

定常状態流れ分析法に関する基礎的研究

張 崇良, 成澤芳男,* 北浜静夫†

立教大学理学部 〒171 東京都豊島区西池袋3-34-1

† 電気化学計器 〒180 東京都武蔵野市吉祥寺北町4-13-14

A Basic Investigation on Steady-State Flow Analysis

Chongliang ZHANG, Yoshio NARUSAWA* and Shizuo KITAHAMA†

Department of Chemistry, College of Science, Rikkyo (St. Paul's) University
3-34-1, Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171

† Denki Kagaku Keiki Co., 4-13-14, Kichijoji-Kitamachi, Musashino, Tokyo 180

Air-segmented flow analysis, flow-injection analysis and sequential-injection analysis which are characterized with sample zone dispersion and/or sequentiality, have disadvantages of their sharp decreases in analytical speed and sensitivity for long-period reactions. For fast reactions, it is worthwhile that the high sampling rate compensates the decrease in analytical sensitivity as that has been done in FIA. For long-period reactions, because the dispersion of the sample zone increases with the square root of the distance traveled through the tubular conduit, a sharp decrease in sensitivity and analytical speed is unavoidable. This paper proposes a new approach based on the combined techniques of the parallel double-line FIA, the stopped-flow FIA and the steady-state determination model to solve the problem mentioned above. This method may be called the steady-state flow analysis (SSFA) for its characteristics. Therefore, it is considered to be possible that this method is applied to long-period reactions in flow-analysis system with high analytical speed, excellent reproducibility and without any loss in sensitivity, and to fill the gap of applications to long-period reactions in the present continuous-flow methodology.

Offprint requests to: Y. Narusawa

1. 緒言

連続流れ分析法としては空気分節法 (SFA)¹⁾、FIA法²⁾、シーケンシャルインジェクション法 (SIA)³⁾等が発展してきたが、サンプルゾーンの分散が避けられないため、感度や分析速度の低下及び再現性の劣化など様々な問題がある。これらの問題の本質はまだ完全に解決されていない。特に遅い反応系に対して、上述の方法は実用には適さないのが現状である。

① SFA法は流路に空気泡を規則的に導入することによりゾーンの分散をある程度まで抑えるのに有効であるが、実際には分散がまだ大きいので分析速度が小さく、再現性が十分とは言えないし、また空気泡は妨害シグナルを与えるので検出前に除去する必要があるためマニホールドが複雑になるなどの欠点がある。

② FIA法はゾーンの分散が避けられない上に分散の制御に基づくため、分析感度の低下が代償となるのは周知のことである。一般的なFIA法では遅い反応系 (例えばある程度の反応時間が必要な接触反応など) への応用に対して十分な研究がなされていない。反応時間10~30分の反応の場合には、20~50メートルの反応コイルと高圧ポンプが必要となる。⁴⁾一方、遅い反応系に応用する際、感度を上げるためのいくつかの方法が提案されたが、いずれも分析速度が大幅に低下するかあるいは再現性が悪くなるかであった。

I. ストップフローFIA法 (SFIA) では流れ停止期間に次のサンプル導入ができないので、分析速度は反応時間、即ち流れ停止時間の逆数に等しいことになる。例えば反応時間20分の反応では、1時間3検体しか測定できない。

II. 並列式FIA法 (PFIA)⁵⁾では分散度を制御するために、並列コイルは正確に同じ流体力学的形状を持たねばならないから、機械的及びデザイン上の制限は厳しい。それ故、PFIA法は提案されてから10年余り経過したが、まだ本格的に実用化されていない。

③ SIA法はその操作のシーケンシャル性のため、分析速度はSFIA法と同じであるから、遅い反応系に適用されない。

上述の方法はいずれも分析速度、分析感度及び再現性を同時に上げることができない。著者らは遅い反応系の高感度、迅速流れ測定法を開発する目的でdouble-line-double-sideマルチチャンネルバルブを開発し、定常状態を利用する新しいアプローチについて基礎的な研究を行った。⁶⁾今回は感度のロスがなく、分析速度が大きく、再現性が良く、且つ操作が簡便な定常状態流れ分析法を更に発展させるため、その予備的実験を行ったところ良好な結果を得たので報告する。

2. 原理と実験

周知の通り、分散の制御はF I Aにとって一番重要なポイントである。分散は数多くのパラメーター（コイルの長さと同径、流速等）の影響を受け易いので、分散の制御は簡単ではない。いままで成功したF I Aのすべての例はサンプルゾーンが同じ物理的、流体力学的な性質を持つ同一の流路を流れるものであった。並列式マルチチャンネルのマニホールドでは、並列コイルに僅かな流体力学的な違いがあれば、その影響によってそれらの分散の誤差が無視できなくなるのは当然である。これは並列式F I Aが実用化されない主な原因と考えられる。並列式コイルの流体力学的な違いによる分散への影響がどのような因子によるのかについて理論的な解釈を試みた。

ピーク高さとサンプル体積の関係は次式で表される。⁷⁾

$$\begin{aligned} \frac{C^{max}}{C^0} &= 1 - \exp(-k S_v) \\ &= 1 - \exp(-0.693 n) \\ &= 1 - 2^{-n} \end{aligned} \quad (1)$$

ここで C^{max} は分散状態の最大濃度、 C^0 は初期濃度、 S_v はサンプル体積である。また $n = S_v / S_{1/2}$ であり、 $S_{1/2}$ は定常状態の50%に達するのに必要なサンプルの体積である。(1)式を n に関して微分すると、次式が得られる。

$$\frac{d C^{max}}{C^0} = (2^{-n} \times \ln 2) d n \quad (2)$$

(1)式を使うと、

$$\begin{aligned} \frac{d C^{max}}{C^{max}} &= \frac{n \times \ln 2}{2^n - 1} \times \frac{d n}{n} \\ &= A \times \frac{d n}{n} = A \times \frac{d S_v}{S_v} \end{aligned} \quad (3)$$

ここで $A = \frac{n \times \ln 2}{2^n - 1}$ である。或いは

$$\frac{\Delta S_v}{S_v} = \frac{\Delta C^{max}}{C^{max}} \times \frac{1}{A} \quad (4)$$

(3)式或いは(4)式はサンプル体積の誤差と濃度の誤差との関係を表す。(4)式から、 $\Delta C^{max} / C^{max} = 1\%$ 、 0.1% において、いくつかの n の値に対応する A 、 C^{max} / C^0 及び $\Delta S_v / S_v$ を計算した。結果は表1に示す。

市販の分光光度計の吸光度の絶対精度は $0.001A$ であると考えられる。吸光度 $= 1$ において、最小相対誤差は 0.1% となる。表1から分かるように $n = 10$ の

表1 各n値に対するA, C^{max}/C^0 及び $\Delta S_v/S_v$ (%)の関係*

n	A	C^{max}/C^0	$\Delta S_v/S_v$ (%)	
			$\Delta C/C=1\%$	$\Delta C/C=0.1\%$
$\rightarrow 0$	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 1$	$\rightarrow 0.1$
0.1	0.965	6.70×10^{-2}	1.04	0.104
1	0.693	0.500	1.44	0.144
2	0.462	0.750	2.16	0.216
5	0.112	0.969	8.94	0.894
10	6.78×10^{-3}	0.999	147	14.7
12	2.03×10^{-3}	0.9997	492	49.2
20	1.32×10^{-5}	0.999999	75639	7564
100	5.46×10^{-29}	(1.7×10^{-31})	1.83×10^{28}	1.83×10^{27}
$\rightarrow \infty$	$\rightarrow 0$	$\rightarrow 1$	$\rightarrow \infty$	$\rightarrow \infty$

* 表1中の $\Delta C/C$ は $\Delta C^{max}/C^{max}$ である。

付近で濃度誤差(或いは吸光度誤差)0.1%に相応するサンプル体積の誤差は約15パーセントであり, また分散濃度 C^{max} は $0.999C^0$ となるので, 装置の検出精度(0.1%)で定常状態と区別できなくなる。換言すれば, $n=10$ 付近或いはこれ以上のnでのサンプル体積を利用すれば, 15パーセント或いはそれ以上のサンプル体積誤差があっても, 0.1パーセントの相対誤差しか出ない。即ち定常状態での測定であると判断される。従って, 並列コイルの流体力学的な違いがあっても定常状態法では影響を無視することができる。

本方法の原理図を図1に示す。試料は試薬溶液とM点で混合後, マルチチャンネルバルブ中のコイルに導入され, 溶液先端部がバルブの出口を通して廃液される。同時に洗浄水が次のコイルを洗浄し, 検出器を通して廃液される。この操作に続きバルブを回転すると, 前の操作でコイルに導入したサンプルゾーンがバルブ中に貯蔵される。同時に, 次の試料溶液が洗浄してあるコイルに導入され, 次のコイルが洗浄水で洗浄される。

上述の試料溶液の導入, 貯蔵及びコイルの洗浄の操作を繰り返し, 反応に時間が必要なら, それに応じて反応溶液を貯蔵し, 貯蔵期間が終了したら反応溶液を洗浄水にて流出させながら溶液の吸光度を測定する。その後, 測定はバルブの回転速度と同じ速度で行う。

バルブについて, 反応時間, バルブ回転速度及びバルブのチャンネル数との関

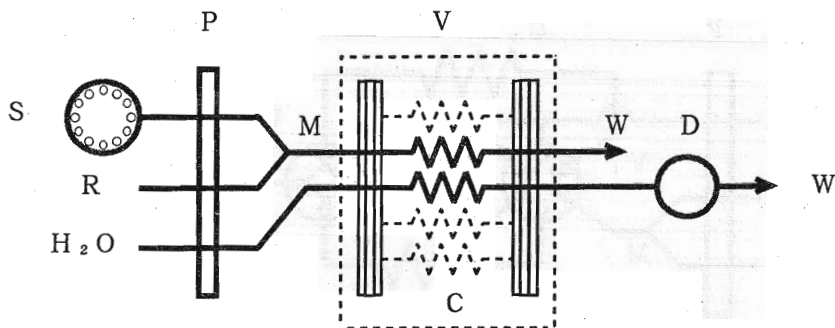


図 1. 定常状態流れ分析システム

P : ペリスタポンプ, R : 試薬溶液, S : サンプル, M : 混合点,
V : マルチチャンネルバルブ, C : 反応コイル, D : 検出器, W : 廃液.

係は次式で表される。

$$T_r = T_{th} + \frac{N_c - 2}{R_v} \quad (5)$$

ここで T_r は反応時間 (h), T_{th} はサンプルゾーンが混合点から検出器まで移動するのに要する時間 (h), N_c はバルブのチャンネル数及び R_v はバルブの回転速度 (チャンネル数/h) である。分析速度はバルブの回転速度と等しい。遅い反応系の場合には, T_r と比較して T_{th} が無視できるので, (5) 式から次式が得られる。

$$R_a = \frac{N_c - 2}{T_r} \quad (6)$$

ここで R_a は分析速度 (検体/h) である。例えばチャンネル数を 12 とすると, 反応時間 5, 10, 20, 30 分の反応に対して分析速度はそれぞれ, 120, 60, 30, 20 検体/h となる。

反応時間 T_r が T_{th} と等しい場合, 或いは T_{th} より小さい場合には (5) 式より, 次式が得られる。

$$0 \geq \frac{N_c - 2}{R_v} \quad (7)$$

すなわち, $N_c \leq 2$ となり, 分析は 2 チャンネルのマニホールドで十分であることを示す。このことから, 市販の六方バルブと四方バルブを用いて図 1 と同じ原理の 2-チャンネルマニホールドを設計した。そのシステムは図 2 に示す。

結果と考察

本分析法の特長は次のように述べることができる。

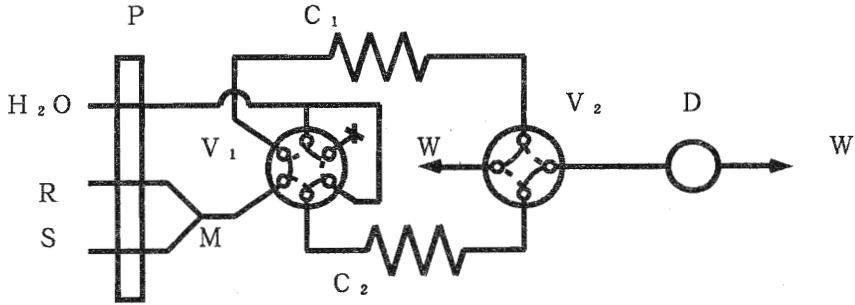


図2. 2-チャンネル定常状態流れ分析システム

P: ペリスタポンプ, R: 試薬溶液, S: サンプル, M: 混合点,
 V_1 と V_2 : バルブ, C_1 と C_2 : 反応コイル, D: 検出器, W: 廃液.

1. 測定操作を非分散で行うので分析感度はバッチ法と同じで, FIA法より一桁アップすることができる。再現性に関してはバッチ法に伴う個人差はなくFIA法に伴う分散の影響もないので, 両者よりも大幅に改良された。(図3)
2. 分析操作が簡単で, 自動化しやすく, 日常分析にもモニタリングにも適する。
3. 分析速度はバルブの回転速度, 送液速度及びバルブのチャンネル数により調節でき, 60検体/hを実現することは容易である。
4. 反応コイルの体積が定常状態シグナルを与える"臨界体積"を超えると, シグナルの高さはコイルの長さに依存しない。即ち分析精度はコイルの幾何的形狀に対して, 従来のPFIAのような厳密な制限がない。(図3)
5. 洗浄水の送液速度を大きくすれば, 回帰時間(ピークからベースラインに戻る時間)を著しく短縮でき, 図4の測定条件で, 約10倍の送液速度の違いでもシグナルの高さは影響を受けない。
6. 脱ガスなどの瞬間的なノイズや擬似信号が生じてても, 定常状態法なのでその信号を明瞭に区別できる。またポンプの脈動の影響も無視できる程になった。

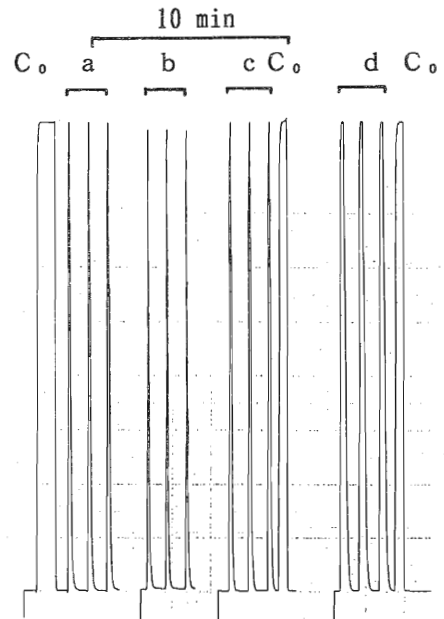


図3. シグナル高とコイル長の関係

$C_0 = 2 \times 10^{-5} \text{M}$ (methyl orange); 送液速度 = 4.2 (ml/min); コイル長さ = a: 40, b: 25, c: 50, d: 100 (cm).

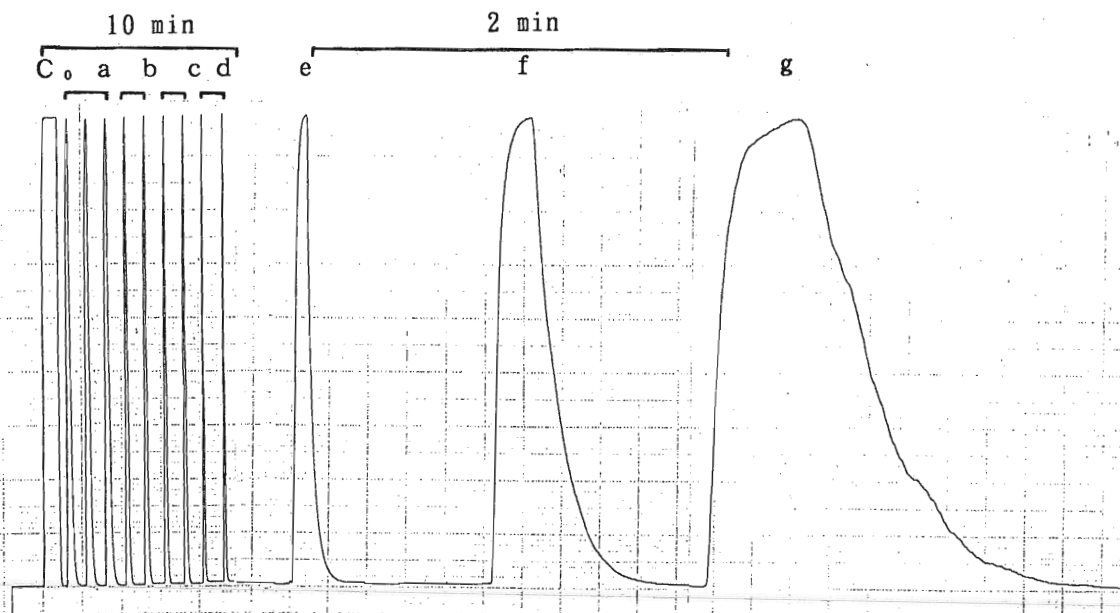


図4. シグナル高と送液速度の関係

$C_0 = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ (methyl orange); コイル長さ = 50 (cm),
送液速度 = a: 2.2, b: 4.2, c: 5.0, d: 7.4, e: 7.0, f: 2.0, g: 0.8 (ml/min).

本研究では、新規なバルブとマニホールドを用いることにより、サンプルの導入、反応溶液の貯蔵及びサンプルゾーンの検出を別々に行うことができるので、分析速度、分析感度及び再現性を同時に上げることができるようになった。連続流れ分析法の一つとしては、理想に近いパルスシグナルパターンを持ち、最高感度で、優れた再現性のある、日常分析に十分応え得る分析速度で分析が可能になった。

REFERENCES

- 1) L. T. Skeggs, *Anal. Chem.*, **38** (1966) 31A.
- 2) J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **78** (1975) 145.
- 3) J. Ruzicka and G. D. Marshall, *Anal. Chim. Acta*, **237** (1990) 329.
- 4) T. Korenaga, *Chem. Biomed. Environ. Instrum.*, **10** (1980) 273.
- 5) J. Ruzicka and E. H. Hansen, *"Flow Injection Analysis"*, Wiley, New York (1981).
- 6) C. Zhang, Y. Narusawa, and S. Kitahama, *Chem. Lett.*, in press.
- 7) J. Ruzicka and E. H. Hansen, *"Flow Injection Analysis"*, 2nd ed., Wiley, New York (1988), p. 26.

(1993年3月12日 受理)