

FIAにおけるオンライン分離濃縮

川久保 進¹, 山根 兵²

¹山梨大学大学院医学工学総合研究部 : 400-8511 山梨県甲府市武田4-3-11

²山梨大学教育人間科学部 : 400-8510 山梨県甲府市武田4-4-37

Online separation and concentration in FIA

Susumu Kawakubo¹ and Takeshi Yamane²

¹Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering,
University of Yamanashi, Takeda, Kofu 400-8511, Japan

²Faculty of Education and Human Sciences,
University of Yamanashi, Takeda, Kofu 400-8510, Japan

Online separation and concentration promise sensitive and reliable analyses in FIA. In addition, they contribute to the speciation by FIA. This tutorial review is intended to describe online solvent- and solid-extractions as typical and practical separation/concentration techniques in FIA. The principle, feature, instrumentation, application and recent trend of the techniques are discussed.

1. はじめに

FIAの特徴として、省試薬、省試料、省スペース、簡便性、迅速性、高精度などが挙げられる。特徴の多くは、細管内の流れの中に試料溶液を注入し、試薬と反応させ、生成物を検出器に導く、FIAの自動分析機能によってもたらされる。流れる過程で試料は分散し、希釈されるが、検出器に達する測定溶液のゾーンは、少ない場合、数十 μ l、多くても1 ml程度と考えるとよいであろう。従って、分析成分の濃縮や妨害成分からの分離といった前処理のオンライン化は、細管内に閉じ込められ、流動する微量溶液ゾーンをどのように処理すればよいのか、という課題と言える。オンライン分離濃縮の機能をもつFIAとして、1978年にKarlbergら[1]とBergaminら[2]により溶媒抽出(液-液抽出)が、1983年にOlsenら[3]により固相抽出(固-液抽出)が発表され、それ以来20年以上が経過した現在、溶媒抽出と固相抽出は主要なFIA技術となっている。

本稿は、オンライン分離濃縮を溶媒抽出と固相抽出に絞り、概要や特徴などを述べた後、最近の動向を中心に応用例を紹介する。送液ポンプから検出部までを含めたオンライン溶媒抽出の実際については本水による解説(1988年)[4]があり、オンライン溶媒抽出と固相抽出の応用例はTrojanowiczの単行本(2000年)[5]やDasらの総説(2001年)[6]が参考になるであろう。

2. オンライン溶媒抽出

2. 1 オンライン溶媒抽出の概要と特徴

オンライン溶媒抽出FIAシステムの概念図をFig. 1に示す。通常、流路はPTFE(ポリテトラフルオロエチレン)製細管を

使用する。送液ポンプ(P1, P2)によって、試料溶液を注入した流れ(水相)と有機溶媒の流れ(有機相)を合流させ、各相のセグメントが交互に流れる状態(Fig. 2)を形成させる。抽出コイル(EC)を流れる間、水相セグメントと有機相セグメントの界面で抽出がなされ、その後、相分離器(PS, phase separator)によってセグメント化した二相を水相と有機相の流れに分け(相分離)、有機相を検出器(D)に導く。得られたピーク状の信号の高さ、或いは面積を定量に用いる。

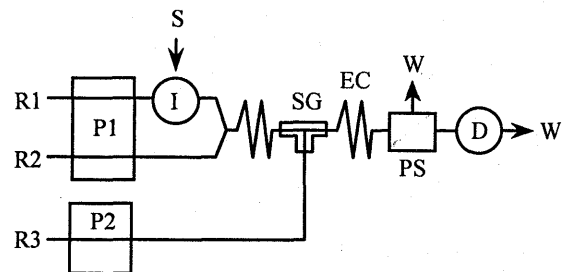


Fig. 1 FIA system with solvent extraction.

R1:aqueous carrier, R2:reagent for extraction, R3:organic solvent, P1 and P2:pumps, S:sample, I:sample injector, SG:segmentor, EC:extraction coil, PS:phase separator, D:detector(flow cell), W:waste.

溶媒抽出に適した有機溶媒にはクロロホルムや四塩化炭素のように毒性のあるものが多く、そのため溶媒抽出法は敬遠される傾向がある。FIAシステムにオンライン化することにより、分液ろうとを用いて抽出する通常の手操作バッチ法に比べて1試料当たりの有機溶媒の使用量が格段に少なくなり、使用済み有機溶媒を自動的に再生させ、再利用する可能性もある(後述)。抽出にあたって、抽出平衡に関わる諸因子(抽出試薬濃度、pH、抽出時間など)の他に、流路、水相と有機相の流速や流速比、相分離の条件など、FIAに関わる因子を考慮し、最適化する。そのためには、FIA

における抽出機構を理解する必要がある。

2. 2 抽出機構

手操作パッチ法では、分液ろうと内で水相と有機相を振り混ぜて、どちらかの相について液滴を形成させる。これによって二相の界面の面積を大きくし、抽出効率を高め、抽出を迅速化する。一方、FIAでは、PTFE管が分液ろうとに相当する部分となる。抽出が起る界面をFig. 2のa部とすると、管内を移動する二相のセグメントの形は流れ方向に細長いので、抽出効率は手操作パッチ法に比べて悪いように見える。実際には、PTFE管の親油性によって管内壁に有機相の膜が形成され、Fig. 2のb部が界面として抽出に大きく寄与するため[7]、抽出効率は悪くならない。b部の膜厚は、抽出コイル内の流れが速くなるに従って厚くなり、有機相の粘度が高く、管壁に濡れやすいほど厚くなる。このようなFIA特有の抽出機構[7,8]から、抽出効率が悪い場合、それを改善するガイドラインとして以下の項目が挙げられる。

- (1)抽出コイルの管径を小さくしてセグメントの比表面積を大きくする。
- (2)抽出コイルをコイル状に巻くときの径を小さくしてセグメント内での物質の混合をよくする。これはセグメント内に副次流が生じるためである。
- (3)流速を小さくしたり、抽出コイルを長くして抽出時間を長くする。但し、流れ方向で起る試料ゾーンの分散が大き過ぎると、分析感度やサンプリング速度が低下する。

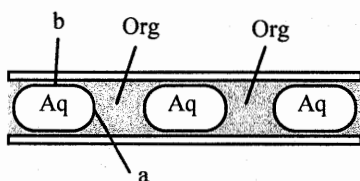


Fig. 2 Formation of aqueous and organic segments in PTFE tube.

Aq:aqueous phase, Org:organic phase.

2. 3 溶媒抽出FIAシステム

FIAシステムの配管にはPTFE製、接合部にはPEEK製(ポリエーテルエーテルケトン)やダイフロン(ポリクロロトリフルオロエチレン)製のものが一般に使われるので、有機溶媒に侵され難い。しかし、ペリスタ型ポンプに使うシリコン製やタイゴン製の管は有機溶媒に弱く、フッ素ゴム系など、耐性のあるものを選ばなければならない。送液ポンプとしてペリスタ型やプランジャー型が使われる。要求される性能によるが、安定で再現性のよい送液にはプランジャー型が望ましい。

水相と有機相をセグメント化するためのセグメンター(segmentor)としてダイフロン製三方ジョイントが使われる。二相の合流角度(30~180°)が違ってピーク高さで10%程度以下の差しかなく[9,10]、市販のT字型ジョイント(Fig. 1, SG)で十分である。抽出コイル(Fig. 1, EC)には内径0.5~1 mmのPTFE管が使われ、巻き径は1, 2 cm程度である。PTFE

管に密に結び目をつけた管(ノットドコイルknotted coil或いはノットドリアクターと呼ばれる)が抽出効率のよい抽出コイルとして使われている。コイル内の流速、コイルの管径と長さによって抽出時間(コイル内の滞留時間)が定まる。抽出条件は流速や管長さを変えて実験的に最適化するのので、抽出が平衡に達しているとは限らないが、一般に抽出時間は数秒~1分前後に設定される。

抽出コイルを出たセグメントの流れがそのまま検出器(フローセル)を通過すると、吸光度を測定する方法ではプローブ光がセグメントの界面(Fig. 2, a)で屈折したり、反射し、これによる信号(ゴースト)に測定したい信号が隠れてしまう。この問題を解決するために次の方法が提案されている。

- (1)相分離器によってセグメント化した流れから有機相(或いは水相)のみを回収する(Fig. 1)。
- (2)フローセルを十分満たす量の有機溶媒を水溶液の流れに注入し、有機相のみを測定する[11,12]。ポンプ操作によって流れ方向を変えてセルを中心に有機相を往復させたり[11]、超音波照射によって抽出を促進する[12]。
- (3)セグメントの流れからの信号をコンピューター処理し、分析成分を含む相のみの信号を得る[13]。

この他、蛍光測定では、セグメントの流れをそのまま蛍光測定することもできる[14]。しかし、現在、主に用いられている方法は相分離器を使う方法である。相分離器は、オンライン抽出の要であるので、次節で少し詳しく解説する。

2. 4 相分離器

代表的な相分離器をFig. 3に示す。Fig. 3, Aは、Technicon

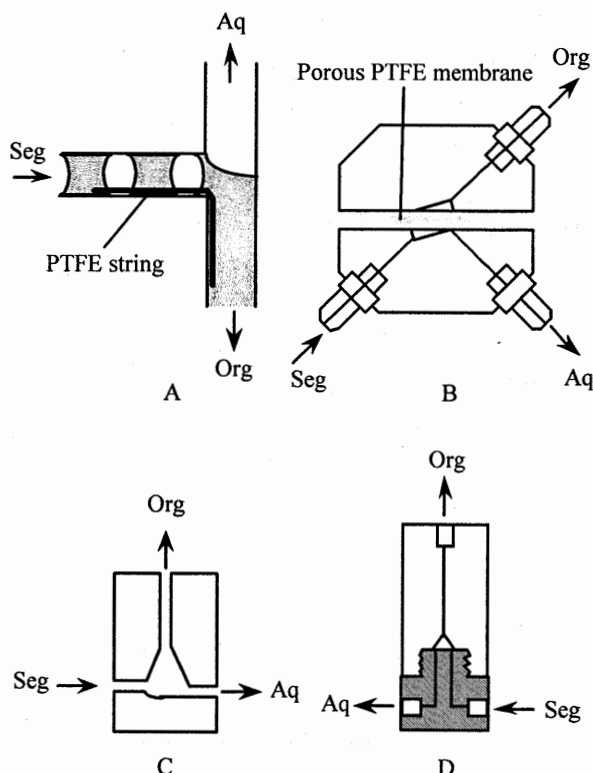


Fig. 3 Phase separators.

Aq:aqueous phase, Org:organic phase, Seg: segments.

社製Autoanalyzerのガラス製T字コネクターにPTFE製の糸を入れたもので、有機相と水相の比重差とPTFEの親油性を利用して分離する[1]。Cは、Perspex製本体の中心に位置するチャンパー(0.11cm³)で比重差を利用して分ける[2]。どちらも初期の相分離器であるが、比重差と材料のぬれ易さの違いを利用する点では現在のもの(B, D)も同じである。

Fig. 3, Bは、多孔性PTFE膜の親油性・撥水性を利用している。水相セグメントは膜の孔を通過し難く、有機相は通過しやすいため、相分離器の形状や流れを最適化すると、膜を介して有機相(Org)或いは水相(Aq)のみの流れが形成される。セグメント、有機相、水相の流れの方向や角度、膜の溶液に触れる部分(溝)の形状についての比較、検討から、膜を縦2 mm、横2mm、深さ最大2 mmの溝をもったダイフロン製ブロックで挟んだタイプ(B)が相分離に優れるとされる[10]。分離をより完全にするために、Bの2つのブロックの間にもう1つブロックを入れて2枚の膜が使えるようにしたものも開発されている[15]。多孔性PTFE膜の孔径は、小さすぎると有機相が通過し難く、大きすぎると有機相に水相が混じりやすくなる。一般的に孔径0.7~1 μmの膜が使われ、市販のろ過膜をカットして相分離器に装着すればよい。使用にあたって、流入や流出の速度の影響を調べ、二相の分離効率を最適化する必要がある。流入速度が高くて内圧が上がり過ぎると、相分離が不完全になり、撥水性が悪くなって膜の寿命が短くなる。測定の再現性をよくするためには流出速度を一定に保つ必要がある。そのために、必要に応じて、検出器を通過した流れをポンプで引いたり、背圧コイルやニードルバルブを接続する。流出側の圧力は膜を通過する相の割合にも影響する。多孔性PTFE膜を利用する相分離器にはチューブ状のもの(Fig. 4)も開発されている[16]。

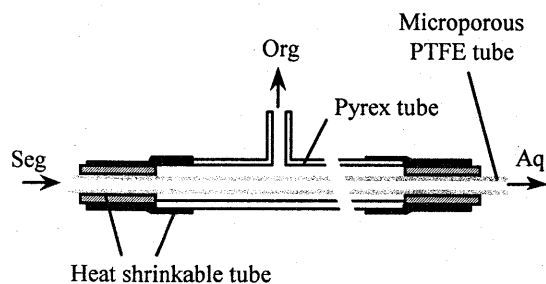


Fig. 4 Phase separator with a microporous PTFE tube. Aq:aqueous phase, Org:organic phase, Seg: segments.

主に比重差を利用する相分離器の代表的な例をFig. 3, Dに示す。この相分離器の上部と下部はそれぞれPTFE製とステンレス製で、中央の小さな円錐形の隙間で軽い有機相が分かれ、上方に流れる[17]。このタイプの相分離器も、多孔性膜型と同様に、流出速度を調節し、有機相の流れに水相が混入しないように注意する必要がある。

この他、相分離器の機能とともにセグメンターの機能も持つセル(Fig. 5)が開発されている[18,19]。このセルは、ク

ロマトメンブランセル(Chromatomembrane cell)と呼ばれ、2種類の孔径(0.3 μmと200 μm)をもつPTFE製ブロックで、水相(極性溶媒)は孔径200 μmの部分に、有機相(非極性溶媒)は孔径0.3 μmの部分に保持される。Fig. 5のように二相の流れを交差させてブロック内で接触させ抽出する。有機相側の出入口に多孔性PTFE膜を置き、有機相のみが流出するようにしてある。開発段階の相分離器である。

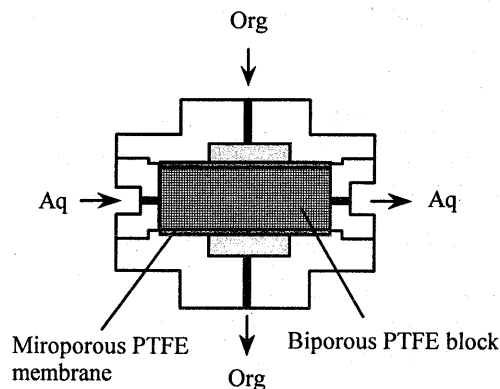


Fig. 5 Chromatomembrane cell. Aq:aqueous phase, Org:organic phase.

2. 5 溶媒抽出FIAの応用例

実例として、抽出溶媒がリサイクルできる、ジクワット(DQ)とパラコート(PQ)の定量[20]を紹介する。この方法は、DQまたはPQとテトラプロモフェノールフタレインエチルエステル(TBPE)とのイオン会合体を1,2-ジクロロエタンで抽出し吸光光度定量(610 nm)する。ダブルプランジャーポンプでリン酸塩緩衝液(pH 11)をキャリアーとして流す(0.8 ml min⁻¹)。この流れに試料200 μlを注入し、同じ流速で流したTBPE・Hのジクロロエタン溶液と合流させ、セグメント化する。セグメントの流れを内径0.5 mm、長さ5 mのPTFE管に導き、試料中の分析成分を有機相に抽出する。その後、多孔性PTFE膜型相分離器(Fig. 3, B)で有機相のみを分離し、検出器に導き、吸光度を測定する。得られたピーク状信号の高さを求めて定量する。有機相の回収率を調節するために、相分離器の水相排出側や検出器の有機相排水側にニードルバルブに装着し、水相排出側には背圧コイル(内径0.25 mm、長さ0.35 m)も装着している。TBPE・H-ジクロロエタン溶液100 mlと3 M硫酸5 mlを入れた容器に水相と有機相の廃液を導き、かくはんする。硫酸酸性にすることによってイオン会合体は解離し、DQとPQは水相に逆抽出され、有機相廃液はTBPE・H-ジクロロエタン溶液として再生する。DQとPQの検量線の傾きがほぼ一致するため、両成分を合量として定量できる。検量線の直線範囲は0.25x10⁻⁵~2.0x10⁻⁵ mol l⁻¹で、市販の除草剤に応用できることが確かめられている。

最近の応用例の幾つかをTable 1に示す。検出法として、抽出溶液を流したまま測定できる吸光光度法、蛍光分析法、化学発光法、フレーム原子吸光分析法など、従来から使われてきた方法の他に、黒鉛炉原子吸光分析法やガスクロマ

トグラフィーなども使われるようになった。黒鉛炉原子吸光分析法の場合[17]，抽出溶液を一定体積(55 μ l)の細管に満たし，細管の先端(石英製キャピラリー)をアーム操作によって黒鉛炉の上に移動させ，空気を送って抽出溶液を黒鉛炉に導入している。ガスクロマトグラフィーの場合[19]，Chromosob Gを充填した試料注入部に抽出溶液を一定時間流し，注入部を加熱して溶媒を除く。その後，さらに昇温して分析成分を気化させ，窒素ガスでガスクロマトグラフに導入している。

Table 1 Applications of online solvent-extraction FIA

Analyte	Sample	Extraction	Detection	Ref.
Al	Fresh water	Oxinate/ chloroform	SFL, DL=2, SF=30	14
P	Fresh water	Molybdophosphate MG/benzene- MIBK	SP, DL=0.1, SF=40	10
Ni	Alloy and electroplating solutions	BAE/chloroform	SP	21
Cr	Water	APDC/MIBK	GFAAS, SF=24, DL=0.0033	17
Mo	Plant	Thiocyanate/ isoamyl alcohol	SP, SF=30	2
Cd	Fresh and sea water	APDC/MIBK	FAAS, DL=0.02, SF=33	22
Anionic SFs	Fresh water	MB/chloroform	SP, SF=50	11
Anionic SFs	Fresh water	MG/toluene- MIBK	SP, DL=18, SF=20	15
Anionic SFs	Fresh water and sewage	MB/chloroform	SP, DL=20, SF=30	23
Anionic SFs (DBS)	Detergent	MB/chloroform	SP, DL=0.3, SF=50	24
PAHs	Waste water	Pentane	GC	19
Diquat, paraquat	Herbicide	TBPE/dichloro- ethane	SP	20

SFs:surfactants, DBS:sodium dodecylbenzenesulfonate, PAHs:polycyclic aromatic hydrocarbons, BAE:bis(acetylacetone) ethylenediimine, APDC:ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, MB:Methylene Blue, MG:Malachite Green, TBPE:tetrabromophenolphthalein ethylester, SFL:spectrofluorometry, SP: spectrophotometry, GFAAS: graphite furnace atomic absorption spectrometry, FAAS:flame AAS, GC:gas chromatography, DL:detection limit (μ g l⁻¹), SF:sampling frequency (samples h⁻¹).

3. オンライン固相抽出

3. 1 オンライン固相抽出の概要と特徴

オンライン固相抽出FIAシステムの概念図をFig. 6に示す。送液ポンプ(P1)によってキャリアー溶液(R1)を流し，これに試料溶液(S)を注入する。この流れを試薬溶液(R2)の流れと合流させ，分析成分の化学的形態を固相抽出しやすい形に変える。その後，吸着剤を充てんした固相抽出カラム(CL)に導き，分析成分を固相抽出して他の成分(妨害成分)と分離する。バルブ(V)を切り換えて溶離液(E)をカラムに送り，

分析成分を溶出させる。発色試薬や蛍光試薬などの溶液(R3)を溶出液と混合し，検出器(D)に導く。最終的に得られたピーク状信号の高さ，或いは面積を測定し，分析成分を定量する。固相抽出は妨害成分を吸着させて分離する方法にも使える。この場合，カラム内の試料の分散は感度を低下させ，カラムの吸着容量を十分大きくしないと妨害成分が溶出することに注意する。

オンライン固相抽出は，相分離を必要としないので，オンライン溶媒抽出に比べて流速の制御などの操作が容易であり，高度な濃縮も期待できる。また，分析成分の吸着剤に対する分布係数が異なれば，多成分同時定量の可能性もある。固相抽出の回収率を良くするとともに，溶離をシャープにして分析成分の分散による感度の低下を抑えるため，吸着平衡(分布係数)に関わる諸因子(試薬濃度やpHなどの他，吸着剤の粒度やカラムの形状などを最適化する。

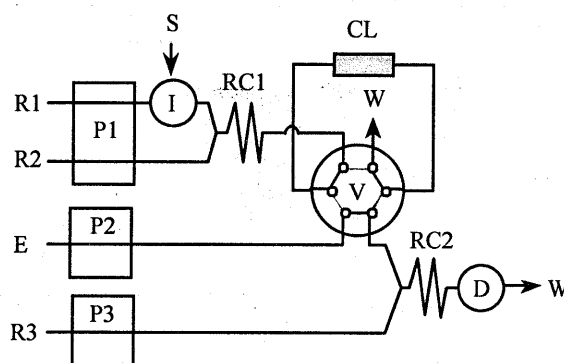


Fig. 6 FIA system with solid extraction.

S:sample, I:sample injector, R1~R3: reagents, E:eluent, P1~P3:pumps, RC1 and RC2: reaction coils, CL:column with adsorbent, V:valve, D:detector (flow cell), W:waste.

3. 2 固相抽出FIAシステム

オンライン固相抽出FIAは，多成分の相互分離を目指す手法ではないので，配管や送液ポンプの耐圧性，充填剤の粒径，溶離液の選択などの条件は高速液体クロマトグラフィーほど厳しい制限はなく，通常のFIAと同じような扱いと考えるとよい。従って，流路にはPTFE製細管を使用し，その管内径は0.5 mm前後が多い。カラムに吸着剤を充てんすることによって流路の内圧が高くなるので，送液ポンプはペリスタ型よりもプランジャー型を勧める。少量の試料はFig. 6のように注入し，比較的多量の試料を濃縮するときは送液ポンプ(P1)で試料を一定時間カラムに送る。試料を送るだけで分離できればR2を，原子吸光分析法やICP発光分析法などで測定すればR3を除くこともできる。

オンライン固相抽出FIAでは，分析成分(或いは妨害成分)をカラムに吸着させたとき，キャリアー溶液の一部がカラム内に残る。従って，溶離のとき，その残液は溶離液に挟まれて流出する。残液と溶離液の液性の違いが大きいと，吸光度を測定する方法ではプローブ光がこの2つ溶液の界面で屈折し，これによる信号がゴーストピークとして現れることがあるので[25]，十分な注意が必要である。カラム

内に残った溶離液は、通常、次の試料をカラムに送るとき、そのキャリアー溶液で洗い出す。しかし、別途、洗浄液を流して洗ったり、カラムを再生する面倒な操作が必要なこともある。このような問題は、同じキャリアー溶液で試料注入から濃縮、溶離までができれば避けられる。著者らの一人は、同じキャリアー溶液を使い、分析成分と妨害成分をイオン交換カラムでクロマトグラフィ的に分離し、発色を伴う触媒反応を利用して測定するシステムを開発した[26]。固相抽出カラムは、オンライン固相抽出の要であるので、次節で少し詳しく解説する。

3.3 固相抽出カラム

固相抽出カラムとして吸着剤やイオン交換樹脂を充てんしたものがよく使われる。カラムへの固体粒子の充てんは、流れ方向の分散を抑える効果があるが、カラム内で溶液が混合しやすくなるので、試料ゾーンの分散は大きくなる。従って、カラムの内径は小さく、その長さは短いほどよい。しかし、十分な吸着面積(或いはイオン交換容量)を得るためには、ある程度の内容積が必要となる。通常、カラムは内径2~6 mm、長さ20~70 mm程度の管状ものが使われている。円錐状のカラム(例えば、最大内径4.5 mm、最小内径1.5 mm(流出側)、長さ40 mm)は、溶離ゾーンの分散の抑制に効果がある[27-29]。カラムの材質としてホウケイ酸ガラスとステンレスが耐圧性に優れ、次いでPEEKが優れる。カラムの内圧が特に高くなければ、普通、PTFE管が使われる。いずれの材質であっても使用にあたってカラムからの汚染に注意しなければならない。FIAシステムの内圧が高くないようにするためには、充てん剤の粒径は大きいほどよいが、それによって吸着量に関係する比表面積は小さくなる。実際には粒径30~100 μm 程度の場合が多く、数百 μm の場合もある。いずれにしても球状で一定の粒径のものがよい。また、液性によって体積が変化するのは、使用中、カラム内に隙間を生じさせたり、液洩れの原因になり、場合によってはカラムが破裂するので避けた方がよい。

充てん剤をカラムに詰めるには、スラリー状にして流し込むかアスピレーターで吸引したり、タッピングによって充てんする。PTFE管をカラムにする場合、充てん後、管の両端に石英ガラスウールを詰め、フレア型コネクターで押さえれば簡単に自作できる。

充てん剤は分析成分と共存成分に応じて多種多様である(Table 2及びTable 3参照)。イオン交換樹脂とキレート樹脂は金属イオンの分離濃縮に適し、海水や淡水の分析にしばしば使われる。活性炭は金属イオンとともに非極性有機物質の分離濃縮に使うことができる。その他、活性化したアルミナや酸化ジルコニウム(IV)も金属イオンの濃縮に使われている。さらに、樹脂、シリカゲル、多孔質ガラス、活性炭などの粒子に8-キノリノールやイミノ酢酸、C18(オクタデシルシリル基)などを固定したものも使われる。また、Fig. 6に示すように、FIAシステム内で金属キレートを生成

させ、充てん剤に吸着させる方法もよく用いられる。充てん型カラムによる固相抽出によって数十~百倍の濃縮率が達成できる。濃縮率を高くするためには試料量を増やせばよいが、充てん型カラムでは耐圧性の点から試料の流速をあまり高くできないので、濃縮に時間がかかる。そのため、通常のFIAに比べて分析時間が長くなることが多い。

3.4 その他のオンライン固相抽出

FIAシステム内で生成させた親油性金属キレートはPTFE管内壁に吸着させる方法が増えている[30-34]。この方法では、吸着率をよくするためにノッティド・リアクター(例えば、内径 0.5 mm、長さ 2 mのPTFE管に径約5 mmの結び目をつけたもの[31])を使う。充てん型カラムに比べて試料の流速を高くできるが、十分な吸着面積を得るためには、ある程度の長さの管が必要である。

最近では、粒径数十 μm の吸着剤粒子を流して測定セルに充てんし、そこに試料やキレート剤を送って分析成分を吸着させ(Fig. 7, A-1)、測定後、測定セルの隙間を大きくして吸着剤を流し出す(A-2)方法(bead injection)も考案されている(Bでは流れを逆にして流し出す)[35-37]。この測定セルはジェットリングセル(jet ring cell)と呼ばれ、吸着剤粒子を測定の間として用いる点で固相抽出カラムやノッティド・リアクターにない特徴を持つ。また、測定ごとに新しい吸着剤粒子を使うので、溶離液は不要で、吸着剤の劣化について心配する必要もなくなる。他方、透光性のある吸着剤粒子を均一に再現性よくセルに充てんする必要があり、粒子を残して溶液だけを流すための隙間の調節など、かなり精密な自動制御機構が必要である。ジェットリングセルを用いる方法はまだ開発段階と言える。

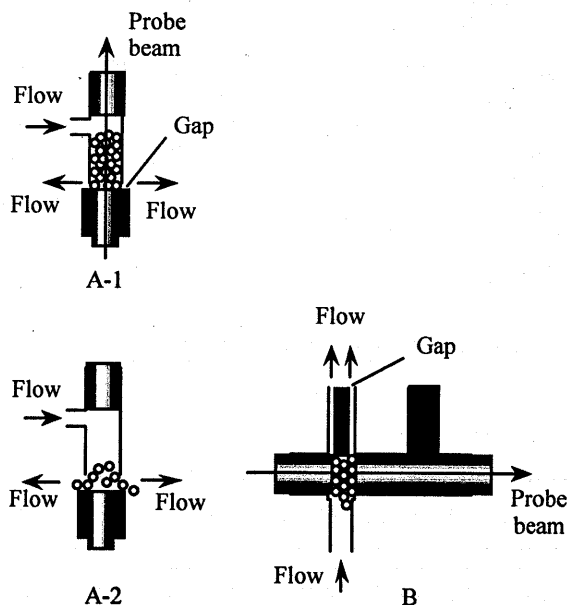


Fig. 7 Jet ring cell.

3.5 固相抽出FIAの応用例

実例として、著者の一人が開発した、簡単な固相抽出FIAシステム(Fig. 8)を使って鉛とカドミウムを同時定量する方

法[38]を紹介する。この方法では、内径0.25 mmのPTFE管を流路とし、ダブルランジヤーポンプで送液する。固相抽出カラムには、粒径30 μmの陽イオン交換樹脂を充てんしたホウケイ酸ガラス製カラム(内径2 mm, 長さ5 cm)を使う。水酸化ナトリウムでpH 5.5に調節したリンゴ酸をキャリアーとして流す(0.3 ml min⁻¹)。内径0.25 mm, 長さ250 cmのサンプルループに採取した試料をキャリアーの流れに注入し、カラムに導く。金属イオンの錯化剤としてリンゴ酸を共存させその濃度を最適化することによって、リンゴ酸と安定な錯体を形成する鉄(III), 銅(II), 亜鉛(II)は鉛やカドミウムより先に流出する。鉛とカドミウムは、この順でクロマトグラフィー的に分離され流出する。カラムを通過した流れに発色試薬として5,10,15,20-tetrakis(*N*-methyl-pyridinium-4yl)-21*H*,23*H*-porphine, tetrakis (*p*-toluenesulfonate) (TMPyP)を含む炭酸塩緩衝溶液(pH 10.1)の流れ(0.3 ml min⁻¹)を合流させる。流れを恒温水槽(40°C)に浸けた2 mの反応コイルに導き、鉛とカドミウムのTMPyP錯体を生成させ、発色させる。その後、分光光度計に装着したフローセルで吸光度(476 nm)を測定し、得られたピーク状信号の高さを求めて定量する。鉛及びカドミウムの検量線は0~0.1 μg ml⁻¹で直線性があり(他の分析性能はTable 3参照), 土壌抽出溶液や河川水標準試料に応用できた。

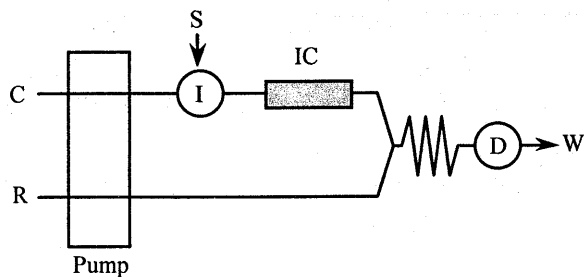


Fig. 8 FIA system for simultaneous determination of lead and cadmium.
S:sample, I:sample injector, C: carrier solution, R: TMPyP solution, IC: ion-exchange column, D:detector (flow cell), W:waste.

最近の応用例をTable 2とTable 3に示す。検出法として、溶液を流したまま測定できる吸光光度法, 蛍光分析法, 化学発光法, フレーム原子吸光分析法, ICP発光分析法, ICP質量分析法が使われている。また, 溶媒抽出FIAと同じようにアーム操作によって黒鉛炉原子吸光分析もできる[44]。固相抽出FIAのスペシエーションへの応用も増えてきた。クロム(III)とクロム(VI)の内, クロム(III)がMuromac A-1(イミノジ酢酸型樹脂)に選択的に濃縮され, 定量できる[41]。予め試料中のクロム(VI)をクロム(III)に還元してクロムの含量を求め, この値とクロム(III)の定量値と差からクロム(VI)量を求める。イオン交換樹脂を使う3価と6価の分別法もある[42]。3M社製の厚さ0.5 mmの陽イオン交換樹脂ディスクと陰イオン交換樹脂ディスクを円盤状(径5 mm)に切り出したものをオンライン化し, 前者でCr(OH)_n⁽³⁻ⁿ⁾⁺, 後者でCrO₄²⁻又はHCrO₄⁻を濃縮し, 流路の切り換えによってそれぞれの

Table 2 Applications of online solid-extraction FIA (1)

Analyte	Sample	Extraction	Detection	Ref.
P	Fresh water	Molybdate-form Amberlite CG 400	SFL, (DL=3)	39
V	Fresh water	KR/BrPADP	ICP-AES, DL=0.019, SF=ca. 22	31
Cr(VI)	Fresh and sea water	PTFE beads/APDC	GFAAS, DL=0.009, SF=16.7	40
Cr(III), Cr(VI)	Sea water	Muromac A-1	ICP-MS, SF=12	41
Cr(III), Cr(VI)	Fresh water	Cation- and anion- exchange disks	ICP-AES, DL=0.02 (Cr ³⁺), 0.04 (Cr ⁶⁺), SF=7.5	42
Fe	Fresh water	Jet ring cell/Chelex 100	Colorimetry DL=25	35
Co	Fresh water	KR/precoated nitroso-R salt	GFAAS, DL=0.005, SF=17	32
Co	Fresh water	KR/BrPADP	ICP-AES, DL=0.09, SF=ca. 22	34
Ni	Fresh water	Activated carbon	ICP-AES, DL=0.082	29
Cu	Fresh and sea water, rice	KR/DDC	FAAS, SF=46, DL=0.2	30
Organic Cu	Sea water	8-Q immobilized Toyopearl HW-75F resin	CL	43
Se(IV), Se(VI)	Sea water	RP C18/selective adsorption of selenite-PDC	GFAAS, DL=0.0045, SF=11	28
Pt	Fresh and sea water, plant, soil, catalyst	DPTH immobilized silica gel	GFAAS, DL=0.8, SF=29	44
Hg, methyl Hg	Fish liver, leave, marine sediment	C18/DPADE, Reduction with NaBH ₄ for inorganic Hg, with FeCl ₃ -NaBH ₄ for total Hg	Cold-vapor AAS, DL=0.01 (Hg), 0.018 (methyl Hg), SF=12	45
Pb	Fresh water	Activated alumina	FAAS, DL=0.7	46
Pb	Sea water	C18 bonded silica/ diethyl dithiophosphate	LEISF, DL=0.0032, SF=9	47
Pb	Fresh and sea water, marine sediment, mussel tissue	PTFE turnings /APDC	FAAS, DL=0.8, SF=15	48

KR:knotted reactor, BrPADP:2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol, Nitroso-R salt: 2-nitroso-1-naphthol-2,6-disulfonic acid, disodium salt, DDC: diethyldithiocarbamate, 8-Q: 8-quinolinol, PDC: pyrrolidine dithiocarbamate, DPTH: 1,5-bis(di-2-pyridyl)methylene thiocarbonylhydrazide, DPADE: dithiophosphoric acid diacyl ester, ICP-AES: inductively coupled plasma emission spectrometry, ICP-MS: ICP mass spectrometry, CL:chemiluminescence, LEISF: laser-enhanced ionization spectrometry in flame, the other symbols : see Table 1.

Table 3 Applications of online solid-extraction FIA (2)

Analyte	Sample	Extraction	Detection	Ref.
U	Fresh and Sea water, aluminum metal	U/TEVA™	ICP-AES, DL=6x10 ⁻⁴ , SF=10	49
Cd, Pb	Fresh water, soil extract	Cation-exchange resin	SP, DL=0.7 (Cd), 0.4 (Pb), SF=ca. 6	38
Co, Cu, Zn, Cd	Biological samples	KR/dithione	FAAS, DL=1.1~2.6, SF=18.9	33
Mn, Fe, Co, Ni, Zn	Sea water	C18 immobilized silica gel/ 5,7-dichlorooxine	FAAS, DL=0.5~4.0, SF=30	50
Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb	—	8-Q immobilized pore glass beads	IC, DL=0.06~0.09 (Fe, Ni, Cu, Zn), 0.89 (Cd), 8.3 (Pb)	51
18 elements	Fresh water	High-surface-area ZrO ₂ and glass beads	ICP-AES, DL=0.003~0.09	52
20 elements	Sea water	Tyoparl AF Chelate 650M	ICP-time-of-flight MS, DL=2x10 ⁻⁵ ~0.03, SF=5 or 15	53

IC: ion chromatography, the other symbols: see Table 1 and Table 2.

カラムから溶出した3価と6価のクロムを順次検出する。亜セレン酸イオンとセレン酸イオンでは、ピロリジンジチオカルバミン酸錯体として亜セレン酸イオンのみがC18カラムに吸着する性質を利用し、亜セレン酸を分別定量している[28]。この方法では、予め試料中のセレン酸を還元して両イオンの含量を求め、含量から亜セレン酸の値を差し引いてセレン酸量を求める。紫外線照射による銅結合性有機物質の分解、8-キノリノール固定化カラムによる銅の分離濃縮、銅-フェナントロリン錯体の酸化による化学発光を組み合わせて海水中の有機性銅が定量されている[43]。水銀及びメチル水銀の分別定量[45]では、両者をジチオリン酸ジアセチルエーテル錯体としてC18カラムに濃縮し、水銀を還元気化するところで還元剤を変えて分別気化させている。

4. おわりに

近年、有機溶媒の使用が制限されるようになったが、溶媒抽出FIAは、使用済み溶媒のオンライン・リサイクルが可能であるだけでなく、微量単一セグメントによる抽出やFIAシステムのマイクロ化によって有機溶媒の使用量を減らすようにして活用されていくであろう。固相抽出は溶媒抽出に替わる方法として注目されており、分離濃縮カラムをオンライン化したFIAシステムも市販されている。吸着剤やイオン交換体の種類は多いので、今後、環境関連試料や生体試料などに含まれる超微量無機・有機成分の定量とそのス

ペシエーションにますます用いられることが期待できる。

文献

- [1] B. Karlberg, S. Thelander, *Anal. Chim. Acta*, **98**, 1 (1978).
- [2] H. Bergamin F., J. X. Medeiros, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, *Anal. Chim. Acta*, **101**, 9 (1978).
- [3] S. Olsen, L. C. R. Pessenda, J. Ruzicka, E. H. Hansen, *Analyst*, **108**, 905 (1983).
- [4] 本水昌二, *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 71 (1988).
- [5] M. Trojanowicz, *Flow Injection Analysis, Instrumentation and Applications*, World Scientific, Singapore 2000.
- [6] A. K. Das, M. de la Guardia, M. L. Cervera, *Talanta*, **55**, 1 (2001).
- [7] L. Nord, B. Karlberg, *Anal. Chim. Acta*, **164**, 233 (1984).
- [8] C. A. Lucy, F. F. Cantwell, *Anal. Chem.*, **61**, 101 (1989).
- [9] J. Kawase, *Anal. Chem.*, **52**, 2124 (1980).
- [10] S. Motomizu, M. Oshima, *Analyst*, **112**, 295 (1987).
- [11] F. Cañete, A. Ríos, M. D. L. de Castro, M. Valcárcel, *Anal. Chem.*, **60**, 2354 (1988).
- [12] J. R.-Jiménez, M. D. L. de Castro, *Anal. Chim. Acta*, **489**, 1 (2003).
- [13] F. O.-Boyer, J. A. G.-Mesa, M. D. L. de Castro, *Anal. Chem.*, **66**, 2794 (1994).
- [14] A. Alonso, M. J. Almendral, M. J. Porras, Y. Curto, C. G. de Maria, *Anal. Chim. Acta*, **447**, 211 (2001).
- [15] T. Sakai, H. Harada, X. Liu, N. Ura, K. Takeyoshi, K. Sugimoto, *Talanta*, **45**, 543 (1998).
- [16] 三瀬皓愛, *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 87 (1988).
- [17] S. C. Nielsen, S. Stürup, H. Spliid, E. H. Hansen, *Talanta*, **49**, 1027 (1999).
- [18] L. N. Moskvin, J. Simon, *Talanta*, **41**, 1765 (1994).
- [19] J. Simon, A. Kirchhoff, O. Güllow, *Talanta*, **58**, 1335 (2002).
- [20] 山田洋平, 小粥雅代, 樋口慶郎, 手嶋紀雄, 酒井忠雄, *分析化学*, **53**, 323 (2004).
- [21] N. Chimpalee, D. Chimpalee, P. Keawpasert, D. T. Burns, *Anal. Chim. Acta*, **408**, 123 (2000).
- [22] A. N. Anthemidis, G. A. Zachariadis, C. G. Farastelis, J. A. Stratis, *Talanta*, **62**, 437 (2004).
- [23] W. Praditwiengkum, K. Grudpan, *J. Flow Injection Anal.*, **17**, 202 (2000).
- [24] J.-F. Liu, G.-B. Jaing, *Microchem. J.*, **68**, 29 (2001).
- [25] S. Kawakubo, M. Iwatsuki, *J. Flow Injection Anal.*, **17**, 180 (2000).
- [26] T. Yamane, *Anal. Sci.*, **2**, 191 (1986).
- [27] Z. Fang, B. Welt, *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 543 (1989).
- [28] X.-P. Yan, M. Sperling, B. Welz, *Anal. Chem.*, **71**, 4353 (1999).

- [29] N. Yunes, S. Moyano, S. Cerutti, J. A. Gásquez, L. D. Martínez, *Talanta*, **59**, 943 (2003).
- [30] H. Chen, S. Xu, Z. Fang, *Anal. Chim. Acta*, **298**, 167 (1994).
- [31] R. G. Wuilloud, J. A. Salonia, R. A. Olsina, *Spectrochim. Acta*, **55B**, 671 (2000).
- [32] K. Benkhedda, H. G. Infante, E. Ivanova, F. Adams, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **368**, 288 (2000).
- [33] S. Chen, Z. Zhang, H. Yu, *Anal. Chim. Acta*, **451**, 305 (2002).
- [34] G. M. Fariás, S. Moyano, J. A. Gásquez, R. Wuilloud, L. D. Martínez, *J. Argentine Chem. Soc.*, **90**, 77 (2002).
- [35] K. Jitmanee, S. K. Hartwell, J. Jakmunee, S. Jayasvasti, J. Ruzicka, K. Grudpan, *Talanta*, **57**, 187 (2002).
- [36] N. Soh, H. Nishiyama, K. Mishima, T. Imato, T. Masadome, Y. Asano, Y. Kurokawa, H. Tabei, S. Okutani, *Talanta*, **58**, 1123 (2002).
- [37] A. D. Carroll, L. Scampavia, D. Luo, Å. Lernmark, J. Ruzicka, *Analyst*, **128**, 1157 (2003).
- [38] 山根 兵, 土本武文, 吉川裕泰, *分析化学*, **53**, 297 (2004).
- [39] T. Taniai, M. Sukegawa, A. Sakuragawa, A. Uzawa, *Talanta*, **61**, 905 (2003).
- [40] W. Som-Aum, S. Liawruangrath, E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **463**, 99 (2002).
- [41] S. Hirata, K. Honda, O. Shikino, N. Maekawa, M. Aihara, *Spectrochim. Acta*, **55B**, 1089 (2000).
- [42] S. Motomizu, K. Jitmanee, M. Oshima, *Anal. Chim. Acta*, **499**, 149 (2003).
- [43] E. P. Achterberg, C. B. Braungardt, R. C. Sandford, P. J. Wosfold, *Anal. Chim. Acta*, **440**, 27 (2001).
- [44] C. B. Ojeda, F. S. Rojas, J. M. C. Pavón, A. G. de Torres, *J. Flow Injection Anal.*, **20**, 67 (2003).
- [45] A. da C. P. Monteiro, Ly S. N. de Andrade, R. C. de Campos, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **371**, 353 (2001).
- [46] S. Dadfarnia, I. Green, C. W. McLeod, *Anal. Proc.*, **31**, 61 (1994).
- [47] C.-B. Ke, K.-C. Lin, *Anal. Chem.*, **71**, 1561 (1999).
- [48] G. A. Zachariadis, A. N. Anthemidis, P. G. Bettas, J. A. Stratis, *Talanta*, **57**, 919 (2002).
- [49] 関 達也, 小熊幸一, *分析化学*, **53**, 353 (2004).
- [50] K. A. Tony, S. Kartikeyan, B. Vijayalakshmy, T. P. Rao, C. S. P. Iyer, *Analyst*, **124**, 191 (1999).
- [51] M. R. B. Abas, I. A. Takruni, Z. Abdullah, N. M. Tahir, *Talanta*, **58**, 883 (2002).
- [52] E. Vassileva, N. Furuta, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **370**, 52 (2001).
- [53] S. N. Willie, R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta*, **56B**, 1707 (2001).

(Received July 8, 2004)

