

各種無機リン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光度定量(第1報) : ピロリン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光度定量

その他(別言語等)のタイトル	Spectrophotometric Determination of Orthophosphate in the Inorganic Phosphate Mixture (Part 1) : The Improvement of Ging's Method for Spectrophotometric Determination of Orthophosphate in the Presence of Pyrophosphate
著者	上野 幸三, 石丸 幸造
雑誌名	室蘭工業大学研究報告
巻	4
号	3
ページ	837-844
発行年	1964-06-30
URL	http://hdl.handle.net/10258/3218

各種無機リン酸塩共存下における 正リン酸塩の吸光光度定量 (第1報)

ピロリン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光光度定量

上野幸三・石丸幸造

Spectrophotometric Determination of Orthophosphate in
the Inorganic Phosphate Mixture (Part I)

The Improvement of Ging's Method for Spectrophotometric
Determination of Orthophosphate in the
Presence of Pyrophosphate.

Kozo Ueno and Kozo Ishimaru

Abstract

The present writers made critical examination of the method of N. S. Ging [Anal. Chem., 28, 1330 (1956)] in an attempt to determine the orthophosphate in the presence of pyrophosphate spectrophotometrically, and succeeded in their attempt by modifying the Ging's method.

As a result, they found that one could save 9-15 minutes out of the time required prior to the measurement of absorbance, by shortening the requisite period for standing after respective additions of reagents and solvents, and that the separation of the aqueous phase (molybdenum blue) from the solvent phase with separatory funnel was easily carried out by shaking the solution with chloroform after formation of molybdenum blue. And they also found that the present method made it possible to prevent the hydration of pyrophosphate.

I. 緒 言

各種無機リン酸塩共存下で正リン酸塩を定量する方法には、容量法によるものとしては Jones¹⁾, 青山²⁾, 加藤ら^{3),4)}, D. Haywood⁵⁾ および A. B. Gerber & F. T. Miles⁶⁾ の報告があり、重量法によるものとしては高島⁷⁾ の報告があるが、これらの方法は定量するのに時間がかかったり、操作が複雑であったりすることが欠点である。時間を余り要せず、また操作が比較的簡単な方法としては吸光光度法によるものがある。この方法によるものとしては Krishna Kumar Tewari & P. S. Krishnan⁸⁾, J. B. Martin & M. A. DeSesa⁹⁾, C. H. Lueck & D. F. Boltz¹⁰⁾, J. B. Martin & D. M. Doty¹¹⁾ および N. S. Ging¹²⁾ の報告がある。

正リン酸塩の吸光光度法による定量には、リンバナドモリブデン酸塩による方法、リンモリブデン酸塩による方法、および生成したリンモリブデン酸塩を還元して青色の錯体(モリブ

デンプルー)による方法が一般によく用いられているが、各種無機リン酸塩が共存する場合の正リン酸塩の定量をモリブデンブルー法によって行なう場合には、一般によく用いられている操作をそのまま用いることができない場合が多い。すなわち、この方法ではまずリンモリブデン酸アンモニウムを生成させ、これを適当な還元剤で還元して発色する青色を利用するのであるが、リンモリブデン酸アンモニウムを生成させるために、多くの場合試料を強酸性にして^{13),14)}加温する操作を伴う。したがって、正リン酸塩以外のリン酸塩は、この操作中にすべて多少加水分解されて正リン酸塩に変る恐れがあり、正リン酸塩のみを正確に定量することが困難になる。これを防ぐためには、できるだけ酸濃度を低くし加温をさけることが必要である。また試料中に最初から存在している正リン酸塩によるモリブデンブルーのみを適当な有機溶媒で抽出するというのも、他のリン酸塩の加水分解の影響を取り除くのに役立つわけである。したがって溶媒の選択ということもゆるがせにできない問題である。またモリブデンブルー法においては過剰に存在するモリブデン酸塩の影響、すなわち、不安定なリン酸塩がモリブデン酸アンモニウムの触媒的作用によって変化するのを防ぐことや、過剰の還元剤の除去および還元によって生ずる発色を防ぐことなどが重要な問題である。その他妨害イオンの問題、発色するまでに要する時間、発色後の安定性、還元剤の選択など、正リン酸塩単独の場合の吸光光度法における問題が、操作上の重要な問題点であることはいうまでもない。また精度が高く、ベールの法則が適用されねばならないことは、当然のことである。

著者らは各種無機リン酸塩共存下における正リン酸塩の定量を、モリブデンブルーによる吸光光度法で試みようとしてきたが、上述のような理由でなかなか適当な方法が見出されず、正リン酸塩以外のリン酸塩の加水分解による影響などをさける適当な方法の検討に苦労してきた。たまたま N. S. Ging¹²⁾の報告を知り、この方法が著者らの目的に使用可能と思われたのでこの方法の検討を行ない、その操作の一部を変更して、ピロリン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光光度定量を行ない、満足すべき結果をえたので報告する。

II. 試料、試薬および装置

1. 試料

正リン酸ナトリウム： 関東化学の特級のリン酸二水素ナトリウム (NaH_2PO_4) 水溶液にエチルアルコールを加えて2回再結晶し、 100°C で2時間脱水乾燥したのち、デシケーター中で放冷し、この計算量をはかりとり、発色後 1 ml 中にリンとして $1\sim 4\text{ r}$ 含有するように調製した。

ピロリン酸ナトリウム： 関東化学の特級のリン酸二水素ナトリウムを精製し、白金るつぼ中で2時間 900°C に加熱して無水のピロリン酸四ナトリウム ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) とし¹⁵⁾、この水溶液を氷で冷却しながらエチルアルコールを加えて2回再結晶したものを使用し、発色後 25 ml 中

に P_2O_5 として 10~1,200 γ 含むように調製した。

2. 試 薬

亜硫酸ナトリウム—亜硫酸水素ナトリウム混合溶液: 20% 亜硫酸ナトリウム (特級品) 5 ml と 15% 亜硫酸水素ナトリウム (特級品) 95 ml を混合した。

 hidroキノン: 2% 溶液 (一級品)

 硫 酸: 0.2 規定溶液 (特級品)

 n-ブタノール: (一級品)

 クロロホルム: (一級品)

3. 装 置

日立 EPU-2 A 型の分光光電光度計を使用し, 1.0 cm のガラス吸収セルを用いた。

III. 定 量 操 作

10 ml の蒸留水を 50 ml の分液ロートに取り, 試料溶液を加え, それに 0.2 規定硫酸 5 ml と 5% モリブデン酸アンモニウム 2 ml を加えて 30 秒間激しく振り, 1 分間室温で静置し, これに 10 ml の n-ブタノールを加え, 1 分間振って黄色のリンモリブデン酸アンモニウムを抽出し, これをさらに 1 分間静置させると水相とブタノール相とが二層に分離する。水相を流出させ, ブタノール相に 15 ml の蒸留水を加えてふたたび激しく振り, さらに 2 分間静置したのち, 2% ハイドロキノン 1 ml を加えて激しく振り, さらに 2 分間静置し, それに亜硫酸ナトリウム—亜硫酸水素ナトリウム混合溶液を 1 ml 加え, 激しく振って 2 分間静置すると, モリブデンプルーが水相に逆抽出される。これにクロロホルム 10 ml を加えて振り 1 分間静置したのち, 有機溶媒相を流出させ, 残った水相に蒸留水を加えて全体を 25 ml とし, 水を対照液として波長 720 m μ で測定した。

IV. 実験および考察

1. 溶媒の選択

リンモリブデン酸アンモニウムを抽出する溶媒については, Mellon¹⁶⁾ および Paul¹⁷⁾ によってよく研究されているが, 著者らは, n-ブタノール, iso-ブタノール, n-ブタノールと iso-ブタノールの混合溶媒, n-ブタノールとクロロホルムの混合溶媒, iso-ブタノールとクロロホルムの混合溶媒の五つの溶媒について検討した。その一例を表 1 に示す。

表 1 各種溶媒の比較

溶 媒	抽 出 力	吸光度	二層分離の様子
n-ブタノール	有	0.310	良
iso-ブタノール	有	0.309	良
n-ブタノール -iso-ブタノール (1:1)	有	0.294	良
iso-ブタノール -クロロホルム (1:1)	有	—	不良
n-ブタノール -クロロホルム (1:1)	有	—	不良

表1は正リン酸ナトリウム溶液(リンとして3 γ /m ℓ)を用い、溶媒10m ℓ 、振りまぜ時間1分間で定量操作の中クロロホルム処理を除いたほかは同様な操作で行なった結果を示した。表1から明らかなようにリンモリブデン酸アンモニウムの抽出能力はn-ブタノールとiso-ブタノールのとは同じであり、それについてはn-ブタノールとiso-ブタノールの混合溶媒であった。iso-ブタノール-クロロホルムおよびn-ブタノール-クロロホルムの混合溶媒では、溶媒層が下層になる*ので実験操作上はつごうがよいが、分離が悪く振り方によっては分離不能となることがあり、吸光度は測定できなかつたが抽出能力は持っていた。

n-ブタノールとiso-ブタノールでは抽出能力が同じであつたので、n-ブタノールを溶媒に用いることにした。なお本実験では、黄色のリンモリブデン酸アンモニウムの抽出にn-ブタノール10m ℓ を1回しか使用しなかつたが、予備実験の結果これで抽出が完全に行なわれていることを確かめた。

2. 吸収曲線

正リン酸ナトリウム(2 γ /m ℓ)を用い、定量操作によって求められた波長と吸光度との関係を図1に示す。吸収の最大は波長720m μ の所である。

3. 発色後の安定性

水相に逆抽出されたモリブデンブルーの室温における安定性について検討した結果は、図2に示した通りである。正リン酸ナトリウム水溶液(リンとして1m ℓ 中に2 γ および4 γ)について、発色後吸光度測定までの放置時間を2, 6, 10, 30 および 60分とした結果を図2に示した。図から明らかなように発色後60分まではほとんど変化がみられなかつた。

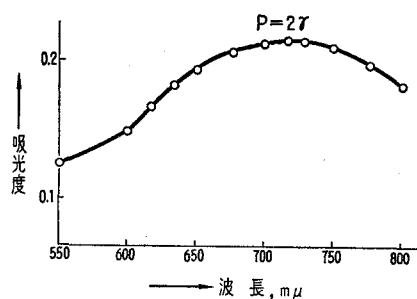


図1 吸収曲線

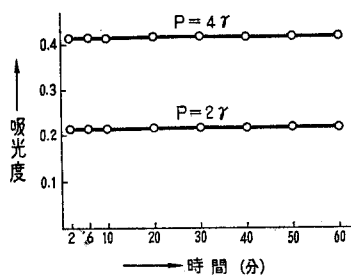


図2 発色の安定性

4. 反応および静置時間

N. S. Ging¹²⁾ はリンモリブデン酸アンモニウムを抽出したのち、抽出されたブタノール相に蒸留水15m ℓ を加えて5~10分、ハイドロキノンを加えて5~6分、さらに亜硫酸ナトリウム-亜硫酸水素ナトリウム混合溶液を加えて5~6分、すなわち合計15~22分の反応および静

* n-および iso-ブタノール使用の際は溶媒層が上層になる。

置時間をみているが、これらの時間を短縮できればさらに操作が迅速になるので、その目的でそれぞれを2分間ずつにして正リン酸ナトリウム水溶液(リンとして1ml中に1~4γ)および蒸留水について、吸光度の測定結果を比較したのが表2である。

表2によってGingの方法と同じ結果であることがわかり、したがって全体で9~15分間短縮したが、吸光度には影響がなかった。

5. クロロホルムの使用

発色後の水相とブタノール相との分離を完全にするため、および水相とブタノール相とを逆にして分液ロートからブタノール相の流出を容易にするために、クロロホルム10mlを加えて振ることにより、その目的が達成された。さらにこのことにより色調も明確となった。

6. 検量線

上記1~5の実験結果に基づいて決定された定量操作によって、正リン酸ナトリウム溶液を用

いて1ml中にリン量0, 1, 2, 3および4γのものを発色させ、波長720mμで吸光度を測定した

表2 Gingの方法との比較

P, γ/ml	著者ら	Ging
0	0.008	0.009
1	0.109	0.110
2	0.211	0.212
3	0.310	0.306
4	0.409	0.408

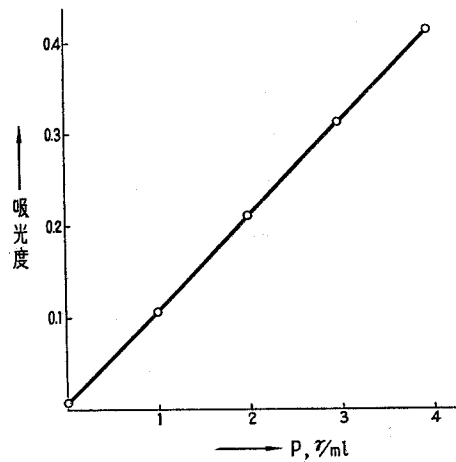


図3 検量線

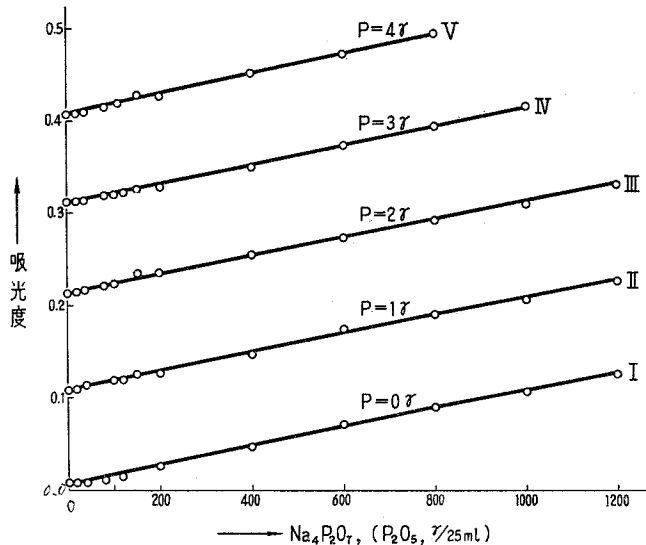


図4 オルトーおよびピロリン酸ナトリウム混合溶液の吸光度

検量線が図3である。すなわち、濃度と吸光度とが直線となり、ベールの法則が成立していることがわかる。

7. ピロリン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光度測定

ピロリン酸塩共存下における正リン酸塩の吸光度を測定するため、次の三つの場合について実験を行なった。すなわち、i) 正リン酸塩単独の場合、ii) ピロリン酸塩単独の場合、iii) 正リン酸塩とピロリン酸塩共存の場合について吸光度の測定を行なった。その結果が表3であり、それを図示したのが図3および4である。

i) の場合は正リン酸塩としてリン酸二水素ナトリウム (NaH_2PO_4) を使用し、発色後 1 ml 中 0, 1, 2, 3 および 4 μ をそれぞれ含有するものを、定量操作によって測定した。その結果が表3の一番上の横の欄の吸光度であり、これを図示したのが図3の検量線である。ii) の場合はピロリン酸塩としてピロリン酸ナトリウム ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) を使用し、測定をつどこれをはかりとり、発色後 25 ml 中に P_2O_5 として 0~1,200 μ になるように調製し、定量操作によって測定した。その結果が表3の左から2列目に示した吸光度であり、それを図示したのが図4の直線 I である。ピロリン酸塩はモリブデンブルーを生じないはずであるから、この発色はピロリン酸

表3 オルトーおよびピロリン酸ナトリウム混合溶液の吸光度

b	a				
	0	1	2	3	4
0	0.008	0.109	0.211	0.310	0.409
10	0.008	0.110	0.210	0.306	0.408
20	0.009	0.116	0.215	0.314	0.408
30	—	—	0.213	—	—
40	0.010	0.115	0.215	0.316	0.408
60	0.012	0.116	—	0.315	0.408
80	0.015	0.116	0.216	0.316	0.412
100	—	0.116	0.215	0.318	—
120	0.016	0.118	0.218	0.318	0.412
140	0.018	0.122	0.224	0.322	0.426
160	0.020	0.124	0.232	0.324	0.426
200	0.027	0.127	0.232	0.329	0.428
400	0.046	0.146	0.255	0.350	0.448
600	0.073	0.174	0.271	0.373	0.470
800	0.086	0.183	0.285	0.394	0.494
1000	0.105	0.205	0.308	0.416	—
1200	0.122	0.226	0.328	—	—

表4 オルトーピロリン酸ナトリウム混合溶液の補正した吸光度

b	a			
	1	2	3	4
0	0.109	0.211	0.310	0.409
10	0.110	0.210	0.306	0.408
20	0.115	0.214	0.313	0.407
30	—	—	—	—
40	0.113	0.213	0.314	0.406
60	0.112	—	0.311	0.404
80	0.109	0.209	0.309	0.405
100	—	—	—	—
120	0.110	0.210	0.310	0.404
140	0.112	0.214	0.312	0.416
160	0.112	0.220	0.312	0.414
200	0.108	0.213	0.310	0.409
400	0.108	0.217	0.312	0.410
600	0.109	0.206	0.308	0.405
800	0.105	0.207	0.316	0.416
1000	0.108	0.211	0.309	—
1200	0.112	0.214	—	—

a) NaH_2PO_4 溶液中の P の量を P μ /ml で示したもの

b) $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 溶液中の P の量を P_2O_5 μ /25 ml で示したもの

ナトリウム中に混在する正リン酸ナトリウムによるものであると考えられる。このことは著者の一人¹⁸⁾が行なったペーパークロマトグラフィーの結果によっても明らかである。ピロリン酸塩の濃度と吸光度とが直線関係を示していることは、本操作によってピロリン酸ナトリウムは加水分解を受けないことを意味している。iii) の場合は測定のため、正リン酸ナトリウムはリンとして1~4 r/ml, ピロリン酸ナトリウムは P_2O_5 として10~1,200 r/25ml になるようにはかりとって両者をまぜ、定量操作に従って測定した吸光度が表3の左から3~5列目に示されており、それを図示したのが図4の直線II~Vである。

図3および4から明らかなように、いずれの場合も濃度と吸光度との関係が直線となっており、ベールの法則が成り立っていることがわかる。このことはまた前にも述べたように、著者らの実験操作でピロリン酸ナトリウムの加水分解が抑制されていることを示すものである。

図4の直線および表3から、ピロリン酸ナトリウム共存下における正リン酸ナトリウムの定量を行なうには、両者が共存する場合の吸光度からピロリン酸ナトリウム単独の場合の吸光度を差し引けばよいわけである。このことに基づいたピロリン酸ナトリウム共存下における正リン酸ナトリウムの吸光度が表4である。

本実験における吸光光度測定の精度は $\pm 5\%$ 以内であり、著者らが目的としていた、ピロリン酸塩の加水分解を抑制し正リン酸塩の吸光光度定量を行なうことができた。発色後の呈色も1時間以内はほとんど安定で、実験操作においても、試薬または溶媒添加後の静置時間をそれぞれ3~4分ずつ短縮してもGing¹²⁾の方法と比較してほとんど差がなかった。またクロロホルムを使用することによって、有機溶媒相と水相との分離をよくし、色調も明確にすることができた。

なおピロリン酸塩は、酸性溶液でなければほとんど加水分解されないといわれているが、著者らの実験では室温でもピロリン酸ナトリウムは水溶液中で徐々に加水分解をうけていた。その一例を吸光度によって表5に示す。

表5の第2および3行目に示した吸光度は室温に放置した場合のもので、第4行目の吸光度は冷暗所(冷蔵庫内)に放置した場合のものである。したがって、室温に放置すれば1日でもかなり加水分解をうけるが、冷暗所におけば、1日ではほとんど変化が認められないが、長期間の貯蔵はさけるべきである。すなわち、ピロリン酸ナトリウム水溶液は測定のため調製す

表5 ピロリン酸ナトリウムの加水分解

直 後	1 日	2 日	3 日	備 考
0.122	0.134	0.140	0.155	$Na_4P_2O_7$ (P_2O_5 1200 r/25 ml)
0.416	0.428	0.434	0.466	NaH_2PO_4 (P 3 r/ml) + $Na_4P_2O_7$ (P_2O_5 1000 r/25 ml)
0.322	0.325	0.330	—	NaH_2PO_4 (P 3 r/ml) + $Na_4P_2O_7$ (P_2O_5 140 r/25 ml)

ることが必要であった。

本実験の際の妨害イオンの問題については、N. S. Ging¹²⁾の報告に詳細に述べているので本報告ではふれないことにした。

なお本実験で使用した蒸留水は、すべてイオン交換樹脂による脱イオン水をさらに蒸留したものである。

今後検討すべき問題としては、溶媒および還元剤の選択、モリブデン酸アンモニウムの影響などがあげられるが、これらについてはさらに研究を重ねていくつもりである。

V. 結 び

ピロリン酸ナトリウム共存下の正リン酸ナトリウムの吸光光度定量を行なうためにGingの方法について検討し、その操作の一部を改めて時間の短縮をはかるとともに、クロロホルムの使用によって水相の分離を容易にした。

すなわち、試薬および溶媒添加後の静置時間をそれぞれ2分間ずつとして、吸光度を定量するまでに要する時間を9~15分間短縮し、またモリブデンブルー発色後クロロホルムを加えて振ることにより水相と溶媒相との分離を容易にした。なお本操作でピロリン酸塩の加水分解を抑制することが、可能であった。

(昭和39年1月、日本分析化学会北海道支部研究発表会講演)

文 献

- 1) Jones, L. T.: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **14**, 536 (1942).
- 2) 青山新次郎: *薬学*, **4**, 553 (1925).
- 3) 加藤多喜雄・萩原善次・篠原亮二郎・塚田尙吾: *分析化学*, **4**, 84 (1954).
- 4) 坂野 昭・沢谷次男・加藤多喜雄: *分析化学*, **10**, 784 (1961).
- 5) Haywood, D.: *Ind. Chem.*, **30**, 356 (1954). [Wilson, C. L. & Wilson, D. W.: *Comprehensive Analytical Chemistry*, Vol. I.C. Elsevier (1962)].
- 6) Gerber, A. B. & Miles, F. T.: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **10**, 519 (1938).
- 7) 高島良正: *九大理紀*, **2**, 161 (1957).
- 8) Krishna Kumar Tewari & Krishnan, P. S.: *Anal. Chim. Acta*, **22**, 111 (1960).
- 9) Martin, J. B. & DeSesa, M. A.: *Anal. Chem.*, **27**, 1626 (1955).
- 10) Lueck, C. H. & Boltz, D. F.: *Anal. Chem.*, **30**, 183 (1958).
- 11) Martin, J. B. & Doty, D. M.: *Anal. Chem.*, **21**, 965 (1949).
- 12) Ging, N. S.: *Anal. Chem.*, **28**, 1330 (1956).
- 13) 河村文一・並木 博: *分析化学*, **7**, 238 (1958).
- 14) Levne, H., Rowe, J. J. & Grimald, F. S.: *Anal. Chem.*, **27**, 258 (1955).
- 15) 日本化学会編 “実験化学講座”, **9**, 無機化合物合成と精製, p. 74 (1958), 丸善.
- 16) Mellon, M. G. & Wadelin, M. G.: *Anal. Chem.*, **25**, 1668 (1953).
- 17) Paul, J. & Pover, W. F. R.: *Anal. Chim. Acta.*, **22**, 185 (1960).
- 18) 上野幸三: *室工大報法*, **3**, 183 (1960).