

総合論文

フローインジェクション分析/溶媒抽出を利用する医薬品及び
環境汚染物質の高感度分析大野 典子^{®1}, 酒井 忠雄²Sensitive and selective flow-injection analysis coupled with solvent-extraction for
the determination of pharmaceuticals and environmental pollutantsNoriko OHNO¹ and Tadao SAKAI²¹ Chemistry Laboratory, School of Business Administration, Asahi University, 1851, Hozumi, Mizuho-shi, Gifu 501-0296² Department of Applied Chemistry, Aichi Institute of Technology, 1247, Yachigusa, Yakusa-cho, Toyota-shi, Aichi 470-0392

(Received 27 November 2003, Accepted 20 January 2004)

Sensitive and selective flow injection systems coupled with liquid-liquid extraction were proposed. Extraction/FI systems were applied to the determination of quaternary ammonium salts (R_4N^+) in pharmaceuticals, anionic surfactant and dissolved oxygen in environmental water samples. A homemade thermo-controlled flow cell was used for the selective determination of cationic surfactants. Also, several kinds of phase separators were designed. Especially, a double-membrane phase separator gave efficient and constant separation with long-term continuous runs. Consequently, the proposed solvent-extraction/FIA systems are useful for the analyses of pharmaceuticals and environmental pollutants.

Keywords : flow-injection analysis coupled with solvent-extraction; double-membrane phase separator; thermo-controlled flow cell; pharmaceuticals; environmental pollutants.

1 緒 言

臨床化学分析, 環境物質のモニタリング, 医薬品の品質管理など多くのサンプルを処理する必要がある分野で, 分析手法の迅速化, 自動化が重要な課題である. 1975年に Ruzicka と Hansen¹⁾ が連続流れを利用するフローインジェクション分析 (FIA) 法を発表して以来, 少試薬・迅速性・再現性に優れた実用性の高い自動分析法として急速に発展してきた. 臨床化学の分野ではオートアナライザー方式による多成分自動分析が行われているが, 流れの中に空気を挿入し, 各分節内での拡散平衡を完結させた定常状態で測定しているので, 分析速度が遅く, また気泡を除去す

る必要があり, 装置が複雑で大型である.

FIA 法は細管の中を試料と試薬が流れていく間に反応が起こり, その反応生成物を検出する方法である. 試料が検出器まで到達する時間が反応時間に相当し, ポンプ流量により正確に制御されているので, 高い再現性が得られる. 一般に細管として内径 0.5 mm のポリテトラフルオロエチレン (PTFE) チューブが用いられ, $0.5 \sim 1 \text{ ml min}^{-1}$ の流量で試薬が流され, $20 \sim 200 \mu\text{l}$ ほどの試料が注入される. したがって, 試料の量や試薬溶液の量も少なく, 廃液量もごく少量である. 最近, 数 $\mu\text{l min}^{-1}$ オーダーの流量で検出する μFIA ²⁾ 法や溶融シリカキャピラリーを用いる超マイクロ FIA³⁾ 法が開発され, 試薬, 試料, 廃液の極微量化も図られている. また, 廃液をもう一度リザーバーに戻し再利用するゼロエミッション型のサイクリック FIA⁴⁾ 法も開発され, FIA 法は環境配慮型分析法のひとつとして利点

¹ 朝日大学経営学部化学教室: 501-0296 岐阜県瑞穂市穂積 1851² 愛知工業大学工学部応用化学科: 470-0392 愛知県豊田市八草町八千草 1247

も大きい。

しかし、FIA 法では分離機能を有しないため、試料中に含まれる共存物質の影響を抑制することが重要である。溶媒抽出は共存物質の除去、目的物質の分離、あるいは濃縮の目的で前処理法としてよく利用されている。バッチマニュアル法による溶媒抽出操作には 10 数分から数時間以上の時間を要し、また分液漏斗など多種類の器具を用いそれらの洗浄にも多大な労力を費やす。FIA システムの中に溶媒抽出を組み込むことで前処理の自動化が容易となり、操作も簡便になる。種々の器具も不要である。使用する抽出溶媒の量は少なく、また有機溶媒が細管内の閉鎖系を流れるので、揮発して実験室内の環境を汚染することがない。

溶媒抽出の FIA 法への導入は、1978 年 Karlberg と Thelandar⁵⁾、Bergamin ら⁶⁾により報告されたが、有機相との分離などシステムが複雑となるため、水溶液反応による FIA 法に比べ報告数は少ない。Motomizu らは環境水中の界面活性剤などの定量システム^{7,8)}を報告し、総説⁹⁾には溶媒抽出/FIA システムの基本的条件、セグメンターやセパレーターの機能の検討などが詳細に解説されている。著者らは溶媒抽出を組み込んだ FIA システムの機能向上を図り、医薬品に含まれる第四級アンモニウム塩 (R_4N^+)、河川水中の界面活性剤や溶存酸素を選択的に高感度に定量することができるフローシステムの開発を行い、実用性の高い結果を得たので報告する。

2 装 置

FIA 法は一流路システムから多流路システムまで目的と手段に応じて種々のシステムが構築されているが、著者らは二流路から四流路の溶媒抽出/FIA システムを検討した。二流路系は、ダブルプランジャーポンプ 1 台と検出器、レコーダーがあれば組み立てることができ、最も単純な FIA/抽出システムといえる。このシステムは水相と有機相の流量比が 1:1 であるが、流量比を変化させたい場合はシングルプランジャーポンプ 2 台を使用する。また、試薬を順次添加したい場合は三あるいは四流路のシステムを組む必要がある。

以下の装置を用いて、二流路、三流路 FIA システムを組立てた。吸光検出には日本分光製 UVIDEC-100VI 型検出器又は相馬光学製 S-3250 型検出器を、蛍光検出には相馬光学製 S-3350 型蛍光検出器を用い、東亜電波製 FBR-251A レコーダー又は島津製 R-II レコーダーを接続した。ポンプはサヌキ工業製 DM2U-1026 型又は RX-703T 型ダブルプランジャーポンプ、日立製 L-6000 型シングルプランジャーマイクロポンプを使用した。

四流路システムには日本分光製プランジャー型 4 チャンネル全溶媒高圧ポンプ付き FIU-300N フローインジェクション装置を用い、容量 8 μ l、光路長 10 mm のテフロン

製フローセル、870-UV 型紫外可視検出器、RC-150 型記録計を接続し使用した。

サンプルの注入は六方切り替えバルブインジェクターにより行った。装置の接続と反応コイルは内径 0.5 mm の PTFE チューブを、背圧コイルには内径 0.25 mm の PTFE チューブを用いた。

3 溶媒抽出/FIA システムの機能

3.1 セグメント

水相と有機相から成るセグメントが細管内を流れていく間に目的とする物質が抽出されるため、水と有機溶媒との接触面積を大きくすると抽出効率を高めることができる。そのためには、細かなセグメントを形成させるセグメンターが有効である。Karlberg ら⁵⁾は当初ガラス細管製 T 字コネクターを用いたが、コンパクトで扱いやすい樹脂製セグメンターが種々開発された。両相の合流角度が異なる種々のセグメンターを用いて、ピークの形状の比較検討がなされ、水相の流れに 90 度で有機相が導入された場合、及びセグメントの流れ出る方向に対し 45 度の角度で両相が合流する場合に最も良いピークが得られると報告された^{7,10)}。しかしながら、抽出は PTFE チューブ内壁に薄い有機相の膜ができ、その薄膜へ分析対象物が抽出されるため、抽出コイルの長さが短い場合セグメンターの形状に抽出率が影響されるが、1 m 以上になると形状の影響は小さいと報告されている¹¹⁾。著者らは 90 度で交わるタイプのセグメンターを主に使用した。

最近 Itabashi ら^{12,13)}は、抽出コイル内に細かく切断した PTFE チップを充填し、抽出に寄与する接触面積の拡大を図り抽出率を向上させた。

3.2 相分離器

セグメントを形成し抽出コイルを流れていく間に抽出が行われ、水相か有機相のどちらかにある成分を測定するが、二相を分離しないで測定する手法も幾つか報告されている。Kina ら¹⁴⁾は分離手法を行わず有機相中の成分を蛍光測定し、Lucy¹⁵⁾は両相とも測定し各成分に含まれる物質を分別定量した。また、Canete ら¹⁶⁾は試料を含む水相の間に長い有機相を挟み、その有機相の中に検出器を置いて流れの方向を反転させながら、その有機相に抽出される物質を連続的に検出する方法を報告した。しかし、一般には相分離器を流路途中に配置して両相を分離してどちらか一方に含まれる目的成分を検出することが多い。

相分離器には、比重差を利用した T 字型のもの⁵⁾や分液漏斗型のもの、多孔性チューブを用いたもの、メンブランフィルターを用いたものがあり、その性能が検出ピークの形状や再現性、安定性を左右する。分液漏斗型相分離器は容器容積が 250~350 μ l あるため希釈拡散され、感度が低

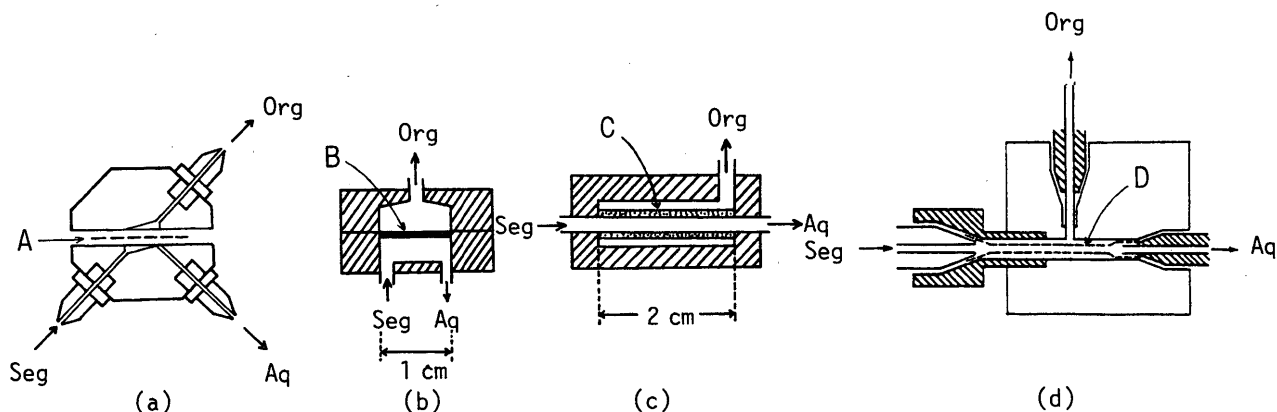


Fig. 1 Phase separator

Aq: Aqueous phase; Org: organic phase; Seg: segment; A: PTFE membrane (pore size 0.8 μm); B: Gore-tex seat filter (pore size 0.5 μm); C: Gore-tex tube (1.0 mm i.d., pore size 2.0 μm); D: PTFE tube (1 mm i.d., thickness 0.5 mm, porosity 60%, length 2.5 cm)

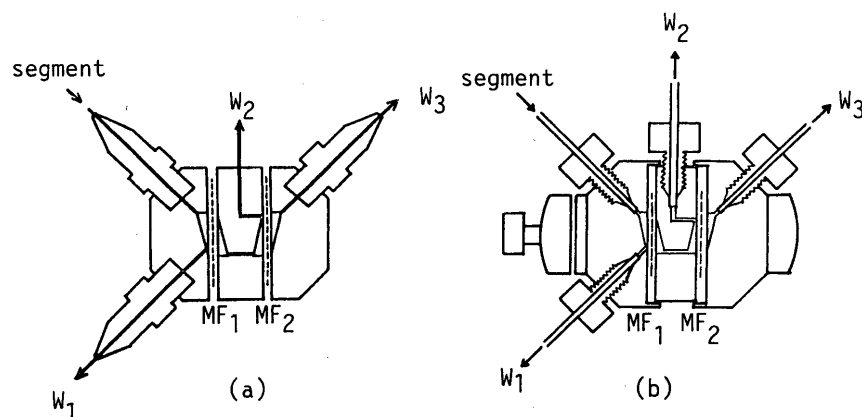


Fig. 2 Double-membrane phase separator

W₁ and W₂: exit of aqueous waste; W₃: exit of organic waste; MF₁ and MF₂: PTFE membrane (pore size 0.8 μm)

くなる¹⁷⁾. 三瀬¹⁸⁾は多孔性チューブを用いた分離器を製作し, 30時間以上の連続使用も可能であると報告した. Kawase¹⁰⁾はメンブランフィルターを挟んだコネクタタイプの分離器を, Motomizuら⁷⁾は2つの樹脂ブロックでフィルターを挟むタイプの分離器を種々作製し, 相分離器の性能比較を行った.

著者らも Fig. 1 に示す4つのタイプの相分離器を用い性能を比較した. (a) と (b) はメンブランフィルター型, (c) と (d) は多孔性チューブ型である. (a) は文献⁷⁾に示されている. (b) と (c) はプロモフェノールブルー (BPB)-キニーネ-ベンザルコニウム会合体の抽出¹⁹⁾に適用したが, (b) の Gore-tex 膜を挟んだタイプがピーク高さ, 迅速性に優れていた. (a) と (d) はテトラプロモフェノールフタレインエチルエステル (TBPE)-第四級アンモニウム塩会合体の抽出²⁰⁾に使用したが, (d) 型の多孔性チューブ型はピークがブロードになり迅速性に欠けた. (a) の相分離器はコンパクトで分離器の溝部分が 0.2 cm \times 1 cm,

深さも最大 0.2 cm と小さいため, サンプルの希釈が起これずシャープなピークが得られ, また PTFE 膜の交換も簡単にできる利点がある.

メンブランフィルター型相分離器は PTFE 膜の親油性を利用して, 水を通さず有機溶媒のみを通過させ検出器に導くものであるが, 長時間測定していると, PTFE 膜が目詰まりしたり水への親和性が増したりして水が通過することがある. 水が通過してしまうと, 流路や検出器を洗浄したり, 相分離器のフィルターを交換したりと煩雑な操作を行わなければならなくなり, できるだけ長時間安定した状態で相分離できることが望ましい. そこで, 2つの相分離器を直列につないで, ひとつの相分離器が水が通過しても次の分離器で排除できるシステムを組み長時間の連続運転を可能にした²¹⁾. この方法は長時間安定した膜分離が可能で有機溶媒のみを検出器に導入できるメリットがあるが, 相分離器が2つ必要であり, システムを複雑にするため, 著者らは1つの相分離器で同様な効果が得られるコンパ

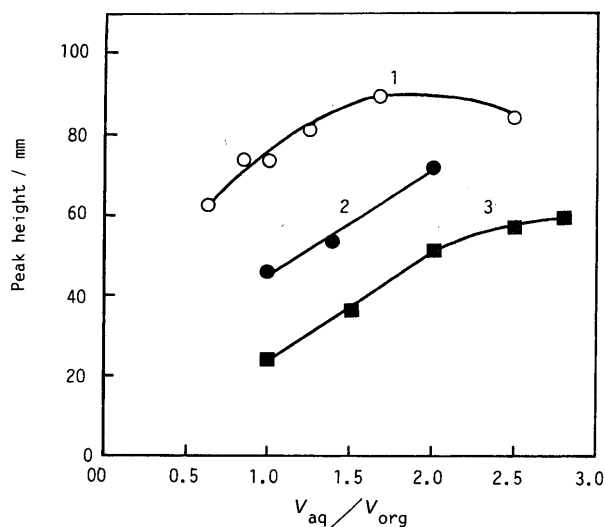


Fig. 3 Effect of the ratio of aqueous flow rate to organic flow rate on peak heights

1: 1×10^{-4} mol dm $^{-3}$ benzalkonium-quinine-BPB associate, Wavelength: 610 nm; 2: 2.5×10^{-8} mol dm $^{-3}$ berberine-ClO $_4^-$ associate, λ_{ex} : 355 nm, λ_{em} : 517 nm; 3: 0.25 ppm dodecylsulfate-malachite green associate, Wavelength: 626 nm

クトな相分離器を開発した。Fig. 2 にその構造を示す。相分離器の間に 1 cm \times 1 cm \times 3 cm のブロックを挿入し、その前後に PTFE 膜を挟み込むタイプのダブルメンブラン相分離器である。この相分離器は耐久性に優れ、1 週間以上 PTFE 膜を交換することなく安定な相分離が可能となった^{22)~24)}。

3.3 流量とピーク高さ

水相の目的物質を有機相に抽出し、その抽出化合物を測定するため、水相の流量 (V_{aq}) と有機相の流量 (V_{org}) が抽出率や拡散に影響を与える。Motomizu ら²⁵⁾は V_{aq}/V_{org} が 2 のとき最大の抽出率が得られ、流量比がそれより大きくても小さくても両相の混合が悪くなり、抽出率が小さくなることを報告している。Fig. 3 に流量比 (V_{aq}/V_{org}) とピーク高さの検討をした結果を示す。曲線 1 は BPB-キニーネ-ベンザルコニウム会合体の抽出、曲線 2 はベルベリン-過塩素酸イオンの抽出、曲線 3 は陰イオン界面活性剤-マラカイトグリーンの抽出におけるそれぞれの検出ピークの高さである。予測されることであるが、 V_{org} に対し V_{aq} が少ないとピークは低く、 V_{aq} が多くなるとピークが高くなり、これは抽出による濃縮効果を示す。また両液全体の流量が大きくなると、拡散が小さくなりピーク幅が狭くピーク高さが高くなるが、流量比が 2 あるいは 2.5 を超えると抽出率が小さくなりピーク高さが一定となる。全体の流量が大きくなると、相分離器にかかる液圧が高くなり、PTFE 膜を水が通りやすくなる。したがって、膜分離も良

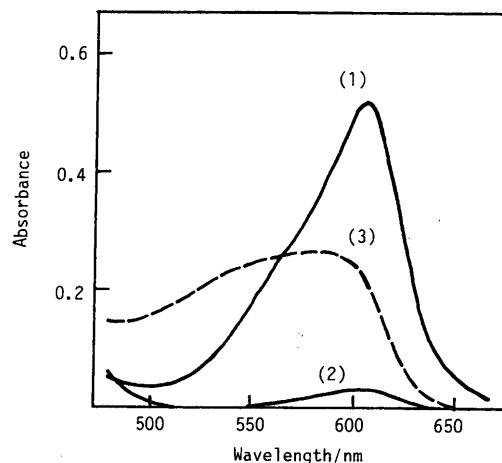


Fig. 4 Absorption spectra of ion-associates with diprotic acid dye

(1): Benzethonium-quinidine-BPB associate; (2): Benzethonium-BPB associate; (3): Quinidine-BPB associate; Concentration: 2×10^{-6} mol dm $^{-3}$ benzethonium, 2.4×10^{-5} mol dm $^{-3}$ quinidine, 3×10^{-5} mol dm $^{-3}$ bromophenol blue (BPB); pH: 7.8; Reference: reagent blank for (1), water for (2) and (3)

好で高いピークが得られる $V_{aq}/V_{org} = 1 \sim 2$ の範囲が適切であることが分かった。

4 医薬品中の第四級アンモニウム塩の定量

4.1 二塩基酸色素を用いる抽出/FIA

BPB やプロモクレゾールグリーン (BCG) などの二塩基酸色素 (H_2A) は古くからアミン類 (R_3N) や第四級アンモニウム塩 (R_4N^+) の抽出定量試薬として用いられている²⁶⁾²⁷⁾。二塩基酸色素は pH 3~4 以下では 1 価の陰イオン (HA^-) として存在するため、 R_3N や R_4N^+ と 1:1 の黄色会合体を形成する。しかし、この領域では両者共に会合体を形成するため選択性に欠ける。また、塩基性では A^{2-} として存在するため、 R_4N^+ と 1:2 会合体を形成する。この領域では R_3N は会合体を形成しないため、 R_4N^+ のみを定量することができ、選択性は向上するが、検量線の直線性が悪く定量範囲が狭い欠点がある。一方、BPB が中性付近で分子の大きなキニーネ (Q) と 1:2 会合体 $A^{2-} \cdot (HQ^+)_2$ を形成することが報告されている²⁸⁾。著者らはこの中性領域でキニーネと R_4N^+ が共存すると $A^{2-} \cdot HQ^+ \cdot R_4N^+$ から成る 1:1:1 会合体が形成され、 R_4N^+ の抽出性が数倍向上することを見いだした²⁹⁾。キニーネの光学異性体であるキニジン (Qd) にも同様の会合体を生成し R_4N^+ を共抽出する効果がある³⁰⁾。Fig. 4 に pH 7.8 で抽出された BPB 会合体の吸収スペクトルを示す。曲線 (3) は $BPB^{2-} \cdot (HQd^+)_2$ 会合体で 590 nm に吸収極大がある。曲線 (2) は $BPB^{2-} \cdot (R_4N^+)_2$ 会合体のスペクトルでほとんど抽出されないが、Qd が共存すると吸収極大が 610 nm の

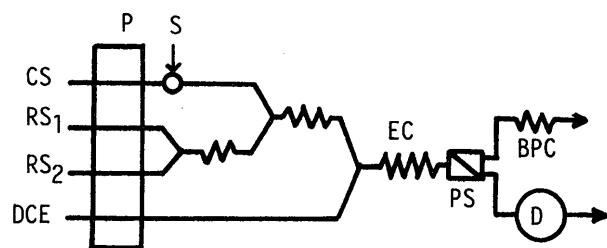


Fig. 5 Flow diagram for benzalkonium determination using co-extraction with BPB and quinine

CS: Phosphate buffer (pH 7.5); RS₁: 1×10^{-4} mol dm⁻³ Quinine; RS₂: 5×10^{-4} mol dm⁻³ bromophenol blue (BPB); DCE: 1,2-dichloroethane; EC: extraction coil (0.5 mm i.d. \times 4 m); BPC: Back pressure coil (0.5 mm i.d. \times 3 m); PS: Phase separator; D: Spectrophotometric detector (610 nm); P: Four channel plunger pump (flow rate, CS 0.75 ml min⁻¹, RS₁ 0.25 ml min⁻¹, RS₂ 0.25 ml min⁻¹, DCE 1.25 ml min⁻¹); S: sample (100 μ l)

吸収スペクトル {曲線 (1)} が得られ, $\text{BPB}^{2-} \cdot \text{HQd}^+ \cdot \text{R}_4\text{N}^+$ 会合体が抽出されることが分かる. この共抽出を利用して R_4N^+ を Q (又は Qd) 共存下で抽出すると検量線の直線性, 検出感度も向上し, またこの pH 範囲では R_3N は抽出されないため選択性も高い. そこで, FIA 法に導入して共抽出効果による R_4N^+ の定量を検討した.

四流路システム (Fig. 5) を用いた¹⁹⁾. 試料溶液はキャリアー (緩衝液, pH 7.5) に注入され, キニーネ溶液及び BPB 溶液と混合された後, 抽出溶媒 1,2-ジクロロエタン (DCE) と合流する. セグメントが形成され, 4 m の抽出コイルで 1 : 1 : 1 会合体が抽出され, 相分離器 {Fig. 1(b)} で有機相と水相とが分離された後, 有機相の吸光度が 610 nm で測定される. 定量範囲は $2 \times 10^{-5} \sim 1.5 \times 10^{-4}$ mol dm⁻³, RSD は 1%, サンプル処理数は 1 時間当たり 24 であった. 本システムは四流路であるため迅速性と感度が十分でなかった. そこでシンプルなラインで定量する方法を検討した.

Q あるいは Qd, 二塩基酸色素 BPB, BCG, プロモクロロフェノールブルー (BCPB) などは有機溶媒に溶けるため, 抽出溶媒である 1,2-DCE に溶解して用いた. シンプルな二流路システムを用い, 感度と迅速性を向上させた³¹⁾. 一方から緩衝液を, もう一方から 1×10^{-4} mol dm⁻³ BPB (又は BCPB) - Qd を含む 1,2-DCE を送液した. 緩衝液に試料溶液が注入され有機相と混合すると水相中の R_4N^+ が 1 : 1 : 1 会合体として有機相に抽出される. この会合体形成は式 (1) で表される.

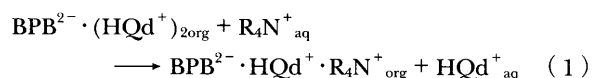


Table 1 Effect of foreign substances on the determination of benzethonium by the extraction/FI method using co-extraction with BCPB-Qd

Substances	[Substance]	Recovery, %
	[Benzethonium]	
Papaverine	100	103
Procaine	50	98
Eserine	30	101
Dibucaine	30	100
Chlorpheniramine	5	102
Methylephedrine	50	100
Triethylamine	50	102
Neostigmine	0.5	98
Acrinol	0.5	99
Sparteine	0.05	100
Tetramethylammonium	100	98
Tetraethylammonium	50	99

Benzethonium: 2×10^{-5} mol dm⁻³; Bromochlorophenol blue (BCPB): 4×10^{-5} mol dm⁻³; Quinidine (Qd): 1×10^{-4} mol dm⁻³, pH: 7.8

本システムは二流路であるため試料の希釈が小さく, $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5}$ mol dm⁻³ の範囲のベンゼトニウムやベルベリンの定量が可能であった.

抽出 pH は 7.8 で, この領域では R_3N は抽出されず, R_3N の共存の影響は受けない. 共存物質の影響を Table 1 に示す. R_4N^+ であるスパルテイン, アクリノールの許容限界濃度は 0.05 ~ 0.5 倍モルであったが, パパペリン, ジブカイン, トリエタノールアミンなどの R_3N やテトラエチルアンモニウムなどの低分子 R_4N^+ は 30 ~ 100 倍モル共存しても影響を与えない. したがって, 二流路系 FIA システムを用いることによって高感度に選択的に R_4N^+ を定量することができる.

4.2 一塩基酸色素を用いる抽出/FIA

4.2.1 $\text{TBPE} \cdot \text{H}_{\text{org}}$ を用いる R_3N , R_4N^+ の抽出 一塩基酸色素である TBPE はモル吸光係数も大きく (10^5 mol⁻¹ cm⁻¹) 優れた抽出試薬である. TBPE 会合体の抽出は一般に pH 8 ~ 9 で行われるが, TBPE 水溶液を FIA ラインに流すと, PTFE チューブへの吸着が起こったり, 塩基性水溶液中で TBPE が加水分解したり沈殿を生じたりして長時間安定なベースラインを得ることができなかった. ところが, TBPE は pH 3 の酸性下では, $\text{TBPE} \cdot \text{H}$ (黄色) となり有機溶媒に容易に 100% 抽出され, 有機溶媒中で 1 か月間以上安定であった. この $\text{TBPE} \cdot \text{H}/1,2\text{-DCE}$ 溶液 ($\text{TBPE} \cdot \text{H}_{\text{org}}$) を用いるとイオン会合性試薬と抽出溶媒とを兼ねることができる. $\text{TBPE} \cdot \text{H}_{\text{org}}$ を FIA に導入すると PTFE チューブへの吸着もなく, 長時間安定したベースラインが得られた. そこで, $\text{TBPE} \cdot \text{H}/1,2\text{-DCE}$ を用いて R_4N^+ を高感度に定量できる FIA システムを検討した.

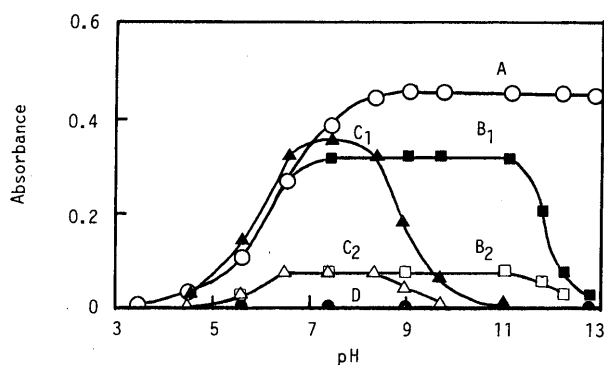
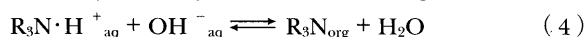
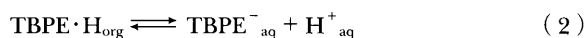


Fig. 6 Effect of pH on the extraction of ion-associates at different TBPE·H_{org} concentration using the batchwise method

TBPE·H_{org} concentration: B₁, C₁; $6 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, A, B₂, C₂; $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, A: $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ berberine, B₁, B₂: $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ dibucaine, C₁, C₂: $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ procaine, D: Reagent blank; Reference: 1,2-dichloroethane, Wavelength: 610 nm

バッチマニュアル法により R₃N, R₄N⁺の抽出 pH を検討した (Fig. 6). R₃N であるプロカインやジブカインの会合体は pH 7~11 で抽出され, pH 11 以上では抽出されにくくなるが, R₄N⁺であるベルベリン会合体は pH 12.8 までの広い範囲で抽出される. また, R₃N 会合体の形成は TBPE·H 濃度に影響され, TBPE·H の濃度を低くすると吸光度が著しく低下する. 曲線 B₂, C₂ は TBPE·H 濃度が $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ の場合であるが, 曲線 B₁, C₁ (TBPE·H: $6 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) に比べ吸光度が非常に小さく会合体がほとんど形成されないことが分かる. 一方, R₄N⁺会合体は TBPE·H の濃度を低くしてもほぼ同じ吸光度が得られた (曲線 A). TBPE 会合体の抽出平衡は式 (2), (3), (4) で表される.



強塩基性において TBPE·H は式 (2) のように, 水相中に移動して TBPE⁻として存在する. したがって, R₄N⁺とイオン対を形成し再び有機相中に抽出される {式(3)}. R₃N は強塩基性ではほとんど塩基 (R₃N) として存在するため, TBPE⁻と会合体を形成しない {式(4)}. TBPE 濃度が高く TBPE·H が有機相に存在すると有機相中で TBPE·H·R₃N 会合体の形成が可能となる. したがって, pH を強塩基性にして TBPE·H 濃度を低くすることによって R₃N 会合体の形成を抑え R₄N⁺を選択的に定量することが可能となる.

4.2.2 抽出/FIA による R₄N⁺の選択的定量 Fig. 7

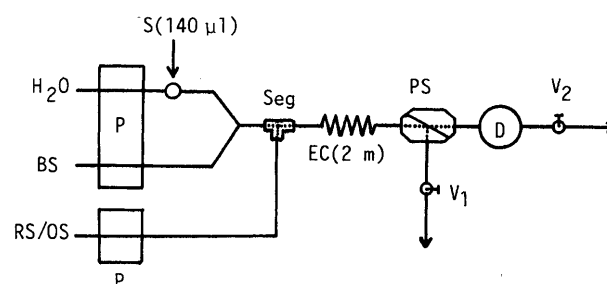


Fig. 7 Flow diagram for the benzethonium determination using TBPE·H/DCE solution

BS: Buffer solution (pH 11); RS/OS: $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ TBPH·H/1,2-dichloroethane solution; Seg: Segmentor; PS: Phase separator, P: Pumps, S: Sample injector, EC: Extraction coil, D: Spectrophotometric detector (610 nm); V₁ and V₂: Needle valve

の三流路システムでベルベリン, ベンゼトニウムの定量を試みた³²⁾. キャリヤー (水) と緩衝液を各 0.8 ml min^{-1} で送液し, 有機相は $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ TBPE·H/1,2-DCE 溶液 (TBPE·H_{org}) を 0.8 ml min^{-1} で送液した. 相分離器は Fig. 1(a) のメンブランフィルター相分離器を用いた. 抽出は pH 11 で行った. バッチ法では 12.8 まで安定な TBPE⁻·R₄N⁺会合体の抽出が得られたが, FIA 法ではベースラインに乱れが見られた. これは pH 12.8 では有機相中の TBPE·H がほぼすべて TBPE⁻になり, メンブランフィルターへの吸着が起こりやすくなるためと思われる.

抽出コイルは 2 m, 試料注入量は 140 µl で行った. 有機相の流量を 0.8 ml min^{-1} と一定にして, 水相の流量 (キャリヤー, 緩衝液 = 1:1) を $1 \sim 2.3 \text{ ml min}^{-1}$ まで変化させてピークの検出に及ぼす影響を検討した. 有機相の回収率はニードルバルブにより調節し, 97% が得られた. 水相の流量が大きいほど高いピークが得られ, 2.3 ml min^{-1} のときは 1.6 ml min^{-1} のときのピーク高さに比べ 30% 高くなった. しかし, 全体の流量が大きくなると相分離器にかかる液圧が高くなり, メンブランフィルターを水が透過しやすくなる. そこで, 有機相 0.8 ml min^{-1} , 水相 1.6 ml min^{-1} の流量 (有機相:水相 = 1:2) で行った.

ベルベリンの検量線の範囲は $1 \sim 5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, 相対標準偏差 0.9%, サンプル処理数 45 h^{-1} であった. ベンゼトニウムでは $2 \sim 10 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, 相対標準偏差 1.2%, サンプル処理数 30 h^{-1} であった.

このシステムではメンブランフィルターを挟むタイプの相分離器 {Fig. 1(a)} を使用したが, 連続測定して長時間用いるとメンブランフィルターに色素が吸着して目詰まりし, 液圧による影響でベースラインに乱れが生じるため, 適宜フィルターを交換する必要がある. また, ニードルバルブでの回収率の調節はテクニックを要する. そこで Fig. 2(b) のダブルメンブラン相分離器を用い, 相分離器の出

Table 2 Analysis of quaternary ammonium salts (R_4N^+) in pharmaceutical samples by the solvent-extraction/FIA

Sample	R_4N^+	Labeled	Found ^{a)}
1 Eye-drops	Benzethonium	0.005%	0.0048%
2 Eye-drops	Benzethonium	0.1 mg	0.101 mg
3 Tablet	Berberine	100 mg	104 mg
4 Tablet	Berberine	37.5 mg	36.8 mg
5 Tablet	Berberine	200 mg	207 mg
6 Diluted powder	Neostigmine	5 mg g ⁻¹	4.94 mg g ⁻¹
7 Eye-drops	Neostigmine	0.005%	0.00506%
8 Injection ampoule	Neostigmine	0.5 mg ml ⁻¹	0.492 mg ml ⁻¹

a) Mean values of three determinations

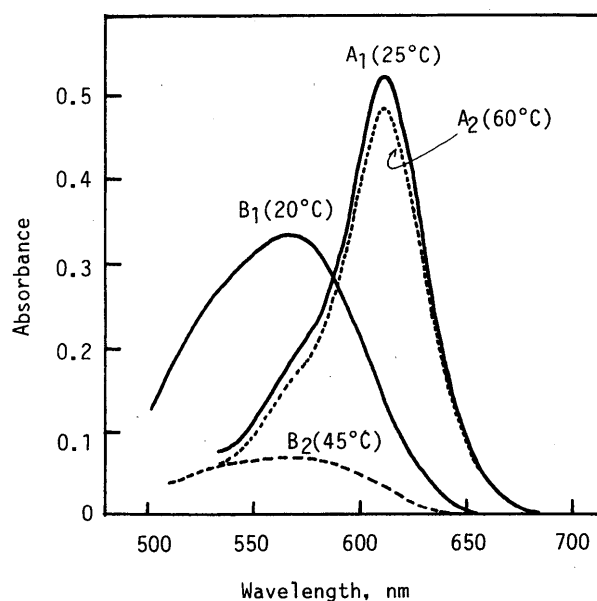


Fig. 8 Absorption spectra of TBPE-associate at different temperatures

A_1, A_2 : 1×10^{-6} mol dm⁻³ berberine, B_1, B_2 : 2×10^{-5} mol dm⁻³ butylamine; 3.2×10^{-4} mol dm⁻³ TBPE·H; pH 8; Reference: water

口に背圧コイル (内径 0.25 mm) を接続することにより, 簡便に相分離が可能になり連続 5 時間の測定ができた. ネオスチグミンの定量³³⁾に応用したところ, 定量範囲 $1 \sim 5 \times 10^{-7}$ mol dm⁻³, 相対標準偏差 0.5%, サンプル処理数 48 h^{-1} で, 高感度で再現性よく定量することができた.

Table 2 に医薬品中のベルベリン, ベンゼトニウム, ネオスチグミンの分析結果を示す.

4.3 TBPE·H·R₃N 会合体のサーモクロミズムを利用した R₄N⁺ の選択的定量

R₃N は TBPE とモル吸光係数 (ϵ) 3~4 万の赤色会合体 (TBPE·H·R₃N) を, R₄N⁺ は $\epsilon \approx 10$ 万の青色会合体 (TBPE⁻·R₄N⁺) を形成し, 両者共有機溶媒に抽出されるが, 酒井らは数十度の温度変化でアミンとの赤色会合体のみがサーモクロミズムを示すことを見いだした³⁴⁾. サーモクロミズムは式 (5) で示す可逆反応で, 昇温すると反応

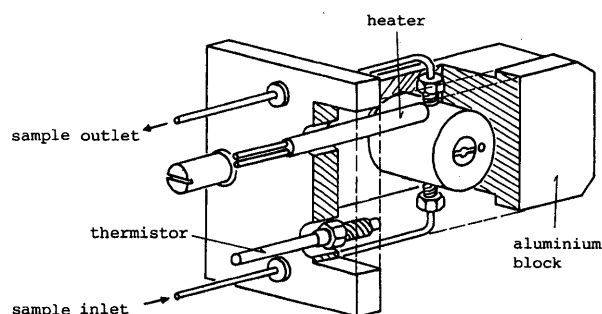
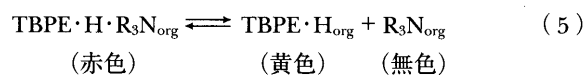


Fig. 9 Configuration of temperature-controlled micro flow cell

は右方向に進行し, TBPE·H と R₃N に解離し, 有機相の赤色は消失し黄色となる.



一方, 第四級アンモニウム塩との青色会合体 (TBPE⁻·R₄N⁺) はサーモクロミズムを示さず, 温度が上昇しても吸光度は溶媒膨張に伴う減少のみで定量的な変化は観察されなかった. Fig. 8 にベルベリン会合体とブチルアミン会合体の吸収スペクトルを示す. ベルベリン会合体は 60°C でもほとんど吸光度の変化は見られないが, ブチルアミン会合体は 45°C で試薬空試験液のスペクトルとほぼ一致する. したがって, 両者が共存しても抽出有機相を昇温して吸光度を測定すれば, R₃N 会合体の赤色は消失し, R₄N⁺ 会合体の吸光度のみを測定することができる³⁴⁾³⁵⁾. フローシステムの中で抽出有機相を昇温し吸光度を測定することができれば, R₄N⁺ の選択的な迅速定量が可能となる. そこで, 一定温度で吸光度測定が可能な温度制御付きフローセルを自作した. 光路長 10 mm, 容量 8 μ l のセルをアルミニウムブロックで包み, その中を恒温循環装置から温水を送るタイプ³⁶⁾とヒーターとサーミスターで温度調節するタイプ²⁰⁾との 2 つのセルを作製した. Fig. 9 に後者のサーミスターで温度制御するセルを示す. ヒーターとサーミスターは室温~80°C の範囲で温度調節可能なコンパクトな温度制御装置に接続されている. 有機相はセルを通過する

間に効果的に昇温され、目的の温度で吸光度を測定することが可能である。

フローシステムは二流路系を用い、緩衝液と TBPE·H を含む 1,2-DCE とをそれぞれ 0.8 ml min^{-1} の流量で送液し、試料は六方切り替えバルブにより $140 \mu\text{l}$ 注入した。相分離器は Fig. 1(a) に示すメンブランフィルター相分離

器を使用した。

Fig. 10 に 25°C と 45°C で測定したフローシグナルを示す。a, b, c は 25°C , a', b', c' は 45°C で測定したセチルピリジニウム (CPC) の検量線のピークシグナルである。d, e, f は $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC にプロカインなどのアミンが共存したときのピークで、 25°C では CPC のピーク (b) に比べ約 20~40% 高い正の妨害を与えるが、 45°C で測定することにより CPC のピーク高さ (b') と同じになり (ピーク d', e', f'), 共存するアミン類の影響を受けることなく CPC を定量することができた²⁰⁾。また、生体内の神経伝達物質であるコリン, アセチルコリンの定量にも応用した³⁶⁾。Table 3 にセチルピリジニウム, アセチルコリン, コリンの 25°C と 45°C における共存物質の影響を示した。 45°C に昇温して測定すると、共存物質の影響を抑制することができ選択性が大きく向上した。

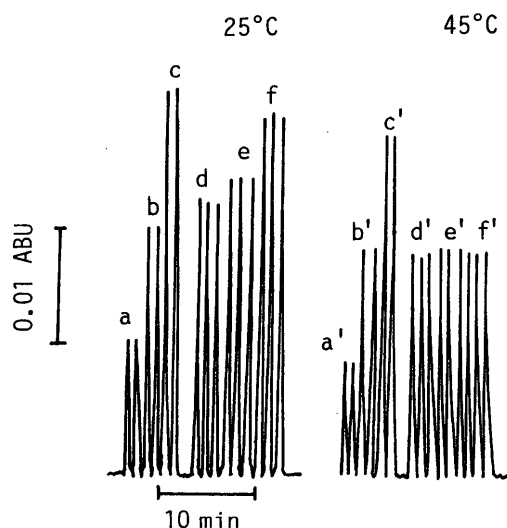


Fig. 10 Flow signals of ion associates with TBPE·H at 25°C and 45°C

a,a': $5 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ cetylpyridinium (CPC); b,b': $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC; c,c': $1.5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC; d,d': $3 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ procaine with $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC; e,e': $2 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ chlorpheniramine with $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC; f,f': $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ chlorpheniramine with $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ CPC; TBPE·H: $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$; pH: 12.5, Wavelength: 610 nm

4.4 蛍光検出によるベルベリンの定量

オウレンやオウバクは山間部で商品目的で栽培されており、その生薬の主成分であるベルベリンは、整腸作用や殺菌作用を持ち、胃腸薬や目薬などに配合されて広く使われている。ベルベリンは水溶液中で弱い蛍光を示すが、有機溶媒中ではその蛍光が大きく増大する³⁷⁾。Table 4 に示すように、水溶液中では $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ で相対蛍光強度 29 であるが、有機溶媒中では $5 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$ で 200 と約 10^5 倍の蛍光強度を示す。ベンゼトニウム, ベンザルコニウムなどの R_4N^+ の蛍光強度は非常に弱く、 $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ オーダーでもほとんど蛍光を示さない。キニーネは水溶液中で強い蛍光を示すが、有機溶媒中における蛍光は弱い。胃腸薬に複合されるアクリノールやベルベリンの異

Table 3 Effect of diverse amines in the determination of cetylpyridinium, acetylcholine and choline at different temperatures

Compound	Mole ratio	Recovery, %					
		Cetylpyridinium ^{a)}		Ach ^{b)}		Ch ^{c)}	
		25°C	45°C	25°C	45°C	25°C	45°C
Procaine	1			114	102	123	102
	30	108	98				
Diphenhydramine	1			111	101	122	103
	30	100					
Chlorpheniramine	0.1			113	101	110	102
	5	142	98				
Methylephedrine	1			110	102	118	100
	30	100					
Ephedrine	5					120	103
	10			122	100		
	80	121	100				
Lidocaine	10			110	100	98	
Trimethylamine	20	106	98				
Triethylamine	2	120	102				

a) $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ Cetylpyridinium, $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ TBPE·H, pH 12.5; b) $5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ Acetylcholine, $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ TBPE·H, pH 11; c) $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ Choline, $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ TBPE·H, pH 11

Table 4 Excitation and emission wavelengths and relative fluorescence intensities(RFIs)

Compound	Concentration/ mol dm ⁻³	Aqueous			DCE		
		λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm	RFI	λ_{ex}/nm	λ_{em}/nm	RFI
Benzalkonium	1×10^{-4}	255.0	561.0	16	255.0	561.0	19
Benzethonium	1×10^{-4}	276.8	598.4	278	276.8	598.4	294
Zephiramine	1×10^{-4}	250.0	556.8	8	250.0	556.8	3
Quinine	1×10^{-6}	329.6	370.0	640	329.6	370.0	48
Acrinol	1×10^{-6}	361.6	504.0	562	368.0	483.2	49 ^{a)}
Coptisine	1×10^{-4}	377.6	536.0	104	364.8	537.0	130 ^{a)}
Palmatine	1×10^{-4}	366.4	512.0	12	358.0	521.6	88 ^{a)}
Berberine	1×10^{-4}	355.2	516.8	29	355.2	516.8	200 ^{a)}

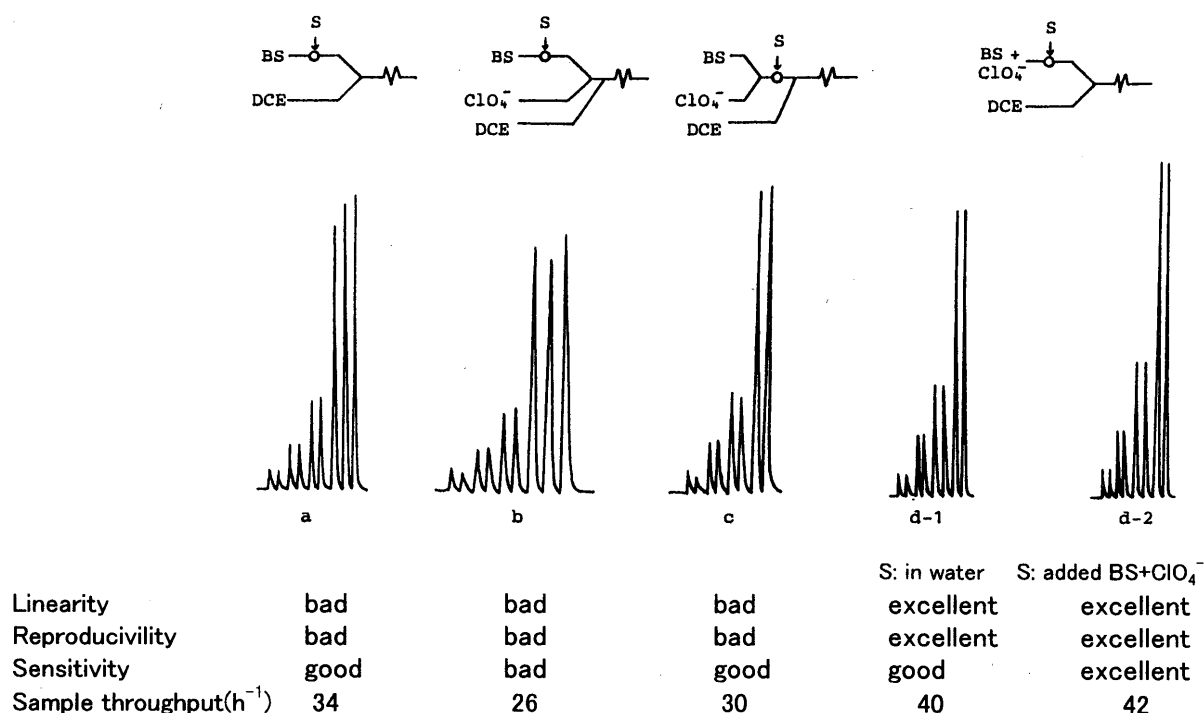
a) 5×10^{-8} mol dm⁻³

Fig. 11 Comparison of flow system and peak shapes

BS: Buffer solution (pH 5.5); S: Sample solution (120 μ l); DCE: 1,2-dichloroethane

性体であるコプチジン, パルマチンはベルベリンの65%以下の蛍光強度であった。したがって, 有機溶媒中での蛍光強度を測定することにより他の共存するR₄N⁺の妨害を受けることなくベルベリンを選択的に定量することができ, FIA法に導入して迅速な定量を試みた²²⁾²³⁾。

ベルベリンの抽出の条件を種々検討した。ベルベリンの対イオンとして, 過塩素酸イオンと塩化物イオンを検討したところ, 抽出率はそれぞれ97±1%, 91±3%で, 過塩素酸イオンにより一定した抽出率が得られた。pHは2~12までの範囲で一定の抽出が得られたのでpH 5.5で行った。

ベルベリン定量のフローシステムを検討した。二流路系と三流路系を検討し, その結果をFig. 11に示す。相馬光学製S-3350蛍光検出器に光路長10 mm, 容量15 μ lのフ

ローセルを装着した。対イオンである過塩素酸イオンを含まないシステム (a) では抽出率が一定せずピーク高の直線性, 再現性とも悪く, また過塩素酸イオンを添加する三流路システム (b) (c) では, ピーク幅が広くベースラインへの戻りが遅くなる傾向を示した。これは試料の拡散が大きくなるためと思われる。そこで対イオンである過塩素酸イオンを緩衝溶液の中に入れた二流路システムを検討したところ, ピーク幅が狭く直線性・再現性に優れたピークが得られた。更に試料溶液中に過塩素酸イオンを加える (d-2) と高いピークが迅速に得られることが分かった。そこで, (d-2) の二流路システムを用い, 1×10^{-3} mol dm⁻³ 過塩素酸イオンを含む緩衝液 (pH 5.5) に同濃度の過塩素酸イオンを含む試料溶液を120 μ l注入し, 1,2-DCEにベルベリン会合体を抽出し, その蛍光を励起波長355 nm, 蛍

Table 5 Determination of berberine in crude samples and commercial preparations

Sample	Certified value	Berberine found ^{a)}
Phellodendron bark 1	—	4.460 ± 0.03%
Phellodendron bark 2	3.9%	3.91 ± 0.03%
Eye lotion	0.001%	0.00100 ± 0.000004%
Antidiarrheal drug 1	5.40 mg	5.43 ± 0.08 mg
Antidiarrheal drug 2	200 mg	198.6 ± 2.4 mg

a) Mean values ± s.d. of three determinations

光波長 517 nm で測定した。流量は水相 1.24 ml min⁻¹, 有機相 0.68 ml min⁻¹, 相分離器は Fig. 2(a) に示すダブルメンブラン相分離器を用いた。

ベルベリンの定量範囲は $4 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-6}$ mol dm⁻³ で S/N = 3 の定量下限は 8×10^{-10} mol dm⁻³, 相対標準偏差 0.5%, サンプル処理数は 42 h⁻¹ と高感度かつ迅速に定量することができた。

本法は共存物質の影響を受けにくい選択性の高い定量法で, キニーネ, ジブカインなどの R₃N, ベンゼトニウム, ゼフィラミン, セチルピリジニウムなどの R₄N⁺, ラウリルベンゼンスルホン酸などの陰イオン界面活性剤の許容限界濃度は 20~50 倍モルであった。また, アクリノールは 0.2 倍モル, パルマチンとコブチジンは 0.1 倍モルまでの共存はベルベリンの定量に影響を与えなかった。Table 5 に生薬, 医薬品中のベルベリンを定量した結果を示す。

5 環境汚染物質の定量

5.1 陰イオン界面活性剤の定量

陰イオン界面活性剤は産業界ではいろいろな工程で洗浄剤として大量に使用され, 排水として環境水中に放出されている。また各家庭でもその使用頻度は高く, 生活雑排水として河川や下水に流されている。河川での界面活性剤の増加は活性汚泥へ影響を及ぼし, 下水処理場の負担増になることが指摘され, 陰イオン界面活性剤の量をモニタリングする必要がある。公定法³⁸⁾ではメチレンブルー (MB) とのイオン会合体を溶媒抽出する方法が採用されているが, 操作が煩雑で再現性も劣り, クロロホルムを多量に使用する欠点がある。Kawase³⁹⁾, Motomizu⁸⁾²⁵⁾ は, MB や 1-メチル-4-(4-ジエチルアミノフェニルアゾ)ピリジニウムによる溶媒抽出/FIA 法を報告したが, クロロホルムや *o*-ジクロロベンゼンなどのハロゲン系の溶媒を用いた。そこで, 毒性が低く揮発しにくい溶媒を使い, またコネクター部分を改良したダブルメンブラン相分離器 {Fig. 2(b)} を用い, 背圧コイルを接続することにより簡便に有機相を回収することができるシステム²⁴⁾を検討した。

キャリアー, 試薬溶液, 有機溶媒を別々に流す三流路フローシステム (Fig. 12) を用いた。試薬溶液はマラカイトグリーン溶液 (pH 5) を, 有機溶媒は 1:1 (トルエ

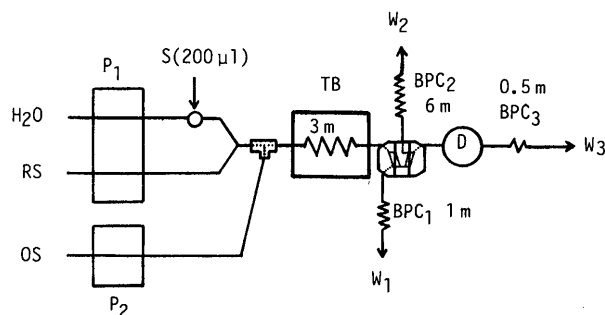


Fig. 12 Flow system for the determination of anionic surfactant

RS: 1×10^{-5} mol dm⁻³ Malachite Green (pH 5.5); OS: Organic solvent (toluene + MIBK = 1 + 1); P₁: double plunger pump (flow rate, 0.97 ml min⁻¹); P₂: single plunger pump (flow rate, 0.78 ml min⁻¹); TB: Thermostat bath (20°C); BPC: Back pressure coil (0.25 mm i.d.); D: Detector (626 nm), W₁ and W₂: aqueous waste, W₃: organic waste

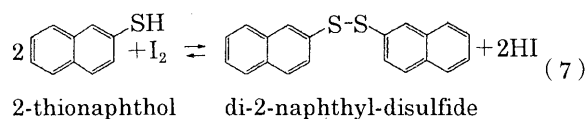
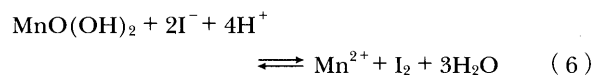
ン+メチルイソブチルケトン) 混合溶媒を用い, キャリアー及び試薬溶液はそれぞれ 0.97 ml min⁻¹, 有機溶媒は 0.78 ml min⁻¹ で送液した。相分離にはダブルメンブラン相分離器 {Fig. 2(b)} を使用した。Fig. 2(a) の相分離器を改良することによりコイル接続が簡便になり, 洗浄や背圧コイルの交換が容易にできる利点がある。相分離器に背圧コイル (内径 0.25 mm) を接続したが, 背圧コイルの長さが有機相の回収率に影響を及ぼすため, それぞれ 3 か所の背圧コイルの長さを検討した。背圧コイル (BPC₁) の長さを 0.2~1 m で検討したところ, 1 m で廃液 (W₃) に回収される有機相が最も高くなった。BPC₂ は 1~4 m まで回収率が徐々に高くなり, 4~7 m で一定の回収率が得られた。BPC₃ は 0.25~0.5 m までは一定で, その後 1.25 m まで徐々に回収率が低下した。以上の結果, BPC₁, BPC₂, BPC₃ の長さは, それぞれ 1, 6, 0.5 m とした。

陰イオン界面活性剤としてドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を標準試料として用い, 検量線を作成したところ, 0.1~0.4 ppm ($3.5 \times 10^{-7} \sim 1.4 \times 10^{-6}$ mol dm⁻³) で良好な直線関係が得られ, Motomizu ら²⁵⁾ と同程度の濃度範囲 ($0 \sim 2 \times 10^{-6}$ mol dm⁻³) の陰イオン界面活性剤を定量できる。0.4 ppm (1.4×10^{-6} mol dm⁻³) SDS の 7 回注入により求めた相対標準偏差は 1.1%, 検出限界濃度 (S/N = 3) は 18 ppb (6.2×10^{-8} mol dm⁻³), サンプル処理数は 20 h⁻¹ であった。河川水をガラスフィルターで汙過した後本システムで定量したところ, 1.88, 0.30 ppm の定量値が得られ, MB を用いる公定法³⁸⁾ で定量した結果, 2.0, 0.30 ppm とよく一致した。本法は非塩素系有機溶媒を用い, 長時間の連続測定が可能な新規のダブルメンブラン相分離器とフェラル機能を有するラインコネクターを用い実用性を考慮した手法と考える。

5・2 環境水中の溶存酸素の定量

溶存酸素 (DO) は, 環境水中の有機物・微生物の増加に伴い消費されて減少するため, 河川, 湖沼, 海などの汚染度の指標としてモニタリングされている. 国内の工場排水中の DO 測定法⁴⁰⁾ではウインクラール-アジ化ナトリウム変法が採用されているが, この方法は測定者の技術の熟練を要し, また分析操作に時間がかかる. 自動分析法としてオートアナライザー方式⁴¹⁾や FIA 法^{42)~44)}が報告されているが, 前者は 1 試料 5~10 分と迅速ではなく, 後者は高感度であるが精度・再現性の点で不十分である. そこで, I₂による 2-チオナフトールの消光反応を利用する DO の測定システムを提案した⁴⁵⁾.

ウインクラール法に従って試料水を前処理すると, 試料水中に含まれる溶存酸素は対応する量の Mn(II) を酸化して MnO(OH)₂ を生成し, 更に式 (6) で示すように, MnO(OH)₂ はヨウ化物イオン (I⁻) を酸化して I₂ を遊離する. したがって, 溶存酸素量に相当する量の I₂ 量が遊離される. I₂ は 2-チオナフトールを酸化してジ-2-ナフチルジスルフィドを生成する {式 (7)}.



ここで, 2-チオナフトールは強い蛍光を発するが, ジ-2-ナフチルジスルフィドは蛍光を発しないため, 蛍光強度の減少を測定することにより遊離ヨウ素の濃度が測定され, 水試料中の溶存酸素量を求めることができる.

二流路システムで行った. キャリヤーとして水を, 有機相として $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ 2-チオナフトールを含む有機溶媒 (1,2-DCE) を用い, 両相とも 0.3 ml min^{-1} の流量で送液した. 河川水などの試料水をウインクラール法に従って前処理し, その上澄み液 (200 μl) をシステムに注入した. 抽出コイルの長さは 250 cm とし, 相分離器を用い得られた有機相の蛍光を励起波長 288 nm, 蛍光波長 355 nm で測定した.

Na⁺, Ca²⁺, Cu(II), Fe(III), Co(II), NO₃⁻, Cl⁻ は 150 倍量, K⁺, Mg²⁺, NH₄⁺, Fe(II) は 100 倍量, SO₄²⁻ は 50 倍量共存しても全く影響を与えなかった. Fe(III) は 100~200 倍量共存すると影響を与えたが, 5 ml dm⁻³ KF を添加することにより妨害を抑制することができた.

ヨウ素濃度として $0.2 \sim 1.2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ の範囲で良い直線性が得られた. 検出限界は $4.9 \times 10^{-7} \text{ I}_2$ で, DO としては 0.008 mg O/dm^3 となり非常に高感度に DO を定

Table 6 Determination of dissolved oxygen(DO) in environmental waters

Sample	Solvent-extraction/FI method		Batchwise method		
	DO found ^{a)} (mg O/dm ³)	RSD, %	DO found ^{a)} (mg O/dm ³)	RSD, %	
River	1	8.80	1.2	9.01	2.7
	2	8.23	1.8	8.40	2.9
	3	9.51	1.3	9.54	2.8
	4	10.38	0.8	10.57	2.8
	5	9.32	2.2	9.42	2.9
Pond	1	6.87	0.4	6.56	2.9
	2	9.14	2.4	9.24	2.8
Sea	1	8.37	0.2	8.58	2.8
	2	8.01	0.4	8.03	2.9
	3	5.86	1.0	5.88	2.9
	4	5.21	0.4	5.23	2.9
	5	5.35	0.9	5.28	2.8

a) Mean values of three determinations

量することができる. サンプル処理数は 18 h^{-1} であった.

公定法⁴⁰⁾とバッチマニュアル法と本 FIA 法の 3 法の比較を行ったところ, 相対標準偏差 (RSD) は 2%, 2.7%, 1.2% で, FIA 法の RSD が最も小さく, また 3 法間の t 検定を行ったところ良好な結果が得られ, FIA 法の信頼性は高いと思われる. 環境水中の溶存酸素を定量した結果を Table 6 に示す. 本 FIA 法は高感度であるため試料水を 60 倍希釈して注入した. バッチマニュアル法と FIA 法で求めた定量値はよく一致し, FIA 法で求めた定量値の RSD は約 1%, バッチマニュアル法の RSD は約 2.8% であった. FIA 法は密閉された細管内での反応であるため, 室内環境の汚染への影響は小さく, 大気中の酸素の影響を受けることなく半自動分析が可能となった.

6 結 語

医薬品や環境汚染物質を高感度かつ選択的に定量できる溶媒抽出/FIA システムの開発を行った. 抽出/FIA においては水相と有機相とを分離する相分離器の機能が有機相の回収率を大きく左右することから, 種々の相分離器を自作した. また, 測定時の温度設定が可能なマイクロフローセルを開発し, 高温時に吸光度を測定することによって選択性を高めた. ここで提唱した方法は, 医薬品分析, 環境分析に有用な手法と考える.

本研究の一部は文部科学省フロンティア推進事業「21 世紀を支えるための材料の開発-環境, エネルギー, 情報に資する材料開発のための基礎研究」による. ここに記して感謝する.

文 献

- 1) J. Ruzicka, E. H. Hansen: *Anal. Chim. Acta*, **78**, 145 (1975).
- 2) S. Motomizu, M. Oshima, L. Ma: *Anal. Sci.*, **13**, 401 (1997).

- 3) 平川 清, 吉田 烈, 石井大道: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47**, 341 (1998).
- 4) 善木道雄, 田中修平, 岩藤祐子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **50**, 329 (2001).
- 5) B. Karlberg, S. Thelander: *Anal. Chim. Acta*, **98**, 1 (1978).
- 6) H. Bergamin F, J. X. Medeiros, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto: *Anal. Chim. Acta*, **101**, 9 (1978).
- 7) S. Motomizu, M. Oshima: *Analyst* (London), **112**, 295 (1987).
- 8) S. Motomizu, M. Oshima, T. Kuroda: *Analyst* (London), **113**, 747 (1988).
- 9) 本水昌二: *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 71 (1988).
- 10) J. Kawase: *Anal. Chem.*, **52**, 2124 (1980).
- 11) 本水昌二, 是近勝彦: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **38**, T143 (1989).
- 12) H. Itabashi, Y. Mesuda: *J. Flow Injection Anal.*, **20**, 193 (2003).
- 13) H. Asano, H. Itabashi, H. Kawamoto: *Anal. Sci.*, **17**, a347 (2001).
- 14) K. Kina, K. Shiraiishi, N. Ishibashi: *Talanta*, **25**, 295 (1978).
- 15) C. A. Lucy, K. K. C. Yeung: *Anal. Chem.*, **66**, 2220 (1994).
- 16) F. Canete, A. Rios, M. D. L. de Castro, M. Valcarcel: *Anal. Chem.*, **60**, 2354 (1988).
- 17) M. J. Whitaker: *Anal. Chim. Acta*, **179**, 459 (1986).
- 18) 三瀬皓愛: *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 87 (1988).
- 19) 宮路敏彦, 日比清勝, 酒井忠雄: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **39**, 73 (1990).
- 20) T. Sakai: *Analyst* (London), **117**, 211 (1992).
- 21) J. L. Manzoori, A. Miyazaki: *Anal. Chem.*, **62**, 2457 (1990).
- 22) T. Sakai, Y. S. Chung, N. Ohno, S. Motomizu: *Anal. Chim. Acta*, **276**, 127 (1993).
- 23) T. Sakai, N. Ohno, Y. S. Chung, H. Nishikawa: *Anal. Chim. Acta*, **308**, 329 (1995).
- 24) T. Sakai, H. Harada, X. Liu, N. Ura, K. Takeyoshi, K. Sugimoto: *Talanta*, **45**, 543 (1998).
- 25) S. Motomizu, Y. Hazaki, M. Oshima, K. Toei: *Anal. Sci.*, **3**, 265 (1987).
- 26) H. M. N. H. Irving, J. J. Markham: *Anal. Chim. Acta*, **39**, 7 (1962).
- 27) M. E. Auerbach: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **15**, 492 (1943).
- 28) 立沢政義, 中山修二, 大河原晃: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **19**, 761 (1970).
- 29) 酒井忠雄, 大野典子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **32**, 302 (1983).
- 30) T. Sakai, N. Ohno, T. Kamoto, H. Sasaki: *Mikrochim. Acta*, **106**, 45 (1992).
- 31) T. Sakai, H. Ohta, N. Ohno, H. Sasaki: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349**, 475 (1994).
- 32) T. Sakai: *Analyst* (London), **116**, 187 (1991).
- 33) T. Sakai, X. Liu, Y. Maeda: *Talanta*, **49**, 997 (1999).
- 34) 酒井忠雄, 大野典子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **27**, 410 (1978).
- 35) T. Sakai, N. Ohno: *Analyst* (London), **106**, 584 (1981).
- 36) T. Sakai, Y.-H. Gao, N. Ohno: *Anal. Chim. Acta*, **255**, 135 (1991).
- 37) T. Sakai, Y. S. Chung, N. Ohno: *Anal. Sci.*, **8**, 377 (1992).
- 38) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1974).
- 39) J. Kawase, A. Nakae, M. Yamanaka: *Anal. Chem.*, **51**, 1640 (1979).
- 40) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1998).
- 41) G. I. Goodfellow, D. F. Libaert, H. M. Webber: *Analyst* (London), **104**, 1119 (1979).
- 42) M. Novic, B. Phhlar, M. Dular: *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **332**, 750 (1988).
- 43) A. S. Martinez, A. Rios, M. Valcarcel: *Anal. Chim. Acta*, **284**, 189 (1993).
- 44) J. M. C. Fernandez, H. E. D. Garcia, A. S. Medel: *Anal. Chim. Acta*, **360**, 17 (1998).
- 45) T. Sakai, H. Takio, N. Teshima, H. Nishikawa: *Anal. Chim. Acta*, **438**, 117 (2001).

要 旨

二塩基酸色素とキニーネ又はキニジンの共抽出, テトラプロモフェノールフタレインエチルエステルやマラカイトグリーンとの会合体抽出を利用して, 第四級アンモニウム塩や界面活性剤を定量するための溶媒抽出/フローインジェクション分析システムを検討した. 抽出試薬を含む有機溶媒を用い強塩基性下かつ低濃度試薬で抽出することにより第四級アンモニウム塩に対する選択性が向上した. アミン類からの妨害を抑制する目的で温度制御が可能なフローセルを開発した. また有機層を高回収するための相分離器を数種作製し, その機能の高揚を図った. それらの中で優れた相分離機能を有する相分離器を用いて医薬品, 環境汚染物質の分析に応用し, 高感度で選択的かつ迅速なフローシステムの構築を行った.