

報 文

微量フロー滴定分析法の開発と酸塩基滴定への応用

小西 明伸¹, 高柳 俊夫^{®1}, 大島 光子¹, 本水 昌二¹

Development of a micro-flow titration method and application to acid-base titration

Hironobu KONISHI¹, Toshio TAKAYANAGI¹, Mitsuko OSHIMA¹ and Shoji MOTOMIZU¹

¹ Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1 Tsushimanaka, Okayama-shi, Okayama 700-8530

(Received 9 May 2003, Accepted 29 September 2003)

A flow titration analysis method based on flow ratiometry was developed in this study from the viewpoint of simplicity, rapidity, automation, and cost efficiency. Sample and titrant solutions react while the solutions are continuously propelled by individual pumps at different flow rates. The flow rates are accurately controlled and changed independently, and the color change of an indicator gives an equivalent point. The concentration of analyte was determined by using the ratio of the flow rate and the equivalent point. The fundamental properties of the flow titration method were evaluated through acid-base titration, and compared with the conventional manual titration. When Phenolphthalein or Cresol Red was used as an indicator added in either the sample solution or the titrant solution, linear calibration graphs were obtained for all titrations examined, including strong and weak acids. The proposed method was applied to the titration of carbonate salt using Bromocresol Green and Phenolphthalein. Two isolated end-points were obtained in one sequential measurement corresponding to carbonate and bicarbonate ions. The proposed titration method was applied to the analysis of commercial vinegar samples. The results agreed well with the ones obtained by the conventional titration method; the relative standard deviations for the end point were within 0.3%. The volume of wastewater per one measurement can be reduced down to about 100 µl by the proposed method, while a practical method requires about 50 ml.

Keywords : flow titration analysis; flow ratiometry; acid-base titration.

1 緒 言

滴定分析法は精度が高く簡便な直接定量法であり, その用途は「衣・食・住」の諸分野で多岐にわたる¹⁾. 例えば, 「衣」では繊維, パルプ工場等の化学工業における品質管理, 工程管理分析, 「食」では食品や医薬品の製品分析, 「住」では水質調査等の環境分析や臨床分析, また更に先端科学分野である原子力発電所におけるホウ素の定量にも用いられている. しかしながら, 通常の滴定分析法は一般に1測定当たり十~数十分間を要する方法である. 最近では自動滴定装置の発展, 普及とともに測定時間の短縮と

省力化が進んではいるものの^{2)~4)}, なお試料の分取作業等の手動操作や非連続な作業があり, 迅速化や自動化が強く望まれている. また, 滴定により排出される廃液量も1測定当たり数十 ml 以上になるため, その廃液処理も重大な問題となっている.

これらの諸問題を解決するために, 操作の迅速化, 簡便化, 省力化という特徴を有する流れ分析を利用する研究がこれまで試みられてきた. フローインジェクション分析法(FIA)が発表された当初は, 滴定剤を含む試薬溶液の消費量が定量尺度として用いられた⁵⁾⁶⁾. この方法ではピーク幅を測定に用いるために, 測定の迅速性, 分析の非連続性で問題解決には至らなかった. これに対して, ピーク高を定量尺度とする FIA-酸塩基滴定法が考案された⁷⁾. こ

¹ 岡山大学理学部化学科: 700-8530 岡山県岡山市津島中 3-1-1

の場合、試薬溶液の流れに注入する試料液中の酸量や塩基量に対して、pHが直線的に変化するように調製した溶液を用いる。この方法により分析処理速度は大幅に向上したが、酸塩基滴定におけるガラス電極の電位変化を検出するものに限られてしまい、適用範囲の拡張に限界があった。各種緩衝液と適切な指示薬を用いるFIA滴定法も報告され、pH緩衝液-酸塩基滴定法、金属イオン緩衝液-キレート滴定法、酸化還元電位緩衝液-酸化還元滴定法等に利用された⁸⁾⁹⁾。この方法では試料導入による緩衝系のゆらぎ-化学平衡のシフトを利用したところに特徴があり、安定したFIAシグナルと精度の高い測定値が得られるようになった。しかしながら、酸塩基滴定においては、弱酸-弱塩基と、強酸-強塩基とで、用いる緩衝液の種類や濃度、また指示薬の種類によりその都度検量線を作成する必要がある。また、混合試料の場合、正確に定量することが困難であるという問題がある。

本研究では、これらの問題点を解決するために、試料液と滴定剤の流量比から滴定の当量点を決定するフロー滴定分析法の開発を目的とし、ポンプ流量の自動制御による測定簡便化、迅速化、自動化、省力化を図った。フロー滴定分析法は、連続して流れる試料液、滴定剤溶液の正確な流量制御を基本原理としている¹⁰⁾¹¹⁾。2台の送液ポンプを用いてそれらの流量を変化させながら試料液（被滴定液）と滴定剤（滴定液）を送液し、流れ内において混合・反応させ、指示薬の変色を用いて試料液中の分析対象物質濃度を流量比から定量する容量分析法である。すなわち、ビュレットを用いる一般的な滴定操作における滴定剤添加を、液体流れの中で自動的かつ連続的に行うことである。流量制御により通常の滴定法と同様に滴定曲線を描くことができ、当量点を決定することができる。

フロー滴定分析法における流量制御には幾つかのモードが利用可能で、必要に応じて自由に選択できる。その第一は、試料液もしくは滴定剤の流量を一定にしておき、他方の流量を直線的に変化させて当量点を求めるシングルリニアグラジエント法である。また、滴定開始当初は流量の変化量を大きくし、当量点付近で流量を緩やかに変化させるシングル変換型グラジエント法があり、より正確に流量比-当量点を求めることが可能である。第二は、二つの流路の総流量を一定にして、試料と滴定剤の流量を同時に変化させるダブルリニアグラジエント法であり、シングルグラジエント法と比較して大幅に滴定時間の短縮が可能である。上記と同様、滴定開始当初は流量の変化量を大きくし、当量点付近で流量を緩やかに変化させるダブル変換型グラジエント法も可能である。ダブル変換型グラジエント法では、検出器におけるpH変化などの液性変化を送液系にフィードバックして流量を制御し、当量点決定のための流量比を迅速に求めるシステムの構築も可能である。

また、試料と滴定剤の混合による液性変化を測定するため、検出器にはガラス電極等を用いる電位差測定法や試薬溶液に添加した指示薬の色調変化を測定する吸光光度法のほか、蛍光光度法、濁度法など、フローセルを備えた検出器であればフロー滴定分析法に利用できるため、極めて広い適用範囲を有する分析法である。本研究では、酸塩基滴定について検討を行った¹²⁾。

2 実 験

2.1 装 置

送液ポンプとしてエフ・アイ・エー機器製のカム変位リアル変換型デュアル並列プランジャーポンプ（PFA-300改造型）とグラジエントユニットを用いた。検出器にはポンプ内蔵型のものを用い、指示薬の極大吸収波長を考慮して、LED光源には525 nmに発光波長を有するものを選択した。送液チューブ及び反応コイルには、内径0.5 mmのPTFEチューブを用いた。高性能ミキシング装置としてジーエルサイエンス製の死容量可変型LC mixer（死容量：2 μ l）を用いた。データの記録及び処理はNEC製のノート型パソコン、エフ・アイ・エー機器製のデータ収集機器（FIA monitor）、日本フィルコン製の自動データ収集・解析ソフトウェア（FT monitor）により行い、終点検出時間、各ポンプの流量及び流量比を求めた。

2.2 試 薬

酸塩基滴定の一次標準物質として、フタル酸水素カリウム（和光純薬製、特級）を蒸留水に溶解して用いた。その他の酸、塩基として、濃塩酸、水酢酸、濃硫酸、リン酸（京都電子工業製、特級）水酸化ナトリウム（関東化学製、特級）、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム（和光純薬製、特級）を蒸留水に溶解、希釈して用いた。なお、これらの溶液は必要に応じて標定した。指示薬としてフェノールフタレイン、クレゾールレッド、プロモクレゾールグリーン（和光純薬製、特級）をエタノールに溶解して用い、滴定に応じて試料液もしくは滴定剤に添加した。なお、滴定剤中の指示薬濃度は、 2.0×10^{-5} Mとした。

2.3 操 作

測定開始前に試料液と滴定剤をそれぞれのポンプにより十分に送液して、送液チューブ、反応コイル及びミキシング装置内を各溶液で満たした後、片方のポンプにより試料液のみを送液して反応コイル及びミキシング装置内を試料液で満たす。一定の総流量下で、あらかじめプログラミングされた流量変化による送液と吸光度測定を開始する。2液の流量比（試料液の流量/滴定剤の流量もしくは滴定剤の流量/試料の流量）を自在に変化させて混合し、このとき生じた液性変化を指示薬の吸光度変化として当量点を求め

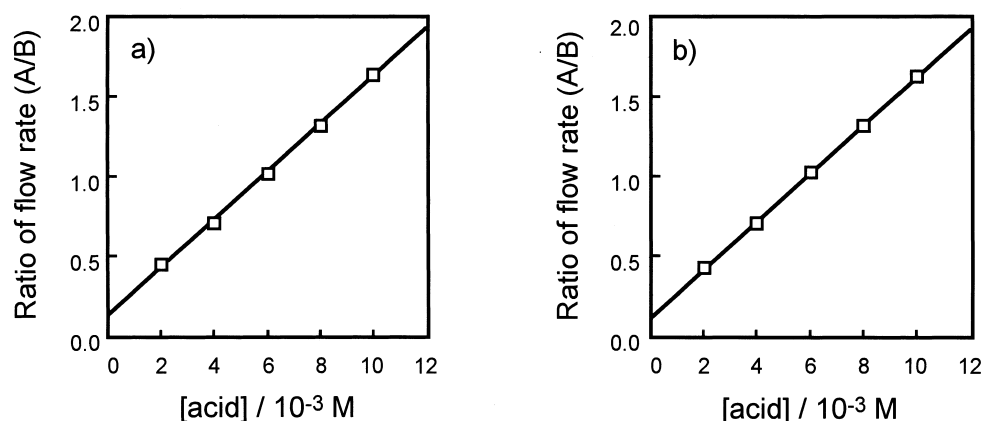


Fig. 1-1 Calibration graphs for potassium hydrogen phthalate and acetic acid with Phenolphthalein as an indicator

Sample: a) potassium hydrogen phthalate, b) acetic acid; Flow A: titrant, 1.000×10^{-2} M NaOH; Flow B: Sample; Indicator: 2.0×10^{-5} M phenolphthalein (added in the sample solution); Reaction coil: 50 cm long, 0.5 mm i.d; Total flow rate: $100 \mu\text{l min}^{-1}$; Gradient change of flow rate: $0.167\% \text{ s}^{-1}$; Titration mode: double linear gradient mode

る。流量比に基づく検量線から試料濃度を決定する。

3 結果及び考察

3.1 フロー混合器及び反応コイル長の検討

フロー滴定分析法では、高性能なポンプの流量制御とともに送液系の微小な流量変化を瞬時にフロー反応系に反映させ、混合による液性変化を遅延なく検出器で検出する必要がある。そのためには、二つの流路から送られてくる試料液、滴定剤を効率よく混合する高性能混合器が必要不可欠である。高性能混合器には効率のよい混合とともになるべく少ない混合室の死容量が望まれる。幾つかのフロー混合器を検討したところ、ジーエルサイエンス製の死容量可変型 LC mixer (死容量: $2 \mu\text{l}$) で送液量変化時から検出までの小さな遅延時間内で十分な混合がなされ、当量点近傍の吸光度変化が鋭敏で、明りょうな微分曲線の最大値が得られるという良好な結果を得た。

また、混合器から検出器までの送液チューブ内で十分に中和反応が進行し、検出器到達時点で平衡に達している必要があるが、長い送液チューブでは流量比変化からの遅延時間が大きくなり、正確な濃度決定を妨害する。なお、検量線を用いる場合は長いチューブを用いても差し支えないが、検量線に検出器到達までの遅延時間に由来する切片が現れる。また、流量を小さくすると十分な混合が行える一方、遅延時間が長くなる欠点もある。長さ 50 cm、内径 0.5 mm の反応コイルを用いた場合、総流量 $10 \sim 200 \mu\text{l/min}$ で明りょうな当量点が得られ、 $100 \mu\text{l/min}$ の場合には 1 試料当たり 3 分以内での測定が可能であった。長さ 50 cm の反応コイルを用い、総流量 $100 \mu\text{l/min}$ で、検量線により定量を行った。通常の滴定分析では滴下体積に基

づき 4 けたの有効数字が得られるが、本法で検量線法では流量比の読み取りに誤差が生じるために精度は劣ってしまうが、測定時間を短縮できる利点を有している。

3.2 弱酸、強酸に対する検量線の比較

流量比に基づくフロー滴定分析法を定量分析法として用いるためには、強酸、弱酸にかかわらず、同濃度の試料に対して同じ滴定結果/流量比が得られなければならない。指示薬としてフェノールフタレイン、クレゾールレッドを用いた場合に得られた検量線をそれぞれ Fig. 1-1, 1-2 に示す。強酸、弱酸を問わず、検討したすべての場合において検量線が良好に一致した。したがって、同じ検量線を用いて異なる一塩基酸を定量できることが示された。また、Fig. 1-3 に示すように、二塩基酸として硫酸とリン酸について検討した結果、検量線の傾きはフタル酸水素カリウムのちょうど 2 倍になり、一塩基酸の 2 倍量の水素イオンとの定量的な反応が確認された。すべての検量線において同程度の切片が見られるが、これは混合器から検出器までの遅延時間に由来するものである。

3.3 連続滴定の検討

前項で検討した 1 試料液当たり 1 回の当量点を測定する単滴定の結果を考慮して、1 試料液当たり複数回当量点を測定する連続滴定について検討した。この滴定法は、当量点が検出されるとその当量点付近で試料と滴定剤の流量を連続的に交互に変化させる手法である。流量比法に基づくフロー滴定分析法の特徴の一つであり、複数回に相当する滴定結果を短時間で得られる点で、フロー滴定法の大きな利点である。連続滴定法による滴定結果を Fig. 2 に示

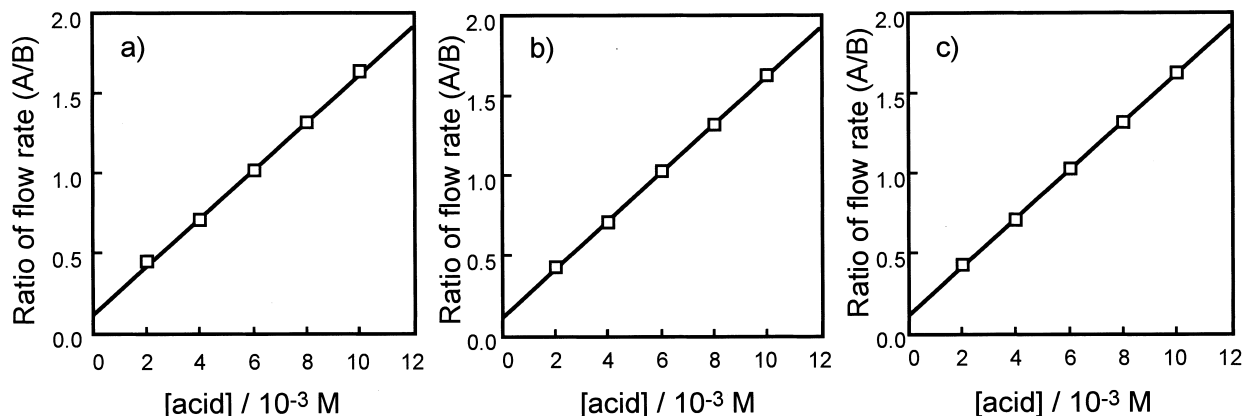


Fig. 1-2 Calibration graphs for potassium hydrogen phthalate, acetic acid, and hydrochloric acid with Cresol Red as an indicator

Sample: a) potassium hydrogen phthalate, b) acetic acid, c) hydrochloric acid; Other conditions are the same as in Fig. 1-1

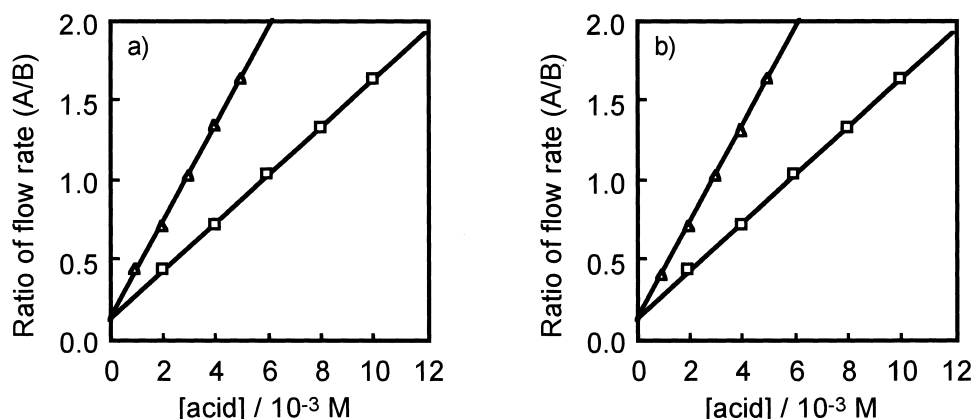


Fig. 1-3 Calibration graphs for potassium hydrogen phthalate, sulfuric acid, and phosphoric acid with phenolphthalein as an indicator

Sample: a) $\triangle$, sulfuric acid, $\square$, potassium hydrogen phthalate, b) $\triangle$, phosphoric acid, $\square$, potassium hydrogen phthalate; Other conditions are the same as in Fig. 1-1

す。流量比の変化に依存して液性は酸性-アルカリ性を往復し、吸光度の立ち上がり、立ち下がりに見られる複数回の当量点が観測されている。流量比の解析の結果、適切な条件を選択すれば正確に精度よく連続滴定を行うことができることが分かった。この滴定法により連続モニタリング、迅速な対処が可能となる。

3・4 炭酸ナトリウム中の炭酸イオン、炭酸水素イオンの同時定量

炭酸ナトリウムなどの多酸塩基の滴定では、化学量論に対応した複数の当量点が得られるので、それぞれの当量点を精度よく検出する指示薬を選択しなければならない¹³⁾。炭酸ナトリウムの滴定では、塩基性側の第1当量点はフェノールフタレインを用い、酸性側の第2当量点はプロモクレゾールグリーンを用いて別々に測定される。流量比

に基づくフロー滴定分析法では、通常の滴定法では困難な混合指示薬法や、原理的に不可能な二酸塩基を用いた一塩基酸の滴定による塩基側の終点測定（炭酸ナトリウムにより塩酸を滴定して塩基側の終点を求めること）が可能であり、1試料測定により酸性側、塩基性側の二つの当量点を同時に検出することができる。流量比法に基づくフロー滴定分析法を用いて、塩酸による炭酸ナトリウムの滴定について検討した。酸性から塩基性へと液性を変化させた場合、Fig. 3に示すように、単一の指示薬と2種類の指示薬を用いた場合の当量点は良好に一致した。また、Fig. 3で分かるように、第1、第2当量点とも、直線性のよい検量線が得られた。それぞれの検量線の傾きを比較すると、プロモクレゾールグリーンにより求めた第2当量点の傾きはフェノールフタレインにより求めた第1当量点の傾きの2倍であり、フロー滴定分析法が二酸塩基の滴定法と

して有効であることが示された。

3.5 本法による食酢中の酢酸の定量

以上の酸塩基滴定の検討から、流量比法に基づくフロー滴定分析法が非常に信頼性の高い方法であることが示され

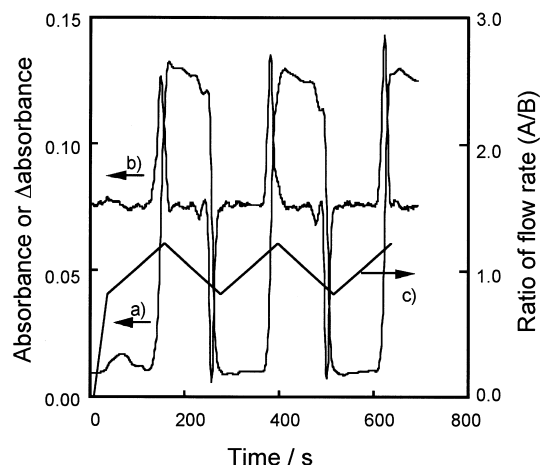


Fig. 2 Titration curve and differential curve obtained by continuous flow titration method

a) absorbance, b) differential curve for absorbance, c) ratio of flow rate; Sample: 1.0×10^{-2} M potassium hydrogen phthalate; Titrant: 1.0×10^{-2} M NaOH, Indicator: 1.0×10^{-5} M phenolphthalein (added in the sample), Reaction coil: 10 cm, 0.5 mm i.d., Total flow rate: $50 \mu\text{l min}^{-1}$, Gradient change of flow rate: $0.083\% \text{ s}^{-1}$; Titration mode: double linear gradient mode

たので、本法を市販食酢中の酢酸の定量に適用した。食酢を 100 倍に希釈したものを試料として用いた。結果を Table 1 に示す。指示薬としてフェノールフタレイン、クレゾールレッドを用いた両方の場合について、通常の滴定法とフロー滴定分析法の定量結果は良好に一致し、定量値のばらつきも 0.3% 以内と精度の高い結果が得られた。ビュレットを用いる通常の滴定法では 1 試料当たりの廃液量が 50 ml 程度であるのに対して、フロー滴定分析法では 0.5 ml 未満であり、廃液量を 1/100 以下にすることができた。今回はシングルリニアグラジエント法を用いたが、ダブル変換型グラジエント法を用いる場合には 1 試料当たりの廃液量を 0.1 ml 未満にすることが可能である。

4 結 語

流量比に基づくフロー滴定分析法は、ビュレットを用いる従来の滴定分析法と同様に試料と滴定剤が定量的に反応する点を検出する。極めて高い流量分解能を有するポンプの使用により、試料と滴定剤の精密な流量比制御が可能である。また、効率的な混合を行う混合器の使用により、高精度の滴定分析が可能となった。単純な酸塩基滴定に加えて、連続滴定法、多塩基酸、多酸塩基への適用など、フロー滴定分析法の高機能化に成功した。以上の結果から、フロー滴定分析法は一般に広く利用されている滴定分析法に適用可能であることが示され、迅速性、簡便性などの高機能化した信頼性の高い分析法として今後も展開していくものと考えられる。

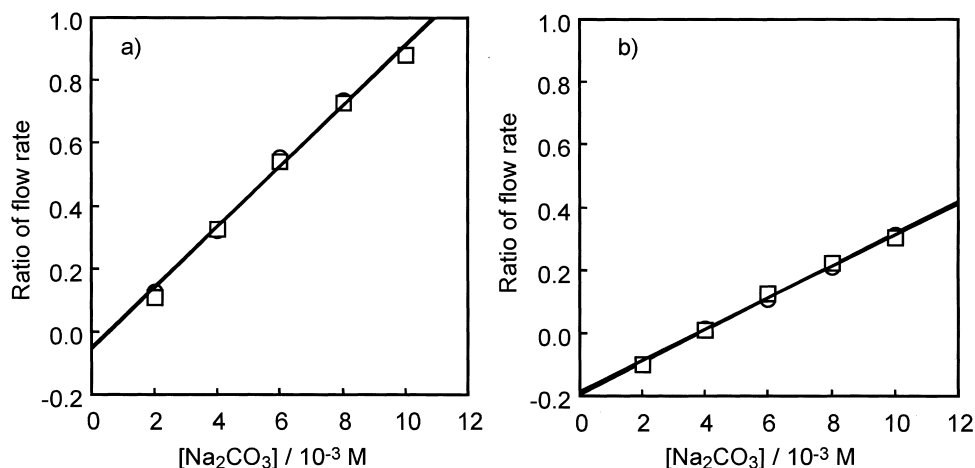


Fig. 3 Calibration graphs for sodium carbonate with hydrochloric acid as a titrant

a) second equivalent point for Na_2CO_3 determined with Bromocresol Green, indicators used are: $\square$, Bromocresol Green; $\circ$, Bromocresol Green + phenolphthalein; b) first equivalent point for Na_2CO_3 determined with phenolphthalein, indicators used are: $\square$, Phenolphthalein, $\circ$, Bromocresol Green + phenolphthalein; Sample: Na_2CO_3 , Titrant: 1.0×10^{-2} M HCl, Indicator: 1.0×10^{-5} M Bromocresol Green + 2.0×10^{-5} M phenolphthalein (both indicators are added in the titrant), Reaction coil: 50 cm, 0.5 mm i.d., Total flow rate: $100 \mu\text{l min}^{-1}$, Gradient change of flow rate: $1.111\% \text{ s}^{-1}$; Titration mode: single linear gradient mode

Table 1 Analytical results for the determination of acid in vinegar samples by conventional titration method and present flow titration method^{a)}

Vinegar sample	[acetic acid]/M			
	Labeled value	Conventional titration ($n = 5$)	Micro-flow titration ^{b)}	Micro-flow titration ^{c)}
1	0.75	0.760 ± 0.000	0.76 ± 0.02	0.75 ± 0.01
2	0.70	0.712 ± 0.001	0.72 ± 0.00	0.72 ± 0.00
3	0.75	0.774 ± 0.001	0.79 ± 0.00	0.78 ± 0.00
4	0.75	0.761 ± 0.002	0.79 ± 0.00	0.78 ± 0.00
5	0.75	0.770 ± 0.001	0.79 ± 0.00	0.79 ± 0.00
6	0.70	0.731 ± 0.001	0.79 ± 0.00	0.79 ± 0.01
7	0.75	0.784 ± 0.001	0.75 ± 0.02	0.76 ± 0.02
8	0.83	0.836 ± 0.001	0.85 ± 0.00	0.85 ± 0.00
9	0.58	0.544 ± 0.002	0.54 ± 0.00	0.55 ± 0.00
10	1.18	1.209 ± 0.001	1.22 ± 0.00	1.22 ± 0.00
11	1.18	1.190 ± 0.001	1.20 ± 0.00	1.20 ± 0.00
12	1.00	1.009 ± 0.001	1.00 ± 0.00	1.01 ± 0.00

a) Vinegar samples were diluted to 1/100 before titrations. Titrant: 1.000×10^{-2} M NaOH, Reaction coil: 50 cm long, 0.5 mm i.d., Total flow rate: $100 \mu\text{l min}^{-1}$, Gradient change of flow rate: $0.167\% \text{ s}^{-1}$, Titration mode: double linear gradient mode; b) Phenolphthalein is used as an indicator. [Phenolphthalein]: 2.0×10^{-5} M, added in the sample solution, $n = 3$; c) Cresol Red is used as an indicator. [Cresol Red]: 2.0×10^{-5} M, added in the titrant, $n = 3$

文 献

- 1) 滴定装置 (自動/手動) の世界市場: 戦略分析と将来予測, (2002), (Global Industry Analysts, Inc.).
- 2) W. J. Blaedel, R. H. Laessing: *Anal. Chem.*, **36**, 1617 (1964).
- 3) B. Fleet, A. Y. W. Ho: *Anal. Chem.*, **46**, 9 (1974).
- 4) O. Astrom: *Anal. Chim. Acta*, **88**, 17 (1977).
- 5) K. Toth, G. Nagy, Z. Feher, G. Horvai, E. Pungor: *Anal. Chim. Acta*, **114**, 45 (1980).
- 6) S. M. Abicht: *Anal. Chim. Acta*, **114**, 247 (1980).
- 7) T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, G. J. Cross, R. I. Mrzljak, G. R. Scollary: *Analyst*, **115**, 1235 (1990).
- 8) H. Katsumata, N. Teshima, M. Kurihara, T. Kawashima: *Talanta*, **48**, 135 (1999).
- 9) A. C. L. Conceicao, M. M. C. Santos, M. L. S. S. Goncalves, F. J. V. Santos: *Talanta*, **50**, 1245 (2000).
- 10) H. Tanaka, P. K. Dugupta, J. Huang: *Anal. Chem.*, **72**, 4713 (2000).
- 11) L. R. Allain, T. A. Canda, Z. Xue: *Anal. Chem.*, **73**, 4592 (2001).
- 12) JIS K 0400, 水質—アルカリ度の測定—第 1 部: 全及び混合アルカリ度の測定 (1998).
- 13) JIS K 0400, 水質—アルカリ度の測定—第 2 部: 炭酸塩アルカリ度の測定 (1998).

要 旨

容量分析法の簡便化, 迅速化, 自動化及び省力化を含む高機能化を目的として, 送液ポンプの流量比に基づくフロー滴定システムの構築と応用について検討した。フロー滴定分析法は, 連続して流れる試料液, 滴定剤溶液の正確な流量制御を基本原理としている。2 台の送液ポンプを用いてそれらの流量を変化させながら試料液 (被滴定液) と滴定剤 (滴定液) を送液し, 流れ内において混合・反応させ, 指示薬の変色を用いて試料液中の分析対象物質濃度を流量比から定量する容量分析法である。各種酸塩基滴定を通して本法の性能評価を行い, 従来法との比較を行った。酸塩基指示薬としてフェノールフタレイン, あるいはクレゾールレッドを試料液又は滴定剤へ添加したところ, 強酸, 弱酸を問わず検討したすべての系において直線性の高い検量線が得られた。また, 終点検出の相対標準偏差は 0.3% 未満であった。更に, 滴定剤に 2 種類の指示薬を用いる多塩基酸・多酸塩基の連続滴定法について検討した。炭酸塩の分析ではプロモクレゾールグリーンとフェノールフタレインを指示薬として用い, 炭酸イオン, 重炭酸イオンに由来する二つの当量点を一試料測定で検出できた。

本法を市販されている食酢の分析に適用したところ, 従来法により決定した酢酸濃度と良好な一致を得た。1 試料測定当たりの廃液量は 50 ml 程度から 100 μl 程度まで大幅に低減化することができ, フロー滴定分析法により全操作の自動化, 試料・廃液量の大幅な低減化, 滴定時間の短縮等の高機能化を達成した。