

## パントテン酸イオン選択性液膜型電極の試作と その特性

本仲純子<sup>®</sup>, 堀江章二, 池田早苗\*, 田中信行\*\*

(1990 年 6 月 21 日受理)

パントテン酸イオンに選択的に応答する液膜型イオン選択性電極を試作し, その特性を検討した. ヨウ化テトラデシルアンモニウムとパントテン酸銀をアセトニトリル溶液中で反応させると, パントテン酸テトラデシルアンモニウムのイオン対が白色結晶として得られるので, このイオン対を 1-オクタノールに溶解して液体イオン交換膜として用いた. イオン交換液膜溶媒, 応答電位の経時変化, pH の影響, 共存物質の影響, 電極の寿命などについて検討した. その結果, パントテン酸イオン濃度  $10^{-4} \sim 10^{-1}$  M 範囲において直線性のある検量線が得られた. この範囲において最小二乗法により直線回帰したところ, ネルンスト応答に近い傾き  $-57.6 \text{ mV/decade}$  が得られた.

### 1 緒 言

ビタミン B 複合体は生体内では補酵素となり, 種々の代謝に関与し, ビタミン中でも医薬品として最も多く使用されている. これらの定量法については多数報告されているが, ビタミン B 複合体の一つであるパントテン酸については, 繁用されているにもかかわらず分析方法は遅れているのが現状である. すなわち, 比色法<sup>1)</sup>, 蛍光法<sup>2)</sup>, GC<sup>3)</sup>, HPLC<sup>4)5)</sup>などによる定量法が報告されているが, クロマトグラフィーのように共存物から分離した後に検出する方法以外は, パントテン酸そのものでなく, 何らかの前処理を行った後の反応生成物を定量しているのにすぎない. そこでパントテン酸イオンに選択的に応答するセンサーの開発が有用であると考え, 液膜型イオン選択性電極を試作し, その特性を検討した.

### 2 実 験

#### 2・1 装置及び試薬

電位測定にはアドバンテスト製デジタルマルチメーター TR6845 と東亜電波工業製比較電極 HS-205C を用いた. 又 pH 測定にはオリオン製複合 pH 電極 91-04 を用いた.

試薬はすべて東京化成工業の試薬特級品を用い, 電位測定のためのサンプル溶液は調製後 24 時間以内に使用した.

#### 2・2 パントテン酸テトラデシルアンモニウムイオン対の合成

パントテン酸銀:  $3 \times 10^{-3}$  M のパントテン酸ナトリウムを含むメタノール溶液 15 ml と当モルの硝酸銀を含むメタノール溶液 130 ml を暗室中で混合する. 生成したゲル状の白色沈殿を濾別し (No. 5C 濾紙使用), 少量のエーテルで洗浄する. 得られたパントテン酸銀の沈殿は真空乾燥する.

ヨウ化テトラデシルアンモニウム:  $3 \times 10^{-3}$  M の臭化テトラデシルアンモニウムを含む約 500 ml のアセトン溶液に 10 倍モルのヨウ化カリウムを結晶のまま加えて 8 時間かき混ぜ反応させる. 生成した臭化カリウムと過剰のヨウ化カリウムは濾別する. 濾液を濃縮乾固した後, 蒸留水 50 ml とクロロホルム 20 ml を加えて溶解させ, 分液漏斗を用いてクロロホルム相を取り出す. エーテルを加えてヨウ化テトラデシルアンモニウムを結晶化させ, アセトンを用いて再結晶する.

パントテン酸テトラデシルアンモニウムイオン対: 暗室中で,  $10^{-3}$  M のヨウ化テトラデシルアンモニウムを含む 150 ml アセトニトリル溶液に, あらかじめ微粉末にした当モルのパントテン酸銀を加える.  $40^\circ\text{C}$  で 6 時間ほどかき混ぜた後, ゆっくりと室温に戻す. 生成した

\* 徳島大学工業短期大学部: 770 徳島県徳島市南常三島町 2

\*\* 日本事務器(株): 101 東京都千代田区神田小川町 3-12

ヨウ化銀を汙別し、汙液を濃縮すると白色の固体としてパントテン酸テトラデシルアンモニウムを得る。



Scheme 1 Tetradecylammonium pantothenate ion pair

### 2・3 パントテン酸テトラデシルアンモニウム液膜電極の作製

試作した液膜型イオン選択性電極の構造を Fig. 1 に示す。内径 7 mm と 4 mm のガラス管の一端にポリ四フッ化エチレン樹脂製メンブランフィルター（住友電気工業製フルオロポア FP-045）をシリコン樹脂を用いて接着する。この 2 本のガラス管を組み合わせ、外部ガラス管には  $10^{-2}$  M パントテン酸テトラデシルアンモニウム-1-オクタノール溶液 0.5 ml をイオン交換液膜として入れる。内部ガラス管には塩化銀を飽和した  $10^{-2}$  M パントテン酸ナトリウム水溶液 0.2 ml を入れ、銀-塩化銀線を挿入して作製する。なお、電極は  $10^{-2}$  M パントテン酸ナトリウム水溶液に 12 時間浸してコンディショニングを行った後に使用した。

### 2・4 電位の測定

50 ml のサンプル溶液を測定用セルに入れ、これに試

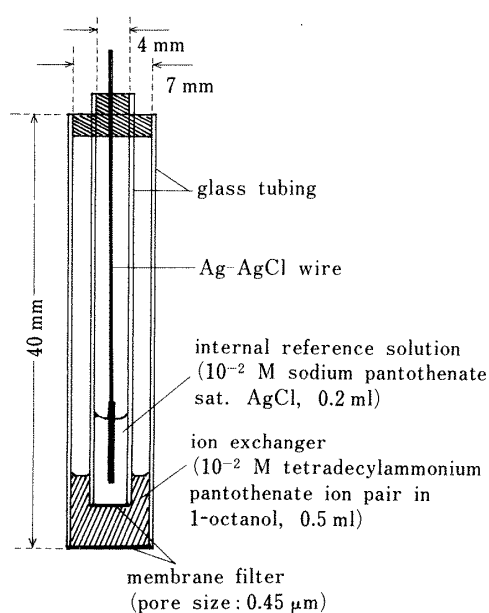


Fig. 1 The structure of tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode

作した液膜型電極と参照電極を浸す。サンプル溶液はかき混ぜ、温度  $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$  恒温で、デジタルマルチメーターを用いて電極浸漬 1 分後の電位を読み取る。サンプル溶液は低濃度側から高濃度側へと測定する。なお電位計の入力インピーダンス ( $2 \text{ M}\Omega$ ) に対して、試作電極膜のインピーダンス ( $50 \text{ k}\Omega$  以下) は 2.5% 以下であるため、測定系のインピーダンスを無視し得る十分な内部インピーダンスを有している。

## 3 結果及び考察

### 3・1 パントテン酸テトラデシルアンモニウムイオン対の合成

パントテン酸ナトリウムと硝酸銀から得たパントテン酸銀は、水に易溶、メタノールにわずかに溶け、その他の有機溶媒には不溶の白色沈殿であった。又ヨウ化テトラデシルアンモニウムは融点  $122^\circ\text{C}$  の白色板状結晶であり、イオン対であるパントテン酸テトラデシルアンモニウムは水に不溶、アセトニトリルやアセトンなど有機溶媒に可溶で、融点  $69 \sim 71^\circ\text{C}$  の白色結晶であった。イオン対を元素分析した結果、C: 73.11%, H: 12.37%, N: 3.40% であった。これは計算値 (C: 73.81%, H: 12.64%, N: 3.51%) とよく一致し、パントテン酸とテトラデシルアンモニウムが 1:1 のイオン対をなしていることが明らかになった。

### 3・2 イオン交換液膜の溶媒及びイオン対濃度の検討

イオン対を溶解するための溶媒をニトロベンゼン、1-オクタノール、1-デカノールと変えて電極を作製し、電極応答を検討した。結果を Fig. 2 に示す。ニトロベンゼン及び 1-デカノールの場合にはパントテン酸イオン活量  $10^{-3} \sim 10^{-1}$  において、又 1-オクタノールの場合には  $10^{-4} \sim 10^{-1}$  において検量線の直線性が認められた。いずれの場合にもネルンスト応答 ( $25^\circ\text{C}$  において  $59.15 \text{ mV/decade}$ ) に非常に近い値が得られたが、検量線の直線範囲が広く検出下限値の低い 1-オクタノールを用いるのが最も適当であった。

そこで 1-オクタノールを溶媒として、イオン対濃度を  $10^{-4} \text{ M}$ ,  $10^{-3} \text{ M}$ ,  $10^{-2} \text{ M}$  と変えた電極を作製し、その応答曲線を検討したところ Fig. 3 に示すような結果が得られた。イオン対濃度が大きくなるに従い、検量線の直線範囲が広くなり、検出下限値も低くなる傾向が見られた。従ってイオン交換液膜には  $10^{-2} \text{ M}$  パントテン酸テトラデシルアンモニウム-1-オクタノール溶液を用いることにした。

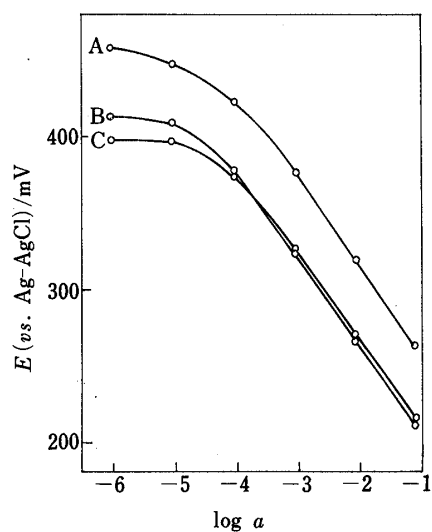


Fig. 2 Response of tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode in different organic solvent

A: nitrobenzene; B: 1-octanol; C: 1-decanol

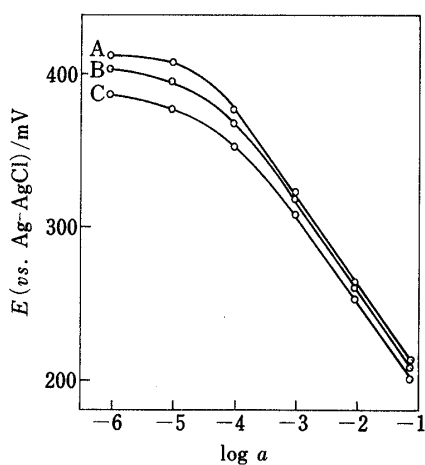


Fig. 3 Effect of the concentration of the ion exchanger in 1-octanol on the potential of tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode

A:  $10^{-2}$ ; B:  $10^{-3}$ ; C:  $10^{-4}$

### 3.3 電極の応答特性

以上のように設定したパントテン酸イオン選択性液膜型電極の応答特性を活量  $10^{-6} \sim 10^{-1}$  のパントテン酸イオンについて測定した結果,  $10^{-4} \sim 10^{-1}$  の範囲において直線性が認められた. これを最小二乗法により直線回帰すると  $E = 146.9 - 57.6 \log a$  ( $E$  は電極電位/mV vs. Ag-AgCl,  $a$  はパントテン酸イオン活量) が得られ, 傾

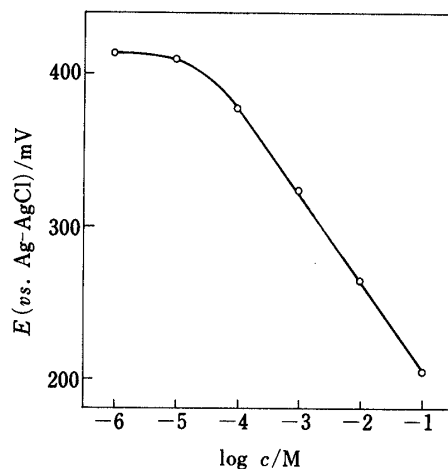


Fig. 4 Calibration curve for sodium pantothenate using tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode

$E = 147.5 - 57.8 \log c$  ( $E$  is the potential for sodium pantothenate concentration,  $c$ .)

きは  $-57.6$  mV/decade とネルンスト応答に近い値が得られた. 相関係数は  $0.9995$ , 検出下限は IUPAC の推奨する方法<sup>6)</sup>により求めた結果  $2.4 \times 10^{-5}$  であった.

以上の結果はパントテン酸イオンの活量に対するものであるが, 実際の適用を考えると濃度で検討される場合がほとんどであるため, パントテン酸ナトリウムの濃度に対してプロットした検量線を Fig. 4 に示す.  $10^{-4}$  M から  $10^{-1}$  M の範囲において直線性が認められ, この範囲で直線回帰した結果,  $E = 147.5 - 57.8 \log c$  ( $E$  は電極電位/mV vs. Ag-AgCl,  $c$  はパントテン酸ナトリウム濃度/M) の式で表された.

### 3.4 応答電位の経時変化

パントテン酸イオンの活量  $10^{-5} \sim 10^{-1}$  における電位応答の経時変化を Fig. 5 に示す. 電極をサンプル溶液に浸漬した時刻を 0 とし電位が定常的電位値に  $1$  mV 以内で等しくなるまでに経過した時間を応答時間とした<sup>6)</sup>.  $10^{-1}$  の場合には  $15$  秒後には安定した電位を示した. 又  $10^{-2} \sim 10^{-5}$  においても電極浸漬  $30$  秒後には安定した電位を示した. 従って本電極の応答時間は  $30$  秒であるが, 本実験では電極浸漬  $1$  分後の電位を読み取ることにした.

### 3.5 pH の影響

電極電位の pH 依存性について検討した. サンプル溶液である  $10^{-2}$  M パントテン酸ナトリウム溶液の pH

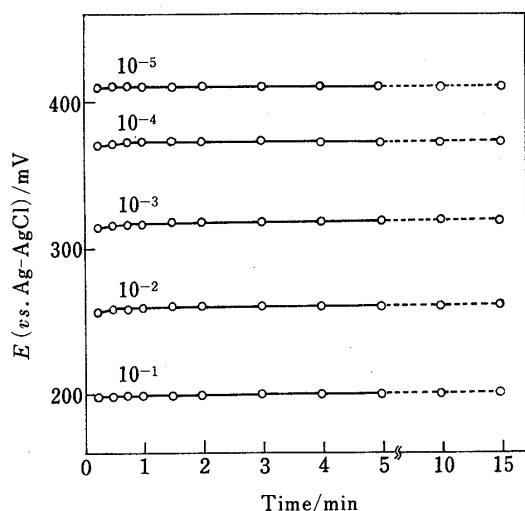


Fig. 5 Variation of the potential with time of tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode for different pantothenate activity

をリン酸水素カリウム緩衝溶液を用いて 4.19 から 10.49 の範囲で変えて測定したところ、pH 4.88 から pH 9.14 の範囲では 1 mV 以内で安定であり影響は認められなかった。pH 4.19 になると電極電位は 12 mV 正側シフトしたが、これはパントテン酸イオンがパントテン酸になるために、サンプル濃度が低くなることが考えられる。従って、本電極は pH 4.88 から 9.14 の範囲で用いるのが適当である。なお pH 調整を行わない場合のサンプル溶液の pH は 6.50 である。

### 3・6 選択性の評価

試作した電極の選択係数については、共存が考えられる物質 12 種類について IUPAC の推奨する式<sup>6)</sup>を用い、単独溶液法により決定した。その結果 Table 1 に示すように、リボフラビン、シアノコバラミン、ニコチンアミド、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムのようなビタミン類や、フェニルアラニン、システイン、グルタミン酸ナトリウム、アルギニン、 $\beta$ -アラニンのようなアミノ酸類によりほとんど妨害を受けないことが明らかになった。又硫酸ナトリウムあるいはリン酸水素カリウムが共存しても測定可能であった。

### 3・7 電極寿命

電極の寿命については、 $10^{-2}$  M パントテン酸ナトリウムに浸して保存すれば、毎日 8 時間の使用で少なくとも 3 週間は応答電位並びに検量線に変化は見られず

Table 1 Selectivity of tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode

Interfering substance	Selectivity coefficient <sup>†</sup>
Riboflavin	$2.4 \times 10^{-5}$
Cyanocobalamine	$1.1 \times 10^{-4}$
Nicotinamide	$4.6 \times 10^{-3}$
Ascorbic acid	$3.3 \times 10^{-3}$
Sodium ascorbate	$2.5 \times 10^{-1}$
Phenylalanine	$9.1 \times 10^{-4}$
Cysteine	$1.8 \times 10^{-4}$
Sodium glutamate	$4.2 \times 10^{-3}$
Arginine	$1.3 \times 10^{-2}$
$\beta$ -Alanine	$1.0 \times 10^{-4}$
Sodium sulfate	$5.2 \times 10^{-2}$
Dipotassium hydrogenphosphate	$5.5 \times 10^{-2}$

<sup>†</sup> Separate-solution method. The selectivity was calculated from the e.m.f. of a solution containing the pantothenate ion, at activity  $10^2$  M, and a solution containing the interfering substance at activity  $10^{-2}$  M.

使用可能であった。

(1989 年 6 月, 第 50 回分析化学討論会)  
において一部発表

## 文 献

- 1) L. L. Shankle, A. E. Troup, R. N. Duvall: *J. Pharm. Sci.*, **63**, 265 (1974).
- 2) R. B. Roy, A. Buccafuri: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **61**, 7207 (1978).
- 3) S. J. Lyle, M. S. Tehrani: *J. Chromatogr.*, **236**, 31 (1982).
- 4) P. Jonvel, G. Andermann, J. F. Barthelemy: *J. Chromatogr.*, **281**, 371 (1983).
- 5) 赤田良信: 分析化学, **35**, 320 (1986).
- 6) IUPAC Analytical Chemistry Division, Commission on Analytical Nomenclature, Recommendation for Nomenclature of Ion Selective Electrodes: *Pure Appl. Chem.*, **48**, 127 (1972).

☆

**The preparation and properties of the liquid membrane electrode for pantothenate ion.** Junko MOTONAKA, Shoji HORIE, Sanae IKEDA\* and Nobuyuki TANAKA\*\*  
(\*Technical College, The University of Tokushima, 2, Minamijosanjima, Tokushima-shi, Tokushima 770;  
\*\*Nippon Jimuki Co., Ltd., 3-12, Kanda Ogawa-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 101)

For the measurement of pantothenate ion activity, tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrode was prepared and tested. Tetradecylammonium

pantothenate ion pair complex was prepared by mixing  $10^{-3}$  M silver pantothenate with  $10^{-3}$  M tetradecylammonium iodide in 150 ml of acetonitrile under stirring for 6 h at 40°C. The precipitate was filtered off and dried. The elemental analysis for the precipitate agreed with the formation of a 1 : 1 tetradecylammonium pantothenate ion-pair complex. Tetradecylammonium pantothenate 1-octanol solution ( $10^{-2}$  M) was used as ion-exchanger of the electrodes. Sodium pantothenate solution ( $10^{-2}$  M) saturated with silver chloride was used as the internal reference solution along with an silver-silver chloride internal reference electrode. The tetradecylammonium pantothenate liquid membrane electrodes thus made were then examined in terms of their effect of solvent for ion-exchange material, concentration of ion-pair complex, re-

sponse curves, response time, pH of sample solution, selectivity coefficients and life-time. The response time of electrode was less than 1 min in the concentration range of  $10^{-4}$ ~ $10^{-1}$  M of pantothenate. The slope of calibration curve was -57.6 mV/decade in the linear part, and the coefficient of correlation was 0.9995. The selectivity coefficients were examined by the separate-solution method.

(Received June 21, 1990)

#### **Keyword phrases**

determination of pantothenate ion; liquid membrane electrode; tetradecylammonium pantothenate ion pair.