

フローインジェクション分析法による金属イオンのスペシエーション

板橋英之, 高澤嘉一, 川本 博

群馬大学工学部応用化学科 〒376-8515 桐生市天神町1-5-1

Speciation of Metal Ions by Flow Injection Analysis

Hideyuki ITABASHI, Yoshikatsu TAKAZAWA, Hiroshi KAWAMOTO

*Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Gunma University, Kiryu, Gunma
376-8515, Japan*

From an environmental point of view, the speciation of trace metals is very important because bioavailability of these elements depends on their chemical forms. Flow injection analysis (FIA) offers several valuable advantages for speciation of metal ions. By using FIA, metal speciation methods for the determination of different oxidation states, organometallic compounds and complexes have been developed. In this paper, published articles in '96~'98 dealing with speciation of metal ions on the basis of FIA are reviewed.

1. はじめに

金属イオンは様々な化学形態で自然界に存在している。それらの金属イオンを各化学種別に選択性良く、高感度に、かつ簡便に測定することは分析化学の一つの目的ともいえる。金属イオンはその化学形態により生体や環境に与える影響が異なることが指摘されている。例えば、クロムでは生体に対する毒性はクロム(III)よりもクロム(VI)の方が高く、水銀では無機水銀よりも有機水銀の方が高い。

また、銅(II)、カドミウム(II)、アルミニウム(III)などの金属イオンでは、フミン酸などの有機配位子と錯体を形成している状態よりも遊離の状態の方が生体に対する毒性は強いとされている。従って、金属イオンが環境に与える影響を評価するためには、自然界において複数の酸化状態を取りうる金属イオンについては酸化状態別の定量が、有機態を形成する金属イオンについては無機態と有機態の分別定量が、また、共存する配位子と錯体を形成する金属イオンについては遊離

の化学種と錯体種の分別定量が必要となる。これらの化学種形態別分析はスペシエーションと呼ばれ、近年その測定法の開発と評価が活発に行われている¹⁾。金属イオンの化学形態は、それが存在する環境によって著しく変化するため、スペシエーションを行うためには多数の試料を迅速に処理できる測定法が必要である。従って、フローインジェクション分析(FIA)法はスペシエーションを行う際の極めて有効な手段となり得る。本稿では、1996年～1998年に報告された論文のうち、金属イオンの酸化状態別の定量、無機態と有機態の分別定量及び遊離の化学種と錯体種の分別定量をFIAの手法により行ったものを紹介する。1995年以前のものについてはCampanellaらの総説²⁾を参照されたい。

2. 酸化状態別FIA

自然界において複数の酸化状態で安定に存在する金属イオンは限られるが、酸化還元反応や分離操作を用いて比較的容易に分別定量を行うことが可能であるので報告例も多い。これまでにクロム(III)/(VI)、鉄(II)/(III)、バナジウム(IV)/(V)、タリウム(I)/(III)の分別FIA法が開発されている。

2.1 クロム(III)/(VI)の分別FIA

検出手段としては原子吸光光度法(AAS)、吸光光度法及び蛍光光度法が利用されている。このうちAASを用いた

フローシステム(FI-AAS)ではイオン交換あるいは溶媒抽出によりクロムの3価と6価を分離した後、AASに導入する方法が一般的である。吸光光度法と蛍光光度法ではクロム(VI)と選択的に反応する試薬を用いてクロム(VI)の定量を行った後、酸化剤を用いてクロム(III)を6価に酸化し、同様の反応により総クロムの定量を行う方法が採られている。

Jimenezらは、イオン交換樹脂を充填した陽イオン交換カラムと陰イオン交換カラムをフローシステムに組み込み、各カラムにクロム(III)とクロム(VI)を吸着させ濃縮と分離を行った後、溶離してAASに導入するシステムを開発した³⁾。ここでは3個の6方バルブを組み合わせ、そのうちの2つのバルブに陽イオン交換カラムと陰イオン交換カラムを装着したシステムを用いている(Fig. 1)。a)のバルブポジションで両カラムに試料を注入し、クロム(III)と(VI)を吸着させる。その後、バルブをb)のポジションに切り替え、陽イオン交換カラムを洗浄すると共に、陰イオン交換カラムに吸着したクロム(VI)を塩化ナトリウム溶液で溶離してAASに導入する。引き続きバルブをc)のポジションに切り替え、陽イオン交換カラムに吸着したクロム(III)を塩酸溶液で溶離してAASに導入する。このシステムの検出限界は $14.3\mu\text{g/l}(\text{Cr}^{\text{III}})$ 、 $1.4\mu\text{g/l}(\text{Cr}^{\text{VI}})$ であり、 $0\sim 1000\mu\text{g/l}(\text{Cr}^{\text{III}})$ 、 $0\sim 900\mu\text{g/l}(\text{Cr}^{\text{VI}})$ の濃度範囲で直線の検量線が得られる。 $600\mu\text{g/l}$ の試料を10回繰り返し測定した際の相対標準偏差(R.S.D., $n=10$)は $4.41\%(\text{Cr}^{\text{III}})$ と $7\%(\text{Cr}^{\text{VI}})$ である。この方法

はクロムメッキ浴の排水中のクロムのスペシエーションに応用された。その結果、試料中のクロム(III)とクロム(VI)の濃度はそれぞれ138 $\mu\text{g/l}$ と616 $\mu\text{g/l}$ であり、クロムメッキ浴排水中のクロムの80%以上は6価の状態が存在していることが示された。

Romeroらはポリアミノリン酸キレート(PAPhA)樹脂を充填したカラムをラインに組み込んだFI-AASシステムを用いてクロム(III)と総クロム(Total Cr)の分別定量を可能にしている(Fig. 2)⁴⁾。このキレート樹脂はクロム(III)を選択的に吸着するので、試料をそのまま送液した場合にはクロム(III)のみの、あらかじめアスコルビン酸を試料に添加してクロム(VI)を3価に還元してからカラムに導入することでTotal Crの定量を行う。この方法の検出限界は0.2 $\mu\text{g/l}$ であり、3~25 $\mu\text{g/l}$ のクロム溶液を測定した際のR.S.D. ($n=5$)は1.5~5.9%(Cr^{III})、1.2~5.7%(Total Cr)である。この方法はスペインの6地点の河川水、12種類のミネラルウォーター、13都市の水道水に応用された。その結果、河川水では0.5~3.5 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、0.5~6.5 $\mu\text{g/l}$ (Total Cr)の、ミネラルウォーターでは1.2~12.1 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、1.2~12.1 $\mu\text{g/l}$ (Total Cr)の、水道水では0.6~4.2 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、0.6~6.6 $\mu\text{g/l}$ (Total Cr)の値が得られている。Total Crからクロム(III)濃度を差し引くことでクロム(VI)の値が得られるが、検討した31試料のうち19試料ではクロム(VI)は検出されなかった。なお、クロム(VI)が検出された12試料中のクロム(VI)の最高値は河川水で3.0 $\mu\text{g/l}$ 、ミネラ

ルウォーターで3.0 $\mu\text{g/l}$ 、水道水で4.8 $\mu\text{g/l}$ であった。

GirardとHubertは吸光光度計とAASをラインに直列に組み込んだシステムにより、ステンレス鋼溶接粉塵中のクロム(VI)とTotal Crの定量を行っている(Fig. 3)⁵⁾。このシステムでは酸性溶液中でクロム(VI)と1,5-ジフェニルカルボヒドラジド(DPC)を反応させ生成するクロム(III)のDPC錯体の吸光度(λ_{max} : 540nm, ϵ :84000 $\text{lm}^{-1}\text{cm}^{-1}$)を測定し、クロム(VI)の定量を行い、その後その溶液をAASに導入し、Total Crの定量を行う。本システムの検出限界は5 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{VI})であり、500 $\mu\text{g/l}$ のクロム(VI)溶液を測定した際のR.S.D. ($n=10$)は0.8%であった。このシステムによりステンレス鋼溶接粉塵中のクロム(VI)とTotal Crの濃度を測定したところ、それぞれ22.5mg/g(Cr^{VI})、30mg/g(Total Cr)であり、粉塵中のクロムの多くは6価の状態であることが示された。また、過酸化水素を酸化剤としてキャリアーに用いて、DPC錯体の吸光度を測定するクロム(III)/(VI)の分別FIAシステムも開発されている⁶⁾。

Bruhnらは活性アルミナを充填したカラムをラインに組み込んだFI-AASを用いてクロム(III)と(VI)の分別定量を可能にしている⁷⁾。溶液をpH7とpH3の条件でカラムに通すことによってクロム(III)とクロム(VI)の選択的な吸着が起こり、それぞれを少量の1.0M硝酸と0.5Mアンモニア水で溶離することにより濃縮を行う。この方法の検出限界は3.2 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、2.9 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{VI})であり、20 $\mu\text{g/l}$ のクロム

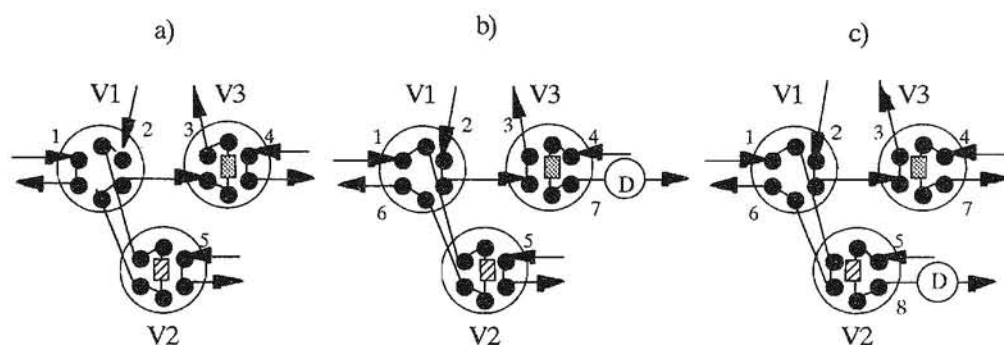


Fig. 1 Valve system for the speciation of chromium.

1, water; 2, sample solution; 3, waste; 4, 2M NaCl solution; 5, 3M HCl solution; 6, waste; 7, preconcentrated Cr^{VI} solution; 8, preconcentrated Cr^{III} solution; V1, V2, V3, injection valve; D, detector; , anion exchange resin; , cation exchange resin.

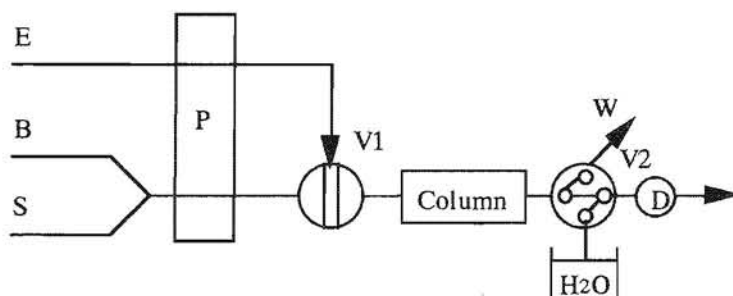


Fig. 2 Flow system for the speciation of chromium.

E, eluent, 0.5M HCl; B, blunk; S, sample; P, peristaltic pump; V1, injection valve for eluent; W, waste; V2, switching valve; D, FAAS.

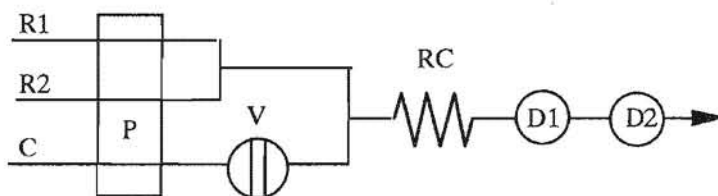


Fig. 3 Flow system for the speciation of chromium.

R1, H_2SO_4 ; R2, DPC; C, buffer; P, peristaltic pump; V, injection valve; RC, reaction coil; D1, UV-visible spectrophotometer; D2, AAS.

溶液を測定した際のR.S.D.は4.3%(Cr^{III})、3.1%(Cr^{VI})で、1時間当たり23~26試料の定量が可能である。この方法はチリ国内の同一水系にあたる7地点の河川水試料に応用された。その結果、人為的汚染の影響を受けていない河川上流においてはクロム濃度は検出限界以下であったが、中流では隣接する工場の排水の影響によりTotal Crの濃度は138~269 $\mu\text{g/l}$ と他地点と比較して非常に高い値が得られ、そのうち75%以上はクロム(VI)として溶存していることが示唆された。また、同一の地点において採取した土壌と藻類中のTotal Cr濃度を測定したところ、河川水中の濃度と良い正の相関が得られ、河川に流入したクロムが環境に蓄積していることが指摘された。

RaoらはC₁₈結合シリカゲルを充填したカラムをラインに組み込んだFI-AASシステムによりクロム(III)と(VI)の分別定量を行っている(Fig 4)⁹⁾。この方法はジエチルジチオカルバミン酸(DDTC)との錯形成反応を利用してクロム(III)と(VI)の分離を行うもので、pH1~2ではクロム(VI)のみがpH4~9ではクロム(III)のみがDDTC錯体を形成するため、それぞれpH2と7の条件で反応させた後カラムを通過させ、C₁₈結合シリカゲルに吸着濃縮を行う。この方法の検出限界はクロム(III)、(VI)ともに0.02 $\mu\text{g/l}$ であり、50 $\mu\text{g/l}$ の試料を測定した際のR.S.D.はそれぞれ5.1%(Cr^{III})、3.5%(Cr^{VI})で、1時間当たり30試料の測定が可能である。この方法はインドの南西海岸6カ所と南東海岸1カ所から採取した海水試料に応用された。その結果、0.08~0.26 $\mu\text{g/l}$ のクロ

ム(III)が検出されたが、クロム(VI)は検出されなかった。これは試料を0.01Mの塩酸酸性として保存したためであると推定され、試料採取後直ちに測定した場合には0.04 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、0.05 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{VI})の値が得られ、試料海水中にはクロム(VI)も溶存していることが示唆された。

Paleologosらは蛍光検出器を用いたクロム(III)と(VI)の分別FIA法を開発している(Fig. 5)⁹⁾。この方法は2-(α -ピリジル)チオキナルジンアミド(PTQA)がクロム(VI)により選択的に酸化され、強い蛍光を有する物質($\lambda_{\text{ex}} = 360\text{nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 500\text{nm}$)を生成することを利用している。クロム(III)は過ヨウ素酸カリウムにより6価に酸化された後、PTQAと反応し蛍光検出器に導入される。この方法の検出限界は20 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{III})、50 $\mu\text{g/l}$ (Cr^{VI})であり、100~10000 $\mu\text{g/l}$ のクロム(III)と(VI)を測定した際のR.S.D.は0.1~2.2%で、1時間当たり30試料の測定が可能である。また、検量線はクロム(III)では100~1000 $\mu\text{g/l}$ の範囲で、クロム(VI)では100~10000 $\mu\text{g/l}$ の範囲で直線となった。この方法はミネラルウォーター、水道水、湖水、トマトジュースに応用されたが、湖水で250 $\mu\text{g/l}$ のクロム(III)が検出された以外は検出限界以下であった。

その他、分別定量法ではないが、クロム(VI)の選択的な検出法として、クロム(VI)をアンモニウムピロリジンジチオカルバメート(APDC)と反応させた後、PTFEチューブに吸着濃縮し、エタノールで溶離後フレイムレスのAASで測定を行う方法(検出限界:0.0042 $\mu\text{g/l}$)¹⁰⁾や鉄(II)との酸化還元反応を利用する方法(検

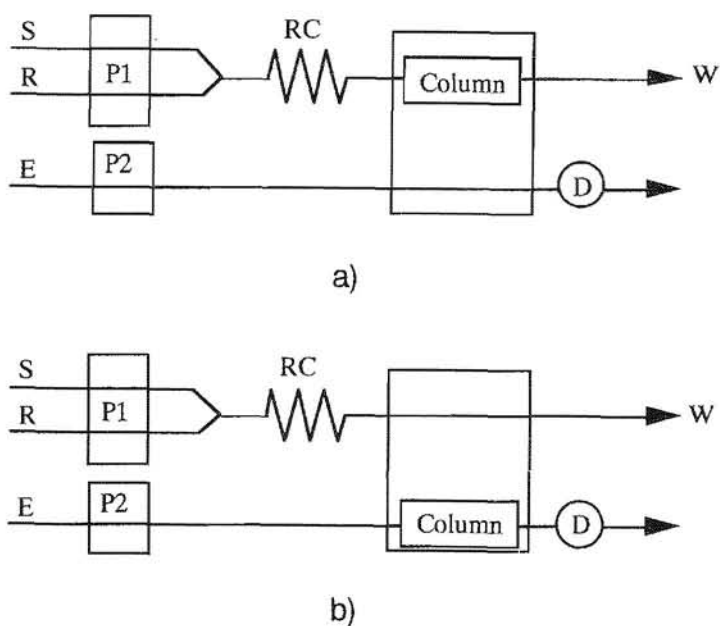


Fig. 4 Flow system for the speciation of chromium.

S, sample; R, reagent, DDTC; E, eluent, methanol; P1 and P2, peristaltic pumps; RC, reaction coil; W, waste; D, AAS. a) sample loading sequence; b) elution sequence.

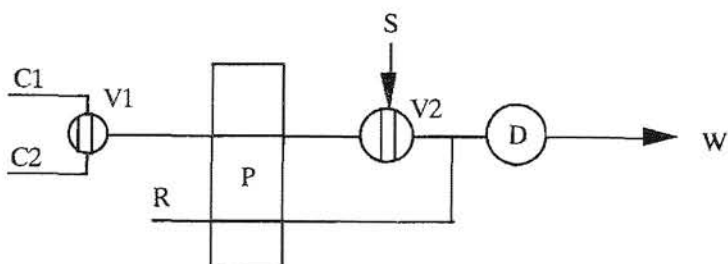


Fig. 5 Flow system for the speciation of chromium.

C1, carrier 1, H₂O; V1, selection valve; C2, carrier 2, a mixture of KIO₄ and NaOH; R, reagent, PTQA; P, pump; V2, valve; s, sample; D, detector; W, waste.

出限界: $10\mu\text{g/l}$ ¹¹⁾も報告されている。

2. 2 鉄(II)/(III)の分別FIA

鉄の場合はAASの定量感度が低いこともあり、吸光光度法により定量している例が多い。この場合、鉄(II)あるいは鉄(III)と選択的に反応して発色する試薬を用いて、一方の酸化状態の鉄のみを定量する。その後、インライン中で酸化反応あるいは還元反応を行い酸化状態をそろえて鉄(II)/(III)の含量 (Total Fe) を測定し、その差から他方の酸化状態の鉄の濃度を求める。

Conceicaoらは陰イオン交換樹脂を吸光度測定用のフローセルにパッキングしたFIAシステムを用いて鉄(II)/(III)の分別定量を行った (Fig. 6)¹²⁾。ここでは2mlの試料をサンプルチューブL1とL2の部分に充填する。バルブの切り替え操作によってL1は直ちにチオシアン酸溶液の流れと合流し、フローセルに導入されるが、L2はループ中に組み込んだ酸化カラムを通過した後、チオシアン酸溶液の流れと合流し、フローセルに導入される。酸化カラムにはフォルリン-チオカルト試薬で飽和した陰イオン交換樹脂にセリウム(IV)溶液を送液したものを用いている。ここではフローセル中の樹脂に吸着した鉄(III)のチオシアン酸錯体の吸光度をモニターし、鉄(III)及びTotal Feを定量する。この方法の定量限界は $80\mu\text{g/l}$ で、 $80\sim 500\mu\text{g/l}$ の濃度範囲で検量線は直線となり、R.S.D.は1.7~3.4%であった。

EndoとAbeは1,2-ジヒドロキシルベンゼン-3,5-ジスルホン酸 (タイロン) と

鉄(III)との錯形成反応を利用した方法を開発している¹³⁾。鉄(III)はタイロンと速やかに反応して有色の錯体を形成する。一方、鉄(II)もタイロンと反応して有色の鉄(III)-タイロン錯体を形成するが、この反応は遅い。ここでは試料を2カ所から注入するダブルインジェクション法を採用している (Fig. 7)。V1に充填された試料はタイロン溶液の流れに注入された後、直ちに検出器に送られる。V2に充填された試料は、酸化促進剤の銅(II)を含むタイロン溶液の流れに注入され、RC3とRC2内で鉄(II)の酸化反応を行った後、検出器に導入される。従って、ここでは第1ピークは鉄(III)のみの、第2ピークはTotal Feのピークに相当する。検量線は $1.0\sim 10.0\text{mg/l}$ の範囲で直線となり、 5.0mg/l の鉄を測定した際のR.S.D. ($n=4$) は0.2%(Fe(III)), 0.7%(Total Fe)で、1時間当たり30試料の測定が可能である。

NovicらはFIAのピークを数学的に解析する方法を開発し、1,10-フェナントロリンを発色試薬に用いたマージングゾーンFIAへの応用を試みている (Fig. 8)¹⁴⁾。ここではI1から還元剤 (L-アスコルビン酸) を、I2から試料溶液をそれぞれキャリアーに注入する。還元剤はディレイコイルを通過した後、試料と合流するため、試料セグメントの後方部分においてのみ鉄(III)から鉄(II)の還元反応が進行する。試料溶液の流れは1,10-フェナントロリンの流れと合流した後、検出器に導入される。従って、得られるピークは鉄(II)のピークに相当する部分が鉄(II)と鉄(III)の含量のピークのショルダーとして観測さ

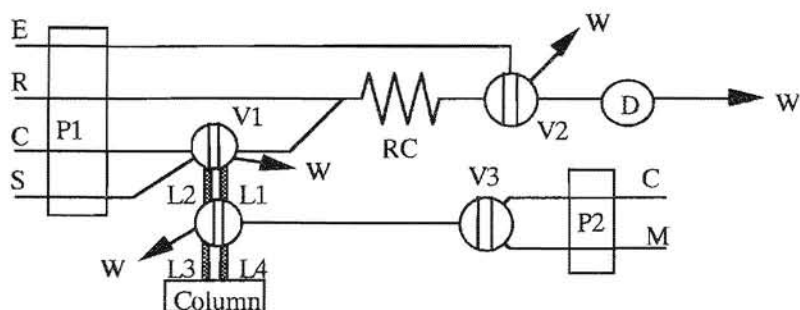


Fig. 6 Flow system for the speciation of iron.
E, eluent, NaF; R, reagent, NH₄SCN; C, carrier; S, sample; P1, P2, pumps; V1, double injection valve; V2, V3, switching valves; L1-L4, loops; RC, reaction coil; D, detector equipped with a flow-cell packed with an exchange resin; M, Ce⁴⁺; W, waste.

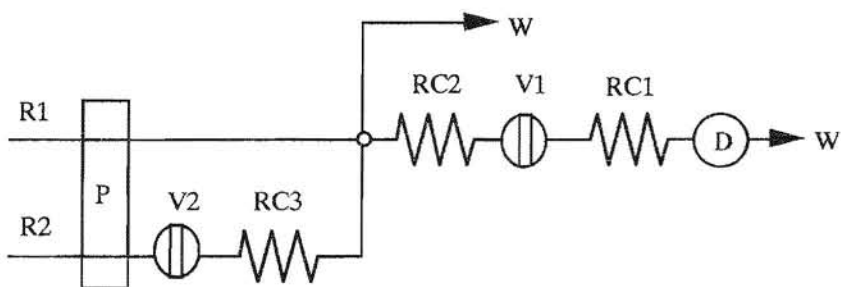


Fig. 7 Flow system for the speciation of iron.
P, pump; R1, Tiron-acetate buffer solution; R2, Cu^{II}-Tiron-acetate buffer solution; V1, V2, sample injector; RC1, RC2, RC3, reaction coil; W, waste; D, detector.

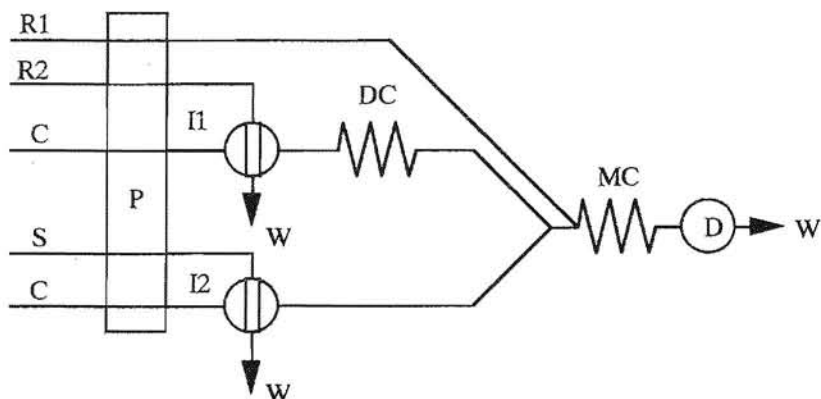


Fig. 8 Flow system for the speciation of iron.
P, peristaltic pump; I1, I2, injectors; R1, 1,10-phenanthroline; R2, ascorbic acid; S, sample; C, carrier, H₂O; DC, delay coil; MC, mixing coil; D, detector; W, waste.

れる。このピークはガウス曲線を改良した数学的手法によって得られる曲線と良く一致し、これを解析することで鉄(II)と鉄(III)の分別定量が可能であると報告している。

Saitohらは鉄(II)が触媒として作用するルミノールの化学発光反応を利用して鉄(II)とTotal Feの測定が可能なFIAを開発した (Fig. 9)¹⁵⁾。ここでは2流路のキャリアーに試料を注入する。このうち一方は銀還元カラムを通過するため、試料中の鉄(III)が鉄(II)に還元され、他方は12mのディレイコイルを通過した後、活性化剤であるクエン酸溶液の流れと合流する。この系ではクエン酸は鉄(III)のマスキング剤としても作用する。その後、両溶液はルミノールと増感剤である臭化テトラデシルトリメチルアンモニウム (TTAB) の混合溶液と過酸化水素の流れと合流し、化学発光検出器に導入される。従って、最初のピークからTotal Feの、第2ピークから鉄(II)のみの定量を行う。この方法の検出限界は $2 \times 10^{-9} \text{M}(\text{Fe}^{\text{II}})$ 、 $1 \times 10^{-9} \text{M}(\text{Total Fe})$ であり、 $5 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度範囲で直線の検量線が得られる。 $4 \times 10^{-8} \text{M}$ の鉄(II)と $1 \times 10^{-7} \text{M}$ のTotal Feを測定した際のR.S.D. ($n=10$) はそれぞれ3.0%と1.5%であり、1時間当たり18試料の測定が可能である。この方法は池の水、鉱泉水、河川水及び2種類の湧き水中の鉄のスペシエーションに応用された。その結果、試料水中の鉄(II)濃度 (Fe^{II} , $\mu\text{g/l}$) とTotal Feの濃度 (Total Fe, $\mu\text{g/l}$) は、池の水 : 3.07 (Fe^{II}), 41.9 (Total Fe) ; 鉱泉水 : 51.9 (Fe^{II}), 99.3 (Total Fe) ; 河川水 : 7.57

(Fe^{II}), 10.0 (Total Fe) ; 湧き水 1 : 0.19 (Fe^{II}), 0.46 (Total Fe) ; 湧き水 2 : 1.61 (Fe^{II}), 1.75 (Total Fe)であった。

Kyawらは8-キノリノール抽出と逆ミセル反応場を利用したルミノール化学発光反応を組み合わせて鉄(III)の選択的なリバースFIA法を開発している (Fig. 10)

¹⁶⁾。ポンプから送液された試料は8-キノリノール溶液の流れと合流した後、クロロホルムの流れと合流する。試料中の鉄(III)は8-キノリノール錯体としてクロロホルム相に抽出され、テフロン膜を装着したセパレーターによって水相から分離される。この流れはクロロホルムのキャリアー中に注入された試薬の流れと合流した後、鉄(III)が触媒として作用するルミノールの化学発光反応の発光強度を測定するための検出器に導入される。ここでは注入する試薬として塩化セチルトリメチルアンモニウム (CTAC) によって逆ミセルを形成したルミノールと過酸化水素を含むクロロホルム-シクロヘキサン混合溶液が用いられている。この方法における鉄(III)の検出限界は $5 \mu\text{g/l}$ 、定量範囲は $10 \sim 500 \mu\text{g/l}$ である。この方法は鉄(III)に選択的であるので、試料に過酸化水素を添加して試料中の鉄(II)を3価に酸化してから測定することで、鉄(II)と鉄(III)の合量の定量が行え、過酸化水素を添加しない場合の値との比較から鉄(II)の定量も可能である。

2. 3 タリウム(I)/(III)の分別FIA

タリウムは生体に対して毒性を示すが、その作用は3価よりも1価の方が強いこ

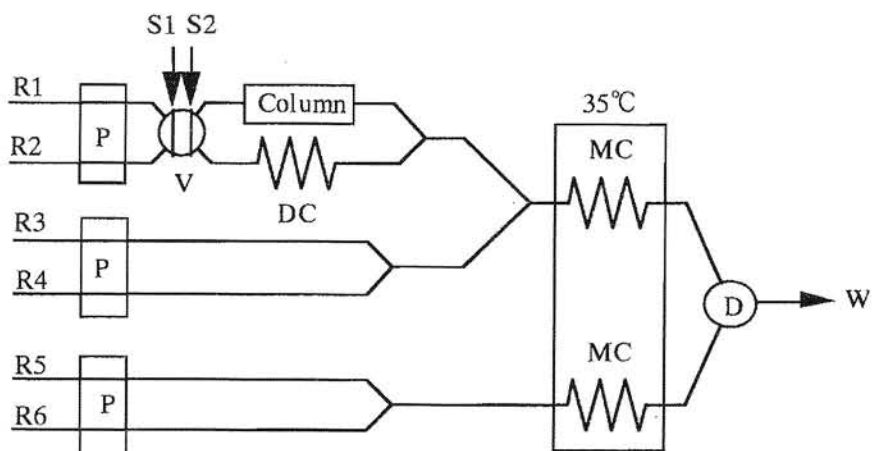


Fig. 9 Flow system for the speciation of iron.

R1, R2, 0.02M HCl; R3, R4, citric acid; R5, mixture of liminol, TTAB and borate buffer ; R6, 0.02M H₂O₂; S1, S2, sample; P, micropump; V, loop-valve injector; DC, delay coil; MC, mixing coil; D, detector; W, waste.

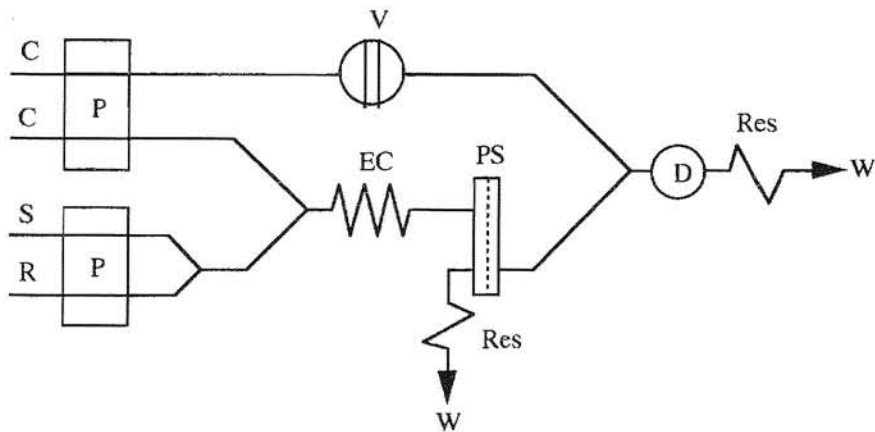


Fig. 10 Flow system for the speciation of iron.

C, carrier, chloroform; R, 8-quinolinol solution; S, sample; V, injector; PS, phase separator; D, detector; P, plunger pump; Res, restrictor; W, waste; EC, extraction coil.

とが指摘されている¹⁷⁾。タリウムの定量法としては、吸光光度法、AAS、蛍光光度法、発光光度法、ボルタンメトリーなどの電気化学的方法などが用いられているが、酸化状態別のFIA法としては蛍光光度法が利用されている。

Ruizらは塩酸溶液中で生成した TiCl_3^{2-} の蛍光($\lambda_{\text{ex}}=227\text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=419\text{ nm}$)を測定するタリウム(I)/(III)の分別FIAを開発した(Fig. 11)¹⁸⁾。試料は塩酸キャリアー中に注入され、蛍光検出器に導入される。ここでは、別の流路から水またはチオ尿素の溶液を送液する。水を送液した場合にはタリウム(I)のみが TiCl_3^{2-} を生成するのでタリウム(I)の定量が、チオ尿素を送液した場合には、チオ尿素によりタリウム(III)が1価に還元されるので、タリウム(I)/(III)の含量の定量が可能となる。この方法は1時間に90試料の測定が可能であり、タリウム(I)の検量線は $5.0 \times 10^{-8}\text{ M} \sim 1.0 \times 10^{-5}\text{ M}$ の濃度範囲で、タリウム(III)の検量線は $1.0 \times 10^{-7}\text{ M} \sim 1.0 \times 10^{-5}\text{ M}$ の濃度範囲で直線となる。また、 $1.0 \times 10^{-7}\text{ M}$ のタリウムを測定した際のR.S.D. ($n=10$)は、0.47%(Ti^I)、0.93%(Ti^{III})であった。EnsafiとRezaeiも還元剤にヒドラジンをを用いて、同様な方法によりタリウム(I)/(III)の分別FIAを試みている¹⁹⁾。

2. 4 バナジウム(IV)/(V)の分別FIA

バナジウムは生体に対して必須の元素であるが、高濃度では毒性を示し、5価の状態は他の酸化状態よりも毒性が強いとされている²⁰⁾。これまで、バナジウム

(IV)/(V)の分別FIAとしては、バナジウム(V)を選択的に吸着するイオン交換樹脂を充填したカラムを用いたFI-AASシステムを利用する方法²¹⁾、鉄(II)/(III)との酸化還元反応を利用して生成する鉄(II)の1,10-フェナントロリン錯体の吸光度を測定し、間接的にバナジウム(IV)/(V)の定量を行う方法^{22),23)}が開発されている。1996年～1998年の間ではシーケンシャルインジェクション(SI)法によるバナジウム(IV)/(V)の分別定量法が開発されている²⁴⁾。

Nakanoらが開発したバナジウム(IV)/(V)の分別定量に用いられたSIシステムをFig.12に示す²⁴⁾。この方法は、テフロンチューブの内壁に形成されたベンゼン薄相(wetting film)への抽出反応を基にしており、セグメンターや相分離器を用いることなく抽出分離を行うことができる。R1から水を、R2から*N*-シナモイル-*N*-(2,3-キシリル)ヒドロキシルアミン(CXA)のベンゼン溶液を、R3から空気を吸引挿入し、抽出コイル内にベンゼン薄相を形成させる。その後R4から試料を挿入し、生成するバナジウム(V)のCXA錯体をベンゼン薄相に抽出する。R5から塩酸を挿入してラインを洗浄した後、インジェクションバルブから溶離剤として50 μl のベンゼンを挿入する。溶離してきたバナジウム(V)のCXA錯体の吸光度(546nm)をモニターし、その変化量からバナジウム(V)の定量を行う。試料に過ヨウ素酸カリウムを加え、バナジウム(IV)を5価に酸化した後、同様の操作を行い、バナジウム(IV)/(V)の含量を測定し、その差からバナジウム(IV)の定量を

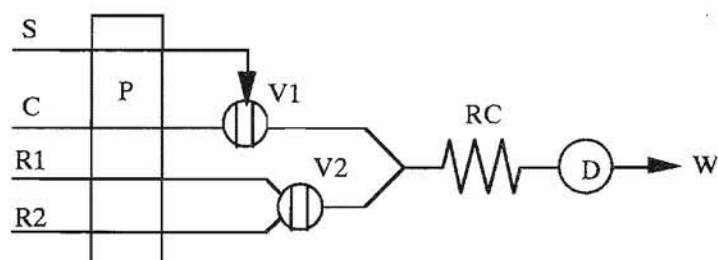


Fig. 11 Flow system for the speciation of thallium.

P, peristaltic pump; S, sample; C, carrier, 1M HCl; R1, thiourea; R2, water; V1, injection valve; V2, selection valve; RC, reaction coil; D, detector; W, waste.

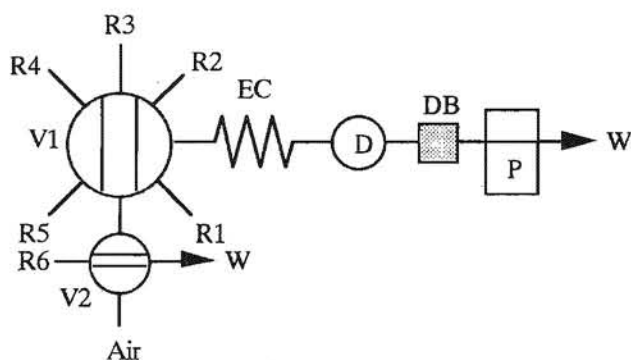


Fig. 12 SI system for the speciation of vanadium.

R1, water; R2, CXA-benzene; R3, air; R4, sample solution; R5, HCl; R6, benzene; V1, selector valve; V2, injection valve; EC, extraction coil; D, detector; DB, displacement bottle; P, pump; W, waste.

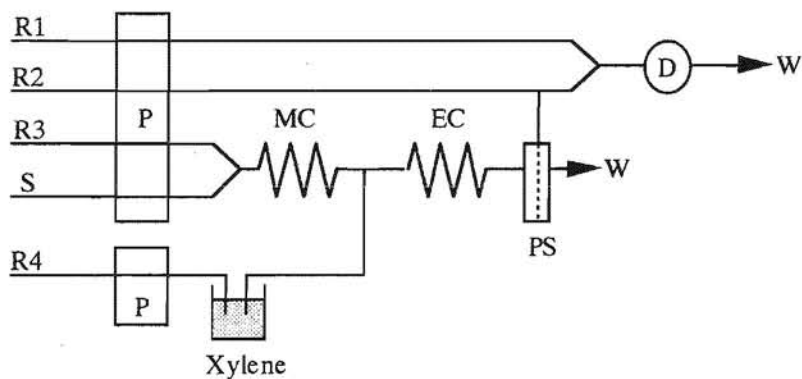


Fig. 13 Flow system for the speciation of mercury.

R1, NaBH₄; R2, CH₃COOH; R3, KBr; R4, water; S, sample; P, peristaltic pump; MC, mixing coil; EC, extraction coil; PS, phase separator; D, detector; W, waste.

行う。この方法の検出限界は $12\mu\text{g/l}$ であり、 $50\sim 300\mu\text{g/l}$ の範囲で直線の検量線が得られる。 $200\mu\text{g/l}$ のバナジウム(V)を測定した際のR.S.D. ($n=8$) は2.4%であり、1時間当たり15試料の測定が可能である。

その他、分別定量法ではないが、バナジウム(V)の選択的なFIA法も開発されている^{25), 26)}。

以上、金属イオンの酸化状態別のFIA法について記したが、金属イオン以外ではヒ素(III)/(V)²⁷⁾⁻³⁰⁾、セレン(IV)/(VI)³¹⁾⁻³⁵⁾の分別FIA法も開発されている。

3. 無機態と有機態の分別FIA

これまでに、無機態と有機態の分別FIAとしては水銀³⁶⁾⁻³⁸⁾、スズ³⁹⁾、鉛^{40), 41)}を対象にしたものが開発されている。検出方法としては、水銀では原子蛍光光度法(AFS)、誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-ES)、還元気化AASが、スズではマイクロ波誘導プラズマ発光分光法(MIP-ES)が、鉛ではAASが利用されている。1996年~1998年の間では水銀を対象にしたFIAが開発されている。

Garciaらは、メチル水銀を臭素化物としてキシレンに抽出分離して、水素化ホウ素ナトリウム(NaBH_4)によって還元気化した後、オンラインに接続したICP-ESによって水銀を定量する方法を開発した(Fig. 13)³⁷⁾。送液された試料は臭化カリウムの溶液と合流した後、キシレンの流れと合流する。試料中のメチル水銀は臭化物としてキシレン中に抽出さ

れる。PTFE膜を装着した相分離器によって分相した後、有機相を濃酢酸と NaBH_4 の流れに導き、還元気化した後、オンラインに接続したICP-ESによって水銀の定量を行う。無機水銀はキシレン相には抽出されないため、相分離器によって分相された水相を還元気化ICP-ESに導入し定量する。この方法の検出限界は $4\mu\text{g/l}$ で1時間当たり10~12試料の測定が可能である。検量線は $100000\mu\text{g/l}$ の濃度まで直線となり、 $100\mu\text{g/l}$ の水銀を測定した際のR.S.D. ($n=10$) は5%である。

Yinらは、 C_{18} 結合シリカを充填した予備濃縮カラムと逆相HPLCを組み合わせ、メチル水銀(MeHg)、エチル水銀(EtHg)、フェニル水銀(PhHg)及び無機水銀(Hg^{II})の定量が可能なシステムを開発した(Fig. 14)³⁸⁾。P1から試料溶液とアンモニウムピロリジンジチオカーバメート(APDC)溶液を送液し、試料水中の水銀をAPDC錯体として予備濃縮カラム(HC)に捕集する。P2から水を送液し、カラムを洗浄した後、バルブを切り替えてHC中の水銀を溶離してHPLCの分離カラムに導入する。各化学種に分離された試料は NaBH_4 、硝酸、アルゴンガスと混合され、還元気化後、AFSに導入される。この方法の検出限界は、 $0.009\mu\text{g/l}$ (MeHg)、 $0.006\mu\text{g/l}$ (EtHg)、 $0.01\mu\text{g/l}$ (PhHg)、 $0.005\mu\text{g/l}$ (Hg^{II})であり、各化学種を $0.5\mu\text{g/l}$ 含む混合試料を測定した際のR.S.D. ($n=9$) は、3.6% (MeHg)、5.8% (EtHg)、7.0% (PhHg)、5.4% (Hg^{II})であった。各化学種とも検量線は $5\mu\text{g/l}$ の濃度まで直線となり、1時間当たり2~3試料の定量が可能である。

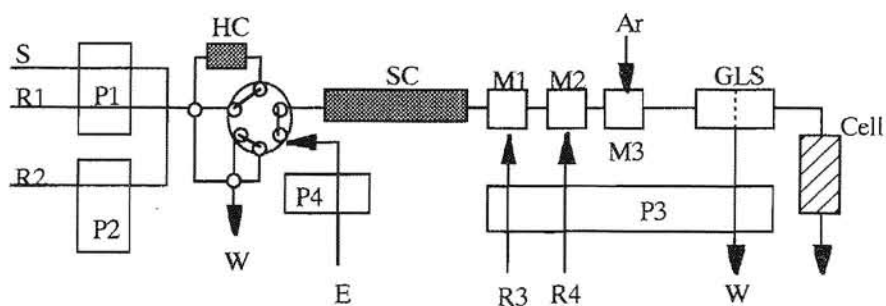


Fig. 14 Flow system for the speciation of mercury.

P1, P2, P3, peristaltic pump; P4, HPLC pump; S, sample; R1, APDC; R2, water; R3, NaBH_4 ; R4, HNO_3 ; E, eluent; HC, pre-concentration column; SC, HPLC separation column; M1, M2, M3, T-mixer; GLS, gas-liquid separator; W, waste.

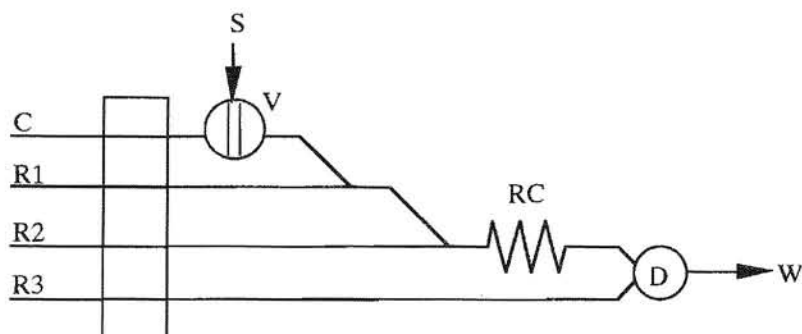


Fig. 15 Flow system for the speciation of aluminium.

C, carrier; R1, DASA; R2, Hexamine; R3, KCl; V, injection valve; S, sample; D, detector; RC, reaction coil; W, waste.

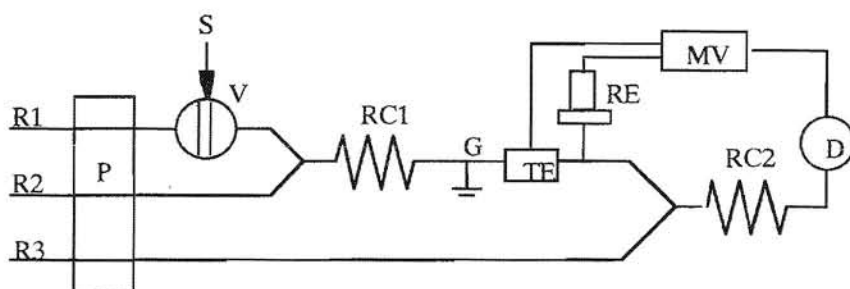


Fig. 16 Flow system for the speciation of potassium.

R1, R3, water; R2, NaCl/KCl; S, sample; P, peristaltic pump; V, injection valve; RC1, RC2, reaction coil; G, ground electrode; TE, tubular electrode; RE, reference electrode; MV, potentiometer; D, flame emission spectrometer.

この方法は人の尿中の水銀のスペシエーションに応用された。その結果、 $0.35\mu\text{g/l}$ の Hg^{II} は検出されたが、 MeHg 、 EtHg 及び PhHg は検出されなかった。

その他、分別定量法ではないが、有機水銀のFIA法として、有機水銀を臭化カリウム-臭素酸カリウムで Hg^{II} にした後、還元剤AFSにより水銀の定量を行う方法も報告されている^{42), 43)}。

4. 遊離の化学種と錯体種の分別FIA

これまでに、遊離の化学種と錯体種の分別定量を目的としたFIAはアルミニウム⁴⁴⁾⁻⁵⁰⁾、カドミウム⁵¹⁾、銅^{51), 52)}、亜鉛⁵¹⁾、カリウム⁵³⁾、カルシウム⁵⁴⁾を対象に開発されている。1996年~1998年の間では、アルミニウム、カリウム及びカルシウムのFIA法が開発されている。

アルミニウムのスペシエーションでは、遊離の化学種と錯体種の反応活性の違いを利用して分別定量を行う方法が採られている。Downardらは、1,2-ジヒドロキシアントラキノン-3-スルホン酸(DASA)の酸化電流が遊離のアルミニウム(Al^{3+} と $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$)の存在によって減少することを利用した遊離アルミニウムのFIA法を開発した⁵⁰⁾。DASAは電極酸化されやすいキレート剤であるが、アルミニウムと錯体を形成するとその酸化は抑制される。使用したフローシステムをFig. 15に示す。キャリアー中に注入された試料はDASA溶液とヘキサミン緩衝液の流れと合流し、グラッシーカーボン電極を装着した検出

器に導入される。遊離のアルミニウムはDASAと反応コイル内で錯体を形成するが、錯体種のアルミニウムはDASAとの錯形成速度が小さいのでこの実験条件(DASA濃度： $3 \times 10^{-6}\text{ M}$ 、反応時間：10秒)では反応しない。従って、この方法では遊離の化学種のための定量が行える。この方法の検出限界は 75 nM で、 $0.35 \sim 10\mu\text{M}$ の範囲の濃度のアルミニウムの定量が可能である。また、 $1\mu\text{M}$ のアルミニウムを15回繰り返し測定した際の相対標準偏差は1.7%であり、1時間当たり100試料の定量が可能である。この論文の中では、8-キノリノール誘導体ゲルを充填したカラムをラインに装着したシステムについても検討しており、この方法はフルボ酸とフミン酸溶液のアルミニウム錯化容量の測定に応用されている。その他、反応活性なアルミニウムを選択的に測定する方法も開発されている^{55), 56)}。

RangelとTothはイオン選択性電極(ISE)とフレイム分光光度計(FES)を検出器に利用し、遊離のカリウム(Free K)と総カリウム(Total K)の定量が可能なFIA法を開発した(Fig. 16)⁵³⁾。キャリアー中に注入された試料はイオン強度を一定にするために NaCl/KCl 混合溶液の流れと合流し、チューブ型のカリウムISEを通過した後、FESに導入される。ISEではFree Kの、FESではTotal Kの定量を行う。この方法では、 $300 \sim 2000\text{ mg/l}$ の濃度範囲で直線の検量線が得られ、1時間当たり60試料の定量が可能である。この方法は19種類のポートワインと6種類のシェリーワイン中のカリウムのスペシエーションに応用された。その結果、

Free KとTotal Kの濃度は、ポートワインでは775~1725mg/l (Free K), 865~1865mg/l (Total K)であり、シェリーワインでは380~580mg/l (Free K), 405~645mg/l (Total K)であった。

Trojanowiczらは、ISEを検出器に用いたFIAにより、遊離のカルシウム (Free Ca) と総カルシウム (Total Ca) の定量が可能な方法を開発した (Fig. 17)⁵⁴⁾。0.5M塩化ナトリウムのキャリアー中に注入された試料はISEを装着したセルに導入され、Free Caが測定される。その後、その溶液の流れは錯化緩衝液 (constant complexing buffer, CCB) の流れと合流した後、再びインジェクターから0.5M塩化ナトリウムキャリアー中に注入され、検出器に導入される。CCBは硝酸カリウム、アンモニア-塩化アンモニウム緩衝液、イミノ二酢酸、アセチルアセトンの混合溶液であり、この溶液と混合することでカルシウムの錯形成に関する因子を一定にできるためTotal Caの濃度に比例した電極応答が得られるようになる⁵⁷⁾。この方法ではpCa (= -log[Ca]) 2~4の範囲で直線の検量線が得られる。この方法は水道水、ミネラルウォーター、河川水、海水中のカルシウムのスペシエーションに応用された。その結果、試料水中のTotal Ca (mM) とFree Ca (mM) はそれぞれ水道水: 0.13 (Total Ca), 0.10 (Free Ca), ミネラルウォーター (Evian): 1.86 (Total Ca), 1.12 (Free Ca), ミネラルウォーター (Hartz): 2.66 (Total Ca), 1.97 (Free Ca), 河川水: 1.25 (Total Ca), 0.83 (Free Ca), 海水: 10.0

(Total Ca), 3.20 (Free Ca)であった。また、本論文中ではフッ化物イオンのスペシエーションが可能なFIA法についても検討している。

5. おわりに

本稿では、1996年~1998年の間に報告されたFIAによる金属イオンのスペシエーションについて概観した。この間に報告されたFIAに関する論文は1500報以上にのぼることを考えると、スペシエーションへの応用は少ないように思える。特に、無機態・有機態の分別定量と遊離種・錯体種の分別定量を目的としたものは極めて少ない。FIAは多くの試料を迅速に処理することが可能であり、反応速度の追跡も可能であることから、スペシエーションの有力な手段となり得る。今後、環境化学や生化学の分野ではスペシエーションが益々重要になることが予想されるため、FIA研究者のこの分野へのより積極的な参加を期待したい。

最後に、本稿を執筆するにあたり、J. Flow Injection Anal. の FIA Bibliography が大変役に立った。Bibliographyの作成に携われた諸氏に心より感謝申し上げる。

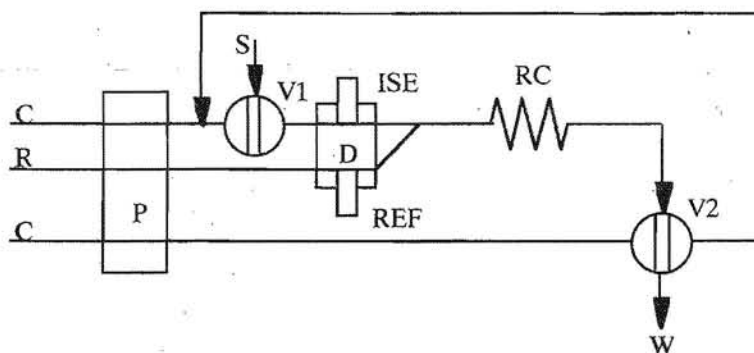


Fig. 17 Flow system for the speciation of calcium.

C, carrier; R, reagent, CCB; S, sample; P, peristaltic pump; D, detector; V1, V2, injection valve; ISE, ion selective electrode; REF, reference electrode; RC, reaction coil; W, waste.

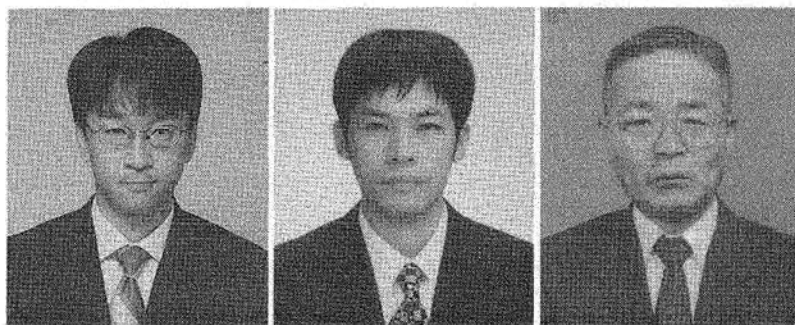
文献

- 1) A. Tessier and D. R. Turner ed.: "Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems", Wiley, Chichester, 1995.
- 2) L. Campanella, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz: *Talanta*, **43**, 825 (1996).
- 3) M. S. Jimenez, L. Martin, J. M. Mir, J. R. Castillo: *At. Spectrosc.*, **17**, 201 (1996).
- 4) R. M. C. Romero, M. C. Y. Biurrun, M. P. B. Barrera: *Anal. Chim. Acta*, **327**, 37 (1996).
- 5) L. Girard, J. Hubert: *Talanta*, **43**, 1965 (1996).
- 6) J. E. T. Andersen: *Anal. Chim. Acta*, **361**, 125 (1998).
- 7) C. G. Bruhn, L. Villablanca, V. H. Campos, S. Basualto M., J. Tapia: *Bol. Soc. Chil. Quim.*, **42**, 83 (1997).
- 8) T. P. Rao, S. Karthikeyan, B. Vijayalekshmy, C. S. P. Iyer: *Anal. Chim. Acta*, **369**, 69 (1998).
- 9) E. K. Palcologos, S. I. Lafis, S. M. T. Karayanni, M. I. Karayannis: *Analyst*, **123**, 1005 (1998).
- 10) S. Nielsen, E. H. Hansen: *Anal. Chim. Acta*, **366**, 163 (1998).
- 11) H. Itabashi, N. Teshima, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **12**, 985 (1996).
- 12) A. C. Lopes da Conceicao, M. T. Tena, M. M. Correia dos Santos, M. L. S. Goncalves, M. D. Luque de Castro: *Anal. Chim. Acta*, **343**, 191 (1997).
- 13) M. Endo, S. Abe: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **358**, 546 (1997).
- 14) Mi. Novic, Ma. Novic, J. Zupan, N. Zafran, B. Pihlar: *Anal. Chim. Acta*, **348**, 101 (1997).
- 15) K. Saitoh, T. Hasebe, N. Teshima, M. Kurihara, T. Kawashima: *Anal. Chim. Acta*, **376**, 247 (1998).
- 16) T. Kyaw, T. Fujiwara, H. Inoue, Y. Okamoto, T. Kumamaru: *Anal. Sci.*, **14**, 203 (1998).

- 17) T. M. Florence: *Analyst*, **111**, 489 (1986).
- 18) T. P. Ruiz, C. M. Lozano, V. Tomas, R. Casajus: *Analyst*, **121**, 813 (1996).
- 19) A. A. Ensafi, B. Rezaei: *Microchem. J.*, **60**, 75 (1998).
- 20) B. Patel, G. E. Henderson, S. J. Haswell, R. Greskowiak: *Analyst*, **115**, 1063 (1990).
- 21) B. Patel, S. J. Haswell, R. Grzeskowiak: *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 195 (1989).
- 22) N. Teshima, H. Itabashi, T. Kawashima: *Chem. Lett.*, **1992**, 2227.
- 23) N. Teshima, H. Itabashi, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **10**, 207 (1994).
- 24) S. Nakano, Y. Luo, D. A. Holman, J. Ruzicka, G. D. Christian: *J. Flow Injection Anal.*, **13**, 148 (1996).
- 25) M. J. C. Taylor, G. D. Marshall, S. J. S. Williams, J. F. van Standen, C. Saling: *Anal. Chim. Acta*, **329**, 275 (1996).
- 26) M. E. Palomwque, A. G. Lista, B. S. F. Band: *Anal. Chim. Acta*, **366**, 287 (1998).
- 27) S. N. Willie: *Spectrochim. Acta Part B*, **51**, 1781 (1996).
- 28) X. Yin, E. Hoffmann, C. Ludke: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **355**, 324 (1996).
- 29) J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rivas, P. Carrero: *Talanta*, **45**, 531 (1998).
- 30) D. Pozebon, V. L. Dresser, J. A. G. Neto, A. J. Curtius: *Talanta*, **45**, 1167 (1998).
- 31) J. L. Burguera, P. Carrero, M. Burguera, C. Rondon, M. R. Brunetto, M. Gallignani: *Spectrochim. Acta Part B*, **51**, 1837 (1996).
- 32) N. Jakubowski, C. Thomas, D. Stuewer, I. Dettlaff, J. Schram: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 1023 (1996).
- 33) J. M. G. Lafuente, M. L. F. Sanchez, A. S. Medel: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 1163 (1996).
- 34) A. Cerda, M. T. Oms, R. Forteza, V. Cerda: *Analyst*, **121**, 13 (1996).
- 35) M. J. Ahmed, C. D. Stalikas, P. G. Veltsistas, S. M. T. Karayanni, M. I. Karayannis: *Analyst*, **122**, 221 (1997).
- 36) W. Jian, C. W. McLeod: *Talanta*, **39**, 1537 (1992).
- 37) A. M. Garcia, M. L. F. Sanchez, J. E. S. Uria, A. S. Medel: *Mikrochim. Acta*, **122**, 157 (1996).
- 38) X. Yin, W. Frech, E. Hoffmann, C. Ludke, J. Skole: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **361**, 761 (1998).
- 39) J. S. Lobinska, M. Ceulemans, R. Lobinski, F. C. Adams: *Anal. Chim. Acta*, **278**, 99 (1993).
- 40) A. M. Naghmush, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz: *Talanta*, **42**, 851 (1995).
- 41) E. H. Hansen: *Anal. Chim. Acta*, **308**, 3 (1995).
- 42) M. J. Bloxham, S. J. Hill, P. J. Worsfold: *J. Anal. At. Spectrom.*, **11**, 511 (1996).
- 43) M. L. Mena, C. W. McLeod: *Mikrochim. Acta*, **123**, 103 (1996).
- 44) M. J. Quintela, M. Gallego, M.

- Valcarcel: *Analyst*, **118**, 1199 (1993).
- 45) P. Canizares, M. D. Luque de Castro: *Anal. Chim. Acta*, **295**, 59 (1994).
- 46) N. Clarke, L. Danielsson: *Anal. Chim. Acta*, **306**, 5 (1995).
- 47) L. Danielsson, A. Sparen: *Anal. Chim. Acta*, **306**, 173 (1995).
- 48) S. H. Sutheimer, S. E. Cabaniss: *Anal. Chim. Acta*, **303**, 211 (1995).
- 49) S. H. Sutheimer, S. E. Cabaniss: *Anal. Chem.* **67**, 2342 (1995).
- 50) A. J. Downard, K. J. Powell, S. D. Money: *Anal. Chim. Acta*, **349**, 111 (1997).
- 51) Y. Liu, J. D. Ingle Jr.: *Anal. Chem.*, **61**, 525 (1989).
- 52) E. B. Milosavljevic, J. Ruzicka, E. H. Hansen: *Anal. Chim. Acta*, **169**, 321 (1985).
- 53) A. O. S. S. Rangel, I. V. Toth: *Anal. Sci.*, **12**, 887 (1996).
- 54) M. Trojanowicz, P. W. Alexander, D. B. Hibbert: *Anal. Chim. Acta*, **366**, 23 (1998).
- 55) S. L. Simpson, K. J. Powell, N. H. S. Nilsson: *Anal. Chim. Acta*, **343**, 19 (1997).
- 56) A. J. Downard, R. J. Lenihan, S. L. Simpson, B. O'Sullivan, K. J. Powell: *Anal. Chim. Acta*, **345**, 5 (1997).
- 57) A. Hulanicki, M. Trojanowicz: *Anal. Chim. Acta*, **68**, 155 (1974).

(Received June, 3)



板橋英之

高澤嘉一

川本 博