

飲料水質評価のための高性能流れ分析

[研究代表者] 手嶋紀雄 (工学部応用化学科)
[共同研究者] 村上博哉 (工学部応用化学科)

研究成果の概要

近年、バナジウムはインスリン作用を有することから抗糖尿病薬として注目される元素である。このため、地下水を原水とするバナジウム含有の飲料水が市販されている。また生体にとって鉄が必須元素であることは周知の事実であり、健康増進を謳う飲料水やサプリメント錠剤を手にする事ができる。しかし、過剰な鉄の蓄積が2型糖尿病の発症リスクを高めるとの報告もある。従って飲料水中の両元素の監視は極めて重要である。

p-アニシジンは臭素酸塩により酸化発色 (510 nm) する。この発色反応がサブ $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルのバナジウムによって加速される。またこのバナジウムの接触 (触媒) 反応はタイロンによって活性化される。一方 *p*-アニシジンは過酸化水素によっても酸化発色 (510 nm) し、 $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルの鉄によって加速される。この接触反応は1,10-フェナントロリン (phen) によって活性化される。これらの反応を用いることにより、 $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルのバナジウムと鉄を選択的に吸光度定量することができる。

本研究では、我々が提案したストップトイン・ループ/フロー分析 (Stopped-in-Loop Flow Analysis, SILFA) と同時注入迅速混合フロー分析 (Simultaneous Injection Effective Mixing Flow Analysis, SIEMA) とをハイブリッド化した高性能な流れシステムによる飲料水中のバナジウムと鉄の接触分析法について述べる。

研究分野：環境分析化学

キーワード：接触分析, 流れ分析, 水質分析

1. 研究開始当初の背景

水は我々に最も身近な物質のひとつであり、飲料水や食物として摂取され、生命活動を根底から支えている。また工業分野では高品質な製品の製造に用いられ、社会活動を営むうえにも不可欠なものである。したがって水中の環境・生体負荷物質の化学分析の重要性は言をまたない。しかし化学分析による水質評価手法には、試薬や試料を大量に消費し、熟練が必要な要素も多いことから、少試薬・少試料化、高感度化、スキルフリー化や自動化が強く望まれている。本研究はこれらのニーズに対応すべく、高感度な自動化された化学分析を実現する高性能な流れ分析システムを確立するものである。

2. 研究の目的

流れ分析法とは、内径 0.5~1.0 mm 程度の樹脂製細管 (通常はテフロン管) 内の流れの中で、試料溶液と試薬

溶液とを合流させて化学反応を行かせた後、下流に設置した検出器で分析目的成分を検出して定量する分析方法である。代表的な流れ分析法として、フローインジェクション分析 (Flow Injection Analysis, FIA) 法、シーケンシャルインジェクション分析 (Sequential Injection Analysis, SIA) 法があげられる。これらは、分析の迅速化、少試料・少試薬化、高い再現性などの点で、従来のバッチマニュアル法による化学分析よりも利便性の高い特長を有している。我々はこれらの機能をさらに発展させた新規な流れ分析の概念を提唱してきた。例えば、ストップトイン・ループ/フロー分析 (Stopped-in-Loop Flow Analysis, SILFA) と同時注入迅速混合フロー分析 (Simultaneous Injection Effective Mixing Flow Analysis, SIEMA) である。本研究では、SILFA と SIEMA をハイブリットさせた新しい流れ分析システムを構築し、糖尿病との関連が指摘されている微量なバナジウムと鉄の

接触分析法を開発したので報告する。

3. 研究の方法

(1) 定量原理

接触分析とは、反応速度分析法のひとつであり、溶液中の均一触媒反応における触媒自身を分析対象物とするため、化学量論反応ではなし得ない高感度分析（サブ $\mu\text{g/L}$ ～ $\mu\text{g/L}$ の金属イオン）が可能となる。 p -アニシジンは臭素酸カリウム (KBrO_3) により酸化発色 (510 nm) する。この発色反応はバナジウム(IV, V)によって加速される。またバナジウムの接触反応はタイロン (Tiron) によって活性化され、かつニリン酸 (マスキング剤として利用) によって鉄の妨害が抑制される。一方 p -アニシジンは過酸化水素 (H_2O_2) によっても酸化発色 (510 nm) し、この反応は鉄(II, III)によって加速される。さらにこの接触反応は 1,10-フェナントロリン (phen) によって活性化される。すなわち p -アニシジンの酸化発色反応において、酸化剤、マスキング剤、活性化剤を適切に選択することによって、バナジウムと鉄を選択的に定量することができる。

(2) ハイブリッド流れ分析システム

SILFA 法は、六方バルブ上に設置したループ内に反応溶液を隔離することにより、流れが止まった状態で反応を促進させ、この間、ポンプを止めて試薬を流さない流れ分析技術である。この SILFA 法は、加熱を必要とする比較的遅い接触反応に適する。そこで我々は前報で SILFA システムによるバナジウムと鉄の接触分析法を開発した。しかし、1回の測定に用いる試薬溶液と試料溶液の合計体積は約 10 mL であり、更なる削減が望まれた。一方 SIEMA 法は、FIA の迅速性を損なわずに、少試薬・少サンプルによる定量を実現する流れ分析法である。そこで、この SIEMA 法を先の SILFA 法とハイブリッド化することにより、更なる少試薬化・少試料化を図った。

4. 研究成果

(1) 構築された SIEMA/SILFA ハイブリッドシステム

SIEMA/SILFA ハイブリッドシステムを Fig. 1 に示す。まず SIEMA モードにより、バナジウム定量用の試薬溶液として「 p -アニシジン+タイロン+ニリン酸」混

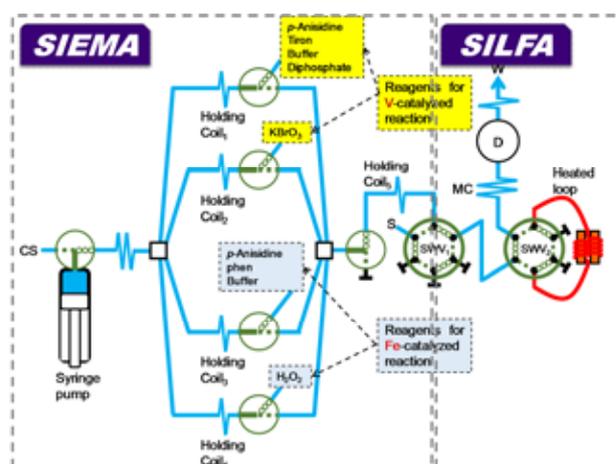


Fig. 1 Schematic diagram of hybrid SIEMA/SILFA system for the determination of trace vanadium and iron.

合溶液と KBrO_3 溶液を合計 400 μL 吸引・吐出し、100 μL の試料溶液と混ぜ合わせる。この反応溶液を SILFA システム内の加熱されたループに充填し、反応促進後、検出器に導入し、吸光度を測定した。つまり、このハイブリッド流れ分析システムにおいて、1回の測定に用いられる試薬と試料の合計体積は 500 μL であり、前報において必要であった 10 mL から 1/20 に削減することができた。一方鉄定量用の試薬として「 p -アニシジン+phen」混合溶液と H_2O_2 溶液を用いることで、バナジウム共存下であっても選択的に鉄の定量を行うことができた。

(2) 分析性能

バナジウム(V)および鉄(III)の標準液を測定したときのフローシグナルをそれぞれ Fig. 2 と Fig. 3 に示す。これらのシグナルから両分析成分の検量線を作成した。検量線の濃度範囲は、バナジウム 0～5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (決定係数 0.997)、鉄 0～50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (決定係数 0.999) であった。試薬ブランクの標準偏差 3σ から算出される検出限界はそれぞれ、0.67 $\mu\text{g V/L}$ 、2.20 $\mu\text{g Fe/L}$ と高感度である。相

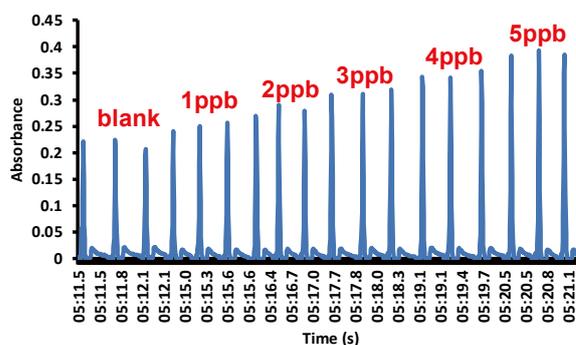


Fig. 2 System outputs for vanadium(V).

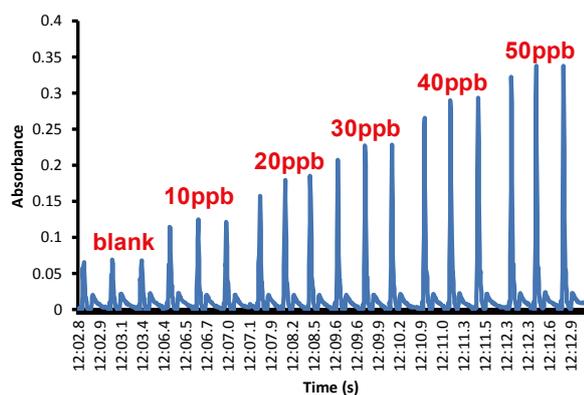


Fig. 3 System outputs for iron(III).

対標準偏差 ($n = 5$) は、バナジウム $5 \mu\text{g L}^{-1}$ に対し 2.4 %, 鉄 $50 \mu\text{g L}^{-1}$ に対し 2.8 %であった。また、試料処理速度は、いずれの分析成分も一時間当たり 10 試料となった。

(3) 信頼性の評価

本法によって標準試料を分析した結果を Table 1 に示す。Table 1 に示すように、公益社団法人日本分析化学会が頒布する河川水標準試料中のバナジウムと鉄のそれぞれの保証値と本法の両元素の分析結果は、よく一致した。またカナダ国立研究機関が頒布する河川水及び河口水（汽水域試料）の分析結果は、一部検出限界を下回ってしまった。しかし、河川水中の鉄、河口水中のバナジウムの定量値は保証値とよく一致した。以上の結果から、本法の信頼性は十分に確保できた。

(4) 実試料への応用

4 種の市販ミネラルウォーター中のバナジウムと鉄の定量を行った結果を Table 2 に示す。バナジウムの定量値は、表示値とよく一致し、鉄はいずれも検出限界以下であることが分かった。そこで鉄(III)を $20 \mu\text{g L}^{-1}$ 添加したところ、回収率はほぼ 100 %と良好であった。

(5) 結論

p-アニシジンの酸化発色反応に及ぼすバナジウムと鉄の接触反応において、酸化剤、活性化剤、マスキング剤を適切に選択することにより、両元素を選択的に逐次定量することができた。SIEMA と SILFA をハイブリッド化することにより、試料・試薬消費量を削減することに成功し、飲料水分析に応用することができた。

Table 1 Determination of vanadium and iron in certified reference materials

Sample	Proposed method / $\mu\text{g L}^{-1}$		Certified (or reference) value / $\mu\text{g L}^{-1}$	
	V	Fe	V	Fe
JSAC 0302-3b ^a	7.44 ± 0.01	59.1 ± 0.005	7.43 ± 0.007 ^d	59.6 ± 1.5
SLRS-5 ^b	< LOD	90.8 ± 0.006	0.317 ± 0.033	91.3 ± 5.8
SLEW-3 ^c	2.71 ± 0.04	< LOD	2.57 ± 0.31	0.568 ± 0.059

a. Certified reference material of river water issued by Japan Society for Analytical Chemistry. The sample was diluted to 2-fold before measurements for both vanadium and iron.

b. Certified reference material of river water issued by National Research Council of Canada. The sample was diluted to 4-fold before measurement for iron.

c. Certified reference material of estuarine water issued by National Research Council of Canada.

d. Reference value obtained by GFAAS in our lab.

Table 2 Determination of vanadium and iron in drinking mineral water

Sample No. ^a	V Labeled / $\mu\text{g L}^{-1}$	Added / $\mu\text{g L}^{-1}$		Found / $\mu\text{g L}^{-1}$	
		V	Fe	V	Fe
1	30	0	0	$30.3 \pm 0.0_1$	<LOD
		0	20.0	–	$21.7 \pm 0.0_1$
2	70	0	0	$69.9 \pm 0.0_2$	<LOD
		0	20.0	–	$21.5 \pm 0.0_1$
3	90	0	0	$90.1 \pm 0.0_1$	<LOQ
		0	20.0	–	$20.0 \pm 0.0_0$
4	160	0	0	$160 \pm 0_0$	<LOQ
		0	20.0	–	$20.0 \pm 0.0_1$

a. For vanadium determination, samples 1–3 were diluted to 20-fold, and sample 4 was diluted to 40-fold before measurement.

5. 本研究に関する発表

- (1) N. Teshima, R. Ichisugi, H. Kato, K. Seebunruemg, H. Murakami, S. Srijaranai, T. Umemura, T. Sakai, “Automated pre-column derivatization HPLC determination of aldehydes and acetone using simultaneous injection effective mixing flow analysis”, The 21st International Conference on Flow Injection Analysis (ICFIA 2017), Saint Petersburg, Russia, Sep. 6th, 2017.
- (2) N. Teshima, H. Murakami, “Flow/Sequential Injection-Solid Phase Extraction for Wastewater Analysis and Urinalysis”, Keynote Lecture, 2017 Asia/CJK symposium, Tokyo University of Science, Sep. 10th, 2017.
- (3) 手嶋紀雄, 足立雅典, 村上博哉, 井上嘉則, “高性能溶液ハンドリング装置による試料前処理”, 特別ポスター, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 36 回研究会 (CHEMINAS36), 桐生市市民文化会館, 2017 年 10 月 5 日.
- (4) N. Teshima, H. Murakami, “Flow/Sequential Injection-Solid Phase Extraction for Wastewater Analysis and Urinalysis”, Invited Lecture, Pure and Applied Chemistry International Conference 2018 (PACCON 2018), Hat Yai, Thailand, Feb. 8th, 2018.