

## 簡易で小型の蛍光検出器の開発とシーケンシャルインジェクション分析法への応用

鈴木 保任<sup>1</sup>, 山根 兵<sup>2</sup>, 本水 昌二<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 山梨大学大学院総合研究部, <sup>2</sup> 山梨大学教育人間科学部, <sup>3</sup> 岡山大物理学部

**概要** 【背景】 様々な試料の分析に広く用いられている吸光光度法は、比較的安価な分光光度計を用いて多様な物質を簡便に測定できるが、現在の様々な規制に対応するには感度が不足しており、溶媒抽出などの濃縮法と組み合わせる必要がある。また、海水のように高濃度で複雑な共存物質が存在する試料では、マスキングの操作などが必要になることも多い。本研究では、吸光光度法と比較して高感度であり、共存物質の影響に対する耐性の大きい蛍光光度法を簡便に行うため、発光ダイオード(LED)を光源とする簡便な蛍光検出器の開発を目的とした。さらに、精度の高い分析が可能で、操作の自動化も可能な流れ分析法と組み合わせることで、簡便な分析を可能にすることを目指した。対象物質としてセレン(IV)及びホウ素を選択し、定量性能を評価した。

【**蛍光検出器の試作と評価**】 市販の紫外線 LED を光源に、フォトダイオードを光検出器に用い、光電流を積分することで高感度化を図った蛍光検出器を試作した。大きさは 125×90×60 mm, 400 g と小型と軽量である。目的物質ごとに励起及び蛍光波長を変更する必要があるが、励起側は LED を交換することで、蛍光側はフォトダイオードの前に入れる干渉フィルターを交換することでそれぞれ変更できる。セレンの定量では蛍光試薬として 2,3-ジアミノナフタレンを用い、励起 375 nm, 蛍光 550 nm で測定した。ホウ素の定量ではクロモトローブ酸を用い、励起 315 nm, 蛍光 360 nm で測定した。バッチ法で測定したところ良好な検量線が得られ、セレンについては  $1.2 \mu\text{g L}^{-1}$ , ホウ素は  $46 \mu\text{g L}^{-1}$  といずれも環境基準値以下まで測定できる高い感度を得られた。

【**ホウ素の流れ分析システムの構築**】 水をキャリアーとし、クロモトローブ酸及び EDTA・2Na を含む反応溶液と未反応の試薬の蛍光を減少させるためのアンモニアを用いる 3 流路の流れ分析システムを構築し、検出器に試作した蛍光検出器を取り付け、定量性能を評価した。ポンプには全長 3 cm と超小型で、3 V の直流電源で駆動可能なマイクロリングポンプを用いた。良好なフローシグナルが得られ、検量線は少なくとも  $0\sim 2,000 \mu\text{g L}^{-1}$  の範囲で直線となった。検出限界は  $34 \mu\text{g L}^{-1}$  で、河川水中のホウ素定量に応用したところ、原子発光分析装置の結果とよく一致した。

【**今後の課題**】 流れ分析システムを発展させてシーケンシャルインジェクション分析システムを実現するとともに、感度の向上、セレン他様々な物質の分析への応用を図る。また、海水試料の分析を試みる。

### 1. 研究目的

様々な試料の分析に広く用いられている吸光光度法は、比較的安価な分光光度計を用いて多様な物質を簡便に測定できるが、現在の様々な規制に対応するには感度が不足しており、溶媒抽出などの濃縮法と組み合わせる必要がある。また海水のように高濃度で複雑な共存物質が存在する試料では比色試薬の選択性が問題となり、マスキングの操作などが必要になることも多い。蛍光光度法は吸光

光度法と比較して本質的に高感度であり、共存物質の影響に対する耐性も大きい。蛍光光度計は比較的高価で大型の装置である。そこで本研究では、発光ダイオード(LED)を光源とする簡便で安価な蛍光検出器の開発を目的とした。

一方、流れ分析法は通常の実験で行われる希釈、混合、反応、分離などの操作を細管内での液体の流れの中で行う方法で、簡便な操作ながら優れた再現性を有し、外部か

らの汚染の恐れも少ない。しかし高精度の送液が必要とされるために高価なポンプが用いられている。本研究ではこれを簡便なポンプに置き換えることで、流れ分析システムの簡略化についても検討した。

試作した蛍光光度計の評価のため、2,3-ジアミノナフタレン(DAN)を用いるセレン(IV)の定量に応用した<sup>(1)</sup>。セレンは生物にとって必須元素であるが、一方で毒性も高いことから環境基準値は $10 \mu\text{g L}^{-1}$ と定められている。セレン(IV)-DAN キレートは、非極性溶媒中でのみ蛍光を発することから、水系溶液中で反応させたのち溶媒抽出する必要がある。この溶媒抽出に代わり、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)と $\beta$ -シクロデキストリン( $\beta$ -CD)を蛍光増感剤として用いることで水溶液中での定量が可能になることが報告されている<sup>(2)</sup>。この方法によりセレン(IV)の検量線を作成し、蛍光光度計の性能を評価した。

さらに、流れ分析システムを含めて評価するため、クロモトローブ酸を用いるホウ素の定量を試みた<sup>(3)</sup>。ホウ素は人に対する毒性は弱い、高濃度では植物等に影響が出るとされ、環境基準の要監視項目として $0.2 \text{ mg L}^{-1}$ の暫定指針値と、健康項目として $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ の基準値が定められている。試作したシステムで検量線を作成するとともに河川水試料中のホウ素定量に応用し、本装置の性能を評価した。

## 2. 研究方法

### 2.1 試薬及び操作

溶液の調製には水道水をイオン交換して蒸留した水を用いた。以下の試薬のうち、特記なきものはいずれも和光純薬製特級である。また、河川水試料として甲府市内を流れる濁川及び笛吹川の水を採取した。これを研究室に持ち帰ったあと直ちに親水化 PTFE メンブレンフィルター(Millipore, JHWP04700, 47 mm 径, 孔径  $0.45 \mu\text{m}$ )により吸引ろ過した。またセレン(VI)定量用試料は、 $0.1 \text{ mol L}^{-1}$ 塩酸酸性として保存した。

#### 2.1.1 セレン(IV)の定量

セレンの定量試薬の調製及び定量操作は、文献に従った<sup>(2)</sup>。セレン(VI) ( $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ )の標準溶液は、亜セレン酸ナトリウム  $0.2190 \text{ g}$  を水に溶解し、 $100 \text{ mL}$  に希釈して調製し、適宜希釈して用いた。2,3-ジアミノナフタレン(DAN, 同仁化学)溶液は、DANを  $20 \text{ mg}$ 、塩化ヒドロキシ

ルアンモニウム  $80 \text{ mg}$ 、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム( $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$ , 同仁化学)  $80 \text{ mg}$  に  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$  塩酸  $40 \text{ mL}$  を加え、20 分間加熱して溶解した ( $0.05\%$  DAN 溶液)。この溶液は冷蔵庫に保存し、1 か月を超えたものは廃棄した。増感剤であるドデシル硫酸ナトリウム/ $\beta$ -シクロデキストリン(SDS/ $\beta$ -CD)溶液は、SDS(和光純薬 1 級)  $648 \text{ mg}$  及び  $\beta$ -CD(和光純薬 1 級)  $4.25 \text{ g}$  を水  $250 \text{ mL}$  に溶解して調製した(SDS 濃度  $9 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $\beta$ -CD 濃度  $15 \text{ mmol L}^{-1}$ )。

定量操作は標準溶液あるいは試料  $5 \text{ mL}$  に DAN 溶液  $0.1 \text{ mL}$ 、 $1 \text{ mol L}^{-1}$  塩酸  $30 \mu\text{L}$  を加え、 $90^\circ\text{C}$  で 5 分間加熱して反応させた。これに SDS/ $\beta$ -CD 溶液  $1.5 \text{ mL}$  を加えたのち、試作した蛍光光度計にて励起波長  $375 \text{ nm}$ 、蛍光波長  $550 \text{ nm}$  における蛍光強度を測定した。積分時間は 2 秒とした。なお、DAN 溶液の添加量は文献の  $1/5$  とした。これは高濃度の  $\text{Se(VI)}$  を定量しないことと、未反応の DAN による蛍光強度を低下させるためである。

#### 2.1.2 ホウ素の定量

ホウ素定量用試薬は文献<sup>(3)</sup>に従って調製した。ホウ素標準溶液 ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) はホウ酸  $0.1430 \text{ g}$  を水に溶解し、 $250 \text{ mL}$  に希釈して調製した。これを適宜希釈して用いた。反応試薬(クロモトローブ酸溶液)は以下の A 及び B 溶液をそれぞれ調製したのち、混合して調製した。A 溶液は  $\text{EDTA}\cdot 2\text{Na}$   $0.74 \text{ g}$  (同上) 及びクロモトローブ酸二ナトリウム二水和物(キシダ化学)  $0.016 \text{ g}$  を水に溶解し、 $100 \text{ mL}$  とした。B 溶液は酢酸ナトリウム  $1.64 \text{ g}$  を約  $90 \text{ mL}$  の水に溶解し、酢酸を添加して pH を  $6.0$  に調整したのち  $100 \text{ mL}$  に水で希釈した ( $0.2 \text{ M}$  酢酸緩衝溶液 pH6.0)。  $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  アンモニア水は  $28\%$  アンモニア水を  $150$  倍希釈して調製した。

ホウ素の定量はバッチ法(従来の分析法)と流れ分析法の両方を実施した。バッチ法では試料あるいは標準溶液  $5 \text{ mL}$  にクロモトローブ酸溶液  $1 \text{ mL}$  を加えてよく振り混ぜて反応させ、アンモニア水  $1 \text{ mL}$  を添加して溶液をアルカリ性にした。続いて試作した蛍光光度計で励起波長  $315 \text{ nm}$ 、蛍光波長  $360 \text{ nm}$  で蛍光強度を測定した。積分時間は  $4$  秒とした。一方、流れ分析は Fig. 1 のフローシステム<sup>(3)</sup>を用いて行った。流路には内径  $0.5 \mu\text{m}$  の PTFE チューブを用いた。キャリアー溶液は水で、ここにサヌキ工業製六方バルブとテルモ製プラスチックシリンジを利用して試料

または標準溶液 500  $\mu\text{L}$  を注入し、クロモトローブ酸溶液と混合して 2 m のコイルにより反応させ、続いてアンモニア溶液を混合したのち、蛍光光度計にて励起波長 315 nm、蛍光波長 360 nm の蛍光強度を測定した。積分時間は 8 秒とした。ポンプには直流 3 V で駆動できる超小型のマイクロリングポンプ(アクアテック, RP-Q1)を用いた。このポンプの電源は 5 V の AC アダプターから、可変電圧型電圧レギュレーター(新日本無線, NJM11100F1)を通じて 2~3 V の電圧を得た。ポンプ 1 つにつき 1 つの電圧レギュレーターを用意し、それぞれの駆動電圧を変更することである程度の流量調整をできるようにした。ポンプ及びポンプ用電源の外観を Fig. 2 に示す。

### 2. 1. 3 原子発光スペクトル分析装置によるセレン及びホウ素の定量

Agilent 製マイクロ波プラズマ発光分析装置(MP-AES), 4100 MP-AES により、セレン及びホウ素の定量を行った。プラズマガスは窒素で、測定波長はセレンが 196.026 nm、ホウ素が 249.772 nm である。測定時間は 3 秒とした。セレンについては 0~100  $\mu\text{g L}^{-1}$ 、ホウ素については 0~500  $\mu\text{g L}^{-1}$  の範囲で検量線を作成した。試料、標準溶液ともに 0.1

$\text{mol L}^{-1}$  の塩酸酸性とした。

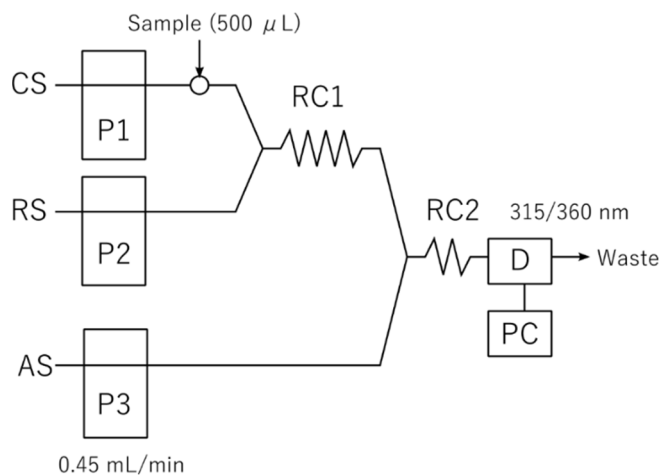


Fig. 1. Schematic diagram of flow system for boron determination. CS: carrier (water), RS: reagent solution ( $2.0 \times 10^{-4}$  M chromotropic acid + 0.01 M EDTA·2Na + 0.1 M acetate buffer), AS: 0.1 M ammonia, RC1: reaction coil (2 m), RC2: reaction coil (1 m), D: fluorometric detector ( $\lambda_{\text{ex}}$ : 315 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 360 nm), P1~P3: pumps ( $0.45 \text{ mL min}^{-1}$ ), PC: windows PC

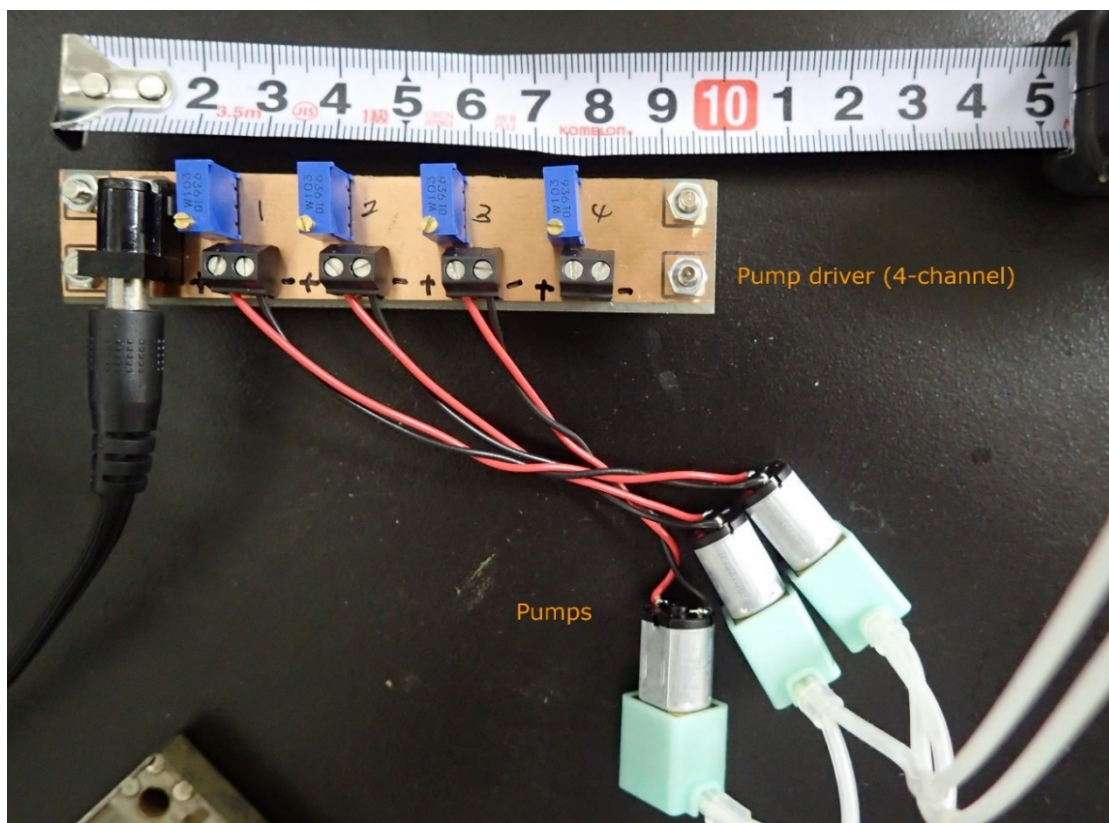
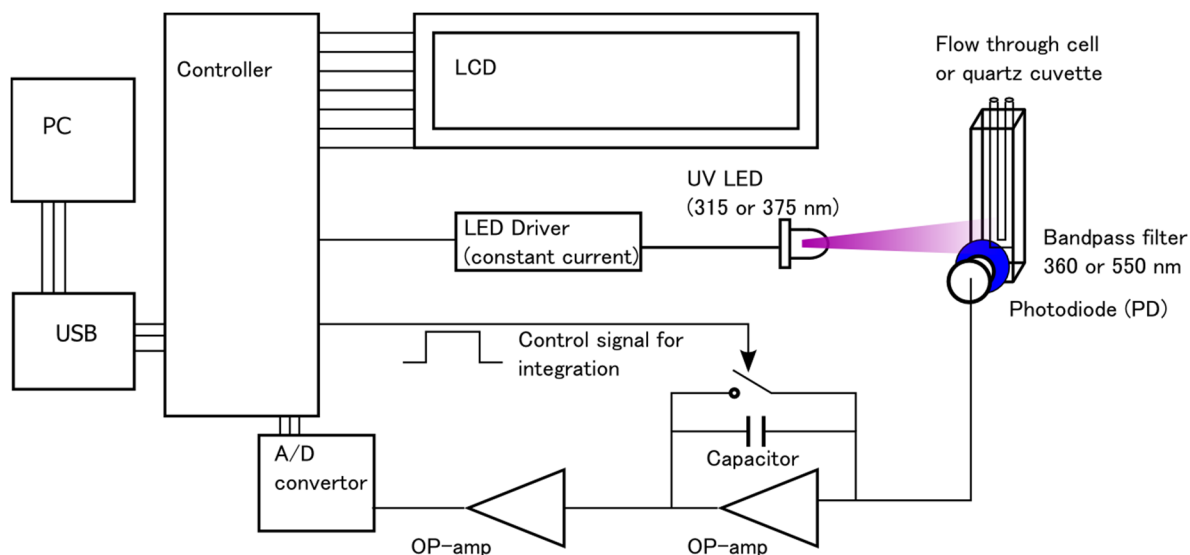


Fig. 2. Photograph of micro-ring pumps and their driver

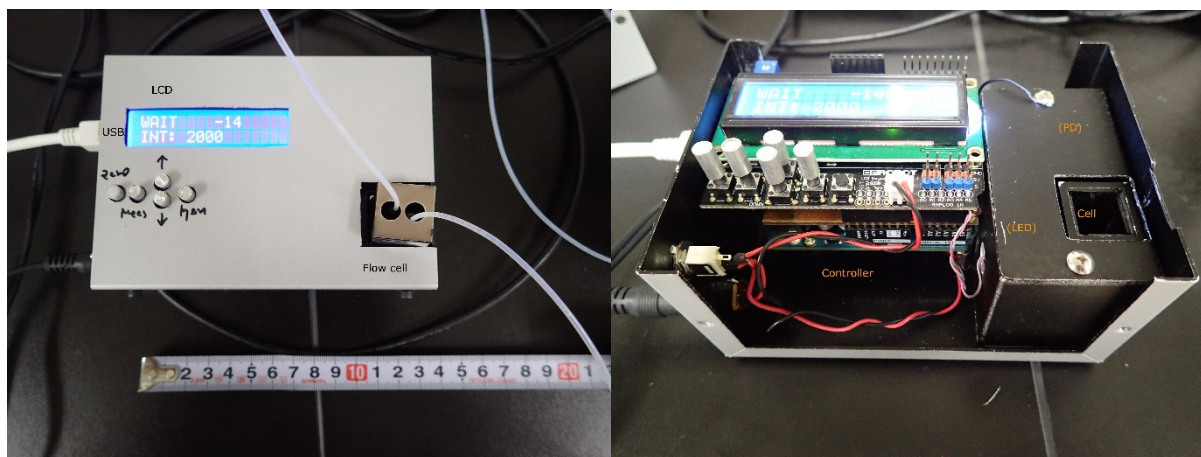
## 2. 2 試作した蛍光検出器

試作した蛍光検出器のブロック図を **Fig. 3** に、内外の写真を **Fig. 4** に示す。電源は9 VのACアダプター、積層乾電池、あるいはUSB端子から供給される5 Vである。既報<sup>4)</sup>と同様に、励起光源には低消費電力で発光線幅の狭い、発光ダイオード(LED)を用いた。セレンの定量には、発光波長 375 nm のUV LED(日亜化学, NSPU510CS, 出力 5 mW)を用い、ホウ素の定量には発光波長 315 nm のUV LED (Roithner Lasertechnik, UVTOP310-HL-TO39, 出力 0.24 mW)を用いた。これらのLEDを定電流で駆動するには電源の5 Vより高い電圧が必要となるので、可変昇圧型DC-DC変換器(Texas Instruments, LM2703MF-ADJ)を用いて375 nmのLED用には8 V、315 nm用には11 Vの電圧を出力するようにした。また、電界効果型トランジス

ター(Diodes, 2N7002)とオペアンプ(Linear Technology, LT1880)を組み合わせた定電流回路により、いずれのLEDも20 mAで駆動した。既報の装置では励起光のうち不要な波長の発光を遮断するために干渉フィルターあるいは短波長透過フィルターを用いていたが、本研究では励起光強度の低下を防ぐためにこのフィルターを省略した。試料セルはバッチ測定の場合には蛍光測定用五面透明セル(藤原製作所, T-3-UV-10, 光路長 10 mm)を、流れ分析の際にはフローセル(Starna, 583.3-F/Q/3/Z15, 光路 3×11 mm, 容量 0.1 mL)を用いた。セル内で生じた蛍光は、励起光の光軸に対して90°の角度から、セレンの場合には透過波長 550 nm の干渉フィルター(Edmund Optics, 65644, 透過帯域 10 nm, 外径 12.5 mm)、ホウ素の場合には同 360 nm (Edmund Optics, 67706, 透過帯域



**Fig. 3.** Block diagram of the fluorometric detector using an ultraviolet LED as a light source



**Fig. 4.** Outside and inside photographs of the fluorometric detector

10 nm, 外径 12.5 mm)を通じて取り出し, フォトダイオード (PD, 浜松ホトニクス, S2386-18L)により電流信号に変換した。既報では光電子増倍管モジュール(PMT)を用い, 得られた電圧信号をロックイン検出していたので, LED は強度変調をして点灯していた。本研究では装置の簡略化, 小型化を図りつつ検出器としての感度の低下を抑えるため, 積分回路を用いることとした。回路は参考文献<sup>(5,6)</sup>に従って設計した。まず PD を回路的に切り離して積分用コンデンサーを放電したのち, PD を接続しての光電流の積分を開始する。設定時間が経過したら PD を切り離して積分用コンデンサーの電位を読み取り, これ蛍光強度として用いた。これを繰り返して流れ分析用のフローシグナルを得た。充放電の切り替えはアナログスイッチ (Texas Instruments, CD74HC4066M)を用い, 積分時間を変えて感度を調整した。また電流電圧変換, 信号を取り込むための A/D 変換器 (Analog Devices, AD7705BRZ, 16 bit 分解能,  $\Sigma$ - $\Delta$  型)へ供給する基準電圧源 (Analog Devices, ADR441ARZ, 2.500 V)のバッファーなどとして, 2 回路入りオペアンプ (Texas Instruments, TLC272D)を用いた。蛍光検出器全体の制御は, マイコンボード (Arduino SRL, Arduino Uno R3, Flash ROM 32 kB, RAM 2 kB, EEPROM 1 kB)で行った。バッチ測定時には, スイッチ付き液晶ディスプレイボード (DFRobot, LCD Keypad Shield for Arduino)に蛍光強度を表示した。フローシグナルはマイコンボードに搭載されている USB ポートを通じて, PC により記録した。制御プログラムは Arduino SRL より配布されている統合開発環境 version 1.6.5 により開発し, USB ポート経由でボードに転送した。検出器単体は 125×90×60 mm, 400 g と小型軽量である。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 バッチ法によるセレンの定量

2. 1. 1の操作に従って得られた Se(IV)の検量線を Fig. 5 に示す。少なくとも濃度範囲 0~200  $\mu\text{g L}^{-1}$  で良好な直線となり, その式は  $I = 16.4C_{\text{Se}} + 242$ , 相関係数は 0.9999 であった。ここで  $I$  は 550 nm における蛍光強度,  $C_{\text{Se}}$  は Se(IV)の濃度 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )である。5 回測定したブランク値の相対標準偏差の 3 倍 ( $3\sigma$ )から求めた検出限界は 1.2  $\mu\text{g L}^{-1}$  となり, 環境基準値である 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  レベルを定量できる性能があった。本法を河川水試料中の Se(IV) 定量に応用したところ, 検出限界以下であった。そこで試料に段階的に標準溶液を添加して回収率を求めた。結果を Table 1 に示す。あまり良好ではないが, 98~113%の回収

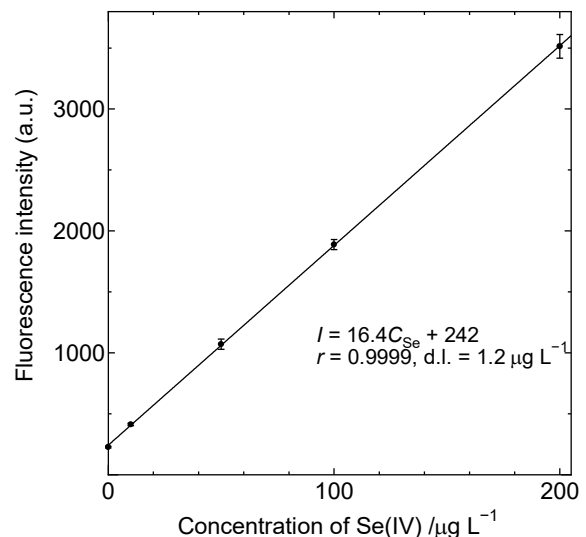


Fig. 5. Calibration curve of selenium(IV).  $\lambda_{\text{ex}} = 375 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$ , integration time = 2000 ms

Table 1. Recovery test of selenium(IV) in river water samples ( $n = 2$ )

River	Added / $\mu\text{g L}^{-1}$	Found / $\mu\text{g L}^{-1}$	Recovery, %
Nigori	0	Not detected	–
	10	9.2, 12.3	108
	20	20.2, 24.0	110
	50	51.2, 52.1	103
	Fuefuki	0	Not detected
Fuefuki	10	8.4, 11.1	98
	20	22.5, 22.8	113
	50	51.4, 52.0	103



率が得られていることから、簡易法としては十分な性能を有していると考えられる。一方、この標準添加法の検量線は標準溶液による検量線の傾きの半分になっており、何らかの妨害が示唆された。本法では DAN 試薬に EDTA・2Na を添加して共存物質のマスキングを試みているが、別の文献によればさらにフッ化ナトリウムを添加している例があった<sup>(7)</sup>。今後 NaF の添加の効果を検討してみる。また、MP-AES での定量も試みたが、感度が低く本法の検量線の濃度範囲では測定が不可能であった。水素化物発生法を用いることで感度を向上できるので、比較できるようにする。またセレン(VI)については本法で測定できないため、還元操作が必要であり<sup>(2)</sup>、今後検討する予定である。

### 3.2 ホウ素の定量

まずバッチ法により定量性能を評価した。得られた検量線は少なくとも  $0 \sim 1,000 \mu\text{g L}^{-1}$  の範囲で直線となり、その式は  $I = 1.42C_B - 12.0$ 、相関係数は 0.998 であった。ここで  $I$  は 360 nm における蛍光強度、 $C_B$  は B の濃度 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) である。5 回測定したブランク値の相対標準偏差の 3 倍 ( $3\sigma$ ) から求めた検出限界は  $46 \mu\text{g L}^{-1}$  となり、環境基準値である  $1 \text{ mg L}^{-1}$  レベルを十分に定量できる性能があった。セレンの検量線に比べ、若干直線性がよくなかったが、これは LED の発光強度が大きく異なること、また使用した PD の応答感度が短波長になるにつれて小さくなるので、

S/N 比が悪化していることが考えられる。バッチ法で河川水中のホウ素を定量したところ、濁川試料は  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ 、笛吹川試料は  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  であった。後者はほぼ検出限界であるため、正確ではない。

バッチ法の感度は環境基準値レベルを十分測定可能であったので、引き続き流れ分析法への応用を試みた。得られたフローシグナルを Fig. 6、これより作成した検量線を Fig. 7 に示す。ベースラインにわずかなノイズと変動が見られるが、非常に良好なフローシグナルを得ることができた。別に  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  の標準溶液を 7 回繰り返し測定したところ、蛍光強度は  $133 \pm 4$ 、相対標準偏差は 3% となり、良好な精度が得られた。使用したポンプはローラーが 1 個のペリスタポンプであり、送液の状態を確認すると必ずしも一定量が送られているわけではない。これはローラーが送液チューブに掛けるテンションが一定ではないためである。ただし、通常のペリスタポンプとは異なり、溶液が逆流することはなかった。高精度な送液が可能なダブルプランジャーポンプやシリンジポンプと比較すると測定精度やベースラインの安定性に対して不利であるが、蛍光検出は吸光度検出と比較して溶液の屈折率変化には強く、かつ本法では蛍光信号を積分しているために安価で脈流の大きなマイクロリングポンプでも問題はなかった。

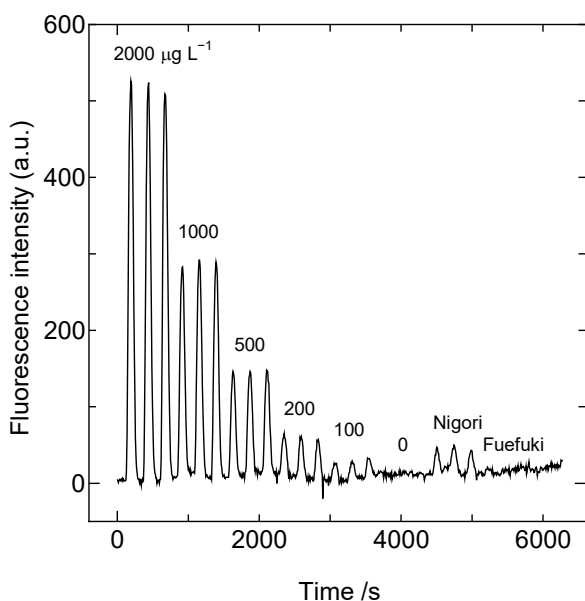


Fig. 6. Flow signal of boron.  $\lambda_{\text{ex}} = 315 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 360 \text{ nm}$ , integration time = 8000 ms

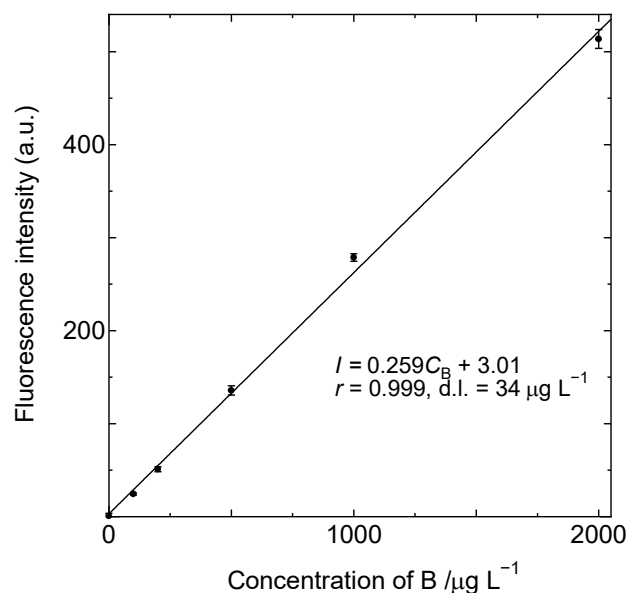


Fig. 7. Calibration curve of boron built using the data in Fig. 6

検量線の式は  $I=0.259C_B+3.01$ , 相関係数は 0.999 であった。バッチ法の傾きと比較すると 1/5 以下となっている。これは試料, 試薬がキャリアー溶液により希釈されることと, フローセルの窓がバッチ用セルと比べて小さいことから取得できる蛍光強度が弱くなったためである。しかし, 5 回測定したブランクの  $3\sigma$  から求めた検出限界は  $34 \mu\text{g L}^{-1}$  で, バッチ法とほぼ同等の感度が得られた。これは流れ分析が本質的に高精度であることに起因し, バッチ法よりも再現性が良好なためである。直線性についても若干向上している。バッチ法と同じ河川水試料中のホウ素を定量したところ, Fig. 6 に示すように濁川については明瞭なピークが得られ, 定量値は  $110 \mu\text{g L}^{-1}$  であった。一方, 笛吹川についてはわずかにピークが見えるものの検出限界以下であった。同じ試料を MP-AES にて測定したところ, 濁川試料は  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , 笛吹川試料は  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  であったので, 濁川試料についてはよく一致した。

#### 4. 今後の課題

蛍光検出器は PMT と比較して安価な PD を光検出器として用い, 感度の低下を補うために光電流の積分回路を追加することで, セレン, ホウ素のいずれも環境基準値(それぞれ  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  および  $1,000 \mu\text{g L}^{-1}$ ) レベルを十分に測定できる感度を有していた。また, 安価で小型なポンプを用いて流れ分析システムを構築し, 蛍光検出器と組み合わせるとホウ素の定量に応用したところ, こちらも環境基準値の測定に十分な感度と, バッチ法よりも良好な精度を有していた。今後さらに検討を進める項目として, 以下を考えている。

まずは, セレンの共存イオンの影響を検討する必要がある。適切なマスキング剤を見出して, 実際試料への応用を図る予定である。還元方法の検討や, セレンのための流れ分析システムを構築する。

ホウ素については, 吸光度法では高い塩濃度のため

に測定が困難な海水試料の分析を試みる予定である。海水試料には数  $\text{mg L}^{-1}$  レベルのホウ素が含まれているため, 感度は問題ない。一方, 清浄な河川水では本法の感度ではホウ素を定量できなかった。装置の光学系の改良, 反応試薬の濃度, 反応コイルの長さなど, それぞれの条件を最適化することにより感度の向上を図る。その上で当初の目的であったシーケンシャルインジェクション分析システム(SIA)の構築を図る。SIA 法は間欠的な作動が可能のため, 現場分析にも適している。可能であればシリンジポンプのような高価なポンプを用いない方法を開発したい。

積分回路を用いることで, PD でも実用的な感度が得られたということは, PMT と積分回路を組み合わせればさらなる高感度化が達成できるということである。このような検出器の開発も進めていく。

#### 参考文献

- 1) J. H. Watkinson, *Anal. Chem.*, **38**, 92-97 (1966).
- 2) 藪谷智規, 飯沼明子, 横田昌幸, 本仲純子, 林由佳子: 徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部研究報告 (*Bull. Inst. Technol. Sci., Univ. Tokushima*), **53**, 46-51 (2008).
- 3) 李貞海, 大島光子, 本水昌二: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **53**, 345-351 (2004).
- 4) 鈴木保任, 菊田吉弘, 山田和広, 北出和久, 丸田利久, 市田淳一, 川久保進: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **63**, 895-902 (2014).
- 5) 脇澤和夫: トランジスタ技術 (*Transistor Gijutsu*), **2013(3)**, 84-86 (2013).
- 6) 脇澤和夫: トランジスタ技術 (*Transistor Gijutsu*), **2013(3)**, 141-145 (2013).
- 7) . H. Hattori, Y. Nakaguchi, Y. Saito, K. Hiraki, *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, **55**, 333-339 (2001).

## Development of a Simple and Compact Fluorometric Detector and Its Application to Sequential Injection Analysis

Yasutada Suzuki<sup>1</sup>, Takeshi Yamane<sup>1</sup>, Shoji Motomizu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Yamanashi, <sup>2</sup>Okayama University

### Summary

Spectrophotometric determination methods are widely used to analyze various components in various samples. Although spectrophotometric determination is relatively simple, its low sensitivity and severe interference from matrices often necessitate some extraction methods or masking reagents. In this study, we have developed a simple and compact fluorometric detector to attain higher sensitivity and better tolerability to interference compared to a spectrophotometric detector. A simple flow based system which can greatly simplify the procedure of determination, has also been developed. As analytes, selenium (IV) and boron were selected, and the analytical performance of the system has been tested.

The fluorometric detector developed used an ultraviolet light-emitting diode (UV-LED) as a light source and a photodiode (PD) as a light detector, with an integrator circuit for photocurrent to improve the sensitivity. Its dimensions are 125×90×60 mm, and the mass is 400 g. According to the analyte of interest, an LED and a band-pass filter in front of the PD are exchanged to obtain optimal excitation ( $\lambda_{ex}$ ) /emission ( $\lambda_{em}$ ) wavelengths for the determination.

In the case of Se (IV) determination, 2,3-diaminonaphthalene was used as a fluorometric reagent, and the fluorescence was measured at  $\lambda_{ex}$  of 375 nm and  $\lambda_{em}$  of 550 nm. The detection limit calculated from  $3\sigma$  of blank was 1.2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . In the case of B determination, chromotropic acid was used, and  $\lambda_{ex}$  of 315 nm and  $\lambda_{em}$  of 360 nm were used. The detection limit was 46  $\mu\text{g L}^{-1}$ . The sensitivities for both Se (IV) and B are high enough to be applied to samples containing the analytes less than environmental quality standards.

The flow system was build using micro pumps, (3 cm in length, operated by 3 V power supply) . It was applied to the flow analysis of B with the same reagents as the previous batch measurement. In spite of its simple design, a clear flow signal of B could be obtained, and the detection limit was 34  $\mu\text{g L}^{-1}$ . This system was applied to the determination of B in river water samples. The results were of good agreement with those obtained by an atomic emission spectrometer.

We will develop a sequential injection system which is suitable for intermittent analysis, and apply it to various analytes.