

大容量サンプルを注入するフローインジェクション分析法とその応用

山根 兵

山梨大学教育学部化学教室

(〒400) 甲府市武田4-4-37

The Use of Large Sample Volume Injection in Flow Injection Analysis and Its Application

Takeshi YAMANE

Department of Chemistry, Faculty of Education,

Yamanashi University, Takeda-4, Kofu 400

The use of a large sample volume injection provides interesting features in flow injection analysis. Simultaneous determination of two components, simultaneous measurements of analytical and blank signals, elimination of blank peak effects, and improvements of analytical sensitivity by peak area measurements are main advantages obtained by such modification. Basic concepts for those are described and reviewed together with some applications.

FIAは迅速分析、操作が簡単、すぐれた再現性、システム構成が単純で低価格などをはじめとする数多くの特長が注目され、RuzickaとHansenによって1975年に発表されて以来、大きな発展をとげつつある。これらの特長はFIAが化学的にも(反応の観点から)物理的にも動的な性格を持った分析システムであること、別な見方をすれば試料ゾーンの分散や反応速度などを高度に制御する機能を単純なシステムでありながら持っているためと考えられる。

これまでのバッチシステムで行われている試薬や試料の添加、かき混ぜ、反応、検出などの操作がすべて細管中の連続した溶液流れの中で行われるので、FIAはまた化学分析の自動化に適したシステムとしての期待があり、さらには、分離、濃縮、希釈などの機能を容易に付与することが可能で(インライン、閉鎖系で)、従って、これらによ

って感度の増大、選択性の向上、精度や正確さといった分析の質的向上に役立つものとの期待も大きい。分散の制御がFIAの特質の一つと述べたが、反応を伴う場合には試薬との混合が必要なため、通常は小～中分散での実験が多く用いられている。大分散は高度な希釈やFIA滴定のような特例的な場面で見られる。これに対して、分散を意識的にできるだけ排除することによって、また興味あるFIAの特長が出てくることもある。分散を除く(少なくする)とは簡単にはキャリアー中での大容量サンプル注入によって達成される。Ruzickaらの表現を借りれば steady state(定常状態)の生成であり、頭頂部のフラットなシグナルとして記録される。それでは、分散を少なくしたようなタイプの FIAではどのような機能が期待されるかをまとめると、おおよそ次のようになる。

1. 二成分同時定量
2. ブランク値の同時測定補正
3. ブランクピーク対策
4. 高感度化

本稿ではこのような FIAについて著者らのこれまでの研究を中心に基本的な考え方や応用例を紹介する。

1. 二成分同時定量

通常のFIAシステムでは分離機能を備えていないので、二つ以上の成分の同時定量を行うために、①数台の検出器かマルチチャンネル検出器を用いる ②サンプルの逐次注入あるいは分割注入 ③反応速度差を利用する、など様々な工夫が試みられている。

これに対して一台の検出器と一回の試料注入操作で Fe(Ⅱ)と Fe(Ⅲ)の二成分の同時定量を可能とするために、大容量サンプル注入を用いたシステムが提案されている (Fig.1)¹⁾。本システムの基本原理はサンプルゾーン中にキャリアーによって希釈されないゾーンを維持させ、しかも、ゾーン内にアスコルビン酸を添加された部分とされない部分を形成するとともに、発色試薬によりそれらを反映させたピークとして明瞭に記録することである。そのためにはサンプルループ (SL) の長さが決め手となり、Fig.1では3 m以上が必要とされた。ピーク高さ h_1 はアスコルビン酸を加えられた部分に相当するので全Feを、またピーク高さ h_2 は本来サンプル中に存在していたFe(Ⅱ)の濃度に相当する。

このシステムの実例としてセメント中のFeとTiの同時定量に応用されている²⁾。発色試薬にジアンチピリルメタンが用いられ、アスコルビン酸を加えられたゾーンか

らTiが、また、残りのゾーンからはTiとFeの含量が求められる。分析結果は標準値と良い一致を示し、繰り返し精度も相対標準偏2%以下で良好な再現性を示した。

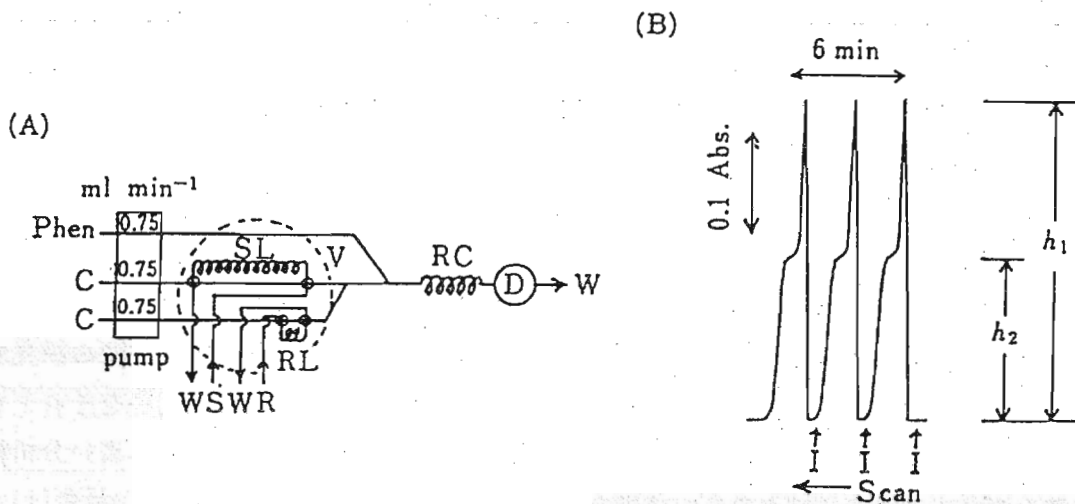


Fig.1 (A) Schematic diagram of the FIA system and (B) typical recorder response for a mixture of $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ iron(II) and $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ iron(III).

C: carrier (water), phen: $1.25 \times 10^{-3} \text{M}$ 1,10-phenanthroline solution (pH 5.9 acetate buffer), SL: sample loop (4m long), RL: reducing reagent loop (15cm long), RC: reaction coil (1m long), R: 0.05% ascorbic acid solution (loading), S: sample (loading), W: waste, D: spectrophotometric detector (526nm), V: 16-way valve, I: sample injection.

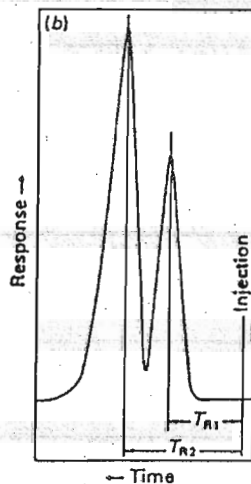
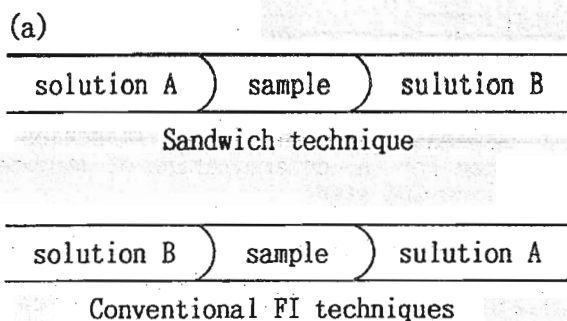


Fig.2 (a) Schematic representation of the sample plug in the sandwich and conventional FI techniques. (b) Recorder output obtained in simultaneous determinations by the sandwich technique. T_{R1} and T_{R2} residence times at the first and second interfaces, respectively.

サンプルゾーンの中に異なる反応領域を形成させる手段としては、上述のやり方に加えて、サンプルを試薬で両側からはさんだサンドイッチ方式も考えられる。Araujoら³⁾は、Fig.2のようにサンプルゾーンをジフェニルカルバジド溶液で後方をo-phen溶液ではさんだFIAシステムにより、Cr(VI)とFe(III)の同時定量を行っている。Cr(VI)のピークをFe(III)のピークと明瞭に区別するためにはかなり長いサンプルループが必要で、この場合には1250 μ lが注入されている。

2. 空試験値の同時測定

JIS鉄および鋼中のマンガンの定量方法(吸光光度法)では過よう素酸ナトリウム酸化吸光光度法が採用されているが、共存成分の影響を除くため発色後の溶液の吸光度と発色した溶液に亜硝酸ナトリウムを加えてMnO₄⁻を還元した後の吸光度をそれぞれ測定する必要があるため、かなり煩雑で時間と手間のかかる方法である。高い分析精度を確保するためにはそれだけ熟練のいる方法ともいえる。著者らは、この発色(1)と退色(2)反応及びそれらに基づく吸光度検出を同時に行える、FIAシステムを開発した(

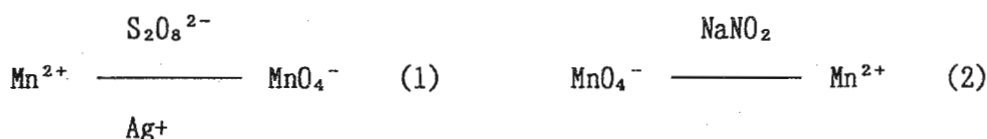


Fig.3)⁴⁾。原理的にはFig.1とほぼ同様であるが、サンプルゾーン全体にわたって発色させた後に、還元剤をその一部に加えるために、遅延コイルを導入した。シグナルの一例をFig.4に示す。この例では600cmのサンプルループを用いればプランク(※印の部分 …… 反応2に相当)とMnO₄⁻(フラットピーク …… 反応1に相当)の測定が同時に達成できる。鉄鋼標準試料の分析結果は標準値と良い一致を示し、相対標準偏差も0.2~0.3%であった。バッチ法に

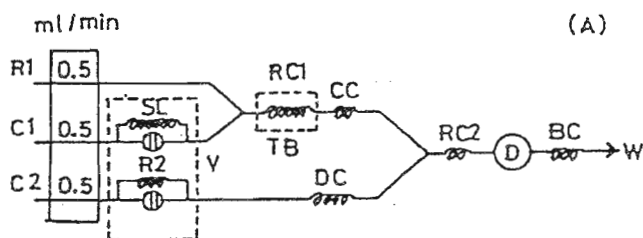


Fig.3 Schematic diagram of flow-injection system for (A) determination of manganese in iron and steel

C1: carrier (0.75N phosphoric acid solution), C2: carrier (water), R1: ammonium peroxodisulfate solution (5.0%), R2: 0.05% sodium nitrite solution (200-cm loop), SL: sample loop (600-cm for A and 400-cm for B), RC1: reaction coil (500-cm), RC2: reaction coil (100-cm), CC: cooling coil (100-cm), DC: delay coil (300-cm), TB: temperature-controlled bath (80°C), D: spectrophotometer (525nm), V: double 6-way valve, W: waste, BC: back-pressure coil.

比べると大幅に操作が簡単になり、高精度なうえ、約5分で測定が可能となった。

このようなFIAシステムは、コンクリート中のリグニン系混和剤の定量⁵⁾や鉄鋼中りんの定量⁶⁾のようにブランク測定が不可欠な分析法にも適用され、その有用性が確認されている。

3. ブランクピークの影響 除去

吸光度検出 FIAではキャリアと注入された試料溶液の間に屈折率の差がある場合にブランクピークが出現することは良く知られている。従って、高濃度の塩を含むような試料の場合にはブランクピークはつきもので、これによって分析の精度や正確さ、定量下限などに悪影響を及ぼすこともあり、特に微量成分の定量において無視できなくなることも少なくない。解決法としては、①適当な溶液を加えて両者の屈折率を合わせる
②屈折率に起因するピークがベースラインと交わる時間におけるシグナル強度を測定する、などが考えられるが、現実には種々の困難があり、根本的な解決策とはいえない。

このブランクピークの出現は注入された試料プラグの輸送過程での分散(希釈)により屈折率の勾配が生ずることが大きな要因と考えられるので、著者らは分散の生じな

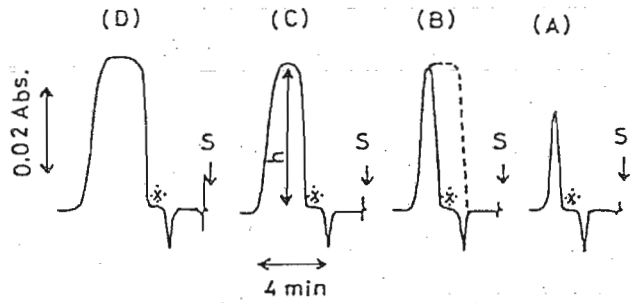


Fig. 4 Dependence of the shape of signal response on the sample loop length for injection of 2.0ppm manganese sample solution and 0.050% sodium nitrite solution.

Sample loop: (A)300-, (B)400-, (C)600-, (D)800-cm
NaNO₂ loop: 200-cm, S: sample injection

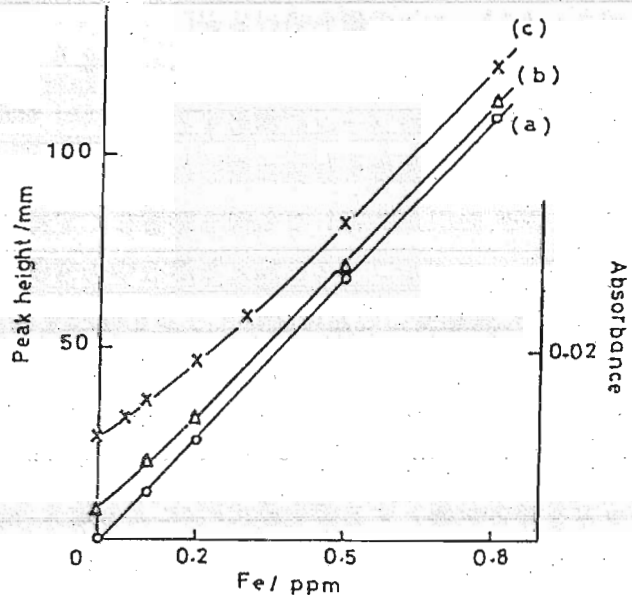


Fig. 5 Calibration graphs with a 40-cm sample loop for injection of (a) iron only, (b) iron in the presence of 0.01M sodium chloride, and (c) iron in the presence of 0.03M sodium chloride.

い領域を形成し、そこでのシグナルを分析に用いることによって、その影響を除けることを明らかにした⁷⁾。この原理を用いれば、かなり応用範囲の広い解決策となるものと考えられる。キャリアー(水)にサンプル溶液を注入し、下流で o-phen 溶液と合流させて Fe-phen 錯体の吸光度を測定するという簡単な FIA システムで、o-phen による Fe(II) の定量をモデルにした実験では、ループが 40cm では、検量線は 0.20M の NaCl をサンプル中に共存させることによって明らかにブランクピークの影響を受けるが (Fig. 5)、400cm のループを用い、分散の関与しない試料ゾーンに相当する部分のシグナル強度を分析に用いれば、0.20M NaCl が共存しても何ら影響なく定量できることがわかる (Fig. 6)。

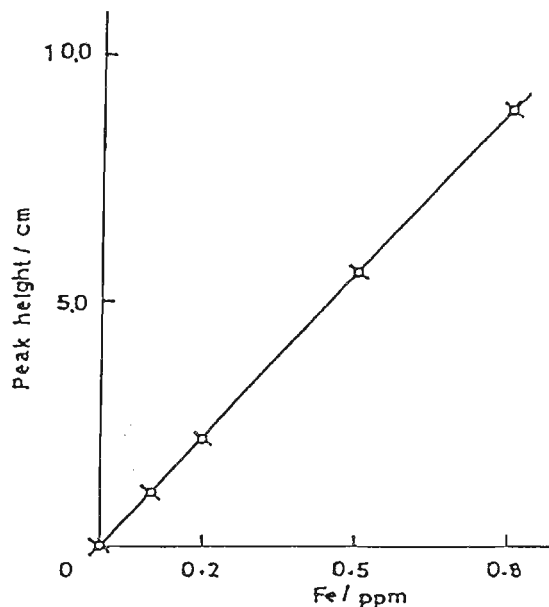


Fig. 6 Calibration graphs with a 400-cm sample loop for iron in the presence (X) and in the absence (O) of 0.20M sodium chloride.

溶質としてグルコースを加えた溶液中の極微量の Co が、ブランクピークの影響を受けないで、高感度に定量可能かどうかを PAPS を発色試薬とする吸光度検出 FIA により検証した結果を上述の NaCl 共存の Fe の定量結果とともに Table 1 に示す。400cm のサンプルループを用いた試料注入により 10ppb レベルの Co が影響されずに定量できることがわかる。最近になって、この手法は Emaus ら⁸⁾ によって、クロラミン T-フェノールレッドを発色試薬とする吸光検出 FIA による塩水 (brine) 中の ppm レベルの Br⁻ の定量に応用され良好な結果を得ている。さらに、FIA による天日塩中の Fe の定量にも応用され⁹⁾、従来のバッチ法による分析結果とも良い一致を示し、その有用性が実証された。

4. 高感度化

吸光光度法では光路(吸収セル)の長さに吸光度は比例するので、感度を上げるために長光路セルが用いられることがある。大容量サンプル注入では、サンプルゾーン内に分散の影響を受けない部分が出現すると述べたが、これが検出器を通ると、フラットな頭頂部を持つシグナルとして記録される。この部分の面積はループ長さが一定で

あれば吸収物質の濃度に比例するので、サンプルゾーンを長くするほど高感度測定が可能になる¹⁰⁾。

検出セルの光路長よりも長い非分散ゾーンがセルを通過したときに記録されたシグナル強度の積分は検出セルがサンプルで次から次へと満たされたときの吸収シグナルを何回も積算したと同じように考えることもでき、長光路セルによる吸収シグナルの増大と似たような効果が期待される。

フタレインコンプレクソンを発色試薬とするCaの吸光度検出FIAにおいて(Fig. 7)、45cmと600cmのサンプルループを用いた場合のピーク面積測定に基づく検量線をFig. 8に示す。感度(検量線の傾きで比較すると)は明らかに600cmのループの方が大きく、45cmの約6.5倍となった。注入量をさらに増やせば、ほぼ直線的に上述の検量線の傾きも増大することが確認されている。それでは精度や検出限界にはどのような効果が期待できるのだろうか。Table 2にはサンプルループが45cmと600cmのCaを注

Table 1 Determination of iron and cobalt in the presence of sodium chloride and glucose, respectively, with use of 40- and 400-cm sample loops.

Sample loop, cm	NaCl or glucose, M	Fe(Co) added, ppm	Fe(Co) found,* ppm	
40	0.10 NaCl	0.10 Fe	0.15 Fe	
	0.10	0.20	0.23	
	0.10	0.50	0.52	
	0.30	0.05	0.23	
	0.30	0.10	0.27	
	0.30	0.20	0.34	
	0.30	0.50	0.61	
400	0.20	0.10	0.10	
	0.20	0.20	0.20	
	0.20	0.50	0.51	
40	0.10 Glucose	0.010 Co	0.022 Co	
	0.10	0.030	0.041	
	0.10	0.050	0.059	
	0.10	0.080	0.086	
	400	0.10	0.010	0.009,
		0.10	0.030	0.031
		0.10	0.050	0.050
	0.10	0.080	0.081	

* Results of 3 to 5 determinations.

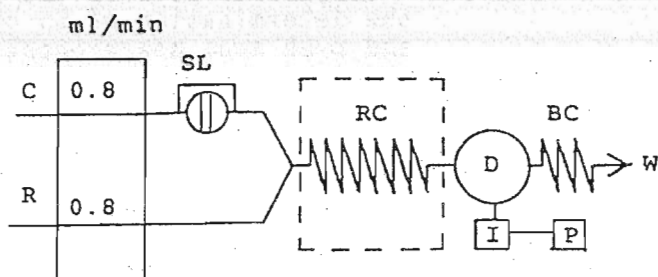


Fig. 7 Schematic diagram for FIA

C: carrier (water), R: chromogenic reagent solution (1,10-phenanthroline for Fe, phthaleine complexone for Ca, and sodium bathocuproine sulfonate for Cu), RC: reaction coil (3.0-m, 0.5mm i.d.) BC: back-pressure coil (3.0-m, 0.5mm i.d.) SL: sample loop (0.45-7.0m, 0.5mm i.d.) I: PE NELSON personal integrator, P: CHINON ink jet printer

入して得られるピーク高さ及び面積測定それぞれの相対標準偏差を示した。高さ測定と面積測定の間でそれ程顕著な精度の差はなく、また同じ面積測定であれば、ループの長短による精度の差は僅かであった。すなわち、長いサンプルループを用いて面積を濃度パラメーターとすることにより、通常方式の精度を保持したまま高感度化がはかれたといえる。

検出限界については、検出器のノイズレベルによって左右されるので、結果的には長いループでもそれほど顕著な進展はないように見受けられる。

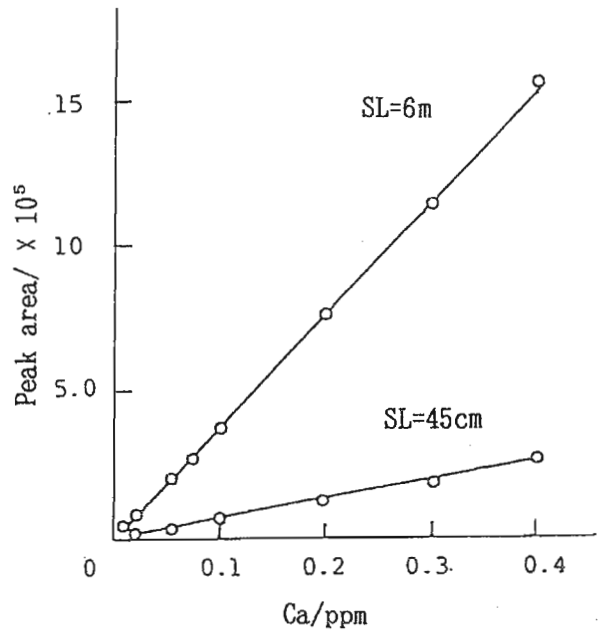


Fig.8 Calibration graphs by peak area measurement for various SL length

Table 2 Comparison between the precisions in the determination of Ca by peak height and peak area measurements

Ca(ppm)	Precision			
	Area		Height	
	L(0.45m)	L(6.0m)	L(0.45m)	L(6.0m)
0.1	2.5%	1.0%	1.0%	0.63%
0.2	1.1	0.91	0.76	0.72
0.3	1.6	0.50	0.82	0.51
0.4	0.38	0.60	0.38	0.51
0.07	1.2	1.3	1.0	1.6
0.05	4.6	4.4	2.5	4.7
0.02	7.2	2.5	3.7	3.5
0.01	8.7	9.7	12.1	10.1

The precision was expressed as relative standard deviation.

L: Sample loop length

長いサンプルループ(大容量サンプル)を用いた FIAの特長のいくつかについて述べたが、分析時間が長くなる(5~6分)ことや記録されたピークの形状が FIAの特長的なピークと異なる点で違和感があるかも知れない。しかし、長いサンプルゾーンを用いるという単純なことからも少し変わった機能が生まれるところに FIAの大きな可能性の一端を感じることができる。FIAの更なる発展を期待したい。

文献

- 1) T. Yamane and E. Goto, *Anal. Sci.*, 5, 221(1989).
- 2) 山根 兵, 丸田俊久, 横山 滋, セメント・コンクリート論文集, 45, 240(1991).
- 3) A. N. Araujo, J. L. F. C. Lima, A. O. S. S. Rangel, J. Alonso, J. Bartroli, R. Barber, *Analyst*, 114, 1465(1989).
- 4) 山根 兵, 斉藤真佐恵, 鉄と鋼, 79, 492(1993).
- 5) 丸田俊久, 横山 滋, 大内隆一, 山根 兵, セメント・コンクリート論文集, 46, 280(1992).
- 6) 阿部敬子, 神道千秋, 黒石忠文, 山根 兵, 第53回分析化学討論会講演要旨集, 1D15(1993).
- 7) T. Yamane and M. Saito, *Talanta*, 39, 215(1992).
- 8) W. J. M. Emaus, H. J. Henning, *Anal. Chim. Acta*, 272, 245(1993).
- 9) T. Yamane and H. Yamada, *Anal. Chim. Acta*, 308, 433(1995).
- 10) 山根 兵, 金子真也, 第17回フローインジェクション分析講演会要旨集, No. 22 (1992).