

琉球大学学術リポジトリ

ロイコマラカイトグリーン試薬による海水浮遊物中のマンガンの定量法

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: 出版者: 琉球大学工学部 公開日: 2012-02-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 兼島, 清, 当真, 当美, 与那原, 岑子 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12000/23409 |

ロイコマラカイトグリーン試薬による海水浮
遊物中のマンガンの定量法

兼 島 清* 当真当美** 与那原 峯子***

Absorptiometric determination of the trace of Manganese in the
floating particles in the sea with Leuco-malachite green

Kiyoshi KANESHIMA, Tomi TōMA & Mineko YONAHARA

abstract

An absorptiometric method for the determination of the trace of manganese in the floating particles in the sea with leuco-malachite green was studied. The effect of pH, the amount of potassium periodate and leuco-malachite green, the standing period after the color development, temperature and effects of 15 foreign ions were examined.

The recommended procedure was as follows: A floating particle sample which was collected from the sea water with millipore filter was dissolved in concentrated sulfuric acid and was evaporated to dryness on a hot plate by the addition of 30% hydrogen peroxide. The residue was dissolved in water, and silica was removed by filtration. The solution is diluted to 50 ml with water, and 5 ml of acetic acid and sodium acetate buffer solution (pH 4.1), 2 ml of 10% solution of hydroxylamine hydro-chloride, and 1 ml of 0.1% solution of bathophenanthroline in

† 受付 1969年10月31日

* 琉球大学理工学部化学科

** 前原高等学校

*** 八重山高等学校

ethylalcohol were added to it.

Fe (I) - B.P.T. complex was extracted into 10 ml of iso-amyl-alcohol, and 2 ml of concentrated sulfuric acid was added to iron free aqueous solution. After evaporation of extracted solution the residue was diluted with water, and 0.001 μ g-at. of manganese standard, 20 ml of acetic acid and sodium acetate buffer solution (pH 4.1) and 5 ml of 0.2% potassium periodate solution were added to it and allowed it to stand for 15 minutes.

After addition of 2 ml of 0.04% leuco-malachite green acetone solution and dilution to 100 ml with water, the absorbance at 610m μ was measured against the reagent blank.

1. 緒 言

L. M. G 試薬 (leuco-malachite green) によるマンガンの定量法については多くの研究があり^(2,3,4), 最近では Yuen (1958)⁽⁷⁾ や Fernandezら⁽¹⁾ (1963) や Strickland (1965)⁽⁵⁾ により検討され植物灰分や血清や海水への応用などの報告がある。L. M. G 試薬による方法は Mn の触媒で L. M. G を過ヨウ素酸カリウムで酸化発色せしめる法で、接触作用を利用するため、非常に感度が優れていることが特長であるが、妨害イオンの除去や定量条件の厳密な設定など、色々と困難を伴う欠点がある。今回は海水中の浮遊物を millipore filter で濾過して得た試料についてマンガンを定量するためこの方法の適用を考え、Yuen や Strickland らの提唱している方法を用いたが、色々と障害が多く困難であったため、pH の影響、KIO₄ や L. M. G の添加量、温度の影響 および妨害イオンの影響について検討し、Strickland⁽⁵⁾ らの方法を改良し、海水浮遊物中の微量のマンガンの定量に適合する定量法を確立したので、その結果と方法について報告する。

2. 実 験

2.1 試薬および装置

マンガン標準溶液：特級硫酸マンガン を Mn として 1.545 μ g-atom/ml となるように溶かしてストック溶液とし、これを 1000 倍に希釈して Mn 0.0015 μ g-at/ml 溶液として使用した。

過ヨウ素酸カリウム溶液：特級過ヨウ素酸カリウム 1.0 gr / 500 ml になるように水溶液をつくり、これに 0.2 gr の苛性ソーダを加える。この溶液はきわめて不安定なため使用前に調製する。

L. M. G 試薬溶液：東京化成工業社製特級ロイコマラカイトグリーン試薬 0.1 g を 250 ml の特級アセトンに溶かす。

緩衝溶液：30 ml の特級氷酢酸を水 1 l に加え、3 ~ 4 g の特級苛性ソーダを 20 ml の水にとかした溶液を徐々に攪拌しながら加えて pH を 4.1 になるように pH メーターで測定しながら調製する。

吸光度測定には平間理化研究所製ⅡB Type光電光度計を用いて測定し、pHの測定は日立一堀場M5形pHメーターを使用した。

2.2 マンガンイオン定量の標準操作

100mlのメスフラスコに Mn^{2+} イオンが0.0015 $\mu g-at/ml$ 含まれる溶液1～8 ml 含まれるように試料をとり、緩衝溶液20mlと過ヨウ素酸カリウム溶液5 mlを加えてふりませ、10～15分間静置し（25°C恒温槽中で）、その後2 mlのL. M. G試薬を加えて発色せしめ全量を脱イオン水を加えて100mlとし、25°C恒温槽に1時間保った後610m μ のフィルターを用い1cmのセルで吸光度の測定を行う。

3. 結果と考察

3.1 吸収スペクトル

Fig. 1にマンガンイオンと過ヨウ素酸カリウムの酸化によって発色したロイコマラカイトグリーンの種々の波長における吸収スペクトルを示す、吸収の極大は620m μ にあり、480 m μ に極小がある。

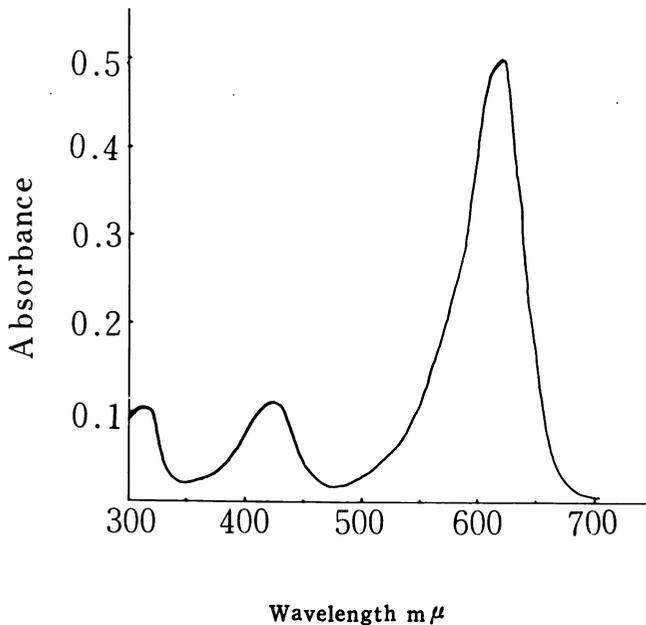
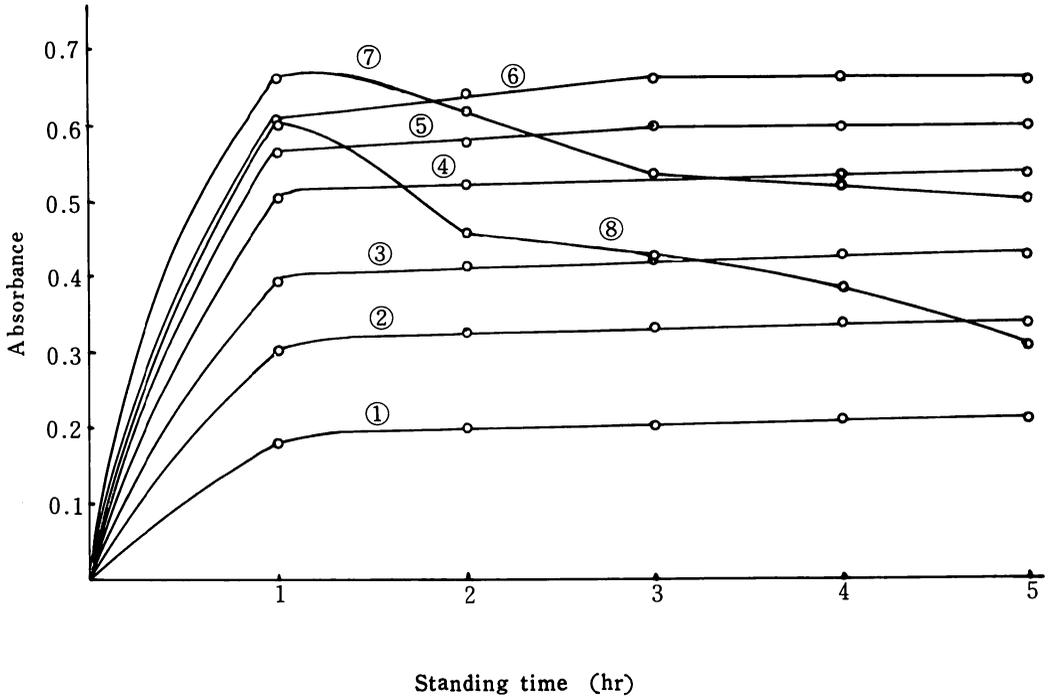


Fig.1 Absorption spectra of Malachite green

3.2 発色時間の影響

Strickland (1965)⁽⁵⁾らの提唱した方法に従って緩衝溶液 (pH4.1) 15ml, 0.2%過ヨウ

素酸カリウム溶液 5 ml を加え、10~15 分後、L. M. G 試薬 1 ml を加え全液を脱イオン水を加えて 50 ml としたときの吸光度の時間による影響を Fig. 2 に示す。

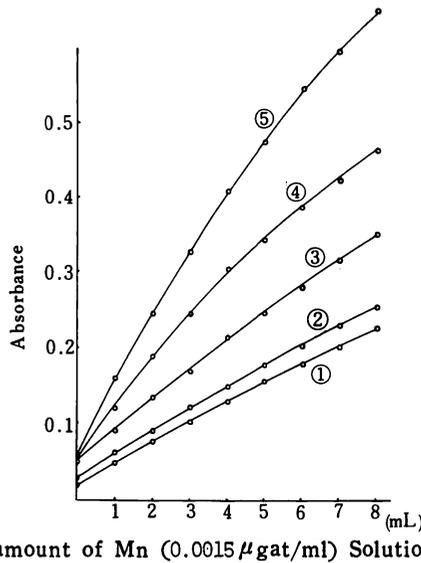


① No Mn ② 0.0015 μg-at Mn ③ 0.003 μg-at Mn ④ 0.0045 μg-at Mn
 ⑤ 0.006 μg-at Mn ⑥ 0.0075 μg-at Mn ⑦ 0.0090 μg-at Mn ⑧ 0.010 μg-at Mn
 Fig. 2 Effect of time

Fig. 2 に見るように、発色時間は Mn の量が 0.009 μg-at 以下に於ては 1 時間内に安定した吸光度に達し、其の後 5 時間内は徐々に小さな吸光度の増加はあっても安定しているが、Mn が 0.009 μg-at 以上の濃度になると 1 時間後吸光度の減少が大きくなり退色する。このことから吸光度の測定は試薬添加発色 1 時間後が適当である。

3.3 pH の影響

Mn を触媒として KIO₄ で L. M. G を酸化発色せしめるには pH 3~4 の狭い範囲内にあることが報告されている。⁽⁷⁾ Mn を 0.0~0.012 μg-at 含む溶液に酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液 20 ml, 0.2% KIO₄ 5 ml, L. M. G 溶液 2 ml を加え、各々の pH の影響を検討した結果を Fig. 3 に示す。



① PH3.3 ② PH3.5 ③ PH3.7 ④ PH3.9 ⑤PH4.1

Fig. 3 Effect of pH

Fig. 3 に見るように pH3.3とpH3.5 では吸光度は近い値を示し、かなり感度も鈍く発色速度も遅くなるが、Mnの濃度と吸光度の間は直線的である。これに反しPHが4.1と増加すると感度も鋭く発色時間も速くなるが、検量線はMnの濃度が増すと比例性がなくなり幾分かBeerの法則からずれてくる傾向がある。そして pH4.25 以上になるとL. M. G が折出して溶液は白濁して来て測定に支障をきたすので、pH4.1を緩衝溶液のpH値とした。そして緩衝溶液の添加量はpH4.1を保つため20mlが適当である。

3.4 過ヨウ素酸カリウムの添加量

KIO₄ の添加量がL. M. G の発色に与える影響について検討した結果を Tab.1 に示す。KIO₄ 溶液は0.2%としてこれに苛性ソーダを加えてアルカリ性として用いるため、非常に不安定で、調製して暗所に保存しても効力は短かく調製後2～3週間経つと、Mnの量に関係せずL. M. G の発色は青色を呈せず緑色となり急激に退色をおこす。そのため本実験では調製後24時間以内に本試薬を使用するようにした。

Table 1. Effect of various amounts of 0.2% potassium periodate solution

| Amount of Mn (0.0015 μg-at/ml) solution added ml | Amount of 0.2% potassium periodate solution added ml | Absorptimeter reading $\log \frac{1}{T}$ | Color |
|--|--|--|-------|
| 7 | 0 | 0.009 | |
| 7 | 3 | 0.692 | blue |
| 7 | 5 | 0.752 | blue |
| 7 | 7 | 0.705 | green |
| 7 | 10 | 0.725 | green |

Amount of total volume : 50ml., 0.04% L.M.G.reagent added 1 ml.

Tab. 1 に示すように酸化剤として使用する過ヨウ素酸カリウムの添加量は 0.2% KIO₄ 溶液 5 ml で充分でありそのとき最大感度を得る。

3.5 L. M. G 試薬の添加量

Mn²⁺ の 0.0015 μg-at/ml を含む溶液 0 ~ 8 ml の各々に緩衝溶液 20 ml と 0.2% KIO₄ 溶液 5 ml を加え発色液量を 50 ml とし, L. M. G 試薬の添加量の変化による影響を調べた結果を Fig. 4 に示す。

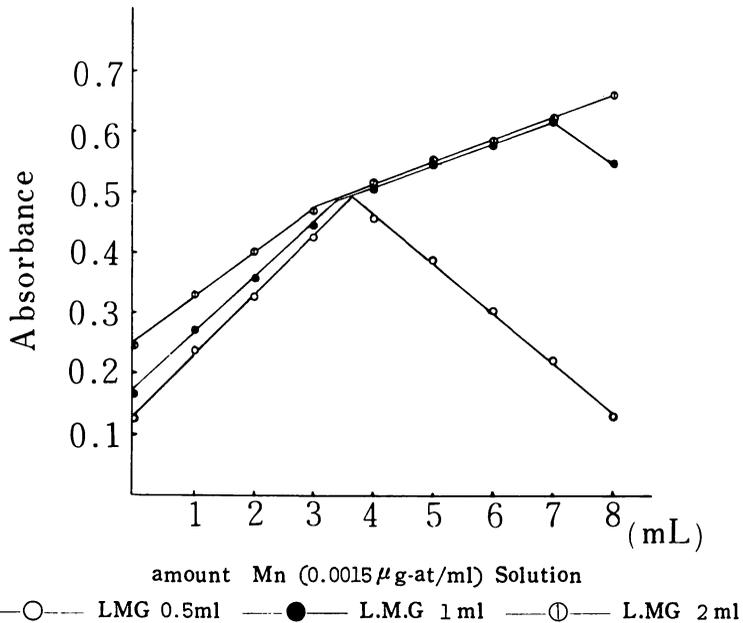


Fig. 4 Effect of L.M.G reagent addition

Fig. 4 に見るように, L. M. G を 0.5 ml 添加したときは Mn の標準液 4 ml 以上になると緑色を呈し退色してくる, そして検量線はへの字型となる, また L. M. G を 1 ml 添加したときは, Mn 液 4 ml 以上で検量線は横になり発色が鈍くなり, 8 ml から退色が始まる. つぎに L. M. G を 2 ml 加えた場合は退色することはないが Mn の量が增加するにつれて検量線はゆるやかに横になりやはり Beer の法則からずれてくる. 全液量を検討の結果, L. M. G の量を決めた。

3.6 発色液量の検討

L. M. G 試薬の添加量の検討の結果から, L. M. G を 2 ml 添加した時, 吸光度増加の割合が Mn の濃度の増加につれて小さくなることは発色物が濃いためであり希釈すれば解決されると考え, 緩衝溶液 20 ml と 0.2% KIO₄ 溶液 5 ml を各種の濃度の Mn 溶液に加え, L. M. G を 1 ml と 2 ml を加えたとき発色液量を 100 ml とした時の実験結果を Fig. 5 に示す。

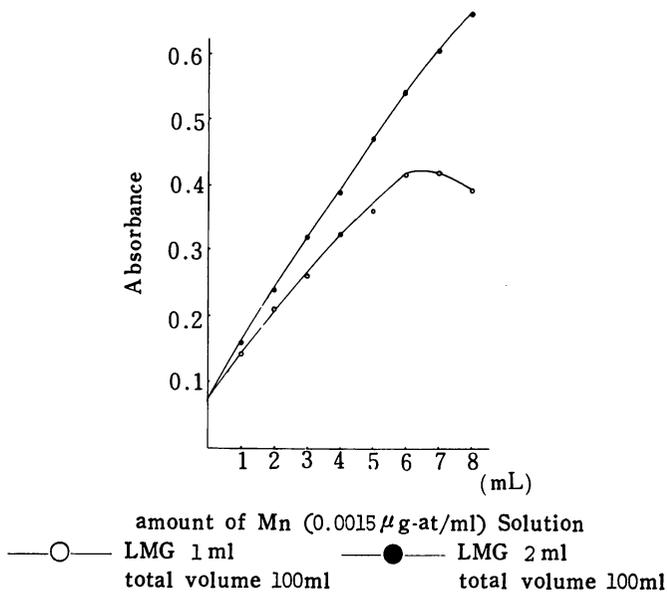


Fig. 5 Effect of L.M.G reagent addition and total volume

Fig. 5 に見るように， L. M. G を 1 ml 添加したときは液量を 50 ml とした時と同様な結果が得られるが， L. M. G を 2 ml 用いたときは高感度の定量的な検量線を得ることが出来る。よって発色液量を 100 ml とし L. M. G 試薬の添加量を 2 ml とする。

3.7 温度の影響

温度の影響については 25°C 以上では Blank 液に影響するとの報告もあり⁽⁷⁾ どのように影響するか明らかにするため 25°C， 35°C および 45°C と 3 段階にわけて検討を行った。その結果を Fig. 6 に示す。

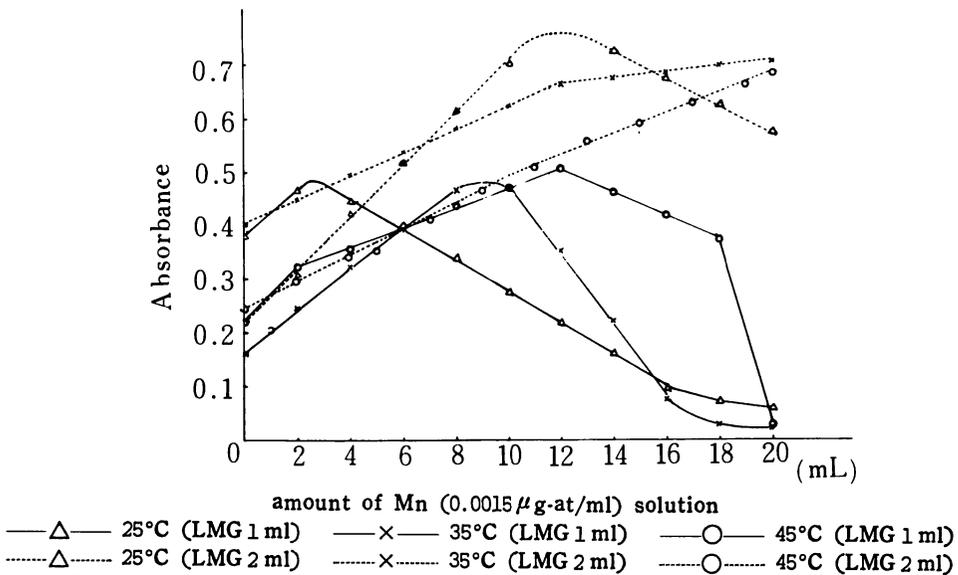


Fig. 6 Effect of temperature

Fig. 6 に見るように、温度が高くなると発色速度が大きくなり、急激に退色する。L. M. G を 2 ml 用いたとき、35°C 又は 45°C にするときには定量範囲が拡大されるが感度が低下する。従って液温は 25°C が適当である。

3.8 共存物質の影響

L. M. G の KIO_4 酸化に於て Mn 以外のイオンがどのように影響するか検討した結果、これまでの報告⁽⁷⁾ と違った結果が得られたので次に示す 15 種のイオンについてその影響の検討結果を Tab. 2 に示す。

Table 2. Effect of Foreign ions

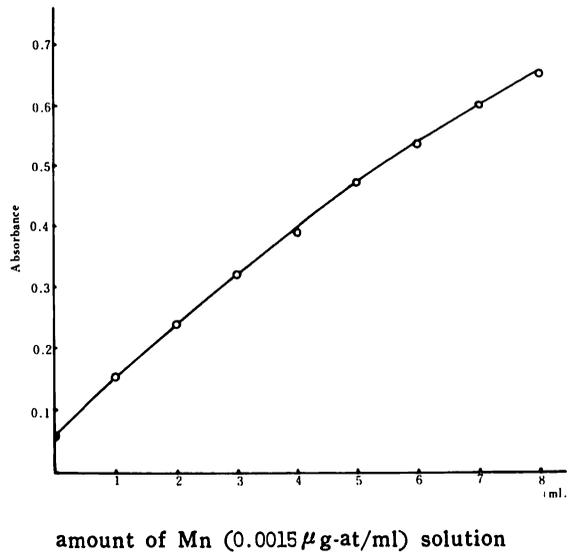
| Ion | Maximum amount that does not cause interference mg | Effect on colour intensity of excess of ion |
|--------------|---|---|
| Cobalt | 0.1 | decrease |
| Ferric iron | 0.001 | decrease |
| Ferrous iron | 0.01 | decrease |
| Lead | 0.1 | decrease |
| Copper | 1.0 | no interference |
| Nickel | 1.0 | no interference |
| Zinc | 1.0 | no interference |
| Chromate | 1.0 | no interference |
| Dichromate | 1.0 | no interference |
| Fluoride | 1.0 | no interference |
| Iodide | 0.003 | increase |
| Nitrite | 0.001 | decrease |
| Oxalate | 0.005 | increase |
| Sulphite | 0.1 | increase |
| Thiosulphate | 0.005 | decrease |

Tab 2 に見るように Fe^{3+} は 0.001 mg の存在で減色を起し、鉄の微量の存在は大きな妨害をする。

そのため Mn の定量の前に Fe^{3+} は Fe^{2+} に還元して抽出除去する必要がある。また Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ および F^- の各イオンは 1.0 mg 存在しても何ら影響をおよぼさない。I⁻ は 0.003 mg で増色、 NO_2^- は 0.001 mg 以上で減色し、そして $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ は 0.005 mg 以上で増色を起して妨害するが、これらのイオンは濃硫酸で硫酸白煙の生ずるまで蒸発して加熱分解すれば除去出来るのでそれらの妨害を除去出来る。

3.9 検 量 線

以上のような実験結果にもとづき、2.2 に述べたような操作で作成した検査線を Fig. 7 に示す。



amount of Mn (0.0015 μ g-at/ml) solution
 PH 4.1, total volume 100ml, LMG 2 ml, wave length 610m μ
 Fig.7 Calibration curve

Fig. 7 に見るように Mn の量が増加するにつれて γ 傾斜がゆるくなる傾向があるがほぼ直線性があり定量は可能である。

3.10 分析方法

海水中に浮遊する固形物を millipore filter HA 0.45 μ で濾過した試料に対しこれまで検討した結果を基にして Mn と Fe の定量法は次の通りである。

試料は濃硫酸 2 ml で炭化し、30% 過酸化水素水 5 ml で灰化し、完全に乾涸せしめ、冷却後蒸留水を加え溶解し、濾過してケイ酸を除去し、濾液に塩酸ヒドロオキシルアミン 10% 溶液 2 ml と酢酸と酢酸ナトリウムの緩衝溶液 (pH 4.1) 5 ml を加え鉄を還元した後、0.1% の Batho-phenanthroline の Ethyl alcohol 溶液 1 ml を加え発色した鉄を 10 ml の iso-Amyl alcohol で抽出除去し、鉄は 532 m μ の波長で吸光度を測定して定量し、分離残液を乾涸し濃硫酸 2 ml を加え加熱して硫酸白煙を生ぜしめ、塩酸ヒドロオキシルアミンを完全に分解し、蒸留水で溶解し、Mn の標準溶液 0.001 μ g-at を加え、酢酸と酢酸ナトリウムの緩衝溶液 20 ml を加えて pH を 4.1 とし、0.2% の KIO₄ 溶液 5 ml を加えて 15 分間静置し、この間 25 °C の恒温槽に保ち、後 0.04% のロイコマラカイトグリーンのアセトン溶液 2 ml を加えて溶液を 100 ml とし、1 時間 25 °C の恒温槽に静置発色せしめて後 610 m μ の波長で吸光度を測定する。

3.11 定量例

以上検討した 3.10 の方法で赤道附近の表面海水中の浮遊物の Mn と Fe を分析した結果を Tab. 3 に示す。

Table 3. Amounts of Manganese and Iron in floating particles in the sea water

| Date | Time | Position | | Air Temp. | Water Temp. | S % | pH | Sample No. | Filt. L | Fe $\mu\text{g-at/l}$ | Mn $\mu\text{g-at/l}$ |
|--------------|------------|-------------|----------|--------------|----------------|--------|------|---------------|------------|--------------------------|--------------------------|
| | | Lat. N | Long. E | | | | | | | | |
| 1966 Dec | 9 09.00 | 1—19.5 N | 120—16.2 | 28.2 | 28.6 | 33.50 | 8.26 | 2 | 9 | 0.056 | 0.0047 |
| 1967 Mar, | 27 08.00 | 4—00.0 S | 74—47.6 | 29.1 | 29.5 | 34.96 | 8.25 | 53 | 9 | 0.011 | 0.0018 |
| " | , 28 08.00 | 0—41.0 | 76—31.0 | 28.4 | 29.1 | 34.77 | 8.26 | 54 | 9 | 0.020 | 0.0032 |
| " | , 29 08.00 | 5—05.8 | 79—02.3 | 27.2 | 28.8 | 34.01 | 8.25 | 55 | 8 | 0.022 | 0.0035 |
| Apr, | 4 08.00 | 5—56.8 | 82—43.2 | 28.9 | 29.2 | 33.54 | 8.26 | 56 | 7 | 0.023 | 0.0044 |
| " | , 5 08.00 | 6—09.5 | 87—34.3 | 28.5 | 29.2 | 33.77 | 8.26 | 57 | 7 | 0.019 | 0.0035 |
| " | , 6 08.00 | 6—14.0 | 92—49.1 | 29.1 | 29.4 | 32.59 | 8.26 | 58 | 6 | 0.021 | 0.0033 |
| " | , 7 08.00 | 5—38.5 | 97—22.1 | 28.2 | 29.4 | 32.04 | 8.25 | 59 | 5 | 0.030 | 0.0041 |
| " | , 8 08.00 | 2—27.4 | 101—34.4 | 24.9 | 28.5 | 30.16 | 8.21 | 60 | 3 | 0.027 | 0.0097 |
| " | , 9 08.00 | 2—04.5 | 105—58.0 | 27.3 | 28.6 | 32.68 | 8.26 | 61 | 6 | 0.054 | 0.0055 |
| " | , 10 08.00 | 3—41.1 | 110—47.4 | 27.4 | 28.6 | 32.68 | 8.25 | 62 | 6 | 0.021 | 0.0043 |
| " | , 11 08.00 | 6—21.8 | 114—57.4 | 27.9 | 28.4 | 34.07 | 8.26 | 63 | 6 | 0.052 | 0.0039 |

4. 結 語

ロイコマラカイトグリーンをMnの触媒を利用して、 KIO_4 で酸化発色せしめることによって極微量のマンガン定量することが出来、この法で海水浮遊物中の微量マンガンの定量が可能である。この方法は一般に用いられる過マンガン酸塩としてMnを発色比色する法⁽⁶⁾ではとうてい不可能な極微量のマンガンの定量が可能になり、非常に感度の高いことが特徴であるが、これまで報告された方法では色々と困難が多く支障をきたしたので、Stricklandらの方法を改良してL. M. G.の添加量や液量、妨害鉄イオンの除去等検討し、鉄の定量も同時に行える方法を確立した。

(1968年地球化学討論会講演於東京)

文 献

- (1) Fernandez, A.A., Charles Sobel., and Jacobs.S.L., *Anal. Chem.* **35**, 1721, (1963).
- (2) Gates, E.M., and Ellis, G.H., *J. Biol. Chem.* **168**, 537, 1947,
- (3) Harvy, H.W., *J. Mar. Biol. Assoc.* **28**, 155, (1949) .
- (4) Schwartz, G., Fischer, O., and Hagemann, B., *Deutsch. Malkerei-Ztg.*, **64**, 143,(1943).
Chem.abstr., **38**, 4708, (1944) .
- (5) Strickland, J. D.H., et.al., *A manual of sea water analysis.*, p. 107-112 (1965) .
- (6) Thompson, G.T., and Wilson, T.L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **57**, 233, (1935) .
- (7) Yuen, S.H., *Analyst*, **83**, 350, (1958) .