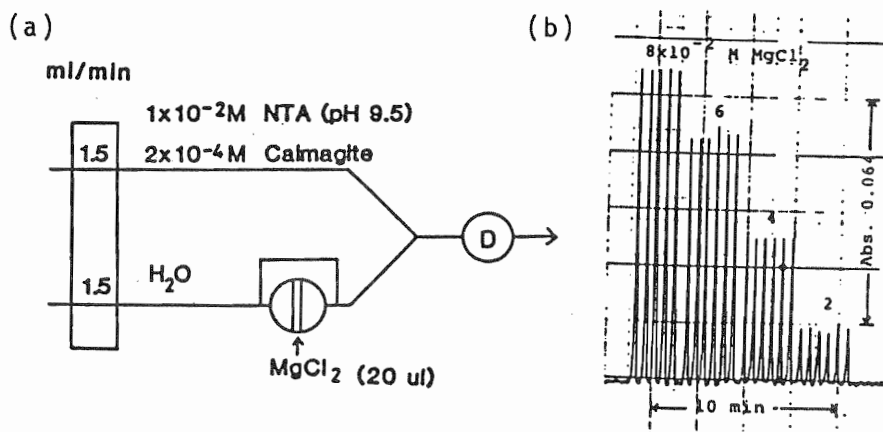


Fig.7 Analysis of magnesium

(a) flow diagram

(b) calibration peak

(2) 配位子 (EDTA) 分析 FIA系と検量線ピークを図8に示す。NTA- $Mg^{2+}$ 系緩衝液を用いている。EDTAの注入により、NTAとカルマタイトに等しく分配されて結合している $Mg^{2+}$ がEDTAに置換結合する。カルマタイト- $Mg^{2+}$ 錯体濃度の減少を測定し、図8(b)のように分析できる。

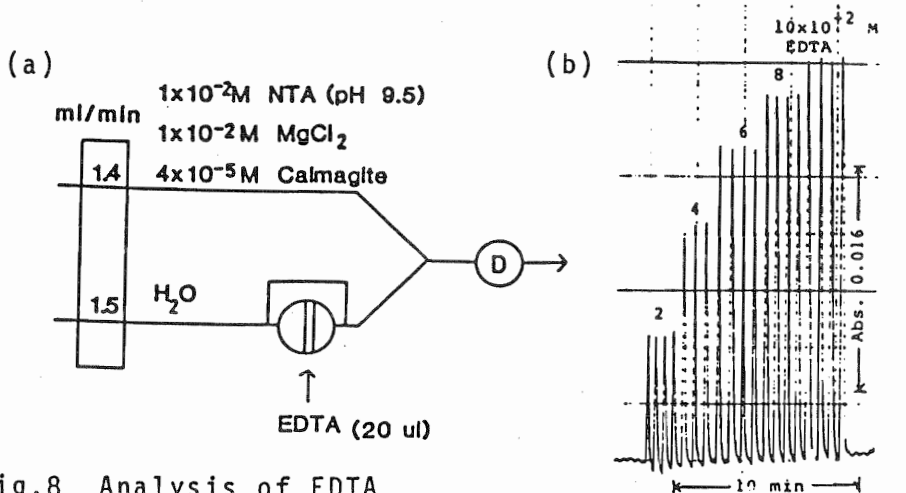


Fig.8 Analysis of EDTA

(a) flow diagram

(b) calibration peak

(3) 全硬度の分析 FIA系を図9 (a) に示す。図8のFIA系にEDTA溶液のラインを加えたもので、注入された $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ との反応により減少したEDTAを分析し、間接的に $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ を分析するものである。図9 (b) に示すように、 $\text{Ca}^{2+}$ や $\text{Mg}^{2+}$ 単独の場合と同様に全硬度の分析が可能である。

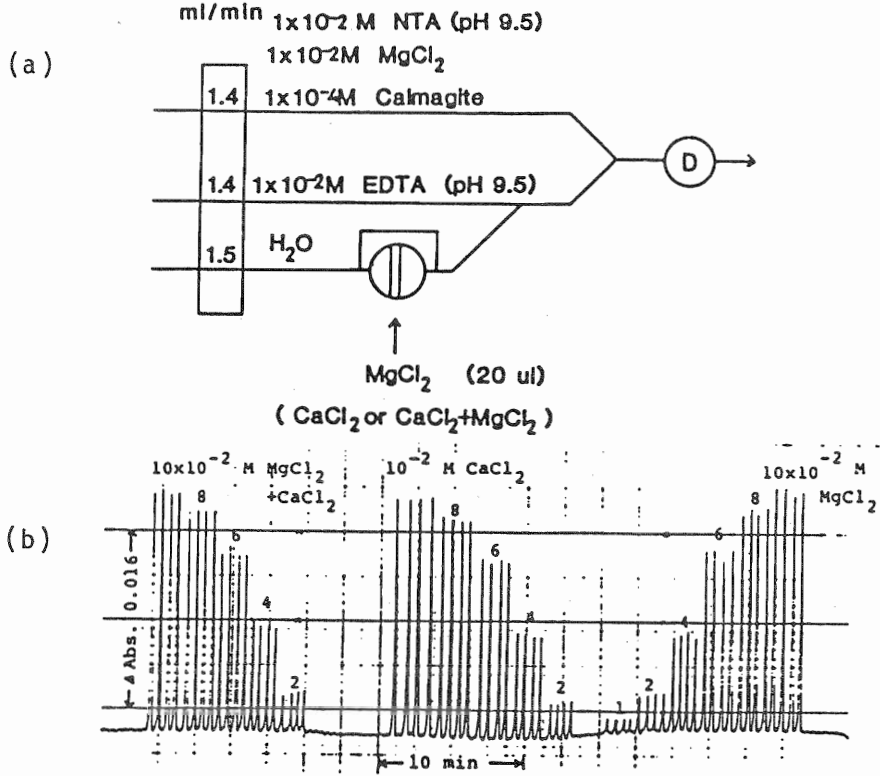


Fig.9 Analysis total water hardness  
(a) flow diagram  
(b) calibration peak

(4)  $\text{Ca}^{2+}$  硬度の分析 FIA系を図10 (a) に示す。一方の流路に EGTA-Cu・EGTAの緩衝液を、他方に水を流している。水のラインに注入された $\text{Ca}^{2+}$ は緩衝液と合流し、遊離のEGTAと反応し $\text{Ca}\cdot\text{EGTA}$ 錯体が生成する。この反応によりEGTA濃度が減少し、Cu-EGTA錯体の解離が起こり、遊離の $\text{Cu}^{2+}$ 濃度が増加する。これを $\text{Cu}^{2+}$ イオン電極で検出し、 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度をピーク高として定量したものである。図10(b) に示すように、ピーク高は注入 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度に比例し、 $\text{Mg}^{2+}$ の共存はほとんど影響せず、 $\text{Ca}^{2+}$ 硬度のみ定量できる。同様の原理に基づき、Cu-トリエン系緩衝液流れと $\text{Cu}^{2+}$ イオン電極を用いれば、ハロゲン化物イオンやEDTAなどの配位子の妨害なく $\text{Cu}^{2+}$ を定量できるほか、他の重金属イオンの定量も可能である。



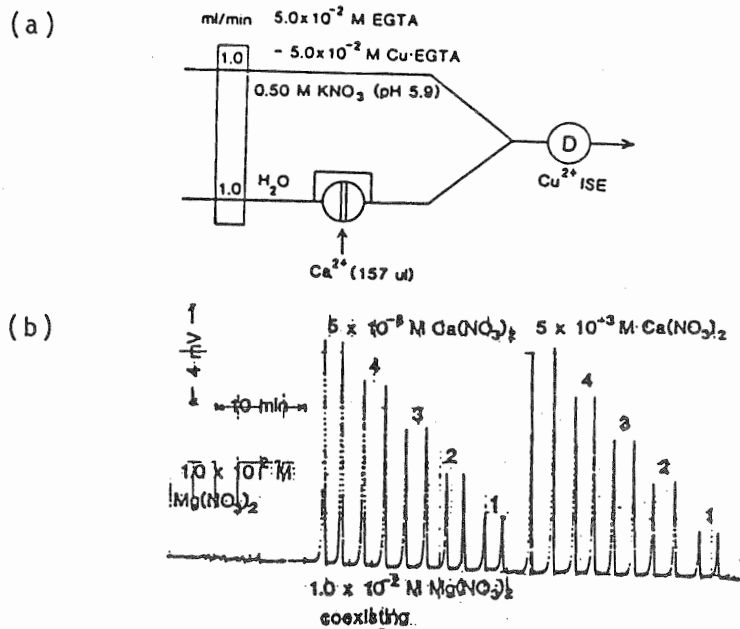


Fig.10 Analysis of calcium hardness

(a) flow diagram

(b) calibration peak

## 5. 酸化還元滴定

酸化還元緩衝液の流れと酸化還元電極 (ORP) 電極を用いる系について示す。測定原理は方法論を述べた2項とほぼ同様であり、理論式も(5)式と同様である。FIA系と $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ の検量線ピークを図11に示す。 $\text{Fe}(\text{II})$ - $\text{Fe}(\text{III})$ 系緩衝液を用いた場合に、種々の酸化剤、還元剤を試料とし、これらを同一濃度で注入したときのピーク高さを図12に示す。 $\text{MnO}_4^-$ ,  $\text{Ce}(\text{IV})$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ はほぼ同じピーク高さを、L-アスコルビン酸も負のピークではあるが同じピーク高さを示す。このことは、これらの酸化剤、還元剤と緩衝液中の $\text{Fe}(\text{II})$ ,  $\text{Fe}(\text{III})$ との反応が十分進行していることを示唆している。一方、シュウ酸は、L-アスコルビン酸より低いピーク高を与えており、ギ酸、ヒドロキシルアミンやヒドラジンはピークが検出されない。このことは $\text{Fe}(\text{III})$ では、これらの還元剤試料を十分酸化しえないことを示している。酸化還元電位がさらに高い $\text{Ce}(\text{III})$ - $\text{Ce}(\text{IV})$ 系緩衝液を用いることによりシュウ酸の分析が感度よくおこなうことができ(図13)、ヒドロキシルアミンやヒドラジンの定量も可能である

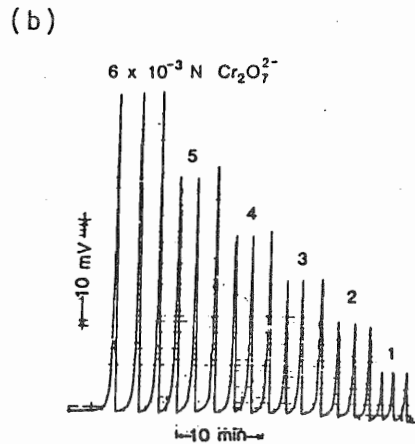
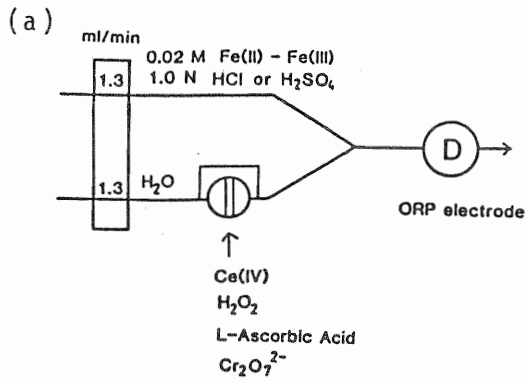


Fig.11 Analysis of redox reagents

(a) flow diagram

(b) calibration peak of  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$

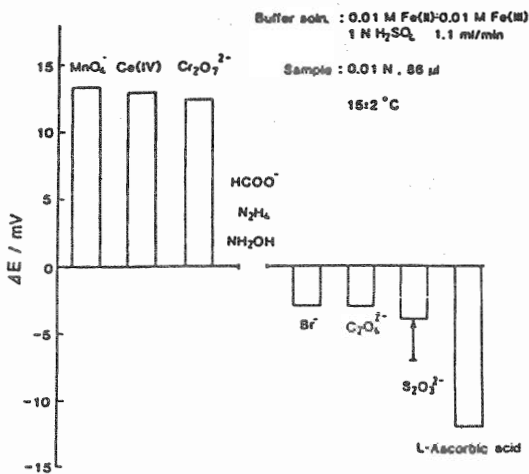


Fig.12 Peak heights of various kinds of redox reagents

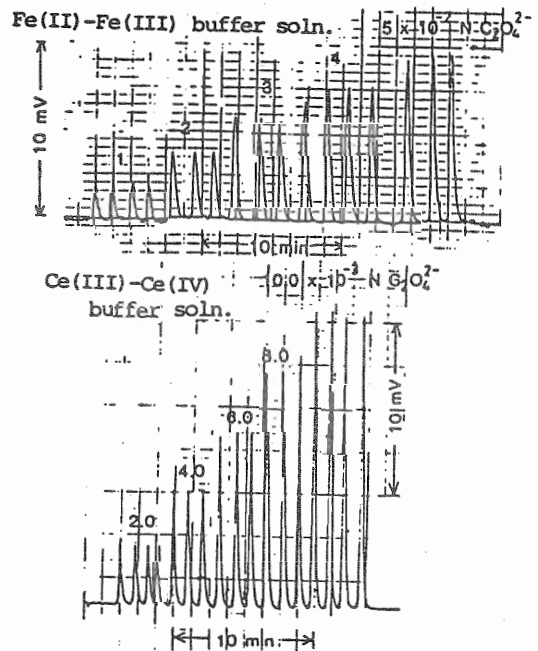


Fig.13 Analysis of oxalic acid

## 6. 結言

ビュレットを用いる自動電位差滴定は広く用いられているが、多数試料の分析には適していない。一方 Ruzicka らによって考案されたフローインジェクション滴定法は迅速ではあるが“ピーク巾”を定量に用いるため連続分析には用いることができない。本研究の“ピーク高”を用いる F I A 滴定法は、実例で示したように個別試料も迅速に分析が可能であり、さらに方法論 (2 項) で述べたように、連続分析にも利用でき応用範囲はさらに広いと考えられる。

## 7. 文献

- 1) W. J. Blaedel and R. H. Laessig, *Anal. Chem.*, 36, 1617 (1964)
- 2) B. Fleet and A. Y. W. Ho, *Anal. Chem.*, 46, 9 (1974)
- 3) G. Nagy, K. Toth and E. Pungor, *Anal. Chem.*, 47, 1460 (1975)
- 4) G. Nagy, Zs. Feber, K. Toth and E. Pungor, *Anal. Chim. Acta*, 91, 87 (1977)
- 5) J. Ruzicka, E. H. Hansen and H. Mosbaek, *Anal. Chim. Acta*, 92, 235 (1977)
- 6) A. U. Ramsing, J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, 129, 1 (1981)
- 7) 石橋信彦、今任稔彦、稲見弘子、第43回分析化学討論会2D02 (1982)
- 8) O. Astrom, *Anal. Chim. Acta*, 105, 67 (1979)

筆者連絡先 ; 〒812 福岡市東区箱崎6-10-1  
九州大学工学部 工業分析化学教室