

イオン会合体のミセル抽出に基づくアルキルアンモニウム イオンの吸光光度法

細井 康宏, 本水 昌二^{®*}

(1988年11月2日受理)

非イオン性界面活性剤の Triton X-100 (TX-100; 0.01% v/v) の存在下, テトラプロモフェノールフタレインエチルエステルの酸型 (TBPE·H) とアルキルアンモニウムイオン (第四級アンモニウムイオン: C^+) は反応し, イオン会合体, ($C^+ \cdot TBPE^-$), を生成する. この反応は, TBPE·H と TX-100 との混合ミセル (TBPE·H + n TX-100)_m から, イオン会合体と TX-100 との混合ミセル ($C^+ \cdot TBPE^- + n$ TX-100)_m への変化, すなわちイオン会合体のミセル抽出によるものとした. 本ミセル抽出-発色系はアルキルアンモニウムイオンの吸光光度定量に応用でき, FIA に適用すれば, 溶媒抽出を用いない簡便な方法となることが分かった.

1 緒 言

イオン会合体 (イオン対) の分析化学における利用は, 分析対象物の分離・濃縮と定量に関して主に研究されてきた. なかでも溶媒抽出/吸光光度法は最も幅広く検討され, 又, 実用上も有用な分析法が数多く生み出された分野である^{1)~5)}. キレート生成反応においては, 反応試薬と異なる光吸収を示す錯体を吸光光度法に利用してきた. これに対し, 水溶液中でのイオン会合反応においては, イオン会合体の生成定数は小さく, 又光吸収波長の変化も小さい. このような理由から, イオン会合反応に基づく吸光光度法は溶媒抽出分離法を伴うものが多い. 溶媒抽出法は分離と濃縮をも可能とする有用な手段ではあるが, 場合によれば人体に対する毒性の点, 操作の煩雑性の点から敬遠されることもある.

分析化学においては, 様々な界面活性剤ミセルが用いられているが, このミセルの役割は, (1)難溶性化合物の水への溶解性の増大, (2)反応の触媒作用, 及び(3)反応様式の変更 (反応速度, 平衡などの変更) などが主なものである. 例えば, 反応試薬, 生成キレートの水への可溶性, 分子の周囲の環境変化による吸収波長の移動, 高次錯体の生成などに利用され, 新しい分析法を創出してきた^{6)~9)}. (1)の“ミセルへの溶解”は“ミセルへの

抽出”という見方もでき, Hayashi ら¹⁰⁾ 及び Tagashira¹¹⁾¹²⁾ はキレート試薬¹⁰⁾¹¹⁾, キレート陰イオン-オニウムイオンとのイオン会合体¹²⁾の分配について報告している.

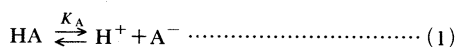
本報告は, ミセルを抽出溶媒の代わりにする抽出媒体とみなし, イオン会合体の抽出/吸光光度法に利用しようとするものである.

従来ミセルを用いる吸光光度法では, 主に分子の周囲の環境変化による吸収波長の移動, 高次錯体生成による吸収の増大を利用してきた. 本報告では, イオン会合反応と色素の酸塩基反応を同時に行わせ, 色素の鋭敏な光吸収変化を分析に利用しようとする新しい試みである.

以下, 酸性色素のテトラプロモフェノールフタレインエチルエステル (TBPE と略記) と第四級アンモニウムイオンとの場合について検討した結果を述べる.

2 イオン会合体のミセル抽出/ 吸光光度法の概念

イオン会合体のミセル抽出の各種様式を示せば, Table 1 のようになる. ここでは, C^+ を分析イオンとし, A^- を対陰イオンとしている. HA は次式のような酸解離平衡を示す酸性色素とする.



* 岡山大学理学部: 700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

Table 1 Types of micelle extraction of an ion association complex formed between an analyte ion and its counter dye ion

Type	Reaction	Characteristics
I	$C^+ + A^- \rightleftharpoons C^+ \cdot A^- \rightleftharpoons (C^+ \cdot A^-)_m$	large reagent blank less color change
II	$C^+ + HA \xrightleftharpoons{-H^+} C^+ \cdot A^- \rightleftharpoons (C^+ \cdot A^-)_m$	more color change HA : less soluble
III	$C^+ + (A^-)_m \rightleftharpoons (C^+ \cdot A^-)_m$	less color change more color change
IV	$C^+ + (HA)_m \xrightleftharpoons{-H^+} (C^+ \cdot A^-)_m$	HA : more soluble

C^+ : analyte ion; HA : anionic dye; $C^+ \cdot A^-$: ion association complex; $()_m$: denotes the mixed micelle.

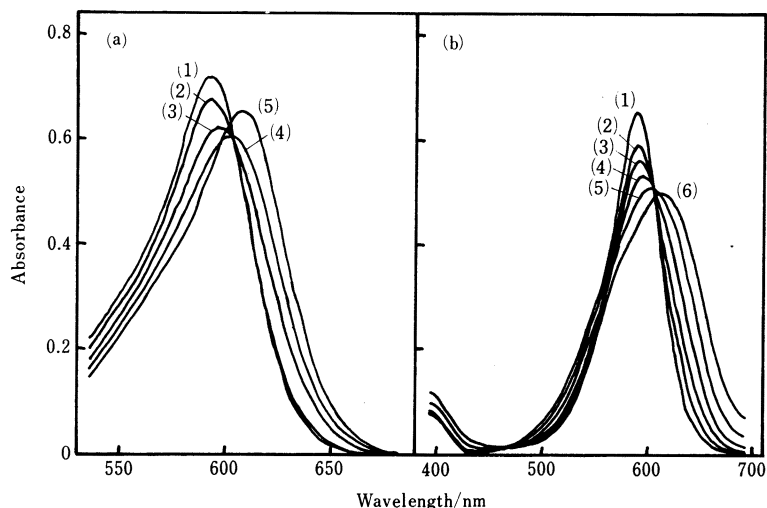


Fig. 1 Absorption spectra at pH 6.8

(a) TBPE : 1.0×10^{-5} M; [TX-100](%) : (1) 0, (2) 0.01, (3) 0.015, (4) 0.02, (5) 0.1. (B) TBPE : 1.0×10^{-5} M; TX-100 : 0.01 %; [Zeph]/ 10^{-3} M : (1) 0, (2) 0.2, (3) 0.4, (4) 0.6, (5) 0.8, (6) 1.0

式(1)の酸解離により光吸収波長ができるだけ大きく変わるものを用いる。

Type I は従来よく利用されてきた系であり、色素分子の周囲の環境変化に基づく光吸収波長の移動、新たな吸収の出現なども期待される。しかし色素は既に解離しているので、試薬から試験値が大きくなり、吸光度法としての利用には限りがある。Type II はイオン会合反応に酸塩基反応を伴うもので、光吸収波長の変化は大きいですが、HA が水に溶けにくいという難点がある。Type III では A^- の疎水性部が既にミセルの一部として取り込まれている場合であり、 A^- の周囲の環境は既に変わっているので、イオン会合体を形成しても吸収波長の変化は小さい。Type IV では水に溶けにくい HA は、既に

ミセルの一部となっている(混合ミセルの形成)。イオン会合反応により HA のプロトン解離が起こり、光吸収波長の大きい変化をもたらす。実用的には最も理想的なミセル抽出/吸光度法である。

本報でのアルキルアンモニウムイオン-TBPE-TX-100 系では Figs. 1, 2 の吸収曲線のように Type III 又は IV を用いることができる。しかし上述のように Type IV のほうが優れているので、以下本報では Type IV を用いる方法について検討することにした。

3 実 験

3.1 装 置

分光光度計：吸収スペクトルの測定には島津ダブル

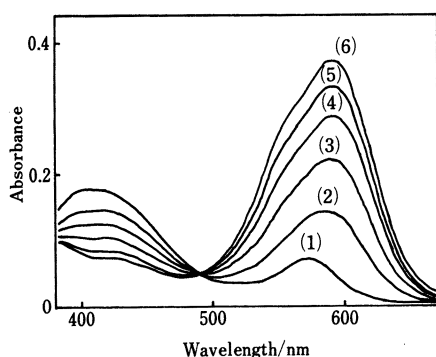


Fig. 2 Absorption spectra at pH 4.0

TBPE: 1.0×10^{-5} M; TX-100: 0.01 %; [Zeph]/ 10^{-5} M: (1) 0, (2) 0.2, (3) 0.4, (4) 0.6, (5) 0.8, (6) 1.0

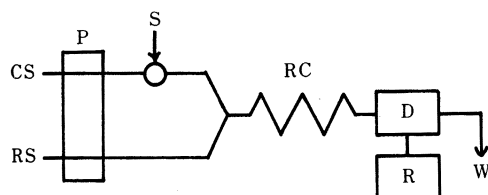


Fig. 3 Schematic diagram of flow system

CS: carrier solution (water); RS: reagent solution [2.0×10^{-5} M TBPE, 0.02 % TX-100, 0.2 M acetate buffer (pH 4.0)]; P: double plunger pump (0.8 ml/min); S: sample injection (120 μ l); RC: reaction coil (0.5 mm \times 1 m); D: detector (Soma S-3250, 605 nm); R: recorder; W: waste

ビーム自記分光光度計 UV-300 を, 吸光度の測定には 139 型日立分光光度計を用い, セルはすべて光路長 1 cm のものを用いた。

FIA 装置: Fig. 3 に流路を示す。流路は樹脂製コネクター類と内径 0.5 mm の PTFE チューブを用いて構成した。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 (DM2M-1026 型) を用い, 送液は 0.8 ml/min で行った。検出器は 8 μ l のフローセルを持つ相馬光学製可視分光検出器 S-3250 型を用い, 記録計 (東亜電波工業, FBR-251A) にて吸光度変化を記録した。

3.2 試薬

TBPE 溶液: TBPE のカリウム塩 (TBPE·K と略記, 和光純薬工業) の 0.070 g をエタノール (99.5%, 和光純薬工業) に溶解して, 100 ml とした (1.0×10^{-3} M)。使用に際して, 水で希釈して用いた。

非イオン性界面活性剤 (Triton X-100, TX-100 と略記) 溶液: TX-100 (和光純薬工業) を 50 ml とり, これに熱水を加えて溶解した後, 放冷し, 500 ml にしたもの を 10v/v% 溶液とし, これを適宜希釈して用いた。

第四級アンモニウムイオン溶液: 第四級アンモニウム塩 (塩化物) を減圧下 (5 mmHg), 室温で恒量値を得るまで乾燥したものを水に溶解して調製した。

FIA 試薬溶液: 試薬溶液はキャリアー溶液と合流して 2 倍に希釈されるため, 3.3:1 の標準操作で調製された最終濃度の 2 倍のもの [TBPE: 4.0×10^{-5} M, TX-100: 0.02%, 酢酸緩衝溶液 (pH 4.0): 0.2 M] を調製して用いた。

その他の試薬はすべて市販品特級を用いた。

3.3 実験操作

3.3.1 標準操作 25 ml のメスフラスコに TBPE·K 溶液 (1.0×10^{-4} M, 10% エタノール水溶液) を 5 ml とり, TX-100 の 0.05% 溶液 5 ml, アルキルアンモニウムイオンを含む試料水及び pH 4.0 の酢酸緩衝溶液 (1 M) 2.5 ml を順次加える。蒸留水を標線まで加え, 混合した後, 吸光度を測定する。

3.3.2 FIA 操作 キャリヤーに水を用い, 試薬溶液 (3.2 の FIA 用) を 0.8 ml/min で送液し, キャリヤー流れにアルキルアンモニウム塩を含む試料水をサンプリング付六方バルブにて導入する。

4 結果及び考察

4.1 TBPE·H の酸解離平衡に及ぼす Triton X-100 の影響

Fig. 4 に 3 種の TX-100 濃度における TBPE の吸光度変化に及ぼす pH の影響を示す。測定波長は 603 nm であり, 解離型の TBPE⁻ の吸収に相当する波長である。一般に非イオン性界面活性剤が存在すると, 無電荷の種が安定化されるように見掛けの pK_a が移動するがその変動はごく少ない。しかし TBPE の場合の見掛けの pK_a の変動は予想以上に大きい。TBPE·H の pK_a は 4.2 である。臨界ミセル濃度 (CMC) 程度の TX-100 が存在すると [Fig. 4(1)], 予想どおり TBPE·H が安定化し見掛けの pK_a は大きくなる。しかし, 更に TX-100 の濃度を増すと曲線は低 pH 側に移動する。すなわち見掛けの pK_a 値は小さくなる。これは TX-100 が多量に存在すると, ミセル中で TBPE·H が解離型になるためと考えられる。

Fig. 5 は, pH 4 で, TBPE·H の 603 nm の吸光度変

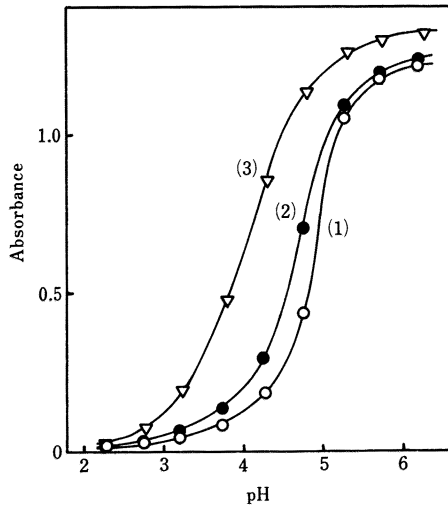


Fig. 4 Effect of pH on the absorbance

TBPE: 2.0×10^{-5} M; TX-100: (1) 0.016%, (2) 0.02%, (3) 0.2%; $\lambda = 603$ nm.

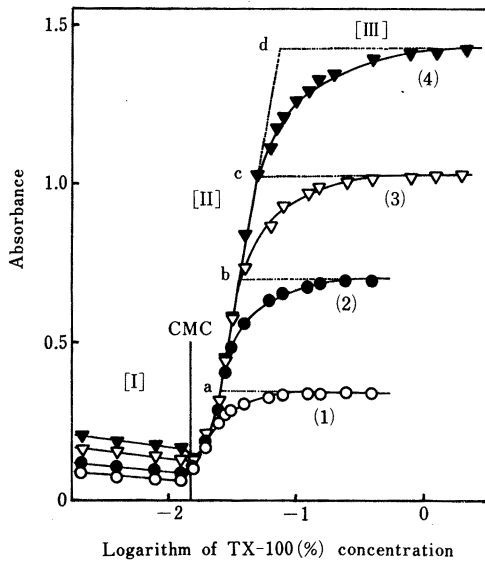


Fig. 5 Effect of TX-100 concentration on the absorbance

[TBPE]/ 10^{-5} M: (1) 1.0, (2) 2.0, (3) 3.0, (4) 4.0; pH 4.0; $\lambda = 603$ nm

化に及ぼす TX-100 濃度の影響について調べたものである。この pH では水に難溶性の TBPE·H は黄色の沈殿 (濁り) となっている。TX-100 を増すにつれて、この濁りは少なくなり可溶化した状態になる (TX-100:

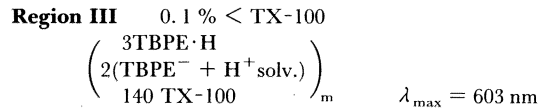
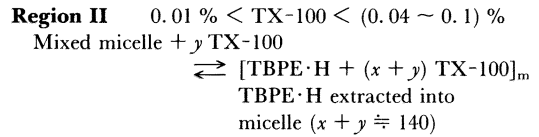
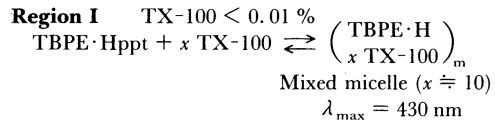


Fig. 6 Model of extraction of TBPE·H into micelle
 ppt: precipitate; []_m: micelle

0.01% 以下、領域 [I])。CMC 付近からは徐々に吸光度は増し、黄色から青色になる (領域 [II])。TX-100 がある濃度以上になると吸光度はもはや変化しない (領域 [III])。これらの現象をモデル的に示せば、Fig. 6 のようになる。

TX-100 の CMC (0.015%)¹⁴⁾ 以下の 0.01% では、TX-100 は混合ミセルを作り、この濃度では TBPE·H : TX-100 = 1 : 10 となる。CMC 以上になると TBPE·H は TX-100 のミセルに可溶化 (抽出) され、その一部はプロトン解離型となり 603 nm に吸収を示すようになる。この現象は TBPE·H にアルコールを加えると解離型の吸収を示す現象と同様であろう¹³⁾。TX-100 のミセルが約 140 個の TX-100 からできていると考える¹⁴⁾ と、Fig. 5 の交点 a, b, c 及び d の各点から、TX-100 ミセル 1 個当たり、TBPE·H は約 5 個含まれることになる。解離型 TBPE⁻ のモル吸光係数を 8.70×10^4 l mol⁻¹ cm⁻¹ とし、[III] の領域の水平部分から解離型の割合を計算すると 40% となる。従って TX-100 ミセル中に含まれている 5 個の TX-100 のうち 2 個は解離型になっているものと考えられる。

4.2 イオン会合体のミセル抽出に及ぼす pH と TX-100 濃度の影響

pH の影響 Table 1 に示すように、吸光度法では、Type IV すなわち対陰イオンは HA 型で存在する条件が望ましい。Fig. 4 から分かるように CMC 程度の TX-100 が存在する場合には見掛けの pK_a は大きく

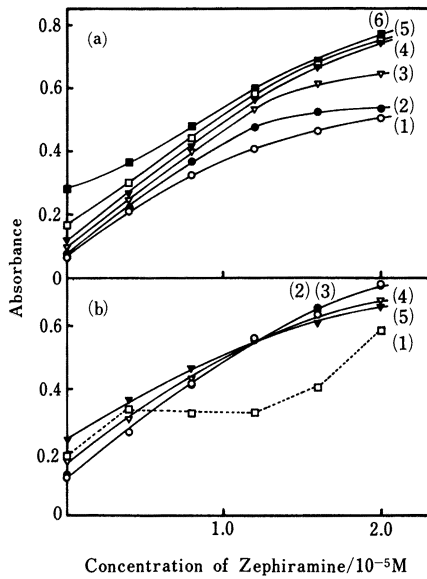


Fig. 7 Effect of (a) pH and (b) TX-100 concentration on the calibration curves of Zephiramine

(a) TBPE : 2.0×10^{-5} M; TX-100 : 0.01%; pH : (1) 3.1, (2) 3.6, (3) 3.8, (4) 4.0, (5) 4.2, (6) 4.5; $\lambda = 595$ nm. (b) TBPE : 2.0×10^{-5} M; pH 4.0; TX-100 : (1) 0.004 %, (2) 0.008 %, (3) 0.012 %, (4) 0.016 %, (5) 0.020 %; $\lambda = 595$ nm

なり, pH 4 付近でもほとんど HA 型となっている。

Fig. 7 (a)には pH 3.0~4.5 におけるアルキルアンモニウムイオンの検量線を示す。アルキルアンモニウムイオンとしては第四級アンモニウムイオンの Zeph⁺ (テトラデシルジメチルベンジルアンモニウムイオン) を用いた。pH の上昇と共に検量線の直線範囲は広がるが, pH が高くなると解離型が増え, 試薬から試験値が大きくなり, 検量線の傾きは小さくなる。以後の実験は pH 4.0 (0.1 M 酢酸緩衝溶液) を用いることとした。

TX-100 濃度の影響 Fig. 7(b)には pH 4.0 における TX-100 濃度の影響について調べた結果を示す。低濃度 (0.004%) では TBPE·H が混合ミセルを十分に作らず, 一部不溶の状態にあるため反応は不十分となる。高濃度 (0.02%) では TBPE·H は TX-100 ミセルの中に取り込まれ, 一部は解離型となり, 試薬から試験値は大きくなる。又反応も不十分である。混合ミセルを作っていると考えられる 0.01% 付近が吸光光度法には最適と思われる。

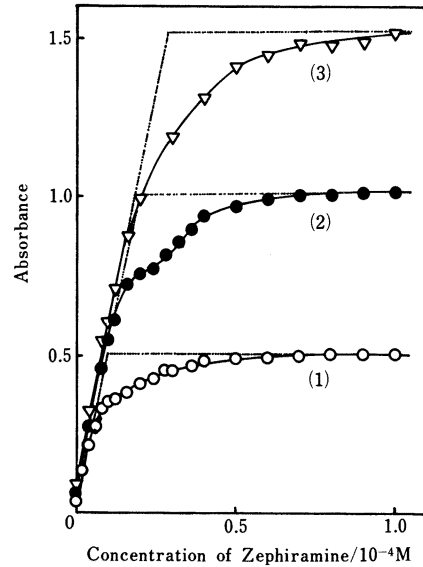


Fig. 8 Composition ratio of ion-associate
[TBPE]/ 10^{-5} M : (1) 1.0, (2) 2.0, (3) 3.0;
TX-100 : 0.01 %; pH 4.0; $\lambda = 615$ nm

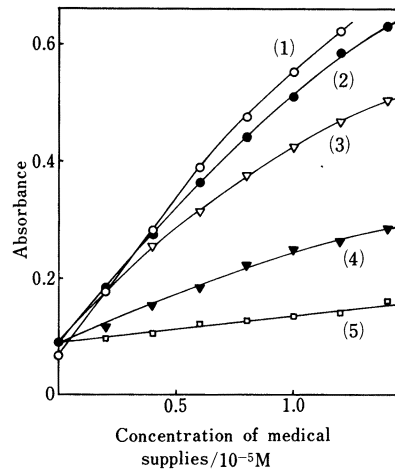


Fig. 9 Calibration curves of Zephiramine and other organic onium ions used as medical supplies

(1) Zephiramine, (2) benzalkonium, (3) benzethonium, (4) berberine, (5) papaverine; λ : (1) 615 nm, (2) ~ (5) 605 nm

4・3 ミセル抽出されたイオン会合体の組成

Fig. 8 にモル比法の結果を示す。交点から求めた

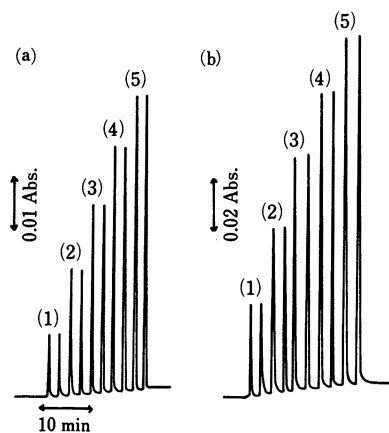


Fig. 10 Flow signals for some medical supplies

(a) Quinine, (b) Berberine; [onium ion]/ 10^{-5} M:
(1) 2.0, (2) 4.0, (3) 6.0, (4) 8.0, (5) 10.0; $\lambda = 605$ nm

([TBPE] : [Zeph⁺]) はほぼ (1 : 1) となっている。しかし、吸光度の立ち上がり部分の傾き及び水平部分から計算したモル吸光係数は約 5×10^4 $1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ となり、TBPE⁻ のモル吸光係数の約 60% である。これは TBPE と Zeph⁺ との比が 1 : 1 付近以上になると更に別種のミセルが新たに生成されるためではないかと考えられるが、今のところ詳細は分からない。

4・4 数種医薬品の検量線及び FIA への応用

Fig. 9 にゼフィラミン及び第四級アンモニウム塩の医薬品数種の検量線を示す。TBPE \cdot H 濃度が 2×10^{-5} M のとき、試料濃度 6×10^{-6} M 以下では検量線はほぼ直線性を示しているが、これ以上の濃度では傾きは若干小さくなって来る。これは試薬不足のためであり、TBPE \cdot H 濃度を増せば直線範囲は広がるが、試薬から試験値が大きくなる。検量線の傾きの大ききの順は第四級アンモニウムイオンのイオン会合体の有機溶媒への抽出性の順とほぼ一致している。

Fig. 10 には Fig. 3 に示す FIA 装置により求めたフローシグナルの例を示す。本法の吸光度法は水溶液発色系であるので簡単に FIA に応用できることが分かる。

文 献

1) 四ッ柳隆夫, 星野 仁: 化学の領域, **33**, 746 (1979).

- 2) 本水昌二, 岩知道 正, 桐栄恭二: ぶんせき, **1980**, 234.
- 3) E. B. Sandell, H. Onishi: "Photometric Determination of Traces of Metals", Part I, p. 648, 974 (1978), (Wiley, New York).
- 4) T. Sekine, Y. Hasegawa: "Solvent Extraction Chemistry", p. 378 (1977), (Marcel Dekker Inc., New York).
- 5) O. Valcl, I. Nemcova, V. Suk: "Handbook of Triaryl-methane and Xanthene Dyes", (1985), (CRC Press, Boca Laton).
- 6) 林 謙次郎, 佐々木義明, 田頭昭二, 伊藤和晴: 分析化学, **30**, T61 (1981).
- 7) M. E. D. Garcia, A. Sanz-Medel: *Talanta*, **33**, 255(1986).
- 8) 西田 宏: 分析化学, **36**, 547 (1987).
- 9) I. Mori, Y. Fujita, K. Fujita, T. Tanaka, Y. Yano, M. Asada: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 3077 (1987).
- 10) K. Hayashi, Y. Sasaki, S. Tagashira, E. Kosaka: *Anal. Chem.*, **58**, 1444(1986).
- 11) S. Tagashira: *Anal. Chem.*, **55**, 1918 (1983).
- 12) S. Tagashira: *Anal. Chim. Acta*, **157**, 343 (1984).
- 13) 細井康宏, 本水昌二: 分析化学, **37**, 301 (1988).
- 14) R. J. Robson, E. A. Dennis: *J. Phys. Chem.*, **81**, 1075(1977).

☆

Spectrophotometric determination of quaternary ammonium ions based on micelle extraction of ion associates. Yasuhiro Hosoi and Shoji Motomizu (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

In the presence of non-ionic surfactant, Triton X-100 {TX-100; 0.01% (v/v)}, protonated tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE \cdot H, $\lambda_{\text{max}} = 430$ nm) reacts with alkylammonium ions (quaternary ammonium ion: C⁺) to form ion associates (C⁺·TBPE, $\lambda_{\text{max}} = 600 \sim 610$ nm). This reaction is considered to be the change from a mixed micelle of TBPE \cdot H and TX-100, (TBPE \cdot H + n TX-100)_m, to a mixed micelle of the ion associate and TX-100, (C⁺·TBPE⁻ + n TX-100)_m: namely, the micelle extraction of ion associates. The coloration system based on the micelle extraction was applied to the spectrophotometric determination of alkylammonium ions by a batchwise method and a flow injection method.

(Received November 2, 1988)

Keyword phrases

micelle extraction of ion associates; spectrophotometry of alkylammonium ions with tetrabromophenolphthalein ethyl ester; FIA; non-ionic surfactant Triton X-100.