

膜分離プロセスを組み込んだFIA

青木 豊明

大阪府立大学工学部機能物質科学教室：〒593 堺市学園町1-1

Application of Membrane-Separation to Flow Injection Analysis

Toyoaki Aoki

Department of Applied Materials Science, College of Engineering,
University of Osaka Prefecture

1-1 Gakuen-cho, Sakai, Osaka 593, Japan

This paper reviews techniques for the membrane-separation in FIA. A majority of the cited references were obtained from analytical journals published between 1991 and 1993. In their studies, trace chemical species in air, volatile chemical species and metals in waters, and so on are separated respectively by using gas-permeable membrane, ion exchange membrane such as a Nafion, etc.

1. はじめに

長年、著者らは環境分析法に連続流れ分析法およびFIAを適用してきた。多くの場合、環境試料水は懸濁物や非常に多種類の化学種を含んでいる。これらの試料を直接、測定系に注入した場合、以上の共存物は大なり小なり、目的物の検出に干渉することになる。このような場合、試料水を含む流れと、反応溶液流

A

B



Fig. 1 Two types of membrane separator

A: tubular type, B: flat type, M: membrane.

れとを、膜を用いて分離するとともに、分析対象物を膜透過させる膜分離プロセスを流路内に挿入することにより懸濁物の影響を除くことができる。この膜分離器としては、図1に示した平膜型(B)のもの、二重管構造(A)のものが広く用いられている。

膜分離器の分離膜として、種々の機能性を有するものに替えることによりカチオン、あるいはアニオン、疎水性の有機物、揮発性の化学種を選択的に分離することができる。また、膜分離器内で流れを止める、ストップフロー法を適用すれば、目的物の移動量を増大させたり、反応が遅い系の場合、反応生成量を増大でき、結果として感度を増大することができる。さらに、試料水の流量に対して、膜を隔てた反応液の流量を小さくすれば、先に述べたことと同じ効果が期待できる。このように膜分離法は、種々の利点を有している。

膜分離法の流れ分析への適用例を歴史的にさかのぼると、Skeggs(1957年)¹⁾が透析膜を系内に導入したのが最初のものである。また、Carlson(1978年)²⁾は、連続流れ分析法に気体透過膜を導入し、検出器として電気伝導度検出器を用いた、水中の炭酸、およびアンモニアの測定法を報告している。この気体透過膜を1979年にBaadenhuijisenとSeuren-Jacobs³⁾が、最初にFIAに導入している。

この総説では、膜分離法を分析対象化学種の分離に適用したFIAもしくは、連続流れ分析法についての最近の報告例の代表的なものを紹介する。文献の検索には、本誌の1991-1993年までのFIA Bibliography⁴⁾を利用して頂いた。

2 気体透過膜を用いた水中の微量化学種の F I A

水中の硫化物は、嫌気的な条件下で生成し、種々の重金属と難溶性の塩を生ずることから、その動態は環境的な見地から重要である。Kubanらは、シリコン膜を気体透過膜に使用した、水中の硫化物の F I A を報告した⁵⁾。この方法の概略図を図2に示した。試料水をりん酸と混合 (MC1) し、硫化物を硫化水素に代え、分離器に送る。分離器は、内管が気体透過性のシリコン管 (内径0.4mm、外径0.6mm、長さ12cm) からなっている。この内部液として25mM水酸化ナトリウム溶液が用いられている。膜を透過した硫化水素は、内部液に溶解し、メチレンブルー法による発色の場合は、ジメチルー-p-フェニレンジアミン (R2) および第二鉄 (R1) の酸性溶液と混合され、その発色を745nmで測定し、定量される。

この方法のおもしろい点は、この内部液の送液を一定時間、停止することにある。図3には、この停止を1および2、4、6、8、10、15分おこない、その間、0.1ppmの硫化物を含む試料溶液を内管外に流した場合の測定結果を示している。停止時間に比例してピークが増大している。これは、膜を透過する硫化物量が、停止時間に比例して静止している内部液に蓄積されるためである。10分の停止時間での、この方法の検出限界は0.1ppbと彼らは報告している。

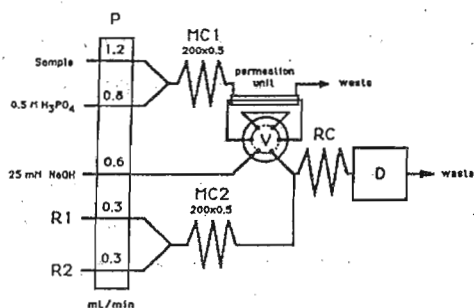


Figure 2 Schematic diagram of the flow injection manifolds: P; peristaltic pump; MC1, MC2, mixing coils (dimensions in millimeters indicated); V, injection valve; RC, reaction coil; D, detector; W, waste. For the NP method, R1 is 50 mM NaOH, R2 is 1 g/L sodium NP, RC is 250 × 0.5 mm, and D is 538 nm. For the MB method, R1 is 16 mM FeNH₄(SO₄)₂ in 0.1 M H₂SO₄, R2 is 2 g/L DMPD in 9 M H₂SO₄, RC is 2000 × 0.5 mm, and D is 745 nm.

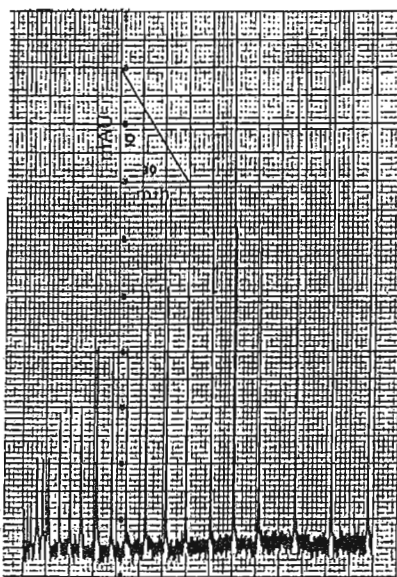


Figure 3 Recorded tracings for 100 µg/L sulfide pre-concentrated for 1, 2, 4, 6, 8, 10, and 15 min using the NP method and the manifold in Figure 1 (sample and H₃PO₄ flow rates, 0.4 and 0.2 mL/min, respectively). Note that the relatively high noise level is intrinsic to the detector used and is not due to the reaction system.

著者らは、図1の二重管構造の分離器を用いて、種々の環境中の微量化学種の連続流れ分析法の研究をおこなってきた^{6,7)}。これらの方法においては、気体透過膜として微孔性テフロン管(日本ゴアテックス製、内径1.0mm、外径1.8mm、長さ500mm)を用いた。最近、この方法を水中の炭酸の連続流れ分析に適用した⁸⁾。環境水中の炭酸は大気中の二酸化炭素と平衡にあり、炭酸の挙動は、現在、地球環境における温暖化の観点から注目されている。

報告した水中の炭酸の分析法の概略図を図4に示した。炭酸を含む試料水(S)は、0.5 M 硫酸(H)と混合され、溶液のpHはおよそ1になる。図5に示すように、このpH領域においては水中の重炭酸および炭酸イオンは炭酸に変わり、膜分離器(M)の内管の微孔性テフロン管の内側に炭酸と平衡にある二酸化炭素が透過する。内管内には水酸化ナトリウム溶液が流れている。この溶液に二酸化炭素がとけ込むことにより電気伝導度が変化する。この電気伝導度をD2で検出する。実際には、膜分離器に水酸化ナトリウム溶液が入る前に、その伝導度をD1でモニターし、出力としてD1-D2の差分として検出する。この差分方式を用いているので、水酸化ナトリウム溶液の貯蔵液が大気から二酸化炭素を吸収したり、何かの汚染で伝導度が変化した場合でも、それらの影響を最小限に抑えることができる。

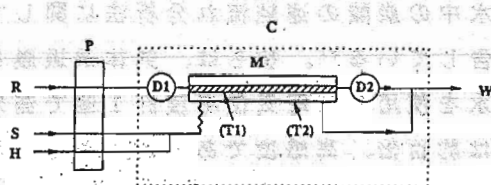


Fig. 4 Schematic diagram of continuous-flow system for determination of TIC in water. S = sample; H = 0.5 M sulphuric acid; R = 5 mM sodium hydroxide; M = membrane separation unit; T1 = microporous PTFE tube; T2 = PTFE; C = thermostat; D = electrical conductivity detector; P = peristaltic pump; W = waste.

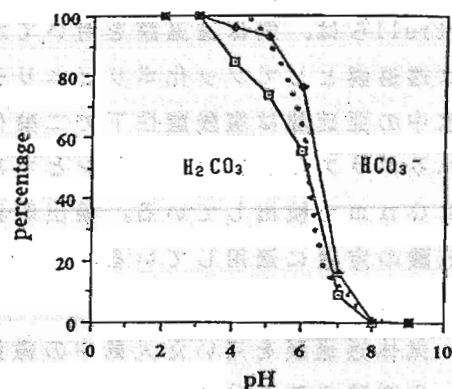


Fig. 5 Relative conductivity and calculated distribution (dotted line) of inorganic carbonate species in aqueous solution as a function of pH. \square = 0.3 mM TIC; \blacksquare = 0.6 mM TIC.

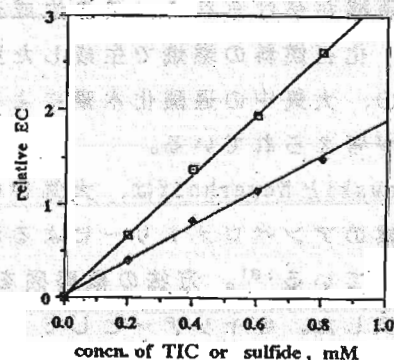


Fig. 6 Calibration graphs for (\square) TIC and (\blacklozenge) sulphide. Inner solution in separator and acidic reagent were 5.0 mM NaOH and 0.5 M sulphuric acid, respectively.

水中の炭酸の連続流れ分析法に関しては、先にも記したようにCarlsonがすでに報告している²⁾。彼らは、気体透過膜としてシリコン管を用い、内部液として蒸留水を使用して電気伝導度計1個で測定している。彼らの系に比べて、著者らの系は約百倍、高感度であった。ただこれらの方法では、嫌気的な環境条件で生成する硫化物も酸性領域で硫化水素に変わり、透過膜を透過し、干渉することになる。図6には、著者らの方法での炭酸と硫化物の検量線を示した。このような硫化物が共存するような試料水の場合、図4の硫酸溶液中にクロム(VI)を混合することにより、硫化物を酸化し、膜を透過できない化学種に変え、その干渉を除くことができた。

Bartroliらは、気体透過膜を用いて水中の亜硫酸のFIAを報告している⁹⁾。彼らは透過膜としてフッ化ポリビニリデンの平膜(幅2mm、長さ7cm)を使用した。試料水中の亜硫酸は塩酸酸性下で二酸化イオウに変わり、膜を透過し、膜の他方を流れるパラアミノアゾベンゼンとホルムアルデヒドの混合溶液と湿ざり、発色し520nmで検出している。検出限界は2ppmであり、この方法をワイン中の亜硫酸の定量に適用している。

3. 気体透過膜を用いた大気中の微量化学種の流れ分析

東ヨーロッパを中心に酸性雨が大きな社会問題になっており、その主な原因物質として硫酸が挙げられる。その生成過程として、化石燃料の燃焼で生成した亜硫酸ガスの、大気中の過酸化水素による湿式酸化が考えられている。

MatuszewskiとMeyerhoffは、大気中の過酸化水素のアンペロメトリーによる測定を報告している¹⁰⁾。方法の概略図を図7-Aに示した。キャリアーとして0.1Mリン酸緩衝液(pH7.2)を用い、サンプルインジェクターの部分に膜分離器(S)を装着し、そこに大気を一定時間流す。その後、膜内のリン酸緩

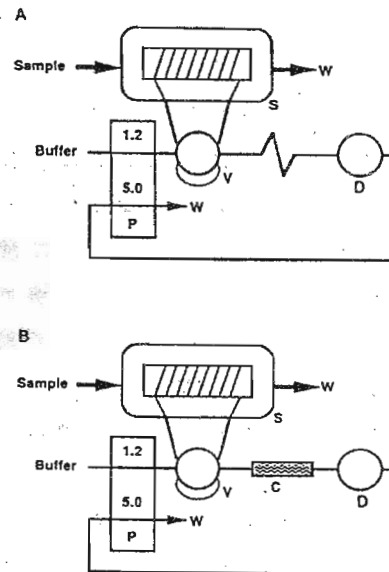


Fig.7 Manifold arrangements used for detection of gas-phase (A) hydrogen peroxide, and (B) sulfur dioxide and alcohols. S = glass chamber with coiled Celgard tubing; W = waste; P = peristaltic pump; V = six-port rotary injection valve; D = amperometric detector; C = controlled-pore glass enzyme reactor. Flow-rates are in ml min^{-1} .

衝液に濃縮された過酸化水素をバルブ (V) を切り替え、電気化学検出器 (D) に送り、+0.4 V で電解酸化し、その酸化電流を測定する。また、大気中のアルコールや亜硫酸ガスを測定する場合は、ラインに固定化酵素カラム (C) を導入した図 7-B に示した方法を用い、それぞれの酸化酵素により、過酸化水素に変換し、同様な検出法で測定している。

膜分離器の透過膜としては微孔性ポリプロピレン管 (内径 0.2 mm、長さ 200 cm) を用いている。大気の流量は 7.65 L/min でおくっており、2 分間のサンプリング時間での典型的なシグナルを図 8 に示した。気相中の過酸化水素濃度 0.1 ppb から 0.42 ppb まで、直線的な比例関係が得られている。

また、表 1 には大気中に共存すると予測される化学種の濃度と、過酸化水素 895 ppb の応答強度に対する相対値を示しているが、塩素が負に、亜硫酸ガスが正に反応している。これは、塩素が過酸化水素と反応し、過酸化水素濃度が減じたこと、また、亜硫酸ガスについては、それ自身も電解酸化されるためと考えられる。

Matuszewski と Meyerhoff は、以上の大気中の化学種以外にも、同様な方法で塩素と塩化水素の測定法についても報告している¹¹⁾。ここでは紙面の都合上、紹介するのはとどめる。

この大気中の過酸化水素の流れ分析に関しては、Zhang らも報告している¹²⁾。彼らは、生触媒としてペルオキシダーゼの代わりに、安価で手に入りやすい牛血清ヘマチンを用い、基質として p-クレゾールを使用し、過酸化水素との反応生成物である 2,2'-ヒドロキシ-4,4'-ジメチルフェニルケイ光を測定している。測定法の概略

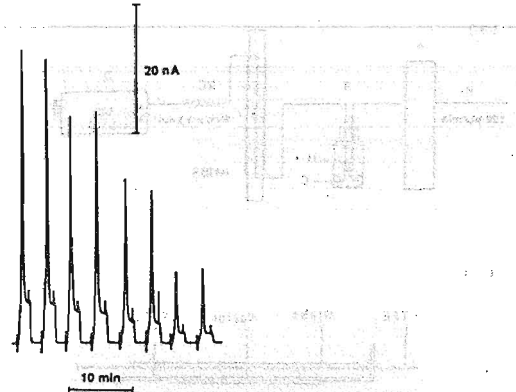


Fig. 8 Typical amperometric detector response to 0.10, 0.21, 0.31 and 0.42 ppbv of hydrogen peroxide using 2-min stopped-flow measurement scheme.

TABLE 1

Effect of various gases on the continuous-flow steady-state response of proposed system to 895 pptv hydrogen peroxide^a

Gas	Concentration (ppbv)	Signal change (%)
Cl ₂	112	-8.3
HCl	220	nc ^b
CO ₂	0.38%	nc ^b
NO ₂	138	nc ^b
SO ₂	70	+71 (+15.7) ^c
O ₂	21%	nc ^b

^a In a nitrogen stream at a total flow-rate of 15.3 l min⁻¹.
^b nc = No change. ^c For Nafion-modified Pt disk electrode as detector.

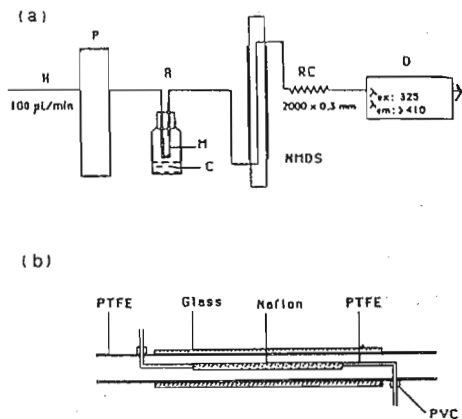


Fig. 9 (a) System schematic. H = Hematin reagent; P = peristaltic pump; R = membrane reactor (M = membrane, C = *p*-cresol); NMDS = Nafion membrane diffusion scrubber; RC = reaction coil; D = fluorescence detector. (b) Details of the NMDS.

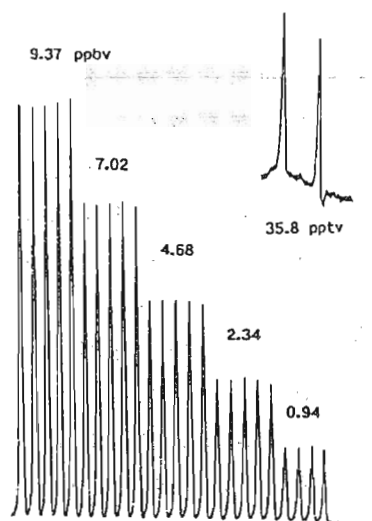


Fig. 10 Diagram for gas phase H_2O_2 ; The concentrations indicated are in units of 10^{-9} atm. The inset shows the S/N for 3.6×10^{-11} atm H_2O_2 .

図を図 9 - a に示した。ラインは 1 流路で、非常に簡便である。まず、ヘマチン（アンモニア溶液）を流し、メンブラン反応器（R）で基質のクレゾールを透過させる。ナフィオン気体透過管（NMDS）で大気中の過酸化水素を透過させ、反応コイル（RC）で反応後、ケイ光検出器（D）で検出している。NMDSの詳細図を図 9 - b に示している。ナフィオン管はPerma-Pure製の、サイズとしては内径0.7mm、長さ40cmのものを用いている。また、クレゾールを透過させる、メンブランとしてはAccurel製の内径0.2mm、長さ6cmの微孔性ポリプロピレン管を使用している。

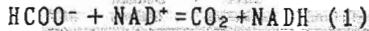
この方法で得られたFIAシグナルを図10に示した。この場合、試薬溶液の流量は0.1ml/min、大気の流量は200ml/minに設定している。以上の条件での、応答時間は3.55分で、検出限界は5 pptvであった。この方法を、実際の大気試料に適用し良好な結果を得ている。

4. 透析膜を用いたFIA

最初にも記したように、透析膜の流れ分析への適用はかなり以前から行われてきた。この透析膜と、FIAが短時間で測定できるという利点を組み合わせて、BlankensteinとKulaは、酵素活性の測定にこの系の適用性を調べている¹³⁾。

彼らは、酵素を含む試料として酵母を選び、ディジトニンとトリトンXで細胞膜を破壊し、その試料をFIAに注入している。適用した酵素系は、次の反応を

触媒するギ酸脱水素酵素である。



測定系の概略図を図11に示した。上で記した細胞膜を破壊した試料水を注入し、補酵素と基質を含むpH7.5リン酸緩衝液(R)と混合(MC)し、透析器に流入する。上式の反応で生成したNADHは、透析膜を透過しケイ光検出器で測定される。図内のAおよびCは、Brij35を0.05%含む、蒸留水と思われる。

この透析膜としては、酢酸セルロース(分子量20000で排除)を用いているが、透析器の大きさ等の詳しい記載はない。注入してからピークに達するまでの時間は、12秒と報告している。

ドナン透析法とICP法とを組み合わせ、水中の微量金属のFIAをKasthurikrishnanとKoropchakが報告している¹⁴⁾。この方法も、非常に簡便で、ICPへの試料インジェクターに図12¹⁵⁾に示したナフィオン管を付けたものである。このカチオン交換チューブとしては、Perma-Pure製の内径0.33mm、外径0.51mm、長さ95cmのナフィオン811を用いている。この内部液に、0.2M硫酸マグネシウムと0.5mM硝酸アルミニウムとの0.1M硝酸溶液を使用し、試料水を350ml含むビーカーにナフィオン管を3分間浸し、ICPに導入し、金属を測定している。

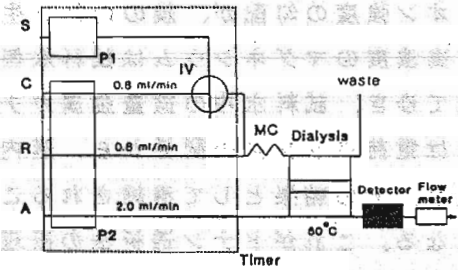


Fig.11 Experimental set-up for measurement of formate dehydrogenase in a permeabilized cell sample of *Candida boidinii* via flow-injection analysis. IV, injection valve; MC, mixing coil; C, carrier; R, reagent. Connections were made with PTFE tubing (0.8 mm i.d.). A fluorescence detector with $\lambda(\text{ex})$ 460 nm and $\lambda(\text{em})$ 340 nm was employed. The dialysis module was thermostated at 50°C.

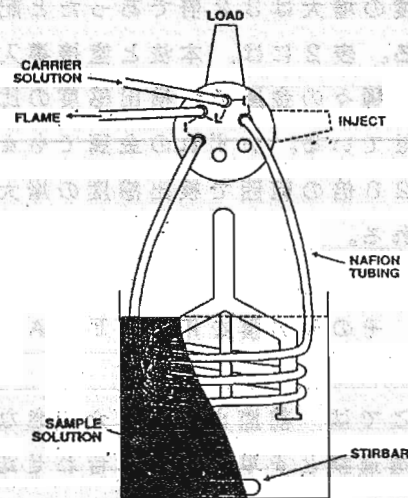


Figure 12 Diagram of the flow injection Donnan dialysis cell.

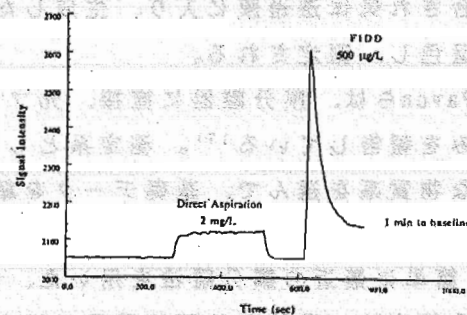


Figure 13 Typical raw data for Donnan dialysis (500 $\mu\text{g/L}$) and direct aspiration (2 mg/L) of Pb^{2+} with a 3-min dialysis and room temperature sample solution using a Mg^{2+} receiver.

イオン強度の勾配が、膜の内外で生じ、高濃度のマグネシウムは試料水側に出てゆき、試料水中の微量金属カチオンは電荷バランスの関係から、膜内に入り、その結果として濃縮されることになる。これがドナン透析法の原理であるが、実際に、試料水中の鉛の測定に適用した結果を図13に示した。従来の直接、試料水のICPへの導入にくらべ、ピーク高さから計算した検出感度の増大は32倍であったと記している。表2には、本法と直接導入法での、種々の金属での検出感度の比較を載せている。いずれの金属でも40-120倍の範囲で検出感度の増大がみられる。

5. その他の膜を用いたFIA

ここでは、前節までに紹介できなかった研究を簡単に記す。Stadenは透析膜と気体透過膜とを単純に組み合わせ、水中の塩化物とアンモニアの同時定量FIAを報告している¹⁶⁾。試料水はまず、透析膜に入り、この膜を透過した塩化物はチオシアン水銀を用いる比色法で測定される。透析器を出た試料水はアルカリと混合され気体透過膜に入り、生成したアンモニアガスは膜を透過し、混合指示薬を呈色し、測定される。

Pavonらは、膜分離器に直接、光ファイバーを付け、短時間で測定する基礎的な試みを報告している¹⁷⁾。測定系としては、光反射と化学発光系の、それぞれ典型的な物質系を選んで、基礎データを紹介している。

簡単に最近の膜分離法を用いた、流れ分析法を概説した。以上述べた以外にも、膜分離法は、単純な物理的手段ではあるが様々な利点を持っており、FIA法等の応用の幅を広げることが期待できると考えている。

Table II. Comparison of Detection Limits*

element	wavelength (nm)	limit of detection ($\mu\text{g/L}$)		
		direct aspiration	Donnan dialysis	SEF
Ag(I)	328.06	6.5	0.06	120
Cd(II)	214.43	6.42	0.10	64
Cr(III)	205.55	19.00	0.5	38
Cu(II)	324.75	4.45	0.04	113
Fe(II)	238.20	8.2	0.13	70
Ni(II)	221.60	22.9	0.3	70
Pb(II)	220.35	62	0.8	85
Ti(II)	190.86	162	1.82	108
Zn(II)	213.80	4.5	0.06	96
La(III)	333.75	13	0.28	45
Nd(III)	401.23	42	0.84	50

*The SEFs obtained here are with 8-min dialysis at room temperature (21-23 °C) using strontium receiver for copper and magnesium receiver for all other elements. SEF, signal enhancement factor. Plasma operating conditions are mentioned in the Experimental Section. The valencies of the cations are given in parentheses.

引用文献

- 1) L.T.Skeggs, Jr., Am. J. Clin. Pathol., 28, 311 (1957).
- 2) R.M.Carlson, Anal. Chem., 50, 1528 (1978).
- 3) H.Baadenhuijsen, H.E.H.Seuren-Jacobs, Clin. Chem., 25, 443 (1979).
- 4) a. Y.Baba, J. Flow Injection Anal., 8, 183 (1991).
b. Y.Baba, J. Flow Injection Anal., 9, 97 (1992).
c. Y.Baba, J. Flow Injection Anal., 9, 216 (1992).
d. H.Wada, H.Yamada, A.Yuchi, J. Flow Injection Anal., 10, 114 (1993).
d. A.Yuchi, J. Flow Injection Anal., 10, 295 (1993).
- 5) V.Kuban, P.K.Dasgupta, J.N.Marx, Anal. Chem., 64, 64 (1992).
- 6) T.Aoki, S.Uemura, M.Munemori, Anal. Chem., 55, 1620 (1983).
- 7) T.Aoki, Environ. Sci. & Technol., 23, 46 (1988).
- 8) T.Aoki, Y.Fujimaru, Y.Oka, K.Fujie, Anal. Chim. Acta, 284, 167 (1993).
- 9) J.Bartroli, M.Escalada, C.J.Jorquera, J.Alonso, Anal. Chem., 63, 2532 (1991).
- 10) W.Matuszewski, M.E.Meyerhoff, Anal. Chim. Acta, 248, 379 (1991).
- 11) W.Matuszewski, M.E.Meyerhoff, Anal. Chim. Acta, 248, 391 (1991).
- 12) G.Zhang, P.K.Dasgupta, A.Sigg, Anal. Chim. Acta, 260, 57 (1992).
- 13) G.Blankenstein, M.Kula, Anal. Chim. Acta, 248, 371 (1991).
- 14) N.Kasthurikrishnan, J.A.Koropchak, Anal. Chem., 65, 857 (1993).
- 15) J.A.Koropchak, L.Allen, Anal. Chem., 61, 1410 (1989).
- 16) J.F.van Staden, Anal. Chim. Acta, 261, 453 (1992).
- 17) J.L.P.Pavon, E.R.Gonzalo, G.D.Christian, J.Ruzicka,
Anal. Chem., 64, 923 (1992).