

F I A とキャピラリー

(熊本工業大学) 石井 大道

1975年 Růžička教授とHansen博士によってFIA の新分析手法が発表されてから23年が経過し、FIAに関する研究は本研究懇談会をはじめ世界各国で盛んになり、その有用性が確認されている。周知のように FIAは極めて迅速なレスポンスが得られることにその特長があり、試料溶液注入部と検出器を結ぶ反応管コイルは、内径 0.25~ 1.0mm で長さ 50~500cm のテフロンチューブ(細管)が主として使用され、反応試薬溶液の流速は 1~2ml/minで、試料の注人体積は 20~200 μ l が一般に採用されている実験条件である。サンプリング速度は従来の化学分析法に比べて非常に速く、1時間に60~120の試料の測定が可能であり、FIA は実用的な微量迅速自動分析法である。現在、JIS などに定められている化学分析の大部分は手作業で、ビーカー、ピペット、ビュレット、メスフラスコなどを用いて行われている。その自動計測化も一部では定められているが(例:化学的酸素消費量自動計測器 K 0806¹⁹⁹⁰) これらは手作業の方法を基本として、その操作をそのまま自動化したものである。しかし、FIA はこのような化学分析法をビーカーやフラスコなどの中で行うのではなく、テフロンチューブ(細管)の中の連続流れの場を用いるところにその特徴がある。

一方、連続流れを用いる化学分析法としては、1952年に発表されたガスクロマトグラフィー(GC)と 1969年に開発された高速液体クロマトグラフィー (HPLC) があり、これらは急速に普及し、とくに1957年 Golay博士によって考案された中空キャピラリーカラムは今日では GC の主流となり、その内径は 0.1~0.5mm、長さは 10~30mで、カラム体積は FIA の反応管と大体同じであり、キャリアーガスの流速も 1~ 2ml/min で FIA と同程度である。細管とキャピラリー(毛細管)を明確には区別できないが、内径が 1mm 以下の細管はキャピラリーと称しても差し支えは無いと考えられるので、FIA はキャピラリーを活用した化学分析法であると言える。

私は名古屋大学の研究室で1972年に GC で用いられている中空キャピラリーカラムを液体クロマトグラフィー (LC) で使用することを思いつき、その実験方法について検討した。この場合、カラムの一理論段当たりの高さ(HETP)を小さくすることは、ピーク形状をシャープにして、良好な分離性能を発揮する要因であるので重要であり、中空キャピラリーカラムについては Golay の式によって

$$H = \frac{2D_M}{u} + \frac{(11k'^2 + 6k' + 1)d_c^2}{96(1+k')^2 D_M} u + \frac{2k'd_r^2}{3(1+k')^2 D_s} u$$

のように示される。GC で得られるような良好な分離性能を LCにおいても発揮するための最も困難な技術的問題は、この式の 第2項 の分子拡散係数 (D_M)が、液体中の値 ($10^{-5}\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ の桁)は気体中の値 ($10^{-1}\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ の桁)の約一万分の一であるので、カラムの内径 (d_c)を LC では GCの場合の百分の一程度に小さくすることが必要であることである。そして移動相液体の線流速 (u)もカラム長さと分析所要時間に応じて適切に

することが重要なことである。以上の考察から、中空キャピラリー LC を実現するためには、その流速を GC の場合の一万分の一から千分の一の $0.1\sim 1\ \mu\text{l}/\text{min}$ の超低流速を必要とし、そのための送液ポンプ、試料注入、検出器体積のマイクロ化を技術的に達成することが重要である。そこで、手初めとして通常の HPLC の充填カラムのマイクロ化について実験を開始して、大学院生と共同で試行錯誤を繰り返し、その結果を第 9 回応用スペクトロメトリー東京討論会(1973年10月)に「マイクロ高速液体クロマトグラフの試作と紫外分光光度計との直結」と題して発表することができた。その後研究室では、津田(現・名工大) 竹内(現・岐阜大) 後藤(現・岐阜薬大) 神野(現・豊橋技科大) 日比(現・日本分光) の諸氏の協力によって関連技術の向上を計るとともに、その成果を日本分光(株)が1976年にマイクロ高速液体クロマトグラフ(FAMILIC-100)として製品化に生かすことができ、1977年のピッツバーグ会議にはその製品を展示するとともに「Trace Analysis by Micro Size HPLC」と題して 内径 0.5mm 、長さ 15cm のマイクロ充填カラムを用いた HPLC による血清中コルチコステロイドの分析方法について発表をした。また、LC 用中空キャピラリーカラムの試作も並行して進展させ、1978年に最初の論文を発表した。このとき試作した中空キャピラリーカラムは 内径 $62\ \mu\text{m}$ 、長さ 364cm のガラス管の内壁に SE-30 を塗布し、移動相は水+メタノール、流速は $1.67\ \mu\text{l}/\text{min}$ で試料溶液注入量は $0.02\ \mu\text{l}$ とし芳香族炭化水素やフタル酸エステル類などの分離の実例を示した。その後の10数年の間は、日米セミナー(1978年コロラド大、1982年ハワイ大)をはじめ、キャピラリークロマトグラフィー国際会議(1979, 1981, 1983, 1985, 1986, 1987, 1988, 1989, 1990)や 学術誌にも多くの研究成果を発表することができた。

1991年から熊本工業大学に上野景平先生のお世話で勤めることになったが、キャピラリーの利用についての経験を生かし、卒業研究の学生にも理解されることと各自が実際に手を動かして部品を作り装置を組み立てることによって、少しでも独創性を発揮できればと考えて、「化学分析法へのキャピラリーの活用」をテーマとして掲げることにした。その一つとして FIA のマイクロ化に関連した技術開発に学生と一緒に実験を行ってきた。そして、最近「超微量連続フロー分析法(CUMFA)」の手法を発表することができた。この手法の特徴は、1) 反応管として内径 0.25mm 以下のフレキシブルフューズドシリカキャピラリーを使用すること。2) 送液にはマイクロシリンジポンプを使用し、流速は $1\ \mu\text{l}/\text{min}$ 程度とすること。3) 吸光度検出器のフローセルには反応管と同じキャピラリーを使用すること。4) フローシグナルを栓流化して通常の FIA では使用しない定常状態とすること。5) キャピラリー中での反応は JIS などに定められた適切な条件を採用し、連続計測法として活用することである。また、「FIA の反応管内の流れを栓流に近付けるための回転攪拌技術の開発」についても発表した。この手法では、反応管全体の中心部に軸を挿入して回転攪拌し、液体中での分子拡散係数(D_m)を見かけ上大きくして、栓流化された矩形状信号を得られるようにした。

周知のように、最近ではキャピラリーが電気泳動分析法の分野にも大きな進歩をもたらしており、キャピラリーは将来に向けて、さらに有効な新しい分析手法を多く提供し、実験室廃棄物の激減にも貢献するものと考えられる。