

最大反応速度を利用する化学計測

東京都立大学工学部 後藤 肇, 山田正昭

分析における反応速度法は、今日では様々な分析を行う際の有力な手法の一つである。とりわけ F I A はその再現性の良さなどの特徴から反応速度を利用するのに都合の良い方法である。反応速度を測定するシステムを、試料の混合の仕方やシグナル測定を行っている間のハイドロダイナミックな特徴で分類すると次の3つのタイプに分けられる。1) stopped-flow 2) continuous addition 3) flow reversal and flow re-cycle. ここでは、フローインジェクションとはいい難いが、2)の continuous addition of reagent (C A R) 法を紹介する。

C A R 法は Silva らが提案¹⁾した最大反応速度を利用した方法である。二次の不可逆反応 $A + R \rightarrow P$ (A : analyte, R : reagent, P : product) で、試薬が一定速度 u で試料を含む体積 V_0 の容器に加えられていくとき、試薬濃度 $[R]$ が容器内の試料濃度 $[A]$ よりも十分高く、反応する試薬量が加えられる量より小さいとき、反応速度は積分形で表すと次のようになる²⁾。

$$\ln \frac{[A]}{[A]_0} = -k[R]_0 t + \left[\frac{k[R]_0 V_0}{u} - 1 \right] \ln \left(\frac{V_0 + ut}{V_0} \right) \quad (1)$$

ここで、 $[A]$ は時間 t のときの試料濃度、 k は二次速度定数である。吸光度法では最大反応速度は (1) から次式のように誘導される。

$$\left(\frac{dS}{dt} \right)_m = 0.55 \epsilon_p [A]_0 \left(\frac{k[R]_0 u}{V_0} \right)^{1/2} \quad (2)$$

ここで、 S はシグナル、 V_0 は試料の含まれる体積、 u は試薬添加速度、 $[R]$ は加える試薬濃度、 k は二次速度定数、 ϵ_p は P のモル吸光係数である。

(2) は最大反応速度と試料濃度 $[A]$ が直線関係にあることを示している。この方法で使用する装置と典型的なシグナルを Fig. 1 に示す。構成としては、添加ユニットは自動ビュレットで、検出器に取り付けた反応容器とスターラー、データ取得およびプロセッシングユニットから成っている。このプロセッシングユニットは、Silva らが開発した最大反応速度を計算するプログラムを実行するコンピューターからなっている。この手法の主な利点は、(2) からわかるように k の値が $1/2$ 乗になるため速度定数の変動の影響が少なくなるということである。つまり反応が速い系にも遅い系にも幅広く応用することが可能であるということである。

この C A R 法を $Fe(II) / SCN^- / H_2O_2$ 系における過酸化水素の吸光度定量に応用し、検出下限 $1.35 \times 10^{-6} M$ を得ている。また、人尿中のモルヒネの蛍光定量³⁾ においては、ダイナミックレンジ $4.5 \times 10^{-8} - 2.5 \times 10^{-6} M$ 、検出下限 $7.4 \times 10^{-8} M$ を得ている。Table 1 にルミノールを利用した銅(II)の化学発光定量⁴⁾ の結果および同じ系で同時に得られたピーク高さ法による結果を示し、その時の典型的なシグナルを Fig. 1(c) に示す。

表から最大反応速度を利用する方がピーク高さを用いるよりもダイナミックレンジ、再現性等において優れていることがわかる。

Silvaらは、CAR法を開発する以前に direct-rate measurement に基づく化学発光計測をストップフロー法に応用している⁵⁾⁶⁾。CAR法の一番の特徴は最大反応速度を用いることにあるが、この最大反応速度をストップフロー法にも応用することは可能であると思われる。そうなれば自動化も容易となり、非常に有用な方法の一つになると考えられる。

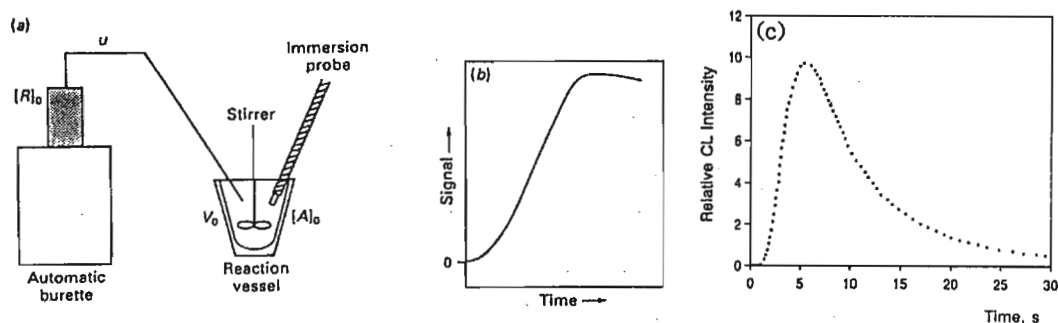


Fig. 1 (a) Instrumentation used with photometric detection and (b) typical kinetic profiles provided by continuous reagent addition methodology. (c) CL intensity vs. time profile obtained in the CL-CAR determination of copper(II).

Table 1
Comparison of the performance of the reaction-rate and peak height methods in the CL determination of copper(II) by the CAR technique.

Figure of merit	Maximum reaction-rate method	Peak height method
Dynamic linear range (ng ml ⁻¹)	10-700	10-250
Detection limit (ng ml ⁻¹)	0.30	0.25
Precision (R.S.D.) (%)	2.48 ^a	3.66 ^a
	5.05 ^b	7.12 ^b
Sample frequency (h ⁻¹)	48	30

a [Cu(II)]=5ng/ml. b [Cu(II)]=40ng/ml.

- 1) A. Velasco, M. Silva and D. Perez-Bendito: Anal. Chem., **64**, 2359, (1992).
- 2) M. Silva: Analyst, **118**, 681 (1993).
- 3) J. Cepas, M. Silva and D. Perez-Bendito: Analyst, **118**, 923 (1993).
- 4) J. Cepas, M. Silva and D. Perez-Bendito: Anal. Chim. Acta, **285**, 308 (1994).
- 5) D. Gonzalez-Robledo, M. Silva and D. Perez-Bendito: Anal. Chim. Acta, **217**, 239 (1989).
- 6) D. Gonzalez-Robledo, M. Silva and D. Perez-Bendito: Anal. Chim. Acta, **228**, 123 (1990).