

キシリジルブルー I と非イオン性界面活性剤を用いる マグネシウムの二波長吸光光度定量

渡辺 寛人, 田中 裕晃*

(1977 年 4 月 4 日受理)

キシリジルブルー I とそのマグネシウムキレートを少量のトリトン X-100 で水に可溶化し、二波長測光によるマグネシウムの定量法を検討した。pH 11.0~12.5 でキレートの極大吸収波長 515 nm における吸光度は最大かつ一定となり、515 nm での試薬ブランクは pH 11~11.5 で一定である。マグネシウムの定量に際しては 515 nm と試薬の極大吸収波長 620 nm の差吸光度を pH 11~11.5 で測定した。(0.1~3) $\mu\text{g Mg}/25\text{ ml}$ の範囲で検量線は良い直線性を示し、Sandell 感度は 0.00039 $\mu\text{g Mg}/\text{cm}^2$ である。呈色は迅速で少なくとも 12 時間は安定である。新しいマスキング剤の組み合わせを見いだし、本法が天然水中の微量マグネシウムの定量に利用できることを確かめた。

1 緒 言

1956 年, Mann ら¹⁾によって報告された 1-アゾ-2-ヒドロキシ-3-(2,4-ジメチルカルボキシアニリド)-ナフタレン-1'-(2-ヒドロキシベンゼン-5-スルホン酸)ナトリウムはマグネシウムの比色試薬として既に多くの応用例^{2)~8)}が知られている。この試薬は通常キシリジルブルー I (以下 XB-I と略記)と呼ばれている。又、スルホン基を持たないキシリジルブルー II (XB-II)²⁾も知られており、XB-I とほぼ同様な条件で使用できる。XB-I はアルカリ性でわずかに水に溶けるが、XB-II は全く水に不溶である。このように両者とも水に難溶性であるため、エタノールに溶解して使用される。更にエタノールはこれらの試薬の溶解性を改善するばかりではなく、キレート及び試薬の吸収スペクトルにも影響を与える¹¹⁾。すなわち、水溶液中で XB-I は pH 7 以下で赤色、pH 8~11 で青紫色、pH 12 以上でピンク色を呈し、pH 8~11 の間でマグネシウムと 1:1, 1:2 の赤色キレートを生成する。このとき、試薬とキレートの極大吸収波長はそれぞれ 555 nm と 540 nm で両者は重なっているが、エタノール溶液中では試薬の吸収ピークは 555 nm から 615 nm にシフトし、キレートは 510 nm と 540 nm の二つのピークを示す。エタノールの添加濃度の増加とともに試薬の吸収ピークは長波長側に移るためキレートの極大吸収波長での試薬の吸光度は減少し、同時にマグネシウムキレートの吸光度は増加することが知ら

れている。このようにキレートの極大吸収波長におけるブランクの減少とマグネシウムキレートの吸光度の増加の程度はエタノールの添加濃度に依存するため 80% 以上のエタノール溶液中で定量を行うことを Mann ら¹⁾は推奨している。一方、エタノール濃度が 50% 以上であれば吸収スペクトルは大体一定となることから、これまで報告されている XB-I, II によるマグネシウム定量法の大多数は 50% 以上のエタノール溶液中で行われている。しかし、このことは試水を多量のエタノールで希釈し、感度を下げて用いることを意味するので分析法としては改善の余地があるであろう。

本報では少量の非イオン性界面活性剤トリトン X-100 を用いて XB-I, II を水に溶解する方法を試み、20% のトリトン X-100 水溶液 100 g に XB-I は 0.2 g, XB-II は 0.02 g 程度溶解することを見いだした。又、少量のトリトン X-100 を添加するだけで多量のエタノールを加えた場合と同様に、試薬の吸収ピークは長波長側に現れ、しかも、再現性のある一定の吸収スペクトルが得られた。そこで試薬濃度として十分高濃度が得られた XB-I のトリトン X-100 溶液を用い、マグネシウムの二波長測光定量法の基礎条件、並びに妨害イオンのマスキング条件を検討し、更に雨水中のマグネシウムの定量に応用した結果について報告する。

2 実 験

2.1 装 置

吸光度の測定には日立 356 型二波長分光光度計, 1 cm

* 室蘭工業大学工業化学科: 北海道室蘭市水元町27-1

吸収セルを用いた。pH の測定には東亜電波 HM-6A 型ガラス電極 pH メーターを使用した。

2.2 試薬

XB-I 溶液：トリトン X-100 (ポリオキシエチレンイソオクチルフェニルエーテル： $C_8H_{17}-C_6H_4-O(CH_2CH_2O)_nH$, $n=9\sim10$) (和光純薬) 20 g を 80 g の純水に溶解後、この溶液に 0.050 g の XB-I (同仁薬化製) を溶かして調製した。

金属イオン標準溶液：金属イオンの塩酸塩を金属イオン濃度が 1 mg/ml になるように 1N 塩酸溶液に溶解して調製した。それらの濃度は EDTA を用いるキレート滴定法で標定し、実験には更に希釈して用いた。

緩衝溶液：リン酸水素二ナトリウム・12 水和物の飽和溶液に 1N 水酸化ナトリウムを加えて最終的に pH が 11.2 になるように調製した。リン酸イオンの濃度は約 0.1 M である。

その他、用いた試薬はすべて特級品である。

2.3 実験方法

基礎的諸条件及び、マスキング剤の選択は以下の操作で検討した。25 ml メスフラスコに 10 μ g の金属イオンを含む溶液を採り、2 ml の XB-I 溶液を加えた後、リン酸緩衝溶液 1 ml を加えて純水で希釈する。一定時間放置後、吸光度を日立 356 型二波長分光光度計で測定する。このとき、二波長分光光度計¹⁴⁾はダブルビーム分光光度計として用いた。マスキング剤の効果を検討する場合はマスキング剤を XB-I 添加前に加え、pH を変化させるときは 1N 塩酸又は 1N 水酸化ナトリウム溶液を添加して調節した。

3 結果及び考察

3.1 吸収曲線

pH 11.2 でトリトン X-100 の存在で水を対照に測定した XB-I 及びマグネシウムキレートの吸収曲線と、試薬ブランクを対照に pH 9 及び pH 11.2 で測定したマグネシウムキレートの吸収曲線を Fig. 1 に示した。試薬の極大吸収波長は pH 9~13 でエタノール溶液中の場合¹⁾と同様に長波長側、620nm に現れる。又、マグネシウムキレートは pH 11 以上で 515nm にのみ吸収極大を持つが、pH 9 付近ではエタノール溶液の場合¹⁾と同様 535nm にも吸収ピークが現れる。これは 1:1 キレートの生成に対応しているものと考えられる¹⁾。

なお、試薬及びマグネシウムキレートのそれぞれの極大吸収波長における吸光度はトリトン X-100 の濃度がそのミセル形成濃度、 $(2.7\sim3.0)\times10^{-4}$ M⁹⁾¹⁰⁾、の 10 倍程度以上であればトリトン X-100 の添加量を変化させ

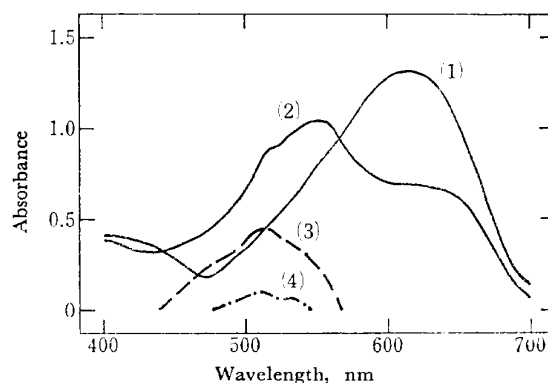


Fig. 1 Absorption curves of XB-I and its magnesium chelate

(1) Reagent blank; (2) Magnesium chelate, pH 11.2, ref.: water; (3) Magnesium chelate, pH 11.2, ref.: reagent blank; (4) Magnesium chelate, pH 9.3, ref.: reagent blank

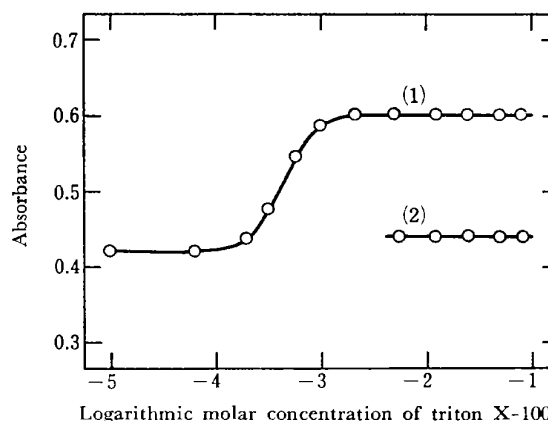


Fig. 2 Influence of triton X-100 on the absorbance of XB-I and its magnesium chelate at pH 11.2

(1) Reagent blank, XB-I: 3.5×10^{-5} M, 620 nm, ref.: water; (2) Magnesium chelate, XB-I: 7.8×10^{-5} M, 515 nm, Mg taken: 10 μ g/25 ml

てもその影響を全く受けない。この結果を Fig. 2 に示した。キレートについては 2.3 の操作に従い、pH 11.2 で 515nm の吸光度を測定し、XB-I についてはその飽和水溶液 (4.4×10^{-4} M) 2 ml を 25 ml メスフラスコに採り、種々量のトリトン X-100 を添加後、pH 11.2 における 620nm の吸光度を測定した。Fig. 2 から明らかのようにトリトン X-100 の濃度が約 2×10^{-3} M 以上であればそれぞれの吸光度は一定となる。2.3 で 2 ml の 20% トリトン X-100 を 25 ml に希釈するとその濃度は約 2.5×10^{-2} M である。なお、トリトン X-100 の濃度は 2.2 に示した分子式で $n=9.5$, すなわち、分子量を 647 として計算した。

3.2 試薬及びマグネシウムキレートに対する pH の影響

次にマスキング剤が共存しない場合についてマグネシウムキレートの生成に対する pH の影響及び試薬ブランクの pH 依存性をキレートの極大吸収波長 515nm で検討した。その結果を Fig. 3 に示す。試薬ブランクを対照にするとマグネシウムキレートは pH 11.0~12.5 で一定かつ最高の吸光度を示すが、試薬ブランクは pH 11.5 以上で増加しはじめる。これは試薬の吸収ピークが pH の増加とともに 535nm に移るためである。それゆえ、マグネシウムの定量にはキレートの吸光度が一定かつ最高で試薬が一定の吸収スペクトルを示す pH 11.0~11.5 の領域を選ぶこととした。この領域において、マグネシウムキレートの発色は迅速で、エタノール溶液の場合のように 30 分もの放置¹⁾は必要なく、5 分以内に完全発色し、12 時間は一定の吸光度を示した。なお、試薬溶液もかっ色びんに保存すれば少なくとも 3 か月間は安定であることを確かめた。

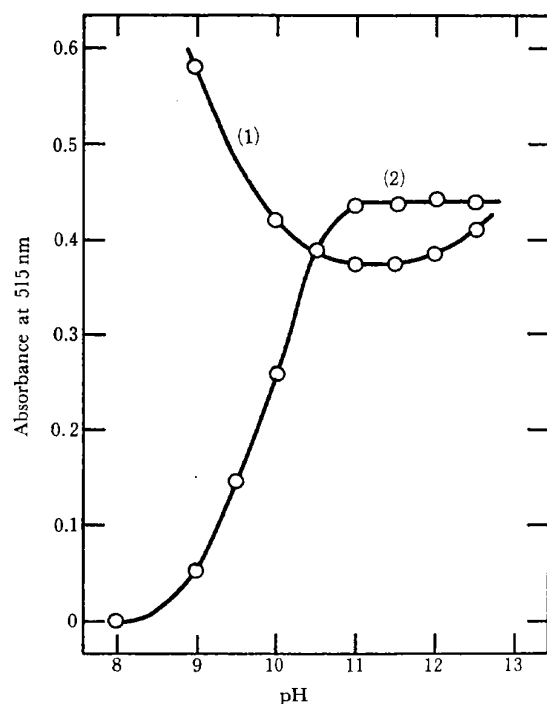


Fig. 3 Influence of pH on the absorbances of reagent and magnesium chelate

(1) Reagent blank, ref.: water; (2) Magnesium chelate, ref.: reagent blank, Mg taken: 10 µg/25 ml

3.3 共存金属イオンの影響とそのマスキング剤の検討

マグネシウム以外の多くの金属イオンもマグネシウムとほとんど同一条件で XB-I と反応し、有色キレート

Table 1 Interference of diverse ions

Metal ion	Maximum wavelength (nm)	Optimum pH	ϵ
Mg(II)	515	11.0~12.5	2.7×10^4
Ca(II)	507	12.5~	—
Mn(II)	483	9.8~12.0	1.9×10^4
Co(II)	500	11.0~12.5	1.5×10^4
Ni(II)	512	10.0~12.5	2.1×10^4
Cu(II)	510	10.0~12.5	1.3×10^4
Zn(II)	528	9.8~12.0	2.0×10^4
Fe(II)	477	10.5~11.7	2.2×10^4
Fe(III)	477	11.0~12.5	1.8×10^4

を生成する。Table 1 に種々の XB-I キレートの極大吸収波長、完全発色する pH 領域、モル吸光係数をまとめた。Table 1 の左欄は何価の金属イオンの標準溶液を用いて検討したのかを示している。これらキレートはいずれも (480~530) nm の範囲に極大吸収波長を持つため、わずかの共存量でも妨害となる。これらの妨害を避けるため、抽出¹⁾⁵⁾、イオン交換¹⁾、磁気水銀陰極電解法⁵⁾などの前処理、カルシウムの妨害を除くため試料にあらかじめ多量のカルシウムを添加して吸光度を一定化する方法⁶⁾⁷⁾やシアン化物イオンを用いるマスキング法⁸⁾¹¹⁾¹²⁾が行われている。最近、岩崎ら¹³⁾はマンガンなどを水酸化物として沈殿分離し、硫酸イオンでカルシウムをマスクする方法を報告している。本報では複雑な前分離の操作を避けるため実験的に種々のマスキング剤の効果を検討して新しいマスキング剤の組み合わせを見いだした。2・3 に述べた方法に従い、1 種類のマスキング剤を加えて 1 時間放置後、それぞれのキレートの極大吸収波長で吸光度を測定して同一 pH でマスキング剤がない場合に得られるキレートの吸光度と比較し、その結果を Table 2 にまとめた。記号は + が完全発色を、- が発色しないことを、± が不完全発色を意味する。マスキング剤がない場合にはマグネシウム以外にカルシウム、マンガン(II)、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、鉄(II)、鉄(III)が発色するが、カルシウムは pH 11.2 で発色が不完全であり、ニッケルは反応が遅く完全発色に 1 時間以上要するので ± で示した。トリエタノールアミン (TEA) で 3 価の鉄が、エチレンジアミンビス(2-アミノエチルエーテル)-N,N'-四酢酸 (EGTA) でマンガン(II)とニッケルが、テトラエチレンペンタミン (TEPA) でコバルト、ニッケル、銅、亜鉛をマスクし、硫酸イオンでカルシウムをマスクできる。これら 4 種のマスキング剤を併用することにより従来から問題となっている妨害イオンをマスクし、マグネシウムのみを発色させることができる。2 価の鉄はあらかじめ酸化し

Table 2 Effect of masking agents on the formation of XB-I chelates at pH 11.2

Masking agents	Concentration (M)	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Mn ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Fe ²⁺	Fe ³⁺
None	—	+	±	+	+	±	+	+	+	+
TEA	10 ^{-2.1}	+	±	±	±	±	+	+	±	—
EGTA	10 ^{-3.4}	+	±	—	±	—	±	±	±	±
TEPA	10 ^{-2.3}	+	±	+	—	—	—	—	+	+
Na ₂ SO ₄	10 ^{-1.9}	+	—	+	+	±	+	+	+	+

+ Complete coloration; ± Incomplete coloration; — No coloration; TEA : Triethanolamine; EGTA : Ethylene glycol bis(2-aminoethylether)-*N,N'*-tetraacetate; TEPA : Tetraethylenepentamine

ておけばトリエタノールアミンでマスクできる。

Table 2 においてマグネシウム 10 µg は EGTA の存在下で完全発色し、マンガン(II) 10 µg は完全にマスクされているが、3 µg 以下のマグネシウムは EGTA の表示濃度では一部マスクされるようになるため、次の定量操作において、EGTA は表示濃度の 1/10 になるようにした。

3.4 定量操作

定量操作を次のようにまとめた。25 ml メスフラスコに 3 µg 以下のマグネシウムを含む試水を取り、0.2 M TEA 1 ml, 0.3 M 硫酸ナトリウム 1 ml, 0.001 M EGTA 1 ml, 0.13 M TEPA 1 ml, 0.1 M リン酸緩衝液 1 ml (pH 11.2), XB-I 溶液 2 ml を順に加え純水で標線まで希釈する。5 分放置後、キレートと試薬のそれぞれの極大吸収波長 515nm と 620nm の差吸光度を同一セルを用いてフルスケール 0.3 で測定する。以上の操作で作成した検量線はマグネシウムの (0.1~3.0) µg の範囲で良い直線性を示し、Sandell 感度は 0.00039 µg cm⁻² であった。

柴田¹⁴⁾は二波長測光法を用いた増感分析法を多数報告している。本報はその一つである試薬とキレートのそれぞれの吸収ピークを測定波長とする二波長選択法に従った。測定二波長をキレートの吸収ピークと試薬の吸収ピークに設定すると、キレートの生成に伴う試薬の吸光度の減少がキレート生成による吸光度に加算されるため、感度は著しく増大する。620, 515nm の二波長をそれぞれ 10nm 程度変化させて測定した結果、620, 515 nm の二波長を用いたときの差吸光度が最大であることを確かめた。

3.5 共存イオンの影響

確立した定量操作に従い、マグネシウム 1.0 µg に対する共存イオンの影響を検討した。その結果を Table 3 に示す。なお、アルミニウム、バリウム、ストロンチウムはそれぞれ (50~60) µg 共存しても全く妨害とならな

Table 3 Influence of foreign ions on the determination of magnesium

Foreign ion	Added (µg)	Absorbance $A_{515} - A_{620}$
None	—	0.102
Ca(II)	30	0.109
Mn(II)	1	0.112
Co(II)	40	0.110
Ni(II)	5	0.110
Cu(II)	20	0.095
Zn(II)	35	0.095
Fe(III)	10	0.110

Mg taken : 1.0 µg/25 ml

いことも確かめた。

表示量程度以下の妨害イオンは確実にマスクできるので、天然水中のマグネシウムの分析に十分適用できそうである。

3.6 雨水中のマグネシウムの定量

本法を雨水中のマグネシウムの定量に応用した。

Table 4 に A, B の降水をそれぞれ同一試水について各 5 回行った定量値の平均値と変動係数を示した。

Table 4 Determination of magnesium in rain water

	Sample taken (ml)	Average absorbance	Found (ppm)	c. v. (%)
A	2.0	0.204	1.00	0.8
B	15.0	0.120	0.080	2.0

1976. 11. 25 (16:00~22:00)

Table 4 から明らかなように変動係数 (0.8~2.0)% で数十 ppb 以上のマグネシウムの定量が可能と思われる。

4 総括

在来の XB-I によるマグネシウムの定量法は完全発色に 30 分を要し、又 50% 以上のエタノール溶液中で定量を行わねばならないが、多量のエタノールを用いる代わりに少量のトリトン X-100 を用いて XB-I とその

マグネシウムキレートを水に可溶化すると, これらの欠点は完全に是正される. 新しいマスキング剤の組み合わせを見だし, 更に二波長測光法を併用したことにより, 本法が水質分析などに利用できる選択性と感度を持つことが確かめられた.

マグネシウムの吸光光度定量法のうち高感度な方法として, 在来の XB-I 法 (Sandell 感度, $0.0008 \mu\text{g cm}^{-2}$)¹⁾ の外にも EBT-ゼフィラミン抽出法 ($0.00038 \mu\text{g cm}^{-2}$)¹⁵⁾, クロロホスホナゾ III 法 ($0.00050 \mu\text{g cm}^{-2}$)¹⁶⁾, クロモトロープ 2R 法 ($0.00065 \mu\text{g cm}^{-2}$)¹⁷⁾, XB-II ($0.00075 \mu\text{g cm}^{-2}$)²⁾ などが知られている. 本法の感度 ($0.00039 \mu\text{g cm}^{-2}$) はそれらの中で最も高感度な EBT-ゼフィラミン抽出法に匹敵する. 発色 pH 領域が狭いこと, マンガン(II) の影響が大きいことなど, 更に改善を要する点があるが, 雨水などの天然水中に含まれる数十 ppb 程度以上のマグネシウムの定量に十分適用できるであろう.

本研究に際し, 御討議いただいた室蘭工業大学室住正世教授に感謝致します.

(1977 年 2 月 3 日, 本会北海道支部)
(1977 年冬季研究発表会において講演)

文 献

- 1) C. K. Mann, J. H. Yoe : *Anal. Chem.*, **28**, 202 (1956).
- 2) C. K. Mann, J. H. Yoe : *Anal. Chim. Acta*, **16**, 155 (1957).
- 3) 加藤 清, 市川俊子, 垣花秀武 : 日化, **87**, 718 (1966).
R. F. Apple, J. C. White : *Talanta*, **8**, 419 (1961).
C. Bohuon : *Clin. Chim. Acta*, **7**, 811 (1962); *Anal. Abstr.*, **10**, 1892.
E. W. Rice, C. Z. Lapara : *ibid.*, **10**, 360 (1964); *ibid.*, **13**, 790.
- 4) 佐藤 清, 高内啓一 : 本誌, **8**, 190 (1959).
- 5) 池上卓穂, 神森大彦, 実松孝行 : 同上, **7**, 641 (1958).
M. J. Maurice : *Anal. Chim. Acta*, **20**, 181 (1959).
- 6) 緒方英世, 広井 功 : 本誌, **7**, 483 (1958).
- 7) S. Abbey, J. A. Maxwell : *Anal. Chim. Acta*, **27**, 233 (1962).
- 8) 千秋英一, 富田好文, 江沢正義 : 本誌, **17**, 8 (1968).
- 9) W. B. Gratzer, G. H. Beaven : *J. Phys. Chem.*, **73**, 2270 (1969).
- 10) F. A. Green : *J. Colloid Interfac. Sci.*, **41**, 124 (1972).
- 11) 宮本益夫 : 本誌, **10**, 217 (1961).
- 12) 湯浅 輝 : 同上, **12**, 511 (1963).
- 13) 吉田征子, 吉田 稔, 岩崎岩次 : 同上, **23**, 1232

(1974).

- 14) S. Shibata, M. Furukawa, K. Goto : *Anal. Chim. Acta*, **46**, 271 (1969).
S. Shibata, M. Furukawa, T. Honkawa : *ibid.*, **78**, 487 (1975).
- 15) 深町和美, 小原人司, 石橋信彦 : 本誌, **19**, 1529 (1970).
- 16) J. W. Ferguson, J. J. Richard, J. W. O'laughlin, C. V. Banks : *Anal. Chem.*, **36**, 796 (1964).
- 17) S. Shibata, A. Uchiumi, S. Sasaki, K. Goto : *Anal. Chim. Acta*, **44**, 345 (1969).

☆

Dual-wavelength spectrophotometric determination of magnesium(II) with Xylidyl Blue I and nonionic surfactant. Hiroto WATANABE and Hiroaki TANAKA (Department of Applied Chemistry, Muroran Institute of Technology, 27-1, Mizumoto-cho, Muroran-shi, Hokkaido)

Sodium [1-azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxy-anilido)-naphthalene-1'-(2-hydroxybenzene)-5-sulfonate], (Xylidyl Blue I, XB-I), and its magnesium chelate were dissolved in water with Triton X-100. The absorbance of the chelate at 515 nm (maximum wavelength) is constant in the range of pH 11~12.5 and that of XB-I at 515 nm is constant in the range of pH 11.0~11.5. Two wavelengths, 515 nm and 620 nm (maximum wavelength of XB-I), were selected since the sensitivity was maximum at this combination. Triethanolamine (TEA), ethylene glycol bis-(2-aminoethylether)-*N,N'*-tetraacetic acid (EGTA), tetraethylenepentamine (TEPA) and sulfate ion were found to be effective masking agents for foreign ions except iron(II). The procedure is as follows: place the solution containing $<3 \mu\text{g}$ of magnesium in a 25-ml volumetric flask; add 1 ml of 0.2 M TEA, 1 ml of 0.3 M sodium sulfate, 1 ml of 0.001 M EGTA (pH 11), 1 ml of 0.13 M TEPA, 1 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 11.2) and then 2 ml of XB-I solution (XB-I 0.050 g : Triton X-100 20 g : water 80 g); dilute to the mark with water; measure the difference of two absorbances at 515 nm and 620 nm. Calibration curve is rectilinear for $\{(0.1\sim3.0) \mu\text{g Mg}/25 \text{ ml}\}$ and the sensitivity by Sandell's expression is $0.00039 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. The following amounts ($\mu\text{g}/25 \text{ ml}$) of foreign ions are tolerated in the determination of $1.0 \mu\text{g Mg}/25 \text{ ml}$: Co 40, Ni 5, Zn 35, Ca 30, Cu 20, Fe(III) 10, Mn 1. For two rain samples containing 1.0 and $0.080 \mu\text{g}/\text{ml}$ of magnesium, the coefficients of variation of 0.8 and 2.0% were obtained in five replicate determinations at each level.

(Received Apr. 4, 1977)

Keywords

Dual-wavelength spectrophotometry
Magnesium
Triton X-100
Xylidyl Blue I