

フローインジェクション分析法によるホウ素の吸光光度定量

桐栄恭二[®]， 本水昌二， 大島光子， 小野田 稔*

(1985 年 10 月 18 日受理)

H-レゾルシノール {1-(2,4-ジヒドロキシ-1-フェニルアゾ)-8-ヒドロキシナフタレン-3,6-ジスルホン酸} とホウ酸との反応を利用したホウ素の吸光光度フローインジェクション分析について検討した。ダブルプランジャー型ポンプを用い、一方にキャリアー液 (イオン交換水) を流し、もう一方に反応試薬溶液 (*H*-レゾルシノールと EDTA を含む pH 5.5 の酢酸アンモニウム緩衝液) を流し、キャリアー液流中に試料水を注入した。キャリアー液と反応試薬液は反応コイル中で混合した。錯体の生成を促進するために、反応コイルを恒温槽中 (100°C) で加熱する。その後混合液はフローセル (36 μl) に導かれ、ホウ素錯体の吸光度を測定した (波長 510 nm)。ホウ酸と反応する試薬については *H* 酸 (1-アミノ-8-ヒドロキシナフタレン-3,6-ジスルホン酸) 誘導体 14 種類について検討した結果、*H*-レゾルシノールを用いることにした。河川水、海水中に普通存在する程度の金属イオン及び無機陰イオンは定量を妨害しない。0.1 M 程度のナトリウムイオン、カリウムイオンは負の誤差を与えるが、海水は 20 倍に希釈して測定するのでこれらイオンの妨害は問題とはならなかった。検量線は 0~1 ppm の範囲で直線性を示し、検出限界は 5 ppb ($S/N=2$) であった。又ホウ素 108 ppb での 10 回繰り返し実験の相対標準偏差は 0.53% であった。毎分 0.6 ml で送液し試料注入量 320 μl、反応コイル 0.5 mm i.d.×16 m としたときの分析速度は 1 時間当たり約 30 試料である。

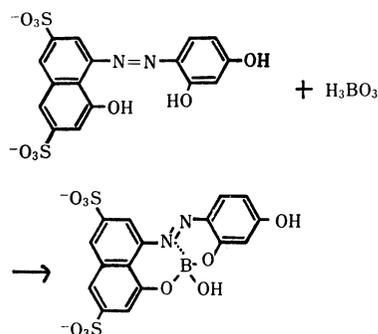
1 緒 言

ホウ酸の形で存在するホウ素は、水溶液中では反応性に乏しいため、カルミン酸などを用いる場合¹⁾ は硫酸中で反応を行うとか、高感度なクルクミン法²⁾ では蒸発乾固の操作が必要であるなど不便な点が多い。

ホウ素の比較的迅速で高感度な分析法として、テトラフルオロホウ酸イオン^{2,3)} あるいはホウ素-有機試薬錯陰イオン^{4)~7)} と染料陽イオンとのイオン会合を用いる高感度な抽出-吸光光度法も数多く報告されているが、一般に試薬から試験液の吸光度の低下のための洗浄など操作が複雑である。迅速で簡便なホウ素の定量法として、アゾメチン H⁸⁾、クロモトロブ酸⁹⁾ などを用いるフローインジェクション分析法 (FIA 法) が報告されている。しかし、アゾメチン H は試薬が不安定でアスコルビン酸などの還元剤の添加を必要とし、検出限界 100 ppb 程度と感度もあまりよくない。クロモトロブ酸を使用したものは、検出限界 0.2 ppb と高感度ではあるが検出方法として蛍光を利用している。そこで、本報告では高感度で装置も手軽で安価な吸光光度計を検出器として用いたホウ素の FIA について検討を行った。

ホウ素の吸光光度定量試薬として、*H* 酸系アゾ染料を

数種類合成しその中から *H*-レゾルシノールを選び出した。*H*-レゾルシノールは弱酸性溶液中でホウ酸と反応して (1:1) 錯体を生成し¹⁰⁾、アゾメチン H よりも感度がよく安定で還元剤の添加も不要であり、取り扱いが簡単である。ただ錯体生成の反応時間が長い。しかし、FIA 法においては反応液を加熱することは比較的容易であり、加熱によって大幅に反応を促進することができる。本法でも反応コイルを 100°C に加熱することによって、高感度かつ迅速なホウ素の定量が可能となった。なお、ホウ酸と *H*-レゾルシノールの反応は下記のものであると思われる。



* 岡山大学理学部：700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

又この方法を河川水, 海水中のホウ素の定量に応用し良好な結果を得ることができたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

反応試薬溶液: *H*-レゾルシノール 0.096 g (2×10^{-4} モル), EDTA・二ナトリウム塩 (二水和物) 3.72 g (10^{-2} モル), 酢酸アンモニウム 50 g をイオン交換水に溶解し, 1 M 酢酸溶液を加えて pH を 5.5 に調整した後, 全容を 1 l とした。

キャリアー液: イオン交換水を用いた。

ホウ素標準液: 市販特級ホウ酸 (和光純薬工業製) 0.6183 g をイオン交換水 1 l に溶かして, 1.0×10^{-2} M の原液とし, これを適宜水で希釈して使用した。

2.2 装 置

フローインジェクション分析装置の流路系を Fig. 1 に示す。ポンプはサヌキ工業製ダブルプランジャー型マイクロポンプを用い, 両ポンプによる送液は流速 0.6 ml/min で行った。吸光度の測定は島津 UV-140-02 型分光光度計を使用し, 36 μ l (1.5 mm i. d. \times 20 mm) フローセルを用いた。恒温槽は大洋科学工業製 Thermo Minder H-80 型を使用し, 反応コイルの加熱溶媒は水溶性熱媒体フルゾール P を用いた。加熱コイルは熱効率をよくするために内径 0.5 mm, 外径 1 mm の肉薄のテフロンチューブを用いた。その他のチューブは内径 0.5 mm, 外径 1.5 mm のテフロンチューブを用いた。

2.3 操 作

試料水をサンプリングループに充てんし, 六方切り換えバルブによりキャリアー液流中に注入する。注入した試料は, 反応試薬液流と Y 字型ミキシングジョイントで混合

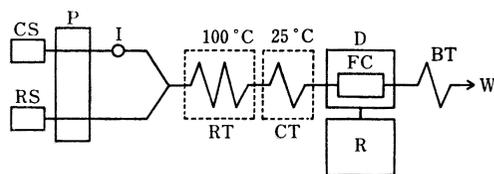


Fig. 1 Schematic diagram of flow system

CS: carrier solution (deionized water); RS: reagent solution (*H*-resorcinol and EDTA in ammonium acetate buffer pH 5.5); P: pump (flow rate 0.6 ml/min); I: sample injection valve; RT: reaction coil (i. d. 0.5 mm \times 16 m); CT: cooling coil (i. d. 0.5 mm \times 1 m); D: spectrophotometer ($\lambda = 510$ nm); FC: flow cell (volume 36 μ l, path length 20 mm); R: recorder; BT: back pressure tubing (i. d. 0.25 mm \times 0.7 m); W: waste

する。混合された試料は, 100°C に加熱した反応コイルを通過し冷却コイルで冷却した後, 検出部のフローセルに達する。そのときの吸光度を波長 510 nm で測定し記録する。

3 結果及び考察

3.1 反応試薬の検討

ホウ酸と水溶液中で錯体を形成し, 吸光度定量法にそのまま用いることのできる試薬として, *H* 酸 (1-アミノ-8-ヒドロキシナフタレン-3,6-ジスルホン酸) 系アゾ染料を選び, 誘導体を数種類合成して, ホウ酸との反応性を検討した。Fig. 2 に合成した試薬を示す。

合成方法は, *H* 酸を塩酸酸性溶液中で, 冷却しながら

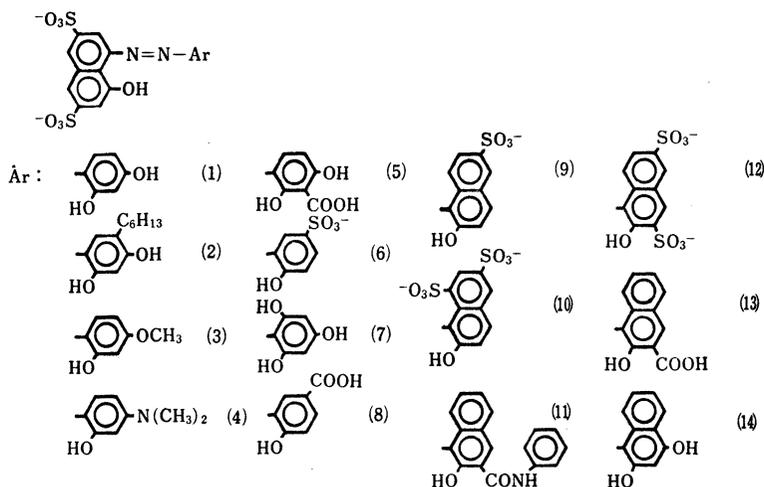


Fig. 2 Synthesized *H*-resorcinol derivatives

亜硝酸ナトリウムでジアゾ化し、(1)~(8)、(13)、(14)は水酸化ナトリウム、(11)は炭酸水素ナトリウム、(9)、(10)、(12)は炭酸ナトリウム溶液中でカップリングを行った。再結晶はいずれもエタノール-水の混合溶媒で行った。

合成した反応試薬を用い、試薬濃度 $7.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、ホウ酸濃度 $7.7 \times 10^{-4} \text{ M}$ で pH を 3~11 まで変化させて室温で反応させた結果、ホウ酸と反応し変色したものは、(1) (pH 5) と (2) (pH 5) であった。感度は (1) が最も良かったので反応試薬としては (1) の *H*-レゾルシノールを用いることにした。

3.2 吸収曲線及び試薬濃度の影響

Fig. 3 に pH 5.5 における *H*-レゾルシノールのホウ素錯体と試薬から試験液の吸収曲線を示す。吸収極大波長は 510 nm にあり、以後測定はこの波長で行った。Fig. 3 から分かるように、から試験液の吸光度が大きいため試薬が濃すぎるとベースラインが不安定になるので、反応試薬 *H*-レゾルシノールの濃度は $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ とした。

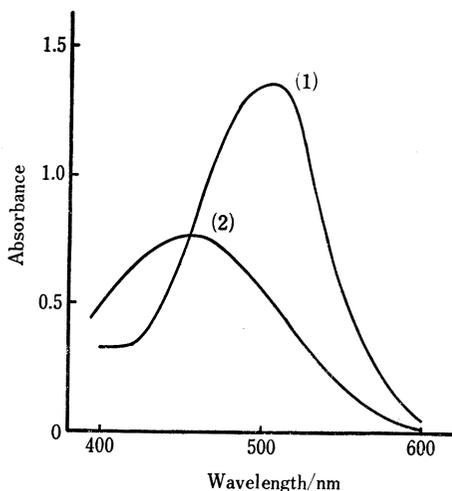


Fig. 3 Absorption spectra of *H*-resorcinol and its boron complex

(1) Boron complex; Boron: $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ (ref: water). (2) *H*-resorcinol: $4 \times 10^{-5} \text{ M}$ (ref: water)

3.3 pH の影響

ホウ酸と *H*-レゾルシノールの反応 pH のピークの高さに及ぼす影響について調べた。緩衝溶液として酢酸アンモニウム溶液を用い、1 M 酢酸溶液で pH を調製し

た。Fig. 4 に検討した結果を示す。pH 5.3~5.6 で最大一定の吸光度が得られたので、pH 5.5 で反応させることにした。

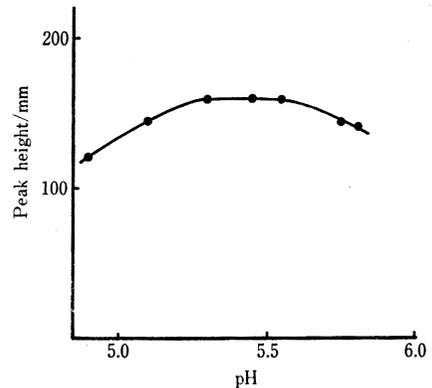


Fig. 4 Effect of pH of the reagent solution on formation of boron-*H*-resorcinol complex
Boron: 108 ppb

3.4 反応コイル長の影響

Fig. 5 に加熱コイルの長さとの関係とピークの高さの関係を流速を変えて検討した結果を示す。Fig. 5 より流速が遅く反応コイルが長いほど、つまり加熱恒温槽中での滞留時間が長いほどピークは高くなることが分かった。しかし滞留時間が長すぎると、分析所要時間が増し迅速性が失われ、又ピークが広がり感度の低下を招く。そこで、分析所要時間及び感度を考慮して、流速を 0.6 ml/min、加熱コイルを 16 m とした。この条件での分析速

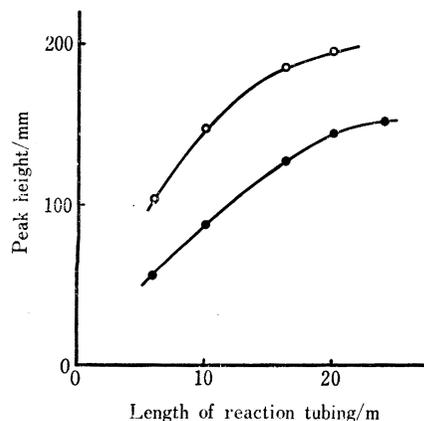


Fig. 5 Effect of reaction tubing length on peak height
Boron: 108 ppb

度は1時間当たり約 30 試料である.

3.5 試料注入量の影響

Fig. 6 に試料注入量とピークの高さの関係について検討した結果を示した. この結果, 試料注入量 320 μ l 以上で一定のピーク高さを与える. 迅速性を考慮して注入量 320 μ l を用いることにした.

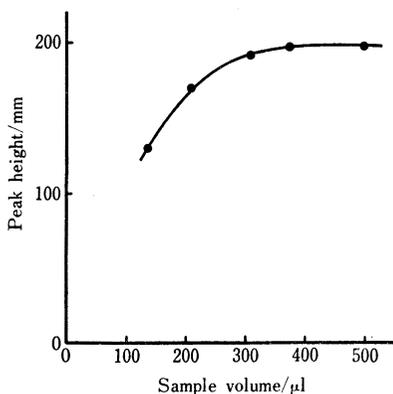


Fig. 6 Effect of sample volume on peak height
Boron : 108 ppb

3.6 検量線

河川水測定用の検量線用シグナルを Fig. 7 に示す. 一般にホウ素は日本の河川水では 10 ppb, 海水では 4 ppm 程度含まれているが, 本法では記録計のダイナミックレンジを変えることによって, 0~1 ppm の広い範囲で検量線を作ることができ良好な直線性を示した. 又ホウ素量 108 ppb を 10 回繰り返し注入したときの相対標準偏差は 0.53% で精度も良好であった.

3.7 共存イオンの影響

実際試料分析のために河川水, 海水中に普通存在すると思われる共存イオンの影響について調べた結果を Table 1 に示す. ほとんどのイオンはホウ素の定量を妨害しないが, Na^+ , K^+ イオンが 0.1 M 存在すると

Table 1 Effect of diverse ions on the determination of 108 ppb boron

Ion	Tolerance concentration/M
Na^+	0.025
K^+ , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , H_2PO_4^-	10^{-2}
Mg^{2+} , Ca^{2+} , HCO_3^- , SiO_3^{2-}	10^{-3}
Fe^{3+}	10^{-5}

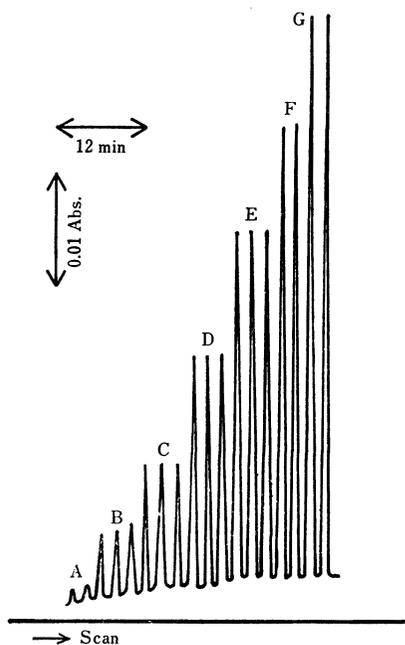


Fig. 7 Flow signals for standard solutions of boron
Boron (ppb) : A 0; B 11; C 22; D 43; E 65; F 86; G 108

負の誤差を与える. 海水中にホウ素は数 ppm 存在するため, 測定には海水を 20 倍に希釈して行う. Na^+ イオンは海水中に 0.5 M 程度存在するが, この希釈により 0.025 M 程度となるため妨害とはならなかった. 又

Table 2 Determination of boron in river and sea waters

Sample†	Dilution	Found/ $\mu\text{g l}^{-1}$	
		FIA	HPLC
River water			
Asahi	A	—	13
	B	—	18
Takahashi	A	—	10
	B	—	9
	C	—	7
Yoshii	A	—	11
	B	—	15
	C	—	20
Sea water			
Desaki	A	1/20	4200
	B	1/20	4800
Kuban	1/20	1600	1700
Shin Okayama	1/20	1500	1600

† These were sampled in Okayama Prefecture on February 26, 1985.

EDTA は 10^{-2} M 程度では影響がない。従って EDTA を 10^{-2} M 加えることによって Fe^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} イオンの影響も除くことができた。

4 実際試料への応用

実際試料への応用例として河川水・海水中のホウ素の定量を行った。結果を Table 2 に示す。試料水は $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過し、海水についてはホウ素含量が多いためイオン交換水で 20 倍に希釈した後試料溶液として用いた。参考値は同じ試料水を高速液体クロマトグラフィーにより定量¹¹⁾した結果で、両者はよい一致を示している。

(1985年6月, 第3回フローインジェクション分析講演会において一部発表)

文 献

- 1) J. T. Hatcher, L. V. Wilcox : *Anal. Chem.*, **22**, 567 (1950).
- 2) JIS G 1227, 鉄及び鋼中のほう素定量方法(1980).
- 3) 内海 諭, 伊藤舜介, 磯崎昭徳 : 日本化学雑誌, **86**, 921 (1965).
- 4) K. Kuwada, S. Motomizu, K. Tōei : *Anal. Chem.*, **50**, 1788 (1978).
- 5) S. Sato, S. Uchikawa : *Anal. Chim. Acta*, **143**, 283 (1982).
- 6) 大島光子, 本水昌二, 桐栄恭二 : 分化, **32**, 268 (1983).
- 7) M. Oshima, S. Motomizu, K. Tōei : *Anal. Chem.*, **56**, 948 (1984).
- 8) F. J. Krug, J. Mortatti, L. C. R. Pessenda, E. A. G. Zagatto, H. Bergamin Filho : *Anal. Chim. Acta*, **125**, 29 (1981).
- 9) 本水昌二, 大島光子, 桐栄恭二 : 分化, **32**, 458 (1983).
- 10) R. Capelle : *Anal. Chim. Acta*, **24**, 555 (1961).
- 11) S. Motomizu, I. Sawatani, M. Oshima, K. Tōei : *Anal. Chem.*, **55**, 1629 (1983).

☆

Spectrophotometric determination of boron by flow injection analysis. Kyoji TōEI, Shoji MOTOMIZU, Mitsuko OSHIMA and Minoru ONODA (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

Spectrophotometric determination of boron existing as boric acid in water was examined with *H*-resorcinol {1-(2,4-dihydroxy-1-phenylazo)-8-hydroxy-naphthalene-3,6-disulfonic acid} by flow injection analysis. Carrier solution (deionized water) and reagent solution were propelled by double plunger pump (flow rate : 0.6 ml/min), and sample solution ($320 \mu\text{l}$) was injected into a carrier stream. The reagent solution was prepared by dissolving 0.096 g of *H*-resorcinol in 1 l of ammonium acetate buffer solution (50 g/l, pH 5.5) containing 3.72 g of EDTA. The two streams were mixed in 16 m long Teflon tubing (0.5 mm i.d.), and the mixture was flowed through a flow cell ($36 \mu\text{l}$; 1.5 mm i.d. \times 20 mm), at which the absorbance of boron-*H*-resorcinol complex was detected ($\lambda = 510 \text{ nm}$). The linear relationship between the peak height and concentration of boron was obtained in the range of 0 to 1 ppm. The detection limit was 5 ppb ($S/N = 2$). The sampling rate was 30 samples per hour. Generally ions co-existing in river and sea waters did not interfere with the determination of boron by adding EDTA solution.

(Received October 18, 1985)

Keyword phrases

spectrophotometry of boron with *H*-resorcinol by flow injection analysis; water samples.