

技術論文

三層分離抽出/蛍光分光光度法によるクマリンを含む油類
の簡易識別分析倉田 正治^①, 相澤 直之^①, 平野 治夫^①, 永井 正敏^②Rapid discrimination of oils containing coumarin using three-layer
extraction and fluorescence spectrometryShoji KURATA^①, Naoyuki AIZAWA^①, Haruo HIRANO^① and Masatoshi NAGAI^②^① Criminal Investigation Laboratory, Metropolitan Police Department, 2-1-1, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8929^② Graduate School of Bio-applications and Systems Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, 2-24, Nakamachi, Koganei-shi, Tokyo 184-8588

(Received 18 September 2002, Accepted 20 December 2002)

Three-layer extraction followed by fluorescence spectrometry has been developed for the rapid discrimination of oils containing coumarin. The proposed method provides facilities, such as rapidity, convenience, and down-sizing. The procedure of the method is as follows: 0.25 ml of oil samples was used for quantification. After shaking a mixture of the sample with 1.5 ml of dodecane, two ml of butanol-ethanol (4 : 3; v/v) solution, and 1.25 ml of alkaline aqueous solution (2.5 M NaOH) for three min, non-fluorescing *o*-coumarinate ions produced from coumarin by hydrolysis were extracted in an alkaline aqueous solution. Fluorescent compounds in oils were extracted together with the *o*-coumarinate ions in the alkaline aqueous solution, and interfered with the quantification of the *o*-coumarate ions using fluorescence spectrophotometry. The addition of inorganic salts to the alkaline aqueous solution was very effective to quench the fluorescent interference of the co-extracted substances from oils. The addition of sodium nitrate which was the most effective quencher, suppressed any unfavorable fluorescent interferences. After the *o*-coumarinate ions were converted into isomeric *o*-coumarate ions by the irradiation of ultraviolet light for five min, fluorescence intensities at 500 nm were measured. The fluorescence intensity showed a good linear relationship with the gas-oil content in the range of 5~100% of fuel oil A in the gas-oil mixtures. A statistical analysis of the calibration curve gave an excellent relation with a correlation coefficient of 0.996~0.999. The proposed method could successfully discriminate illegal diesel fuels containing coumarin.

Keywords : coumarin; fuel oil A and gas oil; fluorescence; *o*-coumarate; inorganic salt as quencher.

1 緒 言

最近、軽油に灯油やA重油を混入した混合軽油が自動車のディーゼル燃料油として不正に用いられることが増加

している。この混合軽油の使用は、軽油引取税の脱税問題やディーゼル車の排ガスから放出されるすすなどによる大気汚染・健康被害等の環境問題を引き起こすため、その対策として不正ディーゼル燃料油を識別するための迅速な分析法の確立が急務である。

灯油、軽油及びA重油を識別するために、日本では1991年以来、灯油とA重油に1 ppmのクマリンが添加されている^①。クマリンの定量には蛍光分光光度法 (FL) が

^① 警視庁科学捜査研究所: 100-8929 東京都千代田区霞ヶ関 2-1-1

^② 東京農工大学大学院生物システム応用科学研究所: 184-8588 東京都小金井市中町 2-24

はん用的な分析法として使用されている。この方法では、クマリンをアルカリ性水溶液で加水分解して *o*-クマリン酸 (*cis-o*-オキシケイ皮酸) 陰イオンにした後、溶媒抽出し、波長 360 nm の紫外光を照射し、異性化反応により生成した *o*-クマリン酸 (*trans-o*-オキシケイ皮酸) 陰イオンの蛍光強度を測定してクマリンを定量する²⁾。この方法を応用して開発された不正ディーゼル燃料油の識別法が、全国石油協会によって提案されている³⁾。提案された方法では、ドデカン、混合アルコール溶液及びアルカリ性水溶液の 3 種類の抽出溶媒が用いられる。更に灯油、A 重油中のクマリン以外のアルカリ性水溶液層に抽出されてくる蛍光物質の消光剤として、硝酸ナトリウムが用いられている。しかし、この前処理抽出法では溶媒希釈等で時間がかかるとともに、抽出溶媒を多量 [試料 1 検体 (20 ml) 当たり 225 ml] に使用するにもかかわらず、溶媒希釈された試料の一部しか分析に用いず、大半は不要になるという欠点がある。

法科学分野でも、油中のクマリンの FL による分析法は、油が放火事件等の犯罪で用いられるため、灯油や A 重油の識別法としても研究されている。法科学分野での鑑定のお試料の多くは少量なため、全国石油協会の提案された方法をそのまま適用できない。そのため、抽出操作を省略し、油試料に少量のアルカリ性水溶液のみを添加し、水溶液の蛍光強度が測定されている。しかし、油中に多く含まれる蛍光物質⁴⁾⁵⁾も同時に抽出されてくるため、クマリン由来の *o*-クマリン酸陰イオンの蛍光スペクトルは得られず、多変量解析処理を行ってクマリンの定量を行っている⁶⁾。また、別法として、紫外ホットダイオードアレー検出器付き高速液体クロマトグラフィー⁷⁾も用いられている。しかし、この方法ではクマリンに対する検出感度が低いこと、前処理過程及び分析時間が長くなること、更に溶離液調製のために多量の溶媒を消費すること等の欠点がある。

本研究では、少量の不正ディーゼル燃料油の識別や法科学分野にも応用可能な、少量の灯油や A 重油を識別するための簡便かつ低コストな分析方法として三層分離抽出/FL 法を開発した。本法は油のような多成分混合試料からクマリンのような分析対象物質を 3 種類の抽出溶媒を用いて三層に分離し、精製、抽出された溶媒相をそのまま FL で分析する方法であり、クマリンを添加した軽油試料に対して、次の二つの特徴を持つ。(1) 希釈等の前処理操作の省略により短時間で抽出、分析が行える。(2) 試料の油中から抽出した *o*-クマリン酸陰イオンの定量検査を 1 本のねじ口試験管内のみで行える (消費する試料と溶媒の合計量 5 ml)。また、*o*-クマリン酸陰イオンの FL による定量分析の際、妨害となる油中の蛍光物質に対する硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム及び臭化カリウムの各無機塩の消光効果についても比較検討

した。

2 実 験

2・1 装 置

日立製 F-4500 蛍光分光光度計で三次元蛍光スペクトル、励起スペクトル及び蛍光スペクトルを測定した。励起、蛍光バンド幅は、いずれも 10 nm に設定して測定した。三次元蛍光スペクトルの等高線間隔は蛍光強度 50 に設定して表示した。蛍光強度として、三次元蛍光スペクトルの極大ピークにおける強度と励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm における強度を測定した。

クマリンの加水分解物を抽出するための振り混ぜ時間、及び紫外光照射下での *o*-クマリン酸陰イオンへの異性化するための紫外光照射時間の最適条件を検討するために、紫外可視分光光度計を用いて各時間に対する *o*-クマリン酸陰イオン及び *o*-クマリン酸陰イオンの吸光度測定を行った。紫外可視吸収スペクトルは 1 cm 光路長の石英製試料セルに試料溶液を入れて島津製 UV-1600PC 分光光度計で測定した。

クマリンの加水分解物を異性化させるために、紫外線ランプを用いた。紫外線ランプは、東芝製 FL6.BLB (6 W) を光源としたナショナル製携帯用蛍光ランプ BF-661 を用い、励起波長を 365 nm とした。

2・2 試薬及び試料

軽油及び A 重油は東京都内のガソリンスタンドで購入した。ドデカン、ヘキサン、エタノール、ブチルアルコール、水酸化ナトリウム、クマリン、*o*-クマリン酸、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム及び臭化カリウムは、いずれも和光純薬製特級試薬を用いた。水は和光純薬製高速液体クロマトグラフ用蒸留水を用いた。

0.25 ml の油試料 (クマリンを添加した軽油、A 重油、軽油と A 重油の混合物) からクマリンを抽出するために、1.5 ml のドデカン、2 ml の混合アルコール溶液及び 1.25 ml のアルカリ性水溶液の 3 種類の抽出溶媒を調製した。混合アルコール溶液はブチルアルコールとエタノールを 4:3 の体積比で混合し調製した。アルカリ性水溶液には、100 ml の蒸留水に水酸化ナトリウムを溶解して調製したもの (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 又は 10 M、並びに 80℃ の湯浴内で調製した 25 M を室温に空冷して得た飽和溶液)、及び前述の水酸化ナトリウム水溶液に無機塩 (硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、又は臭化カリウムを 0.1, 0.5, 1, 2.4, 3.3 又は 5 M) を添加したものをを用いた。

2.3 実験方法

三層分離抽出/FL法の操作方法を以下に示す。また、比較のために従来から行われてきた二層分離抽出法についても検討した。二層分離抽出法は第三層を形成する混合アルコール溶液を加えない以外は三層分離抽出法と同様に操作した。

ドデカン、混合アルコール溶液及びアルカリ性水溶液を油試料の入ったねじ口試験管（口径 13 mm、高さ 100 mm、ガラス製）に順次添加した。ねじ口試験管をキャップして 3 分間振り混ぜた後、静置した。このとき、試験管内の溶液はすぐに三層に分離した。下層のアルカリ性水溶液のみ光路が通るように遮光した試料セルホルダーに、ねじ口試験管を固定し、5 分間、紫外線ランプ（波長 365 nm）の紫外光を照射後、励起波長 360 nm の蛍光スペクトルを測定した。

クマリンから生成した *o*-クマル酸陰イオンの蛍光強度を極大蛍光波長 500 nm の強度で測定した。なお、上記の振り混ぜ時間 3 分及び紫外光照射時間 5 分は、クマリンを含むヘキサン溶液を用いて紫外可視分光光度法により決定した。

三層分離抽出法によるクマリンの回収率は、以下のようにして求めた。まず、1 ppm のクマリンを含むヘキサン溶液を測定試料とし、アルカリ性水溶液として 2.5 M の水酸化ナトリウム水溶液を用いる。このとき得られた下層の

蛍光強度を測定した。次に、1.12 ppm の *o*-クマル酸（クマリン 1 ppm 相当）を含む 2.5 M の水酸化ナトリウム水溶液の蛍光強度を測定する。この蛍光強度を基準として、クマリンのヘキサン溶液（1 ppm）から得られた蛍光強度から回収率を算出した。

三層分離抽出法における各無機塩の消光効果を、三次元蛍光スペクトルから得た極大蛍光ピーク強度及び励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm での蛍光強度で評価した。このとき、試料として軽油及びクマリンを含むヘキサン溶液を用いた。そして、三層分離抽出/FL法が A 重油を種々の割合で混ぜた混合軽油の識別に有効か否かを検討した。

3 結果と考察

3.1 三層分離抽出法とその利点

本法のクマリンの回収率は 3 回平均で 95% であった。ねじ口試験管を直接試料ホルダーに固定する測定方法でも、蛍光測定は石英製セルを用いる通常の蛍光測定と遜色のない測定が可能である。そこで、操作の簡便性を考慮してねじ口試験管をセルの代わりに用いた。

0.25 ml の軽油試料、1.5 ml のドデカン、1.25 ml のアルカリ性水溶液（水酸化ナトリウム 0~10 M）及び 2 ml の混合アルコール溶液を 3 分間振り混ぜ静置させて分離の程度を観察した結果を Fig. 1 に示す。水酸化ナトリウムが 1~10 M のアルカリ性水溶液を用いた場合、透明な三

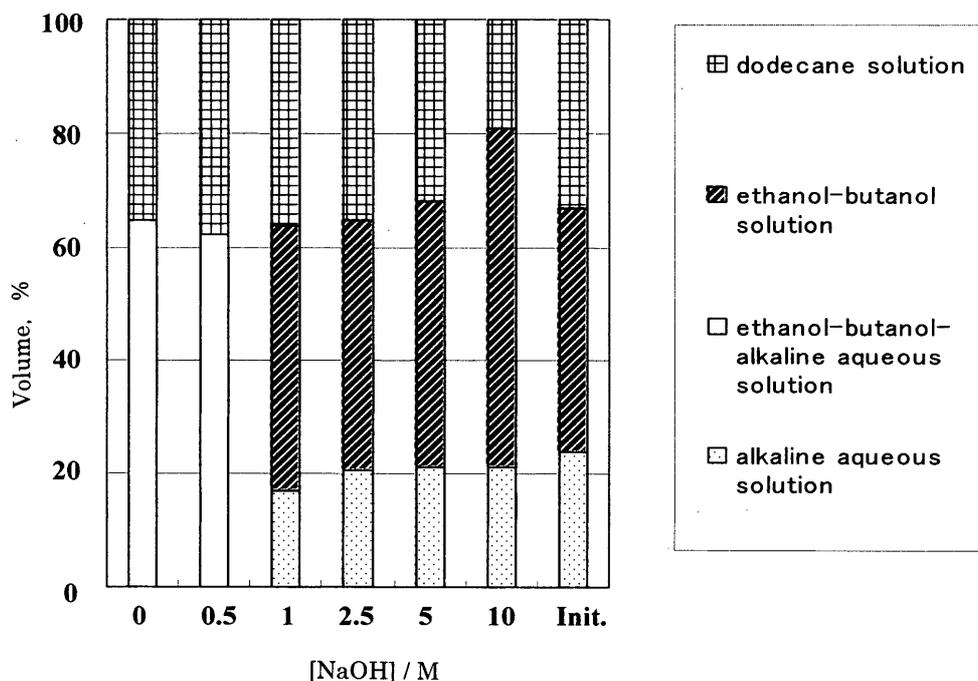


Fig. 1 Volume percentage of solvent layers separated after excitation procedure using 0.25 ml of gas oil, 1.5 ml of dodecane, 2 ml of butanol-ethanol, and 1.25 ml of aqueous solution with 0, 0.5, 1, 2.5, 5, or 10 M of sodium hydroxide

Init.: Initial state of the three solvent layers

層に分離し、上層、中間層、下層は、それぞれドデカン溶液、混合アルコール溶液及びアルカリ性水溶液から成る。しかし、0.5 M 以下の水酸化ナトリウムのアルカリ性水溶液を用いた場合には、アルカリ性水溶液層と混合アルコール溶液層が分離しなかった。また、水酸化ナトリウムの飽和水溶液をアルカリ性水溶液に用いた場合、ドデカン溶液層と混合アルコール溶液層が分離せず、アルカリ性水溶液層に水酸化ナトリウムの白濁沈殿が認められた。

水酸化ナトリウムが 1~10 M のアルカリ性水溶液を用いた場合に分離する三層への軽油中に含まれる蛍光物質の分配について検討した。アルカリ性水溶液 (2.5 M 水酸化ナトリウム溶液)、混合アルコール溶液、ドデカン溶液の各抽出溶媒層の極大蛍光強度比はそれぞれ 0.2 : 45 : 55 であった。一方、二層分離抽出法の場合、アルカリ性水溶液及びドデカン溶液の各抽出溶媒層の極大蛍光強度比はそれぞれ 6.6 : 93 となった。これらの結果から混合アルコール溶液を加えることにより、軽油中の蛍光物質のアルカリ性水溶液への抽出を抑制できることが明らかになった。

次に、軽油及びクマリンを 1 ppm 含むヘキサン溶液を試料とし、三層分離抽出法及び二層分離抽出法を行い、得た各アルカリ性水溶液の蛍光強度を測定した。結果を Figs. 2(a)~(c) に示す。ヘキサンからのクマリンの抽出は、いずれの方法においても水酸化ナトリウムの濃度にかかわらず、ほぼ一定であった {Fig. 2(c)}。このことは、クマリンの抽出が水酸化ナトリウム濃度には依存しないことと、水酸化ナトリウムには消光効果がないことを示唆している。

一方、軽油を試料とした Fig. 2(a) の結果から、三層分離抽出法において水酸化ナトリウムの添加によりアルカリ性水溶液の蛍光強度が著しく低下していることが分かる。これに対して、二層を形成する従来法では、蛍光強度の低下はほとんど認められない。これらの結果に加え、(a) では (b) に比べて測定された蛍光強度が 30 倍以上大きい。これらのことを考慮すると、2.5 M 以上の水酸化ナトリウム水溶液を用いた場合、軽油に含まれる蛍光物質の大部分は、混合アルコール溶液層へ分配しているものと推測される。

また、*o*-クマル酸陰イオンが極大蛍光強度を与える励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm で測定した結果を示した (b) の結果から、従来法では水酸化ナトリウム濃度の増加とともに減少するものの、三層分離抽出法では、水酸化ナトリウム濃度 5 M までは蛍光強度に影響は与えなかった。この原因についてはまだ明らかではないが、この結果は 1~5 M の水酸化ナトリウムを抽出液とする三層分離抽出法により、クマリンを正確に定量できることを示唆している。そこで、本研究では、水酸化ナトリウム 2.5 M のアルカリ性水溶液を用いて以下の実験を行った。

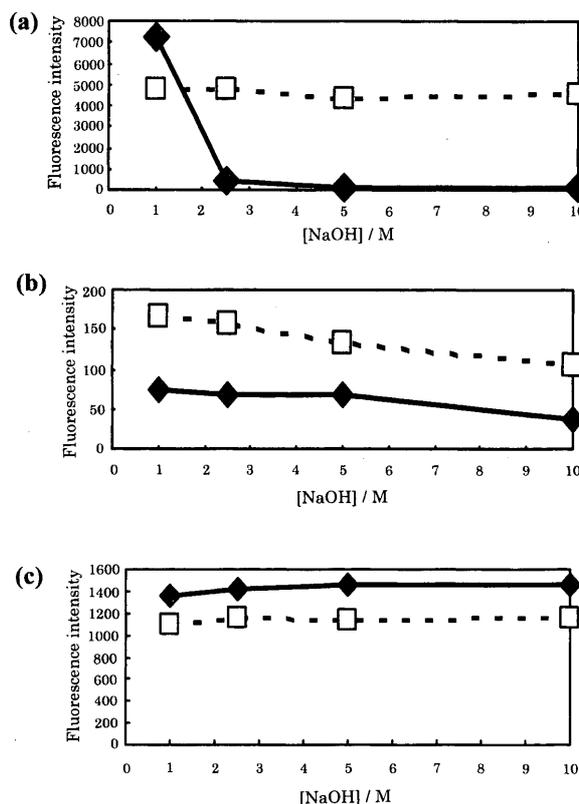


Fig. 2 Effect of sodium hydroxide concentration (1, 2.5, 5, or 10 M) in the alkaline solution on fluorescence intensities of the alkaline solution

(a): highest fluorescence peak intensity of the alkaline solution extracted from 0.25 ml of gas oil; (b) and (c): fluorescence intensities at excitation wavelength of 360 nm and emission wavelength of 500 nm of the alkaline solutions extracted from 0.25 ml of gas oil and 0.25 ml of hexane solution containing 1 ppm of coumarin, respectively; ◆: three-layer extraction using dodecane, butanol-ethanol, and alkaline aqueous solution; □: two-layer extraction without butanol-ethanol

3.2 クマリンから蛍光性 *o*-クマル酸陰イオンへの振り混ぜ時間と紫外光照射時間の検討

アルカリ性水溶液を加えた際に生じるクマリンの加水分解、抽出そして異性化反応については既に検討されている²⁾。ここでは、三層分離抽出法によるクマリンの加水分解、抽出、異性化反応について検討した。クマリン、*o*-クマリン酸陰イオン、*o*-クマル酸陰イオンの構造式及び紫外可視吸収スペクトルを Fig. 3 に示す。クマリンは 271, 277, 282 及び 312 nm に吸収極大を与える。一方、*o*-クマリン酸陰イオンは 333 nm に吸収極大を与えるので、この波長の吸光度を測定することで加水分解反応をモニタリングすることができる。検討の結果、試料は振り混ぜ時間 0.25 分以上で生成する *o*-クマリン酸陰イオンの吸光度は一定となった。本研究では振り混ぜ時間を 3 分とした。

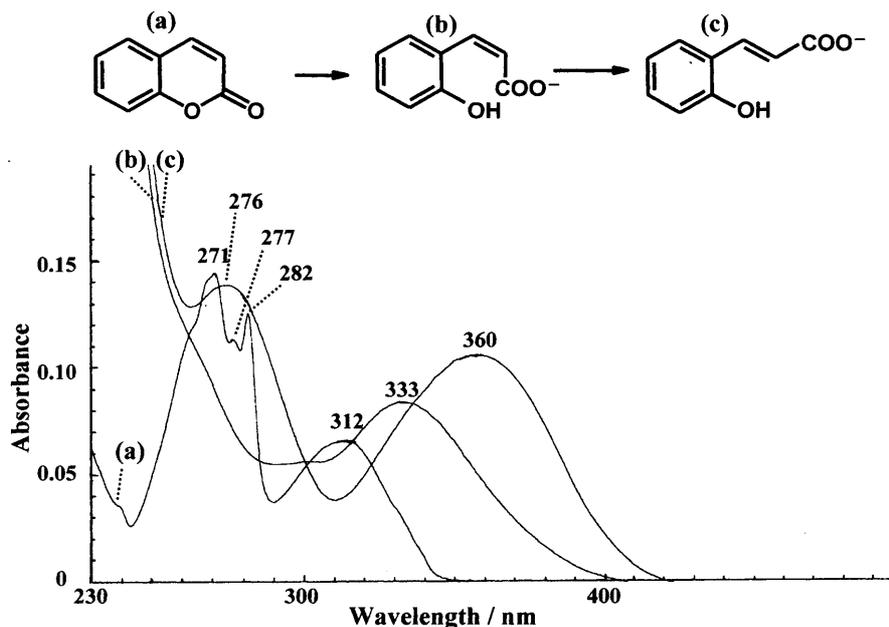


Fig. 3 UV/Vis absorption spectra (10 ppm) and chemical structures of coumarin in hexane (a), *o*-coumarinate anion extracted in alkaline aqueous solution (b), and *o*-coumarate anion isomerized by ultraviolet light in the solution (c)

次に、紫外光照射による *o*-クマリン酸陰イオンの *cis* 体から *trans* 体への異性化に必要な紫外光照射時間についても紫外可視分光光度法で検討した。5 分間紫外光照射後のアルカリ性水溶液中で異性化した *o*-クマリン酸陰イオンの紫外可視吸収スペクトルを測定すると 276 及び 360 nm に吸収ピークが得られ (Fig. 3(c)), 異性化量をこれらの吸光度から知ることができる。試料は 3 分間振り混ぜた後のアルカリ性水溶液を用いた。試料を紫外線ランプで 0.25~8 分間紫外光照射後、測定された 360 nm の各吸光度を Fig. 4 に示す。照射時間 2 分程度で *o*-クマリン酸陰イオンの吸光度の増加は止まり一定になった。本研究では照射時間を 5 分間とした。

3.3 軽油中の蛍光物質に対する無機塩の消光効果

油中からアルカリ性水溶液に抽出されるクマリン以外の蛍光物質に対する無機塩の消光効果について検討した。まず、1.12 ppm の *o*-クマリン酸を含む 2.5 M 水酸化ナトリウムのアルカリ性水溶液に、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム又は臭化カリウムの各無機塩の添加濃度を変化させて、*o*-クマリン酸陰イオンの蛍光強度を測定したところ、消光効果は認められなかった。次に、軽油を試料として、三層分離抽出法における無機塩の添加効果についても同様に検討した。結果を Figs. 5(a), (b) に示す。なお、硝酸ナトリウム、硝酸カリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム及び臭化カリウムは、アルカリ性水溶液への溶解度⁸⁾の相違からそれぞれ 0~5 M, 0~2.4 M,

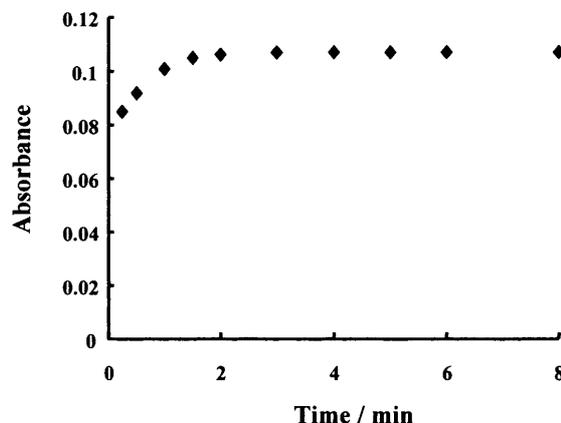


Fig. 4 Effect of irradiation time of ultraviolet ray on isomerization of *o*-coumarinate anion (10 ppm) to *o*-coumarate anion

0~3.3 M, 0~2.4 M 及び 0~2.4 M の濃度範囲で検討した。Fig. 5(a) では極大蛍光ピーク強度をプロットしており、Fig. 5(b) では、*o*-クマリン酸陰イオンが極大の蛍光強度を与える励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm における蛍光強度を示す。各無機塩の濃度が増加すると蛍光強度が低下した。このことは、これらの無機塩が軽油から抽出されてくる蛍光物質に対して消光効果を持つことを示唆している。また、軽油からアルカリ性水溶液に抽出されてくる蛍光物質に対する各無機塩の消光効果は硝酸ナトリウム>塩化ナトリウム>臭化カリウムの順に良好であった。とりわ

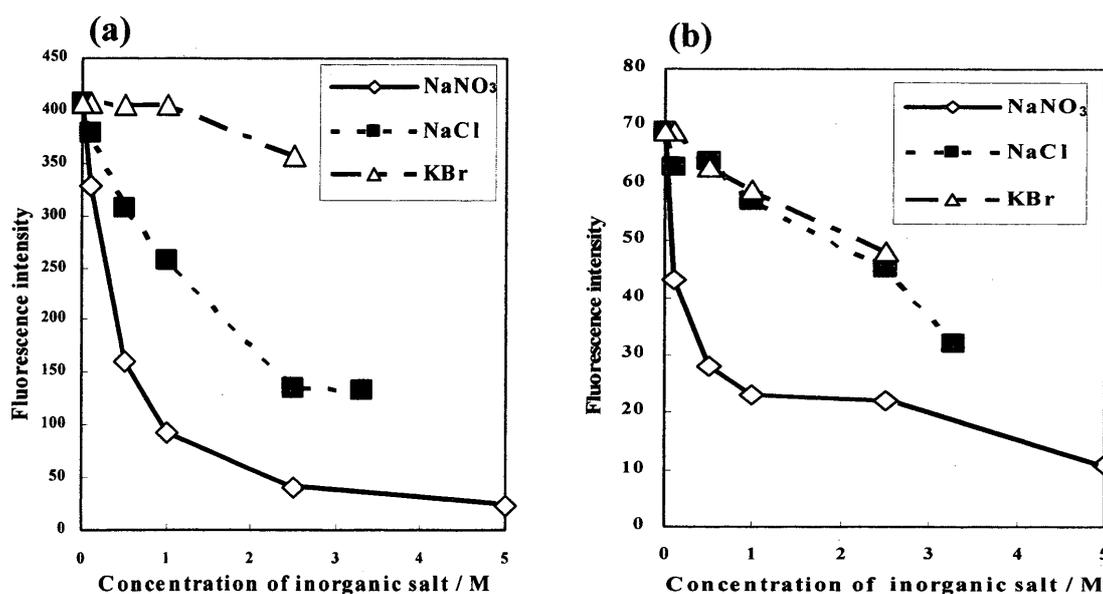


Fig. 5 Quenching effect of inorganic salts in the alkaline solution on the intensity of the alkaline solution (2.5 M of sodium hydroxide) extracted from 0.25 ml of gas oil

(a): fluorescence intensities of highest fluorescence peak; (b): fluorescence intensities at excitation wavelength of 360 nm and emission wavelength of 500 nm; ◇: 0 to 5 M of sodium nitrate; ■: 0 to 3.3 M of sodium chloride; △: 0 to 2.5 M of potassium bromide

け, 2.4~5 M の濃度範囲の各無機塩を用いた場合が軽油中の蛍光物質の消光効果が最も良好であった. 本研究では 2.4 M の各無機塩を選んで以後の検査を行った.

硝酸塩の添加効果が, 塩化物や臭化物よりも優れているのは以下の理由によるものと推測した. 塩化物や臭化物では紫外可視波長領域に吸収バンドは見られないが, 硝酸ナトリウムは, 波長 302 nm (モル吸光係数 $6.7 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 及び 224 nm (モル吸光係数 $1.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) に吸収バンドをもつ. 硝酸カリウムも同様な吸収バンドをもつ. それらの影響で 2.4 M の硝酸塩を添加したアルカリ性水溶液の波長 340 nm 以下の励起により発生する蛍光は吸収され, 三次元蛍光スペクトルからは検出されない. そのため, 2.4 M の硝酸塩を用いると励起波長 325 nm/蛍光波長 383 nm に極大蛍光強度を示す軽油中の蛍光物質は他の無機化合物塩よりも消光できると考えられる. そして, 硝酸塩を消光剤に用いた場合, *o*-クマル酸陰イオンの三次元蛍光スペクトルも励起波長 340 nm 以下では認められなかった. しかし, 塩化物や臭化物では励起波長 340 nm 以下でも *o*-クマル酸陰イオンの三次元蛍光スペクトルが認められた.

カリウム塩の消光効果は相当するナトリウム塩の効果とほぼ同程度であった. なお, 2.4 M の硝酸カリウムを用いた場合, そのナトリウム塩と異なって, 抽出操作後の静置の間にアルカリ性水溶液層中で一部結晶として析出し, 蛍光の測定を妨害した. そのため, この場合のみ, 結晶を含まないように注意してアルカリ性水溶液層のみを別の試験管に移して蛍光測定を行った.

3・4 A 重油を混ぜた混合軽油の三層分離抽出/蛍光分光光度法による識別

A 重油を軽油に 0~100% の種々の体積割合で混ぜた混合軽油を試料に用いて, 3 種類の抽出溶媒のうちアルカリ性水溶液に無機塩を添加しない場合と, 添加した場合の各抽出法により得たクマリンの定量検査を試験した. 調製した混合軽油から得られた三次元蛍光スペクトルを Fig. 6 に示す.

A 重油の割合を 0% (すなわち軽油 100%), 10%, 50%, 100% とした油試料を用い, 無機塩を含まないアルカリ性水溶液で抽出したときの三次元蛍光スペクトルを Figs. 6(a-1)~(a-4) に示す. 360 nm 励起による蛍光スペクトルの極大波長が常に *o*-クマル酸陰イオンの極大波長 500 nm から 2~14 nm ずれてしまうため, 正確な識別が行えなかった. 一方, 上記試料を用い, 抽出液に塩化物及び臭化物を含むアルカリ性水溶液を用いた際に得られた三次元蛍光スペクトルは, いずれも類似していた. 塩化物を含む条件で測定したスペクトルを Figs. 6(b-1)~(b-4) に示す. また, 硝酸塩を添加したアルカリ性水溶液の三次元蛍光スペクトルは Figs. 6(c-1)~(c-4) に示す. A 重油 5% 以上の混合軽油試料に対しては, 塩化物, 臭化物, 硝酸塩を添加したアルカリ性水溶液の 360 nm 励起による蛍光スペクトルは, いずれも同様に極大波長を 500 nm に持つ *o*-クマル酸陰イオンのスペクトルが得られた.

各無機塩を消光剤としたときに得られた A 重油の含有率と蛍光強度との相関, すなわち検量線を Table 1 に示す.

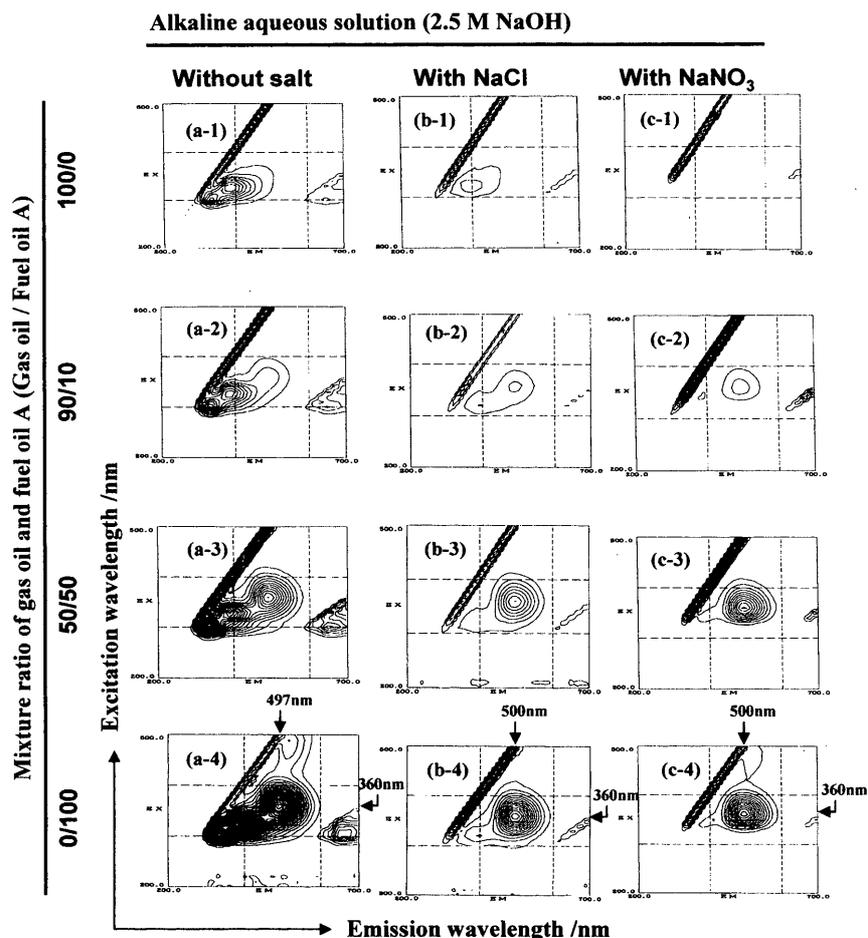


Fig. 6 Three dimensional emission spectra of 2.5 M sodium hydroxide of alkaline aqueous solution with and without inorganic salt extracted from mixture of gas oil and fuel oil A

(a-1), (a-2), (a-3), and (a-4): the spectra of the solution without the salt; (b-1), (b-2), (b-3), and (b-4): the spectra of the solution with sodium chloride; (c-1), (c-2), (c-3), and (c-4): the spectra of the solution with sodium nitrate; (a-1), (b-1), and (c-1): the spectra of the solution extracted from gas oil; (a-2), (b-2), and (c-2): the spectra of the solution extracted from the mixture of gas oil and fuel oil A (10 : 90); (a-3), (b-3), and (c-3): the spectra of the solution extracted from the mixture (50 : 50); (a-4), (b-4), and (c-4): the spectra of the solution extracted from fuel oil A

Table 1 の x は混合軽油中の A 重油の濃度体積百分率 (%) を示し, y は励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm の蛍光強度を示している. 各無機塩を添加した場合, 混合軽油中の A 重油の濃度体積百分率 5 ~ 100% の範囲で, 相関係数の自乗 $r^2 = 0.996 \sim 0.999$ の直線関係が得られ, 5% 以上の A 重油を軽油に混合した油試料では, 本法によりその混合割合を識別できる. 灯油は A 重油に比べて蛍光物質が少ないので, A 重油の代わりに灯油を含む混合軽油にも本法は応用可能と考えられる.

以上の結果, 本分析法は不正ディーゼル燃料油の検査に適用可能であり, アルカリ性水溶液中の消光剤には硝酸塩が最も有効であった.

Table 1 Regression analysis between fluorescent intensity and gas oil content in mixture with fuel oil A and gas oil

Quencher	Equation of linear regression curve
NaNO ₃	$y = 7.293x + 30.6$ ($r^2 = 0.997$)
KNO ₃	$y = 7.397x + 20.4$ ($r^2 = 0.997$)
NaCl	$y = 7.181x + 33.3$ ($r^2 = 0.997$)
KCl	$y = 7.792x + 35.0$ ($r^2 = 0.996$)
KBr	$y = 7.694x + 31.5$ ($r^2 = 0.999$)

x : Content of fuel oil A in gas oil mixture; y : Peak intensity measured at 500 nm in emission spectra (exciting at 360 nm).

文 献

- 1) 西川輝彦: *Petrotech*, **13**, 611 (1990).
- 2) F. Feigl, H. E. Feigl, D. Goldstein: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4162 (1955).
- 3) 軽油識別剤分析方法標準委員会: “軽油識別剤標準分析方法”, (1994), (全国石油協会).
- 4) M. Groner, A. R. Muroski, M. L. Myrick: *Marine Pollution Bulletin*, **42**, 935 (2001).
- 5) 脇田光明, 柳沢和博, 松永充史: 石油学会誌, **37**, 561 (1994).
- 6) 三井利幸, 肥田宗政, 奥山修司: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47**, 55 (1998).
- 7) R. M. S. Celeghini, J. H. Y. Vilegas, F. M. Lancas: *J. Braz. Chem. Soc.*, **12**, 706 (2001).
- 8) 化学大辞典編集委員会編: “化学大辞典”, (1987), (共立出版).

要 旨

クマリンを含む油類の識別のための簡便な定量分析法として三層分離抽出/蛍光分光光度法を開発した。1 ppm のクマリンを添加した軽油中からのクマリンの抽出操作を1本のねじ口試験管内で行い、そのまま分析試料に用いた。油試料 0.25 ml とドデカン 1.5 ml, 混合アルコール溶液 2 ml 及びアルカリ性水溶液 1.25 ml とを3分間振り混ぜた後、三層に分離した最下層のアルカリ性水溶液層に5分間紫外光を照射して得た *o*-クマル酸 (*trans-o*-オキシケイ皮酸) 陰イオンの定量分析を行った。その際、油中の蛍光物質もアルカリ性水溶液層に抽出され、それらは *o*-クマル酸陰イオンの定量を妨害した。これを抑制するための消光剤として、硝酸塩、塩化物、臭化物の添加が有効であった。本法による励起波長 360 nm/蛍光波長 500 nm での蛍光強度の検量線は、混合軽油中の A 重油混入率が 5~100% の範囲で直線性 (相関係数の自乗 $r^2 = 0.996 \sim 0.999$) が得られた。