

発表番号 7

海水利用の高効率化および高度化推進のための自動化学分析システム

山根 兵 山梨大学教育人間科学部

1. 海水利用の高効率化や高度化の推進にあたっては化学分析が大きな役割を担っている。最近では、分析をより高感度、迅速、かつ簡便にといった要求や、精度や正確さなどの分析情報の質に対する要求も厳しくなるとともに、工程管理のためのオンラインモニタリングなどの要望も強くあり、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。本研究では海水の学術的研究や有効利用において鍵と成るような成分の内、リンと、最近、新たに食品添加物に認定された食用塩中のフェロシアン化物を代表例に取りあげ、新たな概念である FI システムに基づいた簡易迅速な自動化学分析法の開発について研究した。

2. 各種塩中の微量リンの定量のために本研究で構築した FI システムの概略を Fig.1 に示す。試料溶液はループ付きバルブで注入され、分析操作は自動化されている。

3. (A)リンの高感度定量の基本原理はモリブドバナドリリン酸の生成と Sephadex Gel への吸着分離、検出試薬としてのチアミンの酸化、

及び生成したチオクロームの蛍光測定である。そして、FI システム(Fig.1)という内径の小さなチューブ内での溶液の流れの中でこれら一連の操作が自動化されるのが本研究の大きな特長である。濃縮分離や検出に関する反応因子や細管中の溶液の移動中に起こる分散、混合に関わるフローパラメータについての詳細な検討を行った。試料を 3 mol/l NaCl 溶液とした場合、6.0 ppb リンの変動係数は 0.8 %、定量下限は 0.2 ppm (塩中)、1 回の分析所要時間は 12 分である。本 FI システムにより海洋深層水から造られた 4 銘柄を含む 27 種類の市販食塩を分析した結果についても報告する。

(B) 食塩中のフェロシアン化物イオンを陰イオン交換能のあるマイクロ粒子上に吸着させてマトリックスや共存イオンからの分離と濃縮を行い、その場で直接に Fe(III)Phen との発色を伴う酸化還元を行わせる吸光度検出 FI システムを構築した。本研究は完成まであと一步という段階であるが、測定時間約 10 分で食塩中 0.5 ppm 程度までのフェロシアン化物を迅速、簡便に、かつ再現性よく定量できることが確かめられている。

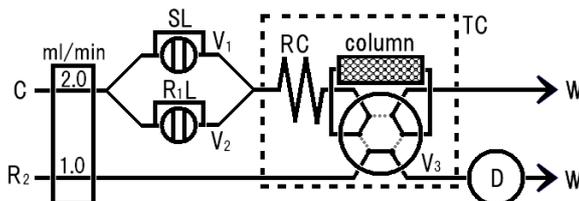


Fig.1 Schematic diagram of FI system for determining trace phosphate in sea-salt

C:Carrier(0.3 mol/l H_2SO_4), R_1 : molybdovanadic acid solution(5.0×10^{-3} mol/l $NH_4VO_3/4.0 \times 10^{-3}$ mol/l $(NH_4)_6Mo_7O_{24}/0.3$ mol/l H_2SO_4), R_2 : thiamine solution (1.0×10^{-4} mol/l, pH8.2), SL:6-way valve with sample loop(0.5mm i.d., 300 cm long), R_1L :6-way valve with reagent loop(0.5 mm i.d., 300 cm long), RC:reaction coil(1 mm i.d., 200 cm long), SC:separation column(Sephadex G-25, 20-80 μ m, 2mm i.d., 5cm long), TC:thermostated-bath(60 $^\circ$ C), D:spectro-fluorimetric detector, W:waste

14

助成番号 0414

海水利用の高効率化および高度化推進のための自動化学分析システム

山根 兵 (山梨大学教育人間科学部)

1. 研究目的

海水は有用資源の宝庫ともいわれ、様々な海水利用製品が我々の生活に役立てられている。海水に含まれている有用成分を効率よく利用し、またより付加価値の高い製品を開発、製造するためには原料はもちろん、製品の組成や不純物を適切に把握し、管理することが重要で、そのために化学分析が大きな役割を果たしており、これまでもさまざまな分析方法が利用されてきた。海水利用の高効率化や高度化の推進にあたっては、分析をより高感度、迅速、かつ簡便にといった要求や、精度や正確さなどの分析情報の質に対する要求も厳しくなるとともに、工程管理のためのオンラインモニタリングなどの要望も強くあり、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。

近年、細管中の溶液の流れの中で反応と検出を連続的、かつ自動的に行うというフローインジェクションシステム (FI システム)¹⁾ が化学分析の迅速化、簡便化、さらには精度や正確さの向上のため、また、化学分析の自動化の有力な手法として注目を浴びている。本研究では、海水 (特に海洋深層水) の有効利用において鍵と成るような成分の内、リンを代表例に取りあげ、海水利用の高効率化や高度化に貢献出来る新たな概念に基づいた流れ分析システムについて研究する。また、最近では塩の自由化に伴って様々な外国製品が輸入されるが、今まで日本では使われていない添加物などを含むものがあり、それらの適正な分析法の確立が急務である。そんな中で、大きな関心が持たれている、食塩中のフェロシアン化カリウムの簡便、迅速な自動化学分析法の開発研究を行った。

2. 食塩中のリンの定量

最近、海洋深層水の有効利用が注目されているが、深層水から採れた食用塩にはミネラルや栄養分が豊富に含まれているような、通常の食用塩よりも異なる様々な特色が期待され、宣伝もされている。何らかの特色ある塩であるかどうかを客観的に判断する第一歩は詳しく分析することである。また、一般の塩についても品質管理や品質保証、食品としての安全性の観点からも分析が重要な意味を持つ。新野らは市販の塩製品を分析し、主成分及び微量成分の含有率を明らかにしているが²⁾、塩製品の特徴

づけ、ひいては産地同定などの可能性まで秘めた貴重なデータといえよう。ただし、リンについては、現在、塩試験法³⁾などに記載されている分析法の定量下限が2 ppmであるために、新野らの報告の中でもほとんどの食塩の分析値が空白のままである。リンの高感度定量法としてリンモリブデンブルー法⁴⁾⁵⁾が古くから用いられ、前述の塩試験法³⁾にも採用されているが、操作が複雑で時間がかかるうえに上記のように感度が不十分である。

著者らはシングル ppb レベルのリンの高感度定量が可能となるような新規な分析法を開発するため、セファデックスゲルによるモリブドバナドリリン酸の選択的吸着分離とそれによるチアミンの酸化蛍光検出法をインライン直結したフローインジェクションシステム(FIシステム)による極微量リンの定量法の基礎的な研究を行っている⁶⁾。本報ではこれを更に発展させて食塩や海水の分析に応用するための基礎的な検討と改良を加えた結果、食塩中の極微量リンを迅速、簡便に定量することが出来たので報告する。

2.1 実験

2.1.1 試薬および溶液

試薬は特に断わらないかぎり、和光純薬(株)製 JIS 特級品を用いた。

リン標準溶液(5.0 ppm): リン酸イオン標準液(1,000 ppm)を水で希釈した。更に低濃度の標準溶液は必要に応じて水で適宜希釈した。

モリブデン酸アンモニウム溶液(2.0×10^{-2} mol/l): 試薬($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 6.18 g を水に溶解し、全容を 250 ml とした。

バナジン酸アンモニウム溶液(2.5×10^{-2} mol/l): 試薬(NH_4VO_3) 0.73 g を水に溶解し、全容を 250 ml とした。

バナドモリブデン酸溶液(4.0×10^{-3} mol/l モリブデン酸、 5.0×10^{-3} mol/l バナジン酸、0.3 mol/l 硫酸): 200 ml メスフラスコに、5.0 mol/l 硫酸、 2.5×10^{-2} mol/l バナジン酸アンモニウム、 2.0×10^{-2} mol/l モリブデン酸アンモニウムを順に量りとり、水で希釈して用いた。この溶液は、2 日間は安定に用いることができる。

チアミン溶液(1.0×10^{-2} mol/l): チアミン塩酸塩 0.337 g を水に溶解し、全容を 100 ml とした。

トリス緩衝液(1.0 mol/l トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン - 0.5 mol/l 塩酸): トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン 60.58 g を水に溶解したのち pH 8.2 になるように塩酸を加え、全容を 500 ml とした。

チアミン溶液(1.0×10^{-4} mol/l、pH 8.2): 1.0 mol/l トリスアミノメタン 50 ml に水を約 300 ml 加え、2.0 mol/l 塩酸で pH を 8.2 に調整し、その後 0.01 mol/l チアミン塩酸塩 5.0 ml を加え、水で希釈して全容を 500 ml とした。

2.1.2 装置およびフローシステム

本研究で構築した流れ分析システムの概略を Fig. 1 に示す。キャリアー (C) および試薬溶液 (R₂) の送液には日本精密科学製 NSP-800-U 型および NP-FX-3U 型ポンプを、吸光度検出には (株) 島津製作所製 RF-10A XL 型蛍光検出器を、また測定シグナルの記録には東亜電波 (株) EPR-221 A 型記録計を使用した。分離濃縮カラムはハウケイ酸ガラス製カラム (内径 2.0 mm、長さ 5.0 cm) にファルマシア・バイオテック社製 Sephadex G-25 (Medium) を充填したもので、反応コイルとともに東ソー (株) 製 CO-8000 型恒温槽中で定温に保たれた。流路を構成するチューブはテフロン製で、内径 1.0 mm とした RC を除いてはすべて内径 0.5 mm とした。

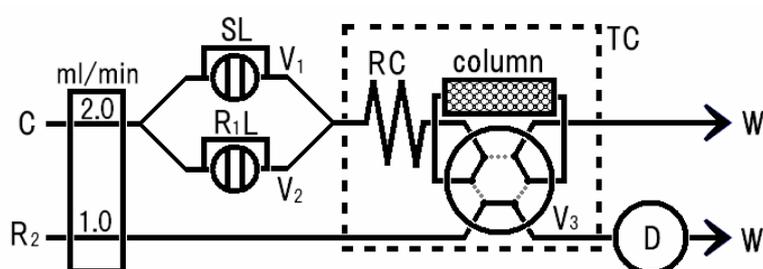


Fig.1 Schematic diagram of FI system for determining trace phosphate in sea-salt

C: Carrier (0.3 mol/l H₂SO₄), R₁: molybdovanadic acid solution (5.0×10⁻³ mol/l NH₄VO₃/4.0×10⁻³ mol/l (NH₄)₆Mo₇O₂₄/0.3 mol/l H₂SO₄), R₂: thiamine solution (1.0×10⁻⁴ mol/l, pH 8.2), SL: 6-way valve with sample loop (0.5 mm i.d., 3.0 m long), R₁L: 6-way valve with reagent loop (0.5 mm i.d., 3.0 m long), RC: reaction coil (1 mm i.d., 2 m long), SC: separation column (Sephadex G-25, 20~80 μm, 2 mm i.d., 5 cm long), TC: thermostated bath(60°C), D: spectrofluorimetric detector, W: waste

2.1.3 分析方法

注入バルブ (V₁、V₂) の同時切り替えによりキャリアー (C) の流れの中に同期注入された試料溶液 (SL) およびバナドモリブデン酸溶液 (R₁L) は合流後、流れにより反応コイル (RC) を移動する中でリンバナドモリブデン酸を生成し、分離カラムへ送られて Sephadex Gel に吸着される。次に切り換えバルブ (V₃) を切り換え、チアミン溶液 (R₂) がカラム内に流入すると、モリブドバナドリッド酸によってチアミンが酸化され、生成したチオクロームが下流の蛍光検出器 (D) に送られ、励起波長 360 nm で生じる蛍光強度が波長 430 nm で自動的に測定記録される。あらかじめ標準溶液を用いて作成してある検量線を用いて測定されたシグナル強度 (ベースラインからのピーク高さ) からリン濃度を算出する。

2.1.4 試料溶液の調製

塩試料 8.76 g をビーカーに量り取り、約 40 ml の水で溶解したのち 50 ml のメスフラ

スコに移し、これに3 mlの5 mol/l 硫酸を加え、水で全容を50 mlとした。不溶解残分がある場合には、0.45 μm のメンブランフィルターでろ過した。この試料溶液の一部をFIシステムに直接注入した。リン含有率が高い場合には、塩試料の秤取量を減らして分析感度を調節することができる。

2.2 結果および考察

2.2.1 FIシステムによるリンの高感度検出

2.1.3で述べたようにモリブドバナドリリン酸の生成と Sephadex Gel への吸着分離、チアミンの酸化、及び生成したチオクロームの蛍光測定が本研究における高感度リンの定量の基本的な原理である。そして、内径の小さなチューブ内での溶液の流れの中でこれらが自動的に行われるのが大きな特長となっている。予備実験の結果によると、既報⁶⁾のような条件では、3 mol/l という塩化ナトリウムの共存ではリン(10 ppb)の定量感度が60%以下に大きく低下することが判明した。食用塩中の極微量リンの新たな分析システムを設計するに当たり、基本的な部分は既報⁶⁾に準拠したが、高濃度の塩化ナトリウム共存によるモリブドバナドリリン酸の生成や蛍光検出への影響、また検出感度をあげるために高濃度塩化ナトリウム溶液からの Sephadex Gel への吸着挙動などについて新たな検討を加えた。

塩化ナトリウムの共存で感度が大きく低下する原因を探るために、Fig. 1のシステムを用いて、3 mol/l NaClが共存しない場合(10 ppb リンのみ)、モリブドバナドリリン酸の生成後に3 mol/l NaClを共存させた場合、モリブドバナドリリン酸の生成時に3 mol/l NaClを共存させた場合、のそれぞれについて測定した。その結果、前2者はほぼ同一のピーク高さであったが、最後の場合に低いピークを与えたことから、塩化ナトリウムは主にモリブドバナドリリン酸の生成に大きな影響を及ぼすものと推測された。そこで3 mol/l 塩化ナトリウム共存下での反応を促進するため反応試薬の濃度について検討した。モリブデン酸アンモニウム(MA)濃度を 2.0×10^{-3} mol/lとして、バナジン酸アンモニウム(VA)濃度を 2.0×10^{-3} mol/l から 5.0×10^{-3} mol/lに増加させると、10 ppbのリンのピーク高さへの影響は20%程度に改善された。しかしながら、VAをさらに増加させても15%程度で大幅な改善は認められなかった。そこで、VA濃度を 5.0×10^{-3} mol/lとしてMA濃度を増加させるとFig. 2に示すようにリンのピーク高さの増加に寄与するとともに 4.0×10^{-3} mol/l以上では塩化ナトリウムの影響がほとんどなくなることが分かった。これらのことから、VA及びMA濃度として、それぞれ 5.0×10^{-3} mol/lおよび 4.0×10^{-3} mol/lを用いることにした。この条件でのピーク高さは既報よりも約2.5倍に増大し、感度の面でも有利なことが判明した。

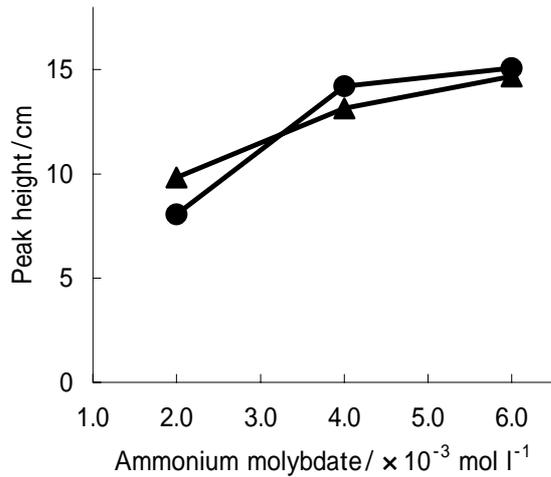


Fig.2 Effect of ammonium molybdate concentration on peak height for 10ppb phosphate, (●) in the presence and (▲) absence of 3.0 mol/l NaCl

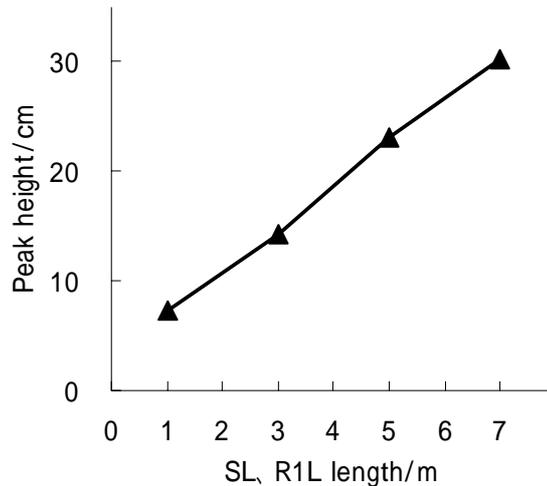


Fig.3 Peak height dependence on sample loop length for injection of 10ppb phosphate

高濃度の塩化ナトリウムが共存する溶液からのリンの Sephadex Gel への吸着濃縮について検討した結果を Fig. 3 に示す。3 mol/l 塩化ナトリウムを含む 10 ppb のリン標準溶液を注入して得られたピーク高さはサンプルループ長さ(リン標準溶液の注入体積)にほぼ比例して増加することが認められた。これは、3 mol/l 程度までの塩化ナトリウム溶液から極微量のリンが定量的に吸着分離されることを示すものであり、試料ループを長くする(注入量を増やす)ことによって濃縮が可能であることを意味し、高感度化に好都合である。また、ループ長さの選択により感度の調節も可能である。Fig. 4 に本 FI システムで得られるシグナルパターンの一例を示す。極微量リンを安定したベースラインで再現性よく測定できることがわかる。

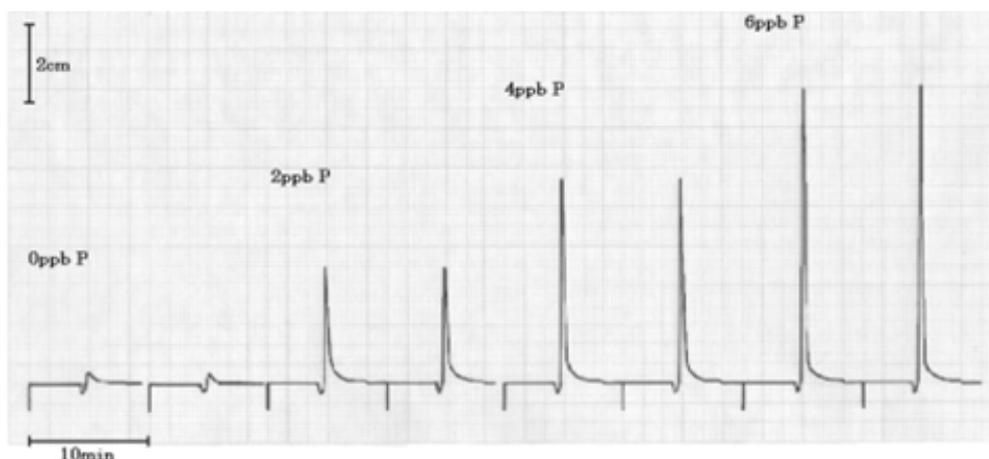


Fig.4 Typical signal traces for phosphate in sodium chloride solution obtained by the proposed FI system

2.2.2 共存イオンの影響

リン溶液に他種イオンを共存させてリン(10 ppb)のシグナルピークに及ぼす影響を調べた。±5%以内を許容範囲とした場合、下記のイオン(ppm)の共存は影響を無視することが出来た。As(III)(10)、As(V)(10)、W(VI)(5)、Sb(III)(10)、Ti(IV)(10)、Bi(III)(10)、Cr(III)(10)、Cr(VI)(10)、Cu(II)(10)、Mn(II)(10)、Zn(II)(10)、Co(II)(10)、Ni(II)(10)、Al(III)(10)、Pb(II)(10)、Fe(III)(10)、Ca(II)(1,000)、Mg(II)(2,000)、Na(I)(23,000)、Br⁻(100)、Cl⁻(35,000)、F⁻(10)、I⁻(10)、SiO₃²⁻(20)。これらのことから通常の食塩中に含まれる成分では殆ど問題ないものと考えられる。また、これまで広く利用されているモリブデンブルー吸光光度法で大きな影響を及ぼすAs(III)、As(V)やSi(IV)の許容範囲が広いことや、海水組成に近いMg(II)やCa(II)の許容量も大きいのが本法の大きな特長と言える。

2.2.3 検量線

Fig. 1のシステムに3 mの試料ループを用いて種々の濃度のリン標準溶液を注入して

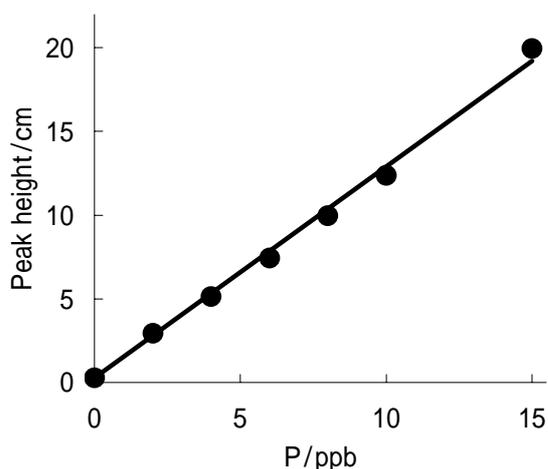


Fig. 5 Calibration graph for trace phosphate with a 3 m sample loop injection

得られたピーク高さとしリン濃度の間には塩化ナトリウムが1 mol/lまたは3 mol/lで共存した場合と共存しない場合とも0~20 ppbの範囲で良好な直線関係が得られた。Fig. 5に検量線の一例を示す。6.0 ppbリン溶液の場合の変動係数は0.8%であった。ブランクシグナルの標準偏差の3倍として定義した検出下限は0.04 ppb、その5倍と定義した定量下限は0.2 ppbであった。これは食塩中に換算すると1.1 ppbという高感度で、1回の分析所要時間は12分である。

2.2.4 各種食塩中のリンの定量

本分析システムにより国内で市販されている各種食塩、及び輸入天日塩を分析した結果をTable 1に示す。

分析した27種類の塩の全てのリン含有率が1 ppm以下のレベルであり、従来の塩試験法などでは分析値の決定が困難な試料が多いことが確認された。これまで含有率がはっきりしなかった市販の食塩中のリンが本分析システムにより明らかになったことはそれなりに有意義なことと思われる。また、これらのうち、H、I、P、Sの試料は海洋深層水から造られた塩とされているが、リンについては海洋深層水から採れた塩も通常の海水から採れた塩も含有率に顕著な差はないという結果であった。

Table 1 Results for analysis of various salt and seawater by the proposed FI system

Sample	P in sample /ppb	Sample	P in sample /ppb	Sample	P in sample /ppb
JT Salt	3.9±0.3	A	458±3	K	41.6 ± 0.1
Reagent Grade	4.4±0.3	B	301±4	L	30.3±0.3
Dampier Salt	63.2±0.7	C	145.8 ± 0.3	M	30.1±0.5
McLeod Salt	63.0±2.1	D	124±1	N	22.9±1.2
Mexico Salt	50.9 ± 1.2	E	91.4 ± 1.6	O	19.3±0.1
Shark Bay Salt	33.1±0.5	F	73.0±0.9	P	17.4±2.2
Port headland Salt	32.4±1.6	G	71.4±0.5	Q	15.7 ± 0.2
Coastal Seawater	11.9±0.1	H	64.8±0.9	R	15.4±5.1
		I	54.1±0.3	S	12.8±0.2
		J	44.5 ± 0.9	T	5.4±0.3

分析試料名(順不同): 死海産湖塩、雪塩、昔塩、皇帝塩、皇家塩、ヨネマース、シママース、シチリア島産海塩、赤穂の天塩、深層海塩、長者のうまい塩、鳴門のうず塩、糸満産いり塩、塩焚き爺の手作り塩、元祖海の塩、伯方の塩、球美の塩、海の精、シホ・ウミノカオリ、瀬戸のあらかじお

3. 食塩中のフェロシアン化物の簡便・迅速な定量

フェロシアン化物は微量でも食用塩の固結防止効果があり、添加物として外国では広く使用され、食用塩の輸入販売が自由化されるとともに我国でも2002年にフェロシアン化ナトリウム、フェロシアン化カリウム、及びフェロシアン化カルシウムの3化合物が新たに食品添加物として認可された。その使用量等の最大限度は無水フェロシアン化ナトリウムとして20 mg/Kgという値が設定されているが、食塩の安全性評価のための信頼出来る分析法の確立が望まれるところである。食塩中のフェロシアン化物の定量法としてはプルシアンブルー吸光光度分析法が塩試験法に記載されているが⁷⁾、定量下限が1 mg/Kgとされ、製品によっては感度が不十分な場合もあり、新野ら⁸⁾はより感度の高い分析方法を検討している。これらの方法ではいずれもバッチ操作が中心であり、面倒な操作と長時間がかかるという難点があるほか、感度をあげるために5 cmセルを用いる⁷⁾など分析条件としては限界に近い感がある。本研究ではフェロシアン化物の酸化還元特性を利用するとともに流れシステムを導入した簡便・迅速な新しい分析法の開発を検討した。研究助成申請書では、フェロシアン化物イオンとフェリシアン化物イオンの電極電位の変化を検出原理とする分析方法の開発を計画したが、実際に研究を進めた結果、定量下限が10 ppm程度で、当初の計画よりも感度不足が明らかとなった。したがって、新たな検出原理に基づく分析方法の創出を模索した結果、下記に述べるようなo-PhenanthrolineのFe(III)錯体(Fe(III)Phenと略)を用いた吸光度測定による新規な検出法を開発し、現在、食塩中のppmからサブppmレベルのフェロシアン化物を迅速簡便に定量するFIシステム構築の研究を続行中で、完成まであと一歩のところである。本稿ではその途中経過を報告することとし、紙面の制限もあるので、要点のみを記載する。なお、本研究の主要部分については日本海水学会第56年会

(平成17年6月2日、P-16、東京、島津製作所東京支社)において発表する予定である。

3.1 実験

3.1.1 試薬および溶液

フェロシアン化物イオン標準溶液 (1,000 ppm): ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム三水合物 (フェロシアン化カリウム) 0.3986 g を水に溶解し、全容を 200 ml とした。必要に応じてこの溶液を適宜希釈して用いた。

Fe(II)Phen (1.26×10^{-4} mol/l): 1,10-フェナントロリン 0.2958 g、硫酸第一鉄アンモニウム ($\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.1974 g を水に溶解し、全容を 200 ml とした。

Fe(II)Phen 溶液: 200 ml メスフラスコに 8×10^{-3} mol/l 臭素酸カリウム溶液 10 ml、5 mol/l 硫酸 12 ml、 1.26×10^{-4} mol/l Fe(II)Phen 溶液 5 ml を加えて振り混ぜ、淡青色に発色したのち水で希釈して調製した。

3.1.2 装置及び流れシステム

本研究で構築した流れシステムの概略を Fig.6 に示す。

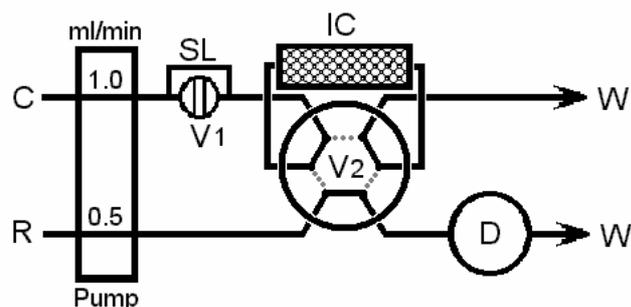
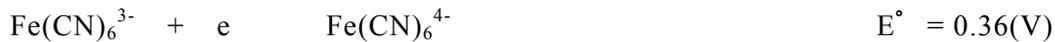


Fig. 6 Schematic diagram of FI system for determining trace ferrocyanide in NaCl
 C: Carrier (0.3 mol/l H_2SO_4), R: 3.74×10^{-4} mol/l Fe(III)Phen solution (0.3 mol/l H_2SO_4), SL: sample loop (0.5 mm i.d., 3 m long), RC: reaction coil (0.5 mm i.d., 1 m long), V_1 : sample injection valve, V_2 : switching valve, IC: ion-exchange column (2 mm i.d., 5 cm long, Q-Sepharose FF), D: spectrophotometric detection (512 nm), W: waste

送液にはサヌキ工業(株)製RX-703T型およびDM2M1024型ダブルプランジャーポンプを用いた。日本分光(株)製UV-920型紫外可視検出器と東亜電波(株)PRR-5011型記録計を用いた。流路を構成するチューブはテフロン製(内径0.5mm)のものを用いた。

3.1.3 検出原理と分析方法

フェロシアン化物イオン ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) の検出は次の酸化還元電位から予測される Fe(III)Phen の還元反応とそれに伴う鋭敏な変色の吸光度検出に基づいている。



分析の自動化としてはフェロシアン化物イオンを陰イオン交換マイクロ粒子上に吸着させて分離濃縮と Fe(III)Phen の還元と変色による吸光度検出を細管中の溶液流れの中で行う新規な FI システム (Fig. 6) を構築した。

サンプルループ付き六方バルブを用いてキャリア(C) に注入された試料溶液中のフェロシアン化物イオンは、分離濃縮カラム(IC)内にて、イオン交換樹脂(マイクロ粒子)上に吸着する。次に、流路の切り替えによりカラム内に検出試薬である Fe()Phen(R) が流入すると、吸着したフェロシアン化物イオンによる還元反応により、Fe()Phen から赤色の Fe()Phen への変換が起こるので、下流の吸光度検出器(D)で波長 512 nm における吸光度を測定記録し、ベ・スラインからのピーク高さからフェロシアン化物濃度を求める。

3.2 結果及び考察

反応試薬溶液の流速、反応コイル長さ、試薬濃度などの各種反応因子及び流れ因子について検討し、Fig. 6 に示すような定量条件を設定した。Fig. 7 に検量線の例を示した。0.05 ppm 程度までのフェロシアン化物イオンを迅速簡便に、かつ精度よく定量することが可能となった。

本研究では塩中のフェロシアン化物イオンをカラムに充填した陰イオン交換樹脂のマイクロ粒子上に吸着させ、マトリックスからの分離と濃縮を行うとともに、そのミク

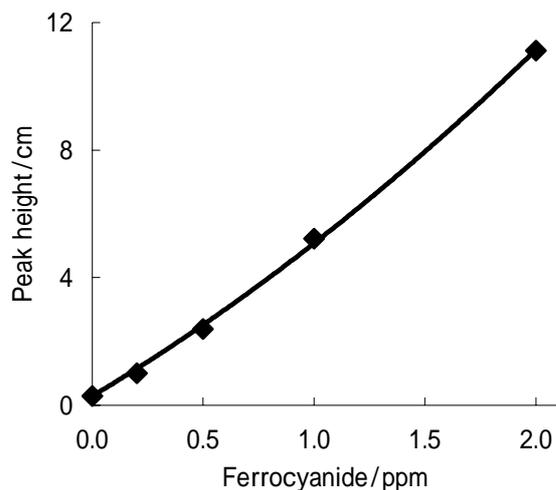


Fig.7 Calibration graph for ferrocyanide with a 10m sample loop injection

ロ粒子上で直接に発色をともなう酸化還元を行うのが大きな特色であり、マイクロ粒子上での安定な吸着が研究の成否を左右する大きなポイントである。陰イオン交換樹脂には微量のフェロシアン化物イオンに対して高濃度の塩化物イオンの競争的な吸着を考慮する必要がある、市販の数種の陰イオン交換樹脂について検討した結果、Q-Sepharose を用いることで良好な結果を得ることが出来た。塩化ナトリウム共存の許容濃度をどの程度まで上げられるかで、実際の塩中のフェロシアン化物イオンの定量限界が決まってくるが、

現段階では 0.5 mol/l NaCl 溶液中の 0.05 ppm のフェロシアン化物イオンが検出できているので、少なくとも食塩中に換算して 0.5 ppm 程度までのフェロシアン化物イオン

の検出定量が可能である。分析時間は約12分と迅速であり、殆ど人手による操作を伴わない自動化学分析システムの構築が可能となった。

4. まとめ

食塩中のサブ ppm レベルのリン及び添加物としてのフェロシアン化物を迅速簡便に定量するための FI システムを構築し、食塩中の極微量リンを高感度、かつ精度良く定量することができた。本 FI システムでは分離・濃縮と高感度検出がインライン直結されているが、それらは本研究において著者らが新規に開発したものである。本 FI システムはこれまでの方法に比べて多くの利点をもっている。分析は単純で連続的、かつ閉鎖系の中で行われ、従って汚染や分析者のミスによる誤差の危険性を最小限にし、また、完全な自動化も容易である。一試料溶液当たりの分析時間は約12分と迅速であり、人手による操作は食塩を水に溶解した溶液を分析システムに注入するだけであるが、オートサンプラーを用いることで自動化できる。FI システムは化学分析の自動化という観点のみならず、極微量成分分析に適したシステムであることが実証された。

5. 今後の課題

当面の最重要課題は食塩中のフェロシアン化物定量のための FI システムの構築を完成させることである。それには、フェロシアン化物を吸着分離する際に高濃度の塩化ナトリウムの共存が許容できるような陰イオン交換樹脂の探索がキーとなる。現在の Q-Sepharose でも 0.5 mol/l の塩化ナトリウムは可能であるが、望ましくはさらに数倍の濃度が許容されるマイクロ樹脂と吸着条件を設定することにより、さらに高感度定量が期待される。

食塩中の極微量リンの定量については、添加回収実験での結果も満足いくものであったが、本研究の分析システムによる分析結果をチェックできる他の高感度な分析法が現時点では見当たらないので、出来ることならば分析原理を異にする新たな高感度検出定量法の開発がなされることを期待する。

上述のように FI システムは化学分析の迅速、簡便化や自動化に適したシステムであることが実証されたが、今後のもう一つの課題としてシステムのマイクロ化と完全自動化を図ることを考えている。今回報告した研究成果の元となる実験はほとんどが市販の分光蛍光検出器と分光光度検出器によっているが、すでに助成研究費で CPU/IF 内蔵光電子増倍管モジュールを購入し、スケールのマイクロ化の研究を進めている。今後はこのような面からの（いわゆるハード）FI システムの研究にも目を向けていく必要性を大いに感じている。

文 献

- 1) J. Ruzicka, E. H. Hansen: "Flow Injection Analysis", 2nd Ed., Wiley Interscience, New York, (1988).
- 2) 新野 靖、西村ひとみ、古賀明洋、中山由佳、芳賀麻衣子、調理科学会誌、36、305-320 (2003) .
- 3) “塩試験方法(第2版)”、p.62、(財)塩事業センター(2002) .
- 4) D. F. Boltz, J. A. Howell, "Colorimetric Determination of Nonmetals ” , p.337, John Wiley & Sons, New York(1978).
- 5) 大西 寛、束原 巖：“吸光光度法-無機編”、p.121, 共立出版(1983) .
- 6) 山根 兵、槌屋由美、岩附正明、“分離・濃縮および反応の場をマイクロ粒子固相に一体化した流れ分析システム”、日本分析化学会第52年会、平成15年9月23日(宮城教育大学) .
- 7) “塩試験方法(第2版)”、pp.72-73、(財)塩事業センター(2002) .
- 8) 古賀明洋、新野 靖：日本海水学会誌、58、24-29 (2004) .

Automatization of chemical methods of analysis utilizing flow injection system for promoting the efficient and advanced uses of seawater resources

Takeshi YAMANE, Faculty of Education and Human Sciences, University of Yamanashi,
Takeda 4-4-37, Kofu 400-8510

Simple, rapid and sensitive methods of analysis have been developed based on a new concept of flow injection (FI system) for determination of phosphate and ferrocyanide in salts which are able to contribute to promote the food safety and the efficient and advanced uses of seawater resources. In order to achieve highly sensitive and selective determination of phosphate in sea salts, the separation/preconcentration of phosphate in salts as molybdovanadophosphoric acid with a Sephadex G-25 gel column was developed and directly in-line coupled with fluorimetric detection based on the oxidation of thiamine in a flow system.

For the determination of food additive ferrocyanide at ppm to sub-ppm levels in salts, a new spectrophotometric detection was developed utilizing the reduction of Fe(III) complex with 1,10-phenanthroline by ferrocyanide which was directly in-line coupled with anion-exchange separation/preconcentration from NaCl matrix in a flow system. The present FI systems offer many advantages with respect to simplicity and sensitivity, with a short analysis time (about 12 min), low limit of determination (0.2 ppb and 0.5 ppm(tentative) in salts for phosphate and ferrocyanide, respectively) and good reproducibility(rsd < 3 %). No complicated manual operation was needed and glass apparatus such as beaker, flask, and pipets usually required for analysis was omitted because most analytical operations were done automatically in flowing stream of solution in a narrow bore PTFE tubing system. Those additional advantages over the conventional batch system include low sample and reagent consumption, high sampling frequency, low contamination, easy automation and high sensitivity.