

博士論文要録

接触反応とフロー分析法を用いる超微量金属イオンの
吸光光度法の研究

大野 慎 介

学位授与：愛知工業大学（2006年2月23日）

環境水中に溶存する微量の重金属イオンは、生物に対して有害であり、中には「環境ホルモン類」に挙げられるものもある。そして、その有毒性については数 ppb レベルでの議論が要求されており、超微量金属イオン（数十 ppt～数 ppb）の検出法の開発が望まれている。重金属イオンの高感度分析法として、誘導結合プラズマ（ICP）発光分析、ICP 質量分析、中性子放射化分析などが挙げられるが、これらの大型装置は非常に高価であり、使用に当たり高度な技術が要求され、特定の機関での利用に限られている。これに対し、フローインジェクション分析（FIA）法及びシーケンシャルインジェクション分析（SIA）法は、分析の迅速化・少試料化・少試薬化・再現性などの点で従来の分析法と比べ利便性の高い特長を有しているが、これを超微量金属イオンの検出に適用するには更なる高感度化が望まれる。

本研究では、触媒作用を有する微量金属イオンの接触反応及び水溶性高感度発色試薬による呈色反応を測定原理とした分析法の確立を行った。更に、これらの反応系を FIA 及び SIA 法に導入することにより、超微量金属イオン（数十 ppt～数 ppb）の検出を可能とした。特に SIA 法への導入では、1 回の計測に対し、数十 μl の試料や試薬溶液量で有色錯体を形成させることができ、コンピュータで混合・検出を制御する全自動分析法を確立した。これらの研究成果を以下に示す。

第 1 章では、接触反応及びピリジルアゾ試薬による発色・錯形成の原理及び溶液の連続流れ場を利用する FIA・SIA 法の歴史的背景について述べた。接触反応とは、指示反応（多くは酸化還元反応）が循環的に誘発される反応のことである。接触分析法は、この接触反応を用いるため、感度の増幅を図ることができる。本章ではその原理と理論を述べた。また、高感度な水溶性発色試薬の機能を高めるために、発色試薬の FIA や SIA 法への導入の重要性についても述べた。

第 2 章では、バッチマニユアル法による銅及び鉄イオンの接触分析法¹⁾について検討した。過酸化水素（ H_2O_2 ）共存下で *p*-アニシジンは *N,N*-ジメチルアニリン（DMA）と酸化カップリングし色素（極大吸収波長 740 nm）を形

成するが、この反応は極めて遅い。しかし、銅(II)又は鉄(III)を添加するとこの色素生成反応が接触的に促進される。接触分析法では単成分分析の研究がほとんどであるが、本研究では、銅(II)に対してネオクプロイン、鉄に対し 1,10-フェナントロリンを添加するとそれぞれの接触反応が特異的に活性化されることを見いだした。また、二リン酸塩をマスキング剤として用いると銅(II)と鉄(III)の分別定量における選択性を更に高めることができ、河川水中の微量銅と鉄の分析への適用が可能となった。

第 3 章では、銅の新しい接触分析法の開発²⁾、銅及び鉄の接触分析法の FIA 法への導入³⁾を図った。接触分析法において、新しい指示反応系を設計することは極めて重要である。本章ではまず、2,4,6-トリス(2-ピリジル)-1,3,5-トリアジン（TPTZ）共存下のシステインによる鉄(III)の還元反応を、銅(II)接触分析の新しい指示反応系として提案した。すなわち、システインによる鉄(III)の還元反応は銅(II)により著しく加速されるため、還元された鉄(II)を TPTZ により検出（極大吸収波長 593 nm）すれば、間接的に銅(II)を高感度に定量することができる。

次に、第 2 章で開発した *p*-アニシジン/DMA/ H_2O_2 を指示反応とする銅(II)と鉄(III)の定量原理を、共同研究者が開発したシリアルフローセルを備えた FIA 装置に導入した。その結果、化学量論的反應では容易に達成できない ppb 以下の銅と鉄の同時分析が可能となった。また、これらの金属とフミン酸との錯体が触媒不活性となることを利用し、活性錯体濃度が pH に依存することを明らかにした。したがって、本 FIA 法は、環境水中の金属イオンのスペシエーションへ応用できるものと考ええる。

第 4 章では、鉄(II)-ニトロ-PAPS 錯体がコバルト量に応じて生成することを利用したコバルトの FIA 法⁴⁾について述べた。2-(5-ニトロ-2-ピリジルアゾ)-5-(*N*-プロピル-*N*-スルフォプロピルアミノ)フェノール（ニトロ-PAPS）は水溶性の高感度発色試薬として知られているが、この配位子が及ぼす金属イオンの酸化還元反応への作用が定量的に議論された報告例はない。通常、コバルト(II)による鉄(III)の還元反応は進行しないが、適当な配位子が共存すると進行する可能性がある。そこで酸化還元反応の生成物であるコバルト(III)及び鉄(II)と安定な錯体を形成する配位子として、ニトロ-PAPS に着目した。電位差滴定により詳細に検討した結果、ニトロ-PAPS 共存下で、こ

現連絡先の機関 株式会社 HME 開発部：511-0836 三重県桑名市江場 17-1

学会受付 2006 年 5 月 10 日

の酸化還元反応が定量的に進行することを明らかにした。本反応は接触反応ではないが、反応生成物である鉄(II)-ニトロ-PAPS 錯体特有の吸収 ($\lambda_{\max} = 790 \text{ nm}$) を利用してコバルトの定量を行うことができ、選択性に優れている。ここで確立した FIA 法は、コバルト合金やリョウブ中のコバルトの分析に適用され、更に医薬品中のビタミン B₁₂ の間接定量に応用された。

第 5 章では、SIA 法による銅と鉄の自動同時分析法の開発⁵⁾について述べた。有害な重金属イオンの環境水への排水規制が行われており、これらは絶えず監視する必要がある。最近、SIA 装置に検出系と反応場をマルチポートバルブ上に設け、分析装置の小型化及び少試料化を図ったラボ・オン・バルブ (LOV) が提案されている。ここでは自作の分析プロトコルを用いた SI-LOV 法による工場排水中の銅と鉄の同時定量を試みた。発色試薬として 2-(5-ブromo-2-ピリジルアゾ)-5-(*N*-プロピル-*N*-スルホプロピルアミノ)アニリン (5-Br-PSAA) を用いた。5-Br-PSAA は銅(II)と錯形成する(極大吸収波長 580 nm)が鉄(III)とは錯形成しない。一方、還元剤の共存下で鉄(II)と錯体を形成する(極大吸収波長 558 nm)。しかし、通常この発色試薬は試薬空試験を有するため、高い空試験値を与え、定量感度に大きな影響をもたらした。そこで本法では、キャリアー溶液中に適当量の 5-Br-PSAA をスパーサーとして加えることにより、空試験値を低く抑えることができた。更

に本システムでは、確立した分析プロトコルにより、1 回の操作で銅と鉄を同時に自動分析することが可能であり、工場排水の全自動管理に応用できる。SI-LOV 法による同時分析の例は極めて少なく、新規性のある方法として注目されている。

第 6 章では、本研究で得た結論を述べた。本研究は、主に有害性のある重金属の銅、鉄及びコバルトを対象にした。接触反応及びピリジルアゾ系水溶性試薬による呈色反応を FIA や SIA と融合することにより、分析の迅速化、高感度化、自動化が図られた。更に、ここで提案した分析法は少試薬・少廃液・迅速性に優れ、分析技術のゼロエミッション化につながるものである。

公表論文

- 1) S. Ohno, N. Teshima, H. Zhang, T. Sakai: *Talanta*, **60**, 1177 (2003).
- 2) J. Wei, N. Teshima, S. Ohno, T. Sakai: *Anal. Sci.*, **19**, 731 (2003).
- 3) S. Ohno, M. Tanaka, N. Teshima, T. Sakai: *Anal. Sci.*, **20**, 171 (2004).
- 4) 田中美穂, 渡辺靖之, 大野慎介, 田丸貴臣, 手嶋紀雄, 酒井忠雄: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **53**, 291 (2004).
- 5) S. Ohno, N. Teshima, T. Sakai, K. Grudpan, M. Polasek: *Talanta*, **68**, 527 (2006).



Digest of Doctoral Dissertation

Studies on Spectrophotometric Analysis for Ultratrace Amounts of Metal Ions Coupled with Catalytic Reactions and Flow-Based Techniques

Shinsuke OHNO

HME Co., Ltd., 17-1, Eba, Kuwana-shi, Mie 511-0836

(Awarded by Aichi Institute of Technology dated February 23, 2006)

At first, a copper- and/or iron-catalyzed coupling reaction of *p*-anisidine with *N,N*-dimethylaniline in the presence of hydrogen peroxide was investigated by batchwise and flow-based methods for the determination of copper and iron in natural water samples. The addition of some ligands (neocuproine for copper and 1,10-phenanthroline for iron) activated the catalytic effects. A flow injection (FI) method using catalytic reactions with a serial flow cell, having two cell compartments, was also applied to the successive assay of labile and inert complexes with humic acid for the characterization of copper and iron complexes. In addition, a sensitive and rapid FI spectrophotometric method was proposed for the determination of cobalt in cobalt alloy, pepperbush leaves and vitamin B₁₂. It is based on a redox reaction of cobalt(II) with iron(III) in the presence of nitro-PAPS, producing a iron(II)-nitro-PAPS complex. Finally, a sequential injection (SI) method with a lab-on-valve (LOV) format using 5-Br-PSAA was developed for the simultaneous spectrophotometric determination of copper and iron. The computer-controlled SI-LOV system was useful for routine, durable and automated assays of copper and iron in industrial waste water samples. The flow-based analytical techniques with FIA and SI-LOV should be noticed as an environmentally benign technology.

(Received May 10, 2006)

Keywords : catalytic method; water-soluble chromogenic reagent; spectrophotometry; flow injection; sequential injection; simultaneous determination; iron; copper; cobalt.