

金属指示薬を含む金属緩衝液の流れを利用する金属イオンの フローインジェクション分析

今任稔彦、石井一也、齋藤 恒、川畑祐司、石橋信彦
九州大学工学部工業分析化学教室
福岡市東区箱崎6-10-1

Flow Injection Analysis of Metal ions by using Metal Buffer Solution
Containing Metal Indicator

Department of Applied Analytical Chemistry, Faculty of Engineering, Kyushu
University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka, Japan

Toshihiko Imato, Kazuya Ishii, Ko Saitoh, Yuji Kawabata and
Nobuhiko Ishibashi

Spectrophotometric and fluorimetric determinations of metal ions, based on metal ion buffers are described. A zinc ion buffer consisted of nitrilotriacetic acid (NTA) containing xylenol orange or 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid was employed for determination of zinc and some other metal ions spectrophotometrically or fluorimetrically. A lanthanum ion buffer consisted of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) containing arsenazo III was used for determination of lanthanum spectrophotometrically.

1. 緒言

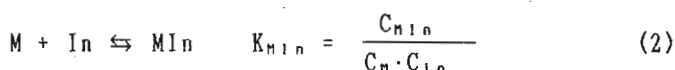
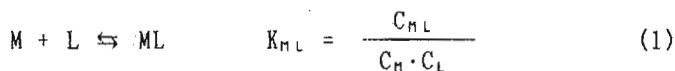
微量の金属イオンを高感度に比色定量するために極めて高いモル吸光係数をもつ金属キレート試薬や高感度な発蛍光性試薬が開発されており、バッチ系による定量のみならずフローインジェクション分析法にも適用されている¹⁾。このような定量法では金属キレート試薬が金属イオン濃度より過剰の条件下で行なわなければならないので、常量から濃厚な試料に適用するためには、試料の大きな希釈が必要である。このような試料については一般にキレート滴定法が用いられている。

著者らはキレート滴定法の迅速化を目的として、金属イオン濃度緩衝液の流れを利用するフローインジェクション滴定分析法を考案し、アルカリ土類金属イオンや重金属イオンの定量に応用してきた²⁻⁴⁾。この方法は、金属イオンと過剰の配位子とからなる金属イオン濃度緩衝液と試料の金属イオンとの反応に伴う緩衝液組成の変化を、金属イオン電極を指示電極とする電極電位の変化や、緩衝液に含ませた金属指示薬の光学的変化として検出するものである。金属指示薬を用いる光学的検出法の場合の指示薬としては金属との安定度定数が金属緩衝液に用いる配位子と同程

度のものが適している。本研究は、本法による重金属や希土類の定量に適した金属指示薬の探索を行ない、二、三の金属イオンのフローインジェクション分析を検討したので報告する。

2. 分析法の原理

本法のフロー系はFig. 1に示すような二流路から成る。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) 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。指示薬含有金属イオン緩衝液は、一定濃度比の配位子と金属イオンからなる緩衝液であるので、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は次の二つの平衡関係が成立している。



ここで、 K_{ML} , 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、試料は水の流れによって運ばれ、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 (3) 式が成立するように遊離の配位子 (L) 及び指示薬 (In) に等しく分配されて錯形成する。従って、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下流に設けた検出器により検出すれば、金属イオンの定量が可能となる。

$$\frac{C_{ML}}{C_L} = \frac{C_{MIn}}{C_{In}} \quad (3)$$

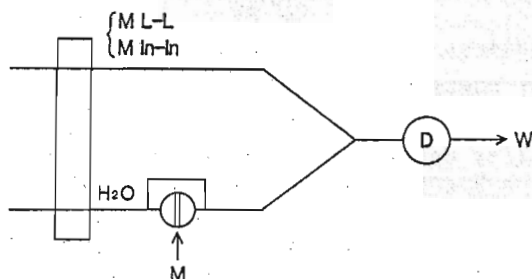


Fig. 1 Flow system using metal buffer solution and metal color indicator
 ML-L: metal complex and free ligand
 MIn-In: indicator in metal complex and free form
 D: detector, W: waste

そこで、注入した金属イオン濃度と生成するMI錯体濃度の関係を以下のような計算により検討した。

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わされる。

$$C_M^I = C_M + C_{ML} + C_{MI_n} \quad (4)$$

$$C_L^I = C_L + C_{ML} \quad (5)$$

$$C_{In}^I = C_{In} + C_{MI_n} \quad (6)$$

ここで、 C_M^I 、 C_L^I 、 C_{In}^I 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。

(1)、(2)より

$$C_{ML} = K_{ML} \cdot C_L \cdot C_M \quad (1)'$$

$$C_{MI_n} = K_{MI_n} \cdot C_{In} \cdot C_M \quad (2)'$$

(1)', (2)', (4)-(6)式より次の C_M に関する3次方程式を解き、 C_{MI_n} を求めることができる。

$$K_{ML} \cdot K_{MI_n} C_M^3 + [(K_{ML} + K_{MI_n}) + K_{ML} \cdot K_{MI_n} \cdot (C_L^I + C_{In}^I - C_M^I)] C_M^2 + [K_{ML} \cdot C_L^I + K_{MI_n} \cdot C_{In}^I - C_M^I (K_{ML} + K_{MI_n}) + 1] C_M - C_M^I = 0 \quad (7)$$

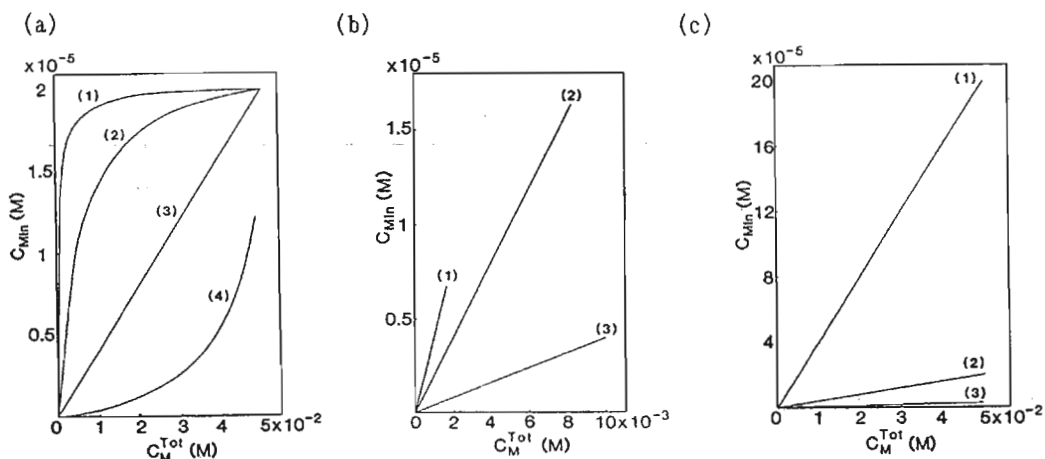


Fig. 2 Relationship between concentration of metal injected and that of metal-indicator complex

Lines are calculated from Eq. (7), (2)' and (6) using following values.

(a) Effect of stability constants of metal-ligand and metal-indicator complexes. $C_L^I = 5 \times 10^{-2}$ M, $C_{In}^I = 2 \times 10^{-5}$ M,

(1); $K_{ML} = 10^5$, $K_{MI_n} = 10^7$ (2); $K_{ML} = 10^6$, $K_{MI_n} = 10^7$

(3); $K_{ML} = 10^7$, $K_{MI_n} = 10^7$ (4); $K_{ML} = 10^8$, $K_{MI_n} = 10^7$

(b) Effect of concentration of ligand in buffer solution.

$K_{ML} = 10^7$, $K_{MI_n} = 10^7$, $C_{In}^I = 2 \times 10^{-5}$ M

(1); $C_L^I = 5 \times 10^{-3}$ M (2); $C_L^I = 1 \times 10^{-2}$ M (3); $C_L^I = 5 \times 10^{-2}$ M

(c) Effect of concentration of indicator in buffer solution.

$K_{ML} = 10^7$, $K_{MI_n} = 10^7$, $C_L^I = 5 \times 10^{-2}$ M

(1); $C_{In}^I = 2 \times 10^{-4}$ M (2); $C_{In}^I = 2 \times 10^{-5}$ M (3); $C_{In}^I = 2 \times 10^{-6}$ M

Fig. 2(a), (b), (c)は、(7)式の解から得られた C_{M^+} 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. 2(a)からわかるように、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。Fig. 2(b)及び(c)はそれぞれ $K_{ML} = K_{MIn}$ の場合の感度(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を示したものである。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。これも同様の理由による。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切に選ぶことにより検量線の直線性や分析可能な金属イオンの濃度範囲や分析感度を調節できることが予測される。

3. 実験

試薬 用いた試薬は市販特級品で、試薬の調製にはイオン交換水を用いた。キシレノールオレンジ(XO)、オキシンスルホン酸(QS)及びアルセナゾⅢ(AS)の保存溶液はそれぞれ0.072 g、0.023 g及び0.078 gをイオン交換水に溶解し、100mlに希釈して 1×10^{-3} M水溶液を調製した。

0.1 M EDTA標準液: エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム3.72 gを秤量し、イオン交換水に溶解し100 mlに希釈した。

0.1 M NTA標準液: ニトリロ三酢酸1.91 gを秤量し、イオン交換水に溶解し100 mlに希釈した。

OX指示薬含有亜鉛イオン緩衝液: 10^{-3} M XO溶液を10ml、0.1 M NTA溶液を50ml及び0.1 M $Zn(NO_3)_2$ 溶液を25mlとり、500mlに希釈して調製した。また、pHは酢酸緩衝液を用いて5.8に調節した。

QS含有亜鉛イオン緩衝液: 10^{-3} M QS溶液を10ml、0.1 M NTA溶液を10ml及び0.1 M $Zn(NO_3)_2$ 溶液を5mlとり、500mlに希釈して調製した。また、pHはMES緩衝液を用いて6.0に調節した。

AS含有ランタンイオン緩衝液: 10^{-3} M AS溶液を25ml、0.1 M EDTA溶液を25ml及び0.1 M $La(NO_3)_3$ 溶液を12.5mlとり、500mlに希釈して調製した。また、pHは酢酸緩衝液を用いて4.5に調節した。

装置 FIA装置はプランジャーポンプ(サヌキ工業製、DM2M-1024)、吸光光度検出器(協和精密製、KLC-2290)、蛍光検出器(日立製作所製、204)及び試料注入器(Rheodyne製、7125)から構成した。配管には内径0.5 mmのテフロンチューブを用いた。

4. 結果及び考察

4.1 キシレノールオレンジを用いる重金属イオンのフローインジェクション吸光分析

Table 1にXO指示薬及びNTAと二、三の金属錯体の安定度定数を示す。Table 1に示すように、XO指示薬の亜鉛錯体の安定度定数はpH5~6においてNTA亜鉛錯体のそれとほぼ等しくなる。そこでFig. 3(a)のようにXO指示薬を含むZn・NTA-NTA系緩衝液を用いるフロー系を構成し、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578 nmに設定した。Fig. 4は緩衝液のpHの影響を検討したもので、pHが4程度の場合は、検量線は下に凸の形となり、pHの上昇に伴ってピーク高さは試料濃度に比例したものとなる。これはpH4付近ではTable 1からわかるようにNTA亜鉛錯体の安定度定数がXO亜鉛錯体のそれよりも大きいので、

Table 1. Stability constants of NTA complexes with metals and transition points of oxylenol orange (XO)^{a)}

pH	metal	4.5	5.0	5.5	6.0
Zn ²⁺	pK _{Zn-NTA}	5.7	6.2	6.7	7.2
	pZn _{trans}	4.8	5.7	6.5	7.3
Cd ²⁺	pK _{Cd-NTA}	4.8	5.3	5.8	6.3
	pCd _{trans}	4.0	4.5	5.0	5.5
Pb ²⁺	pK _{Pb-NTA}	6.0	7.0	7.5	8.0
	pPb _{trans}	6.2	7.0	7.6	8.2

a) Taken from Ref (5)

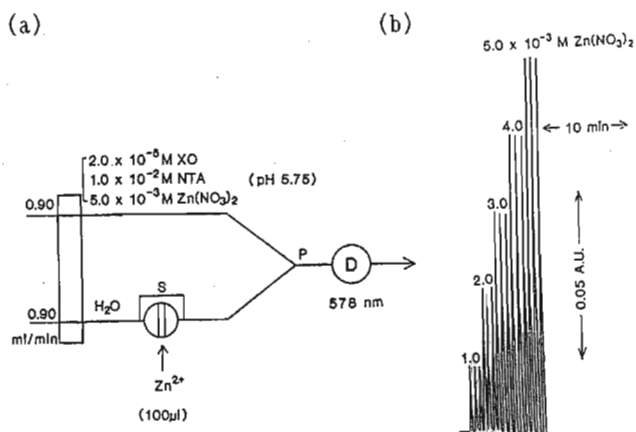


Fig. 3 Flow diagram for determination of zinc (a) and calibration peaks for zinc (b).

Coil length and diameter: S-P 50 cm x 0.5 mm i.d.

P-D 200 cm x 0.5 mm i.d.

注入された亜鉛イオンはXOよりNTAの方に結合するためである。Fig. 3(b)に緩衝液のpHが5.75のときの検量線ピークを示す。

本法の亜鉛イオンに対する分析感度及び測定濃度範囲は緩衝液の濃度に依存する。濃厚な試料を分析するためには、高い濃度の緩衝液を用いればよい。またフローインジェクション分析法では注入試料の分散が極めて精度よく制御されるので、これを利用して注入試料を精度よく希釈することができる。Table 2は種々の緩衝液濃度並びに注入容積と感度並びに測定濃度範囲を示す。0.1 M程度の緩衝液及び注入容積5 μ lを用いることにより約2 M程度までの亜鉛イオンの分析が可能である。

Fig. 5は二、三の金属イオンに対する検量線である。亜鉛イオンと同様に鉛イオンに対しても検量線はほぼ直線となる。これはTable 1からわかるように鉛イオンもNTA錯体の安定度定数はXO錯体の安定度定数とほぼ等しいためである。一方カドミウムイオンはやや下に凸となるが、これもNTA錯体及びXO錯体の安定度定数の大小から説明できる。

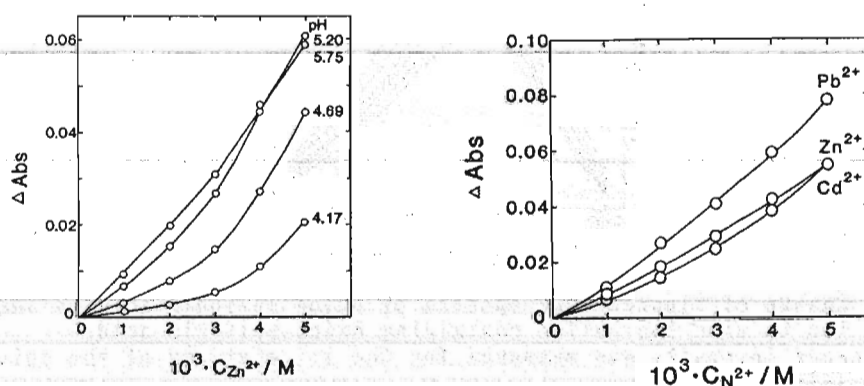


Fig. 4 Effect of pH of the zinc ion buffer solution. (right)
Flow system is the same as that in Fig. 3 except for pH of the buffer solution.

Fig. 5 Calibration curves for several metal ions. (left)
Flow system is the same as that in Fig. 3

Table 2. Effect of the buffer concentration and sample volume on the sensitivity and measurable concentration range

Buffer concentration	sample volume	sensitivity	measurable
NTA (M) zinc ion (M)	(μ l)	(Abs./M)	range (M)
0.010 0.0050	200	20	0~0.0025
0.050 0.00250	5	0.09	0~0.50
0.10 0.050	5	0.066	0~1.0
0.20 0.10	5	0.044	0~2.0

4.2 オキシンスルホン酸を用いる重金属イオンのフローインジェクション蛍光分析
 オキシンスルホン酸 (QS) は種々の金属と錯体を形成する発蛍光性の試薬である。この蛍光試薬とNTA-亜鉛錯体からなる緩衝液との組み合わせによる亜鉛のフローインジェクション蛍光分析法を検討した。オキシンスルホン酸及びNTAの亜鉛錯体の安定度定数の等しいpH領域を探索するために、種々のpHに調製した 2.0×10^{-5} M QS、 2.0×10^{-3} M NTA、 1.0×10^{-3} M $Zn(NO_3)_2$ の混合溶液に $Zn(NO_3)_2$ 溶液を添加し、亜鉛イオン濃度と溶液の蛍光強度の関係を調べた。Fig. 6はMES緩衝液でpH6.0に保ち、上記混合液に硝酸亜鉛溶液を添加したときの励起波長375 nmでの蛍光スペクトルである。520 nmにおける蛍光強度はほぼ添加亜鉛濃度に比例しており、本法のフローインジェクション分析法に適した緩衝液系であることがわかる。

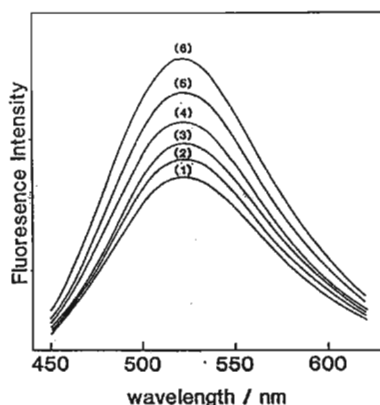


Fig. 6 Change of fluorescence spectra of oxine sulfonic acid on addition of zinc ion to zinc ion buffer containing oxine sulfonic acid. Fluorescence intensity was measured for the 1:1 mixtures of the solution (I) and (II).

Solution (I): 1×10^{-3} M $Zn(NO_3)_2$ + 2×10^{-3} M NTA containing 2×10^{-5} M oxine sulfonic acid (pH 6.0). Solution (II): (1) H_2O , (2) 2×10^{-4} M $Zn(NO_3)_2$, (3) 4×10^{-4} M $Zn(NO_3)_2$, (4) 6×10^{-4} M $Zn(NO_3)_2$, (5) 8×10^{-4} M $Zn(NO_3)_2$, (6) 10×10^{-4} M $Zn(NO_3)_2$, $\lambda_{ex} = 375$ nm

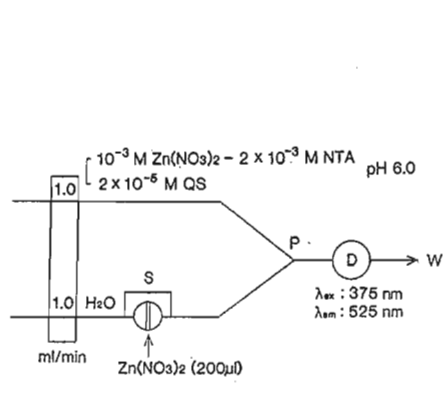


Fig. 7 Flow diagram for determination of zinc and calibration peaks for zinc
 Coil length and diameter: S-M 50 cm x 0.5 mm i.d.
 M-D 200 cm x 0.5 mm i.d.

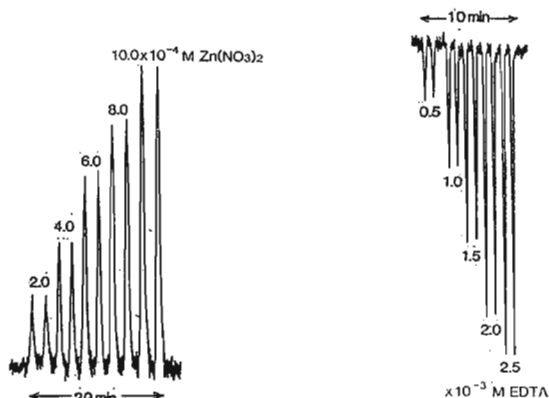


Fig. 8 Calibration peaks for EDTA
 Flow system is the same as Fig. 7.

Fig. 7はバッチ系の検討の基に構成したフロー系と、これによる亜鉛イオンの検量線ピークである。予測通りピーク高はほぼ試料濃度に比例している。蛍光強度が微弱なため、信号強度増幅のため記録計感度を高くしているためベースラインの変動が若干大きい。検量線の感度に及ぼす緩衝液のpHの影響を調べたところ、pH7.0ではやや上に凸の検量線となり、感度はpH6.0の場合に比べて1/2程度である。またpH5.0ではやや下に凸の検量線となり、感度はpH6.0の場合の1/3程度であった。いずれもバッチ系での傾向と同様である。

他の金属イオンについても検討した。カドミウムイオン及びマグネシウムイオンは亜鉛イオンと同様に直線的検量線が得られたが、感度はそれぞれ亜鉛イオンの0.45及び0.18であった。またコバルト(II)イオンやニッケルイオンについては負のピークが得られ、これは亜鉛-オキシンスルホン酸錯体の蛍光を消光することを示している。このことは、消光現象を利用してコバルトイオンやニッケルイオンが定量できることを示唆している。NTAより亜鉛イオンとの安定度定数の大きいEDTAを試料として注入すると、NTA-亜鉛錯体のEDTA-亜鉛錯体への置換反応のために、蛍光強度が減少し、その強度は注入したEDTAに比例する。結果をFig. 8に示す。

4.3 アルセナゾⅢを用いる希土類のフローインジェクション吸光分析

アルセナゾⅢは希土類の比色分析用の試薬としても知られているが、この吸光試薬とEDTA-希土類イオン緩衝液のとの組み合わせによる希土類のフローインジェクション分析法を検討した。まず、ランタンを対象として、アルセナゾⅢ錯体とEDTA錯体との安定度定数の同程度になるような溶液のpHを検討した。Fig. 9は酢酸-酢酸ナトリウムによりpHを4.5に調節した 2×10^{-5} MアルセナゾⅢを含む 5×10^{-3} M EDTA溶液に種々の濃度の $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 溶液を添加したときのアルセナゾⅢ-ランタン錯体の吸収スペクトルの変化を示したものである。655 nmにおけるアルセナゾⅢ-ランタン錯体の極大吸収波長における吸光度はランタンの添加濃度の増加に比例して大き

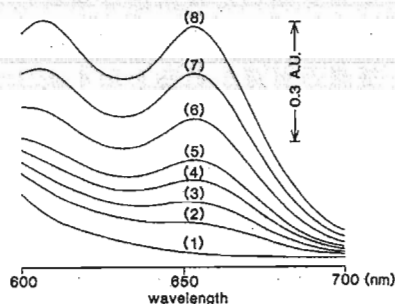


Fig. 9 Change of absorption spectra of arsenazo III acid on addition of lanthanum ion to lanthanum ion buffer containing arsenazo III. Absorbance was measured for the 1:1 mixtures of the solution (I) and (II). Solution (I): 1×10^{-2} M EDTA containing 4×10^{-5} M arsenazo III (pH 4.5) Solution (II): (1) H_2O , (2) 1×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (3) 2×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (4) 3×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (5) 4×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (6) 6×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (7) 8×10^{-3} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$, (8) 1×10^{-2} M $\text{La}(\text{NO}_3)_3$.

くなっている。このpH以上の場合は添加したランタンの濃度に対する吸光度の変化はやや下に凸の形で、これは添加したランタンがよりEDTAに結合するためで、逆にpHがこのpHより低い場合には添加したランタンはアルセナゾⅢにより多く結合すると考えられる。

この結果をもとに、Fig. 10のフロー系を構成し、ランタンに対する検量線を作成した。吸収スペクトルからの予測とよく一致し、吸光度高さに基づく検量線はほぼ直線となっている。

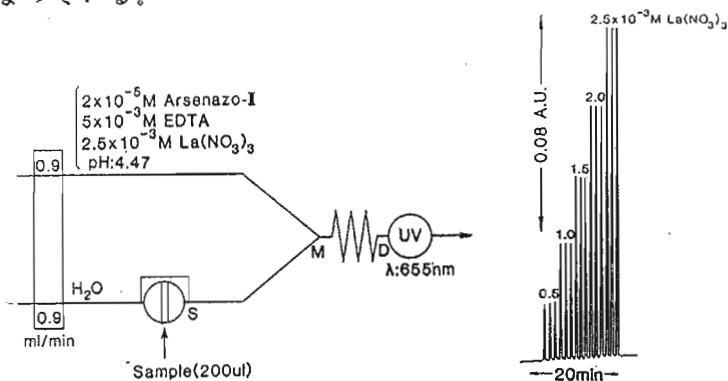


Fig. 10 Flow diagram for determination of lanthanum and calibration peaks for lanthanum

Coil length and diameter: S-M 35 cm x 0.5 mm i.d.
M-D 130 cm x 0.5 mm i.d.

5. 結言

吸光あるいは蛍光指示薬を含む種々の金属イオン緩衝液を用いて、重金属イオンや希土類金属イオンのFIA法について述べた。本法は常量から濃厚試料の金属イオンの迅速定量に適している。ここでは通常フローセルを備えた市販の吸光光度検出器や蛍光検出器を用いる方法について述べたが、指示薬をイオン交換樹脂などに固定化した担体を充填したフローセルを用いた検出法も検討している。この方法を指示薬を固定化した光ファイバーセンサと金属イオン緩衝液の流れを組み合わせた金属イオンの定量に応用すれば、従来不可逆な応答を示す光ファイバーセンサに可逆応答性を付与できるものと期待できる。

文献

- 1) H. Wada, J. Flow Injection Anal., 6, 113 (1989).
- 2) N. Ishibashi, T. Imato, Fresenius Z. Anal. Chem., 323, 244 (1986).
- 3) N. Ishibashi, T. Imato, K. Tsukiji, Anal. Chim. Acta, 190, 185 (1986).
- 4) T. Imato, K. Ishii, N. Ishibashi, Bunseki Kagaku, in press
- 5) A. Ringbom, "Complexation in analytical chemistry", John Wiley and Sons, New York.

(1989年11月25日受理)