

FIA法による超微量コバルトの接触分析法

河嶋 拓治, 南 隆郎*, 阿多 誠文, 鎌田 政明*, 中野 恵文*

- 鹿児島大学教養部化学教室 〒890 鹿児島市郡元1-21-30
* 鹿児島大学理学部化学教室 〒890 鹿児島市郡元1-21-35
* 鳥取大学教育学部化学教室 〒680 鳥取市湖山町南4-101

N-フェニル-p-フェニレンジアミン (PPDA) はpH11付近で過酸化水素により黄色化合物に酸化され、これを塩酸酸性にすると、より吸光度の高い青色生成物 ($\lambda_{\max} = 745 \text{ nm}$) に変化する。黄色化合物の生成反応はきわめて遅いが、ここにコバルト (II) が存在すると接触的に酸化が促進され、またこの系に *activator* としてタイロンを共存させるとさらに反応速度が飛躍的に増大するようになる。この反応系を利用するコバルトのFIA法を検討したところ、0.04~0.20 ng/ml の濃度範囲のコバルトを精度よく分析することができ、分析速度は毎時30検体、コバルト (II) 0.08 ng/ml および0.16 ng/ml について10回くりかえし定量したときの変動係数はそれぞれ3.2%および4.0%であった。

緒 言

接触分析法はきわめて高感度な分析法として知られるが¹⁾、コバルトの接触分析法として、これまでガロシアン²⁾、クロモトローブ酸³⁾、SPADNS⁴⁾、キナリザリン⁵⁾、カテコール⁶⁾、タイロン^{7), 8)} などの過酸化水素による酸化反応を利用する方法が報告されている。これらはいずれも高感度な分析法であるが、著者らは、より高感度なコバルトの接触分析法を開発する目的で各種の反応系についてコバルトの接触作用を検討したところ、pH11付近でN-フェニル-p-フェニレンジアミン (PPDA) を過酸化水素で酸化すると黄色化合物が生成する反応が、微量のコバルト (II) によって接触的に促進され、またこの反応系にタイロン (1, 2-ジヒドロキシベンゼン-3, 5-ジスルホン酸) を添加すると *activator* として作用し、黄色化合物の生成速度が飛躍的に大きくなることを見出した。さらに、pH11で生成した黄色化合物は酸性溶液 (pH0.5) 中では黄色化合物よりも吸光度の高い青色化合物 ($\lambda_{\max} = 745 \text{ nm}$) に変化することも見出した。したがって、pH11で黄色化合物を生成させ、一定時間後に塩酸を加えて溶液のpHを0.5とし、745 nmにおける吸光度を測定すれば超微量のコバルトの定量が可能となる。しかし、この方法では反応のpHと吸光度測定

Hが異なることから操作が繁雑となるので、本反応系をFIA法に適用して検討したところ、迅速かつ簡便なコバルトの接触分析が可能となったので報告する。本法は0.04 ng/ml程度の微量コバルトを精度よく測定できるものであり、海水中のコバルトを少量の試料水を用いて定量できたので、その結果についても報告する。

実 験

試薬

コバルト(II)標準溶液：和光純薬特級 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を用いて10 mg/ml溶液を調製した。正確な濃度はEDTAによるキレート滴定によって求めた。原液、希釈液ともに0.1 Mの塩酸酸性として使用した。

N-フェニル-p-フェニレンジアミン(PPDA)溶液：和光純薬製化学用PPDAを0.1 M塩酸に溶かして、 8.4×10^{-3} M溶液を調製した。使用しない時は、窒素ガスを飽和させて保存した。なお、濃度は不溶性残渣をろ過し、残渣の乾燥重量を差し引いて算出した。

タイロン(1,2-ジヒドロキシベンゼン-3,5-ジスルホン酸二ナトリウム塩)：同仁化学製のもを0.1 M塩酸に溶かして、 2.5×10^{-2} M溶液を調製した。

PPDA-タイロン混合溶液：PPDAおよびタイロンの溶液をそれぞれ750 mlおよび100 mlとり混合し、0.1 M塩酸で全量を1 lとして使用した。

過酸化水素溶液：三菱瓦斯製特級過酸化水素(30 wt%)を過マンガン酸カリウムで標定して濃度を求め、蒸留水で希釈して 3.6×10^{-2} Mの濃度のものを調製して使用した。

水酸化ナトリウム溶液：飽和水酸化ナトリウム溶液を蒸留水で適宜希釈して、0.133 M溶液を調製して使用した。

塩酸：和光純薬製精密分析用塩酸を適宜希釈して使用した。

その他の試薬は、ことわらないかぎり市販特級品を使用した。

装置および操作

Fig. 1に本法におけるフローシステムを示す。定流量マイクロポンプ(P) (盛進

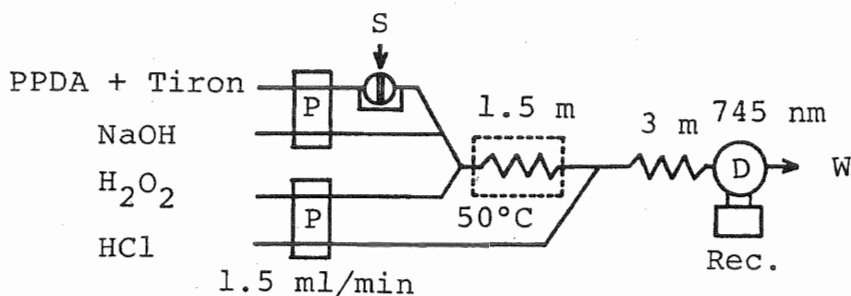


Fig. 1. Flow system for the determination of cobalt.

製薬製ダブルランジャーPSD-32W型)を用いて、PPDA-タイロンの混合溶液の流れの中にサンプルインジェクター(S)(盛進製薬製VMU-6)により試料溶液(187 μ l)を注入し、ついで水酸化ナトリウム溶液と過酸化水素溶液とをそれぞれ送液して、1.5mの1次反応コイル内で黄色化合物を生成させる(pH11, 50 $^{\circ}$ C)。反応後3mの2次反応コイル内に塩酸を送液して青緑色化合物を生成させ、容積20 μ lのマイクロセル付分光光度計(日本分光UVIDE C-320)に導き、745nmにおける吸光度変化を記録紙上に記録させる。溶液の吸い上げ速度はすべて毎分1.5m, 試料注入間隔は2分とし、チューブは内径1mm, 外径2mmのテフロンチューブを使用した。

結果および考察

フローシステムにおける条件の検討

分散度に基づく試料体積の検討

試料体積を決定するために、1次反応コイル内における分散度について検討した。本法においては試薬の流れの一部にサンプルセグメントを形成させるので、反応が進行するためには、ある程度分散が大きいことが必要と考えられる。

分散度は次のようにして求めた。すなわち、メチルオレンジの溶液を連続的に流すことにより定常状態の吸光度 H^0 を求める。次に1次反応コイルの長さを一定として、97~2500 μ lの範囲でメチルオレンジの注入体積を変化させて各体積における吸光度のピーク高 H を測定して分散度 $D(=H^0/H)^{1/2}$ を算出した。結果をFig. 2に示す。一方、反応コイルの長さを0~15mの範囲で変化させて、一定体積のメチルオレンジ溶液を注入して分散度を求めたが、分散度に与える影響は試料体積の変化に比べて小さいことがわかった。

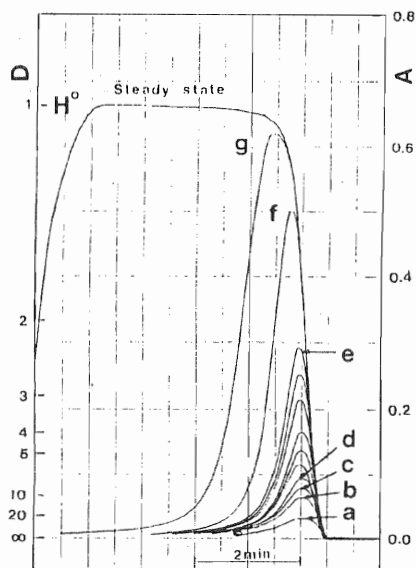


Fig. 2. FIA response curves as a function of injected sample volume (methyl orange). Sample volume (μ l): a, 97; b, 157; c, 187; d, 223; e, 543; f, 1010; g, 2500.

また、Fig. 3に各試料体積で得られた分散度D(○印)とタイロンを用いない系に一定濃度(10 ng/ml)のコバルト(II)溶液を各試料体積で注入して得られた吸光度(●印)との関係を示す。Fig. 3の吸光度の検討(●印)において、分散度が5以下となる試料体積では、サンプルセグメントの中央部の分散が十分でないため反応が十分に進行せず、ダブルピークが得られ、分散度が15以上になる試料体積では分散が大きくなり過ぎて吸光度は低下した。したがって、本法においては、分散度が5~15の範囲でしかもある程度の吸光度が得られる150~250 μl の範囲の試料体積が適当と考えられる。

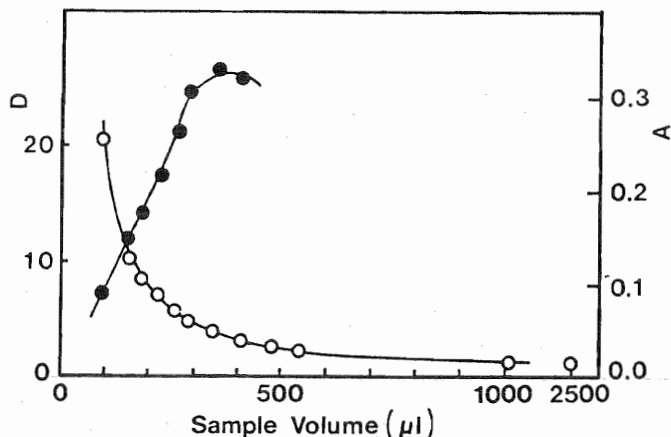


Fig. 3. Correlation of dispersion D (○) and absorbance A (●) at 745 nm. The absorbances were obtained by injecting cobalt (II) (10 ng/ml) with different volumes into the FIA system without Tiron.

キャリアオーバーに基づく試料体積と試料注入間隔の決定

上述の結果から、157、187および233 μl の試料体積を選び、それぞれについてのキャリアオーバー¹⁰⁾から試料体積および試料注入間隔を決定した。各試料体積で、10 ng/mlのコバルト(II)溶液をタイロンを含まない反応系のフローシステムに注入してから最大の吸光度Hmaxが得られるまでの時間をTとし、任意の時間Tにおける吸光度をHtとすると、 $\log(Ht/H_{\max})$ が-2であればキャリアオーバー(1%に相当する)は無視できる。Fig. 4に3種類の試料体積について、 $\log(Ht/H_{\max})$ の値をTをゼロとした時間スケールで表した結果を示す。

Fig. 4に見られるように、試料体積157 μl では1分40秒、187 μl では1分56秒でキャリアオーバーが1%となるが、233 μl では3分以上経過しても1%とはならない。したがって、本法ではキャリアオーバーが1%以内となり、しかもある程度の分析感度が得られる試料体積として187 μl を選び、試料注入間隔を2分と決定した。

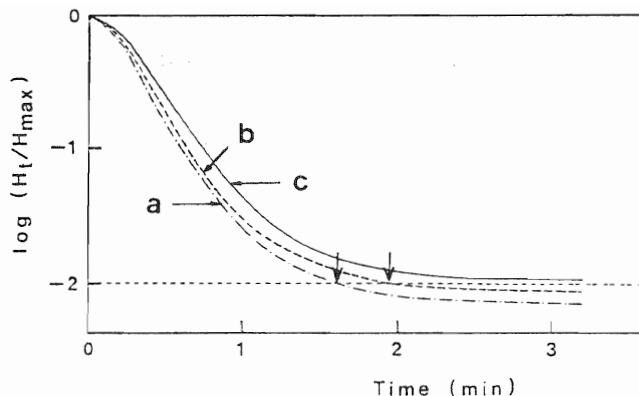


Fig. 4. Estimation of injection intervals from carryover. Sample volume (μl): a, 157; b, 187; c, 223. At the points indicated by the allows, the degree of carryover corresponds to 1 %.

1次および2次反応コイルの長さの決定

反応温度 50°C で、タイロンを含まない反応系に 10 ng/ml のコバルト (II) 溶液を注入して、1次反応コイルの長さの影響を検討した。その結果 1.5 m まではコイルが長くなるにしたがって 745 nm における吸光度は急激に増大するが、それ以上の長さになると吸光度は次第に減少した。これは反応生成物 (黄色化合物) の分解によるものあり、反応温度が高いほど分解速度は大きく、遮光しても分解反応は進行する。本法では 1.5 m の1次反応コイルを使用することにした。一方、2次反応コイルについては、 3 m まで長さとともに吸光度は増大していくが、 3 m 以上になると青色化合物の分散のためにわずかに吸光度の減少が認められた。本法では感度を考慮して2次反応コイルを 3 m とした。

分析条件の検討

pHおよび温度の影響

黄色化合物の生成は $\text{pH } 9$ 以上ではじまり、 $\text{pH } 11$ 付近で最大の吸光度を示す。この範囲からはずれると生成速度は遅くなり吸光度が減少するのが認められた。一方、黄色化合物から青色化合物への変化は $\text{pH } 7$ 以下で顕著であり、 $\text{pH } 0.5$ 以下ではほぼ一定最大の吸光度が得られた。したがって、本法では1次反応コイル内の溶液の pH が 11 になるように 0.133 M の水酸化ナトリウム水溶液を、また、2次反応コイル内には 3 M 塩酸をそれぞれ送液することにした。

1次反応コイルの長さを 1.5 m として黄色化合物生成におよぼす影響を検討したところ、 50°C までは温度の上昇とともに吸光度は増加していくが、 55°C で頭打ちとなり 60°C 以上では、黄色化合物が分解するため吸光度は減少した。本法では反応温度 50°C を選んだ。

試薬濃度の影響

リザーバー内のPPDAおよび過酸化水素溶液の濃度がそれぞれ $5 \times 10^{-3} \text{M}$ および $2 \times 10^{-2} \text{M}$ 以上で、一定かつ最大の吸光度が得られたので、PPDAおよび過酸化水素の濃度としてそれぞれ $6.3 \times 10^{-3} \text{M}$ および $3.6 \times 10^{-2} \text{M}$ を選んだ。

activatorの影響

activatorは主反応そのものには無関係であるが、触媒が存在すると著しく反応速度を増大させるものとして知られ、接触分析において適当なactivatorの有無が分析感度を左右する^{11, 14}。ここでは1,10-フェナントロリンとタイロンについてactivatorとしての効果を検討したところ、タイロンが著しい作用を示すことを見出した。すでに述べたようにタイロンの酸化反応を利用するコバルトの接触分析法^{7, 8}が報告されているが、本法の条件下ではタイロンの酸化反応はコバルトによって触媒されないことを確かめた。タイロンを $0 \sim 1 \times 10^{-2} \text{M}$ の濃度範囲で変化させて、黄色化合物の生成におよぼす影響を745 nmにおける吸光度を測定して検討したところ、Fig. 5に示すように、 $2.5 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度まではタイロンの濃度の増加とともに黄色化合物の生成速度が大きくなり吸光度が増加するが、 $2.5 \times 10^{-3} \text{M}$ 以上の濃度になると逆に吸光度が減少する結果が得られた。このように、タイロンは低濃度存在すると反応のactivatorとして作用するのに対してある濃度以上になると逆にinhibitorとして作用する現象は、activatorの一般的な性質として知られており^{11, 14}、その現象と一致する。本法においてはタイロンの濃度を $2.5 \times 10^{-3} \text{M}$ としてPPDAとの混合溶液を送液することにした。

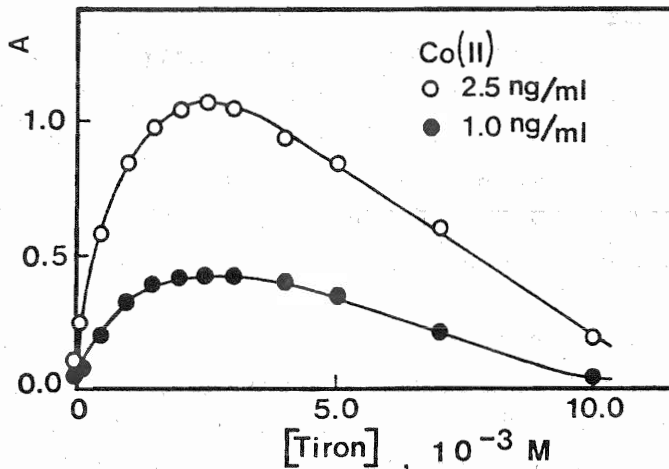


Fig. 5. Effect of Tiron concentration.

検量線

以上の実験結果からFIA法の定量操作を決定し、この操作にしたがって検量線を作成した。検量線は記録計のレンジを適当に切り換えることによって、2.5 ng/ml の濃度までの検量線を作成できるが、0.04~0.20 ng/ml の範囲のコバルト(II)について作成した検量線をFig. 6に示す。再現性もよく0.08 ng/ml および0.16 ng/ml のコバルト(II)を定量するさいの変動係数はそれぞれ3.2% (n=10) および4.0% (n=10)であった。

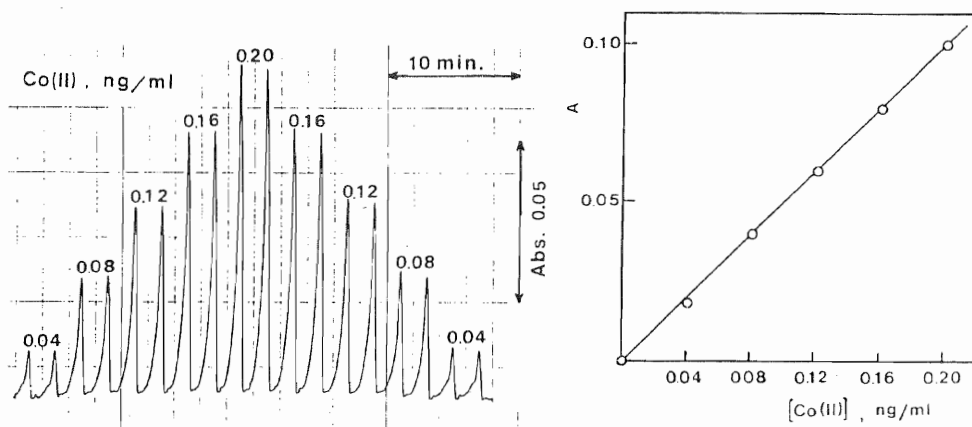


Fig. 6. Flow signals and calibration curve for cobalt(II).

共存イオンの影響

1 ng/ml のコバルト(II)を定量するさいの共存イオンの影響について検討したところ、1000 ng/ml の共存で、Ca(II), V(V), Cr(VI), Mn(II), Fe(II, III), Ni(II), Sr(II), F⁻, Br⁻, I⁻, などのイオンが、20%程度の妨害を示すが、100 ng/ml になると、Cr(VI), Mn(II), F⁻, などが10%程度の妨害を示すに過ぎない。塩化物イオンについてはNaClとして40%まで検討したが、ほとんど妨害を示さなかった。

海水中のコバルトの定量

本法を海水中のコバルトの定量に応用した。海水は鹿児島湾沿岸水と東シナ海の外洋水である。海水は採水後実験室あるいは船上で0.45 μmのミリポアフィルターでろ過して、ろ過水1ℓあたり8mℓの塩酸を添加して保存した。分析にさいしては、保存水を20~50倍に希釈して用い、添加実験も行った。分析結果をTable 1に示す。Table 1に見られるように、再現性よくコバルトを定量することができた。また、添加実験も満足すべき結果が得られた。しかしながら、一般に認められているコバルトの測定値(0.03 ppb)¹²⁾よりも高い測定結果を示しているため、現在検討中である。

Table I Determination of cobalt in sea water

Sample st.	Co(II) added (ng/ml)	Co found (ng/ml)	Co in Sample (ppb)
Kagoshima Bay*			
Hirakawa	0	0.051	1.02
	0.02	0.073	1.06
Kiire	0	0.048	0.96
	0.02	0.071	1.02
Nukumi	0	0.048	0.96
	0.02	0.070	1.00
Miyagahama	0	0.055	1.10
	0.02	0.082	1.24
East China Sea**			
A	0	0.031	0.31
	0.02	0.050	0.30
B	0	0.029	0.29
	0.02	0.049	0.29
C	0	0.028	0.28
	0.02	0.045	0.25
D	0	0.028	0.28
	0.02	0.045	0.25
E	0	0.064	0.64
	0.02	0.084	0.64
F	0	0.073	0.73
	0.02	0.094	0.74
G	0	0.031	0.62
	0.02	0.049	0.58
H	0	0.031	0.62
	0.02	0.048	0.56

*May 11, 1984, **Aug. 3, 1984

N-フェニル-p-フェニレンジアミン (PPDA) の過酸化水素による酸化反応が、コバルト (II) によって接触的に促進されることを利用して、超微量のコバルト (II) のFIA法による接触分析法を検討した。バッチ法においては、反応のpHと吸光度測定のパHが異なることから、多少の操作上の繁雑さを有していたが、FIA法に適用することにより、きわめて簡便な分析法とすることができた。本反応系ではタイロンが、activatorとして作用しPPDAの酸化反応の速度を飛躍的に増大させるので、分析感度を著しく高めることができ、海水中のコバルト定量に直接応用することができた。なお、海水の測定値について若干の問題点があるので、今後さらに検討をすすめる必要がある。

- 1) 米原範伸, 河瀨拓治, ぶんせき, 1983, 418.
- 2) 平山和雄, 宇野原信行, 日化, 1978, 1498.
- 3) 山根 兵, 日化, 1982, 93.
- 4) T. Yamane, Anal. Chim. Acta, 130, 65 (1981).
- 5) Gh. Ionescu, Al. Duca, F. Matei, Mikrochim. Acta (Wien), 1980 I, 329.
- 6) A. A. Alexiev, M. G. Angelova, Mikrochim. Acta (Wien), 1980 I, 187.
- 7) M. Otto, G. Werner, Anal. Chim. Acta, 147, 225 (1983).
- 8) 前小屋千秋, 水庭文雄, 宇佐美勝久, 大角克巳, 日化, 1983, 1023.
- 9) 河瀨拓治, 南 隆郎, 阿多誠文, 鎌田政明, 中野恵文, 分析化学会第33年会講演要旨集, p. 564 (1984).
- 10) J. Ruzicka, E. H. Hansen共著, 石橋信彦, 与座範政共訳: “フローインジェクション分析法”, (化学同仁) (1983).
- 11) P. R. Bontchev, Talanta, 19, 675 (1972).
- 12) 堀部純男編: “海洋無機化学” (海洋学講座第6巻), p. 59 (東京大学出版会) (1975).

(1985年5月25日 受理)

CATALYTIC DETERMINATION OF ULTRATRACE AMOUNTS OF COBALT BY FLOW INJECTION ANALYSIS

Takuji KAWASHIMA, Takao MINAMI*, Masahumi ATA, Masaakira KAMADA* and Shigenori NAKANO†

Chemical Institute, College of Liberal Arts, and *Department of Chemistry, Faculty of Science, Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima 890

†Chemical Institute, Faculty of Education, Tottori University, Koyama-cho Minami, Tottori 680

A new sensitive catalytic method has been developed for the determination of cobalt by flow injection analysis (FIA). N-Phenyl-p-phenylenediamine is oxidized to a yellow compound at pH 11 by hydrogen peroxide, and this compound is then converted to a blue-green compound ($\lambda_{\text{max}}=745 \text{ nm}$) with higher absorbance than the yellow compound in an acid solution of pH 0.5. The formation of the yellow compound is catalyzed by cobalt(II) and is extremely accelerated by Tiron (1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonic acid) as an activator. By this catalytic effect, ultratrace amounts of cobalt can be determined. Sample volume, sampling rate, reaction coil length and reaction variables were examined by FIA. In this FIA method, a linear calibration curve for cobalt(II) was obtained in the range 0.04 - 0.20 ng/ml and the reproducibility was satisfactory with c.v. (%) of 3.2 and 4.0 for ten determinations of 0.08 and 0.16 ng/ml cobalt(II), respectively. The sampling rate was 30 samples/h. The method was applied to the determination of cobalt in sea water.