

溶媒抽出／フローインジェクション 分析法の実際

本水昌二

岡山大学理学部：〒700 岡山市津島中3-1-1

Solvent Extraction /Flow Injection Analysis :

A Practical Guide to Utilization

Shoji Motomizu

Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University,
Tsushimanaka, Okayama-shi, Japan)

The techniques necessary for solvent extraction/flow injection analysis are described. Pumps, sample injectors, segmentors, and phase separators are also described for practice.

1 はじめに

フローインジェクション分析法 (F I A) の概念が1975年にRuzicka, Hansen¹⁾ によって報告されて以来, 早13年が過ぎようとしている. この間の進歩はめざましいもので, 1986年までのF I A関連報文数は1400報を越えている²⁾. さらに1987年には300報以上の報告がなされている³⁻⁵⁾. 我が国の研究者による1986年の報文数は, アメリカの研究者とはほぼ同程度と言うことであるが²⁾, 1988年にはおそらく追い越していると思われる. いずれにしても, このように研究報告数が幾何級数的に増大している背景には, 実用分析におけるF I Aの次のような利点が認識されてきたことがあると思われる.

- (1) 装置—比較的単純で研究者自身で容易に組み立てることができ, 自動化も容易である.
- (2) 分析技術—分析のための特別の技術を必要としない.
- (3) 分析結果—結果は迅速に得られ, 再現精度も良い.
- (4) 感度—測定セルなどの出し入れがなく固定されているので, マニュアル法よりも高感度化が可能.
- (5) その他—試料, 試薬量が少なくすむ. 閉鎖系で行うことができるので, 実験環境の汚染が少ない.

このような利点に加え, F I Aのハード面 (ポンプ, 検出器など装置面に関するもの) 及びソフト面 (新しい反応系の開発, 反応試薬の開発など) で, まだまだ興味深い研究分野が多く残っているということであろう. ハード面では, 種々の前処理, 後処理装置の改良, 開発と流路への組み込みも大変興味深いものがある. F I A研究の興味深い点の一つは, 様々な処理操作が流路の中で容易にかつ再現性良く行われることではないかと思っている. バッチ式マニュアル分析法で

は、反応促進のための加熱操作一つにしても、同一条件に保つためには大変な苦労がある。F I Aでは、必要な箇所、例えば反応コイル、を適当な恒温槽に入れておけばよい。また例えば、洗剤の定量はJ I S法ではメチレンブルーを用いるイオン会合抽出法に基づいている。この方法では試料水100mlを用い、抽出操作を3回、さらに有機相の洗浄操作を必要とする。一サンプル当たり、多量の抽出溶媒と数個の分液ロートを必要とし、労力、所要時間も大変なものである。さらに、開放系で用いるクロロホルムの毒性も問題である。このような操作をF I Aで行うことができれば、実用分析上の利点ははかりしれないであろう。

本稿では、前処理操作の中でも応用性の広い溶媒抽出法について、これから実際に始めてみたいと思っている人々を対象に、抽出/F I A装置、及びその組み立て方、注意点などを筆者の経験をもとに説明してみたい。

2 抽出/F I Aの歴史的背景

Ruzickaらの報告¹⁾から3年後の1978年には溶媒抽出/F I AがKarlbergら⁶⁾およびBergaminら⁷⁾により、別々にほぼ同時に報告された。Karlbergらは、相分離器としてFig. 1(a-1)に示すようなT型分離器 (A 4 T-connector, Technicon社)を用い、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE例えばテフロンなど)の親油性と水相、有機相の比重差を利用して両相を分離している。一般にPTFEは水よりも有機溶媒と親和性が強いので、T字管の中に垂らしたPTFEの糸に沿って有機溶媒は流れて行くことを利用したものである。

BergaminらはFig 1 (b)に示すような相分離器を用いている。これは単に水相、有機相の比重差を利用したものである。(a-1)、(b)

比較すると、後者(b)の方がピークのテーリングが大きく、再現性に乏しい。Karlberg, Bergaminらの研究はF I Aに溶媒抽出を初めて組み込んだという点で歴史的な重要性が大きいものである。

最近、Karlbergらのタイプの改良型が山田らにより報告されており (Fig. 1 a-2)、ピークの形状、再現性は良好である。

Karlbergら⁶⁾とはほぼ同時期、Kinaらにより相分離器を必要としない抽出/F I Aが報告された。これはアニリノナフタレンスルホン酸イオン (ANS⁻) とジベンゾー-18-クラウン-6又はポリナクチンを用いるカリウムの溶媒抽出-蛍光度法である。有機相流れに試薬を含むサンプルを注入し有機相に抽出された

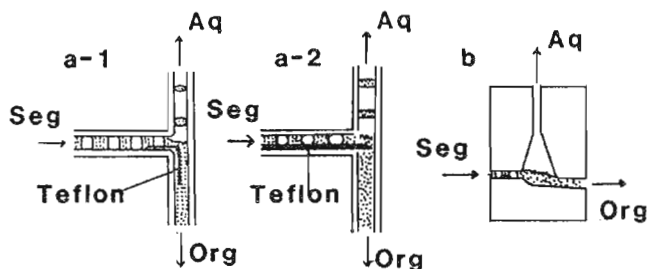


Fig. 1 Phase separators

Figures shows the case in which organic solvent is heavier than water. a-1:Karlberg et al.⁶⁾; a-2: Yamada et al.⁸⁾; b:Bergamin et al.⁷⁾. a-1 and a-2: glass T-connector. Seg, segment flow; Aq, aqueous phase; Org, organic phase.

A N S は水相におけるよりも蛍光強度が強いことを利用したものである。装置的には抽出用の特別なものを必要としないが、時々アルコールをサンプルの代わりに注入して、フローセルを洗う必要がある。

1979年にはKawaseら¹⁰⁾によりP T F E膜分離法が報告された。これはP T F E膜が疎水性(親油性)であり、水よりも有機溶媒を通過させ易いことを利用したものである。P T F E膜分離法の創案により初めて抽出/F I Aの実用性が現実のものとなった。P T F E膜を用いる相分離器も初期の頃はかなり複雑な構造のものが考案されていたが^{10, 11)}, Kawase¹²⁾の円筒状キャビティーを持つ分離器, Nordら¹³⁾, Imasakaら¹⁴⁾の考案した溝型キャビティーを持つ単純な構造の分離器でも良好な分離が可能であることが分かった。筆者らはNordら, Imasakaらの分離器を改良したものを用いている¹⁵⁻¹⁷⁾。

最近ではP T F Eチューブを用いる相分離器も考案されている^{18, 19)}。

セグメンターも初期の頃はTechnicon社のA 8 T-connectorなどが用いられていたが、普通はT字コネクターで充分間に合うようである¹⁶⁾。

送液ポンプとしては、外国では専らペリスタ型ポンプが用いられているが、我が国の研究者は比較的初期の頃よりプランジャー型ポンプを用いている。

3 溶媒抽出/F I A装置

溶媒抽出/F I Aを行うに必要なものは、普通のF I A装置の他にセグメンター、相分離器であるが、この他にニードルバルブがあれば好都合である。Fig. 2に抽出/F I Aの基本的流路系を示す。次にこれらの各部について説明する。

3.1 送液部 (Pumping or propelling apparatus)

脈流の小さい、定流量性に優れたポンプが理想であるが、現実にはある程度妥協しなければならない。大きく分けて二種類のポンプ、即ちペリスタ型ポンプとプランジャー型ポンプの使用が考えられる。外国の研究者の殆どはF I Aにペリスタ型ポンプを使用しているが、最近我が国ではプランジャー型ポンプもよく用いられるようになった。

ペリスタ型ポンプを用いる場合には、Fig. 2 (b-2) (c-2)のように有機相廃液(Waste)をポンプに接続し吸引したほうが良い。ペリスタ型のポンプでは二つ以上の流れを合流させると、それぞれの流れの圧の違いにより勝ち負けが生じ、

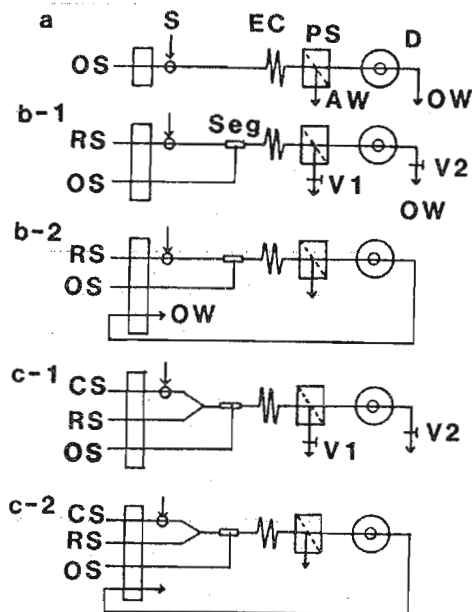


Fig.2 Flow diagrams
CS, carrier solution; RS, reagent solution; OS, extraction solvent; P, pump; S, sample injection; Seg, segmentor; EC, extraction coil; PS, phase separator; D, detector; V1, V2, needle valves; AW, aqueous phase waste; OW, organic phase waste.

合流点より先に進まず逆流することがあるからである。有機相廃液をポンプで吸引することにより、脈流も減り好都合である。ただし、有機相廃液の流量は有機溶媒の全送液量よりも約10%程度少なくした方がよい（これ以上有機相を回収しようとすれば、水相も引き込まれることがある）

有機溶媒送液用のチューブはシリコンチューブではなく、Acidflexなど有機溶媒に強いものを用いなければならない。また、使用後は回転ヘッドからチューブを外し、チューブの中の溶媒を抜き取っておいた方が劣化が少ない。

ポンプチューブとPTFEチューブの接続はFig. 3のようにフレアー型PTFE接続用コネクタを用いて簡単に行うことができる。



Flare type connector

プランジャー型ポンプ使用の場合

には、Fig. 2 (a), (b-1), (c-1)の流

Fig. 3 Connection of pump tubing of a peristaltic pump with PTFE tubing.

路系を用いる。ポンプには全溶媒用仕様のものを用いればよい。筆者はダブルプランジャー型ポンプ（サヌキ工業製 DM2M-1016又はDMX-2300-T、プランジャー径2.5mm、1mm移動、1ストローク当たりの吐出量4.9 μ l、流量は吐出回数により変えられる）を主に用いている。このポンプでは二つのプランジャーによる流量を別々に変えることはできないが、二つのプランジャーからの二液をミキシングジョイント（Y字コネクタ）で合流させて一流路として用いれば、脈流ははるかに低減し、好結果が得られる。同様な原理で、Fig. 2 (c)の三流路の場合にはキャリア（CS）と試薬（RS）流れに一台のダブルプランジャーポンプを用いるようにすれば、スムーズなベースラインが得られ、ピークの再現性も良好となる。同じ様式のシングルプランジャー型ポンプも使用できる。ダブルプランジャー型ポンプ一台の代わりにシングルプランジャー型ポンプ二台を用いればFig. 2 (b)の場合にも、水相、有機相の流量比を変えて抽出濃縮を行うことができる。

プランジャー型ポンプの利点は流量を任意に、しかも再現性良く変えることができることである。また、ペリスタ型ポンプに比べ、かなり送液の圧も高いので、少々抵抗のあるもの（長い反応コイル、反応カラム、背圧コイル、相分離器、ニードルバルブなど）を流路に組み込んでも差し支えないことである。しかし、沸点が低く気化し易い液体（例えばジクロロメタン、MIBKなど）の場合にはプランジャーによる液体の吸い込みの際、ヘッド内に有機溶媒が気化し、吸い込み、送液ができなくなる場合がある。このため、液溜めはポンプヘッドよりも高い位置にした方がよい。

また、有機溶媒を送液した場合には、水系溶媒の場合よりもプランジャーシールは早く劣化するようである。なお、シールは一度取り出したものも方向を変えて（例えば90°回転させる）装着すれば使用できることがある。

プランジャーポンプの場合にはポンプヘッドのチェックバルブにゴミなどが付着し、送液しなくなることがある。このような場合には注射器などで吸い出すか、

ヘッドを外して洗浄する必要がある。出口側にアスピレータのホースをつなぎ、水などを勢い良く流せば良い。高濃度のアルカリ溶液を送液した場合にもバルブに炭酸塩が付着することがある（1 M程度の希塩酸中で超音波洗浄すれば良い）。ゴミなどによるトラブルを未然に防ぐために、液はあらかじめメンブランフィルター（0.45 μ m程度）でろ過したものを用いるようにした方が良い。ろ過した液を用いればシールも長持ちするようである。

3. 2 試料注入部 (Sample injection apparatus)

普通市販されているロータリーバルブでまにあう。F I Aではあまり圧力がかからないので、安価な樹脂製のものでも良い。最も一般的なものは、適当な容積のサンプルループを接続した六方バルブである。ループは内径0.5mmのものを普通は用いる。プランジャー型ポンプの場合には、長さは1m \sim 2mとすることも可能である。同じ内容積でも大きい内径のループほどピークの広がり大きい。

普通の六方バルブではバルブのデッドボリュームが100 μ l程度の場合があるので、実際の注入量は（ループ容積+デッドボリューム）となる。バルブのデッドボリュームは次のようにして測定すれば良い。まず、シリンジを用いてバルブの入り口（接続チューブは少し透明で中の見えるものが良い）から水を満たしておく。目盛りつきシリンジを用いて気泡を挟んで水を注入していき、気泡が入り口から出口に現れるまでの体積を測定すれば良い。あるいは、数種の容積の異なるループを用いて、適当な着色試料（メチルオレンジなど）を注入し、そのピーク面積を求め、ループ容積（x軸）に対して面積（y軸）をプロットし（直線関係となる）、それをx軸まで外挿すれば交点の読みがデッドボリュームとなる（符号を変えたもの）。デッドボリュームの小さいバルブも市販されている。（例えばRheodyne 7125; サヌキ工業 五方バルブSVI-5U7, 六方バルブSVM-6M2B, いずれもデッドボリューム 4 μ l）。

再現性あるピークを得るためには、バルブの切り替えは時間を決めて定期的に行った方が良い。また、洗剤、長鎖第四級アンモニウムイオンなどPTFEチューブに親和性のある物質のF I Aでは、ループに付着し、テーリングが数分間も続くことがあるので、このためにもバルブの切り替えは30秒程度の間隔で行うと分析所要時間の短縮にもなる。

試料注入量を増せば一般にピーク高も増すが、その増加量は次第に小さくなり、頭打ちとなる。しかし、Fig. 2 (c)の流路系を用いた場合には、ピーク面積と注入量とは直線関係となる（Fig. 14）。従って、Rheodyne 7125 とかサヌキSVI-5U7バルブを用いて、目盛りつきシリンジで注入量を変えて試料を注入し、面積の検量線を作成し、定量に用いることができる。

3. 3 セグメンター (Segmentor)

溶媒抽出をF I Aに最初に導入したKarlbergらはFig. 4 (a)に示すようなガラスキャピラリー製T字コネクター（A 8 T-connector）を用いた。同様な原理による改良型セグメンターを山田らは報告している。

Kawase^{1,2)}は、水相と有機相の合流点における角度が異なる樹脂製セグメンターについて比較結果を報告している。それによれば、Fig. 4 (b-3)の（45/45）

で、半値幅の小さい、高いピークが得られている。筆者らも、ダイフロン(Poly(chlorotrifluoroethylene))で様々な種類のセグメンターを作り、検討した(Fig. 5)¹⁶⁾。結果をTable 1に示す。マラカイトグリーンを用いるリンの定量法では、T字コネクターで水相に直角に有機相を導入した場合、最も高いピークを得た。洗剤の場合にはKawaseの提案した(45/45)のものが最も高いピークを示した。これらの結果を見れば、若干の優劣はあるが、その差はピーク高で10%以下であろう。従って、実際上は市販のT字コネクターで充分と思われる。

筆者らの最近の検討結果によれば²¹⁾内径0.5mmのPTFEチューブを用いると、ピーク高はセグメントの長さにはあまり影響されないという結果を得ている。従って、あまりセグメンターにこだわる必要はないであろう。

3. 4 抽出器(Extractor)又は抽出コイル(Extraction coil)

バッチ式マニュアル分析法における分液ロートに相当するものが抽出器又は抽出コイルである。普通は内径0.5mm、長さ1mのPTFEチューブを径5mm~10mmのガラス棒などに巻いたものでよい。高感度分析法においてはベースラインのドリフト、ピーク高の

変動を避けるために、抽出コイルは恒温槽に入れておいた方がよい。

Table 1 Comparison of segmentors(see Fig. 5).

Segmentors	Phosphate ¹⁶⁾		Anionic surfactant ^{20,24)}
	Peak height/cm [†]	Peak width/s [‡]	Peak height/cm.
Type I-A	16.83	55.0	10.4
Type I-B	16.30	56.2	10.6
Type I-C	15.70	55.8	10.4
Type II	16.60	55.5	11.2
Type III	14.75	54.8	10.9

[†]Maximum peak height.

[‡]Peak width at 1% of the maximum peak width.

偶然とは言え、FIAではPTFEチューブを用いていたことにより、溶媒抽出/FIAが非常に効率良く行われるようになった。Imasakaら¹⁴⁾、今任ら²²⁾の報告によれば、物質の二相間移行は水相セグメントの断面よりはむしろ抽出コ

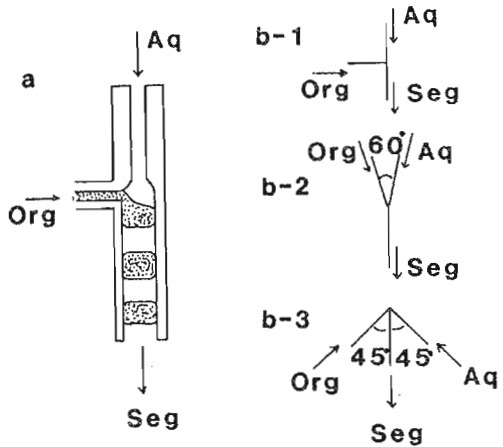


Fig. 4 Segmentors
a: Karlberg et al.⁶⁾ and Yamada et al.⁸⁾;
b: Kawase^{1,2)} 1, 90/90-T; 2, 30/30-Y; 3, 45/45-W.

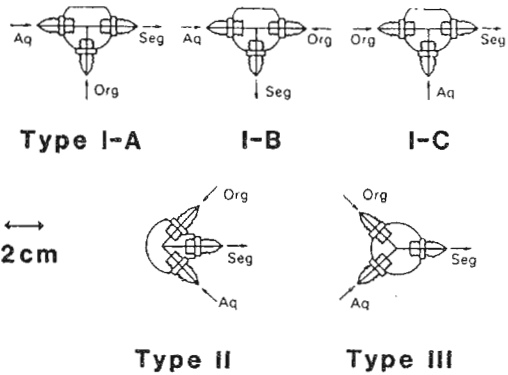


Fig. 5 Segmentors(Motomizu et al.¹⁶⁾)
The bodies of segmentors were made of Daiflon. Bore size: 0.8mm.

イル壁面で起こっているようである。抽出コイル中でのセグメントの状態を模式的に示せばFig. 6 のようになる。親油性の P T F E の内壁は有機溶媒相の薄膜により覆われており、水相セグメントは有機相の中に浮いているような形になっている。セグメント進行に伴い、P T F E 壁面上の有機相の移動は水相セグメントの移動より若干遅れる。このために水相セグメントと壁面上の有機相との間に摩擦が生じ、水相セグメント内部に循環流が起こる。これにより、壁に接する所では水相から有機相への抽出種の移行が起こり易い。セグメン

トの断面積と側面積を比較すれば、断面の半径とセグメント長が等しいときに両方の面積は等しくなるが、普通セグメント長は半径の数倍はあるので、このことから壁面上での物質移行の寄与が大きいことが推測される。

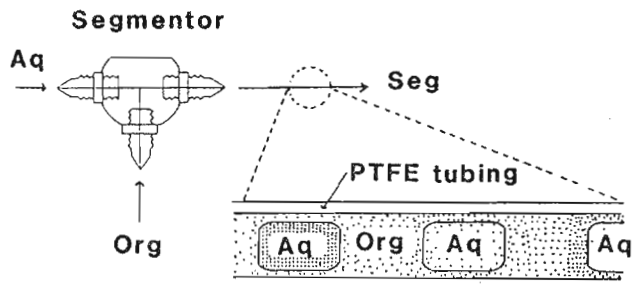


Fig. 6 Segments flowing through extraction tubing

普通、抽出平衡は非常に迅速に達成され、数10cmのチューブ長のコイルで、ピーク高はほぼ一定となり、以後数メートルとなってもピーク高には殆ど影響はない²²⁾。このことは、抽出コイル中での分散は非常に小さく、セグメンターに到達するまでに起こる分散に比べると無視できることを示している。筆者らの洗剤の抽出/F I A の検討結果なども、内径0.5mm、長さ1mの P T F E チューブでピーク高はほぼ一定となっている (Fig. 7)^{17, 23, 24)}。従って、ピーク高のみを考慮すれば、長さ1mで充分である。若干テーリングが大きくなる場合もあるが、2~3mとした方が、ポンプの脈動を受けにくく、ベースラインも安定するので、好ましいことがある。又、反応速度が小さい場合 (例えば、ヘテロポリ酸生成反応など)¹⁶⁾、高感度化のためには数メートルのチューブを用いなければならない。コイル内の総容積は同じでも、内径の大きいものは小さいものに比べ一般にピーク高は低くなる (Fig. 8)¹⁶⁾。従って、筆者らは最も扱い易い0.5mm内径のものを用いることとしている。

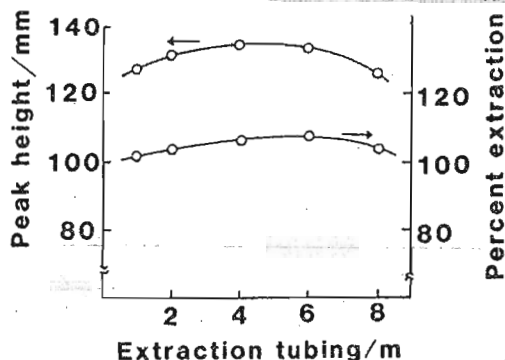


Fig. 7 Effect of extraction tubing length¹⁷⁾
Sample, 300 μ l of sodium dodecyl sulfate
(1×10^{-6} M); extraction tubing, 0.5mm i.d.

3. 5 相分離器 (Phase separator)

水相、有機相のセグメント流れから、水相又は有機相のみを分離回収する装置である。抽出/F I A の場合には、普通は有機相の回収を目的とするが、場合によれば水相の回収液を分析に利用することもある。

KarlbergらはFig. 1 (a)に示すような相分離器を用いたが、最近では分離効率が良く、長時間安定した相分離が可能な多孔性PTFE膜分離法がよく用いられる。Fig. 9にPTFE膜分離用の相分離器を示す。Type IIはNordら¹³⁾、Type IIIは石橋ら^{14, 22)}、Type IVはKawase¹²⁾の相分離器に基づき、ダイフロンで製作したものである(ディメンションは原報と若干異なる)。Type I, II, IIIのものは上下二つのブロックの間に分離膜を挟み、上下から圧着しなければならない。Type Iでは筆者はスクリュークランプ(ホフマン型)で締め付けている。Type IV, V, VIではPTFE膜を挟み、コネクターを挿込めばよいという簡便さがある。Table 2に結果を示すが、Type V, VIは有機相の回収率が悪く、又、長時間の連続使用が困難である。Type I, II, III, IVで満足できる分離となる。

多孔性PTFE膜の孔径(pore size)について、フルオロポア(Fluoropore 住友電工製、和光純薬販売)の $0.1\mu\text{m}$ から $1.5\mu\text{m}$ のものについて検討したところ、 $0.8\mu\text{m}$ のものが最も使い易いことが分かった。孔径が $0.45\mu\text{m}$ 以下になると有機相が通過しにくく、無理に通そうとすると水相も通過してしまう。 $1\mu\text{m}$ 以上のものでは時間の経過とともに次第に水相も通過するようになる。ポリエチレンの網を裏打ちしたPTFE膜(ミリポア製、孔径 $0.5\mu\text{m}$)をType Iで用いたが、膜の部分から液が少しずつ漏れてきた。多孔性PTFE膜はメンブランフィルターとして普通用いられているろ過用フィルター(例えば径 47mm のもの)を幅 5mm 、長さ 2cm 程度に切って用いればよい。膜は数10時間は使用できるが、次第に目づまりし、有機相が通過しにくくなるので、早めに交換した方がよい。

最近、筆者らはType IVのものについて詳細な検討を行った²⁵⁾。じょうご(円錐)の形状は、底面の直径 5mm 、高さ 1.7mm 程度がよく、円筒の形状は直径 4.2mm 、深

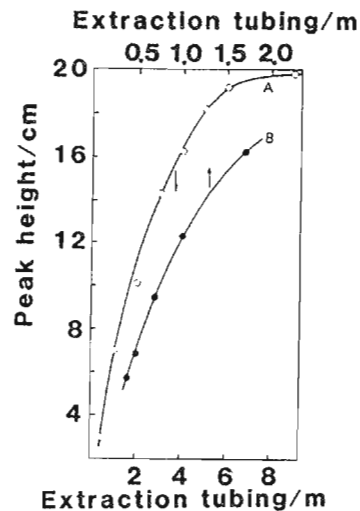


Fig. 8 Effect of extraction tubing length Solvent extraction/FIA for phosphate with molybdate and malachite green¹⁶⁾. Bore size: A, 0.5mm; B, 1mm.

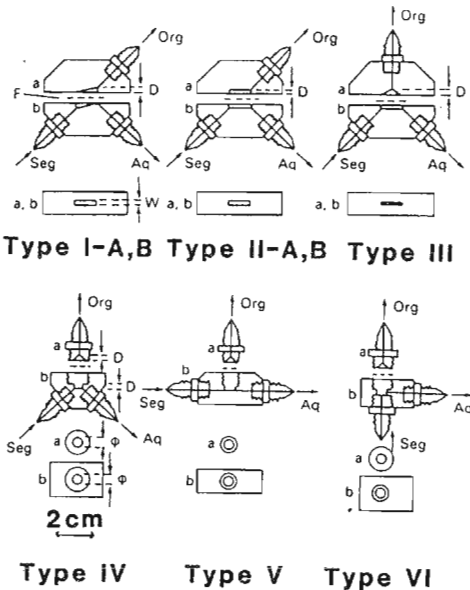


Fig. 9 Phase separators The dimensions of the cavities are shown in Table 2.

さ2.3mm程度のものが相分離が良好で、ピークも高いことが分かった。また、Type IVのものでは、液相分離用口紙 (Whatman 1PS, 直径7cm, 530円/100枚) も若干ピーク幅は広くなるが、使用できることが分かった (Type I~IIIでは液もれする)。Type IとType IVの相分離の様子を模式的に示したものがFig. 10である (図は水よりも比重の大きい有機溶媒の場合を示す)。Type IVでは比重差により分離

Table 2 Comparison of phase separator

Phase separator		Depth ^{*1} mm	Width or diameter/mm ^{*2}	Recovery ^{*3}
Type I A	a	2	2	100
	b	2	2	
B	a	1	1	94
	b	1	1	
Type II A	a	0.5	2	100
	b	0.5	2	
B	a	0.5	1	88
	b	0.5	1	
Type III	a	1	1	100
	b	0.5	1	
Type IV	a	1	4.2	100
	b	1.6	4.2	
Type V	a	1	4	85
	b	2	4	
Type VI	a	1	3	72
	b	2.5	3	

*1 Maximum depth of membrane chamber.

*2 Maximum width of diameter of membrane chamber.

*3 Recovery of organic phase through membrane filter.

された有機相が圧力により膜を通過するのに対し、Type Iでは水相、有機相のセグメントがPTFE膜上の有機相薄膜上を通過している間に有機相がPTFE膜を通過する。このため、Type Iでは、相分離器をどのような方向に向けても (例えば水-クロロホルム系で図の上下を逆にする) 分離効率はあまり変わらない。Type IVでは必ず有機相の比重にあわせて、上下を決めなければならない。また、水とあまり比重差のないものはType IVには適さない。これはPTFE膜上に水相が溜まり、有機相の通過を妨害するからである。少しショックを与えてやると復帰することもある。

Type Iのものはサヌキ工業から入手できる。

Type IVのもの (Kawase¹²⁾

の報告のものは日本精密科学のフェーズセパレータとして入手

できる。ただし、このコネクタはじょうご状になっていないので、改造して使用の方がよい。宮地ら¹⁸⁾、三瀬¹⁹⁾は多孔性PTFEチューブを用いる相分離器について検討している。筆者らもFig. 11に示すような相分離器を考案し、比較検討した。この相分離器は市販のT字コネクタ (フロンケミカル、接続ジョイントT型、チューブ外径2mm用など) を用いて簡単に製作できる。多孔性PTFEチューブはゴアテックスチューブ (外径1.8mm、内径1mm、孔径2.0 μ m) を用いた。(a) まずT字コネクタ本体の直通部分及び二つのPTFE製フェラル (又はコーン) の径を2mmにする (ドリルを用いれば簡単にできる)。(b) T字

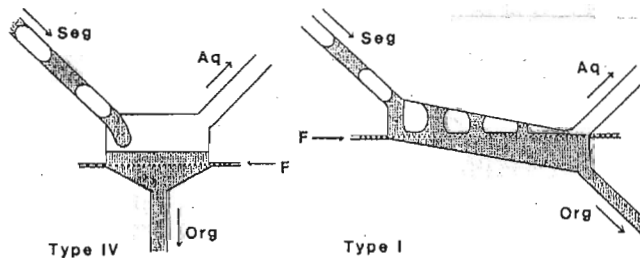


Fig. 10 Principles of phase separation with Type IV and Type I in Fig. 9

An example with an extraction solvent heavier than water.

コネクターより、約1~1.5cm長めに多孔性PTFEチューブを切り取る。(c) 接続用PTFEチューブ(外径約1.5~1.6mm)の外径とほぼ同じ鉄製クギをペンチで挟み、先をバーナーで暖める。(d) このクギで多孔性PTFEチューブの一方の内径を大きくする(ピンセットでクギにかぶせていく)。水又は室温で冷却する。(e) これに接続用チューブを差し込み、コーンを取り付け、T字コネクターに通す。(f) もう一方のコーンを通し、(d)と同様にし、内径を大きくし、接続用PTFEチューブを通す。(g) 二つのコーンを所定の位置に移動し、袋ナットで締め付ける。

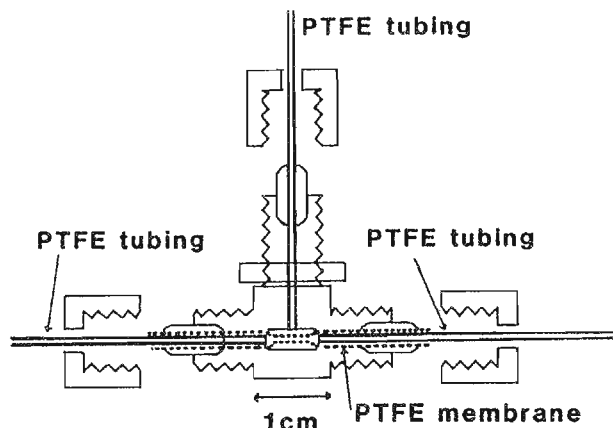


Fig.11 Separator with tubular microporous PTFE membrane
The body was made of Daiflon. Dotted line shows the tubular microporous PTFE membrane(Gore-Tex tubing, 1-mm i.d., 1.8-mm o.d., pore size 2.0 μ m, porosity 50%).

この相分離器は手製で簡単に作ることができるが、有機相の回収率は筆者らのもので約90%が限度であった。ピークは若干幅広となり、洗剤の定量では少しテーリングが大きいようである。チューブ径、孔径などを検討すれば、改良の余地はあるであろう。

3. 6 検出器 (Detector)

吸光光度検出器、蛍光光度検出器あるいは原子吸光光度計などと接続することができる。原子吸光光度計に接続の場合は、PTFE膜の接触面積が大きく、分離速度(有機相の流量)の大きい相分離器を用いなければならない。吸光光度、蛍光光度検出の場合には、分離速度1ml/min程度のもので充分であろう。筆者らは主に吸光光度法を検討している。光路長10mm(径1.5ないしは2mm)の樹脂製フローセル付きの可視波長可変の吸光光度検出器(Soma光学 S-3250)を用いている。フローセルの径が液クロ用(普通は1mm)よりも大きいのは、気泡などを除き易くするためである。

3. 7 圧力調節器-ニードルバルブ(Needle valve)

ニードルバルブの開閉により水相、有機相の流れ易さを調節する。例えば、水相側のバルブを閉める(抵抗を増す)と相分離器の膜を通過する有機相の割合は大きくなる。二つのバルブの抵抗をバランスさせることにより、有機相の膜通過の割合を任意に変えることができる。二つのニードルバルブの前後の連結コイルにチューブの中が見えやすい透明なPTFEチューブを用いれば、セグメントを見ながらニードルバルブを調節できるので便利である。二つのバルブを閉め過ぎると流れに圧がかかり過ぎ、ベースラインが不安定となる。更に、試料注入バルブ

の切り替えのショックを受け易くなる。このような場合には、セグメントを見ながら少しずつ開いて行けば良い。Fig. 12 に示すように、有機相の膜通過の割合により、ピーク高、ピーク幅は変わる。これは相分離器の中での希釈及び分離器からフローセルまでの間に起こる分散によるものである。有機相回収率が低いと、結果として流量が小さくなりピークは低くブロードになる。再現性のよいピークを得る為には、95%以上の回収率を保ち、常に安定した分離となるようにすることが必要である。

ニードルバルブは市販の樹脂製ミニチュアニードルバルブ（フロンケミカル、ミニニードルバルブL型 2mm用など）で間に合う。ニードルバルブの代わりに、適当な長さの背圧コイル（内径0.25mm程度のPTFEチューブ）を接続しても良い。

3. 7 連結チューブ(Connection tubing)

注入バルブからミキシングジョイ

ントまでのチューブは分散を防ぐためにできるだけ短い方がよい。又、洗剤などの疎水性の物質の場合にはPTFEチューブへの吸着を防ぐためにも短い方がよい。筆者は3cm程度を用いている。

ミキシングジョイントからセグメンターまでのチューブも短くて良い。ダブルプランジャー型ポンプを用いる(c)の流路系では5~10cmのチューブでほぼ混合は達成されている。筆者らは内径0.5mm、長さ10cmのチューブを用いている。

相分離器からフローセルまでのチューブもできるだけ短い方がよい。フローセルの出し入れを考えて必要最小限にするのが良い。

4 操作法

ここではプランジャー型ポンプを用いる抽出/FIAの操作について述べる。流路系はFig. 2 (b)または(c)が一般的である。有機相の吸光度（純有機溶媒を対照としたときのベースラインに相当する吸光度）が小さいときには、キャリアの試薬溶液に試料を注入する二流路方式で良い。しかし、吸光度の大きい場合には、純水（ブランク）を注入したときには負のピークを生じる。このような場合、三流路方式、即ちキャリアの水に試料を注入し、試薬溶液と混合させる(c)では、負のピークは生じない。以下では、(c)の流路系を用いる洗剤の定量を例として説明する。

一台のダブルプランジャーポンプ(P₁)をキャリア(CS)と試薬溶液(R

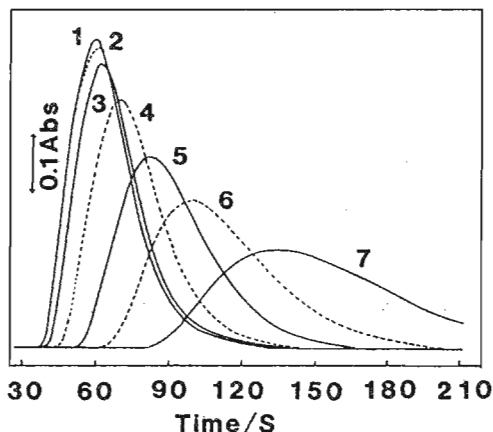


Fig.12 Effect of phase-separation efficiency on the peak shape
Sample, 300 μ l sodium dodecyl sulfate(1×10^{-6} M); 1 100%; 2 80%; 3 63%; 4 48%; 5 30%; 6 23%; 7 15%.

S) の送液に用いる。もう一台のポンプ (P_2) で有機相を送り、セグメンターで合流させる (ひとつのプランジャーで送液しても良い)。以下、既述のような抽出コイル、相分離器、検出器、ニードルバルブなどを接続する。

4. 1 作動手順

(1) まず OS の代わりにエタノールをポンプ (P_2) で送液し、抽出コイル、相分離器を洗浄する。水相側のニードルバルブを閉じ、フローセル側に約半分流れるようにし、洗浄する。(ポンプ P_1 は休止)

(2) 次に、エタノールを抽出溶媒に代えてしばらく送液し、相分離膜を抽出溶媒に充分なじませる (3~5 分間)。この後、水相側のニードルバルブを全開とし有機相側は閉じる。(ポンプ P_1 は休止)

(3) CS を水、RS を試薬溶液とし、 P_1 も始動させ、送液を開始する。水相と有機相はセグメントを作り、廃液溜めに入る。

(4) 有機相側のニードルバルブを少しずつ開き、それと同時に水相側のバルブを閉じていき、有機相をフローセルの方へ導く。ニードルバルブの開閉は水相側のバルブの前後のセグメントを見ながら行えば良い。

(5) 有機相の相分離効率がほぼ 95% 以上で安定したら測定を開始する。

測定終了後の操作

(1) 有機相側のニードルバルブは閉じ、水相側のニードルバルブは開く。

(2) ポンプ P_1 、 P_2 を止め、CS と RS を蒸留水、OS をエタノールに代える。

(3) P_1 を始動させ、RS の流路を洗い流す。(P_2 は休止)

(4) P_1 を止め、 P_2 でエタノールのみを流す。

(5) 有機相側のニードルバルブを開き、水相側のニードルバルブを閉じた後、しばらく流し、相分離器、フローセルを洗浄する。

(6) P_2 も止めて終了する。

4. 2 注意事項

(1) PTFE 膜の交換

PTFE 膜は長時間 (約 40 時間) の使用により、目詰まりし、有機相が通りにくくなる。水相側のバルブを閉じて、無理に有機相を通そうとすると水相も通過してしまうことがある。有機相が通過しにくくなったら、早めに新しい膜に交換した方が良い。新しい膜に交換した場合には、まず有機相のみを送液し、充分になじませた後に、水相側のポンプも作動させるようにする。

(2) 膜を水相が通過した時の処置

水相側のポンプを止め、しばらく有機相側ポンプのみを作動させて、膜を有機相で充分になじませる。その後、水相側のポンプを作動させる。フローセル内に水が溜まっている場合には、相分離器の有機相側のチューブを外し、注射器等でエタノールを注入し、フローセルを洗った後、空気が入らないように注意しながら、相分離器に接続する。

(3) フローセル内への気泡の流入

PTFE 膜は気体も通し易い。温度差などにより流路内で発生した気泡が、フローセルに流れ込むことがある。これを未然に防ぐために、水相、有機相はあら

はじめ超音波洗浄器などで脱気しておくが良い。また、ニードルバルブで系を少し加圧状態にしておくことも効果的である。

4. 3 実際例：洗剤（陰イオン界面活性剤）のFIA²⁴⁾

陰イオン界面活性剤（AS）と染料陽イオンのイオン会合抽出を利用するFIAの例を述べる。

流路系 Fig. 2 (c)の三流路系

キャリアー（CS）：蒸留水

試薬溶液（RS）： $5 \times 10^{-5} \text{M}$ メチレンブルーと0.1M硫酸ナトリウム（塩析効果のため）を含むpH5（酢酸緩衝液 0.1M）の水溶液。

抽出溶媒：*o*-ジクロロベンゼン

抽出コイル：0.5mm \times 300cm

試料注入料：100又は300 μl

流量：すべて0.8ml min^{-1}

フローセル：光路長10mm（15 μl 又は32 μl ）

測定波長：658nm（Soma S-3250）

検量線範囲：試料 100 μl $0 \sim 7 \times 10^{-5} \text{M}$

300 μl $0 \sim 3 \times 10^{-5} \text{M}$

Fig. 13 に検量線用フローシグナルの例を示す。

洗剤などのように疎水性の大きい試料の場合にはPTFE壁との相互作用のため少しテーリングが大きい。Fig. 14 には試料注入量とピーク高及びピーク面積の関係を示す。注入量とピーク面積は良好な直線関係を示していることが分かる。Fig. 15 には水相側、有機相側の流量比を変えて、抽出濃縮を行った結果を示す。これは全流量2.4ml min^{-1} とし、CS、RSは同流量として行ったものである（例えば、 $V_{aq}/V_{org}=2$ は、CSとRSが0.8ml min^{-1} 計1.6ml min^{-1} 、OSは0.8ml min^{-1} としたときのものである）。(V_{aq}/V_{org})に対してピーク高をプロットすると、直線からは少し外れるが、抽出濃縮も可能なことが分かる。又、(参考)の(6)式を用いて求めた抽出率を示すが、水相と有機相の比が小さすぎる場合、又は大きすぎる場合には抽出率は悪くなることが分かる。なお、抽出率が100%を超えているのは、フローセルへの吸着によるテーリングが計算に入っているためと思われる。

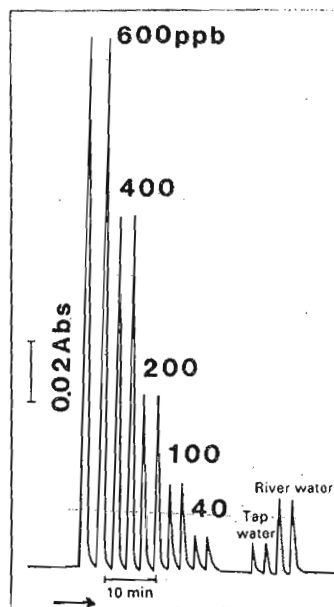


Fig. 13 Flow signals for anionic surfactants cationic dye:methylene blue.

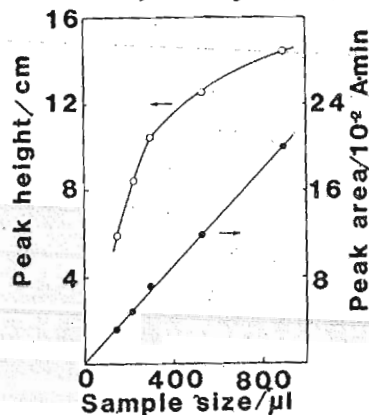


Fig. 14 Effect of sample injection volume

(参考) 抽出率の計算

$$m = \int_{t_i}^{t_f} C_{org} \cdot \frac{F_{org}}{1000} \cdot \frac{100}{S} dt \quad (1)$$

m : 抽出されたモル数; C_{org} : 有機相中の濃度 (mol l^{-1}); F_{org} : フローセルを流れる有機相の流量 (ml min^{-1}); S : 有機相の相分離効率 (%); t_i, t_f : ピークの始まりと終わりの時間

$$C_{org} = A / l \cdot \epsilon \quad (2)$$

A : 吸光度; l : フローセルの光路長;
 ϵ : モル吸光係数

(1) (2) より, 次式が導かれる.

$$m = \frac{F_{org}}{10 S \epsilon} \int_{t_i}^{t_f} A dt \quad (3)$$

ピーク面積は次式となる.

$$P_A = \int_{t_r}^{t_f} A dt \quad (4)$$

(3), (4) より

$$m = P_A \cdot F_{org} / 10 \epsilon S \quad (5)$$

$$E (\%) = 100 m / 10 C_0 V \quad (6)$$

E : 抽出率; C_0 : 注入試料中の濃度 (mol l^{-1}); V : 注入体積 (l)

5 おわりに

FIAの大きな利点は、様々な分析操作をin-line, on-lineで行うことができることではないだろうか。バッチ法では溶媒抽出法がしばしば用いられる。特に、イオン会合反応に基づく分析法の大部分は溶媒抽出法を必要とする。JIS法などで採用されている洗剤の吸光度法では試料、試薬、クロロホルムを大量に使用し、時間、労力も大変なものである。これをFIAで行うことができれば、そのメリットは非常に大きいものである。筆者らが洗剤のFIAの研究をまとめる際に、最も苦勞し、多くの労力を費やしたものは、FIAで得られた分析結果をチェックするためのJIS法による分析であった。

筆者らは抽出/FIAでイオン会合系(洗剤、リン、ナトリウム、カリウムの定量)しか行っていないが、キレート抽出系など応用面は無限にあるものと思う。

吸光度検出法を例に挙げれば、吸光度スケール(0-1Abs)程度で行う場合には、装置が少々調子悪くてもたいして障害にはならない。しかし、(0-0.1Abs)程度で、高感度分析(ppb又はsub-pppレベル)を行う場合には、細心の注意が必要となる。

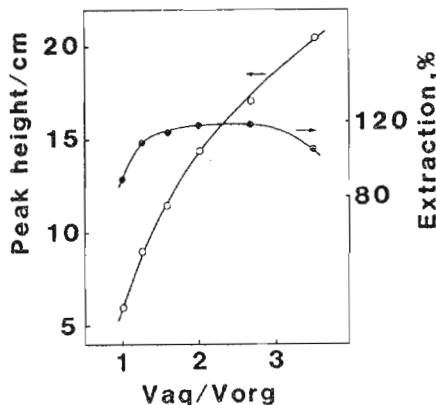


Fig.15 Effect of aqueous to organic phase ratio
 Percent extraction was calculated using eqn.6 in the text.

このような場合に本稿が少しでも役にたてば幸いである。

はじめて抽出/FIAを行おうとする人を念頭におき、筆者らの経験を述べた、少し冗長すぎる箇所があり、会誌の貴重なページを浪費してしまったかもしれない。また、誤り等、ご叱正戴ければ幸いである。

文献

- 1) J. Ruzicka, E. H. Hansen: *Anal. Chim. Acta*, 78, 145(1975).
- 2) J. Ruzicka, E. H. Hansen: "Flow Injection Analysis" 2nd Ed., Wiley Interscience(1988).
- 3) T. Imato, H. Ohura: *J. Flow Injection Anal.*, 4(1), 40(1987). (FIA Bibliography).
- 4) T. Imato, H. Ohura: *J. Flow Injection Anal.*, 4(2), 146(1987). (FIA Bibliography)
- 5) T. Imato, H. Ohura: *J. Flow Injection Anal.*, 5(1), 31(1988). (FIA Bibliography)
- 6) B. Karlberg, S. Thelander: *Anal. Chim. Acta*, 98, 1(1987).
- 7) H. Bergamin F, J. X. Medeiros, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto: *Anal. Chim. Acta*, 101, 9(1978).
- 8) 山田武、山田悦、福本秀樹、佐藤昌憲：第9回フローインジェクション分析研究会講演会講演要旨集 p 34 (1988)。
- 9) K. Kina, K. Shiraishi, N. Ishibashi: *Talanta*, 25, 295(1978).
- 10) J. Kawase, A. Nakae, M. Yamanaka: *Anal. Chem.*, 51, 1640(1979).
- 11) K. Ogata, K. Taguchi, T. Imanari: *Anal. Chem.*, 54, 2127(1982).
- 12) J. Kawase: *Anal. Chem.*, 52, 2124(1980)
- 13) L. Nord: *Anal. Chim. Acta*, 118, 285(1980).
- 14) T. Imasaka, T. Harada, N. Ishibashi: *Anal. Chim. Acta*, 129, 195(1981).
- 15) T. Iwachido, M. Onoda, S. Motomizu: *Anal. Sci.*, 493(1986).
- 16) S. Motomizu, M. Oshima: *Analyst*, 112, 295(1987).
- 17) S. Motomizu, Y. Hazaki, M. Oshima, K. Toei: *Anal. Sci.*, 265(1987).
- 18) 宮路敏彦、和田明生：第7回フローインジェクション分析研究会講演会講演要旨集 p 36 (1987)。
- 19) 三瀬皓愛：第9回フローインジェクション分析研究会講演会講演要旨集 p 30 (1988)。
- 20) 本水昌二、黒田俊則：未発表。
- 21) 本水昌二、是近勝彦：未発表。
- 22) 今任稔彦、石橋信彦： *J. Flow Injection Anal.*, 1, 23(1984).
- 23) S. Motomizu, M. Onoda, M. Oshima: *Analyst*, 113, 743(1988).
- 24) S. Motomizu, M. Oshima, T. Kuroda: *Analyst*, 113, 747(1988).
- 25) S. Motomizu, K. Korechika: *Anal. Chim. Acta*, in contribution.
- 26) 本水昌二：未発表。