

## 9309 FIAによる塩及び海水の自動化学分析システム

助成研究者:山根 兵(山梨大学 教育学部)

1. 塩や海水に関する学術的研究及びそれらを原材料とする化学工業における化学分析の役割は極めて大きい。本研究はフローインジェクション分析(FIA)を応用した新たな概念に基づいて塩や海水の化学分析の自動化あるいは半自動化をはかり、迅速・簡便で、しかも精度や正確さのすぐれた分析法の確立をめざすものである。今回は塩や海水の分析項目として必ず取り挙げられているMgとCaについて、その同時定量法の研究結果を報告する。

2. Mg及びCaに対する感度及び選択性にすぐれ、しかも自動化に対応できるシステムとして、陽イオン交換カラムによる濃縮・分離と3,3'-Bis[N,N-di(carboxymethyl)aminomethyl]-o-cresolphthaleine(PCと略)を用いる吸光度検出をオンライン直結したFIAシステムを開発した。そのシステムの概略をFig. 1

に示す。試料溶液はループ付六方バルブでキャリアに注入され、検出シグナルは自動記録され、そのピーク高さからMg及びCa濃度が算出される。

3. 酒石酸塩(NaT)共存下での陽イオン交換樹脂カラムに対するMgとCaの吸着・溶離挙動について検討した結果、pHが5以下になると分布係数 $K_d$ の差が大きくなり、相互分離の可能性が認められた。NaTの錯形成能

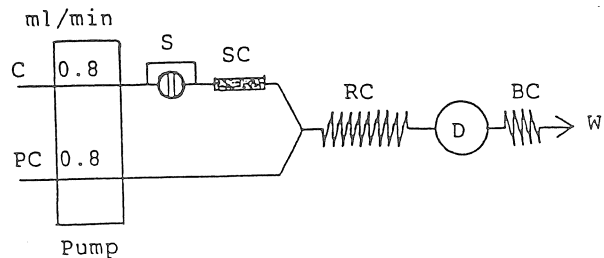


Fig.1 Schematic diagram for determination of calcium and magnesium

C:Carrier(eluent)(0.075M sodium tartrate-0.045M HCl-0.80M NaCl), S:sample injection  
SC:separation column(70 mm long, 4 mm i.d. cation-exchange resin, Hitachi 2611),  
PC: $6.25 \times 10^{-3}\%$  PC, RC:reaction coil(3-m),  
D:detection at 570 nm, BC=back-pressure coil (3-m, 0.5 mm i.d.), W:waste

のため、その濃度を上げると $K_d$ 値が低下し、0.2MではMgとCaの分離は困難となった。NaT濃度とpHを適切に設定することで両イオンの良好な分離が達成できた。溶離液中にNaTが共存しないとMg、Caの $K_d$ はかなり大きいので、試料注入量を増すことで、濃縮が可能である。濃縮と分離を一種類の溶離液で行えるような溶離条件を種々検討の結果、ここではFig. 1のような組成を用いた。分離カラムからの溶出液はPC溶液と細管内で連続的な流れの中で混合され、検出器へと輸送される。従ってこのFIAシステムは、濃縮、分離、錯形成反応、吸光度検出などが閉鎖系で自動的に行われるので、人手による操作を必要としない。

試料3gを用いた場合の検出下限(固体中)は0.13ppm Mg及び0.33ppm Caであった。約12分で、MgとCaを同時定量することができる。通常の塩中に含まれる各種金属イオンやクエン酸、リンゴ酸、アミノ酸などの影響はほとんど見られず、精度は良好である。本FIAシステムによる実試料の分析結果は従来からのEDTA滴定法による結果と良く一致した。本FIAシステムはEDTA滴定法、吸光光度法、原子吸光法などよりも感度が高く選択性もすぐれているので、より高純度の塩や添加物を含むような塩の分析にも適用できる。



## 9309 FIAによる塩及び海水の自動化学分析システム

助成研究者：山根 兵(山梨大学 教育学部)

## 1. 研究目的

塩や海水に関する学術的研究及びそれらを原材料とする化学工業における化学分析の役割は極めて大きい。最近では、分析をより高感度に、より迅速にといった要求や精度及び正確さなどの分析情報の質に対する要求も厳しくなっており、従来の化学分析手法のままでは対応しきれなくなりつつある。こうした情勢の中で、本研究はフローインジェクション分析(FIA)を応用した新たな概念に基づいた塩や海水の化学分析の自動化あるいは半自動化をはかり、迅速・簡便で、しかも精度や正確さのすぐれた分析システムの開発をめざすものである。今回は塩や海水の分析項目に必ずとり上げられているMgとCaについて、その同時定量法の研究結果を報告する。

食塩中のMgとCaの定量法として、すでにキレート滴定法<sup>1) 2)</sup>、原子吸光法<sup>1)~4)</sup>、吸光度法<sup>5)~7)</sup>、イオンクロマトグラフ法<sup>8) 9)</sup>などが用いられている。しかし、いずれも熟練を要したり、面倒な分離操作を伴ったり、あるいは感度不足などでppm又はそれ以下のレベルのMgとCaを同時定量するには多くの問題が残されている。そこで本研究では濃縮・分離、反応、検出などのすべての操作を細管内の連続した溶液の流れで行わせることによる化学分析の自動化をめざした FIAシステムについて検討した。その結果、陽イオン交換分離と 3,3'-Bis[N,N-di(carboxymethyl)aminomethyl]-o-cresolphthalein (PCと略) による吸光度検出をオンライン直結した迅速・簡便かつ高感度な各種塩中のMgとCaの同時定量 FIAシステムを確立した。

## 2. 実験

## 2・1 試薬及び装置

マグネシウム及びカルシウム標準溶液：和光純薬工業(株)製原子吸光分析用標準溶液(1000ppm)を適宜希釈して用いた。

PC溶液(0.50%)：同仁化学研究所製PC 0.50gを少量のアンモニア水とともに水に溶解して100mlとした。

Tris溶液(2.0M)：和光純薬工業(株)製2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3,-プロパンジオール(Tris)の121gを水に溶解して500mlとした。

キャリアー(C) : 1.0M酒石酸ナトリウム溶液 15ml、1.0M塩酸 9.0ml、及び1.5M塩化ナトリウム溶液 106mlを混合し、水を加えて200mlとした。

発色溶液(PC) : 0.50%PC溶液 5.0mlと2.0MTris溶液 80mlを混合し、水で希釈して200mlとした。

塩化ナトリウム溶液(1.5M) : 特級塩化ナトリウムを水に溶かして1.5M 溶液を調製し、chelex-100キレート樹脂を充填したカラム(20mm×70mm)を使用した。

その他の試薬はすべてJIS特級品を用いた。

陽イオン交換カラム(SC) : 日立カスタムイオン交換樹脂2611(粒径15.5 $\mu$ m, 交換容量1.9meq/ml)を内径4mm、長さ70mmのホウケイ酸ガラスカラムに充填した。

本研究で設定したFIAシステムの概略をFig. 1に示す。

送液ポンプ : 東京理化学器械(株)製 LP-1000型及びサヌキ工業(株)製 DM2M-1024型。

検出器 : 日本分光(株)製 UVIDE1000-V型。

記録計 : 理化電機(株)製 R-21型。

試料溶液はサヌキ工業(株)製ループ付き六方バルブによりキャリアーに注入した。チ

ューピング(外径2mm、内径0.5mm)や接続ジョイントなどはすべてテフロン又はダイフロン製のものをを用いた。

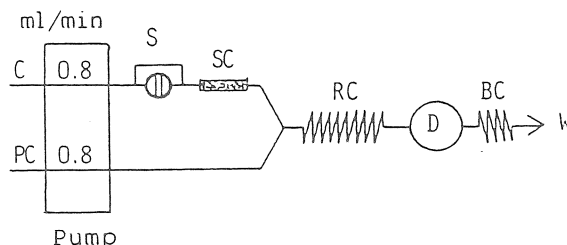


Fig.1 Schematic diagram for simultaneous determination of magnesium and calcium by FIA. C:Carrier(eluent)(0.075 M sodium tartrate-0.045 M HCl-0.80 M NaCl), S:sample injection, SC:separation<sub>2</sub>column(70 mm long, 4 mm i.d.), PC:1.25 × 10<sup>-2</sup> % PC with 0.80 M Tris, RC:reaction coil(300 cm long, 0.5 mm i.d.), BC:back-pressure coil(300 cm long, 0.5 mm i.d.), D:detection at 570 nm, W:waste

## 2・2 分析操作

試料 1gを水に加温して溶解し(炭酸カルシウムや塩基性炭酸マグネシウムを添加してある塩の場合には1M塩酸 5mlと少量の水で溶解する)、更に水を加えて100mlとする。これを標準的な試料溶液調製法とするが、この場合の試料中含含有率の範囲は、1mの試料ループを用いたとしてマグネシウム0.001~0.05%、カルシウム0.002~0.06%程度である。これよりも含有率の低いもの、あるいは逆に高いものでは試料の採取量や試料ループの長さを増減して感度調節を行う。例えば、試料3gを溶解し、更に3mの試料ループを用いれば、マグネシウム及びカルシウムともに0.0001%程度まで同時定量できる。こうして得られた試料溶液をFig. 1のFIAシステムに注入し、記録されたピーク高さからマグネシウム及びカルシウムの濃度を算出する。検量線は試料溶液と同じ濃度の塩化ナトリウムを共存させて作成する。

### 3. 結果及び考察

#### 3・1 連続流れ系におけるマグネシウムとカルシウムの陽イオン交換分離

クエン酸や酒石酸などの有機酸を補助錯化剤として用いた陽イオン交換クロマトグラフィーによる各種金属イオンの分離が報告されている<sup>11) 13)</sup>。予備実験によれば、クエン酸塩は高濃度になればPCによるマグネシウム及びカルシウムの検出感度を低下させるが、酒石酸塩は $10^{-1}$ M レベルでは余り検出感度に影響しないことがわかったので、酒石酸塩を用いる陽イオン交換分離の FIAへのオンライン接続について検討した。陽イオン交換樹脂の選択にあたっては、かなりの高濃度の塩化ナトリウムを含む試料溶液でも注入できるようにするため、イオンクロマトグラフィーで用いられるものよりも100倍程度大きな交換容量(1.9meq/ml)を持つ樹脂を用いた。

##### (i) マグネシウムとカルシウムの相互分離

本研究のような連続流れ系で分離と濃縮の機能を持たせ、しかも連続的な試料注入を可能とするためには、マグネシウムとカルシウムの分布係数 $K_d$ に適切な差があり、かつ、ある程度大きな $K_d$ 値が必要とされる。また、その一方では、一種類の溶離液(キャリアー)でこれらを溶離できるように $K_d$ 値は大きすぎないことなどが分離条件を設定する際のポイントとなる。

Fig. 1に示したFIAシステムを用いてマグネシウムとカルシウムの溶離挙動について詳細に検討した。まず、これらイオンの溶離に及ぼす酒石酸ナトリウム濃度の影響をFig. 2に示す。濃度の増加とともに両イオンの保持時間は短くなるが、カルシウムの方が濃度の影響を大きく受けており、0.2Mでは両者の溶出ピークは重なってしまうので分離が困難となった。

pHの異なる0.1M酒石酸ナトリウム溶液を用いてマグネシウムとカルシウムの溶離実験を行った結果をFig. 3に示す。両イオンともpH5 以上では保持時間はpHに依存しないが、それより低い領域ではpHの低下とともに保持時間が長くなり、樹脂に吸着しやすくなることがわかる。これはpHの低下とともにマグネシウムとカルシウムの錯形成に關与する酒石酸イオン濃度が低下するものと考えられる。これらの結果から酒石酸ナトリウム濃度やpHを適当に調節することによってマグネシ

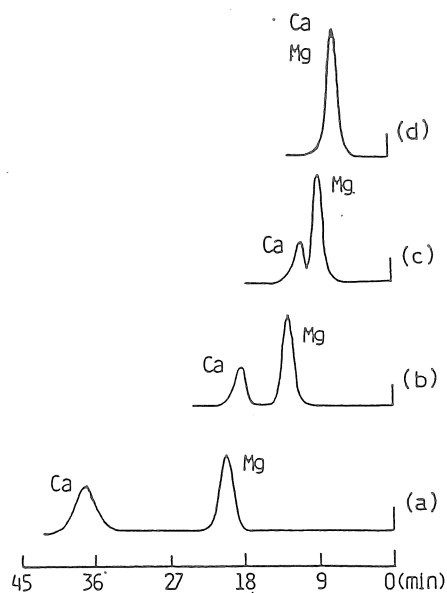


Fig.2 Effect of tartrate concentration on the elution of each 1.5 ppm of Mg and Ca in a mixture:(a)0.05 (b)0.10 (c)0.15 (d)0.20 M tartrate(pH 4.0).

ウムとカルシウムの相互分離が可能なことがわかった。但し、0.10M 酒石酸ナトリウム(pH4.0~3.7)溶液を溶離液とすることでピークが重ならない程度に分離はできるが、保持時間が非常に長く、幅の広いピークとなるので感度の点でも問題が残る。そのため、溶離液に塩化ナトリウムを加えて各ピークの溶出を早める工夫をした。0.80M NaClの添加によって分離を損なうことなく両成分の溶出を早くし、かつ、シャープなピークを得ることができた。

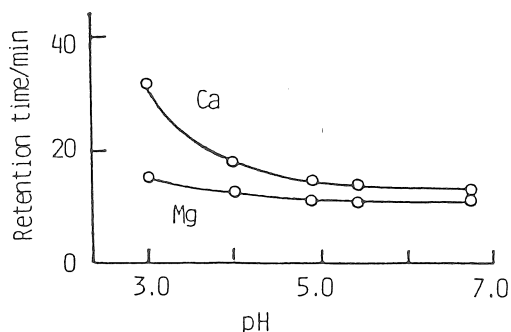


Fig.3 Effect of pH on the elution of each 1.5 ppm of Mg and Ca in a mixture.

これらの結果をもとに、0.075M 酒石酸ナトリウム-0.045M 塩酸-0.80M 塩化ナトリウム混合溶液(pH3.7)を溶離液として用いることにした。

(ii) 高濃度の塩化ナトリウムと共存するマグネシウムとカルシウムの濃縮分離

陽イオン交換樹脂へのマグネシウム及びカルシウムの分布係数はかなり大きい<sup>13) 14)</sup> 高濃度の塩化ナトリウムが共存した場合には、相当低下するものと考えられる。そのため、マグネシウムとカルシウムに塩化ナトリウムを共存させた混合溶液を調製し、濃縮という観点からピーク高さとの分離に及ぼす影響について調べた。

Fig. 4に示すように塩化ナトリウムの0.17M 共存では試料ループが 5mまで、また、0.51Mの共存では試料ループが3mまではループ長さ(試料注入量)に比例してピーク高さも増し、しかも塩化ナトリウムが共存しない場合と同じピーク高さとなった。塩化ナトリウムの共存量を更に増して0.85Mとすると、同様にピークも高くなるが、比例関係よりやや小さくなる傾向が認められた。1.5Mの塩化ナトリウムではピークの高さが不十分であった。上記の分離条件では0.85Mまでの共存が限界と考えられる。0.85Mまでは試料採取量を増すか、あるいは長い試料ループを用いることによって感度の増加が期待できる。例えば、5mループでは1mループの5倍近い感度を得られる。もちろん、試料ループ

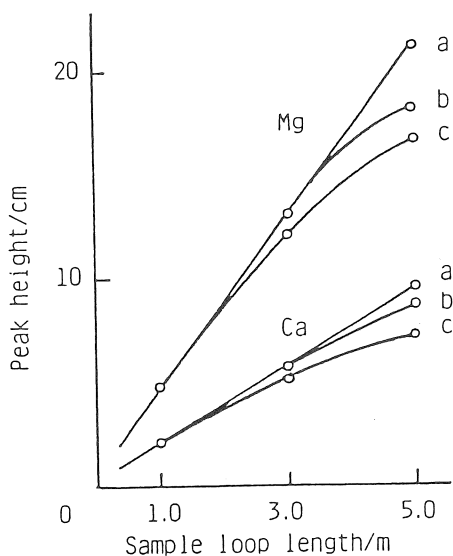


Fig.4 Dependence of peak height for 1.0 ppm of Mg and Ca on the sample loop length in the presence of different concentration of NaCl: (a)0-0.17 M (b)0.51 M (c)0.85 M.

ブを短くすることにより感度を下げることも可能である。希釈といった面倒な操作をしなくても、かなりの範囲で感度の調節が可能なのは本 FIAシステムの特長の一つでもある。

### 3・2 連続流れ系によるマグネシウムとカルシウムの吸光度検出

PCを発色試薬とするマグネシウムやカルシウムの定量にはpH10付近での発色が適当とされている<sup>15)</sup>。本研究では溶離液のpHが3.7であるため、当初には高濃度のアンモニア緩衝溶液(1.0M  $\text{NH}_4\text{OH}$ -0.5M  $\text{NH}_4\text{Cl}$ )を加えて発色時のpHを調節していた。ところが、発色が不安定で時間とともにピークが徐々に低くなることが認められた。そこで、より発色が安定で、しかも取り扱いが容易な試薬を検討したところ、Trisが適当であった。PC溶液に加えるTris濃度が0.8M以上でマグネシウム及びカルシウムのピークはほぼ一定の高さとなった。Trisの溶解度が余り大きくないことも考慮して、0.80M加えることとした(このときの発色時のpHは9.9付近である)。このTrisの使用によって長時間にわたる安定した測定が可能となった。

PC濃度とピーク高さの関係について調べた結果、0.0125~0.0185%の範囲でマグネシウム及びカルシウム(各2.5ppm)ともほぼ一定のピーク高さであった。ここでは0.0125%溶液を用いた。

つぎにフローパラメーターについて検討した。送液速度が0.5~1.0ml/minの範囲ではマグネシウム及びカルシウムともピーク高さはほぼ一定であった。反応コイル長さを1~3mの範囲で変えても両者のピーク高さはほぼ一定であった。本研究の場合、試料プラグの拡がりの主な要因は分離カラムにあり、反応コイル中での分散の寄与はわずかなものと考えられる。

以上の検討結果をもとにFig. 1に示すようなマニホールド及び分離・検出条件を設定した。0.2ppmのマグネシウムとカルシウムに0.51Mの塩化ナトリウムを共存させた合成試料溶液の分析シグナルをFig. 5に示す。良好な分離と高感度検出が達成されている。0.51Mまでの塩化ナトリウムを共存させた場合の検量線は1m、3m及び5mのいずれの試料ループでも良好な直線関係が得られた。一例として0.34M塩化ナトリウムの共存で3mループを

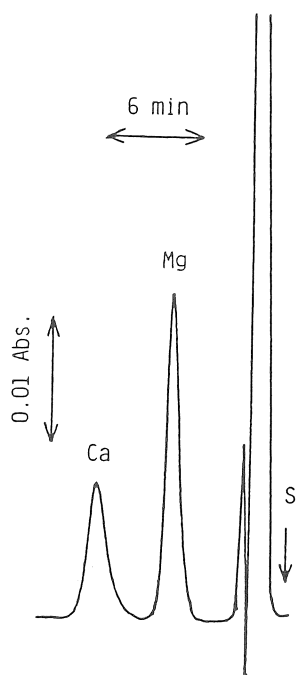


Fig.5 Typical signal trace for synthetic sample solution containing Mg(0.2 ppm), Ca(0.2 ppm) and NaCl(0.51 M) in a mixture. S:sample injection, Sample loop:5-m

用いた場合の検量線をFig. 6に示す。

精度は良好で、Fig. 5の例では0.2ppmのマグネシウム及びカルシウムの相対標準偏差はそれぞれ0.8%及び1.2%であった。また、ベースラインノイズの3倍のピーク高さに相当する濃度として計算された検出下限は0.004ppm Mg及び0.01ppm Caであった。これは試料 3gを採取して100mlに溶解したものを試料溶液として注入したとすると、試料中に換算した検出下限は0.13ppm Mg 及び0.33 ppm Caに相当する。

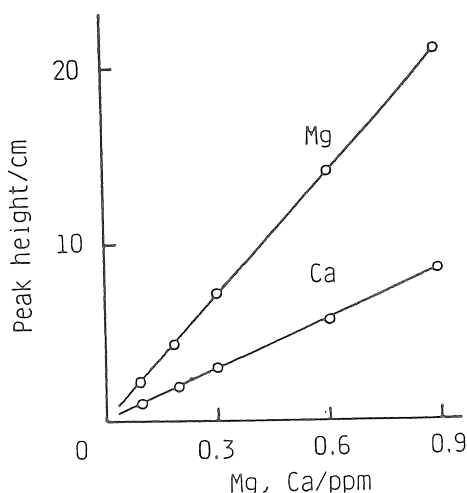


Fig.6 Calibration curves for Mg and Ca in the presence of 0.51 M NaCl by using 300 cm sample loop.

### 3・3 共存物質の影響

0.5ppmのマグネシウム及びカルシウムを

含む溶液に種々のイオン又は化合物を共存させ、FIAシグナルを測定した。そのうちの陽及び陰イオンに関する結果をまとめてTable 1に示す。鉄(Ⅲ)、銅(Ⅱ)、アルミニウム(Ⅲ)、亜鉛(Ⅱ)などは100倍量の共存ではまったく影響しなかった。クエン酸等の有機酸の多くはかなりの量まで許容されることがわかった。その他、グルコース、サッカロース、ガラクトース、マルトース、ラクトース、アラニン、グリシン、アスパラギン酸、L-システイン、L-グルタミン酸、アスコルビン酸、サッカリン、チオ尿素、尿素の各 $1 \times 10^{-2} M$ の共存もほとんど影響は認められなかった。本法はリンゴ酸、クエン酸あるいはグルタミン酸塩などが添加された加工塩の分析にも応用可能である。

Table 1 Effect of diverse ions on the determination of each 0.5ppm of Mg and Ca

Ion	Added (ppm)	Relative error(%)		Ion	Added (ppm)	Relative error(%)	
		Mg	Ca			Mg	Ca
Fe(Ⅲ)	10	0	0	I <sup>-</sup>	500	0	0
Zn(Ⅱ)	10	0	-1.5	Oxalate	500	-1.5	-2.0
Cu(Ⅱ)	10	-1.5	0	Citrate	3000	0	-1.5
Al(Ⅲ)	10	1.5	1.2	Tartrate	3000	0	0
Mn(Ⅱ)	10	2.2	1.3	Malate	2000	-1.5	0
F <sup>-</sup>	500	-1.5	-1.5	Phosphate	500	1.4	-1.5
Br <sup>-</sup>	500	0	0				



Table 2 Results for analysis of various salts by proposed FIA system

Salt sample	Preparation of sample solution	Ca Determined(%)		Mg Determined(%)	
		FIA	Titrn.*	FIA	Titrn.*
Cooking salt	0.500g/500ml	0.0844 (1.7)	0.0860 (1.5)	0.0553 (1.6)	0.0566 (0.6)
Solar salt	0.500g/100ml	0.0414 (1.3)	0.0428 (1.0)	0.0194 (0.63)	0.0195 (1.3)
Table salt (enriched)	0.200g/100ml	0.400 (1.0)	0.405 (0.6)	0.0034 (3.5)	---
Table salt	1.00g/100ml**	0.00073* (4.0)	---	0.0795 (1.5)	0.0804 (0.8)
Refined salt	3.00g/100ml	0.00034* (1.4)	----	0.00001* (1.4)	----

\* EDTA titration method was employed by using NN and EBT as indicator.

\*\* Further two times dilution was made for Mg determination.

\$ A 5m sample loop was used instead of usual 1m sample loop.

Parenthesis indicates the relative standard deviation(%).

### 3・4 実試料の分析

入手容易な四種類の塩化ナトリウム試料を本FIAシステムにより分析した結果をTable 2に示す。また、比較のため、従来からのEDTA滴定法による分析も行った。

マグネシウムやカルシウムの含有率の比較的高い試料についてはEDTA法とほぼ一致した分析結果が得られ、本FIAの信頼性が確かめられた。繰り返し分析した場合の相対標準偏差は1%前後であり、良好な精度といえる。

添加塩(Enriched salt)中のカルシウムや食卓塩(Table salt)中のマグネシウム、及び精製塩中のマグネシウムとカルシウムのように数十ppm以下のレベルではEDTA滴定法は感度不足で適用できないが、本法では特別な濃縮や分離の操作を付け加えることなく分析でき、しかも二成分を同時定量できた。

本FIAシステムでは必要な分析操作としては試料を注入して12分後に記録されたピーク高さを測定するだけであるから、特に熟練は必要なく、操作の単純化及び分析時間の短縮にすぐれたシステムといえる。一回の注入操作だけでマグネシウムとカルシウムを簡単に同時定量できることも本FIAの大きな特長である。

#### 4. 今後の課題

各種塩中の微量MgとCaを迅速かつ簡便に同時定量できるFIAシステムを提案した。研究の段階では試料溶液の注入を手動で行っているが、これは市販のオートサンプラにより容易に自動化できる。また、パーソナルコンピューターなどの活用により、試料注入や流速の制御、データ処理から結果のプリントアウトまでを自動化することは今日の技術ではそれほど難しいことではない。分析の自動化のためにはどのような原理、反応、計測システムが適しているかという、いわゆるソフト面での研究がまず重要なことと考えられる。今後は対象をさらに他成分にまで拡張し、特長や問題点などを明確にしながら、FIAシステムによる塩や海水の自動化学分析システムの構築を図りたい。

#### 文 献

- 1) 日本海水学会, ソルトサイエンス研究財団共編, "塩の分析と物性測定" p.134(1992).
- 2) 広井 功, 海水誌, 36, 278(1983).  
新野 靖, 海水誌, 47, 173(1993).
- 3) 童愛軍, 赤間美文, 田中誠之, 海水誌, 42, 59(1988).
- 4) 広井 功, 篠原富男, 海水誌, 34, 20(1980).
- 5) 西村ひとみ, 有田正俊, 新野 靖, 海水誌, 46, 171(1992).
- 6) 加納隆弘, 杉田静雄, 海水誌, 35, 28(1981).
- 7) 加納隆弘, 杉田静雄, 海水誌, 35, 33(1981).
- 8) 佐藤健二, 赤間美文, 田中誠之, 中井敏夫, 分析化学, 36, 552(1987).
- 9) 赤間美文, 脇本真理, 海水誌, 46, 42(1992).
- 10) T. Yamane and E. Goto, Talanta, 38, 139(1991).
- 11) Y. Takata and K. Fujita, J. Chromatogr., 108, 255(1975).
- 12) A. Dadone, F. Baffi and R. Frache, Talanta, 23, 593(1976).
- 13) F. W. E. Strelow and T. N. van der Walt, Anal. Chem., 54, 457(1982).
- 14) F. W. E. Strelow, Anal. Chem., 32, 1185(1960).

Automated Chemical Analysis System for Salts and Seawater:  
Simultaneous Determination of Micro Amounts of Magnesium and  
Calcium in Salts with FIA System Utilizing On-Line Cation-  
Exchange Separation and Spectrophotometric Detection

Takeshi YAMANE\*, Takahiro MORIMOTO\*, Miyako YAMASAKA\*, and  
Eiichi GOTO\*\* (\*Department of Chemistry, Faculty of Educa-  
tion, Yamanashi University. \*\*Yamanashi Prefectural Koma  
High-school)

### Summary

A flow-injection system is presented for the simultaneous determination of micro amounts of magnesium and calcium in salts. The cation-exchange separation of magnesium and calcium from matrix, which also serves for concentration and mutual separation of those metals, is directly on-line coupled with spectrophotometric detection with 3,3'-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]-o-cresolphthalein(PC) as chromogenic agent in a continuous flow system. The sample solution is directly injected into the FIA system and thus no laborious complicated manual operations for pre-concentration and separation is needed. The limit of detection is 0.13 ppm for magnesium and 0.33 ppm for calcium in salt sample when a 5-m sample loop is used for injecting the sample solution of 3 g/100 ml. The results for analysis of salt samples by this FIA system corresponded well with those obtained by the titration method and showed good precision. The analysis time for simultaneous determination of magnesium and calcium is about 12 min. The most appealing feature of the proposed FIA system is that the analysis is achieved in a continuous and nearly closed system without complicated manual operations, which can afford simpler and rapid as well as accurate and precise determination of magnesium and calcium.