

# 空気サンドイッチ式溶液導入型流れシステムを用いるヨウ化物イオンの接触定量

川久保 進, 梁 冰, 岩附 正明, 深沢 力

山梨大学工学部化学生物工学科,

〒400 甲府市武田四丁目3-11

---

Catalytic Determination of Iodide using Flow System based on Sequential Delivery of Air-Sandwiched Solutions into a Micro Cell

Susumu Kawakubo, Liang Bing, Masaaki Iwatsuki and Tsutomu Fukasawa

Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Faculty of Engineering, Yamanashi University, Takeda-4, Kofu-shi 400

In this paper, we describe about a catalytic determination of iodide using chlorpromazine - hydrogen peroxide indicator reaction by a new sequential delivery technique of solutions. Each  $150\mu\text{l}$  of a sample and two reactant solutions are introduced into a flow system gravitationally and by pumping. Each solution is sandwiched between two air zones, and delivered by air carrier into a micro cell where the solutions are mixed to start the reaction and its reaction rate is measured spectrophotometrically. The detection limit of iodide is 3 ng by the present technique, which value is about 60 times lower than that by a manual batch technique.

---

## 1. 緒言

接触分析法は高感度な方法であるが、反応試薬溶液を試験管等の中にとり反応させる方式（手操作バッチ方式）では再現性良く接触反応を進めるのに熟練を要する。細管内に流した反応試薬溶液中に試料溶液を注入しそのまま反応と吸光度測定を行う連続流れ分析方式（FIA方式）は、バッチ方式に比べて接触分析の精度や操作性に優れ、微量試料を扱えることから絶対感度は1桁ほどよくなる。しかし、細管内で起こる試料ゾーンの分散や反応試薬との混合による希釈などにより、目的成分濃度は注入時の1/10~1/30倍になり、相対感度としてはバッチ方式より劣ることになる。また、反応が平衡に達した後に測定する通常の静的吸光度法などに比べて接触分析は試薬濃度や反応温度の影響が大きく反応時間の制御も必要なため、送液ポンプの変動によって起こる反応試薬の混合比や反応時間の変化が問題となりやすかった<sup>1)</sup>。著者らは、試料溶液の不必要な希釈を避け反応条件の制御も厳密に行いやすい方式として、PTFE細管内に微量溶液を空気の間にはさんで導入し、空気キャリアでマイクロセルに送って反応させ反応速度を測定する分析方式、即ちSDAS (Sequential Delivery of Air-sandwiched Solutions) 方式を開発した<sup>2)</sup>。本研究では、SDAS分析方式の流れシステムをクロルプロマジン(CP) - 過酸化水素接触反応を用いるヨウ化物イオンの定量に応用し、その性能、長所、短所について研究した。

## 2. SDAS分析装置

SDAS分析装置はできるだけ費用がかからず簡易にすることを目標にFig. 1に示すものを作製した。空気キャリアはペリスタポンプ(P)で送り、注入した溶液をできるだけ安定した流速で短時間にセルに送れる空気キャリア流速として、溶液を注入しない場合で7ml/minとなるように調節した。特記しない限り配管は内径1mmのPTFE管を使用した。溶液注入部(V<sub>1</sub>~V<sub>4</sub>)は2つの二連六方バルブ(V<sub>1</sub>-V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>-V<sub>4</sub>)を用いて作製し、一定容量のPTFE管をそれぞれに接続して溶液を採取した。試料溶液(S)はPで吸入した。洗浄水(R<sub>1</sub>)や各反応試薬溶液(R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>)を入れた容器をバルブ(V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>4</sub>)から50cmの高さに置き落差を利用して注入した。R<sub>2</sub>とR<sub>3</sub>, Sを順次注入した後、Fig. 1の状態にし、Pを18±1sec作動させることにより各注入溶液を恒温水槽(T<sub>1</sub>, 25°C)に移動させ、そこで

1.5min放置して反応温度に保った。再びPを作動し各溶液を自作したアクリル樹脂製の混合兼吸光度測定セル (Fig. 2) に送り反応を開始させ、Pを停止させた。吸光度Aの測定 (対照は水) には、恒温セルホルダー ( $T_2$ ,  $25^\circ\text{C}$ ) を装着した島津UV-160A分光光度計を用いた。本分光光度計の演算機能を使って零次反応速度 ( $\tan\alpha = \Delta A / \Delta t$ ;  $\text{min}^{-1}$ ) を自動的に求めた。測定後 $V_8$ を点線の流路に切り換えセル内の溶液をPで排出した。次の測定の前に、水 ( $R_1$ ) を注入して上記と同様に送液と排出を行い流路やセルを洗った。なお、 $V_1 \sim V_4$ に注入される溶液量は端数となるが、装置を作製後、容量測定を行った結果生じたもので大きな意味はなく、 $R_1 \sim R_3$ , Sの注入液量はそれぞれ 492, 153, 157,  $156 \mu\text{l}$ であった。

### 3. 実験

SDAS分析装置 (Fig. 1) を使ってヨウ化物イオンを定量する場合、0.12 M 過酸化水素水 - 4.5 M 硫酸溶液を $R_2$ に、試料溶液 (1.5M硫酸溶液) をSに、9.0mM CP溶液を $R_3$ に入れ、 $V_2 \sim V_4$ に注入した。CP溶液は和光純薬工業製試薬 (塩酸塩)

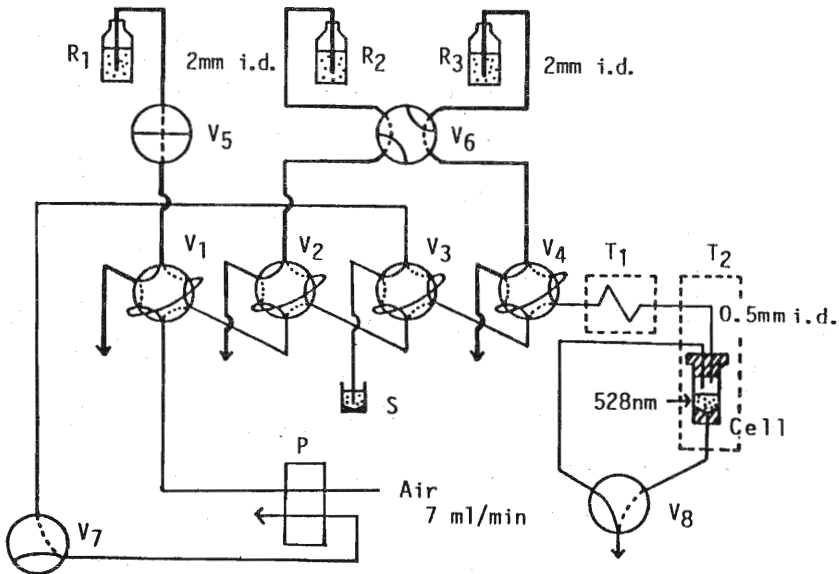


Fig. 1 SDAS system

$R_1$ : water;  $R_2, R_3$ : reagent solutions; S: sample;  $V_1 \sim V_8$ : valves;  
P: peristaltic pump;  $T_1$ : thermostated water bath ( $25^\circ\text{C}$ );  
 $T_2$ : thermostated cell holder ( $25^\circ\text{C}$ )

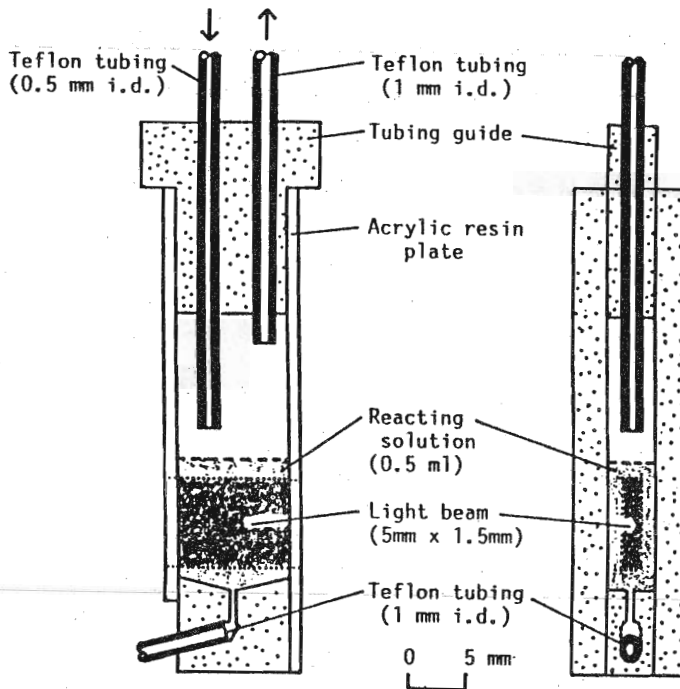


Fig. 2 Cell for mixing and absorbance measurement

を水に溶かしものを用いた。ヨウ化物イオン溶液は特級ヨウ化カリウム試薬を 1.5 M 硫酸に溶かして調製した。その他の試薬は市販特級品を使用し、水はイオン交換水を蒸留したものを用いた。注入した試料及び試薬溶液を恒温水槽 ( $T_1$ ) 内で放置して反応温度に保ち、再び、ペリスタポンプ (P) を作動させて恒温水槽から各溶液をセルに導き反応を開始させ、CP酸化生成物による呈色を 528 nm で測定した。反応開始時間は、セルへの送液を開始してから約 2min 後にあたる。CP の酸化反応を擬零次反応に近似し、その反応速度  $\tan \alpha$  を反応開始後約 1~2min の間で求めてヨウ化物イオンを定量した。

#### 4. 結果及び考察

##### 4. 1 SDAS 分析装置の作製

溶液をキャリアとする流れ分析方式では、細管内における試料ゾーンの分散を少なくするために、間欠的に空気泡を注入して試料や試薬溶液を空気分節する方式<sup>3)</sup>や反応溶液の前後のみに空気泡を入れキャリア溶液と混ざらないようにして流す方式<sup>4)</sup>がある。しかし、これら方式は、測定の邪魔になる空気を除くか

溶液通過時のみ測定するといった複雑さがある。また、特に反応時間を一定にする接触分析では、気泡の大きさは常に一定でなければならず、このためかなり安定な送液システムが必要になる。このような問題のない分析装置として、著者らは、注入した微量の試料や試薬溶液を空気の間にはさんで空気キャリアでセルに送り、そこで混合、反応および吸光度測定を行う流れシステムを試作した<sup>2)</sup>。

この試作装置は、溶液をマイクロシリンジで注入していたため強酸或は強アルカリ性溶液は扱えず、さらに改良の余地を残した。本研究で作製した流れシステムは (Fig. 1), 溶液すべてを耐薬品に優れるダイフロン製六方バルブを介して注入し、マイクロシリンジの使用を避けた。また、反応溶液を同時に注入させ操作を簡略化した。さらに、ポンプを多数使わなくすむように落差を利用して溶液を注入するなど自動分析装置としての改良も行った。各溶液 ( $R_1 \sim R_3$ ) を入れた容器と注入部 ( $V_1, V_2, V_4$ ) 間の落差を50 cmにすると約1secで注入できた。

#### 4. 2 溶液の混合状態

ヨウ化物イオンの定量に用いるCP溶液はPTFE管に濡れやすく、管内壁に溶液が残存してセルに達せず反応の再現性を悪くする恐れがあった。そこで、CPと過酸化水素を実際に反応させる前に、本装置 (Fig. 1) に  $R_2$  として3M 硫酸、Sとして0.055mMメチルオレンジ (MO) - 3M硫酸溶液、 $R_3$  として9.0mM CP溶液を注入、混合し、MOの吸光度を463nmで測定して、MOの混ざり具合から溶液の混合状態を調べた (Fig. 3, 混合1)。また、CP溶液の代わりに水を注入し、PTFE管に濡れにくい状態での混合 (混合2) と比較した。

3つの溶液がセルに達する時間は、CPを流さない場合 (混合2) 15sec程度であり、CPを流した場合 (混合1) は約1 minであった。いずれの混合でも送液速度として十分速いが、CP溶液はPTFE管に濡れ易く、流れる途中で管内壁に付着し、付着した溶液が集まると細かい溶液ゾーンを形成して再び流れるという過程を繰り返しセルに達するので、溶液の移動に時間がかかると思われる。他の注入溶液 (S,  $R_2$ ) も流れる途中でCP溶液と混ざり合うため管内壁に付着し易くなる。混合1の1minから2minの間で見られるような吸光度の小さな変動は、Pを作動状態にしておくと2min以上経過しても続いた。セルへの溶液の流入を目視により観察したところ、僅かではあるがセルに溶液が入ることが原因であった。そこで、最後の溶液 $R_2$ の大半が入りきった時点、すなわちFig.1のポンプ (P) を作動させた後2minのところPを停止させ吸光度変化が現れないようにした。

ヨウ化物イオン定量の場合、 $R_2$ は反応試薬溶液であり、上記のようにセルへの流入が不完全であるとセル内で試薬濃度が一定にならない危険性がある。そこで、 $R_2$ のセルへの流入量を求めるため、最後に流入する溶液 $R_2$ を0.055mM MO- 3M硫酸溶液とし、Sを3M硫酸、 $R_3$ を9.0mM CP溶液として注入し、Pを作動させてセル直前で流出液を5 mlメスフラスコにとり、水で一定量にしMOの吸光度を測定した。一方、0.055mM MO - 3M硫酸溶液量を変え、他の溶液は装置へ注入量と同量とし、これらを5 mlメスフラスコにとり水で一定量とした後、MOの吸光度を測定してMO溶液量と吸光度の関係を求めておき、この関係を使って $R_2$ の流出量を繰り返し測定した。その結果、 $R_2$ の流出量は  $116 \pm 3 \mu\text{l}$  となり、注入量  $153 \mu\text{l}$  の24%前後が

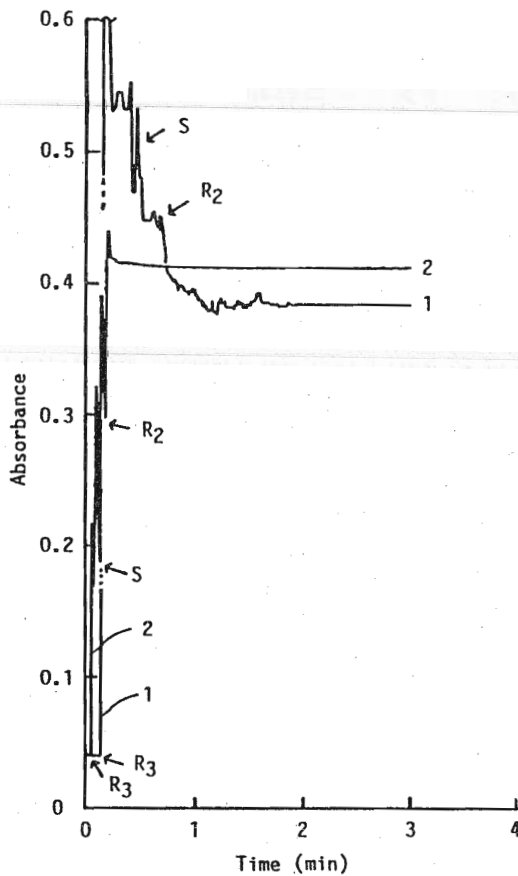


Fig. 3 Absorbance change of MO in mixing of three solutions in SDAS system

1 : mixing of 3M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ( $R_2$ ), 0.055mM MO - 3M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (S) and 9.0mM CP( $R_3$ ); 2 : mixing of 3M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ( $R_2$ ), 0.055mM MO - 3M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ (S) and water( $R_3$ ); MO : Methyl Orange

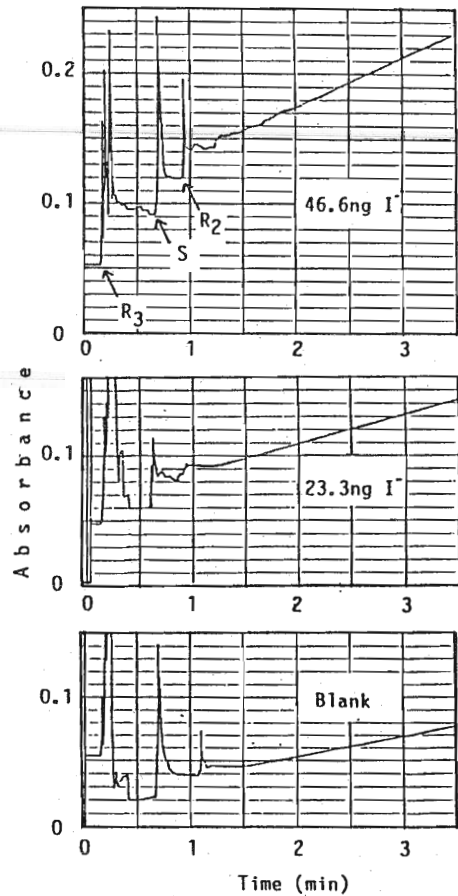


Fig. 4 Absorbance change in CP- $\text{H}_2\text{O}_2$  reaction

$R_2$  : 0.12M  $\text{H}_2\text{O}_2$  - 4.5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; S :  $\text{I}^-$  - 1.5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;  $R_3$  : 9.0mM CP

セルに入らず配管内に残ることが分かった。しかし、流出量は 3%の誤差以内で一定と見なせたので、実際の反応でも再現性があると思われた。CPの混合 (Fig. 3, 混合 1) について P停止後の吸光度を繰り返し測定した場合、吸光度の相対標準偏差は 0.8%となり再現性よく混合できることが分かった。なお、混合1, 2で一定になったところの吸光度が異なるのは、R<sub>2</sub>のセルへの流入量が違うことその他に、CPの有無でM0の吸光度が違うことにもよる。

#### 4. 3 ヨウ化物イオンの接触定量

CPを用いるヨウ化物イオンの接触定量には、リン酸酸性で臭素酸塩を使ってCPを酸化させる反応条件もあるが<sup>5)</sup>、本研究では硫酸酸性で過酸化水素を使って酸化させた。ピペットを使って試験管に各試薬溶液をとる手操作バッチ方式 (反応溶液量10ml) で試薬濃度の影響を若干検討し、文献<sup>5)</sup>と同程度のヨウ化物イオンが定量できる条件として、反応溶液中のCP、過酸化水素、硫酸の初期濃度をそれぞれ3 mM, 0.04M, 2M, 反応温度を25°Cとした。

Table 1 Comparison of analytical performance of SDAS and manual batch methods in catalytic iodide determination

	Present SDAS method	Manual batch method
Injected Sample (ml)	0.156	8.5
Total solution (ml)	0.466	10
Sensitivity		
Relative sensitivity ( $\tan \alpha / \text{ppb I}^-$ )	$2.4 \times 10^{-4}$	$4.6 \times 10^{-4}$
Absolute sensitivity ( $\tan \alpha / \text{ng I}^-$ )	$5.2 \times 10^{-4}$	$0.46 \times 10^{-4}$
Determination of iodide		
Added amount (ng)	23.3	1000
Standard deviation (ng)	1.0(n=5)	55(n=6)
Relative Standard deviation (%)	4.3	5.5
Detection limit* (ng)	3	170

$\tan \alpha$  :  $\Delta \text{absorbance} / \Delta \text{time} [\text{min}^{-1}]$

\*3 x (standard deviation)

手操作バッチ方式の反応条件と同じになるように各反応試薬をSDAS分析装置 (Fig. 1) に注入し反応させたときの吸光度の経時変化をFig. 4 に示す。反応開始直後、すなわち3つの溶液の混合が完了したところの吸光度は、ヨウ化物イオン量の増加とともに高くなる傾向があった。各溶液がPTFE管内を流れる時、溶液が管壁に残ると反応が進む原因となる。SDAS分析装置では各溶液を恒温水槽まで移動させ停止させて一定温度に保つので、この段階で多少とも反応が進むと考えられるが、検量線の直線性が悪くなるなどの問題は見られなかった。

バッチ方式と本SDAS方式でヨウ化物イオンを定量し比較した結果をTable 1に示す。SDAS方式の場合の相対感度 (検量線の傾き,  $\tan\alpha / \text{ppb I}^-$ ) はバッチ法と同程度となり、ほぼ同じ反応を約1/20の溶液量で行わせることができた。これにともなって、バッチ方式に比べ、絶対感度 ( $\tan\alpha / \text{ng I}^-$ ) は約10倍よくなり、23.3 ng I<sup>-</sup>を繰り返し定量した場合の標準偏差 $\sigma$ は1 ng (n=5) で1/60程度になった。絶対感度の向上に比べて、定量誤差が著しく改善されたのは、操作の自動化により分析誤差が小さくなったためと考えらる。SDAS方式によるヨウ化物イオンの検出下限 ( $3\sigma$ ) は3ngであり、検量線は少なくとも約100ngまで直線性を示した。試料溶液の希釈は1/3で済み、希釈率は従来のストップドフローFIA方式に比べても小さいと言える。

本研究の一部は平成2年度文部省科学研究費助成金によりなされた。付記して謝意を表す。

#### 文 献

- 1) S. Kawakubo, T. Katsumata, M. Iwatsuki, Tsug. Fukasawa and T. Fukasawa, *Analyst*, 113, 1827 (1988).
- 2) 川久保 進, 池田 誉司, 深沢 力, 日本分析化学会第49回分析化学討論会講演要旨集, p. 437 (1988).
- 3) M. Valcárcel and M. D. Luque de Castro, "Flow-Injection Analysis, Principles and Applications", Ellis Horwood Ltd, New York (1987).
- 4) C. Pasquini, *Anal. Chem.*, 58, 2346 (1986).
- 5) P. Viñas, M. Hernandez Cordoba and C. Sanchez-Pedreño, *Talanta*, 34, 351 (1987).

(1993年3月15日 受理)