



フェニドンによるリンの定量法

著者	林 貞雄
雑誌名	紀要
巻	16
ページ	11-15
発行年	1962-03
URL	http://id.nii.ac.jp/1118/00001038/



フェニドンによるリンの定量法

林 貞雄^{*}

緒 言

無機リン酸を酸性下で、モリブデン酸と結合させてリンモリブデン酸となし、還元剤で、還元して生ずるヘテロポリブルーを比色する方法は数多くあるが、今日までリンモリブデン酸の生成反応は

$$\text{H}_3\text{PO}_4 + 12\text{H}_2\text{M}_0\text{O}_4 \rightarrow \text{H}_3\text{M}_0_{12}\text{PO}_{40} + 12\text{H}_2\text{O}$$
のように考えられているけれども、その還元生成物であるリンモリブデン酸ブルー（ヘテロポリブルー）の構造はよく解っていない。従って使用する還元剤その他の条件によって、わずかに異ったものが生ずる事は当然であると考えられている。特に実際の定量にあたっては、どの方法によるかを改めて再検討し、再現性を期するために発色のバラツキが大きな負担となっている。これまで発表されている還元剤の代表的なものを上げれば、ヒドロキノン、アミノナフトールスルホン酸、塩化第一スズ、アミドール、エロン、硫酸ヒドラジン¹⁾などで、発色および試薬の安定性に一長一短のある事が指摘されている。

そこで著者は、発色条件の調整が容易で安定性のある新しい還元剤を開発するために実験し、その中から近年写真の現像薬として用いられている、フェニドンを還元剤として種々発色の条件を検討し、満足する結果を得たのでここに報告する。

実験および考察

1 装置および試薬

平間光電比色計ⅡB型；ガラス製セル1cm，無機ガラスフィルター880m μ

フェニドン（1-phenyl-3-pyrazolidone）；東京化成GRをそのまま水および3%亜硫酸ソーダまたは3%酸性亜硫酸ソーダに加温しながら溶かし、0.5%溶液として褐色びんに入れて使用した。

モリブデン酸アンモニウム；和光GRをそのまま5%溶液としてポリエチレン製のびんに貯えて用いた。

硫酸；和光GRを希めて10Nとして用いた。

リン酸二水素カリウム；和光EPを水にとかして濾過し、ろ液を蒸発濃縮して析出する結晶をろ別して、100°C以下で乾燥した。これを更に二回繰り返した。0.4394gを1ℓに

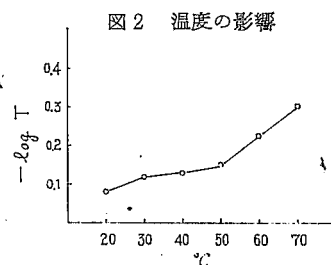
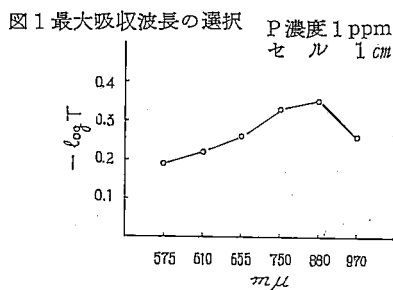
^{*}化学助手

とかしたものの、1 ml中にはリン0.1mgを含みこれを標準液とした。

2 実験

2-1温度の影響

100mlのメスフラスコにリンとして1ppmになるようにとり、硫酸5 mlとモリブデン酸アンモン2 mlを加えてよく振りまぜ、フェニドン5 mlを加えて更によく振りまぜ全量を100mlとする。ただちに各温度に調節した恒温槽に20min間浸漬加温した後830m²⁾に近い880m μ で吸光度を測定した。



フェニドンによるリン1ppmの場合のヘテロポリブルーの発色は30~50°Cで比較的安定した発色を示す事が解った。以後調製されやすい30°Cを採用する。

2-2還元剤への亜硫酸塩添加の影響

リンとして1ppmおよび2ppmになるようにとり、硫酸5 ml、モリブデン酸アンモン2 mlと還元剤の各液を各々5 ml加えて全量を100mlとし30°Cで20min発色させ測定した。

表1 亜硫酸塩の影響 (-log T)
※) フェニドンの無い場合

P.	フェニドン 水	フェニドン Na ₂ SO ₃	Na ₂ SO ₃ ※	フェニドン NaHSO ₃	NaHSO ₃ ※
1 ppm	0.131	0.136	0.001	0.145	0.002
2 ppm	0.252	0.285	0.001	0.310	0.002

フェニドンは写真の現像薬においては、ハイドロキノ
ン、エロンの如く速やかに
酸化されて効力の消失され
ないのが特性となっている

が、本実験においても更に酸化防止剤として、亜硫酸ナトリウム、酸性亜硫酸ナトリウムを添加しておく、より一層還元効力の持続が得られ長期の保存の可能である事が解った。なお3%としたのは、3%以上の濃さのあった方が酸化防止能力が大きいかいけれども、それらの亜硫酸塩自身の発色のための妨害を軽減する意味において3%とした。フェニドンに酸性亜硫酸ナトリウムを添加した場合が他のものに比較して若干高い吸光度を示したので今後の実験にこれを使った。

2-3モリブデン酸アンモニウム量の検討

リンとして1ppmになるようにとり、硫酸5 ml、モリブデン酸アンモンを1~10ml加え、

フェニドン 5 ml 加えてよく振り 30°C で 20 min 加温し、直ちに測定した。

図3 モリブデン酸の量の影響

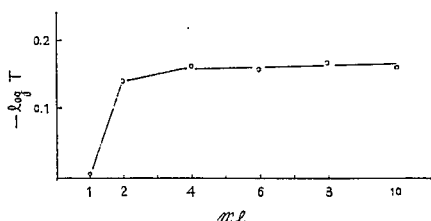


図3から解るようにモリブデン酸アンモンを2~10ml (最終濃度0.1~0.5%) 加えた場合、吸光度に大きな影響のない事が解った。そこでリンが多くなってもリブデン酸アンモンの不足をきたさないための安全性をみて、以後5 ml 加える事にする。しかし低酸性度ではモリブデン酸アンモンが多いと、それ自身650~700m μに吸収を示す事が発表されているので、簡単ではあるが、試みてみ

ると、表2の如くBlankにおいて吸光度の増加が認められ、モリブデン酸の発色である事が解った。

表2 5%モリブデン酸アンモン-10ml/100mlの場合の吸光度

モリブデン酸 m μ	1 ppm	0
880	0.1574	0.0438
610	0.1537	0.0799

2-4発色の時間的变化

リンとして1 ppmをとり、硫酸5 ml, モリブデン酸アンモン5 ml, フェニドン5 mlを加えて全量を100mlとして30°Cで10, 20, 30, 40, 50, 60minの各時間だけ浸漬加温し、以後室内に放置し、時間の延長に対して発色がどのように変化するかをみた。

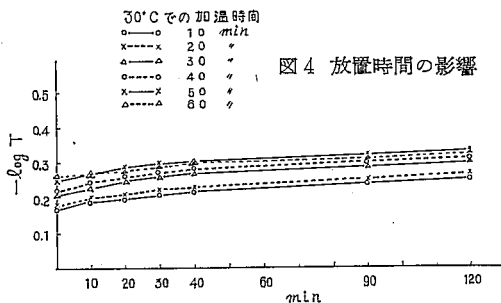
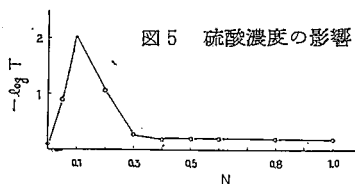


図4では、加温時間が長くなれば吸光度も比例して大きくなるし、放置しておく時間の延長につれても発色は徐々に増加してゆく事が観察された。この事は分析の実際にあたって、再現性を悪くする素因になる

ため、一定時間加温したら、できるだけ早く吸光度を測定するように心懸けるべき事を示している。また一定時間の加温は、分析の迅速性を考慮して長時間の加温を除けて、30min位が適当と思われる。

2-5硫酸濃度の影響

リンとして1 ppmをとり、硫酸の最終濃度が図5の各濃度になるよう加え、モリブデン酸アンモン、フェニドンを各5 ml加えてよく振り、全量を100mlとして30°Cで30min間発色させて、測定した。



硫酸の最終濃度が終0.1Nの場合には最大の発色を示すが、実験の操作にあたって酸濃度が若干ずれた場合には吸光度値が甚だ大きく変動するため、調整が難しく実用されない。しかし0.3~1.0Nまでなら吸光度は低く得

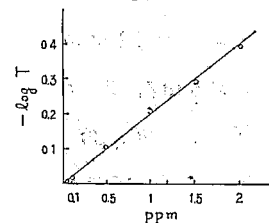
られるけれども、値が比較的一定しているのです、この範囲内に入るならそれ程厳密に酸濃度を規制しなくても支障はない。

2-6定量法(案)

以上の結果をまとめてその最適条件より、フェニドンを還元剤としてのヘテロポリブルーによるリンまたはリン酸の光度定量法を案出して見た。

まず試料のリンを0.1~2 ppmの間に入るよう採取し、硫酸々性の最終濃度が0.4~0.5 N, モリブデン酸アンモニウムの最終濃度が0.2~0.3% (実験操作の手数を省くために、硫酸として10N, モリブデン酸アンモンとして5%の混合液をつくり、その5 mlを全量が100 mlにする割合で使用すれば、上記の各濃度になる)になるように試薬を加えてよく振り、更に3%酸性亜硫酸ナトリウムにとかしたフェニドンの最終濃度が0.02~0.03%になるよう加えて再びよく振り、30°Cで30min間加温して発色したリンモリブデン酸アンモンの青色を1 cmセルを用いて、830m μ 附近のフィルターで測定する。リン0.05~2 ppmの範囲においてにおいて検量線は、図6の如くLambert-Beerの法則に従う(著者の手持フィルターは880m μ しかないののでそれを用いた)。

図6 検量線



結 語

元来ヘテロポリブルーによるリンおよびリン酸の定量は生化学分野において検討され、いずれもその再現性の良好でない点が欠点とされている。特に有名な方法として知れているアミノナフトールスルホン酸を始めとして、ハイドロキノ、アミドール、エロンなどの有機還元剤は、非常に酸化され易くて長期の保存ができないのに比べて、フェニドんに亜硫酸塩などの酸化防止の保恒剤を加えておけば、4週間を経ても酸化による褐変を起さず、還元能力が充分に維持されている事が解った。また塩化第一スズを始めとして、前記の還元剤による青色の発色は急速で、しかも感度が良いため規制した時間がとりにくく再現性を悪くしている一因とも考えられるが、それに反してフェニドンによる発色は緩慢であるためかような心配は起らない。以上述べた事から分析の迅速性という点を論外すれば、立派に実用に供し得る長所をもっている事が見出された。

なお水、土壌、金属、植物、食品、血清、尿中のリンの定量に役立つものと考えている。しかし実験上フィルターなどの不備な点および溶媒抽出による妨害物質の検討更にケイ酸、ゲルマニウム、ヒ酸などへの同様な利用については、次の機会に発表する予定としたい。

文 献

- 1) 日本化学会編;実験化学講座15下, 372 (1958) 丸善

2), 3) D. F. Boltz ; Colorimetric Determination of Nonmetals. 32 (1958) Interscience Pub.Inc.

4) 吉川春寿, 高橋泰常: 磷酸代謝実験法 1~20 (1958) 広川書店