

簡易型フローインジェクション分析装置の試作

原 稔

(1996年4月30日受理)

An Inexpensive System for Flow Injection Analysis

Minoru HARA

Abstract

An inexpensive student instrument for flow injection analysis was constructed. Solutions are fed by gravity flow and mixed with a mixing-coil. A commercial available injector is used as an injection port. Absorptiometric detector consists of a light-emitting diode and a photodiode with a red-filter. The output signal of this detector is recorded by a pen-recorder. This system was applied to the determination of copper (II) with ammonia. The relative standard deviation for the determination of 10 mM copper (II) was 0.43% (n=5).

キーワード : フローインジェクション分析, 機器分析, 安価な装置, 吸光光度定量, 銅 (II) の定量.

Key words : Flow Injection Analysis, Instrumental Analysis, Inexpensive Instrument, Absorptiometry, Determination of Copper (II).

1 緒 言

Růžička らによって始められたフローインジェクション分析法 (Flow Injection Analysis, FIA) は, 短時間に多数の試料を分析することができる, 再現性にすぐれている, 試薬の使用量が少なくてすむ等の長所があり, ルーチン分析に好都合であるため, この20年間に着実に発展してきた⁽¹⁾。さらに, 反応生成物が比較的短時間で分解してしまい, これまで分析法としては利用できなかったような不安定な系にも利用できるため, この観点からも多くの研究が報告されてきた。図1に, もっとも単純な例で FIA の原理を示す。FIA は, ペリスタポンプのような簡単な装置を使って試薬溶液を常時流しておき, その試薬の流れの中に一定容積の試料を注入し, 混合コイル中で反応させた後に各種の検出器で定量を行う自動分析法の一種

である。図1のような簡単なシステムでも, 試薬溶液の中に pH 緩衝剤や共存物質の妨害を除くためのマスキング剤等も含めることができれば, 十分に実用に供することができる。さらに, 流路の数を増やすことにより, イオンや分子の拡散, 等温蒸留, 溶媒抽出, イオン交換等に基づく分離も導入することができ, より複雑な系にも適用することができる。

従来の学校教育における化学分析は, その原理を学ぶことに主眼が置かれており, 同一操作で多

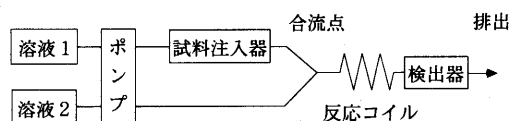


図1 フローインジェクション分析法の原理図

数の試料を分析する必要性はほとんどなかったため、自動分析などは扱ってこなかった。ところが、中学校における選択理科や高等学校理科における課題研究等において自然環境を扱う場合、各種の水質分析を行う必要がしばしば生じてくる。そのような場合、信頼性の高いデータを得るためには、試料の数は必然的に多くなる。これらの分析操作を限られた時間内に行うために、FIAは最適の方法と考えられる。学生実験用のシステムがいくつか報告されているが、その多くは大学における化学専攻生用のものである⁽²⁾。そこで、できる限り身近にある器具を利用して簡単なFIAシステムを試作し、アンモニア法による銅(II)の吸光度法を例として試作システムの性能について種々検討することにした。

2 実験

2・1 装置

使用した装置の全体図を図2に示す。一般にポンプは高価であるので、試薬溶液と試料のキャリアー溶液は重力を利用して流下させる方式を採用した。2個の溶液溜めは、ポリエチレン製の500

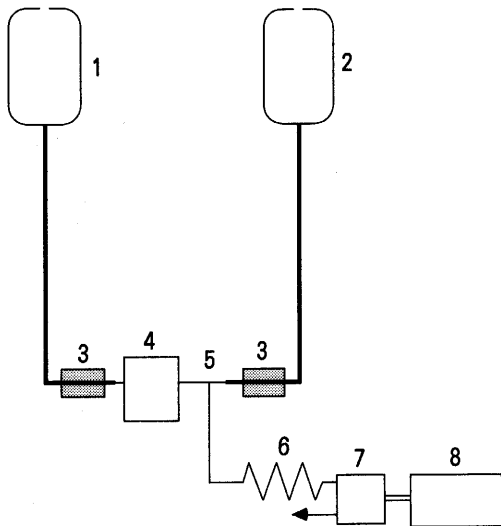


図2 装置の全体図

1: 溶液溜め(蒸留水), 2: 溶液溜め(2Mアンモニア水), 3: 流量調節器(万力), 4: 試料注入器(0.5 ml), 5: 合流点, 6: 混合コイル(2 m, 23回巻), 7: 検出器, 8: ペン記録計

ml洗瓶を逆立ちさせて使用した。その洗瓶の底面に溶液を入れるための穴を明け、噴射口には流路となる内径3 mmのシリコンチューブを接続した。各液の流量は、チューブを万力で押し潰してその部分の流路断面積を加減することにより調節した。流量調節部の下流側はすべて内径1 mmのテフロンチューブを使用した。シリコンチューブとテフロンチューブの接続は、加熱によりテフロン側の口径をやや大きくしてシリコンチューブの中に差し込むというもっとも簡単な方法をとった。流体の圧力があまり高くないため、これでも十分であった。試料注入部および合流部には、それぞれ協和精密製の試料注入器M2型および三方分岐ジョイントK3P-U型を使用した。混合コイルは、長さ2 m内径1 mmのテフロンチューブを23回巻きしたものを使用した。フローセル型光検出器は自作のものを用い、島津製ペン記録計R-11型を使用して出力電圧-時間曲線を記録したのち、光吸収が最大を示すときの吸光度を求めた。

検出器: フローセルは、図3にその構造を示すように、黒色のアクリル樹脂板(三菱化成製アクリライト、厚さ3 mm)4枚をジクロロエタンで接着したブロックを母体として製作した。Z字型流路は、図のようにドリルで直径2 mmの穴を3本あけて作製した。その中の上流部と下流部の穴には、エポキシ系接着剤を塗った外径2 mm内径1 mmのテフロンチューブを差し込んで固定し、

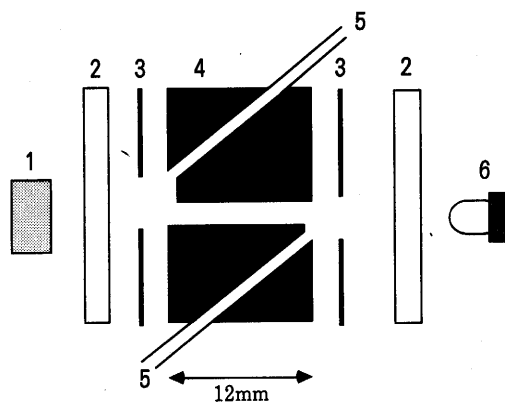


図3 フローセル

1: フォトダイオード, 2: 無色透明アクリル樹脂板, 3: テフロンシールテープ, 4: 黒色アクリル樹脂板, 5: テフロンチューブ, 6: 発光ダイオード

セルの入口と出口にした。その際、テフロンチューブが抜け落ちないように、チューブの外側にはナイフで溝を作った。中流部は、そのまま特別の加工はしないで光路とした。光源側およびセンサー側の窓材として厚さ 2 mm の無色透明の亚克力樹脂板を使用し、液漏れを防ぐために窓材の内側に光路用の穴をあけた幅 11mm のテフロンシールテープを使用した。セルの光路長は 12mm である。図 3 に示す全部品を水平方向にずらした形にして、ねじとナットで締め付けて固定し、検出器回路基板とともにアルミニウム製の箱に入れて使用した。この箱には、2 本のテフロンチューブ用の穴をあけ、検出器回路用の電源コネクタと出力コネクタを取り付けた。

検出器の回路を図 4 に示す。光源として、電流 20mA で 3 カンデラ、極大波長 660nm の発光特性を持つシャープ製発光ダイオード GL5UR3K 型を用いた。光センサーとしてシャープ製三色カラーセンサー PD170V1 型を使用した。これは、3 個のフォトダイオードのそれぞれに光透過特性の異なる 3 種のプラスチック製フィルターを組み合わせた素子であり、本研究では光透過率の極大波長が 600nm のフィルター部分を使用した。フォトダイオードの光電流は非常に小さいので、オペアンプ LF356 型を使用して増幅した。図に示すように、カレントフォロワ回路に 100MΩ という高フィードバック抵抗を用いて増幅率の高い電流-電圧変換回路とした。フォトダイオードには、ツェナーダイオード RD5A を利用して発生させた 5V の逆バイアスを印加した。カレントフォロワ出力

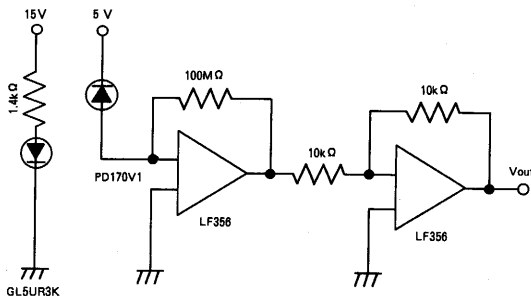


図 4 検出器回路図

の極性を反転させるため、次段に増幅度 1 の反転増幅器を介してペン記録計に接続した。ペン記録計の入力部には、固定抵抗による電圧分圧回路を取り付けて感度の調節を行った。検出器の電源には、ボルテージレギュレータを利用した ±15V の安定化電源を使用した。

2・2 試薬

市販特級試薬を用い、岩城硝子製 STILL-N2 型蒸留器でイオン交換水を 1 回蒸留した水に溶解して使用した。

3 結果および考察

3・1 静止溶液での検討

製作したフローセルでの試料濃度と吸光度の間の比例性を確認するため、銅 (II)-アンモニア溶液を用いて実験を行った。検出器の光源の極大波長が 660nm、光センサーのフィルター透過率の極大波長が 600nm であることから、アンモニア発色法による銅 (II) の定量は、本実験にもっとも適している方法の一つと考えられる。銅 (II)-アンモニア溶液は、その吸収スペクトルを図 5 に示すように、吸収極大が 620nm 付近にある。この極大は、アンモニア濃度が増すにつれて長波長側にシフトすることが知られている。実験では、2 mM ステップで 0 から 10mM の銅 (II) と 1M

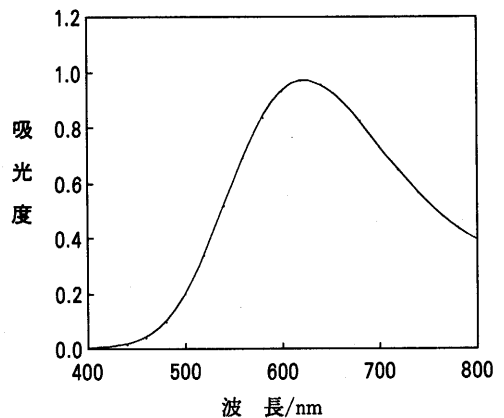


図 5 銅 (II)-アンモニアの吸収スペクトル
銅 (II) 濃度 : 16mM, アンモニア濃度 : 3M,
光路長 : 10mm

アンモニアを含む6種類の溶液を調製し、それぞれの溶液をフローセルに満たしたときの検出器出力を電圧計で読み取った。銅(II)を含まないブランク溶液での出力電圧を V_0 、銅(II)を含む試料溶液での出力電圧を V とすると、吸光度は $-\log(V/V_0)$ で表わされる。銅(II)濃度を横軸に、吸光度を縦軸にとり、測定値をプロットしたところ、図6に示す良好な比例関係が得られた。このため、この検出器は本研究の検出器として十分利用できることが分かった。

3・2 フロー系での検量線

図2に示すように溶液溜め1に蒸留水、溶液溜め2に2Mアンモニア水溶液を満し、それぞれの流量が0.7ml/minになるように両方の万力を調節した。試料として10mM銅(II)をプラスチック製注射器を用いて試料サンプラーに注入した。サンプラーの試料容積は0.50mlとしたため、レバーの切り替えによりフロー系には0.50mlが注入される。この操作によりペン記録計に現われた電圧-時間曲線の例を図7に示す。図7の5個のピークの吸光度は、ベースライン電圧およびピーク電圧をそれぞれ V_0 、 V として前述の式で求めたところ、0.207、0.208、0.208、0.208、0.206となった。5回の繰り返し測定における相対標準偏差は0.43%となり、かなりよい再現性を示すことが分かった。銅(II)濃度を変えて同様な操作を繰り返し、吸光度-銅(II)濃度の関係すなわち

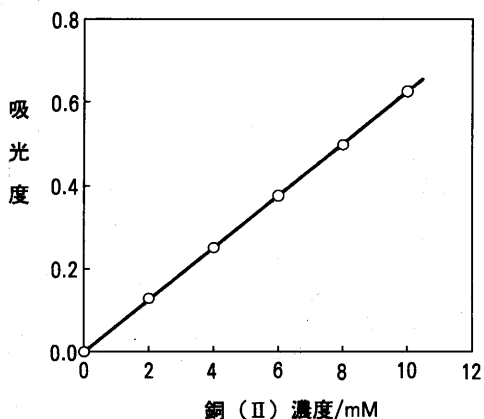


図6 静止溶液での銅(II)の検量線
アンモニア濃度: 1M, 光路長: 12mm

検量線を作成したところ、図8に示す直線関係が得られた。同一の実験条件で濃度未知の硫酸銅(II)水溶液を注入するとき、得られるピークの吸光度と図7の検量線から銅(II)濃度を求めることができる。なお、図8の検量線の勾配が図6のものより低くなっているのは、銅(II)溶液がアンモニア水溶液により1/2に希釈されるうえに、試料ゾーンが流れの中を移動する間に上流側と下流側に分散するためである。

3・3 本装置の特徴と課題

FIAはもともと高価な特別の機器を使わず、化学分析を業務とする研究室であればどこにでもあ

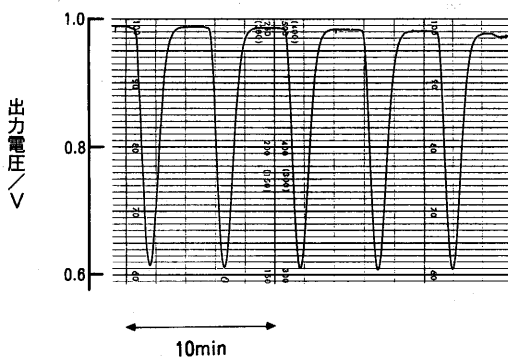


図7 FIAでの検出器出力曲線

試料中銅(II)濃度: 10mM, アンモニア濃度: 2M,
試料注入量: 0.5ml, 流量: 1.4ml/min,
光路長: 12mm

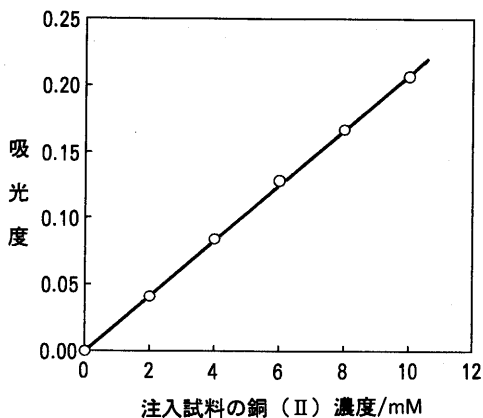


図8 FIAでの銅(II)の検量線

アンモニア濃度: 2M, 試料注入量: 0.5ml,
流量: 1.4ml/min, 光路長: 12mm

るような機器を組み合わせるにより、応用可能となるところに大きな特徴がある。本研究では、学校教育での利用を考慮してさらに安価にできる機器分析を目指して検討したところ、一応の成果が得られたが、以下に述べるような今後の課題とすべきものもいくつか見つかった。

液体の送液にはふつうポンプが利用されるが、分析化学で利用される微量の定流量ポンプはかなり高価であるため、FIAでは一台で複数の流路が使用できて比較的安価なペリスタポンプがしばしば利用されている。本研究では、ポンプを使わないで重力に基づく流下方式を採用したところ、ポンプでは避けられない脈流もなく非常にスムーズな曲線を記録することができた。また、合流後の流量が、合流前の一方の流路を止めたときのそれぞれの流量の和にほぼ等しくなったため、流量調節は非常に容易であった。これは、各流路を万力で絞りを、本来の流量の1/10程度にして律速段階としたため、他の部分の流れ抵抗が無視できたことに起因すると考えられる。今後、さらに複雑な系に応用して合流点や混合コイルが増加したときにも有用な手段と考えられる。シリコーンチューブは弾力性に富むため、万力による潰し方を加減することにより容易に流量調整を行うことができた。さらに簡単な別法として、適当なガラス製毛细管を作って各流路に一個ずつ挿入し、溶液溜めの高さを加減して流量を調節する方法も有用であろう。

合流した二種類の溶液を均一に混合させるために、常法の混合コイルを利用したところ、再現性が良いことから十分な混合が行われたと考えられる。コイルは長いほど、混合の点では確実になるものの、注入試料の分散によりピーク幅が広がり、ピーク高さは減少する。さらに、コイル内の滞留時間はコイル長に比例するため、1サンプル当たりの分析所要時間が増加する。図の例では1サンプル当たり5min程度かかり、あまり迅速な分析法とはいえないため、コイルの長さや径についてはさらに検討する必要がある。

試料注入部については、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーで使用していた注射器型のマイクロシリンジの利用も考えたが、注射針

の金属と銅(II)が反応することを防ぐために、市販のテフロン製注入器を利用した。しかし、比較的高価であるため、手軽に製作できる注入器の開発が、今後の最大の課題である。混合コイルを短くするなどして、1サンプル当たりの所要時間を短縮できれば、1サンプルずつ流れを止めてもさほど支障も生じないであろうし、液体クロマトグラフィーの場合のような高い圧力がかかることもないので、簡易型試料注入器の開発もそれほど困難ではなからう。

試作した検出器では、RGBという3種類のフィルターをもつフォトダイオードを使用したため、スイッチで切り替えることにより他の波長領域での測定も可能であるが、光源の発光ダイオードの発光特性は変えられないので、測定感度は低下するであろう。これを避けるためには、1個で発光特性を切り替えられる発光ダイオードの利用が便利である。または、多少のデッドボリュームの増加を我慢すれば、一本の流路に複数個の検出器を直列に接続したような検出器の製作は容易である⁽³⁾。

検出器の増幅回路における第2のオペアンプは単に極性を反転するために使用しているだけであるので、省略することもできる。その場合には、ペン記録計の入力端子の接続を逆にするだけでよい。または、このオペアンプのフィードバック抵抗を切り替えることにより測定感度を変えることもできる。前段のカレントフォロワーに抵抗値の種類が少ない高抵抗を使用しているため、有効な手段であろう。また、ノイズが無視できないときのアクティブフィルターとして利用することもできる。

検出器の出力を連続して記録するためにペン記録計を使用した。ペン記録計を持っている理科準備室は限られていることを考えると、現在ではAD変換器とコンピュータの組み合わせの方がより実用的であろう。それも無理な場合には、ピークがさほど鋭くないかぎり普通の電圧計を使用することもできる。まず、試料を注入する前のベースラインに相当する電圧を読んでおき、試料を注入した後の電圧変化における極小値を読み取ればよい。このように電圧変化の極小値や極大値を読

み取るにはデジタル型よりも指針型のメーターの方が適している。

その他、実試料に応用する場合には、共存物質の影響と対策について検討しなければならない。試料中の共存物質の種類に応じて妨害物質のマスキング剤を加えたり、試料を注入するまえに前処理を行ったりする必要がある。また場合によっては、溶液溜め、合流点、混合コイルを増やすことも必要であろう。

文 献

- (1) 石橋信彦, 与座範政共訳, “フローインジェクション分析法”, (1983), 化学同人; J. Růžička E. H. Hansen, “*Flow Injection Analysis*”, John Wiley & Sons, Inc., (1981).
- (2) L. C. Davis, *J. Chem. Educ.*, 70, 511 (1993).
- (3) M. K. Carroll, J. F. Tyson, *J. Chem. Educ.*, 70, A210 (1993).