

## 固相分光法の流れ分析への応用

松岡史郎、吉村和久

九州大学（六本松）理学部化学教室：〒810 福岡市中央区六本松4-2-1

---

### Application of solid-phase spectrometry to flow analysis

Shiro MATSUOKA and Kazuhisa YOSHIMURA

*Department of Chemistry, Faculty of Science, Kyushu University  
Ropponmatsu, Ropponmatsu, Chuo-ku, Fukuoka 810*

A new type of FIA system, in which on-line detection with solid-phase retention of analytes is carried out, has been developed in the past 8 years. The sensitivity enhancement is easily accomplished by increasing the sample volume introduced. Analytes present in the  $\mu\text{g}\sim\text{sub-}\mu\text{g kg}^{-1}$  range can be easily determined by using this system. The fundamental background and applicability are described.

---

#### 1 はじめに

水溶液中の溶存化学種を定量する際に、吸光・蛍光光度法は、原子吸光法などと共に一般に広く用いられてきた。その一方で、環境試料などに含まれるppb $\sim$ sub-ppbレベルの微量成分を分析の対象とする場合、通常の吸光・蛍光光度法では、操作の簡便性、感度・選択性に優れた有機試薬の開発、測定機器の発達にもかかわらず、感度不足のことが多い。FIAにおいても、通常、試料と試薬溶液の混合に伴う希釈から免れることができないために、検出法を高感度なものにかえたとしても、これらの濃度領域の定量を行うことはほとんど不可能である。そこで、試料をイオン交換、溶媒抽出等で前濃縮した後定量に供することになるが、操作が煩雑になり、分析には困難を伴うことが多い。状態分析を行う際には、濃縮の段階で状態変化を伴うこともあり得る。

固相分光法は、水試料中の微量成分を有機試薬を用いることで呈色化学種とし、イオン交換体などの固相に濃縮して直接分光定量を行うものである。一度濃縮した目的成分

を再溶出する必要がなく、水試料中の微量成分の定量には非常に有効である<sup>1-3)</sup>。FIAの高感度化をめざして、固相分光法がFIAに応用されたのは1987年である。イオン交換体等の固相を予め充填したフローセルに流れ系の中で目的成分を吸着濃縮させ、その固相減光度を直接モニターすることに成功したのであるが<sup>4,5)</sup>、それ以来本法を用いるFIAが数多く提案されてきた。検出法も、吸光光度法以外に蛍光法、光音響法にも及び、セルなどの工夫も種々なされ、その汎用性は確立されたように思われる<sup>6)</sup>。ここでは、今までに報告された定量法について概説を行う。なお、オプトセンシング法の中には、指示薬を含浸させた粒子や膜を用いる連続計測法があるが、これらは濃縮に伴う高感度化を目指したものではなく、おもに試薬の節約や操作の簡便化を目指すものであるためここでは割愛した。

## 2 測光

### 2・1 吸光

固相濃縮吸光流れ分析法のために使用されたフローセルをFig. 1に示した。多くは市販のマイクロブラックフローセル（入射光がフローセル中の光路以外は通過しない）に固相の流出を防ぐための多孔性フィルターをつめたものである。試料溶液中の目的成分はフローセル内に充填された粒子層の先端部分から濃縮され、粒子層の中を溶液の流れにしたがって移動して行くので、粒子の先端部分が必ず光路部にくるように粒子を充填して透過光を測定する。

固相充填セルをダブルビーム分光光度計に設置し、空気対照で測定したときに観測される吸光度値  $A$  の内訳は次のようになる。

$$A = A_R + A_{RC} + A_{RL} + A_S + A_C \quad 1)$$

ここで  $A_R$  は固相の吸収・散乱バックグラウンド、 $A_{RL}$  は共存する呈色試薬、 $A_S$  は共存する平衡溶液による吸光度、 $A_C$  はブラックフローセルによる吸収・散乱バックグラウンドを示す。希薄溶液を扱うため  $A_S$  は無視できる。 $A_R$  には固相による吸収や散光（表面反射や拡散反射等により散乱され検出器に入射しない光）が関与し、固相の種類、セルと検出器とのジオメトリーなどがその要因となる。 $A_C$  は入射光束の断面積がブラックフローセルの光路部の面積よりも大きいときに寄与が大となる（Fig. 1の(a) - (c)ではほぼ0、(d)では約0.8）。

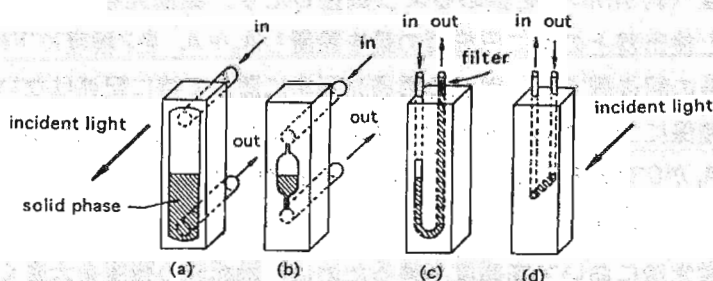


Fig. 1. Different types of cells used for absorptiometric measurements of solid phase<sup>7)</sup>.

流れ分析では、フローセル内に充填された常に同一の濃縮媒体を定量に用いるため、バックグラウンドの変動自体は少ないが、非常に大きい $A_R$ 、 $A_C$ に上乘せされた $A_{RC}$ を測定しなければならない点が溶液法と異なる。これが、しばしば固相の透過光測定を難しくする主因となる。

Lazaroらは、Fig. 1(a)–(d) に示す4種類のセルを比較して測光条件の検討を行った<sup>7)</sup>。Fig. 1(a)のセルは、光路長が1 mmで、他のものに比べて固相の体積が大きいため、目的化学種の希釈やテイリングが生じるほか、目的化学種が濃縮されている部分のほんの一部にしか入射光が照射されないため、相対的に感度が低い。(b)のセルは、彼らの初期の研究に用いられたセルであり<sup>8)</sup>、(a)のものに比べて内容積が小さいため(40 mm<sup>3</sup>)、テイリングも小さく、1mmの光路長で感度は(a)のセルの2倍になる。(c)のタイプのセルは蛍光測定に広く用いられているセルであるが、光路長が(a)、(b)のものに比べると若干長く(1.5mm)、また、内容積も小さくかつ目的成分が濃縮されている固相の部分のほとんどに入射光が照射されるので、(b)のタイプよりもさらに3倍高感度である。(d)のタイプのセルに関して、Lazaroらは光路部全てに粒子を充填しているが(光路長1 cm)、光量不足により測光には成功していない。

固相を充填した内径1 mm、長さ10 mmのガラス製ミニカラム(e)の一部に入射光を照射して固相吸光度が測定された<sup>9)</sup>。目的化学種が固相の先端部分から濃縮されることを考えると着色帯の移動が遅い錯生成系(固相と溶液相との分配比が大きな系)には応用が難しく、反対に、分配比の小さな系では高い濃縮効率は望めない。

Yoshimuraらは、光路部の容積が小さい、内部に充填されている固相全体に入射光を照射できる、有効光路長も(a)–(c)のセルに比べて長くできる等の理由から、(d)のタイプのフローセルを用いた<sup>4,5,10-20)</sup>。このタイプのセルでは、Lazaroらの様に光路部全てに粒子を充填したとき、使用する分光光度計の性能や固相の種類にもよるが、 $A_R + A_C$ のみで通常の分光光度計では測定できないほどの大きい値(吸光度目盛にして約4~5)を示し、試料成分による正味の吸収 $A_{RC}$ は測定できない。さらに、 $A$ が3を越えると、得られるシグナルは非常にノイズの多いものとなるのが一般的である。従って、 $A_R$ を小さくするための工夫が必要となる。フローセルの光路部に充填する粒子が光路の半分程度(約5mm)を占めるよう調整したり、散乱光をできるだけ受光部に導くためにセルと検出器との間に円筒型の鏡を設置し $A_R + A_C$ を2程度に下げること成功した。

他の報告例では、固相の透過光測定に関して特に記述はないが、以上のことより、光量確保についての何らかの工夫を行わない限りは、感度の点で劣っても光路長が短かつ $A_C$ が0であるような(a)–(c)のタイプのセルを使わざるを得ない。

## 2・2 蛍光

蛍光法において高感度を得るために、励起光の強度を大きくすることは固相法には適さない。励起光と直交する方向の蛍光を測定しても、励起光の散乱反射光が大きなバックグラウンドをもたらすからである。高感度化のためには目的成分の微量固相への濃

縮効率をできる限り大きくすることが肝要である。この目的に用いられるセルはFig. 1(c)のタイプのもの<sup>21)</sup>のほか、Fig. 2のようなセル<sup>22)</sup>が用いられた。いずれの場合も、先端部分を含むできるだけ固相の広い範囲に励起光が照射されるようにセルの位置が調整された。

光音響の測定にはFig. 2のセルに筒状の圧電素子を取りつけて測定が行われた<sup>19)</sup>。

### 2・3 多波長同時測定

単一の成分のみならず、多波長同時測光を行うことで数種類の成分の同時定量が可能となる。Fernandez等はマルチチャンネルアナライザーを用いて350-480nm間の9波長をモニターすることで、農業中に含まれる3種類のカルバミン酸化合物の同時定量を行った<sup>23)</sup>。

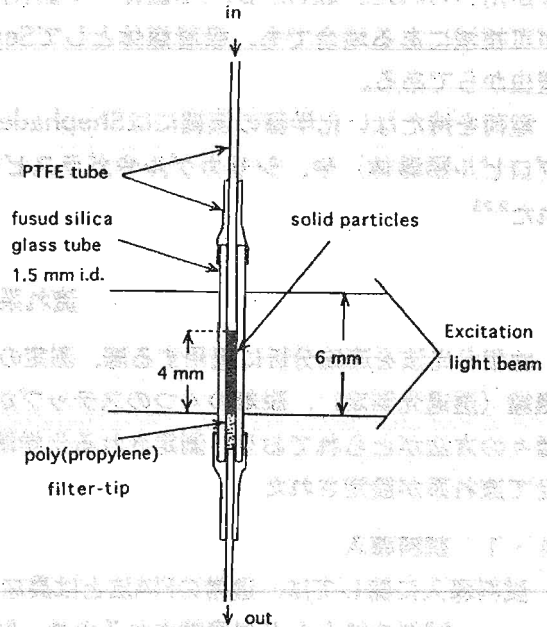


Fig. 2. Flow-through cell for solid-phase spectrofluorometry.

## 3 固相の選択

イオン交換体をはじめとし、吸着濃縮の媒体としては多くのものが用いられているが、その選択は定量に用いる有機試薬や定量する目的化学種の性質に依存する。

電荷を持った化学種の濃縮媒体としては、ポリスチレンを架橋したイオン交換樹脂やデキストランを架橋したイオン交換体が用いられた。芳香族環を持つ化学種の吸着濃縮に関しては、Dowex等のイオン交換樹脂が用いられることが多いが、これは、静電的相互作用の他に、目的化学種の持つ芳香族環とイオン交換樹脂の骨格（特にベンゼン環）間の強い（疎水的）相互作用が働くため、イオン交換樹脂の方がイオン交換体デキストランゲルよりもこれらの化学種に対し高い分配比を示すためである。しかしながらイオン交換樹脂には、紫外域にベンゼン環による非常に大きな吸収があるため、目的成分の吸収極大が紫外域にある場合<sup>24)</sup>や蛍光測定<sup>21,25)</sup>には、Sephadexをはじめとするイオン交換体デキストランゲルが通常用いられる。

固相分光法を流れ分析に応用する場合には、フローセル内の固相に吸着濃縮された目的成分の脱着が必要となる。イオン交換樹脂を用いると目的化学種と樹脂骨格との相互作用が強すぎて目的成分の脱着が難しいような場合にも、イオン交換体デキストランゲル

ルが用いられた。鉄(II)-DP PS錯体<sup>18)</sup>や銅(I)-PM PS錯体<sup>16)</sup>のように、錯体の吸収極大が可視域にある場合でも、吸着媒体としてSephadexが使用されているのはこのような理由からである。

電荷を持たない化学種の濃縮にはShephadex LHゲル<sup>12,14)</sup> (Sephadexゲルのヘキサプロピル誘導体) や、シリカゲルやガラスビーズにC<sub>18</sub>化合物を修飾したものが用いられた<sup>9,23)</sup>。

#### 4 流れ系の設定

固相分光法を連続分析に適用する際、測定 of 1 サイクルは、大別して試料導入、発色、濃縮 (透過光測定)、脱着の4つのステップからなる。また、それぞれのステップには種々の方法がとられており、測定される化学種の特性に応じてそのそれぞれを組み合わせることで流れ系が設定された。

##### 4・1 試料導入

試料導入に関しては、通常のFIA法とは異なり、数 cm<sup>3</sup> もの試料が測定に供される。これは、試料のほとんどが濃縮されるため、試料を流れ系に導入したときに見られる拡散や希釈の影響を受けないためである。また、感度、選択性の向上のためにオンラインカラムを用いた試料導入に関する報告もある<sup>4,11,16)</sup>。

試料溶液には長期間の保存に耐えられるように酸で処理したものや、海水のように、かなりの濃度の電解質を含むものがある。試料と試料のキャリアーとの電解質濃度が大きく異なると、固相の散乱バックグラウンドが変動し、しばしば再現性に影響を与える。このような場合には、双方の電解質濃度のマッチングが必要である。

##### 4・2 発色

試料溶液中の目的成分を有機試薬を用いて発色させる方法には1) 通常のFIAと同様に試料と発色試薬とをライン内で混合して発色させる、2) 予めフローセル内の固相に発色試薬を固定化しておき、試料溶液を通して発色させる、3) 試料溶液中の目的成分のみを固相に吸着させ、その後、発色試薬を流す、の3通りの方法がある。それに対応して、種々の流れ系が用いられた。その例をFig. 3に示した。1) の方法は、発色試薬が目的成分に対し高い選択性を持つ場合や、マスキング剤を用いて選択性を向上させられるとき (Fig. 3(a)、(b)) に、2) の方法は発色試薬を固相に対し化学的に修飾可能な場合、また、試薬の固相に対する分配比が非常に大きい場合 (Fig. 3(a)) に<sup>8,26,27)</sup>、3) の方法は試薬の選択性が高くなくても固相が試料中の目的成分に対し高い選択性を示す場合 (Fig. 3(c)) にそれぞれ用いられる。

ポンプで送液される試料溶液以外の試薬類が目的成分によって汚染されておりその除去が難しい場合や、1) の方法において、フリーの発色試薬が固相に濃縮されかつ測定波長において試薬自身が吸収を持つときには、ベースラインが徐々に上昇するのが観測

される。このような場合にはマージングゾーン法が有効である (Fig. 3(c)<sup>12,16,28</sup>)。

#### 4・3 濃縮・定量

2の測光、5の発色曲線の項を参照。

#### 4・4 脱着

繰り返し測定のために、一度固相に濃縮された試料成分の脱着が必要となる。本法が通常の流れ分析法と大きく異なる点である。脱着に用いる脱着剤としては次のようなものがある。

1) 吸着媒体にイオン交換体を用いる場合には、通常、 $1 \text{ mol dm}^{-3}$ 程度の酸や $2 \sim 4 \text{ mol dm}^{-3}$ 程度の塩溶液が用いられる。目的成分の吸着がイオン交換によるときに、目的成分の固相に対する分配比が外部電解質濃度が増加するにしたがって減少するからである。

2) 固相に発色試薬が固定化されている場合や発色試薬が測定波長において吸収を持たない場合には、EDTA等の錯形成剤を用いて呈色錯体を分解し、試薬を脱着することなく目的成分のみを脱着することが可能であった<sup>4,8</sup>。この目的のためには $10^{-2} \sim 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ の錯形成剤が用いられた。また低濃度の酸やアルカリにより、pHを錯生成に關する至適pHからずらすことで、呈色錯体を分解することも行われた<sup>21,27</sup>。

3) 電荷を持たない化学種が疎水的な相互作用により吸着しているような場合には、この相互作用を弱めるためにアセトンやエタノールのような水溶性有機溶媒の50%(w/w)溶液を用いることが効果的であった<sup>14</sup>。

4) 3で述べたように、目的成分が静電的相互作用だけでなく疎水性相互作用のため強く吸着している場合には、双方の相互作用を弱めるために $2 \sim 4 \text{ mol dm}^{-3}$ の塩溶液と水溶性有機溶媒を等量混合したものが用いられた<sup>17,18</sup>。

脱着剤は、1回の試料測定が終わる度に脱着剤用の六方バルブを切り替えてラインに導入されるが、目的成分の固相に対する分配比が $10^5$ より大きい場合は1回の測定ごとの脱着は必要無く、数サンプルの測定の後脱着を行えた<sup>10</sup>。

脱着剤導入の操作を簡略化するために、試料のキャリアー溶液に脱着剤を採用するこ

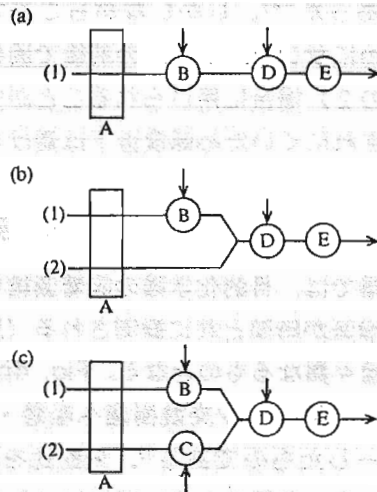


Fig. 3. Schematic diagram of the flow system: (a) single-line flow system; (b) and (c) manifolds for flow injection analysis system. (A) pump, (B) six-way rotary valves for sample introduction, (C) for coloring/fluorescent reagent introduction, (D) for desorbing agent introduction, (E) detector. (1) sample carrier solution stream, (2) coloring/fluorescent reagent stream for manifold (b) or their carrier solution stream for manifold (c).

とも可能であった<sup>7,8)</sup>。しかしながらこの方法では、試料溶液と脱着剤の塩組成が大きく異なるためにサンプルゾーンの前後で固相の散乱バックグラウンドが大きく変動するため、上記の2)場合に用いられることが多い。また、サンプルゾーン前後端の試料は固相に濃縮されにくいいため感度低下は避けられない。

## 5 発色曲線

測光の段階では、目的化学種の吸着濃縮によるベースラインからの吸光度（または蛍光強度）の増減が時間と共に観測される（発色曲線）。この発色曲線の形は分配比の大小によって種々異なるものとなる。Fig. 4は、流れ系の中に導入された銅(II)イオンが、フローセル中の陽イオン交換樹脂へ吸着・濃縮される際の、d-d遷移による光吸収の増加をモニターしたものである<sup>5)</sup>。分配比を種々変えるために異なったキャリアー溶液が用いられている。分配比の高い系では、 $0.17 \text{ cm}^3$  の試料溶液中のほとんど全ての銅イ

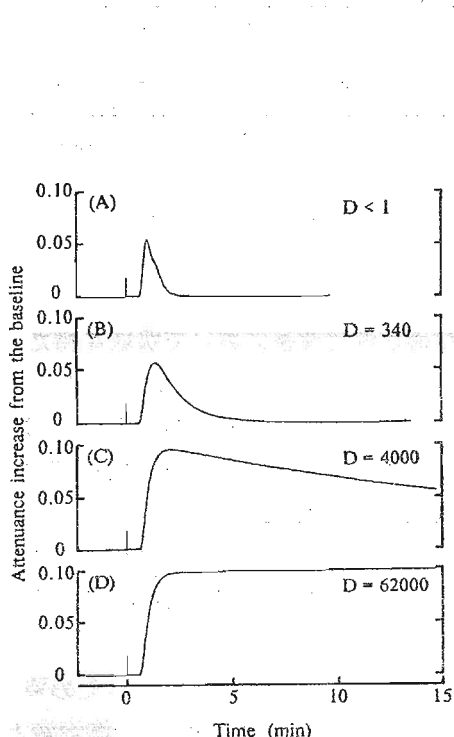


Fig. 4. Color development profiles of hydrated copper(II) for different  $D$  system<sup>5)</sup>. Sample:  $0.17 \text{ cm}^3$ , 15 mg of copper(II); carrier solution: (A)  $0.005 \text{ mol dm}^{-3}$  EDTA, (B) 0.28, (C) 0.070, and (D)  $0.014 \text{ mol dm}^{-3}$  nitric acid; flow rate:  $1.2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$

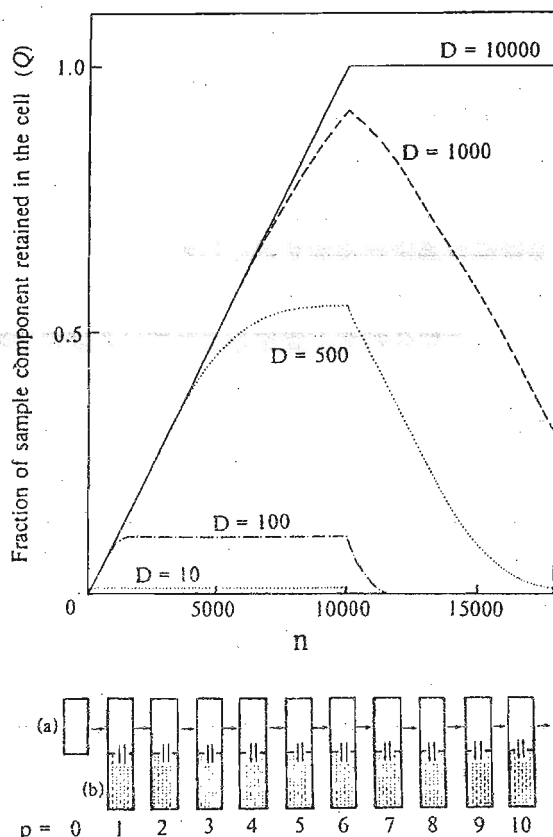


Fig. 5. Retention of components with different distribution ratio on a solid-particles column in the flow-through cell<sup>14)</sup>: (a) mobile phase ( $v \text{ cm}^3$ ) and (b) stationary phase

ンが吸着され、 $20 \text{ cm}^3$  以上のキャリアー溶液が通過した後でも銅イオンの脱着は見られない。一方、分配比の低い系では、試料導入後のわずかな時間で銅イオンの脱着が見られる。分配比の違いによるこのような発色曲線の形の変化は、フローセル内に充填された固相をカラムとして考えることで、プレート理論により予測可能であった<sup>14)</sup>。今、 $nv \text{ cm}^3$  の試料溶液 ( $v$  は各プレートにおける移動相の体積 ( $\text{cm}^3$ )) が、0 から10までの11段のプレートから構成されるフローセル内のカラムを通過すると考えると、目的成分の全導入量に対してセル中に保持される割合 $Q$ は次のように示される。

$$Q = n / 10,000 \quad (n \leq 10) \quad 2)$$

$$Q = \frac{1}{10,000} \sum_{k=n-9999}^n \sum_{p=0}^{10} \frac{k!}{(k-p)!p!} \frac{(D/i)^{k-p}}{(1+D/i)^k} \quad (n \geq 11) \quad 3)$$

ここで、 $i$ は固相間隙の溶液の体積 ( $\text{cm}^3$ )、供給された試料の体積を $10000v \text{ cm}^3$  とする。また、 $n$  が10000より小さいときは  $k = 1$  とする。理論段相当高さを $0.05 \text{ cm}$ 、カラムの断面の直径を  $1.5 \text{ mm}$  とすると、 $v$  は $0.3 \text{ mm}^3$  となる。種々の $D$ 値に対して計算した  $n$  と  $Q$  をプロットするとFig. 5が得られる<sup>14)</sup>。 $D$ が大きい場合、導入された試料溶液中の目的成分のほとんど全てが吸着されるのに対し、 $D$ が小さい場合(例えば $D=10$ )には目的成分はほとんど濃縮されないという上記の銅イオンで得られた実験結果を再現できた。

## 6 応用

固相分光法の流れ分析に対してこれまでに報告された応用例の大部分に関して、その概略(測定波長、精度、検出限界等)をTable 1にまとめて示した。以下に、検出法、目的成分別に分析法の概要を説明する。

### 6・1 吸光光度法

#### 6・1・1 ビスマス

試料溶液中のビスマスライン内で $KI$ 溶液と混合させた後、生成したビスマス-ヨード錯体を陰イオン交換体(QAE-Sephadex A-25)に吸着濃縮させ、その固相の吸光度を測定することで超微量のビスマスが定量された。また、陰イオン交換樹脂を充填したオンラインカラムに試料溶液中のビスマスをクロロ錯体として前濃縮することで、大過剰存在すると正誤差を与える鉛とアンチモンの影響を除去し、金属鉛中の $0.1 \text{ ppm}$ レベルのビスマスが定量できた。ビスマス-ヨード錯体の固相からの脱着にはEDTAが用いられた<sup>4)</sup>。

#### 6・1・2 カルバミン酸化合物



Table 1. Summary of flow methods by solid-phase spectrometry

Analyte	Solid phase	Coloring or Fluorescent agent	Manifold <sup>s</sup>	Detection*	Ex (nm)	Anal (nm)	SR	DL (ng)	Sampling(h <sup>-1</sup> )	Ref
(i) Introduction of color/fluorescence-developed solution										
Cr	AG 50W-x2	diphenylcarbazide	a	AB	-	550	160	0.22	5	10
Cu	AG 50W-X12	Cu <sup>2+</sup>	a	AB	-	800	220	-	5	5
	QAE-Sephadex	PMPS*	a	AB	-	484	110	0.83	5	16
Dy	CM-Sephadex	Dy <sup>3+</sup>	a	FL	350	573	-	80	5	22
Eu	CM-Sephadex	Eu <sup>3+</sup>	a	FL	395	616	-	22	5	22
Fe	AQE-Sephadex	DPPS*	a	PAS	532	-	-	1.2	6	18
Nd	AG 50W-X2	Nd <sup>3+</sup>	a	AB	-	795	450	-	6	-
P	Sephadex LH-20	molybdate-MG <sup>+</sup> *	a	AB	-	627	35	0.14	4	12
Si	Sephadex LH-20	molybdate-MG <sup>+</sup> *	a	AB	-	627	-	0.37	5	14
Sm	CM-Sephadex	Sm <sup>3+</sup>	a	FL	401	596	-	580	5	22
Tb	CM-Sephadex	Tb <sup>3+</sup>	a	FL	351	544	-	80	5	22
(ii) FIA										
Al	SP-Sephadex	morin*	c	FL	427	507	-	0.06	5	17
	C <sub>18</sub> bonded silica	SAPH*	a	FL	382	468	-	1.5	-	31,32
Be	Dowex 1-X4	morin(immobilized)*	a	FL	-	-	-	-	30	27
Bi	QAE-Sephadex	KI	b	AB	-	473	480	2.5	4	4
CM*	C <sub>18</sub> bonded silica	sulfanilic acid	b	AB	-	multi	20	-	40	29,30
CN	QAE-Sephadex	pyridoxal-5-phosphate	c	FL	318	455	-	100	10	21
Cr	AG 50W-X2	diphenylcarbazide	b	AB	-	550	310	0.07	4	13
Cu	QAE-Sephadex	PMPS*	c	AB	-	484	150	0.66	3	5
	Dowex 50W-X4	PAN(immobilized)*	b	AB	-	546	-	110	55	8
F	DEAE-Sephadex	Zr(IV)-Calcein Blue	c	FL	335	405	-	0.5	30	33
Fe	QAE-Sephadex	DPPS*	c	AB	-	550	-	0.8	3	18
	Dowex 1-X2	NH <sub>4</sub> SCN	b	AB	-	480	-	5	30	7
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	membrane filter	Ti(IV)-PAPS*	a	AB	-	539	-	-	20	34
Mo	QAE-Sephadex	Tiron	c	AB	-	410	-	15	3	11
P	Sephadex LH-20	molybdate/MG <sup>+</sup> *	c	AB	-	627	35	0.14	4	12
	C <sub>18</sub> bonded silica	molybdate/ascorbate	B	AB	-	660	40	-	-	9
Si	Sephadex LH-20	molybdate/MG <sup>+</sup> *	c	AB	-	650	-	1.6	4	14
Sn	QAE-Sephadex	PCV*	c	AB	-	576	-	0.3	7	35
SO <sub>2</sub>	Dowex 1-X8	p-rosaniline	a	AB	-	560	-	25	12	36
V	AG 1-X2	PAMB(immobilized)	a	AB	-	650	-	0.6	-	15

<sup>s</sup>See Fig. 3.

\*AB: absorptiometry; FL: fluorometry; PAS: photoacoustic spectrometry; PMPS: 4,7-diphenyl-2,9-dimethyl-1,10-phenanthroindisulfonate; DPPS: 4,7-diphenyl-1,10-phenanthrolinedisulfonate; MG<sup>+</sup>: malachite green cation; morin: 2',3,4',5,7-pentahydroxyflavone; SAPH: salicylaldehyde picolinoylhydrazone; CM: carbamates; PAN: 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol; PAPS: 2-((5-bromopyridyl)azo)-5-(N-propyl-N-sulfopropylamino)phenol; PCV: pyrocatechol violet

フォトダイオードアレー検出器を用いることで、carbofrane、propoxur、carbarylの3種のカルバミン酸化合物の同時定量が、クロマト的な分離を行うことなく可能となった。キャリアー（エタノール-水の1:9 混合溶液）の中に導入された3種の化合物を含む試料は水酸化ナトリウム溶液と混合された後、それぞれ3種のフェノール類に加水分解される。さらに、スルファニル酸-亜硝酸の混合溶液（ジアゾ化されたスルファニル酸）と混合すると、カップリング反応の後3種のジアゾ化合物が生成する。この反応生成物はC<sub>18</sub>化合物が固定化されたシリカゲルに吸着・濃縮されるが、その固相吸光度の増加が9波長にわたり測定された。着色成分の固相からの脱着にはエタノールと2 mol dm<sup>-3</sup> 硝酸の等量混合溶液が用いられた<sup>23)</sup>。HPLCにおいて、ポストカラム発色の後、固相へのオンライン濃縮定量にも応用され、通常法の50倍の感度向上を達成している<sup>29,30)</sup>。

### 6・1・3 クロム(VI)

試料溶液中のクロム(VI)とジフェニルカルバジドの混合によりライン内で生成した有色錯体をフローセル内の陽イオン交換樹脂に吸着濃縮させ、その固相の吸光度を測定することで ppb~sub-ppbレベルのクロム(VI)の定量が行われた。試料溶液を、マクロポラス陽イオン交換樹脂（AG MP-50）を充填したオンラインカラムで前処理することで、固相の吸収、散乱バックグラウンドの変動を生じさせる多価陽イオンの影響が除去された。脱着には1 mol dm<sup>-3</sup> 硝酸が用いられた<sup>10,13)</sup>。

### 6・1・4 銅

銅イオンのd-d遷移に伴う吸収は非常に弱いですが、発色試薬を用いることなくppmレベルの銅の定量が行われた。キャリアー溶液に銅イオンを含む溶液を導入すると、フローセル内に充填した陽イオン交換樹脂に濃縮され、0.1-7 ppmの銅の定量が可能となった。さらに、用いたフローセルの断面積と感度との間の考察がなされた。モル吸光係数  $\epsilon$  の光吸収イオンを含む溶液  $V$  cm<sup>3</sup> が断面積  $S$  cm<sup>2</sup> のフローセルに充填したイオン交換体に定量的に吸着濃縮され、交換体相で  $\bar{\epsilon}$  のモル吸光係数を示すとすれば、セル長  $l$  cm での溶液法との感度比 (SR) は、

$$SR = \bar{\epsilon} V / \epsilon S l \quad 4)$$

で表される。 $l = 1$  cm,  $\epsilon = \bar{\epsilon}$  の場合、

$$SR = V / S \quad 5)$$

となる。つまり、溶液法において、サンプル  $V/S$  cm のキャピラリーセルにつめて測定したことに相当する。Table 2に示すように、ほぼ予想通りの結果が得られた<sup>5)</sup>。

フローセル内に、PANを吸着させた陽イオン交換樹脂を充填し、弱酸性 (pH4-6) に調整された試料溶液を、チオグリコール酸キャリアー溶液（これは脱着剤としても作用する）の中に導入することで、脱着操作の自動化が行われた。PANの樹脂からの脱

Table 2. Comparison of sensitivity<sup>5)</sup>

diameter of cell	3.0 mm	1.5 mm
$S / \text{cm}^2$	0.0707	0.0177
$V / \text{cm}^3$	4.41	4.41
$SR_{\text{calcd}}$	62	250
$SR_{\text{obsd}}$	49	220

着と感度の低下は、キャリアー溶液のなかに少量のPANを添加しこれを連続的に供給することで防ぐことができた<sup>8)</sup>。

カルスト地域の地下水の中に含まれる銅濃度を測定するために、銅に対して高い選択性を持つPMPSを用いた研究も報告されている。ライン内で生成した銅(I)-PMPS錯体を陰イオン交換体QAE-Sephadex A-25に濃縮して定量が行われた。地下水中に含まれる0.1-10ppbの銅の定量が可能となった<sup>16)</sup>。

#### 6・1・5 鉄

鉄(III)-チオシアナト錯生成系を利用して飲料水やワインの中の鉄の濃度が測定された<sup>7)</sup>。pH 2に調整された試料溶液をキャリアー溶液(NaF-EDTA混合溶液)に導入し、これを発色剤のラインと混合する。ライン内で生成した鉄-チオシアナト錯体はフローセル中の陰イオン交換樹脂に濃縮されるが、サンプルゾーン通過後、吸着化学種はキャリアー中のNaFにより自動的に脱着された。チオシアン酸と錯生成し、定量を妨害する金属イオンによる影響は、EDTAの添加により除去された。

超純水中に含まれる超微量の鉄濃度を測定するためには、鉄(II)-DPPSが用いられた。オンラインカラムにより濃縮された鉄は、キャリアー(酢酸緩衝溶液)により脱着された後、DPPS+還元剤と混合された。フローセル内のQAE-Sephadex A-25 吸着された目的化学種の脱着には  $4\text{ mol dm}^{-3}$  硝酸ナトリウムとアセトンの混合溶液が用いられた。80 cm<sup>3</sup>の試料を用いることで10 ppt 程度の鉄が検出可能であった<sup>18)</sup>。

#### 6・1・6 過酸化水素

特殊なフローセル内に挿入されたメンブランフィルターを濃縮媒体に用いた報告もある。チタン(IV)、過酸化水素、PAPSの三元錯体と臭化セチルメチルアンモニウムとのイオン対を、ポリプロピレン製メンブランフィルターに濃縮した。吸着化学種はエタノールにより脱着された。5~100 pmolの過酸化水素が1時間に20サンプルの割合で定量可能となった<sup>34)</sup>。

#### 6・1・7 モリブデン(VI)

Sephadex ゲルによる試料の前処理とオンライン脱着とを組み合わせたモリブデン(VI)の定量法が報告されている<sup>11)</sup>。モリブデン(VI)を吸着させたカラムをEDTAのラインの中に組み込み、これを脱着させた後、ライン内でタイロンと発色させ QAE-Sephadex A-25 に濃縮する。脱着には  $1\text{ mol dm}^{-3}$  硝酸ナトリウムが用いられた。Sephadexゲルによる試料の前処理によりクロム(VI)、チタン、ウラン、バナジウム(V)、海水中の高濃度NaCl等の影響が除去された。

#### 6・1・8 リン酸

水試料中に存在する数十ppbレベルのリン酸をモリブデンブルー法により定量した報告がある。ライン内で生成したモリブドリン酸を、一旦C<sub>18</sub>化合物で修飾したシリカゲルに吸着濃縮させ、これをさらにアスコルビン酸を用いて還元する。脱着にはメタノー

ルが用いられた。また、リン酸とケイ酸のヘテロポリ錯体の還元速度の差を利用した、両イオンの同時定量についても報告されている<sup>9)</sup>。

モリブドリン酸とマラカイトグリーンを用いたリン酸の定量についての研究も行われた<sup>12)</sup>。酸濃度を調整した試料溶液と、モリブデン酸+マラカイトグリーンの混合溶液を混合させ、生成したイオン対を Shephadex LH ゲルに濃縮した。

#### 6・1・9 ケイ酸

リン酸の場合と同様に、ライン内で生成させたモリブドケイ酸-マラカイトグリーンのイオン対を Shephadex LH ゲルに濃縮するすることで、超純水中のケイ酸が定量された<sup>14)</sup>。ゲルに吸着したイオン対は、 $1 \text{ mol dm}^{-3}$  硫酸とアセトンの等量混合溶液により脱着された。ゲルマニウム酸やリン酸は、ケイ酸の0.1-10倍程度存在するだけでも著しい正誤差を与えた。検出限界は $5 \text{ cm}^3$ の試料を用いることで0.1-0.2 ppbであった。

#### 6・1・10 スズ

PCVとスズ(IV)の錯体をフローセル中のQAE-Sephadexに吸着濃縮することで、フルーツジュース中のスズの定量が行われた。脱着には5%の塩酸が用いられた。 $0.8 \text{ cm}^3$ の試料を用いることで検出限界は0.3 ppbであり、1時間に7サンプルが定量できた<sup>35)</sup>。

#### 6・1・11 二酸化イオウ

p-ローズアニリンを用いた二酸化イオウの定量が報告されている。二酸化イオウを含む試料溶液と、p-ローズアニリン+ホルマリン溶液を流れの中で混合させ、生成した p-ローズアニリンメチルスルホン酸をフローセル内の陽イオン交換樹脂に濃縮した。脱着には $2 \text{ mol dm}^{-3}$ の塩酸が用いられた<sup>36)</sup>。

#### 6・1・12 バナジウム(V)

Sephadexゲルを用いた前処理によって、共存成分から分離されたバナジウム(V)の試料溶液を、試料導入に先だってフローセル内の陰イオン交換樹脂に吸着させておいたPAMBに濃縮させ、固相内で生成される青色錯体の吸光度をモニターした。脱着には $2 \text{ mol dm}^{-3}$  硝酸アンモニウムとアセトンの混合溶液が用いられた<sup>15)</sup>。

#### 6・1・13 亜鉛

ジンコンを吸着させた陰イオン交換樹脂をフローセルの中に充填し、これに亜鉛を含む試料溶液を流すことでppbレベルの亜鉛が定量された。 $4 \text{ cm}^3$ の試料を用いることで、溶液法の10倍の感度を得られた。本法は小児の髪の毛の中に含まれる亜鉛の定量に応用された<sup>26)</sup>。

### 6・2 蛍光光度法

#### 6・2・1 アルミニウム

アルミニウム-モリン錯生成系が、超純水中に存在するpptレベルのアルミニウムの定量に用いられた。陽イオン交換体 SP-Sephadexに吸着された錯体は、 $4 \text{ mol dm}^{-3}$  硝酸アンモニウム-アンモニアとエタノールの等量混合溶液により固相から脱着された。ブランクをかさあげする試薬、ポンプヘッド等からのアルミニウムの混入は、オンライン精製カラムにより低減された。 $4 \text{ cm}^3$  の試料を用いることで超純水中の15~400 pptのアルミニウムが定量された<sup>17)</sup>。

SAPHを用いた種々の溶存状態のアルミニウム（反応活性、不活性等）のスペシエーションも行われている。オンラインの陽イオン交換カラムを用いて分離された各溶存種にSAPHを混合し、生成したAl-SAPH錯体は $\text{C}_{18}$ 化合物を固定化したシリカビーズに濃縮された。脱着には $2 \text{ mol dm}^{-3}$  塩酸が用いられた。 $0.5 \text{ cm}^3$ の試料を用いることで検出限界は3 ppbであった<sup>31,32)</sup>。

#### 6・2・2 ベリリウム

モリンを吸着させた陰イオン交換樹脂を用いるベリリウムの定量が行われた。弱アルカリ性に調整されたベリリウムの試料溶液は、脱着剤（硝酸、硝酸アンモニウム）の流れの中に挿入された。サンプルゾーンの固相通過時に生成した蛍光化学種は分解されベリリウムのみが固相から脱着された。モリンは脱着剤により徐々に樹脂内から溶離されるため、長時間の使用に際してはこの減少分を補うために少量のモリンがキャリアー溶液の中に添加された。マスキング剤としてEDTAが用いられた<sup>27)</sup>。

#### 6・2・3 シアン

酸素共存下で起こるシアンとピリドキサルリン酸の接触反応を利用して微量シアンの定量が行われた。シアンを含む試料溶液と5-ピリドキサルリン酸（pH7.6に調整）を別々のキャリアー（水）を用いて同時にラインに導入した後、さらにこれと塩酸とを混合させた。反応生成物である4-ピリドキシン酸-5-リン酸エステルは、QAE-Sephadexに濃縮された。サンプルゾーンの通過後、pHの低下により吸着化学種は自動的に脱着された<sup>21)</sup>。

#### 6・2・4 フッ素

フッ化物イオンとジルコニウム(IV)-カルセインブルーの3元錯体を陰イオン交換体 DEAE-Sephadexに濃縮させることにより、ppbレベルのフッ素の蛍光光度定量が可能となった。試薬のキャリアーである塩酸により目的成分は固相から脱着された。ほとんど全ての陰、陽イオンは定量に影響しなかった<sup>33)</sup>。

#### 6・2・5 希土類

サマリウム、ユーロピウム、テルビウム、ディスプロシウム等の希土類元素の発する蛍光は、弱酸性陽イオン交換体であるCM-Sephadexに吸着・濃縮させるだけで増強される。この現象を利用して、5~25 ppbのユーロピウム、10~250 ppbのテルビウム、25~250 ppbのディスプロシウム、50~250 ppbのサマリウムがとくに蛍光試

薬を用いなくても  $8.3 \text{ cm}^3$  の試料溶液を流れ系に導入するだけで定量可能となった。脱着には  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  の硝酸が用いられた<sup>22)</sup>。

### 6・3 光音響

固相光音響法がDPPSを用いた鉄(III)イオンの流れ分析に應用された。バッチ法により生成された鉄(II)-DPPS錯体をフローセル中のQAE-Sephadexに濃縮させ、そのPASシグナルが観測された。フローセルから固相を除いた場合(溶液法)と比較して  $4 \text{ cm}^3$  の試料を用いるだけで590倍高感度であった<sup>19)</sup>。

## 7 まとめ

本法の主たる特徴としては

- 1) 試料溶液中に存在する微量成分を固相に吸着濃縮させ、再溶出せずに、直接固相分光を行うため、非常に高い感度を有する。
- 2) バッチ法とは異なり、フローセル内に充填された常に同一の濃縮媒体を定量に用いるためバックグラウンドの変動が少ない。
- 3) 通常のFIA法とは異なり、測定に供される試料のほとんどが濃縮されるため、試料を流れ系に導入したときに見られる希釈の影響を受けない。
- 4) 固相と溶液相の分配比を大きく越えない範囲では、検出感度と試料導入量は比例関係にあるため、試料導入量を変化させることで広い濃度領域における測定が可能である。などの点があげられる。

高い分配比 ( $D > 10^4$ ) と吸光係数 ( $\epsilon > 10^4$ ) を有する錯生成系に対しては、適当な脱着剤さえあれば  $1 \text{ ppb}$  以下の検出限界が容易に達成可能であるから、高価な分析機器を使わなくとも微量成分分析が可能となるため多方面への應用が期待される。

## 文献

- 1) K. Yoshimura and H. Waki, *Talanta*, 1985, 32, 345-352.
- 2) K. Yoshimura, H. Waki and S. Ohashi, *ibid.*, 1976, 23, 449-454.
- 3) U. Hase and K. Yoshimura, *Anal. Sci.*, 1993, 9, 111-115.
- 4) 吉村和久, 分析化学, 1987, 36, 656-661.
- 5) K. Yoshimura, *Anal. Chem.*, 1987, 59, 2922-2924.
- 6) K. Yoshimura and S. Matsuoka, *Laboratory Robotics and Automation*, 1993, 5, 231-244.
- 7) F. Lazaro, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Anal. Chim. Acta*, 1989, 219, 231-238.
- 8) F. Lazaro, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *ibid.*, 1988, 214, 217-227.
- 9) N. Lacy, G. D. Christian and J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, 1990, 62, 1482-1490.
- 10) K. Yoshimura, *Analyst (London)*, 1988, 113, 471-474.
- 11) K. Yoshimura, S. Matsuoka and H. Waki, *Anal. Chim. Acta*, 1989, 225, 313-321.

- 12) K. Yoshimura, S. Nawata and G. Kura, *Analyst* (London), 1990, **115**, 843-848.
- 13) K. Yoshimura and S. Matsuoka, "New Developments in Ion Exchange" (M. Abe, T. Kataoka and T. Suzuki, Eds.), 377-382, Kodansha/Elsevier, Tokyo, 1991.
- 14) K. Yoshimura and U. Hase, *Analyst* (London), 1991, **116**, 835-840.
- 15) S. Matsuoka, K. Yoshimura and H. Waki, *Mem. Fac. Sci., Kyushu Univ.*, Ser. C, 1991, **18**, 55-62.
- 16) K. Yoshimura, S. Matsuoka, Y. Inokura and U. Hase, *Anal. Chim. Acta*, 1992, **268**, 225-233.
- 17) S. Matsuoka, K. Yoshimura and A. Tateda, *Mem. Fac. Sci., Kyushu Univ.*, Ser. C, 1992, **18**, 169-178.
- 18) U. Hase and K. Yoshimura, *Analyst* (London), 1992, **117**, 1501-1506.
- 19) K. Yoshimura and S. Yamada, *Talanta*, 1992, **39**, 1019-1024.
- 20) K. Yoshimura and S. Matsuoka, "Ion Exchange Advances" (M. J. Slater, Ed.), 183-190, Elsevier, London, 1992.
- 21) D. Chen, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Talanta*, 1990, **37**, 1049-1055.
- 22) K. Yoshimura, S. Matsuoka, T. Tabuchi and H. Waki, *Analyst* (London), 1992, **117**, 189-193.
- 23) B. Fernandez-Band, P. Linares, M. D. Luque de Castro and M. Valcarcel, *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 1672-1675.
- 24) H. Waki and J. Korkisch, *Talanta*, 1983, **30**, 95-100.
- 25) D. Chen, A. Rios, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Talanta*, 1991, **38**, 1227-1233.
- 26) R. Liu, D. Liu and A. Sun, *Talanta*, 1993, **40**, 381-384.
- 27) M. de la Torre, F. Fernandez-Gamez, F. Lazaro, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Analyst*, 1991, **116**, 81-83.
- 28) V. L. F. Capitan, M. C. Valencia and G. Miron, *Anal. Chim. Acta.*, 1994, **289**, 365-367.
- 29) M. T. Tena, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *J. Chromatogr. Sci.*, 1992, **30**, 276-279.
- 30) M. T. Tena, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *J. Liq. Chromatogr.*, 1992, **15**, 2373-2383.
- 31) P. Canizares, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Anal. Lett.*, 1994, **27**, 247-262.
- 32) P. Canizares and d. C. M. D. Luque, *Anal. Chim. Acta*, 1994, **295**, 59-65.
- 33) D. Chen, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *ibid.*, 1990, **234**, 345-352.
- 34) C. Matsubara, K. Sakai and K. Takamura, *Anal. Sci.*, 1991, **7**(Supplement), 311-312.
- 35) M. C. Valencia, D. Gimeno and V. L. F. Capitan, *Anal. Lett.*, 1993, **26**, 1211-1226.
- 36) P. Richter, d. C. M. D. Luque and M. Valcarcel, *Anal. Chim. Acta*, 1993, **283**, 408-413.