化, 22, 876 (1973).

☆

Matrix effects of metal salts for the determination of arsenic by graphite furnace atomic absorption spectrophotometry and their application to water analysis. Akiko KIDA (Hiroshima Prefectural Research Center for Environmental Science, 1-6-29, Minamimachi, Minami-ku, Hiroshima-shi, Hiroshima)

Interfering and enhancing effects of various acids and metal salts matrices were studied for the flameless atomic absorption determination of total arsenic [As(III), As(V) and dimethyl arsine acid (DMAA)] in water samples. The limit of the ashing temperature for arsenicals was dependent on the nature of anions in the matrix. With changing anions, the limit temperature increased in the following order: chloride < nitrate < sulfate. Phosphate in the matrix seemed possible to form an easily atomizable com-

pound with arsenic at nearly 1150 °C, although serious interference was observed less than 1000 °C as reported by the others. All arsenicals were vaporized together with alkali halides at high ashing temperature. The sensitivities for the determinations of arsenicals were almost same in the presence of the same cation. High sensitivities were observed in the presence of calcium, magnesium or nickel salts matrices and the sensitivity of DMAA was greatly improved. The presence of nitric acid (0.1 N) and calcium sulfate is recommended for the determination of total arsenic in water samples to obtain the same sensitivity.

(Received Mar. 23, 1981)

Keyword phrases

determination of As in river water; atomic absorption, graphite furnace; matrix effects of metal salts; inorganic and organic arsenicals.

ダイオードアレー検出システムによる三次元液体クロマトグラムの連続測定

寺田 誠, 川本 裕久, 一瀬光之尉, 小島 次雄*◎

(1981 年 7 月 18 日受理)

液体クロマトグラフィーにおいて、フォトダイオードアレー検出器を用いて三次元クロマトグラムを描く場合、従来の方法では溶出成分の吸収スペクトルを実時間で監視することができないうえに、メモリー容量によってサンプリングされるデータ数が制限を受けるという欠点があった。そこで、i) ある時刻においてアレー検出器より得られるデータを平滑化処理の後吸光度に変換し、直ちに XYT レコーダーに出力して吸収スペクトルを描く。ii) 出力が終了した後 T 軸座標にシフトパルスを送って一定の長さだけ記録紙を巻き取る。iii) 紙送りが終われば、再び i) の操作を繰り返して吸収スペクトルを描くというような一連の操作が繰り返されるソフトウェアを開発した。このような方法によって多くのメモリー容量を必要とすることなしに、長時間にわたって三次元クロマトグラムを連続的に実時間で出力することが可能になった。

1 緒 言

有機物による水質汚染の状態の把握は全有機炭素 (TOC)、化学的酸素要求量 (COD)、生物学的酸素要求量 (BOD) のような指標によって行われるのが普通であるが、これらの指標のみでは汚染状況が極めて大まかに

しか把握できないという欠点がある。一方、最近ではガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS) システムを使って汚染有機物の実態を明らかにする研究が行われるようになった¹⁾²⁾ が、この方法では精密な情報は得られても、装置が複雑、高価であり、多数の試料を取り扱う日常分析には適した方法とはいえない。そこで、最初から個々の汚染有機化合物の分離、同定を目指すより、汚染物質の全体をパターンとしてとらえ、それに基づいて汚

* 京都大学工学部工業化学教室：京都府京都市左京区吉田本町

染物質の特徴を把握することができないものかと考えた。適切なパターン表現ができれば、水質の異常を比較的簡単に短時間で知ることにも可能になり、必要なら GC-MS のような分析システムで更に精密な測定を行うようにすれば最も効率のよい分析を行うことができるものと考えられる。水中の汚染有機物の全体像を短時間に知る方法の一つとしてゲルクロマトグラフィーによる分離が考えられるが、この分離に際して普通に用いられている液体クロマトグラフ用紫外 (UV) 検出器ではなく、多波長のマルチチャンネル検出が可能なフォトダイオードアレー検出器を用いれば、UV 領域の吸収スペクトル測定を分離成分のすべてについて行うことができるので、分子量 (保持時間)-波長-吸光度を軸とする三次元ゲルクロマトグラムが描けることになる。従って水中の汚染有機物の全体像を、通常の検出器を用いた場合に得られるクロマトグラムよりはるかに情報量の多い三次元クロマトグラムパターンとして表現することができるわけである。

水中の汚染有機物の全分析を実施する場合には、まずおおまかな情報を得るための予備的分析法から始め、順次より精密な情報が得られる分析法へ移行していくことが適当であるが、上述の方法は予備的分析情報を取得する方法として最も適しているものと思われる。フォトダイオードアレー検出器を用いて三次元クロマトグラムを取得する方法に関しては、最近幾つかの方式が報告されている^{3)~7)}が、著者らはコンピューターのメモリー容量を多く必要としないで、実時間で、しかも長時間にわたってクロマトグラムを描くことができる新しい方式を開発した。ここでは、この方式を水中の汚染有機物のゲルクロマトグラフ分析に応用した結果について述べる。

2 実験方法

2.1 ゲルクロマトグラフィー

ゲルクロマトグラフィー用の分離カラムとして、東洋曹達工業 K. K. 製の G 2000 SW ゲルを充てんした長さ 60 cm、内径 7.5 mm のものを用いた。

2.2 検出システム

Fig. 1 に示すような光学系を用いて分離カラムから溶出する成分の UV スペクトルの測定を行った。光源は浜松テレビ K. K. 製の L 613-03 型の重水素ランプを用いた。光源より放射された光はフローセル (内容積 8 μ l, 光路長 1 mm) を通った後、ポリクロメーターの入口スリット S に入射する。スリット幅は 0.11 mm である。回折格子は Baush & Lomb 社製のもので、1 mm

Fig. 1 Optical diagram

D₂ : Deuterium lamp; W : Tungsten lamp; M₁, M₂, M₃ : Mirrors; G : Diffraction grating; S : Slit

当たり 300 本の等間隔な平行線を刻んだものである。アレー検出器上には波長幅で 220 nm の光が集光されるようになっている。凹面鏡 M₃ の F 値は 5.3 である。使用したアレー検出器は Reticon 社の RL 512 S 型であり、受光面には幅 0.5 ミル、長さ 100 ミルのフォトダイオードが 0.5 ミルの間隔で 512 個並んでおり、駆動用ボードを用いることによって各フォトダイオードからは入射した光の強度に応じてボックスカータイプの電圧出力が得られるようになっている。ノイズレベルは、(210~430) nm の波長範囲において吸光度単位で 8×10^{-5} 程度である。

Fig. 2 にハードウェアブロック図を示す。アレー検出器の駆動用ボードから 38 ms ごとにスタートパルスが出されると、検出器の各素子からはクロックパルス (周波数 33 kHz, パルス間隔 30 μ s) に同期して電圧出力が次々と出される。1 回のスタートパルスによって 512 個の出力が得られることになる。1 素子ごとの出力は A/D 変換器 (Datel ADC EH12B) によって 12 ビットのデジタルデータに変換された後、コンピューター (LSI-11) のメモリーに蓄えられる。レートジェネレーターからの取込命令によって 512 個の素子からの電圧出力は 38 ms ごとにサンプリングされ、8 回積算されるようになっている。積算された出力は更に 4 素子分ずつ平均をとって 128 点の平滑化された信号とした後吸光度に換算され、D/A 変換された後吸収スペクトルとして XYT レコーダーに出力される。8 回の積算に要する時間は 304 ms であるが、平滑化処理、吸光度への換算、レコーダーへの出力などに時間を必要とするので、実際には約 6 秒ごとに一つのスペクトルデータが出力される。

Fig. 2 Block diagram of data acquisition system

ようにレートジェネレーターによって制御している。なお、レコーダーのペンのアップ・ダウン及びレコーダーの紙送りもコンピューターの並列出力ビットのそれぞれ1ビットずつを利用して制御されるようになっている。

2.3 ソフトウェア

アレー検出器の出力データを吸光度に換算するための対数計算は対数変換器を使用して行うこともできるが、ノイズレベルが低くなるという利点を考慮して、ここでは対数計算をソフトウェアで行うことにした。Fig. 3に示すように、まずサンプリング間隔、積算回数、対数計算を行う際のフルスケールレベルなどのパラメーターを指定した後、光源光を遮光して迷光に相当する電圧出力を各素子ごとに取り込み、これらを8回積算し、更に波長方向に4素子分ずつ平均をとって平滑化を行って128点のデータ ($D_1 \sim D_{128}$) としてメモリーに蓄える。次に移動相溶媒だけがフローセルを通過しているときの

電圧出力 R についても D と同様な平滑化処理を行って128点のデータを取得し ($R_1 \sim R_{128}$)、 $R_i - D_i$ ($i: 1 \sim 128$) の演算を行って浮動小数点表示の形でメモリーに蓄える。 $R_i - D_i$ は各波長における参照側の透過光強度 I_0 に相当する。試料成分を含む移動相溶媒がフローセルを通過しているときの電圧出力 S についても D と同様な処理を行って128点のデータを取得し ($S_1 \sim S_{128}$)、 $S_i - D_i$ ($i: 1 \sim 128$) の演算を行うと、これらは各波長における試料側の透過光強度 I に相当する。各波長ごとに I_0/I の対数を計算すれば、取り込まれたデータは吸光度に換算されることになる。計算は次のような考え方によって行われる。

$$\frac{R-D}{S-D} = \frac{I_0}{I} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式 (1) に対して二乗計算を N 回繰り返して I_0/I の 2^N 乗を求めると、式 (2) に示すように浮動小数点の形で表すことができる。

Fig. 3 Flow chart of data acquisition

D : Video-out signal of dark current; R : Video-out signal of reference; S : Video-out signal of sample

$$\left(\frac{I_0}{I}\right)^{2^N} = a \times 2^b \quad \dots\dots\dots (2)$$

a は浮動小数点表示(2進数の)の仮数部, b は指数部である. a は $1 > a \geq 1/2$ の範囲の値である. 式(2)について2を底とする対数をとると次のようになる.

$$2^N \log_2(I_0/I) = \log_2 a + b \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$2^N \log_2 10 \log_{10}(I_0/I) = \log_2 a + b \quad \dots\dots\dots (4)$$

$\log_2 a$ は $-1 \leq \log_2 a < 0$ の範囲の値であるので, 次式が得られる.

$$b - 1 \leq 2^N \log_2 10 \log_{10}(I_0/I) < b \quad \dots\dots\dots (5)$$

従って, 吸光度に $2^N \log_2 10$ という定数(N は最初にパラメーターとして入力される. 本実験では $N=13$ を採用した)を乗じた値は $b-1$ にほぼ等しいので, 浮動

小数点表示の指数部 b から1を引いた値を出力すれば, 吸光度に対応する値が得られることになる. $N=13$ とした場合の表示しうる最小吸光度は 3.7×10^{-5} AU である.

長波長側よりはじめて最初の波長についての吸光度の計算が終われば, 吸収スペクトルのベースラインを記録紙上で斜め方向に描くためにX軸座標とY軸座標の出力にそれぞれ一定のインクリメントを加えた後, ペンを下ろし計算された吸光度の出力を行う. 最初の波長についての吸光度の記録が終われば, ペンをダウンさせたまま上と同様にX軸とY軸の座標出力にそれぞれ一定のインクリメントを加えた後, 次の波長についての吸光度の出力を行う. 以下同様にして128点の各波長についての吸光度の出力を順次行くと, 吸収スペクトルが記録される. ある時刻におけるカラム溶出成分の吸収スペクトルの記

録が終了すればペンを上げ、記録紙の時間軸（T軸）を一定距離（本実験の場合 1.2 mm）だけ進ませ、次の時刻におけるアレー検出器の出力データを待ち、前と同様に斜め方向のベースライン上に吸収スペクトルを描く。以下同様にしてすべての成分がカラムから溶出するまで同じ動作を繰り返す。なお、吸収スペクトルを一定間隔だけずらせながら次々と描いていくと、前の時刻に描かれた吸収スペクトルの大きな山に隠れて見えない部分ができることがあるので、このような場合には隠れ線処理によって描かせないようにした。又、クロマトグラムの各ピークに相当する時刻において測定された吸収スペクトルデータはメモリーに保存しておき、クロマトグラムを描き終わった後に、必要があればいずれのピークについての吸収スペクトルでも呼び出すことができるようにした。

この種の立体的クロマトグラムの作成法として、従来は一連のデータをいったんメモリーに取り込み、試料中の全成分のクロマトグラフ分離が完了してからオフラインで吸収スペクトルを順次出力し、三次元クロマトグラムを描く方法が用いられていた。このため分離成分がカラムから溶出してくる状況を実時間で監視することがで

きないうに、メモリーの容量によって取得するデータ量が制限されるため吸収スペクトルのサンプリング点を多くとることができず、高価なカートリッジディスクを用いないかぎり長時間にわたるクロマトグラムの作成は不可能であるという欠点があった。これに比べて本研究で開発した方法によると、ある時刻におけるアレー検出器の 512 個の素子からの出力信号を 8 回積算して取り込み、128 点の波長における吸光度に変換した後、直ちに記録計に出力することができる。従って、分離カラムからの試料成分の溶出状況を実時間で監視することができるうに、時間の制約なしに連続的にクロマトグラムを描くことも可能で、入出力ポートさえあればメモリー容量の少ないコンピューターを使っても実施することができるという特長がある。

3 結 果

3.1 工場排水

2.1 に述べた分離カラムを用い、工場排水を分析対象にして測定されたクロマトグラムの 1 例を Fig. 4 に示す。

3.1.1 生糸の精練工場の排水 生糸はフィブロイン

Fig. 4 Three dimensional chromatogram of organic components in waste water

(a) Waste water from a silk refinery plant; (b) Waste water from a dye plant; Column: TSK Gel 2000 SW, 600 mm×7.5 mm; Eluant: 50/50 (v/v) methanol-water; Flow rate: 0.84 ml/min

の外にセリシン, 微量のろう質, 脂肪質, 灰分を含むので, これらを除去しなければならない. そのための工程が精練工程である. 洗剤, 炭酸ナトリウムなどを含む熱湯が精練浴に使われている. Fig. 4, (a) は精練工場より排出された未処理の排水 (COD 4000 ppm) を 2 倍に希釈した試料溶液について測定された三次元クロマトグラムである.

3.1.2 染色工場の処理排水 染色工場では, いろいろの染色工程から排出される排水を集め, 明ぼん及び高分子凝集剤を加えて加圧浮上分離法によって凝集物を除去することによって排水を処理している. Fig. 4, (b) は, この処理水 (COD 250 ppm) について測定された三次元クロマトグラムである. 業種の異なる工場の排水についてのクロマトグラムパターンはそれぞれ特徴を持っていることが分かる.

3.2 下水処理場の放流水

都市下水に含まれる有機物の大部分は活性汚泥法による処理によって除去される. しかし, 下水処理場より放流される水の中には, 活性汚泥法で除去され難い多くの

種類の有機化合物がなお微量ながら含まれており, これらは河川にそのまま放流されているのが現状である. そこで本研究で開発した方法によって放流水中に含まれる有機化合物についての特徴把握がどの程度できるかを検討することにした. 放流水 10 l を精製した Amberlite XAD-2 樹脂 {(20~60) メッシュ} を充てんしたカラム (内径 1.5 cm, 高さ 12 cm) に通し, 溶存する有機物を樹脂に吸着させる. このカラムに 0.05 M 水酸化ナトリウム 200 ml, 次いで 0.05 M 塩酸 200 ml を通して酸性物質及び塩基性物質を溶出させた後, エチルエーテル 200 ml を通して中性物質を溶出させた. エーテル溶液を脱水後クデルナ・ダニッシュ濃縮装置によって 0.5 ml まで濃縮した後メタノールを加えて 5 ml とし, これを試料溶液とした⁸⁾⁹⁾. 採取日を異にする 2 種の試料について測定されたクロマトグラムを Fig. 5 に示す. 試料採取日の違いによる組成変動がクロマトグラムにはっきりと表れている. クロマトグラムにこのような変化をもたらす成分の種類, 量を明らかにするには, なお分離条件を改善し分離度を向上させなければならないが, Fig. 5 のようなクロマトグラムパターンが水質の監視

Fig. 5 Three dimensional chromatogram of neutral organic components in effluent from a sewage treatment plant

(a) Sewage sample taken in September 1980; (b) Sewage sample taken in November 1980; Column: TSK Gel 2000 SW, 600 mm×7.5 mm; Eluant: 70/30 (v/v) methanol-water; Flow rate: 0.56 ml/min

あるいは水質の評価のための手段として使用される可能性は十分あるものと考えられる。

4 結 論

コンピューターのメモリー容量を余り必要としないで、実時間で三次元クロマトグラム（波長，吸光度，保持時間）を長時間にわたって取得することが可能な液体クロマトグラフ用検出システムを試作し，工場排水，下水処理場放流水などを分析対象にしてその性能を調べた。その結果，試料水中に溶存する有機汚染物の全体をパターンとして把握するには，この方法が適切な測定手段となりうる事が判明した。

本研究は文部省科学研究費の援助を得てなされたものである。又，本研究において使用した分光器は島津製作所の岩崎英雄氏に製作していただいたものである。ここに付記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 篠原亮太，古賀 実，堀 悌二，秋山 高：衛生化学，**24**，304 (1978)。
- 2) 秋山 高，堀 悌二，篠原亮太，古賀 実：公害と対策，**14**，282 (1978)。
- 3) R. E. Dessy, W. G. Nunn, C. A. Titus : *J. Chromatogr. Sci.*, **14**, 195 (1976)。
- 4) R. E. Dessy, W. D. Reynolds, W. G. Nunn, C. A. Titus, G. F. Moler : *J. Chromatogr.*, **126**, 665 (1976)。
- 5) M. J. Milano, S. Lam, E. Grushka : *J. Chromatogr.*, **125**, 315 (1976)。
- 6) M. J. Milano, E. Grushka : *J. Chromatogr.*, **133**, 352 (1977)。
- 7) T. Amita, M. Ichise, T. Kojima : *J. Chromatogr.*, **234**, 89 (1982)。
- 8) A. K. Burnham, G. V. Calder, J. S. Fritz, G. A. Junk, H. J. Svec, R. Willis : *Anal. Chem.*, **44**, 139 (1972)。
- 9) 山内文雄，茂岡忠義：ぶんせき，**1979**，248。

☆

Continuous and instantaneous recording method of three dimensional chromatogram in linear photodiode array spectrometer system for liquid chromatography. Makoto TERADA, Hirohisa KAWAMOTO, Mitsunjo ICHISE and Tsugio KOJIMA (Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto)

In recent years, several investigators have reported the feasibility of using a silicon photodiode array as a multi-wavelength detector for liquid chromatography. Although these reports indicate that the ability of recording complete UV spectra of each component in LC effluent can greatly facilitate identification of the components, the problem of data processing represents a major obstacle to acceptance of this detection system. In principle, all absorption data during an LC run are once stored in the computer memory. Then, at the completion of the LC run, UV spectra of components are traced. Such post-run data processing is too time consuming and require a large volume of computer memory. In our study, a novel technique that permits the continuous recording of three dimensional chromatogram (absorbance, wavelength and time) in real time was developed. All absorption data obtained from each pixel of the silicon photodiode array with a sampling rate of 5.8 nm/ms were processed by a microcomputer and complete UV spectra in the (210~430) nm wavelength range were displayed instantaneously with a repetition rate of one spectrum/6 s during the chromatographic experiment. The system has the advantage of continuous use without requiring a large volume of computer memory. The capability of the detection system has been demonstrated with an experiment on the gel chromatography of an effluent from a sewage treatment plant. (Received July 18, 1981)

Keyword phrases

photodiode array as multi-wavelength detector in liquid chromatography; multi-wavelength UV detector; liquid chromatography; three dimensional chromatogram.