

フローインジェクション分析法による微量元素の接触分析法

手嶋紀雄, 中野恵文[†], 河寫拓治^{*}

筑波大学化学系：〒305 つくば市天王台1-1-1

[†]鳥取大学教育学部化学教室：〒680 鳥取市湖山町南4-101

Catalytic determination of trace elements by flow injection analysis

Norio TESHIMA, Shigenori NAKANO[†] and Takuji KAWASHIMA^{*}

*Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry,
University of Tsukuba, Tsukuba 305*

[†]*Chemical Institute, Faculty of Education, Tottori University, Tottori 680*

Catalytic methods of analysis are very useful and applicable in trace analyses for elements. Flow injection analysis (FIA) is considered to be a suitable technique for the catalytic methods, since the reaction can easily be controlled by fixing the flow rate of solutions and the length of the reaction coil, yielding reproducible mixing. The use of the catalytic reactions in FIA methods is presented through representative examples.

1 はじめに

単位時間内の物質の変化量を測定して目的成分を定量する分析法は、反応速度法と呼ばれ近年注目されるようになった。反応速度法は、a)接触反応を利用する方法(接触分析法)^{1,2)}と、b)非接触反応を利用する方法³⁾に大別できる。この中で接触分析法は、目的成分(イオン)が化学量論的に働くのではなく、循環再生して主反応にあずかるために、測定条件を適当に選べば従来の分析法に比べて数桁も高感度に定量できるという利点がある。しかし、この分析法が反応速度を測定する方法であるため、反応時間や反応温度を厳密に設定し、しかも試薬の添加順序や添加時間までも設定しなければならないという

難点がある。

一方、連続流れ分析であるフローインジェクション分析法(FIA)は反応が平衡に達している必要はなく、反応の過渡的状态における吸光度などのパラメータを測定することにより目的元素の定量が行える点反応速度法と同じ性格をもつ。しかも反応管の長さにより反応時間を決め、一定流速で送液することにより試薬量を、フロー系の組み方により試薬の添加順序を正確に設定できるなど反応条件の制御が極めて容易である。このような特長は接触分析法の欠点を補うものであり、FIAは接触分析法に適したシステムといえる⁴⁾。

FIA法による接触分析法に関しては著者⁵⁾および本誌に掲載された山根⁶⁾による総説がある。本稿では本誌の総説⁶⁾以後の文献の中から酸化還元反応を指示反応とする方法を中心に興味あるものを選び紹介する。また、最初にすでに他誌²⁾で紹介した内容であるが接触分析法一般について述べ、次に接触分析法のFIAへの応用例について紹介する。

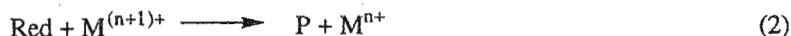
2 接触分析法の設計

a. 接触分析法の原理²⁾

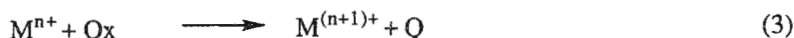
RedとOxが反応してPとQを生ずる反応(1)(指示反応、主反応)において



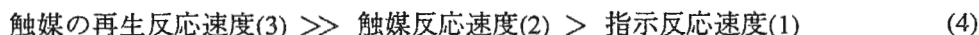
無機イオン $\text{M}^{(n+1)+}$ が接触作用を示すとすれば、次の反応(2)は反応(1)よりも速く進行する。



ここで生じた M^{n+} がそのままならば反応はいずれ停止してしまうが、 M^{n+} から $\text{M}^{(n+1)+}$ を再生する反応(3)を組み込めば、 $\text{M}^{(n+1)+}$ が再生されることによって



反応(2)が進行し、反応(1)が触媒されることになる。反応(1)、(2)および(3)の間に



の関係があれば、触媒は常に再生されて反応(2)が進行するので、Redの減少速度あるいはPの生成速度を測定することにより、 $\text{M}^{(n+1)+}$ の濃度を求めることができる。また、目的によってはRedやOxの定量も可能となる。

b. RedとOxの選択

反応(1)におけるRed(還元剤)としては、有機化合物が最も多く、酸化されることによ

て発色したり退色したりするものが用いられる。Ox(酸化剤)としては、過酸化水素、塩素酸塩、臭素酸塩、ペルオキシ二硫酸塩、溶存酸素などが用いられる。これらの酸化剤は、有機化合物を酸化するのに十分高い酸化還元電位を有するにもかかわらず、その酸化速度は小さく、一方 M^{n+} から $M^{(n+1)+}$ への酸化は極めて容易に行うことができるものである。また、反応(3)より明らかなように、 M^{n+} から $M^{(n+1)+}$ への酸化が速やかに進むのであれば、 M^{n+} も $M^{(n+1)+}$ と同じように定量することができる。

有機化合物を還元する反応も接触分析法で利用することができる。この場合の還元剤としては、次亜リン酸、チオ尿素、ヒドロキシルアミンなどが用いられるが、酸化反応に比べれば研究例は多くない。

c. 活性化剤の利用

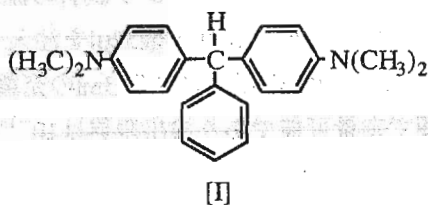
接触反応において通常はマスキング剤として作用する各種の配位子の共存により、金属イオンの接触作用が著しく増大することがある。このことを利用して一段と高感度な接触分析法を開発することができる。この増感作用を呈する物質は活性化剤(activator)とよばれ、特定の金属の接触作用に対して大きな活性化作用を示すことから、分析化学的には選択性の向上にもつながる、その利用と作用機構の解明に大きな関心もたれている。

活性化剤として、ピリジン、2,2'-ビピリジン、1,10-フェナントリン、1,2-ジヒドロキシベンゼン-3,5-ジスルホン酸(Tiron)、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)などが知られている。これらの活性化剤は金属イオンと錯形成することにより金属の有効電荷を増大させ、その効果が基質分子内の結合切断を容易にするか、あるいは系の電位変化によって触媒の再生反応が容易になるなどの考えがあるが^{2,4,5,7-9)}、詳細については未だ不明の点が多い。活性化剤を利用することにより現在のところ 10^{-9} – 10^{-10} M程度の微量元素の定量が可能である。しかし、活性化剤の濃度が高くなると反対に阻害剤(inhibitor)として作用するので注意しなければならない。

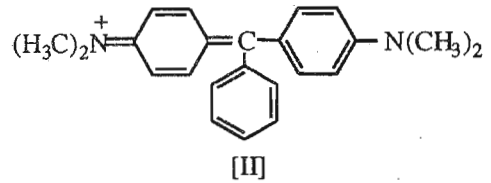
3 応用

a. 鉄

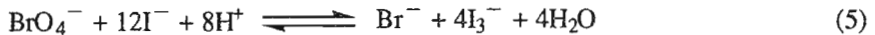
種々の色素生成反応が鉄によって接触作用を受けることが知られている。ロイコマラカイトグリーン[II]の過酸化水素あるいはペルオキシ二硫酸塩による酸化反応は鉄(II,III)によ



て促進され、青緑色のマラカイトグリーン [II] を生成する ($\lambda_{\max} = 618 \text{ nm}$)。0.1–1.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ の濃度範囲の鉄(III)の定量が行われているが¹⁰⁾、Mullerら¹¹⁾は同じ反応系に1,10-フェナントロリン(phen)を活性化剤として添加することにより鉄(II)と鉄(III)の接触反応速度に差を生じさせ1–15 mg l^{-1} の鉄(II)と鉄(III)の分別定量を行っている。

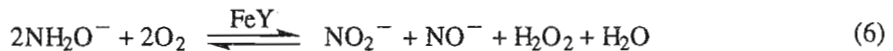


過臭素酸塩とヨウ素との反応(5)を指示反応とする接触分析法が検討された¹²⁾。



この反応はゆっくりした反応であるが、鉄(II)あるいは鉄(III)によって接触作用を受ける。この反応により生成した I_3^- の吸光度($\lambda_{\max} = 353\text{nm}$)を測定することによって ng ml^{-1} レベルの鉄の定量が行われている。検量線は10–100 ng ml^{-1} の範囲でよい直線性を示し、1時間あたり30検体の分析が可能である。

塩基性溶液中において、ヒドロキシルアミンの溶存酸素による酸化反応(6)は



Fe(III)-EDTA錯体(Fe-Y)が接触作用を示す¹³⁾。反応生成物である亜硝酸イオンをスルファニルアミドとN-(1-ナフチル)エチレンジアミンを用いるGriess反応によりアゾ色素とし、この色素の吸光度($\lambda_{\max} = 542\text{nm}$)を測定するものである。3.5–150 ng ml^{-1} の範囲の検量線が得られており、50および5 ng ml^{-1} の鉄(III)をそれぞれ11回繰り返し測定したときの相対標準偏差は2.4および6.7%であった。分析処理速度は1時間あたり60検体であり、天然水や白ワイン中の鉄の定量に応用されている。

過酸化水素存在下におけるルミノールの化学発光反応に対する鉄(II)の接触作用を利用し極微量の鉄(II)が定量されている¹⁴⁾。フローシステムをFig. 1に示す。感度上昇のために8-キノリノール-5-スルホン酸を固定化したガラスビーズをイオン交換カラムに充填し、オンライン接続している。鉄(II)試料はポンプによりカラムに送られ、3mlを充填したところで三方バルブにより試料の流れから水のキャリアー溶液の流れに切り替える。ここに注入バルブより塩酸52 μl を注入し、濃縮された試料を検出器に導入するものである。1検体の分析速度は試料3mlの充填時間2分を含んで5分であるが、10–70 ng ml^{-1} の範囲で定量可能であり検出限界は 10^{-13} M ($s/N = 2$)と高感度である。

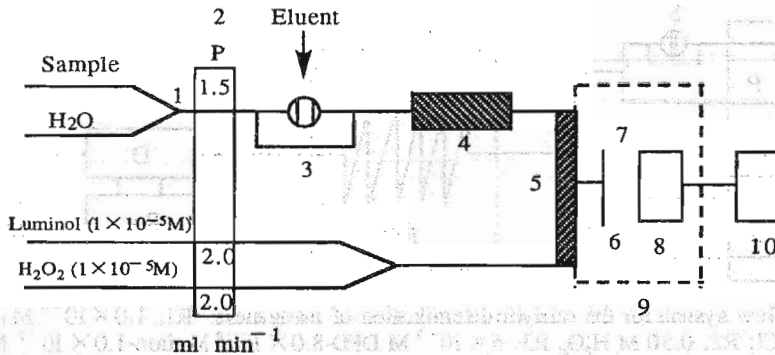
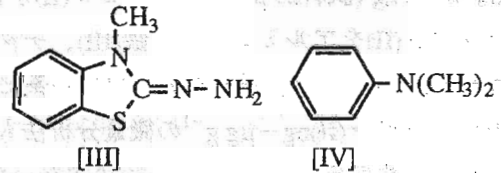


Fig. 1 Schematic diagram of CL-FIA system for on-line preconcentration using 8-quinolinol-5-sulphonic acid column: 1 3-way valve; 2 peristaltic pump; 3 injection port; 4 column with immobilized chelator; 5 perspex T-piece; 6 waste; 7 coiled flow cell; 8 photomultiplier tube; 9 light-tight box; 10 recorder.

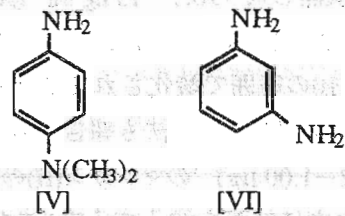
b. マンガン

過酸化水素の存在下、3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン(MBTH)[III]と*N,N*-ジメチルアニリン(DMA)[IV]の酸化カップリング反応はマンガン(II)によって著しく促進され、青紫色の色素($\lambda_{\max} = 590\text{nm}$)を生成する¹⁵⁾。この系にphenとクエン酸塩を活性化剤として用いることにより $2-30 \text{ ng ml}^{-1}$ のマンガン(II)の定量が可能になった。環境標準試料リョウブ、クロレラおよび茶葉



(NIES No. 1, No. 3およびNo. 7)中のマンガンの含量を測定し、保証値とよい一致を示している。

N,N-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン[V]と*m*-フェニレンジアミン[VI]は過酸化水素の存在下で酸化カップリングし、青色のインダミン色素($\lambda_{\max} = 650 \text{ nm}$)を生成する¹⁶⁾。この反応を利用しFig. 2に示すフローシステムを用いて $0.05-1.0 \text{ ng ml}^{-1}$ のマンガン(II)が定量された。この系ではトリエチレンテトラミン(trien)とTironを活性化剤として使用している。天然水中のマンガンの定量に応用されたが、試料は0.1 Mの塩酸で希釈する他は前処理を必要とせず、黒鉛炉原子吸光法による値と一致した。



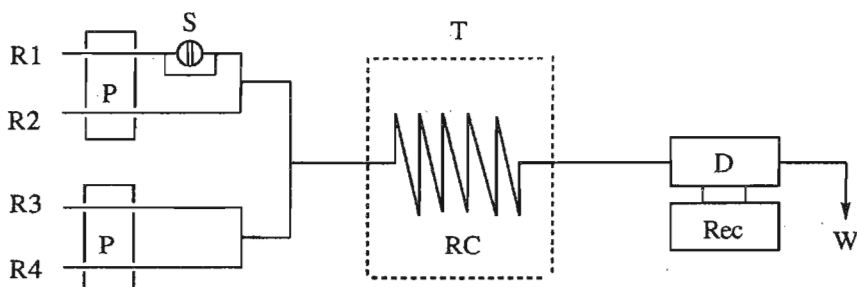
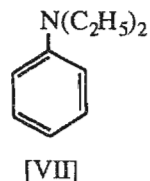


Fig. 2 Flow system for the catalytic determination of manganese. R1, 1.0×10^{-3} M or 0.1 M HCl; R2, 0.50 M H_2O_2 ; R3, 6×10^{-3} M DPD- 8.0×10^{-4} M tiron- 1.0×10^{-2} M L-cysteine; R4, 3.0×10^{-3} M PDA- 8.0×10^{-3} M tiron-0.4 M NH_3 ; P, micropump (0.8 ml min^{-1}); S, manganese(II) sample ($183 \mu\text{l}$); T, thermostated bath ($35 \pm 0.1^\circ\text{C}$); RC, reaction coil ($8 \text{ m} \times 0.5 \text{ mm i.d.}$); D, spectrophotometer (650 nm); Rec, recorder; W, waste (pH 9.7-9.9).

マラカイトグリーン[III]の過ヨウ素塩による酸化反応(退色)はマンガン(II)によって接触的に促進される。この反応を利用したマンガン(II)のFIA法¹⁷⁻¹⁹⁾が数多く報告されている。0-2 ng (試料20 μl 中)のマンガン(II)が1時間あたり8検体の分析速度で定量された¹⁷⁾。マンガン(II)をアルミニウム、鉄(III)、チタンなどの妨害イオンから分離するためにマイクロサイズのイオン交換カラムをフロー系に組み込み、高純度のチタン、シリコン、鉍酸中のマンガン(II) $\text{ng}-\mu\text{g g}^{-1}$ の微量分析法も開発されている¹⁸⁾。Quinteroら¹⁹⁾は、ストップフロー法を用いるマンガン(II)の接触分析法を検討している。バッチ法やFIA法と比較して感度が高く、応用性に優れ、サンプル処理量が速い結果を得ている。ここでは反応系に活性化剤としてニトリロ三酢酸(NTA)を用いることで、定量範囲が $0.5-100 \text{ ng ml}^{-1}$ (NTA無し)から $0.1-15 \text{ ng ml}^{-1}$ (NTA有り)に改善された。

また、Zolotovら²⁰⁾により、*N,N*-ジエチルアニリン[VII]が過ヨウ素酸塩によりpH6.86から7.10の範囲で酸化されることを利用したマンガン(II)のストップフロー法も報告されている。この方法では、 $0.02-1.00 \mu\text{g l}^{-1}$ のマンガン(II)の定量が可能である。また、試水中に試薬を注入するFIA法をストップフロー法に応用し、海水中のマンガンの連続定量に応用された²¹⁾。この方法では 0.02 ng l^{-1} から 1.0 ng l^{-1} のマンガン(II)を定量することが可能であるが、海水のマトリックスの影響を除去し、分析の感度を上げるためには、前処理としてマンガン(II)の分離、濃縮が必要とされる。さらにこの系に前濃縮カラムをフロー系に組み込むことにより、試料の前処理を必要としないFIAシステムを開発し報告している²²⁾。この方法により、 $20 \mu\text{g l}^{-1}$ から 10 ng l^{-1} のマンガン(II)が定量可能である。

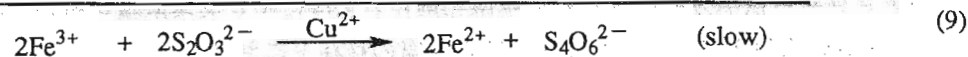
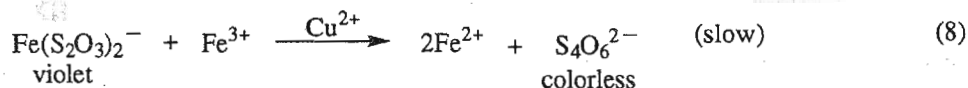
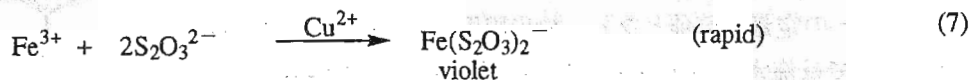


塩基性溶液中におけるTironの過酸化水素による酸化反応を指示反応としたマンガン(II)の接触分析法がストップフロー法により検討された²³⁾。phenが活性化剤として用いられ、 10^{-7} Mオーダーのマンガン(II)が1時間あたり40検体で定量された。

c. 銅

MBTH(III)とDMA(IV)は、過酸化水素の存在下で銅イオンによっても接触作用を受ける。この反応によって生成する青紫色の色素(590 nm)の吸光度から ng ml^{-1} レベルの銅(II)が定量された(検出限界 0.05 ng ml^{-1} ($s/N=3$)²⁴⁾。銅(II)イオンの活性化剤としてポリピリジン類(2,2'-ピリジン(bpy)、phen、2,2':6',2"-ターピリジン(terpy)、2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリン($\text{Me}_2\text{-phen}$)、ピリジン(py))の作用について検討されている。活性化剤としての効果は $\text{phen} \sim \text{bpy} \gg \text{Me}_2\text{-phen} > \text{py}$ であり、terpyについては活性化効果が全く見られていない。この効果について、これらポリピリジン類と銅(I)および銅(II)との錯形成の安定度定数から考察している。

酸性溶液中での鉄(III)とチオ硫酸イオンとの反応が銅(II)イオンによって触媒されることを利用したFIA法による銅(II)の定量法が報告されている²⁵⁾。鉄(III)とチオ硫酸イオンとの反応により、525 nmに吸収極大をもつ紫色の錯体を生成する(反応(7))。この反応

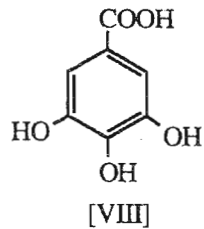


は速いが、生成した錯体はさらに鉄(III)とゆっくり反応して分解し、生成物は無色となり吸光度が減少する。反応(8)の速度は、触媒である銅(II)イオンの濃度に比例するため、525nmにおける吸光度の減少(負のFIAシグナル)から、銅(II)の定量が可能となる。0-180 ng(試料注入量 100 μl)の銅(II)が1時間あたり40検体の分析速度で定量された。なお、100 ngの銅(II)を5回繰り返し測定したときの相対標準偏差は3%である。また同一の反応系において鉄(III)は鉄(II)還元されるが、そのさいの還元電流の変化を測定検出し、触媒である銅(II)を間接定量する方法も報告されており、血漿中の銅(II)の定量に応用されている²⁶⁾。

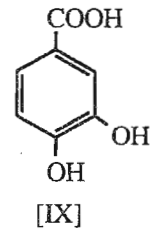
d. コバルト

Tironは各種金属イオンの活性化剤として利用されるが過酸化水素によるTironの酸化反応を利用するコバルトの定量法が分節法により検討されている²⁷⁾。ここでは、10–500 pg ml^{-1} のCoが定量され、試料処理速度は1時間あたり40検体であった。10および100 pg ml^{-1} のコバルトを定量する際の相対標準偏差はそれぞれ3% ($n = 10$)および1% ($n = 10$)であり検出限界($s/N=3$)は3 pg ml^{-1} であった。本法により蒸留水、イオン交換水および海水中のCoの分析が試みられており、黒鉛炉原子吸光法による結果と良い一致が得られている。

没食子酸[VIII]と過酸化水素の反応を用いるコバルトの接触分析が化学発光法により行われている。この反応を利用したFIA法では、8-キノリノールを固定化したカラムをオンライン接続し、アルカリ土類金属からのコバルトの分離と前濃縮の段階を含めた検討がなされている²⁸⁾。この方法は海水中のコバルトの定量に応用され、検出限界は8 μM であった。1試料の分析には、サンプルを流す時間4分を含めて8分を要した。

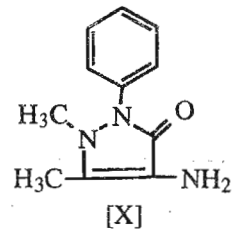


プロトカテク酸[IX]と過酸化水素の反応による吸光光度定量法に8-キノリノール固定化カラムと陽イオン交換樹脂を用いて前濃縮、分離を行う方法も報告されている²⁹⁾。0–0.08 ng ml^{-1} のコバルトの定量が可能となり、検出限界は0.005 ng ml^{-1} であった。ここでは海水、河川水中のCoの定量が行われている。



e. バナジウム

バナジウムの接触分析法においては酸化剤としてほとんど臭素酸塩が用いられる。バナジウム(IV,V)の接触分析法として、臭素酸塩の存在下における4-アミノアンチピリン[X]と*N,N*-ジメチルアニリン[IV]との酸化カップリング反応を利用する方法が報告されている³⁰⁾。フローシステムをFig. 3に示す。この反応においてTironが活性化剤として大きな作用を示し、著しい感度の増大が認められ0.05–2.0 ng ml^{-1} のバナジウムの定量が可能であり、海水および湖水中のバナジウムの定量に応用されている。反応のモニターは色素生成物の極大吸収波長である555 nmの吸光度を測定している。200 μl のサンプル注入で検出限界は20 pg ml^{-1} 、分析速度は1時間あたり30検体であった。1.0および2.0 ng ml^{-1} のバナジウム溶液をそれぞれ10回繰り返し注入した場合の相対標準偏差は0.8%および0.5%と再



現性も良好である。

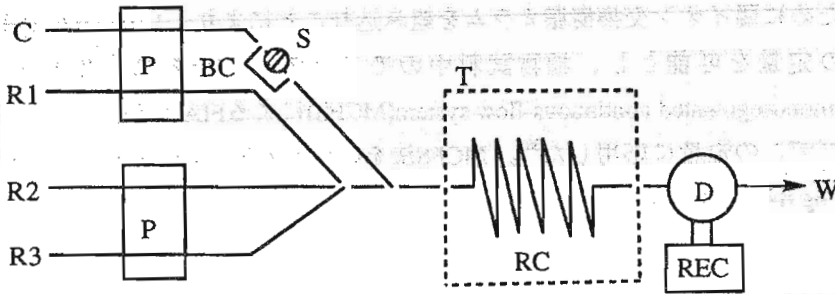
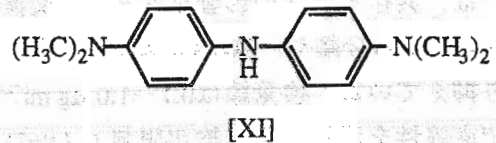


Fig. 3 Flow diagram of FIA for the catalytic determination of vanadium. C, carrier solution (0.1M HCl); R1, AA (4×10^{-3} M) / DMA (3.0×10^{-2} M) Tiron (0.1M) solution; R2, potassium Bromate solution (8.0×10^{-2} M); R3, buffer solution (0.15 M sodium formate / NH_3 / HCl); P, pump (0.8 ml min^{-1}); S, sample injector (sample volume $200 \mu\text{l}$); BC, bypass coil (3 m long, 0.25 mm i.d.); RC, reaction coil (10 m long, 0.5 mm i.d.); T, Thermostated bath (55°C), D, spectrophotometer (555 nm); Rec, recorder; W, waste (pH 2.6 - 2.7).

没食子酸[VIII]の臭素酸塩による酸化反応を利用するバナジウムの接触分析法では、種々の温度で定量範囲が検討されている³¹⁾。65°Cでは0.05-4 ng、30°Cでは0.2-20 ngと温度を選択することによって定量範囲を選ぶことができる。10 ngのバナジウムを定量する際の相対標準偏差は30°Cのとき4% (n=8)であった。

ビンドシエドラグリーンロイコ塩基[XI]の臭素酸塩による酸化反応を用いるFIA法が報告されている³²⁾。検出限界は21pMと非常に高感度であり、10 nMのバナジウムを繰り返し注入した際の相対標準偏差は0.6% (n=10)と良好であった。



f. モリブデン

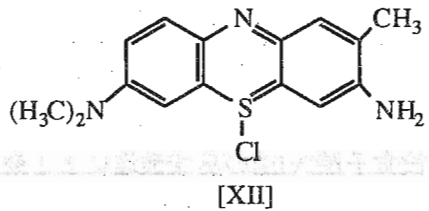
モリブデン(VI)の接触作用を利用したFIA法は、酸性溶媒中におけるヨウ化物イオンの過酸化水素による酸化反応に対するモリブデンの接触作用を利用した方法が多く、以下の例は全てこの反応を利用したものである。

ヨウ化物イオンの酸化反応により生ずる三ヨウ化物イオンが、フローセル中に装着された2本の白金線電極による電流測定により検出された³³⁾。モリブデン(VI)の検出限界は、 $1.2 \mu\text{g l}^{-1}$ であり検量線は 1 mg l^{-1} の範囲まで良好な直線性を示す。この方法は、温室の土壌成分中のモリブデンの定量に応用されている。一方、生成物である三ヨウ化物イオンの吸収極大波長350 nmにおける吸光度からモリブデン(VI)を定量する方法³⁴⁻³⁶⁾も報告

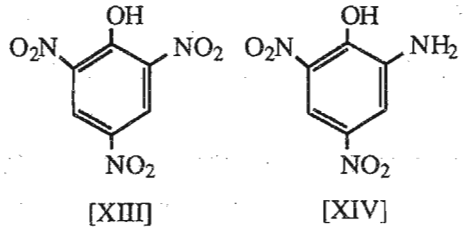
されている。Passendaら³⁴⁾は鉄(III)、クロム(VI)またはチタン(IV)などの共存イオンの影響を抑えるために陽イオン交換樹脂カラムを組み込むことにより、1.0–40.0 $\mu\text{g l}^{-1}$ モリブデン(IV)の定量を可能とし、植物試料中のモリブデンの定量に応用している。Andradeらはmonosegmented continuous-flow system(MCFS)によるFIA法を報告し³⁵⁾、植物試料中のモリブデンの定量に応用した³⁶⁾。MCFS法を応用したFIAでのモリブデン(IV)の検出限界は1.0 ng ml^{-1} である。

g. セレン

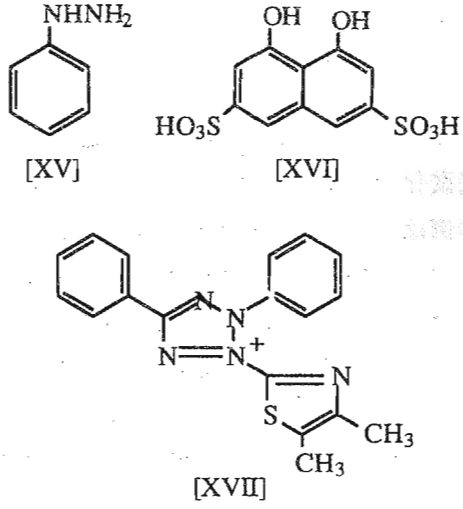
620 nmに極大吸収を持つ青紫色のトルイジブルー(TB)は硫化物イオンによって還元され、無色の還元体(HTB)[XII]となる³⁷⁾。この反応はセレンにより促進されるため、吸光度の減少量すなわち負のシグナルからセレンの定量が可能である。0.2–2 μg (80 μl 注入)のセレン(IV)が定量され、検出限界は80 ngである。鉱物および薬品中のセレンの定量に応用されている。



ピクリン酸[XIII]は硫化物イオンによって還元され、赤色のピクラミン酸[XIV](470 nm)を生成する³⁸⁾。この反応を利用したセレン(IV)の定量法では、共存イオンの影響をカチオン交換樹脂カラムによる分離や、EDTAによるマスクングにより抑えている。検量線は0.1–1.0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ の範囲で直線性を示し、また検出限界 (s/N=2) は 5 ng ml^{-1} である。



酸性溶液中、塩素酸塩の存在下でのフェニルヒドラジン[XV]とクロモトロブ酸[XVI]の酸化カップリング反応を利用したセレン(IV)の接触分析がFIA法により行われた³⁹⁾。この反応は擬一次反応速度式に従っており、検量線は0–50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ の範囲で良い直線性を示した。検出限界は0.52 $\mu\text{g ml}^{-1}$ であり、1時間あたり60検体の分析が可能である。さらにストップフロー法によっても検討され、サンプリング停止時間を30秒とすることで、感度を2.5倍まで高めることに成功した。なお、ストップフロー



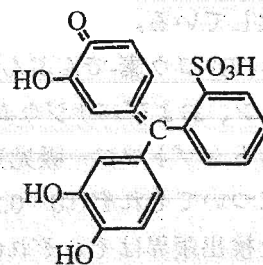
法によっても1時間あたり45検体の分析が可能であった。
 3-(4,5-ジメチル-2-チアゾリル)-2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウム[XVII]は、ジチオト
 レイトールによって還元され赤紫色(565nm)のホルマザンを生成する⁴⁰⁾。この反応はセレ
 ン(IV)の存在により促進されるため、この反応を利用するセレン(IV)のFLA法が検討され
 た。1.3 pM-1.2 nMのセレン(IV)を定量することができ、検出限界は0.63 pMである。標
 準試料NRC-TORT1ロブスター中のセレンの定量を行い、保証値と一致する結果を得た。

塩酸溶媒中における塩素酸塩とヒドラジンの反応に対するセレン(IV)の接触作用を利用
 した吸光度測定によるFLA法もある⁴¹⁾。この方法によりセレン(IV)、セレン(VI)共に1-
 12 $\mu\text{g ml}^{-1}$ の定量が可能であり、セレン(IV)とセレン(VI)の同時定量を可能にした。

h. フッ化物、臭化物およびヨウ化物イオン

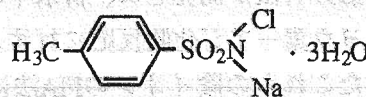
ヘキサメチレンテトラミン(HMTA)の存在下、Al(III)-エリオクロームレッドB(ERB)錯
 体の生成速度が微量のフッ化物イオンにより増大することを利用したFIA法が開発され
 ている⁴²⁾。この方法は生成物の蛍光強度を測定するものであるが、高感度で検出限界は
 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ 、検量線の直線範囲は 1×10^{-6} - 2×10^{-4} Mである。本法は水道水と天然水中
 のフッ化物イオンの分析に応用されている。

臭化物イオンの定量は、過酸化水素によるピロカテコールバイオレット(PV)[XVIII]の
 酸化反応における臭化物イオンの触媒効果を利用して行
 われている⁴³⁾。これは酸性溶液中においてPVが過酸化水
 素により酸化される際の550 nmにおける赤色が退色して
 いく反応を用いたものである。この系ではヨウ化物イオ
 ンも臭化物イオンと同様の触媒効果を示すため、反応コ
 イル長さや反応時間を調節することによってヨウ化物イ
 オンによる妨害を最小限とした。分析速度は1時間あた
 り45検体であり、定量範囲は10-600 $\mu\text{g l}^{-1}$ 、また検出
 限界は10 $\mu\text{g l}^{-1}$ であった。河川水、湖水、温泉水、海水
 中の臭化物イオンの定量に応用したところ、いずれも回収率は90-107%であり、満足
 のいく結果が得られている。



[XVIII]

弱酸性溶液中でクロラミンT[XIX]による4,4'-ビスジ
 メチルアミノジフェニルメタン(tetrabase)の酸化反応に
 おける触媒としてヨウ化物イオンを用いるFIA法があ
 る⁴⁴⁾。ヨウ化物イオンの存在下、tetrabaseは[XIX]によ
 り酸化され極大吸収波長600 nmの青色の色素を生成する。この吸光度は触媒であるヨウ

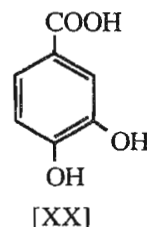


[XIX]

化物イオンの濃度に比例するので定量に用いることができる。定量範囲は $2.0 \mu\text{g l}^{-1}$ まで検出限界は $0.1 \mu\text{g l}^{-1}$ である。1時間に85検体の試料を処理できる。天然水中のヨウ化物イオンの定量が行われている。セリウム(IV)による砒素(III)の酸化反応における触媒としてヨウ化物イオンを用いた蛍光検出のFIA法も報告された⁴⁵⁾。Ce(III)-FIAシステムでは反応によって生成したCe(III)の蛍光を直接測定することによりヨウ化物イオンを定量でき、Ce(IV)-FIAシステムは酸化反応の後、残っているCe(IV)とキノリンを反応させて生じるキノンの蛍光により、間接的にヨウ化物イオンを定量している。

i. 複数元素の同時定量

フローシステムに陽イオン交換カラムを組み込むことによる、高純度アルミニウム中の極微量コバルトおよびマンガンの連続同時定量法が報告されている⁴⁶⁾。0.2M 酒石酸溶液(pH5.1)でマトリックスである大量のアルミニウムから極微量のコバルト、マンガンをそれぞれ分離しそのまま順次プロトカテク酸[XX]-過酸化水素反応系に導き、コバルト、マンガンの接触作用によって起こる480 nmの吸光度を測定した。10ppbまでのこれらの成分を迅速、簡便かつ高感度に定量でき、市販の高純度アルミニウムおよび純アルミニウム(99%以上)のコバルトとマンガンの分析結果は黒鉛炉AASおよびICP-AESの結果と良く一致している。



クロム(VI)-ヨウ素-でんぷん反応を利用した反応速度法による鉄、チタン、およびバナジウムの同時定量も報告されている⁴⁷⁾。

反応はストップフロー吸光光度法を用いてモニターされ、検量線は鉄、マンガン、コバルトについてそれぞれ0-0.2、0-3.1、0-1.8 mg ml^{-1} の範囲で直線の検量線が得られた。また検出限界はそれぞれ0.012、0.020、0.018 mg ml^{-1} であった。この方法はアルミニウム合金中のなどに含まれる、鉄、コバルト、バナジウムの定量に適用されている。

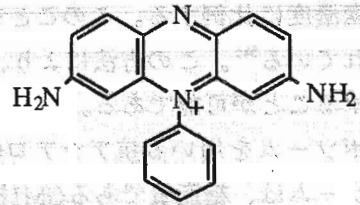
j. その他

アルカリ性においてp-ニトロベンズアルデヒドとo-ジニトロベンゼンの酸化還元反応をシアン化物イオンが触媒することを利用するFIA法による極微量シアン化物イオンの接触分析法が開発され、排水中のシアン化物イオンの定量に応用されている⁴⁸⁾。

ヨウ素-アジ化物反応に対する硫化物、チオ硫酸イオン、チオ尿素の接触反応を利用したこれらの陰イオンのFIA法による定量法がある⁴⁹⁾。この反応で生成する三ヨウ化物イオンの吸光度($\lambda_{\text{max}} = 350\text{nm}$)を測定することにより $0-1.0 \times 10^{-3}$ Mの硫化物イオン、 $0-8.0 \times 10^{-4}$ Mのチオ硫酸イオン、 $0-1.0 \times 10^{-3}$ Mのチオ尿素を定量することが可能で

ある。チオシアン酸イオンは、これらの条件下において接触作用を示さないため、チオシアン酸イオンの存在下でもチオ硫酸イオンを定量することができる。

蛍光をもつフェノサフラニン[XXI]の臭素酸イオンによる酸化反応が亜硝酸イオンにより触媒され蛍光強度が減少することを利用し、パッチ法による亜硝酸イオンの定量法及びストップフロー法が報告



[XXI]

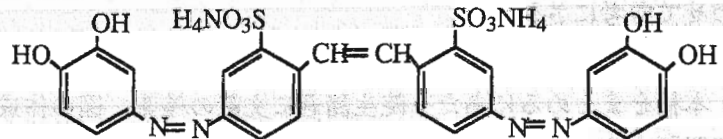
されている⁵⁰⁾。ストップフロー法では、46—460 ng ml⁻¹の亜硝酸イオンを定量することができ、水試料及び肉製品中の亜硝酸イオンの定量に応用された。さらにフローシステムに銅を被覆したカドミウムの還元カラムを導入することにより、硝酸イオンの亜硝酸イオンへの還元を行い、結果として硝酸イオン/亜硝酸イオン混合溶液中において同時定量が可能となった。

ルミノールと過酸化水素の化学発光反応の金属ポルフィリンによる接触作用が、アミノ酸により阻害されることを利用したアミノ酸の定量法が報告されている⁵¹⁾。この方法により、L-システイン、L-チロシン、L-トリプトファンとL-シスチンの4種のアミノ酸の定量が可能であり、各試料の検出限界は 6.8×10^{-8} (L-システイン)、 1.3×10^{-7} (L-チロシン)、 8.5×10^{-6} (L-トリプトファン)および 2.2×10^{-5} M(L-シスチン)である。

銅(II)はアミノ酸と錯形成することが知られているが、ジ-2-ピリジルケトンヒドラゾンまたはフェニル-2-ピリジルケトンヒドラゾン(PPKH)の蛍光物質への自動酸化反応に対する銅(II)の接触作用がアミノ酸の添加により加速されることが見いだされ、FIA法によるアミノ酸の定量法が報告されている⁵²⁾。アミノ酸の一つであるL-ヒスチジンは、 $1.26 - 12.6 \times 10^{-7}$ Mの範囲で定量可能である。

アルカリ性で1,2-ジニトロベンゼンはホルムアルデヒドの存在で還元され560 nmに極大吸収をもつニトロフェニルヒドロキルアミンジアニオンを生成する。この反応が、光受容体や光化学反応開始剤として使われる9,10-フェナントレンキノン(PQ)により触媒されることを利用したPQのFLA法が報告されている⁵³⁾。 $5.0 \times 10^{-8} - 5.0 \times 10^{-6}$ MのPQが1時間あたり20検体の処理速度で分析が可能であり、検出限界は 1.0×10^{-8} M(10 μl中で40 pg)である。

スチルバゾ[XXII]の過酸化水素による酸化反応はコバルト(II)イオンにより触媒されるが、酸化剤で



[XXII]

ある過酸化水素の濃度が低い場合は、[XXII]のコバルト(II)イオンによる接触反応は過酸化水素濃度に比例する。このことを利用し、FIA法による過酸化水素の微量分析法が開発されている⁵⁴⁾。この方法により、0.1-10 ppmの過酸化水素を1時間あたり最大75検体分析することが可能である。

リポソームを用いる抗アシアロGM1抗体の免疫測定へのFIA/接触分析法がある⁵⁵⁾。リポソームは、糖脂質であるGM1抗原、ジパルミトイルホスファチジルコリンとコレステロールを用い、内水層にマーカーイオンとしてモリブデン酸ナトリウムを封入して調製する。リポソーム表面で抗原/抗体/補体反応が起きるとリポソームが損傷を受け、チャンネル状の穴が生じ、モリブデン酸イオンが外液に流出する。モリブデン酸イオンは過酸化水素/ヨウ化物イオン酸化還元反応の触媒として働き、その反応速度はモリブデン酸イオン濃度に依存する。反応速度はFIA法により一定時間後の反応混合液中のヨウ化物イオン濃度減少ともなうイオン選択性電極の電位ピークの高さを測定して求められる。この方法により、 10^3 から 10^4 倍希釈の抗GAI抗体を定量する事が可能である。

4 おわりに

以上、主に酸化還元反応を指示反応としたFIA法による接触分析法について概観した。FIA法は反応時間が短いためバッチ法に比べ感度が低くなるのが普通であるが、条件を選択することにより 10^{-9} - 10^{-10} M程度の元素(イオン)の定量が可能である。すなわち、バッチ法の条件をそのままFIA法に適用するのではなく、最初から全ての条件の設定をしなければならないことを忘れてはならない。これまで報告されたFIA法による接触分析法はその実用性の面でも優れ、海水、河川水および湖沼水などの天然水や生体試料その他の実試料の分析に応用されている。接触分析法で感度の向上に大きな役割を占める活性化剤は、特定の元素の接触作用を著しく高め、指示反応には無関係であることから感度ばかりでなく選択性の向上も期待され、その作用機構の解明とともに研究課題の一つとなり得ると考えられる。

なお、反応速度、接触分析に関する総説については他誌上で紹介されている^{1-3,56)}。あわせて参考にされたい。

本稿をまとめるにあたり院生諸君に文献の検索、図の作成などの世話になった。謝して附記する。

文献

- 1) 米原範伸, 河寫拓治, *ぶんせき*, **1983**, 418.
- 2) 中野恵文, 河寫拓治, *ぶんせき*, **1987**, 317.
- 3) 田端正明, 中野恵文, 河寫拓治, *ぶんせき*, **1988**, 347.
- 4) 高島良正, 与座範政 編: “図説フローインジェクション分析法”, p.119 (1989), (廣川書店).
- 5) T. Kawashima and S. Nakano, *Anal. Chim. Acta*, **261**, 167 (1992).
- 6) 山根兵, *J. Flow Injection Anal.*, **3**, 77 (1986).
- 7) P. R. Bontchev, *Talanta*, **19**, 675 (1972).
- 8) H. A. Mottola, "*Kinetic Aspects of Analytical Chemistry*", p.76 (1988), (John Wiley & Sons).
- 9) D. Perez-Bendito and M. Silva, "*Kinetic Method in Analytical Chemistry*", p.87 (1988), (Ellis Horwood).
- 10) H. Muller and V. Muller, *Z. Chem.*, **26**, 142 (1986).
- 11) H. Muller, V. Muller and E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **230**, 113 (1990).
- 12) T. D. Yerian, T. P. Hadjiioannou and G. D. Christian, *Talanta*, **33**, 547 (1986).
- 13) A. Cladera, E. Gomez, J. M. Estela and V. Cerda, *Analyst*, **116**, 913 (1991).
- 14) A. A. Alwarthan, K. A. J. Habib and A. Townshend, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **337**, 848 (1990).
- 15) Y. Miyata, T. Hirano, S. Nakano and T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **7**, 97, (1991).
- 16) S. Nakano, M. Nozawa and M. Yanagawa, *Anal. Chim. Acta*, **261**, 183. (1992).
- 17) S. Kawakubo, T. Fukasawa, M. Iwatsuki and T. Fukasawa, *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 14, (1988).
- 18) C. Zhang, S. Kawakubo and T. Fukasawa, *Anal. Chim. Acta*, **217**, 23, (1989).
- 19) M. C. Quintero, M. Silva and D. P. Bendito, *Talanta*, **36**, 1091, (1989).
- 20) Yu. A. Zolotov, L. K. Shpigun, I. Ya. Kolotyrykina, E. A. Novikov and O. V. Bazanova, *Anal. Chem. Acta*, **200**, 21, (1987).
- 21) I. Ya. Kolotyrykina, L. K. Shpigun and Yu. A. Zolotov, *Zh. Anal. Khim.*, **43**, 223, (1988).
- 22) I. Ya. Kolotyrykina, L. K. Shpigun and Yu. A. Zolotov, *Analyst*, **116**, 707, (1991).
- 23) J. Yang, C. Ma and S. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **235**, 323, (1990).
- 24) 佐藤敬一, 岩村直美, 手嶋紀雄, 中野恵文, 河寫拓治, *J. Flow Injection Anal.*, **10**, 245

- (1993).
- 25) S. Kawakubo, T. Katsumata, M. Iwatsuki, T. Fukasawa and T. Fukasawa, *Analyst*, **113**, 1827 (1988).
 - 26) J. Michalowski and M. Trojanowicz, *Anal. Chim. Acta*, **281**, 299 (1993).
 - 27) K. Isshiki and E. Nakayama, *Talanta*, **34**, 277 (1987).
 - 28) C. M. Sakamoto- Arnold and K. S. Johnson, *Anal. Chem.*, **59**, 1789 (1987).
 - 29) T. Yamane, K. Watanabe and H. A. Mottola, *Anal. Chim. Acta*, **207**, 331 (1988).
 - 30) S. Nakano, M. Tago and T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **5**, 69 (1989).
 - 31) T. Fukasawa, S. Kawakubo, and A. Unno, *Anal. Chim. Acta*, **183**, 269(1986).
 - 32) M. Sugiyama and T. Hori, *Anal. Chim. Acta*, **261**, 189 (1992).
 - 33) M. Trojanowicz, A. Hulanicki, W. Matuszewski, M. Palys, A. Fuksiewicz, T. Hulanicka-Michalak, S. Raszewski, J. Szyller and W. Augustyniak, *Anal. Chim. Acta*, **188**, 165 (1986).
 - 34) L. C. R. Pessenda, A. O. Jacintho and E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **214**, 239 (1988).
 - 35) J. Carlos de Andrade, S. P. Eiras and R. E. Bruns, *Anal. Chim. Acta*, **255**, 149 (1991).
 - 36) J. Carlos de Andrade, R. E. Bruns, and S. P. Eiras, *Analyst*, **188**, 213 (1993).
 - 37) C. Martinez-Lozano, T. Perez-Ruiz, V. Tomas and C. Abellan, *Analyst*, **144**, 715 (1989).
 - 38) J. M. Hwang, T. S. Wei and Y. M. Chen, *J. Chin. Chem. Soc.*, **33**, 109 (1986).
 - 39) P. M. Shiundu and A. P. Wade, *Anal. Chem.*, **63**, 692 (1991).
 - 40) E. Aoyama, N. Kobayashi, M. Shibata, T. Nakagawa and H. Tanaka, *Anal. Sci.*, **7**, 103, (1991).
 - 41) P. Linares, M. D. Luque de Castro and M. Valcarcel, *Analyst*, **111**, 1405, (1986).
 - 42) V. Marco, F. Carrillo, C. Perez-Conde and C. Camara, *Anal. Chim. Acta*, **283**, 489 (1993).
 - 43) N. Yonehara, S. Akiike, H. Sakamoto and M. Kamada, *Anal. Sci.*, **4**, 273 (1988).
 - 44) N. Yonehara, S. Kozono and H. Sakamoto, *Anal. Sci.*, **7**, 229 (1991).
 - 45) A. Tanaka, K. Obata and T. Deguchi, *Anal. Sci.*, **2**, 197 (1986).
 - 46) 北村照夫, 山根兵, *分析化学*, **37**, 360, (1988).
 - 47) J. Wang and R. He, *Anal. Chim. Acta.*, **276**, 419 (1993).
 - 48) 櫻川昭雄, 木下康弘, 奥谷忠雄, *分析化学*, **40**, T41 (1991).
 - 49) O. F. Kamson, *Anal. Chim. Acta*, **211**, 299 (1988).
 - 50) T. Perez-Ruiz, C. Matinez-Lozano and V. Tomas, *Anal. Chim. Acta*, **265**, 103 (1992).

- 51) Yun-Xiang Ci, Jian-Ke Tie, Qin-Wei Wang and Wen-Bao Chang, *Anal. Chim. Acta*, **269**, 109 (1992).
- 52) H. Mori and K. Natsume, *Anal. Sci.*, **3**, 581 (1987).
- 53) N. Kiba, H. Suzuki, E. Goto and M. Furusawa, *Talanta*, **40**, 405 (1993).
- 54) 出口俊夫, 竹下良一, 田中明, 実政勲, *分析化学*, **37**, 248, (1988).
- 55) 片岡正光, 阿部浩久, 梅澤喜夫, 保田立二, *分析化学*, **40**, 697 (1991).
- 56) 阿部重喜, 遠藤昌敏, *ぶんせき*, **1992**, 623.