

## フローインジェクション分析法の基礎と応用(2)

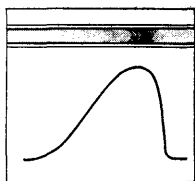
誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	越野, 正義
巻/号	58巻2号
掲載ページ	p. 247-251
発行年月	1987年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## フローインジェクション分析法の基礎と応用 (2)

## —分析法の応用—



越野正義

草地試験場環境部\*

## 4. 分析法各論

FIA の検出法としては種々の方法があり、また分離法として溶媒抽出、蒸留、隔膜拡散など多くの工夫がなされている。詳細については前出の文献<sup>2-7)</sup>にゆずるとして、ここでは主として土壤肥料分野に応用した例について紹介することとする。

## 4.1 吸光光度法 (FIA でもっとも報告が多い)

1) リン：植物<sup>13)</sup>、肥料<sup>14)</sup>中のリンはモリブデン青を利用して定量できる。ここでは水質分析への応用例<sup>15)</sup>をあげて説明しよう。第7図に示したマニホールド(第5図のEに相当)により、リンとアンモニウムを定量した。測定パラメーターは第1表にまとめて示した。試薬液の組成は次のとおりである。

R<sub>1</sub> 10 mM モリブデン酸アンモニウム-0.45 M 硝酸

R<sub>2</sub> 0.1% アスコルビン酸液

高感度モードでは 0.01 μg P/ml まで定量できる。高濃度モードでは変動係数を 1% 以下とするのは容易である。肥料分析へも応用できる。ほとんど同じ方法で中島・市来<sup>16)</sup>は土壤の可給態リンを定量した。

第7図の例では、40°C に加熱して感度を上げたのであるが、温度が高いとケイ酸も発色し妨害となるために地下水などの分析では誤差が大きかった。

ケイ酸の影響は酒石酸をマスキング剤とすることで避けることができる。KURODA ら<sup>17)</sup>は次の試薬液と、第5図Dに相当するマニホールド(反応コイルは 90°C に加熱)でケイ酸塩鉱物中の 0.1~0.5% のリンを定量した。

R<sub>1</sub> 2.7% モリブデン酸アンモニウム液と 0.5% 酒石酸アンチモニルカリウム液のそれぞれ 12 ml, 酒石酸 0.11 g, ポリビニルアルコール 0.025 g を水で 250 ml.

R<sub>2</sub> 0.1% アスコルビン酸液

2) アンモニウム：第7図のマニホールドを第1表に示すように、わずかに変えるだけでアンモニウムを定量することができる。その間の切替えは数分間で可能。

R<sub>1</sub> フェノール 5g, ニトロプルシドナトリウム 0.025 g, EDTA-2Na 0.5g を水で 500 ml.

R<sub>2</sub> 有効塩素 0.1% 相当の次亜塩素酸ナトリウム液

高感度モードでは 0.015 μg NH<sub>4</sub>-N/ml まで定量可能。高濃度モードでは変動係数 0.5% 以下は容易に達成できる。肥料分析に応用可能である。土壤の塩化カリウム浸出液の場合には、水で 10 倍容に希釈 (KCl 1% 以下) してから定量するとよい<sup>15)</sup>。

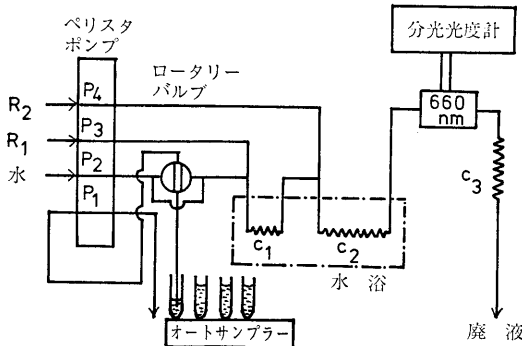
この方法を植物体のケルダール分解液に適用した例<sup>18)</sup>もあるが、この試料液では、むしろ後記の等温蒸留、あるいは隔膜拡散法を利用するのがよい。

3) 硝酸、亜硝酸：硝酸はイオン電極法でも定量できるが、還元したのちジアゾカップリングにより発色させて定量できる<sup>19,20)</sup>。還元には、銅-カドミウム還元カラムを用いる。

還元カラムの製法<sup>22)</sup>：カドミウム粉末 (0.3 mm 以下) を 1% 硫酸銅液に入れてコーティングし、これを内径 1 mm, 長さ 60 mm の管に入れ、両端はガラスウールで保持する。毎日作る必要がある。

試料液流を 2 分し、還元カラムに一方だけ通し、スルファニルアミド、次いで N-(1-ナフチル)エチレンジアミンを反応させ、2 チャンネルとして硝酸、亜硝酸を同時に定量する<sup>19)</sup>。あるいは、両者を時間をずらして試薬液と合流するように流路を工夫し、記録チャート上で 2 個のピークが引き続き描かれるようにもできる<sup>20)</sup>。後者の例では、試料液と試薬液を連動した注入装置で注入し、反応コイルの直前で合流するマーキングゾーン法を用いているが、この方法は試薬の量の節約になるので、貴

\* 329-27 栃木県那須郡西那須野町千本松 768  
日本土壤肥料学雑誌 第 58 巻 第 2 号 p. 247~251 (1987)



第 7 図 リンおよびアンモニウム定量用マニホールド

第 1 表 リンおよびアンモニウムの測定パラメーター

元 素	PO <sub>4</sub> -P		NH <sub>4</sub> -N	
	高感度	高濃度	高感度	高濃度
試 薬 液	R <sub>1</sub> モリブデン酸塩 R <sub>2</sub> アスコルビン酸		フェノール 次亜塩素酸塩	
ポンプ (rpm)		17.5	12.5	17.5
P <sub>1</sub> (流量 ml/min)	白*	2.1	白* 1.5	2.1
P <sub>2</sub> (流量 ml/min)	灰	3.5	白 1.5	2.1
P <sub>3</sub> (流量 ml/min)	橙/緑	0.35	橙/緑 0.25	0.35
P <sub>4</sub> (流量 ml/min)	橙/緑	0.35	橙/緑 0.25	0.35
反応コイル (mm)				
C <sub>1</sub> (内径×長さ)	0.96×470		0.5×200	
C <sub>2</sub> (内径×長さ)	0.96×540		0.5×1500	0.5×1000
C <sub>3</sub> (内径×長さ)	0.3×500**		0.3×500	
水浴温度 (°C)		40		65
測定波長 (nm)		660		660
セル光路長 (mm)	10~30	10	10	10
試料注入量 (μl)	300	20~50	100	20~50
注入間隔 (s)	30~60	20	40	30
濃度範囲 (μg/ml)	0~1	0~20	0~4	0~40

\* ポンプチューブのマーカ色.

\*\* なくてもよい.

重な試薬を使う場合に応用するとよい.

4) COD: 化学的酸素要求量 (COD) の測定にも FIA が応用されている<sup>21-23)</sup>. 過マンガン酸カリウム液<sup>21,23)</sup>, または二クロム酸カリウム液<sup>22)</sup>の液流に試料液を注入, 加熱した反応コイルを通したのち, 吸光度の減少から COD を測定する. 反応時間を長くするために, コイルは内径 0.5 mm×10 m<sup>23)</sup>あるいは 50 m<sup>21)</sup>と長くする.

5) 硫酸: 吸光度法ではないが, 比濁法で植物体中

の硫酸が測定されている<sup>24)</sup>. 塩化バリウム-塩酸溶液に保護コロイドとしてポリビニルアルコール 0.05% を加えておく. 比濁法は手分析では再現性が悪いが, FIA では反応時間などの条件を一定にできるのでよい結果が得られやすい.

6) ストップフロー法: 反応液がフロースルーセルに到達したところでポンプを止め, その後の信号の変化を記録する. この方法は吸光度法に限る訳ではないが, 遅い反応の場合や, 反応速度の解析などに有力である. 第 5 図の G のマニホールドを用いる.

#### 4.2 電気化学的方法

いろいろな方法があるが, イオン選択性電極を利用した方法が応用が広い. フロースルー型の電極も種々の考案があるが, 第 8 図<sup>14,25)</sup>に一例を示した. 電気化学計器などから市販もされている.

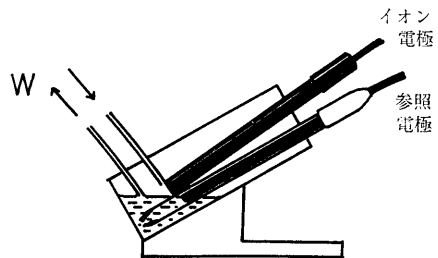
電極としては pH 用ガラス電極を後記の等温蒸留装置に組み入れた例のほか, 土壌抽出液中のカリウム, ナトリウム, 硝酸<sup>25)</sup>, 肥料中のカリウム, 硝酸<sup>14)</sup>, 環境試料 (水, 大気) 中の硝酸<sup>26)</sup>の定量などの例がある.

方法としては第 5 図の A または B のマニホールドを用いるのがよい.

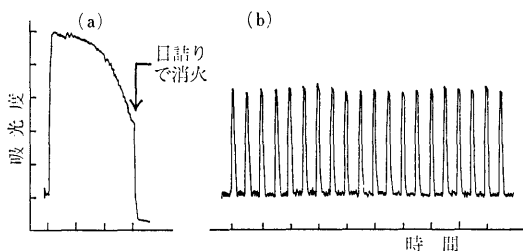
#### 4.3 原子吸光法, 発光分光法

金属成分の定量には検出器に原子吸光<sup>12)</sup>, フレーム<sup>27)</sup>あるいは ICP (誘導結合プラズマ) 発光の装置を用いるのが有力である. 少量の試料を迅速に測定するのに好適である. 植物の硝酸-過塩素酸分解液を水キャリアーに注入して希釈させ, 同時にランタン液を注入して合流 (マージングゾーン), 原子吸光分析装置に導き, カルシウム, マグネシウム, カリウムを 1 時間 300 点測定した例<sup>27)</sup>が参考となる. この例では, 液流を直接原子吸光計に接続したのであるが, FIA の流量と原子吸光計での吸入液量に差があるために, バランスをとる補償法も報告されている<sup>28)</sup>.

ICP 発光装置と接続すると同時多元素定量が可能とな



第 8 図 FIA 用イオン電極および参照電極の構成図 (HANSEN et al.,<sup>14)</sup> 1977)



第9図 25% MgCl<sub>2</sub>液中Cdの原子吸光による定量記録チャート (KARLBERG, 1982<sup>51</sup>)

(a), 連続噴霧;(b), FIA法, 水キャリアー, 流速 4.0 ml/分.

る<sup>29)</sup>. FIA では試料液の交換のときに空気が入らないので, プラズマトーチの安定性がよい.

いずれの場合にも, FIA では試料液が吸入される時間が短く, しかもその前後はキャリアーで洗浄されるために, バーナースロットやネブライザーの目詰りが起こりにくいという利点もある(第9図). この特徴を利用して, 植物葉を微粉末とし, 水に分散させたサスペンションを原子吸光計に吸引させ, フレーム中で灰化, 原子化を行い分析した例もある<sup>30)</sup>.

なお, 微量試料の測定で用いられる一滴法<sup>31)</sup>は, 空気をキャリアーとした FIA の一種とも考えられる<sup>3)</sup>.

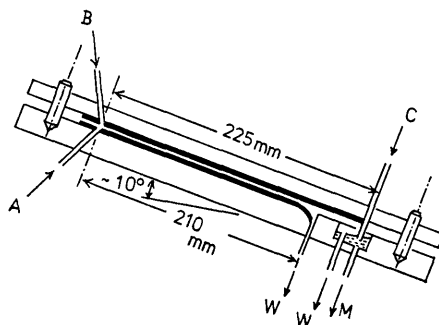
#### 4.4 滴定法

第5図(前号)のFのマニホールドを用いる. 混合器(内容積 1 ml)はマグネチックスターラーを内蔵し, 分散を大きくする. たとえば, 水酸化ナトリウム液に指示薬を加えて流し, これに酸を注入すると, 混合器で反応, 分散し, 吸光光度法(ガラス電極でもよい)で信号をとり出すと, ピークの幅が滴定値に相当する結果になる.

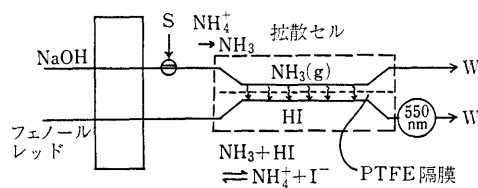
#### 4.5 分離などの技術

1) 等温蒸留法: ケルダール分解液には硫酸が多量に残るために吸光光度法では誤差が生じやすい. この試料液を 10 M 水酸化ナトリウムに注入してアルカリ性とし, 第10図に示した蒸留装置<sup>32)</sup>のAに流し, その上部に捕収液(吸光光度法では 1 mM 硫酸, ガラス電極法では 1 M 塩化カリウム)を流すと, アンモニアが気化し捕収液に移るので, その液について吸光光度法(原法<sup>37)</sup>ではネスラー試薬を用いているが, 水銀を使わない見地からはインドフェノール青によるのがよいであろう), あるいは捕収板の最下部にガラス電極と参照電極を付けて, ポテンシオメトリーで測定することができる<sup>32)</sup>.

2) ガス拡散法: ガスを通し水溶液を通さない多孔性



第10図 等温蒸留装置の断面図(ZAGATTO *et al.*, 1979<sup>32)</sup> A, 試料液; B, 捕収液; C, 試薬液; M, マニホールド)のC<sub>2</sub>コイルへ; W, 廃液. 太い線の部分がシリコンゴム(2×10×225および2×10×210 mm), その間隔は約1.5 mmとなるように両端のスクリューで調節.



第11図 ガス拡散法によるアンモニア定量用マニホールド (KARLBERG, 1982<sup>51</sup>).

テフロン膜〔フロロポアー膜(住友電工)など〕を利用してアンモニア, 二酸化炭素などを測定できる(第11図)<sup>5)</sup>. 装置を自作する場合には参考書<sup>6)</sup>を参照するとよい. マニホールドとしては第5図のKを用いる. アンモニアの捕収液に緩衝液を用いず, 指示薬液を中性にしておくと感度の高い分析が可能となる(10 ppb NH<sub>3</sub>まで定量)<sup>5)</sup>が, 普通は, ホウ酸, リン酸塩緩衝液を用いダイナミックレンジを広くして使うのがよい. ケルダール分解液では硫酸濃度が高いので, これを中和するためにキャリアーとなる水酸化ナトリウム液は 1~4 M まで上げておく必要がある. 土壌<sup>33~35)</sup>, 植物<sup>36)</sup>の分析への応用が報告されている.

3) 溶媒抽出: 吸光光度法, あるいは原子吸光法と溶媒抽出との組合せは有力な方法であるが, この溶媒抽出を FIA に利用する報告も多い<sup>37~40)</sup>. 液流に有機溶媒を送り込み, 水-溶媒のセグメントを作らせると, その接触部ばかりでなく, テフロン管壁でも先行する液が薄く残り抽出される. このセグメントを分相器を通したのち, 有機層を吸光光度計<sup>37,39)</sup>, または原子吸光分析装置<sup>38,40)</sup>に送り込む. セグメンター, 分相器については, 上記の文献のほか参考書<sup>6)</sup>などを参照されたい. なお分相器については多孔性テフロン膜を利用すると有機層

のみを通過させるので簡単である。マニホールドは第 5 図 H の型になる。

抽出ではないが、原子吸光の場合に、有機溶媒（インブチルメチルケトンまたは酢酸-*n*-ブチルをキャリアーとしておき、ここに試料液を注入すると感度が高くなり迅速な定量ができる<sup>41)</sup>。

4) その他：反応カラムを利用するものとしては、すでに硝酸定量用還元カラムを紹介した。現在注目されているのは、固定化酵素を利用するものであり、ウレアーゼ-アンモニア電極の組合せによる尿素的定量などがある。また分離法として透析も利用された。

FIA の多彩さ、多様性について本文が理解の一助ともなれば幸いである。

### 文 献

- 13) RŮŽIČKA, J. and STEWART, J. W. B.: Flow Injection Analysis. Part II. Ultrafast Determination of Phosphorus in Plant Material by Continuous Flow Spectrophotometry. *Anal. Chim. Acta*, **79**, 79~91 (1975)
- 14) HANSEN, E. H., KRUG, F. J., GHOSE, A. K. and RŮŽIČKA, J.: Rapid Determination of Nitrogen, Phosphorus and Potassium in Fertilisers by Flow Injection Analysis. *Analyst* (London), **102**, 714~722 (1977)
- 15) 越野正義：水資源計測の高精度化・自動化，第 1, 2 報，農技研肥料化学科資料，第 246 号，1~17(1983)；同上，第 254 号，1~20 (1984)
- 16) 中島秀治・市来秀夫：中性火山灰土壌に由来する草地及び畑地の磷酸肥沃度の迅速診断法，東北農業研究，**37**，135~136，137~138 (1985)
- 17) KURODA, R., IDA, I. and OCUMA, K.: Determination of Phosphorus in Silicate Rocks by Flow Injection Method of Analysis. *Mikrochim. Acta*, **1984 I**, 377~383
- 18) 堤 義房・上森 晃・根塚八郎・新村善男：フローインジェクション法による全窒素定量，土肥要旨集，**31**，52 (1985)
- 19) ANDERSON, L.: Simultaneous Spectrophotometric Determination of Nitrite and Nitrates by Flow Injection Analysis. *Anal. Chim. Acta*, **110**, 123~128 (1979)
- 20) GINE, M. F., BERGAMIN, F.°, H., ZAGATTO, E. A. G. and REIS, B. F.: Simultaneous Determination of Nitrate and Nitrite by Flow Injection Analysis. *Ibid.*, **114**, 191~197 (1980)
- 21) 伊永隆史・井勝久喜：フローインジェクション法による化学的酸素要求量の自動連続計測システム，分析化学，**31**，135~141 (1982)
- 22) 伊永隆史・井勝久喜：パーソナルコンピューターを用いるフローインジェクション分析システム，同上，**31**，517~523 (1982)
- 23) 後藤正志・白枝照基・石井大道：電気化学計測に基づくマイクロ量での自動連続化学的酸素要求量測定システム，同上，**30**，403~407 (1981)
- 24) KRUG, F. J., ZAGATTO, E. A. G., REIS, B. F., BAHIA, F.°, O. and JACINTHO, A. O.: Turbidimetric Determination of Sulphate in Plant Digests and Natural Waters by Flow Injection Analysis with Alternating Streams. *Anal. Chim. Acta*, **145**, 179~187 (1983)
- 25) RŮŽIČKA, J., HANSEN, E. H. and ZAGATTO, E. A. G.: Flow Injection Analysis. Part VII. Use of Ion-Selective Electrodes for Rapid Analysis of Soil Extracts and Blood Serum. Determination of Potassium, Sodium, and Nitrate. *Ibid.*, **88**, 1~16 (1977)
- 26) HANSEN, E. H., GHOSE, A. K. and RŮŽIČKA, J.: Flow Injection Analysis of Environmental Samples for Nitrate Using an Ion-Selective Electrode. *Analyst* (London), **102**, 705~713 (1977)
- 27) ZAGATTO, E. A. G., KRUG, F. J., BERGAMIN, F.°, H., JØRGENSEN, S. S. and REIS, B. F.: Merging Zones in Flow Injection Analysis. Part 2. Determination of Calcium, Magnesium, and Potassium in Plant Material by Continuous Flow Injection Atomic Absorption and Flame Emission Spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **104**, 279~284 (1979)
- 28) YOZA, N., AOYAGI, Y., OHASHI, S. and TATEDA, A.: Flow Injection System for Atomic Absorption Spectrometry. *Ibid.*, **111**, 163~167 (1979)
- 29) JACINTHO, A. O., ZAGATTO, E. A. G., BERGAMIN, F.°, H., KRUG, F. J., REIS, B. F., BRUNS, R. E. and KOWALSKI, B. R.: Flow Injection Systems with Inductively-Coupled Argon Plasma Atomic Emission Spectrometry. Part 1. Fundamental Considerations. *Ibid.*, **130**, 243~255 (1981)
- 30) 川瀬 晃・札川紀子・中村 進・小林慶規：フローインジェクション-原子吸光法による植物試料の直接定量，日本分析化学会第 30 年会講演要旨集，p. 275 (1981)
- 31) UCHIDA, T., KOJIMA, I. and IIDA, C.: Determination of Metals in Small Samples by Atomic Absorption and Emission Spectrometry with Discrete Nebulization. *Anal. Chim. Acta*, **116**, 205~210 (1980)
- 32) ZAGATTO, E. A. G., REIS, B. F., BERGAMIN, F.°, H., and KRUG, F. J.: Isothermal Distillation in Flow Injection Analysis. Determination of Total Nitrogen in Plant Material. *Ibid.*, **109**, 45~54 (1979)
- 33) RAHARDJO, M., 中島秀治：フローインジェクション分析法による畑土壌及び作物体のケルダール分解液中の全窒素の定量，土肥学会東北支部大会，1986年 9 月
- 34) 渡部幸一郎・中島秀治：フローインジェクション分析法による水田土壌中の窒素定量，昭和 61 年度東北農業試験研究発表会，1986年 7 月
- 35) 中島秀治・市来秀夫：過塩素酸・硫酸加熱-フローインジェクション分析法による畑土壌中の全窒素の迅速定量，同上，1986年 7 月
- 36) 松永俊朗・諸岡 稔：ガス拡散法による植物中窒素のフローインジェクション分析，土肥関東支部大会講演要旨集，p. 18 (1986)
- 37) KARLBERG, B. and THELANDER, S.: Extraction Based on the Flow-Injection Principle. Part 1. Description of the Extraction System. *Anal.*

- Chim. Acta*, **98**, 1~7 (1978)
- 38) NORD, L. and KARLBERG, B.: An Automated Extraction System for Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Ibid.*, **125**, 199~202 (1981)
- 39) NORD, L. and KARLBERG, B.: Sample Preconcentration by Continuous Flow Extraction with a Flow Injection Atomic Absorption Detection System. *Ibid.*, **145**, 151~158 (1983)
- 40) KAWASE, J.: Automated Determination of Cationic Surfactants by Flow Injection Analysis Based on Ion-Pair Extraction. *Anal. Chem.*, **52**, 2124~2127 (1980)
- 41) FUKAMACHI, K. and ISHIBASHI, N.: Flow Injection-Atomic Absorption Spectrometry with Organic Solvents. *Anal. Chim. Acta*, **119**, 383~387 (1980)

### 編集委員会だより

会誌編集委員長 和田 秀徳

昨年12月25日に行われた、61年度第5回編集委員会の議事録は以下のとおりです。

1. 『総説』『解説』『資料』等の新規依頼について

- ◎ 講座「土壤肥料分野の新展開」、国際土壤科学会議（於ドイツ）の印象記、国際土壤科学会の紹介記事については準備が順調に進んでいるとの報告がなされた。
  - ◎ 「土壤診断のための可給態成分の分析法—簡易、迅速分析器の変遷および将来への展望—」を資料として掲載するか否かについて検討することとなった。
  - ◎ 『総説』『解説』『資料』の原稿を発掘するよう各編集委員が心がけることとなった。
2. 投稿論文数が増えているため、62年（58巻）の予算を230万円増額し、一号につき35頁の増頁により掲載待ち論文の消化につとめる旨が前回の理事会にて了承されたとの報告があった。
3. 会誌の表紙デザイン変更に伴う目次の変更案が提出され、決定された。また58巻の表紙の色は紺（ブルー）であるとの再確認がなされた。
4. 前回編集委員会で決定された会誌投稿規定の改正が理事会において了承された（61年10月改正）。
5. 今回改選委員は次期編集委員の候補を次回の編集委員会までに決定し、持ちよることとなった。また各編集委員の専門、分担を再確認した。

6. 技術レポートの「ツメ（ページの右端の見出し）」を除くこととなった。また来年度用の新しい見出しカットを選出した。

7. 技術レポートの審査方式を再検討する必要があるか否かが議論された。審査方式が各支部に徹底していないようなので改めて以下の事項を確認し、周知徹底するよう努めることとなった。

- ◎ 審査は支部と常任編集委員の二重審査とする。
  - ◎ 支部内での審査方式は各支部内の実情にあわせてまかせることとする。原稿を依頼する人と審査員とは別の方が望ましいので、地域委員は原稿を受理したら審査員を一名選定し、その審査員が審査をおこなうことを原則とする。
  - ◎ 地域での審査結果については、フォーマットを決め、審査結果のコピーを原稿と共に編集委員会に送付してもらう。
  - ◎ 受理月日は学会誌刊行センターに到着した月日とする。
  - ◎ 原稿が再審査、あるいは却下と判定された場合は、その旨を著者と同時に地域担当委員に連絡する。それ以外の場合は著者のみに連絡することとする。
8. 今回の編集委員会は和田委員長海外出張のため石井和夫副委員長の下に開かれた。