総合論文

接触反応を利用する極微量元素のフローインジェクション分析

中野 恵文^{®1}, 手嶋 紀雄², 栗原 誠³, 河寫 拓治⁴

Flow-injection determination of trace elements by using catalyzed reactions

Shigenori NAKANO¹, Norio TESHIMA², Makoto KURIHARA³ and Takuji KAWASHIMA⁴

¹ Department of Environmental Sciences, Faculty of Education and Regional Sciences, Tottori University, 4-101, Minami, Koyama-cho, Tottori-shi, Tottori 680-8551

² Department of Applied Chemistry, Aichi Institute of Technology, 1247, Yachigusa, Yakusa-cho, Toyota-shi, Aichi 470-0392

³ Faculty of Education, Shizuoka University, 836, Ohya, Shizuoka-shi, Shizuoka 422-8529

⁴ Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, University of Tsukuba, Tsukuba-shi, Ibaraki, 305-8571

(Received 27 November 2003, Accepted 15 January 2004)

Highly sensitive and selective flow-injection (FI) methods are presented for the determination of trace elements at nanogram and/or subnanogram per milliliter levels. These FI methods are based on the catalytic action of the elements on coloration and chemiluminescent (CL) reactions: (1) the oxidative coupling reactions of 3-methyl-2-benzothiazolinon hydrazone with modified Trinder's reagents, *p*-anisidine with *N,N*-dimethylaniline (DMA) and 4-aminoantipyrine with DMA in the presence of hydrogen peroxide; (2) the oxidation of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, *N*-(3-sulfopropyl)-3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine, *N,N'*-bis(hydroxyl-3-sulfopropyl)-tolidine and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid by hydrogen peroxide, bromate or periodate; and (3) CL reactions of luminol, lucigenin, pyrogallol and purpurogallin. In order to increase the sensitivity and/or selectivity of the FI methods, suitable ligands that acted as activators and surfactants were used in the catalyzed reaction systems. Elements such as copper(II), chromium(III), cobalt(II), iron(II,III), manganese(II) and vanadium(IV,V) in the range of $10^{-11} \sim 10^{-8}$ M could be determined by the FI methods with easy handling, rapid sampling frequency and good precision. Furthermore, a new approach for the catalytic FI method, FI/standard subtraction, was demonstrated by using the activation and inhibitory effect of a ligand in the metal-catalyzed reaction. The use of CL reactions allowed the determination of the oxidation state of iron and vanadium. These methods have been successfully applied to the determination of trace elements in both standard materials and actual samples.

Keywords : catalyzed reaction; redox reaction; chemiluminescence; flow injection analysis; activator; surfactant; metal ions.

1 緒 言

多くの化学反応において触媒の存在によりその反応速度

が著しく増大することが知られている。このことを利用して触媒である目的成分を定量しようとする方法が接触分析法と呼ばれる。接触分析法では目的成分が循環再生して指示反応に関与するので、分析条件を適切に設定して指示物質の単位時間当たりの変化量を測定することにより高感度分析を行うことができる。これまで、酸化還元反応、錯形成反応、配位子置換反応など各種の反応を指示反応とし、吸光光度計、蛍光光度計、電気化学的検出器など簡便な機

¹ 鳥取大学教育地域科学部環境科学講座: 680-8551 鳥取県鳥取市湖山町南 4-101

² 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

³ 静岡大学教育学部: 422-8529 静岡県静岡市大谷 836

⁴ 筑波大学化学系: 305-8571 茨城県つくば市天王台 1-1-1

器の使用により反応速度が追跡され、極微量成分が分析されている^{1)~7)}。しかし、これらの分析法には、反応時間、反応温度の制御だけでなく試薬の添加順序、添加時間までも正確に設定する必要があるという難点があった。

一方、フローインジェクション分析 (FIA) 法は、平衡に達している反応を用いる必要がなく、反応の過渡的状态の物性を測定することにより目的成分の定量が行えるもので、しかも流量や反応コイルの長さの調節により反応時間を容易にコントロールでき、また試薬溶液の添加順序、混合なども簡単に設定できるという長所がある。したがって、FIA 法は反応速度を利用する分析法の開発には最も適した方法といえる。接触反応と FIA 法を一体化させた分析法は、迅速で精度の良い高感度な定量法となり、実用分析に応用されている。

著者らは、これまで主に有機化合物の酸化還元反応を用いてパッチ法並びに FIA 法により極微量成分の接触分析法について研究してきた。その中には、放射化分析や誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-AES) の分析感度と匹敵するかあるいはそれ以上の感度を有する分析法も開発した。本論文では FIA 法を用いた著者らのこれまでの接触分析法に関する研究内容を中心に概述する。

2 接触分析の設計

基質 S と試薬 R との酸化還元反応において、触媒となる微量成分 M を定量するための接触分析法は、反応 (1)~(3) により構成される反応に基づき、次のように設計される^{1)~7)}。

ここで、P 及び Q は、それぞれ反応生成物である。指示反応である反応 (1) は通常遅い反応であるが、M が触媒として作用すると、反応 (2) により P の生成を促進する。この際、M は M' へと変化するが、反応 (2) よりも著しく速い反応 (3) によって M へと再生されるため、M は極微量であっても一定の濃度を保ち、P の生成は接触的に促進される。そのため、S の減少速度あるいは P の生成速度を測定することにより触媒である極微量の目的成分 M を定量できる接触分析法を開発することが可能となる。このように設計された接触分析法は、化学量論的な反応を利用する分析法よりも原理的に非常に高い感度を得ることができ、到達可能な感度は $10^{-15} \sim 10^{-16}$ M とも言われている⁷⁾。また、このような接触反応を用いて基質 S、試薬 R あるいは阻害作用を示す物質の分析も可能である。

2.1 指示反応

接触分析法で測定される反応速度は、多くの場合式 (4) のように書くことができる。

$$-\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k_u[S][R] + k_c[S][R][M] \quad (4)$$

ここで、 k_u と k_c は、それぞれ非接触反応 (1) 及び接触反応 (2) の反応速度定数である。接触分析を行う際には、式 (4) の第 1 項は、目的成分の濃度 [M] に依存せず空試験値 (FIA 法では、ベースラインの高さ) となる。このため、微量成分の接触分析のためには、 k_u はできるだけ小さく、 $k_c[M]$ が大きい必要があり、またこの差が大きいほど分析感度を高くすることができる。

指示反応である反応 (1) は、色素の生成及び退色反応、化学発光反応など容易に反応速度が測定できるものが適しており、吸光度測定や化学発光測定などにより簡便かつ感度よく基質 S あるいは生成物 P を検出できるものである。これまでに報告されている接触分析の中では、酸化還元反応に基づいたものが最も高感度である。これらの反応における酸化剤の酸化反応に関与する電子数と還元剤の還元反応にかかわる電子数とが異なる場合には、その反応速度は一般に遅いが、しばしば金属イオンの存在によって反応が著しく促進される。したがって、基質 S としては 1 あるいは 2 電子の授受によって還元される化合物を、また試薬 R としては多くの酸化剤が用いられている^{1)~7)}。

一例を示そう。バリアミンブルー B ロイコ塩基 (VBL) は Fe(III) のキレート滴定における酸化還元指示薬として知られている。VBL の過酸化水素による酸化反応を利用する Fe(III) の接触分析法が報告されていたが⁸⁾、VBL の酸化反応を指示反応とする Fe(III) の接触分析法を新しく設計することを考えた。VBL は、光に鋭敏で、また保存中に空気酸化され着色するため、高い試薬空試験値を与えるという可能性があった。そこで、VBL の構成成分である *p*-アニシジン (*p*-Anis) とアニリンよりも安定な *N,N*-ジメチルアニリン (DMA) を使用して VBL 類似物質である *N*-(*p*-メトキシフェニル)-*N',N'*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (MDP) を溶液内で生成させると同時に、過酸化水素の共存下で MDP の Fe(III) に接触酸化を行わせると、試薬空試験値が低くなることを予想し、Fe(III) の接触分析法を開発した⁹⁾¹⁰⁾。この方法では、1,10-フェナントロリン (phen) が著しい活性化作用を示し、また Fe(II) も過酸化水素により Fe(III) に酸化再生されるので、Fe(II+III) の定量が可能である。更にこの反応系では Fe(III) と同様に Cu(II) も接触作用を示すので、極微量 Cu(II) の定量も可能であった¹¹⁾。

著者らが報告した接触-FIA 法における指示反応を Table 1^{3)12)~37)} に示す。また、本論文において指示反応物

Table 1 Indicator reactions for flow-injection catalytic determination of trace elements

Indicator reaction	Analyte	Activator/Surfactant	Dynamic range/ng ml ⁻¹	Application	Ref.
MBTH + DMA + H ₂ O ₂	Mn(II)	phen + citrate	2 ~ 30	Pepperbush, chlorella and tea leaves	12
	Cu(II)	bpy	0.05 (DL)		13
	Co(II)	Tiron + HCO ₃ ⁻ /SDS	0.04 ~ 0.5	Pepperbush	14
MBTH + DAOS + H ₂ O ₂	Co(II)	Tiron	0.01 ~ 1.0	Pepperbush	15
	Cu(II)	pyridine/Zephiramine	0.005 ~ 0.75	Pepperbush	16
MBTH + ADOS + H ₂ O ₂	Cr(III)	EDTA	5 ~ 400	Vehicle exhaust particulates and river water	17
<i>p</i> -Anisidine + DMA + H ₂ O ₂	Fe(III)	phen	0.5 ~ 5	Lake and seawater	3
	Fe(III)	phen	10 ⁻⁶ M levels	Iron ore (FI/standard subtraction method)	18
AA + DMA + BrO ₃ ⁻	Fe(III)/Cu(II)	phen or neocuproine	Fe(III) 50 ~ 500/Cu(II) 5 ~ 20	River water	19
	V(IV+V)	Tiron	0.05 ~ 2.0	River and lake water	20
AA + DMA + Fe(III)	H ₂ O ₂		1 × 10 ⁻⁶ ~ 6 × 10 ⁻⁴ M	Enzyme reactor/ Glucose, uric acid	21
PPDA + PDA + H ₂ O ₂	Fe(II,III)	Acetate/Tween 80	0.5 ~ 30	River, lake and seawater	22
	Cu(II)	NH ₃ + pyridine	0.1 ~ 2.0	River, lake and seawater	23
PPDA + DMA + BrO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻		2 ~ 100	River water	24
DPD + PDA + H ₂ O ₂	Mn(II)	Trien + Tiron	0.05 ~ 1.0	Tap, river and lake water	25
PPDA + H ₂ O ₂	Co(II)	Tiron	0.04 ~ 0.2	Seawater	26
TMBZ + H ₂ O ₂	Fe(II, III)	phen	0.2 ~ 200	Lake water	27
TMPZ·PS + BrO ₃ ⁻	V(IV+V)	SSA	0.05 ~ 8	Tap, pond and river water	28
HSPT + BrO ₃ ⁻	V(IV+V)	Tiron	0.01 ~ 3	River and drinking water	29
ABTS + IO ₄ ⁻	Mn(II)		0.05 ~ 1	River, lake and seawater	30
Cysteine + Fe(III) + phen	Cu(II)		0.1 ~ 10	River water	31
Luminol + H ₂ O ₂	Fe(II,III)	Citrate/TTAB	5 × 10 ⁻⁹ ~ 1 × 10 ⁻⁶ M	Human hair and river water	32
Lucigenin + Fe(III)	Ascorbic acid	Brij 35	2 × 10 ⁻⁷ ~ 6 × 10 ⁻⁶ M	Juice	33
Lucigenin + Fe(II)	Dopamine	Brij 35	1 × 10 ⁻⁸ ~ 2 × 10 ⁻⁷ M	Pharmaceutical preparation	34
Pyrogallol + IO ₄ ⁻	Cr(III)	MOPS	5 ~ 100		35
Purpurogallin + H ₂ O ₂	Cu(II)	NH ₃ + sulfite	0.2 ~ 10	River and lake water	36
Purpurogallin + IO ₄ ⁻	V(IV), V(V)	HCO ₃ ⁻	0.1 ~ 10	Ag-column/Fresh water	37

MBTH: 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone; DMA: *N,N*-dimethylaniline; phen: 1,10-phenanthroline; bpy: 2,2'-bipyridine; Tiron: 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate; SDS: sodium dodecylsulfate; DAOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline; ADOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methoxyaniline; EDTA: ethylenediamine-*N,N,N',N'*-tetraacetic acid; neocuproine: 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline; AA: 4-aminoantipyrine; PPDA: *N*-phenyl-*p*-phenylenediamine; PDA: *m*-phenylenediamine; DPD: *N,N*-dimethyl-*p*-phenylenediamine; Trien: triethylenetetramine; TMBZ: 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; TMBZ-PS: *N*-(3-sulfopropyl)-3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; SSA: 5-sulfosalicylic acid; HSPT: *N,N'*-bis(2-hydroxyl-3-sulfopropyl)-tolidine; ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); DL: detection limit

質として用いた主なものを Fig. 1 に示す。これらの化合物を酸化する酸化剤としては、過酸化水素、塩素酸塩、臭素酸塩、過ヨウ素酸塩などのほか溶存酸素も用いられる。これらの酸化剤は、また接触反応において酸化数の変化した触媒 M' を反応 (3) により M に酸化再生する役割を持つ。

2・2 活性化剤

金属イオンの接触分析において、ある配位子を添加することにより金属イオンの接触作用が著しく増大することがある。このような作用を示す配位子は活性化剤と呼ばれ、特定の金属イオンの接触作用を増大させるとともに他の共存金属イオンに対してはマスキング効果を示すこともあり、活性化剤の利用により分析感度と選択性を飛躍的に高めることができる^{1)~7)}。Table 1 に示したように、Co(II) の接触反応における 1,2-ヒドロキシベンゼン-3,5-ジスルホン酸 (Tiron)、Cu(II) におけるピリジン、Cr(III) におけ

るエチレンジアミン-*N,N,N',N'*-四酢酸 (EDTA)、Fe(III) における phen、V(V) における 5-スルホサリチル酸 (SSA) などは、活性化作用を示す配位子として知られている^{1)~7)}。また、Mn(II) の反応における phen とクエン酸塩のように 2 つの配位子が同時に作用することもある¹²⁾。著者らはこれらの配位子を利用して高感度で選択性の良い接触-FIA 法を開発することができた。

2・3 界面活性剤

界面活性剤は、界面への吸着による界面エネルギーの低下やミセル形成による可溶性などの機能を有し、接触分析法では主に色素のミセル形成による可溶性が分析へ応用されている^{1)~7)}。接触分析の指示反応に用いられる化合物の多くは有機化合物であり、生成する色素の水への溶解性が低いことがある。このため、反応容器への吸着あるいは沈殿が生成し、分析の妨害になる場合がある。特に FIA 法におけるチューブ内壁への吸着はシグナルに大きなテーリ

Fig. 1 Representative examples of organic compounds used in indicator reactions

MBTH: 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone; DMA: *N,N*-dimethylaniline; AA: 4-aminoantipyrine; *p*-Anis: *p*-anisidine; ADOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-methoxyaniline; DAOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline; TMBZ: 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; TMBZ-PS: *N*-(3-sulfopropyl)-3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; HSPT: *N,N'*-bis(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-tolidine; ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

ングを生じ、分析時間の増大や感度の低下の原因となる。このとき、界面活性剤ミセルにより色素を可溶化することにより沈殿生成や吸着を抑制でき、テーリングの小さいシャープなシグナルが得られるので感度の上昇とともに分析速度を改善できる。これまで界面活性剤のこの効果が接触分析法に利用されており^{1)~7)}、本論文においても、3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン (MBTH) と *N*-エチル-*N*-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン (DAOS) を用いた Cu(II) の定量において、ゼフィラミン (Zeph) による高い効果が得られている¹⁶⁾。また、化学発光 (CL) 反応においては界面活性剤ミセルの添加により発光強度が増大することが知られている³⁸⁾。これ

は、ミセル表面やミセル内部への試薬の濃縮により反応効率が上がるためと考えられる。このため、CL 反応を指示反応とした場合にも、反応系に適した界面活性剤の利用により接触分析法の高感度化や選択性の向上が可能である。

3 酸化カップリング反応に基づく方法

吸光光度法による接触分析においてモル吸光係数の大きな指示物質を用いることが望ましく、また退色反応より発色反応を指示反応とすれば、FIA 法においても正のピークが得られ都合がよい。著者らはこれまでに MBTH と DMA の酸化カップリング反応を指示反応として Cr(III)³⁹⁾、Cu(II)¹³⁾⁴⁰⁾、Co(II)¹⁴⁾、Mn(II)¹²⁾⁴¹⁾、Fe(II,III)⁴²⁾ の接触分析を、また *p*-アニシジン^{3)9)~11)}、4-アミノアンチピリン²⁰⁾²¹⁾⁴³⁾、*N*-フェニル-*p*-フェニレンジアミン^{22)~24)26)} 及び *N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン²⁵⁾ の反応系を用いた接触分析法を報告した。ここでは、主に MBTH、*p*-アニシジン及び 4-アミノアンチピリンを基質とした接触-FIA 法について述べる。

3・1 3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾンと新トリンダー試薬との反応を用いる方法

MBTH と DMA の酸化カップリング反応を指示反応とした金属イオンの接触分析は高感度な方法であるが、DMA は水への溶解性が低く、これが高感度化や取り扱い上での問題があった。そのため、著者らは新規な指示反応を開発する意味で、DMA に代わるカップラーとして *N*-エチル-*N*-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メトキシアニリン (ADOS)、DAOS などの *N*-スルホプロピルアニリン誘導体 (新トリンダー試薬⁴⁴⁾⁴⁵⁾) を用いて接触分析を検討した^{15)~17)}。新トリンダー試薬を用いる利点として、(1) 水への溶解度が高い、(2) 生成する色素の極大吸収波長が 540 nm 以上の長波長である、(3) 広い pH 範囲で酸化カップリング反応が起こる、(4) モル吸光係数の大きな色素が得られるなどが挙げられる⁴⁴⁾⁴⁵⁾。このため、カップリング剤としての新トリンダー試薬の使用は、取り扱いの面で優れているとともに分析感度の向上並びに金属イオンの特異的な反応系となることが期待できる。

3・1・1 Cr(III) の分析 過酸化水素の存在下での MBTH と 6 種類の新トリンダー試薬、すなわち ADOS、DAOS、*N*-(3-スルホプロピル)アニリン (HALPS)、*N*-エチル-*N*-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン (TOOS)、*N*-エチル-*N*-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン (MAOS)、*N*-エチル-*N*-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)アニリン (ALOS) との酸化カップリング反応における Cr(III) の接触作用について検討した¹⁷⁾。その結果を Fig. 2 に示す。これより Cr(III) の接

Fig. 2 Effect of pH on the color development of MBTH with modified Trinder's reagents in the presence of Cr(III)

Trinder's reagent ($\lambda_{\max}$): 1, HALPS (579 nm); 2, DAOS (525 nm); 3, ADOS (568 nm); 4, ALOS (601 nm); 5, MAOS (570 nm); 6, TOOS (590 nm). $C_{\text{Cr(III)}}$: 400 ng ml^{-1} ; C_{MBTH} : 2.0×10^{-3} M; $C_{\text{Trinder's reagents}}$: 2.5×10^{-3} M; $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$: 0.4 M; Reaction temperature: 70°C.

Fig. 3 Flow system for the catalytic determination of chromium(III)

R1: carrier (1.0×10^{-2} M HCl); R2: 1.0 M H_2O_2 + 6.0×10^{-2} M EDTA; R3: 2.5×10^{-3} M ADOS; R4: 2.5×10^{-3} M MBTH + 8.0×10^{-2} M tris(hydroxymethyl) aminomethane; P: pump (0.5 ml min^{-1}); S: sample injector (132 μl); RC: reaction coil (10 m); CC: cooling coil (2 m); T1 (70°C) and T2 (25°C): thermostated baths; D: detector (568 nm); Rec: recorder; W: waste (pH 7.0~7.3)

触反応においては新トリンダー試薬の中で ADOS が MBTH のカップラーとして最も効果的であることが分かる。そこで、MBTH-ADOS-過酸化水素の反応 ($\lambda_{\max} = 568 \text{ nm}$) を指示反応とした FIA 法による Cr(III) の高感度な接触分法を開発した。Fig. 3 に Cr(III) の定量に用いたフローシステム及び分析条件を示す。既に MBTH と DMA の酸化カップリング反応を利用する Cr(III) の接触分析法において、EDTA が効果的に活性化剤として作用することを見いだしていたが³⁹⁾、本法においても活性化剤について検討を行った。その結果、Cr(III) の接触作用に対して EDTA、ジエチレントリアミン-*N,N,N',N',N'*-五酢酸

(DTPA) 及び Tiron が活性化剤として作用し、特に EDTA が最も高い活性化作用を示したので (Fig. 4)、これを活性化剤として用いた。また EDTA は他の金属イオンに対してはマスキング作用をするため、Cr(III) の分析に高い選択性が得られた。本法による Cr(III) の定量範囲は $5 \sim 400 \text{ ng ml}^{-1}$ であり、分析速度は毎時 25 試料であった。 40 ng ml^{-1} 及び 100 ng ml^{-1} の Cr(III) を定量した際の相対標準偏差 (RSD, $n = 10$) は、それぞれ 0.94, 0.83% であった。この反応において Cr(VI) は接触作用を示さなかったが、酸性溶液中で過酸化水素による Cr(VI) の還元操作を併用して全 Cr の定量も可能となった。本法により、自動車排出粒子標準物質 (国立環境研究所, NIES No. 8) 及び河川水標準物質 (日本分析化学会, JAC-0032) 中の全 Cr を標準添加法により定量したところ、認証値とよく一致する結果を得た。

3.1.2 Co(II) の分析 MBTH と DMA 及び新トリンダー試薬 (ADOS, DAOS, HALPS, TOOS, MAOS, ALOS) の過酸化水素酸化カップリング反応における Co(II) の接触作用について検討した¹⁵⁾。その結果を Table 2 に示す。Table 2 から明らかなように、最適 pH における反応の初速度は、Cr(III) の場合と異なり、MBTH のカップラーとして DAOS を用いたときに最も大きくなっている。そこで、緩衝剤として 2-アミノ-2-メチル-1,3-ジオール (AMP) を用い、Co(II) の接触作用に対して有効な活性化剤として知られる Tiron を添加してバッチ法及び FIA 法により Co(II) の接触分析法を開発した¹⁵⁾。フローシステムは Fig. 3 と同様に 4 流路のものをを用いた。R1 よりキャリアー溶液として 0.01 M 塩酸、R2 より 0.10 M Tiron

Fig. 4 Effect of EDTA, DTPA, phen and Tiron concentrations on the Cr(III)-catalyzed reaction.

1: Baseline; 2: 40 ng ml⁻¹ Cr(III); Condition as in Fig. 3 except for ligand concentration

Table 2 Characteristics of color formations of MBTH with various couplers in the presence of hydrogen peroxide and cobalt(II)^{a)}

Coupler	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	pH	Initial rate ($\times 10^{-2} \Delta \text{Abs min}^{-1}$)
ADOS	568	9.0	2.7
ALOS	601	7.9	0.37
DAOS	525	9.1	2.8
DMA	588	8.0	0.21
HALPS	579	8.0	0.16
MAOS	570	8.6	2.1
TOOS	590	8.0	1.4

a) C_{coupler} : 1.0×10^{-2} M; C_{MBTH} : 1.0×10^{-2} M; $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$: 3.0×10^{-2} M; C_{Co} : 5.0 ng ml⁻¹; Temperature: 30°C; Reaction time: 30 min; ALOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)aniline; HALPS: *N*-sulfopropylaniline; MAOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-methoxyaniline; TOOS: *N*-ethyl-*N*-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-*m*-toluidine; Other abbreviations as in Table 1.

と 0.80 M 過酸化水素の混合溶液, R3 より 6.0×10^{-2} M DAOS 溶液, R4 より 2.0×10^{-3} M MBTH と AMP 緩衝液 (pH 10.2) の混合溶液をそれぞれ流量 0.5 ml min⁻¹ で送液した. 反応温度 70°C, 反応 pH 9.1 で測定したところ, Co(II) は 0.01 ~ 1.0 ng ml⁻¹ の範囲で定量が可能であった. 検出限界 ($S/N=3$) は 5 pg ml⁻¹ で, 0.05 及び 0.5

ng ml⁻¹ の Co(II) を分析した際の RSD ($n=6$) は, それぞれ 1.6, 0.64% であった. また 1 時間に 30 検体の分析が可能であった. 0.1 ng ml⁻¹ の Co(II) を定量する際に, 100 倍量の共存でも Cr(VI), Cu(II), Mn(II) は妨害を示さず, Ni(II) は 100 倍量の共存で 5% 以上の正の誤差を与えたが, 10 倍量の共存では妨害を示さなかった. 本法の有用性を確かめるため, バッチ法及び FIA 法を用いてリョウブ標準物質 (国立環境研究所, NIES, No. 1) 中の Co の定量を行ったところ, 得られた結果は認証値とよく一致した.

3.1.3 Cu(II) の分析 DMA 並びに新トリンダー試薬をカップラーとした MBTH の過酸化水素酸化カップリング反応においても Cu(II) の接触作用について検討した⁴⁶⁾. Cu(II) の接触作用に対するカップリング成分の効果は, DMA $\approx$ ALOS $\approx$ HALPS < ADOS $\approx$ MAOS < TOOS < DAOS の順に大きくなった. そこで, MBTH-DAOS-H₂O₂ の反応系を用いて Cu(II) の接触分析法をバッチ法により開発した⁴⁶⁾. この反応系においてピリジンが Cu(II) の接触作用に対する活性化剤として有効であり, 0.002 ~ 0.1 ng ml⁻¹ の超微量 Cu(II) の定量が可能であった. この方法は Cu(II) の定量法としては非常に高感度であったが, バッチ法であったため操作に時間がかかり 1

Fig. 5 Effect of the surfactant concentration on the peak height for copper(II)

C_{Cu} : 0.5 ng ml^{-1} ; The broken line denotes the peak height obtained in the absence of a surfactant. Surfactant: (1), Zephiramine; (2), CTAB; (3), DTAC; (4), Brij 35; (5), Tween 80; (6), Tween 20; (7), SDBS; (8), SDS. Condition as in the text except for surfactant concentration

試料の測定に15分を要した。そこで、この反応系をFIA法により検討したところ、界面活性剤の添加により感度と分析速度を向上させることができた¹⁶⁾。検討した界面活性剤は、陽イオン性の塩化ドデシルトリメチルアンモニウム(DTAC)、臭化セチルトリメチルアンモニウム(CTAB)、Zeph、非イオン性のポリオキシエチレン-23-ラウリルエーテル(Brij 35)、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウリン酸塩(Tween 20)、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレイン酸塩(Tween 80)、陰イオン性のドデシルスルホン酸ナトリウム(SDS)、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(SDBS)である。陽イオン性界面活性剤を添加した場合に著しく吸光度が増大したので(Fig. 5)、本法では0.02%(w/v) ($5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$)のZephを用いた。Fig. 6にZephによるフローシグナルへの効果を示す。Zephの存在によりフローシグナルのテーリングが減少し、感度が増大するとともに分析速度が向上した。また、最適pHは5.8~6.2で緩衝剤として2-ヒドロキ-3-モルホリノプロパンスルホン酸(MOPSO)を用いた。フローシステムは、Fig. 3と同じ4流路を用い、以下の分析条件を得た。

R1: $1.0 \times 10^{-2} \text{ M}$ 塩酸; R2: 0.80 M 過酸化水素水; R3: $2.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ DAOS 溶液; R4: $3.0 \times 10^{-3} \text{ M}$ MBTH 溶液, 0.1 M MOPSO 溶液, 0.5 M ピリジン及び $5.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ Zeph の混合溶液; 流量: 0.5 ml min^{-1} ; サンプル容量: $130 \mu\text{l}$; 反応コイル: 5 m ; 反応温度: 60°C 。

Fig. 6 Peak profiles in the absence (1) and presence (2) of Zephiramine.

$C_{Cu(II)}$: 0.5 ng ml^{-1} ; Condition as in the text

本法によるCu(II)の検量線は $0.005 \sim 0.75 \text{ ng ml}^{-1}$ の非常に広い濃度範囲で直線性を示し、毎時40試料の分析が可能であった。 0.5 及び 0.05 ng ml^{-1} のCu(II)を定量する際のRSD ($n=10$)は、それぞれ0.21, 2.0%であった。本法はリョウブ標準物質(NIES, No. 1)中のCuの定量に応用することができた。

3.2 *p*-アニシジンと*N,N*-ジメチルアニリンとの反応を用いる方法

3.2.1 Fe(III)の分析 *p*-AnisとDMAの反応を指示反応とするFe(III)の接触分析法⁹⁾¹⁰⁾において、EDTAはFe(III)と錯形成してFe(III)の接触作用を阻害する。そこで、phenの活性化作用とEDTAの阻害作用を利用してFe(II)及びFe(III)の新規な分析法としてのフローインジェクション(FI)/標準削減法を提案した¹⁸⁾。この方法で用いたフローシステムと分析条件をFig. 7に示す。まず、Fe(III)を含む試料溶液($C_{Fe(III)}$)をC1の流れに注入すると、Fe(III)の接触反応に基づく第1ピーク(H1)を得る。次に、C1の流れに試料溶液を、C2の流れに既知濃度のEDTA溶液(C_{EDTA})を同時に注入すると(ただし、 $C_{Fe(III)} > C_{EDTA}$)、一部のFe(III)がマスキングされるため、H1より低い第2ピーク(H2)が得られる。したがって、求める

Fig. 7 Flow system of flow-injection/standard subtraction method for the determination of iron(III)

C1: 1.0×10^{-2} M HCl; C2: 1.5 M acetate buffer solution; R2: 4.0×10^{-2} M *p*-anisidine + 4.0×10^{-2} M DMA; R2: 0.8 M H_2O_2 + 2.0×10^{-2} M phen; P: pump (0.75 ml min^{-1}); V: loop-valve injector (370 μl); RC1: reaction coil (2 m); RC2: reaction coil (1 m); T: thermostated bath (70°C); D: detector (735 nm); Rec: recorder; W: waste

Fe(III) 濃度は,

$$C_{\text{Fe(III)}} = C_{\text{EDTA}} H_1 / (H_1 - H_2) \quad (5)$$

となる. この方法の特長は, 二つのピークより Fe(III) 濃度が求められるため検量線を作成する必要がないことである. 本法により 10^{-6} M オーダーの Fe(III) を迅速・簡便に定量できる. 5.4×10^{-6} M の Fe(III) 溶液を分析したときの RSD は 0.1% ($n = 10$) であった. 0.1 倍量 (モル比) 以上の Cr(III), Cr(VI), Cu(II), Ni(II), Zn(II) などが妨害したので, これらのイオンが多量に存在する試料では, 分離操作が必要であった. 本法を日本鉄鋼認証標準物質であるインド赤鉄鋼 (JSS No. 801-4), ペルー磁鉄鉱 (JSS No. 814-1), マルコナペレット (JSS No. 850-4) 中の鉄の分析に応用したところ, 保証値と一致した. 高感度な方法とはいえないが, 新規な方法といえよう.

3・2・2 Fe(III) と Cu(II) の連続分析 過酸化水素による *p*-Anis と DMA との酸化カップリング反応において Cu(II) もまた Fe(III) と同様に接触作用を示す¹¹⁾. しかし, 酢酸, リン酸, ホウ酸から構成されている Britton-Robinson 緩衝溶液の存在下では, Fe(III) も Cu(II) も接触作用を示さない. これは, 両者の接触作用がリン酸により抑制されているためと考えられる. しかし, ここに phen を添加すると Fe(III) の接触反応が進行するが, Cu(II) には作用しない. また, 2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリン (ネオクプロイン, neo) は, Cu(II) に対して活性化効果を示すが, Fe(III) には示さない. そこで, Fig. 7 に示したフロー系と同様のものを用い, 735 nm の吸光度を追跡することにより Fe(III) と Cu(II) の連続定量法を開発した¹⁹⁾. 分析条件は, 以下のとおりである.

C1: 1.0×10^{-2} M 塩酸; C2: ミリ Q 水 (ミリポア製 MilliQ システムで精製した水); R1: 4.0×10^{-2} M *p*-Anis と 4.0×10^{-2} M DMA の混合溶液; R2: 0.80 M 過酸化水素水と 1.0 M Britton-Robinson 緩衝剤の混合溶液; 流量: 0.43 ml min^{-1} ; 反応コイル RC1: 2 m; RC2: 5 m; 反応 pH: 2.5; 反応温度: 65°C .

まず, Fe(III) と Cu(II) を含む試料 (370 μl) と phen 溶液 (5.0×10^{-3} M, 370 μl) を同時に注入すると, Fe(III) による接触反応が進行し, そのピークが現れる. 次に試料と neo 溶液 (2.0×10^{-3} M, 370 μl) を同時に注入すると, Cu(II) のピークが現れるので, この二つのピーク高さにより $50 \sim 500 \text{ ng ml}^{-1}$ の Fe(III) と $2 \sim 20 \text{ ng ml}^{-1}$ の Cu(II) が連続的に定量可能となった. 河川水中に含まれるイオンについてその影響を検討したところ, 少なくとも Fe(III) 濃度の 2 倍量までの共存では妨害を示さなかった. 本法を河川水標準物質 (JAC-0032) に応用したところ, Fe 及び Cu 共に保証値と一致する値が得られた.

3・3 4-アミノアンチピリンと *N,N*-ジメチルアニリンとの反応を用いる方法

4-アミノアンチピリン (AA) と DMA との酸化カップリング反応において酸化剤として臭素酸塩を用いると V(IV,V) が, また過酸化水素存在下では Fe(II,III) が接触作用を示す. V(IV,V) の場合は, 活性化剤として Tiron を, Fe(II,III) では phen を活性化剤として用いて FIA 法を開発した. これらの方法により $0.05 \sim 2.0$ の V(IV,V)²⁰⁾ 及び $0.5 \sim 10 \text{ ng ml}^{-1}$ の Fe(II,III) が定量可能となった.

AA-DMA- H_2O_2 -Fe(III) の接触反応系を FIA 法に適用して過酸化水素の分析法を検討した²¹⁾. フローシステムは, Fig. 3 と同じく 4 流路系を用い, 次の分析条件が得られた.

R1: 酢酸緩衝溶液 (pH 4.6); R2: 4.0×10^{-3} M AA 溶液; R3: 5.0×10^{-3} M DMA 溶液; R4: 1.3×10^{-4} M Fe(III) 溶液; 流量: 0.37 ml min^{-1} ; 反応コイル: 2.5 m; 反応温度: 50°C ; 測定波長: 555 nm.

この条件下において $1.0 \times 10^{-6} \sim 6.0 \times 10^{-4}$ M の過酸化水素が定量でき, 5.0×10^{-5} M の過酸化水素を分析したときの RSD ($n = 30$) は 0.8% であった. また, 1 時間当たり 15 試料が分析できた. 1.0×10^{-5} M の過酸化水素について共存イオンの影響を検討したところ, 同程度濃度のほとんどのイオンは妨害しなかったが, 過酸化水素と反応する Cu(II), Mo(VI) 及び Fe(III) と錯形成するリン酸塩, クエン酸塩は, 負の妨害を示した.

更に, 本反応系と過酸化水素を生成する酵素反応と組み

合わせてグルコース及び尿酸の分析を検討した。すなわち、グルコースオキシダーゼ及びウリカーゼを固定化したカラムを作製し、これをサンプルインジェクターの後に組み込んだ。グルコースの分析にはキャリアー溶液として2-モルホリノエタンスルホン酸 (MES) 溶液 (pH 5.4) を、また尿酸には *N*-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-アミノプロパンスルホン酸 (TAPS) 溶液 (pH 7.5) を送液した。グルコース及び尿酸の定量範囲は $1.0 \times 10^{-6} \sim 6.0 \times 10^{-4}$ M で、 1.0×10^{-5} M のグルコース及び尿酸を分析した際の RSD ($n = 20$) は、それぞれ 1.3% 及び 1.2% であった。本法を標準血清中のグルコース及び尿酸の分析に応用した結果を Table 3 に示す。本法により得られた値は、生体物質測定用キット (Iatron Lab. 製) による値及び保証値とよく一致した。

4 その他の色素生成反応に基づく方法

前節で述べた接触分析法では2つの化合物の酸化カップリング反応を用いたが、これは各試薬の精製が容易という利点がある。しかし、単一の化合物を基質とする酸化反応を用いる接触分析では、付加する化合物 (カップラー) を必要とせずに基質となる化合物が酸化剤により酸化されて色素を生成するため、酸化カップリング反応による方法と比較して簡易な操作で高感度な分析法が設計可能である。ここでは、基質として 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ)²⁷⁾、*N*-(3-スルホプロピル)-3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ-PS)²⁸⁾、*N,N'*-ビス(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-トリジン (HSPT)²⁹⁾、2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸) (ABTS)³⁰⁾ 及びシステイン³¹⁾を用いた Fe(III)、V(V)、Mn(II) 及び Cu(II) の FIA 法について述べる。

4.1 ベンジジン誘導体を用いる方法

4.1.1 Fe(III) の分析 ベンジジンは古くから尿中などの潜血検査に用いられてきたが、その発がん性のため、これに代わる発色試薬として TMBZ が Holland ら⁴⁷⁾ により合成され、動物実験によりその安全性が確認された。TMBZ が過酸化水素により酸化され青色化合物 ($\lambda_{\max} = 650$ nm) を生成する反応は遅いが、Fe(III) 及び Fe(II) の存在により著しく促進される。この作用を利用する Fe(II,III) の接触-FIA 法を検討した²⁷⁾。Fe(III) の接触作用に対する活性化効果について phen、2,2'-ビピリジン、ヒスチジン及びニトリロ三酢酸 (NTA) を用いて検討したところ、NTA 以外の配位子で活性化作用が認められた。特に phen の活性化作用が著しかったので、phen を活性化剤として用いた。フローシステムは Fig. 3 と同様に4流路とした。R1 よりキャリアー溶液として 1.0×10^{-2} M 塩酸、R2 より 0.50 M 過酸化水素水、R3 より pH 3.2 の酢

Table 3 Determination of glucose and uric acid in standard sera

Analyte	Serum	Concentration/mg dl ⁻¹		
		Present method	Reference method ^{a)}	Certified value
Glucose	A	72	67	74
	B	75.6	65.8	74~82
	C	92	79.1	91
Uric acid	A	4.0	3.5	3.9
	B	5.1	4.9	4.7~6.7
	C	5.0	4.2	4.2

A: Sera Chem, Clinical Chemistry Control Serum (Human) Level 1 (Iatron Lab. Inc.); B: Moni-Trol 1, Chemistry Control Serum (American Dade Co.); C: Q-PAK, Chemistry Control Serum 1 (Technicon Instru. Co.); a) The values were obtained with kits for analyses of biological materials prepared by Iatron Lab. Inc.

酸塩緩衝液と 2.0×10^{-4} M phen の混合溶液、R4 より 1.0×10^{-3} M TMBZ 溶液をそれぞれ 0.5 ml min^{-1} の流量で送液した。試料溶液 (295 μl) をキャリアー溶液の流れに注入し、反応コイル (5 m) 中で生成した色素の吸光度を測定した。反応 pH は 3.2 付近が、反応温度は 50°C が最適であった。本法による Fe(II) 及び Fe(III) の検量線は測定誤差範囲内で一致し、それぞれ $0.2 \sim 200 \text{ ng ml}^{-1}$ の濃度範囲で直線であった。この検量線の直線範囲は他の接触分析法と比較して広い濃度範囲に渡っている。検出限界 ($S/N = 3$) は 0.05 ng ml^{-1} であった。5 及び 10 ng ml^{-1} の Fe(III) を定量した際の RSD ($n = 10$) は、それぞれ 1.0% 及び 0.4% であり、1 時間当たり 12 試料が分析可能であった。5 ng ml^{-1} の Fe(III) を定量する際、ほとんどの金属イオンが 100 倍量の共存まで許容できたが、Cu(II)、W(VI)、クエン酸塩は 50 ng ml^{-1} まで、Co(II)、Cr(VI) 及びヨウ化物イオンは 5 ng ml^{-1} まで許容された。本法により河川水標準物質 (JAC-0032) 中の Fe の定量を行ったところ、認証値とよく一致した。更に酸添加と無添加の湖水 (霞ヶ浦 10 地点) 中の Fe を本法及び ICP-MS により分析した。その結果を Fig. 8 に示す。本法により得られた値は、ICP-MS による値に比べて相対的に低くなっている。これは腐植物質などにより錯化された Fe は測定されないことを示しており、本法はフリーの鉄イオンの分析に応用できるものと考えられる。

4.1.2 V(IV,V) の分析 TMBZ-PS は、TMBZ と比較して水溶性が増しており、また酸化還元電位の違いにより TMBZ とは幾つかの点で異なる。TMBZ は過酸化水素により酸化されて青色の色素を生成した後、徐々に黄色の色素へと変化するのに対し、TMBZ-PS は臭素酸塩酸化により青色の色素は生成せずに直接、黄色の色素 ($\lambda_{\max} = 460$ nm) を生成する。この酸化反応は V(V) の存在により著しく促進されたので、この反応を利用した極微量 V(V) の

Fig. 8 Iron concentrations in the acidified (A) and unacidified (B) water samples of Lake Kasumiga-ura.

■: Proposed method; ▨: ICP

FIA 法を検討した²⁸⁾。酒石酸塩、クエン酸、SSA、サリチル酸、Tiron、没食子酸、カテコール、*trans*-1,2-ジアミノシクロヘキサン-*N,N,N',N'*-四酢酸及び phen の活性化作用を調べたところ、SSA が最もその効果が高いことを見いだした。フローシステムは、Fig. 3 と同じく 4 流路系とし、R1 からキャリアー溶液として 5.0×10^{-3} M 硫酸、R2 から 0.15 M SSA とクエン酸塩緩衝液の混合溶液、R3 より 2.0×10^{-3} M TMBZ-PS 溶液、R4 より 0.25 M 臭素酸溶液をそれぞれ流量 0.6 ml min^{-1} で送液した。試料溶液 (287 μl) をキャリアー溶液の流れに注入し、反応コイル中 (5 m, 60°C) にて生成した色素の吸光度を測定した。得られた V(V) の検量線は $0.05 \sim 8.0 \text{ ng ml}^{-1}$ の濃度範囲で良好な直線関係を示した。検出限界 ($S/N = 3$) は 0.01 ng ml^{-1} であり、 0.5 ng ml^{-1} の V(V) を定量する際の RSD ($n = 15$) は 0.41% で、毎時 15 試料の分析が可能であった。V(IV) についても V(V) と同様の検量線が得られ、このことから V(IV) は臭素酸塩により V(V) へ酸化されて反応に関与していると考えられる。 0.5 ng ml^{-1} の V(V) を定量する際の共存物質の影響を検討したところ、Cu(II) 及び Cr(III) は 10000 倍までの、また Fe(III) は 500 倍までの共存が許容された。本法を水道水及び湖沼水中の V の定量に応用し、添加実験による回収率は 97~105% と良好な結果であった。更に、National Institute Standards & Technology (NIST) の標準物質 (SRM 1640, Trace Elements in Natural Water) 中の V を定量したところ、認証値とよく一致する結果が得られた。

HSPT は、ペルオキシダーゼ活性測定用試薬として溝口ら⁴⁸⁾により合成された酸化還元系の発色試薬である。酸性条件下で HSPT は、臭素酸塩により酸化され、黄色化合物 ($\lambda_{\text{max}} = 460 \text{ nm}$) を生成する。この酸化反応において V(V) は著しい接触作用を示したので、このことを利用し

て V(V) の FIA 法を開発した²⁹⁾。Tiron、SSA など 9 種類の錯形成剤について活性化効果を検討したところ、Tiron の添加が最も接触反応速度を増大させたので (Fig. 9)、これを活性化剤として用いた。また、Fe(III) が著しい妨害を示したので、そのマスキング剤としてエチレンジアミントトラキスメチレンホスホン酸 (EDTPO) を用いた。フローシステムは、Fig. 3 と同じ 4 流路系のものを用いた。R1 よりキャリアー溶液 (1.0×10^{-2} M 塩酸)、R2 より 8.0×10^{-3} M Tiron 溶液と 5.0×10^{-5} M EDTPO の混合溶液、R3 より 8.0×10^{-5} M HSPT 溶液、R4 より 5.0×10^{-2} M 臭素酸塩溶液がそれぞれ流量 0.5 ml min^{-1} で送液される。キャリアー溶液に注入された試料溶液 (260 μl) は、R2~R4 の溶液と混合された後 (pH 2.2)、反応コイル (15 m, 60°C) に達する。そこで生成した黄色化合物の吸光度が測定される。得られた検量線は、V(V) 濃度 $0.01 \sim 3.0 \text{ ng ml}^{-1}$ の範囲で良好な直線性を示した。V(IV) の検量線は V(V) のそれと誤差の範囲内で一致したので、本法は V(IV+V) の分析が可能であった。 0.2 ng ml^{-1} の V(V) を分析したときの RSD ($n = 10$) は 2.2% で、分析速度は毎時 25 試料であった。また、ほとんどのイオンは 50 ng ml^{-1} の共存でも妨害しなかった。本法を河川水標準物質 (JAC-0031, JAC-0032) 中の V の定量に応用し、参考値と一致した値が得られた。また湖沼水、河川水及び飲料水中の V の定量にも適用した。

4.2 ABTS を用いる Mn(II) の分析

ABTS は、酵素活性の測定用基質として使用されており、酸化されると ABTS ラジカルカチオン ($\lambda_{\text{max}} = 415 \text{ nm}$) を生成する⁴⁹⁾。過ヨウ素酸塩による ABTS の酸化反応は微量の Mn(II) の存在により著しく促進されるので、この接触反応に基づく Mn(II) の FIA 法を開発した³⁰⁾。こ

Fig. 9 Effect of ligands on the V(V)-catalyzed reaction

Ligand concentration/ 10^{-3} M: (i), 0.5; (ii) 1.0; (iii), 5.0; $C_{V(V)}$: 0.5 ng ml^{-1} ; Condition as in the text; HQS: 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid; Mal: malic acid; Malo: malonic acid; SSA: 5-sulfosalicylic acid; Tart: tartaric acid; Cit: citric acid; Oxa: oxalic acid; PCA: protocatechuic acid; Tiron: 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate

の方法におけるフローシステムは, Fig. 3 に示した 4 流路系のものを用い, 以下の分析条件が得られた.

R1: 1.0×10^{-2} M 塩酸; R2: 2.0×10^{-3} M 過ヨウ素酸塩溶液; R3: 2.0×10^{-3} M ABTS 溶液; R4: 0.1 M MOPS 溶液, 8.0×10^{-2} M マロン酸溶液と 0.4 M アンモニア水の混合溶液; 流量: 1.0 ml min^{-1} ; サンプル容量: $132 \mu\text{l}$; 反応コイル: 6 m; 反応温度: 30°C ; 反応 pH: 6.6~6.7.

最適条件下で得られた Mn(II) の検量線は $0.05 \sim 1.0 \text{ ng ml}^{-1}$ の濃度範囲で良好な直線性を示し, 検出下限 ($S/N=2$) は 0.02 ng ml^{-1} であった. 0.5 ng ml^{-1} の Mn(II) を分析した際の RSD ($n=10$) は 1.6% で, 1 時間当たり約 30 試料の分析が可能であった. Fe(III) の共存は正の誤差を与えたが, マロン酸の添加により 100 ng ml^{-1} まで許容できた. Co(II) は妨害を示し, その許容濃度は 1 ng ml^{-1} であった. 河川水, 湖沼水及び海水を 10~200 倍希釈した後, 本法により Mn を定量した結果を Table 4 に示す. 得られた値はグラファイト炉原子吸光法による値とほぼ一致した.

4.3 システインを用いる Cu(II) の分析

Fe(II)/Fe(III) の酸化還元系に phen が存在すると, Fe(II)-phen 錯体の生成定数が Fe(III)-phen 錯体のそれよりも大きいので, この系の酸化還元電位は上昇する. したがって, Fe(III) はシステイン (Cys) を定量的に酸化できるようになる³¹⁾. この反応は微量の Cu(II) によって加速

Table 4 Determination of manganese in river, lake and seashore water samples

Sample ^{a)}	Dilution	Mn in sample ^{b)} /ng ml ⁻¹		
		Proposed method		GFAAS ^{c)}
		(i) ^{c)}	(ii) ^{d)}	
River water				
Kyufukuro-gawa	1/200	94 ± 1	95 ± 2	95 ± 4
Sendai-gawa	1/20	4.5 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.2 ± 0.3
Tenjin-gawa	1/50	9.5 ± 0.1	9.4 ± 0.1	9.3 ± 0.4
Lake water				
Tanega-ike	1/500	126 ± 4	128 ± 2	133 ± 12
Koyama-ike	1/100	66 ± 2	66 ± 1	68 ± 4
Togo-ike	1/200	94 ± 3	92 ± 2	89 ± 4
Seashore water				
Uradome	1/10	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.2
Karo	1/10	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.2
Natudomari	1/10	3.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.3
Hawaii	1/20	9.2 ± 0.1	9.5 ± 0.1	9.4 ± 0.4

a) Collected in Tottori Prefecture; b) Average of three determinations; c) Calibration curve method; d) Standard addition method; e) Graphite furnace atomic absorption spectrometry

されることを予想し, FIA 法による Cu(II) の新しい接触分析法を開発した³¹⁾. 反応は次のように考えた. すなわち, この酸化反応は非常に遅いが, ここに Cu(II) が存在すると, 式(5)~(7)の反応が進行して反応が速くなるので,

一定時間後に生成した Fe(II)-phen 錯体 ($\lambda_{\text{max}} = 510 \text{ nm}$) の吸光度を測定することにより微量の Cu(II) の定量が可能となる. フローシステムは, 4 流路とした. まず, 最初にキャリアー溶液 (1.0×10^{-2} M 硝酸) と 0.1 M 酢酸塩緩衝液 (pH 4.8) を含む 1.0×10^{-3} M Cys 溶液を混合させ, 次に 2.0×10^{-3} M の Fe(III) 溶液を, 最後に 4.0×10^{-3} M phen 溶液を混合させるようにした. サンプル容量を $200 \mu\text{l}$ として検量線を作成したところ, $0.1 \sim 10 \text{ ng ml}^{-1}$ の Cu(II) が定量可能となり, 検出限界 ($S/N=3$) は, 0.04 ng ml^{-1} であった. 1 ng ml^{-1} の Cu(II) を分析した際の RSD ($n=10$) は 1.0% で, 1 時間当たり約 30 試料の分析ができた. 2 ng ml^{-1} の Cu(II) を用いて共存イオンの影響を検討したところ, すべてのイオンは 200 ng ml^{-1} まで許容でき, 選択性は良好であった. 本法により河川水標準物質 (JAC-0032) 中の Cu を分析し, 保証値と一致した分析値が得られた. また天然水中の ng ml^{-1} レベルの Cu が定量できた.

5 化学発光反応に基づく方法

ルミノール、ルシゲニンなどの CL 反応を利用した分析法は、金属イオンなど様々な微量成分の定量に応用されている⁷⁾³⁸⁾。また、CL 法は吸光法及び蛍光法と並んで FIA 法の検出手段としても使用されている。著者らも FIA 法を用いてルミノールの CL 反応に基づいた Fe(II) 及び Fe(III) の同時定量³²⁾、ルシゲニンの CL 反応によるアスコルビン酸³³⁾及びドーパミン³⁴⁾の分析、ピロガロールの CL 反応を利用した Cr(III) の分析³⁵⁾及びブルプロガリンの酸化反応による Cu(II) の分析³⁶⁾、V(IV) と V(V) の分別定量³⁷⁾を検討した。

5.1 ルミノールを用いる Fe(II) と Fe(III) の同時分析

ルミノール-過酸化水素の CL 反応では、種々の金属イオンが触媒として作用するので、この反応を用いた分析法が報告されている⁷⁾。この反応において過酸化水素と Fe(II) の反応により生成したヒドロキシラジカルが、共存する過酸化水素と反応してスーパーオキシドイオンが生成し⁵⁰⁾、これが CL 反応の触媒として作用する⁵¹⁾。したがって、ヒドロキシラジカルの生成量が Fe(II) 濃度に依存するので、この CL 反応を用いることにより Fe(II) が定量可能となる。しかし、Fe(III) の反応性は Fe(II) に比べて小さく、Fe(III) を分析するためには還元が必要となる。著者らは、この反応系に Tiron, EDTA, phen, クエン酸及び酒石酸を添加したところ、phen は、Fe(II) 及び Fe(III) の発光強度を強めたが、クエン酸は Fe(II) による CL 発光強度のみ増加させ、Fe(III) に対してはマスキング剤として作用することを見いだした。また、テトラデシルトリメチルアンモニウムブロミド (TTAB), Zeph などの陽イオン性の界面活性剤、ドデシル硫酸塩, Brij 35 を添加したところ、TTAB が増感効果を示した。そこで、クエン酸及び TTAB 共存下でのルミノール CL 反応と Fe(III) の銀による還元反応を併用して Fe(II) と Fe(III) の同時定量法を開発した³²⁾。フロー系及び分析条件を Fig. 10 に示す。キャリアの流れを二つに分岐させ、一方には Fe(III) を還元するための銀カラムを挿入した。したがって、銀カラムを通過した試料は Fe(II+III) の、またカラムを通過しなかった試料は Fe(II) のシグナルとなる。この方法により $5.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ M の Fe(II) 及び Fe(II+III) が定量可能となった。 4.0×10^{-8} M の Fe(II) 及び 1.0×10^{-7} M の Fe(II+III) を分析したときの RSD ($n = 10$) は、それぞれ 3.0, 1.5% であり、分析速度は毎時 18 試料であった。頭髮試料 (National Institute of Environmental Sciences, NIS No. 5) 及び河川水標準物質 (JAC-0031, JAC-0032) に応用したところ、全鉄の分析値は保証値と一致した。更に湖沼水、井戸水、温泉水及び河川水中の Fe(II) 並びに

Fig. 10 Flow system for the simultaneous determination of iron(II) and total iron

R1, R2: 1.0×10^{-2} M HCl; R3, R4: 1.0×10^{-2} M citric acid; R5: 1.0×10^{-5} M luminol + 2.7×10^{-2} M TTAB + 0.1 M borate buffer (pH 9.3); R6: 1.0×10^{-2} M H_2O_2 ; S1 (480 μ l), S2 (830 μ l): sample injector; P: pump (1.6 ml min^{-1}); DC: delay coil (12 m); MC: mixing coil (2 m); T: thermostated bath (35°C); D: detector; Rec: recorder; W: waste

Fe(II+III) の定量に応用することができた。

5.2 ルシゲニンを用いるアスコルビン酸の分析

ルシゲニン (Luc) もまた古くから使用されている化学発光試薬である⁷⁾。Luc とアスコルビン酸の反応において Fe(III) は触媒として作用したので、この CL 反応系を用いたアスコルビン酸の FIA 法を開発した³³⁾。この CL 反応を FIA 法に適用する場合、*N*-メチルアクリドンなどの不溶性の反応生成物を生じるため再現性に難点があった。そこで、これらを可溶化するため界面活性剤の添加を試みたところ、Tween 20, Tween 80, Brij 35 あるいは Zeph の共存で増感効果が見られた。本法では、Brij 35 を界面活性剤として添加して最適条件を検討した。フローシステムは 4 流路とし、検出器の直前で試料溶液と試薬溶液の流れを混合させた。以下に得られた最適条件を示す。

R1: ミリ Q 水; R2: 1.0×10^{-4} M Fe(III) 溶液, 0.01% (w/v) Brij 35 と 1.0×10^{-3} M 硫酸の混合溶液; R3: 1.0 M 水酸化ナトリウム溶液; R4: 4.0×10^{-5} M Lcu 溶液; 流量: 0.6 ml min^{-1} ; サンプル容量: 60 μ l; 加温コイル: 3 m; 加温温度: 45°C 。

本法により $2.0 \times 10^{-7} \sim 6.0 \times 10^{-6}$ M のアスコルビン酸の定量が可能となった。 6.0×10^{-6} M アスコルビン酸を分析したときの RSD ($n = 5$) は 1.9% であり、分析速度は毎時 30 試料であった。共存イオンの影響について検討したところ、Cu(II), Fe(II) はアスコルビン酸より低濃度でも妨害を示した。本法を市販のジュースに含まれるアスコルビンの定量に応用したところ、得られた値は、2,6-ジク

ロロインドフェノール法による値とよく一致した。

5・3 ピロガロールを用いる Cr(III) の分析

ピロガロール (PG) の過酸化水素による酸化反応は, CL を伴い, Co(II) などの触媒によって促進される。この反応の発光種は一重項酸素と言われ, その寿命は非常に短い, 微量成分の分析にも応用されている⁵²⁾⁵³⁾。著者らは, 過ヨウ素酸塩酸化による PG の化学発光反応において Cr(III) がその発光強度を著しく増加させることを見いだした。また緩衝剤である 3-モルホリノプロパンスルホン酸 (MOPS) は増感作用を示した。そこで, この CL 反応系を用いて Cr(III) の FIA 法を開発した³⁵⁾。フローシステムは, 4 流路系とし, 試料溶液と試薬溶液の流れは, 検出器直前で混合して最適条件を検討した。以下に分析条件を示す。

R1: 1.0×10^{-3} M 塩酸; R2: 8.0×10^{-2} M MOPS 溶液, 6.0×10^{-3} M EDTA 溶液と 0.3 M アンモニア水の混合溶液; R3: 1.0×10^{-4} M PG 溶液; R4: 6.0×10^{-3} M 過ヨウ素酸塩溶液; 流量: 0.7 ml min^{-1} ; サンプル容量: 321 μl ; 加温コイル: 1 m; 加温温度: 30°C; 反応 pH: 6.9。

この条件下で得られた検量線はわずかに湾曲したが, 100 ng ml^{-1} までの Cr(III) が定量可能で, 検出限界 ($S/N=2$) は 1 ng ml^{-1} であった。20 ng ml^{-1} の Cr(III) を繰り返し分析した場合の RSD ($n=10$) は 2.2% で, 分析速度は毎時約 25 試料であった。Al(III), Zn(II) などが負の妨害を示したので, マスキング剤として EDTA を使用した。EDTA は Cr(III) と錯形成し, 生成した Cr(III)-EDTA 錯体は接触作用を示すが³⁹⁾, 他の金属イオンをマスクする。したがって, EDTA の添加によりほとんどの金属イオンは 100 ng ml^{-1} まで許容できた。著しい妨害を示したのは Co(II) で, その許容限界濃度は 25 ng ml^{-1} であった。また, 50 ng ml^{-1} 以下の Cr(VI) の存在では発光強度の増大が認められなかった, Cr(VI) を亜硫酸塩により Cr(III) に還元することにより Cr(VI) の定量が可能となった。そこで, 5~30 ng ml^{-1} の Cr(III) 及び Cr(VI) を含む合成試料を調製して亜硫酸塩無添加と添加の場合について分析したところ, 良好な結果が得られた。

5・4 プルプロガリンを用いる Cu(II) 及び V(IV) の分析

プルプロガリン (2,3,4,6-テトラヒドロキシ-5H-シクロヘプタベンゼン-5-オン-プルプロガリン, PPG) は, PG の酸化により中間体として生成されるが, 過酸化水素, 過ヨウ素酸塩などにより酸化される際, CL が生じる。この発光種は PG の CL と同じく一重項酸素と言われ, その発光スペクトルの極大は 470 nm 付近に現れる³⁷⁾。PPG の CL

反応は, ペルオキシダーゼの検出に用いられているが⁵⁴⁾⁵⁵⁾, 金属イオンの定量に関するものは報告されていない。著者らは, この CL 反応系に微量の Cu(II) 及び V(IV) が存在すると, この反応が接触的に促進され, その発光強度が強まることを見いだしたので, この反応を利用する極微量 Cu(II)³⁶⁾ 及び V(IV)³⁷⁾ の CL-FIA 法を開発した。

Purpuragallin (PPG)

5・4・1 Cu(II) の分析 過酸化水素酸化による PPG の CL 反応は, Cu(II) の存在により促進され, アンモニアと亜硫酸塩はその Cu(II) 発光強度を強めた。そこで, 試料溶液と試薬溶液が検出器の直前で混合できる 4 流路系のフローシステムを組み立て, Cu(II) の分析条件を検討した³⁶⁾。金属イオン, 特に Mn(II) の妨害が顕著であったため, サンプルインジェクターの後に陽イオン交換樹脂 (Dowex 50W-X8, 長さ 50 mm, 内径 1.0 mm) を組み込み, キャリヤー溶液 (溶離剤) としてシュウ酸溶液を用いて金属イオンの妨害を除いた。得られた分析条件を以下に示す。

R1: 4.0×10^{-2} M シュウ酸溶液 (pH 2.5); R2: 5.0×10^{-3} M 亜硫酸塩溶液と 1.2 M アンモニア水の混合溶液; R3: 2.0×10^{-5} M PPG 溶液; R4: 1.0×10^{-3} M 過酸化水素水; 流量: 1.8 ml min^{-1} ; サンプル容量: 400 μl ; 加温コイル: 2 m; 加温温度: 60°C; 反応 pH: 9.0。

この条件で作成した検量線は, 0.2~10 ng ml^{-1} の濃度範囲で直線性を示し, 検出限界 ($S/N=2$) は, 0.05 ng ml^{-1} であった。2 ng ml^{-1} の Cu(II) を繰り返し分析した際の RSD ($n=10$) は 2.5% で, 分析速度は毎時 50 試料であった。本法により河川水標準物質 (JAC-0031, JAC-0032) 中の Cu を分析したところ, その値は保証値と一致した。更に湖沼水及び河川水に応用し, 良好な結果が得られた。

5・4・2 V(IV) 及び V(V) の分析 過ヨウ素酸塩酸化による PPG の CL 反応において V(IV) は接触作用を示したが, V(V) は触媒として作用しなかった。また, 炭酸水素塩の共存により V(IV) の発光強度は強められた。そこで, この CL 反応を用いて V(IV) と V(IV+V) の定量を検討した³⁷⁾。予備実験の結果, Mn(II) と Fe(III) が著しい妨害を

Fig. 11 Flow system for the determination of vanadium(IV) and total vanadium

R1: 1.0×10^{-2} M HCl; R2: 6.0×10^{-2} M NaHCO_3 + 2.0×10^{-3} M GEDTA + 3.0×10^{-3} M diphosphate; R3: 1.0×10^{-5} M PPG + 2.0% (v/v) ethanol; R4: 2.0×10^{-4} M KIO_4 ; P: pump (2.0 ml min^{-1}); S: sample injector (470 μl); V: flow exchange valve; CC: cooling coil (2 m); T: thermostated bath (4°C); D: detector; Rec: recorder; W: waste (pH 10.4)

示したので、これらのマスク剤として *O,O'*-ビス(2-アミノエチル)エチレングリコール-*N,N,N',N'*-四酢酸 (GEDTA) 及び二リン酸塩を用いた。フローシステムは4流路とし、サンプルインジェクターの後に流路切り替えバルブ及びV(V)を還元するため銀カラム(長さ150 mm, 径1.0 mm)を取り付けた。フローシステムと分析条件をFig. 11に示す。この条件下で検量線を作成したところ、 $0.1 \sim 10 \text{ ng ml}^{-1}$ のV(IV)及びV(IV+V)が分析可能となり、検出限界($S/N=2$)は、 0.05 ng ml^{-1} であった。 2.0 ng ml^{-1} のV(IV)及びV(V)を繰り返し測定した際のRSD($n=10$)は、それぞれ1.4, 1.6%であり、分析速度は毎時50試料であった。本法を河川水標準物質(JAC-0031, JAC-0032)に応用したところ、V(IV+V)の分析値は参考値と一致した。本法による湖沼水、河川水及び飲料水中のV(IV)とV(V)の定量結果をTable 5に示す。これらの試料中にはV(V)のみが検出され、V(IV)は存在しなかった。

6 結 言

接触反応を用いたFIA法の高感度化・高選択性を達成するためには、適切な指示反応の選択及び金属イオンに特異的に作用する活性化剤の効果的な利用が有効であり、また接触反応系における界面活性化剤の使用は有用な手段である。本論文では、濃縮や分離などの前処理を行うことなく接触-FIA法により実試料中の極微量成分を定量できることを示した。

環境と生体のかかわりを理解する上でも、あるいは材料の機能や特性を明確にするためにも環境科学、生命科学、材料科学など様々な分野でナノグラム〜ピコグラムレベル

Table 5 Determination of vanadium in river and drinking water samples

Sample	Vanadium in sample/ ng ml^{-1}		
	V(IV)	Total V	
		(I) ^{c)}	(II) ^{d)}
River water ^{a)}			
Fukuro-gawa	N.D. ^{e)}	0.44 ± 0.03	0.42 ± 0.04
Ohro-gawa	N.D.	0.24 ± 0.03	0.26 ± 0.02
Sendai-gawa	N.D.	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.02
Drinking water ^{b)}			
A	N.D.	1.17 ± 0.02	1.21 ± 0.03
B	N.D.	0.64 ± 0.03	0.63 ± 0.02
C	N.D.	1.25 ± 0.02	1.29 ± 0.03

a) Collected at Tottori Prefecture, Japan; b) Commercial drinking water; c) Calibration curve method ($n=5$); d) Standard addition method ($n=3$); e) Not detected

あるいはそれ以下の超微量成分の濃度及び挙動を正確にかつ迅速に把握することが求められている。本論文で述べた接触分析とFIA法を組み合わせた方法は、これらのニーズを満たす精度の良い高感度な分析法となっており、ルーチン分析の面でも期待できるものである。

金属イオンが関与する接触反応では、配位子の種類によってその反応速度が異なってくるため、その機構の解明が待たれるところである。また、接触反応を用いた金属イオンのトーレスキャラクタリゼーションなど新しい研究の展開が期待される。

本研究は、多くの共同研究者とともに行った長年にわたる研究の成果であり、研究に協力された方々に深く感謝します。

文 献

- 1) 中野恵文, 河嶋拓治: ぶんせき (Bunseki), **1987**, 317.
- 2) D. Perez-Bendito, M. Silva: "Kinetic Methods in Analytical Chemistry", (1988), (Ellis Horwood, Chichester).
- 3) T. Kawashima, S. Nakano: *Anal. Chim. Acta*, **261**, 167 (1992).
- 4) 手嶋紀雄, 中野恵文, 河嶋拓治: *J. Flow Injection Anal.*, **11**, 7 (1994).
- 5) T. Kawashima, S. Nakano, M. Tabata, M. Tanaka: *Trends Anal. Chem.*, **16**, 132 (1997).
- 6) 中野恵文: 分析化学 (Bunseki Kagaku), **48**, 285 (1999).
- 7) T. Kawashima, N. Teshima, S. Nakano: "Catalytic Kinetic Determinations: Nonenzymatic," in "Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation," Vol. 12, Edited by Robert A. Meyers, p. 11034 (2000), (John Wiley & Sons, Chichester).
- 8) S. Kreingold, L. I. Sosenkova: *Zh. Anal. Khim.*, **26**, 332 (1971).
- 9) T. Kawashima, Y. Kozuma, S. Nakano: *Anal. Chim. Acta*, **106**, 355 (1979).
- 10) 河嶋拓治, 畠山直子, 鎌田政明, 中野恵文: 日本化学会誌, **1981**, 84.
- 11) 中野恵文, 倉本一弘, 河嶋拓治: 日本化学会誌,

- 1981, 91.
- 12) Y. Miyata, T. Hirano, S. Nakano, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **7**, 97 (1991).
- 13) 佐藤敬一, 岩村直美, 手嶋紀雄, 中野恵文, 河嶌拓治: *J. Flow Injection Anal.*, **10**, 245 (1993).
- 14) Z. Yu, N. Teshima, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **43**, 1519 (1996).
- 15) T. Fujimoto, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **49**, 1091 (1999).
- 16) T. Kawashima, H. Itabashi, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano: *Anal. Sci.*, **15**, 835 (1999).
- 17) M. Kaneko, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Anal. Chim. Acta*, **474**, 167 (2002).
- 18) T. Watanabe, N. Teshima, S. Nakano, T. Kawashima: *Anal. Chim. Acta*, **374**, 303 (1998).
- 19) T. Watanabe, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Chem. Lett.*, **1999**, 521.
- 20) S. Nakano, M. Tago, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **5**, 69 (1989).
- 21) N. Maeuchihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **17**, 255 (2001).
- 22) S. Nakano, K. Tsujii, T. Kawashima: *Talanta*, **42**, 1051 (1995).
- 23) S. Nakano, K. Nakaso, K. Noguchi, T. Kawashima: *Talanta*, **44**, 765 (1997).
- 24) R. Kadowaki, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **48**, 103 (1999).
- 25) S. Nakano, M. Nozawa, M. Yanagawa, T. Kawashima: *Anal. Chim. Acta*, **261**, 183 (1992).
- 26) 河嶌拓治, 南 隆郎, 阿多誠文, 鎌田政明, 中野恵文: *J. Flow Injection Anal.*, **2**, 40 (1985).
- 27) A. Tsuji, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **52**, 161 (2000).
- 28) T. Shiobara, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **49**, 1083 (1999).
- 29) S. Nakano, E. Tanaka, Y. Mizutani: *Talanta*, **61**, 203 (2003).
- 30) S. Nakano, K. Tanaka, R. Oki, T. Kawashima: *Talanta*, **49**, 1077 (1999).
- 31) N. Teshima, H. Katsumata, M. Kurihara, T. Sakai, T. Kawashima: *Talanta*, **50**, 41 (1999).
- 32) K. Saitoh, T. Hasebe, N. Teshima, M. Kurihara, T. Kawashima: *Anal. Chim. Acta*, **376**, 247 (1998).
- 33) T. Hasebe, T. Kawashima: *Anal. Sci.*, **12**, 773 (1996).
- 34) L. Zhang, N. Teshima, T. Hasebe, M. Kurihara, T. Kawashima: *Talanta*, **50**, 677 (1999).
- 35) S. Nakano, M. Fukuda, S. Kageyama, H. Itabashi, T. Kawashima: *Talanta*, **40**, 75 (1993).
- 36) S. Nakano, K. Sakamoto, M. Kato: *Anal. Sci.*, **17**, (supplement), i1391 (2001).
- 37) S. Nakano, K. Sakamoto, A. Takenobu, T. Kawashima: *Talanta*, **58**, 1263 (2002).
- 38) 栗原 誠, 長谷部 隆, 河嶌拓治: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 205 (2002).
- 39) S. Nakano, S. Hinokuma, T. Kawashima: *Chem. Lett.*, **1983**, 357.
- 40) S. Nakano, H. Ihara, M. Tanaka, T. Kawashima: *Mikrochim. Acta* [Wien], **1985 I**, 455.
- 41) S. Nakano, A. Ohta, T. Kawashima: *Mikrochim. Acta* [Wien], **1985 II**, 273.
- 42) T. Tomiyasu, N. Teshima, S. Nakano, T. Kawashima: *Talanta*, **47**, 1093 (1998).
- 43) S. Nakano, M. Sakai, M. Kurachi, T. Kawashima: *Microchem. J.*, **49**, 298 (1994).
- 44) K. Tamaoku, Y. Murao, K. Akiura, Y. Ohkura: *Anal. Chim. Acta*, **136**, 121 (1982).
- 45) K. Tamaoku, K. Ueno, K. Akiura, Y. Ohkura: *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2492 (1982).
- 46) S. Ohno, N. Teshima, T. Watanabe, H. Itabashi, S. Nakano, T. Kawashima: *Analyst*, **121**, 1515 (1996).
- 47) V. R. Holland, B. C. Saunders, F. L. Rose, A. L. Walpole: *Tetrahedron*, **30**, 3299 (1974).
- 48) M. Mizoguchi, M. Ishiyama, M. Shiga, K. Sanemasa, *Anal. Commun.*, **35**, 179 (1998).
- 49) N. Majkic, S. Djordjevic-Spasic, I. Berkes: *Clin. Chim. Acta*, **65**, 227 (1975).
- 50) Y. Nakagawa, H. Hori, I. Yamamoto: H. Terada: *Biol. Pharm. Bull.* **16**, 1061 (1993).
- 51) E. K. Hodgson, I. Fridovich: *Photochem. Photobiol.*, **18**, 451 (1973).
- 52) R. J. Miller, J. D. Ingle, Jr.: *Talanta*, **29**, 303 (1982).
- 53) N. P. Evmiridis: *Analyst*, **112**, 825 (1987).
- 54) J. Slawinski: *Photochem. Photobiol.*, **13**, 489 (1971).
- 55) T. Segawa, T. Oozumi, T. Matubara, T. Kamidate, H. Watanabe: *Anal. Sci.*, **11**, 209, (1995).

要 旨

酸化還元反応を指示反応とする極微量元素の接触分析法をフローインジェクション (FI) 法に適用し, 高感度な分析法を開発した。接触分析法で取り上げた指示反応は, (1) 過酸化水素存在下での 3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾンと新トリンダー試薬, *p*-アニシジンと *N,N*-ジメチルアニリン (DMA) 及び 4-アミノアンチピリンと DMA の酸化カップリング反応, (2) 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン, *N*-(3-スルホプロピル)-3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン, *N,N'*-ビス(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-トリジン及び 2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸) の過酸化水素, 臭素酸塩あるいは過ヨウ素酸塩による酸化反応, (3) ルミノール, ルシゲニン, ピロガロール及びブルプロガリンの化学発光 (CL) 反応などである。接触反応の速度を著しく増大させる, つまり活性化効果を示す配位子あるいは界面活性剤の使用により, 分析感度を飛躍的に増大させ, $10^{-10} \sim 10^{-8}$ M の Cu(II), Cr(III), Co(II), Fe(III), V(V) などの迅速定量が可能であった。また, 活性化剤及び阻害剤の使用により FI/標準削減法, 複数元素の分析法, CL 反応に基づく鉄及びバナジウムの酸化状態別分析法についても紹介する。