

テクニカルノート

フラクションコレクターを利用した簡易型オートサンプラーの試作と全フェノール自動定量装置への組込み

横塚 弘毅・丹沢 恒正・萩原 隆徳・二木 弘・加藤 泉・櫛田 忠衛

Autosampler and Autoanalyzer for Total Phenol Determination

KOKI YOKOTSUKA, TSUNEMASA TANZAWA,* TAKANORI HAGIHARA,** HIROSHI NIKI,***
IZUMI KATO, and TADAE KUSHIDA

*Laboratory of Wine Chemistry, The Institute of Enology
and Viticulture, Yamanashi University, Kofu 400*

ぶどうマストやワイン中のフェノールの定量には、その柴外部の吸収を測定するかあるいは適当な試薬で発色させる比色法が用いられ、最も一般的な方法としてはフェノールの還元性を利用してアルカリ性でリントングステン、モリブデン酸を還元して生じる青色を比色する Folin 法があげられる。Folin 法は対象とする試料によって多くの改良法があり、我々は Singkton, Rossi の報告した改良法¹⁾を用いてワインやマスト中のフェノール量を測定しているが、分析時間が長く、また定量精度も十分でない。Slinkard, Singleton²⁾は Folin 法を用いたフェノール定量の自動化を試み、manual 法に比べて automated 法は、分析時間、定量精度、労力、試薬消費量等の点で秀れていることを見出した。この装置はテクニコン社製のオートアナライザーに Folin 反応用のフローダイアグラムを組込んだもので非常に高価である。

そこで、ここでは既に他の研究目的で購入し、使用中の機器、フラクションコレクター、分光光度計、ペリスタポンプ、循環熱風乾燥器、記録計を利用し、Slinkard, Singleton の報告²⁾を参考として、安価で定量誤差の少ない全フェノール自動定量装置を組立てたので報告する。

本装置は、サンプリング、試薬送液、反応、検出、記録の5つのユニットより成る。

サンプリングユニットは大きく分けると、サンプリング針上下移動機構 (Fig. 1)、コントロール機構 (Fig. 2)、試験管送り機構の3つからできている。試験管送り機構は、東洋科学製フラクションコレクター (SF-160K型) から天秤装置のスイッチに通じていた線とコントロール機構が結ばれている。

サンプリング針はモーターにより上下に移動し (Fig. 1)、サンプリング流路系は針の先端部分を除いて常時水で洗われている。モーターはコントロール機構 (Fig. 2) にある ON Relay (OMRON WY2 DC12V) と UP Relay (OMRON WY2 DC12V, 回転方向すなわち針の上下移動方向を決める) とによって作動する。

コントロール機構には Start SW, Reset SW, サンプリングタイム設定用デジタルスイッチ (S・SW, OMRON A 7M-2), リテンションタイム設定用デジタルスイッチ (R・SW, OMRON A 7M-2) がある。Drive Relay が1秒間はいると試験管が1本ずれる。

この回路の作動を説明すれば、Reset SW を押すとサンプリング針は上へ動き UP・SW に達して停止する。Start SW を押すと ON Relay が入りモーターが回転する。回転方向 (上下移動方向) は UP・SW が押されていたか D・SW が押さ

* Department of Mechanical Engineering.

** Faculty Machine Shop.

*** Department of Computer Science.

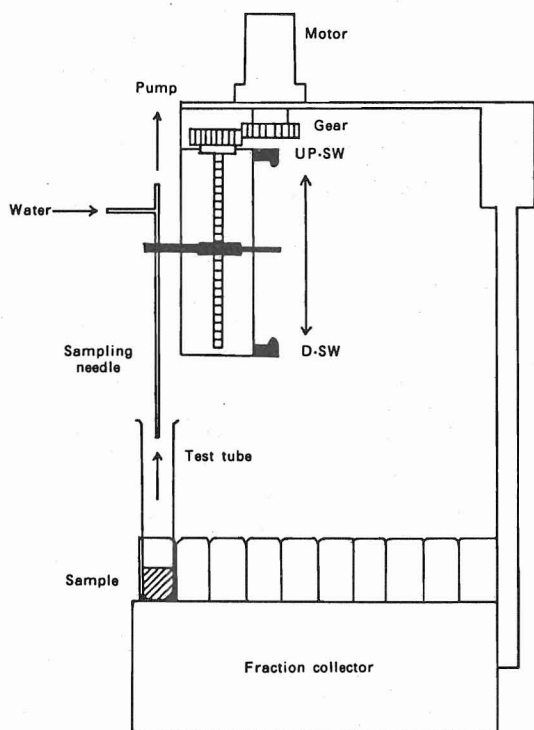


Fig. 1. Sampling unit

れていたかで決まり、この場合には UP・SW がいっていたので針が下方に動くような回転方向となる。針が下方に移動し D・SW が入ったところでモーターが止まる。この時、針先は試験管の試料液中にあり試料を吸っている。時計部（コントロール機構）が動き始め、設定された時間がくるとモーターが再び動き始め、針は上方に移動しサンプル吸入は止まる。次に針が UP・SW を押したところでモーターは止まり、試験管送り機構を動かす Drive Relay が 1 秒間入り試験管が 1 本送られる。同時に時計が動き設定された時間、針は最上部に止まったままとする。時間がくると再びモーターの ON Relay を動かし針は下がる。全体を停止するには Reset SW を押す。このような繰り返しによってサンプリングユニットは作動する。

Fig. 3 は全フェノール自動定量装置のフローダイアグラムを示している。送液ポンプは東京理化製マイクロチューブポンプ (MP-32型)、フローチューブは M & S Instruments Trading Inc. の

ポリビニルクロライドフローチューブ (内径0.50mm 3.20mm, Table 1) を用いた。デバブラー、ガラス製ミキシングコイル、コネクター、マニホールドチューブ (内径1.7mm) はテクニコン社製、加熱反応槽として八島製作所製恒温槽 Minitemp MT-1 型を用い反応コイルはテフロンチューブ (内径 2mm, 長さ10m) を使用した。反応によって生じた青色は協和精密製 μ -1-フローセル (光路長10mm) を島津製作所製分光光度計 (UV140型) に取付け、リファレンスセルを用いないで、760nmの吸収で測定した。反応試薬は和製 Folin 試薬を 5 倍に水で希釈したもの (FCR と10% Na_2CO_3 溶液を用いた)。

この全フェノール自動定量装置を用いて、いろいろな濃度の没食子酸溶液及び数種のワインの全フェノール定量を行った。Fig. 4 はチャートスピード 8 cm/で描いた分析結果、Fig. 5 は没食子酸のピーク高さチャート上の目盛り読みとり作成した標準曲線であるワインは全て水で 5 倍に希釈して分析した。以上の果、没食子酸300ppmまでは $\pm 2\%$ の誤差で定量できことが分った。

分析スピードは反応コイル容量、反応試薬及び試の送液速度等によって決まるが、ここでは分析誤差各ユニットの部品入手のし易さ、装置の保守の容易さ分析を必要とする試料数等を考慮して 1 時間につき試料 (1 試料を 2.5 分で分析) を分析できるよう組立てた。

Slinkard, Singleton²⁾ は FCR 送液、 Na_2CO_3 試薬送液及び分光光度計のフローセルから廃液になる 3 つの流路に各 2 本のポンプチューブを使用し、より径の大きい 1 本のチューブを用いた時には、チャート上の記録されつつあるピークは数 mm の単で後戻りしたり、また Singleton の研究室での者の経験では、主ピークの他に小さなピークが重なって現われたり、更に 2 本ずつのチューブを用いてもピークの頂点近くで 2 つの山に割れたりする現象がしばしば見られた。この原因を彼らはポンプのローラーがポンプのプレートからチューブを離す時に生ずる “snap back” 効果とした。しかし我々の装置では全ての流系に 1 本ずつのポンプチューブを用いても “snap-back” 効果はチャート上のピークの形に影響を与えなかつすなわち非対称のピークやピークの山が頂点近くでつに割れる原因はフローセルの形と容量にあり、“snap back” 効果は青色の反応生成物を測定するするまで長い流路系の間で吸収されていることが分った。30, 以上の容量を持つ数種のフローセルを用いた時には記のような非対称のピークが認められた。

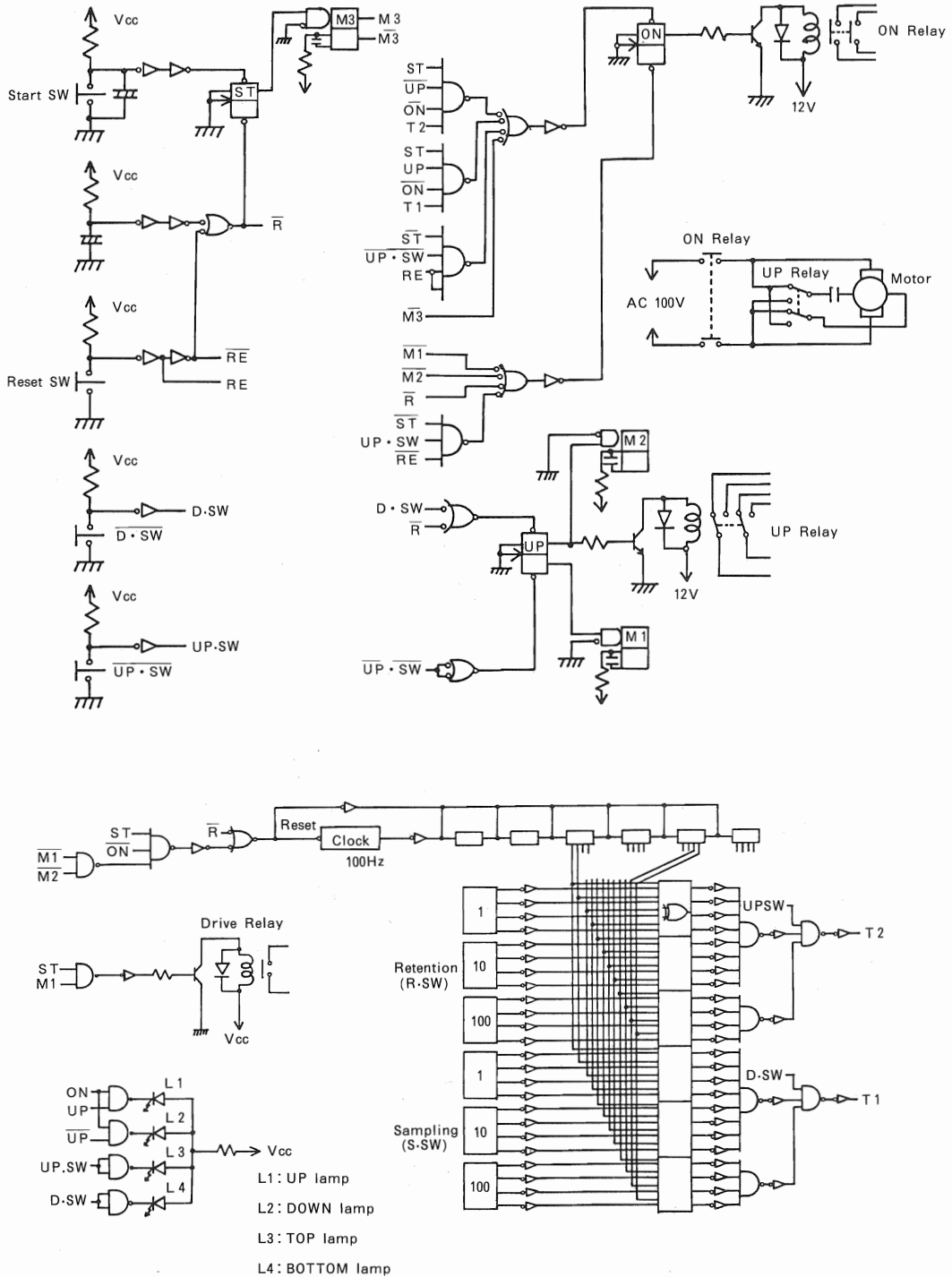


Fig. 2. Logical circuit of a control unit.

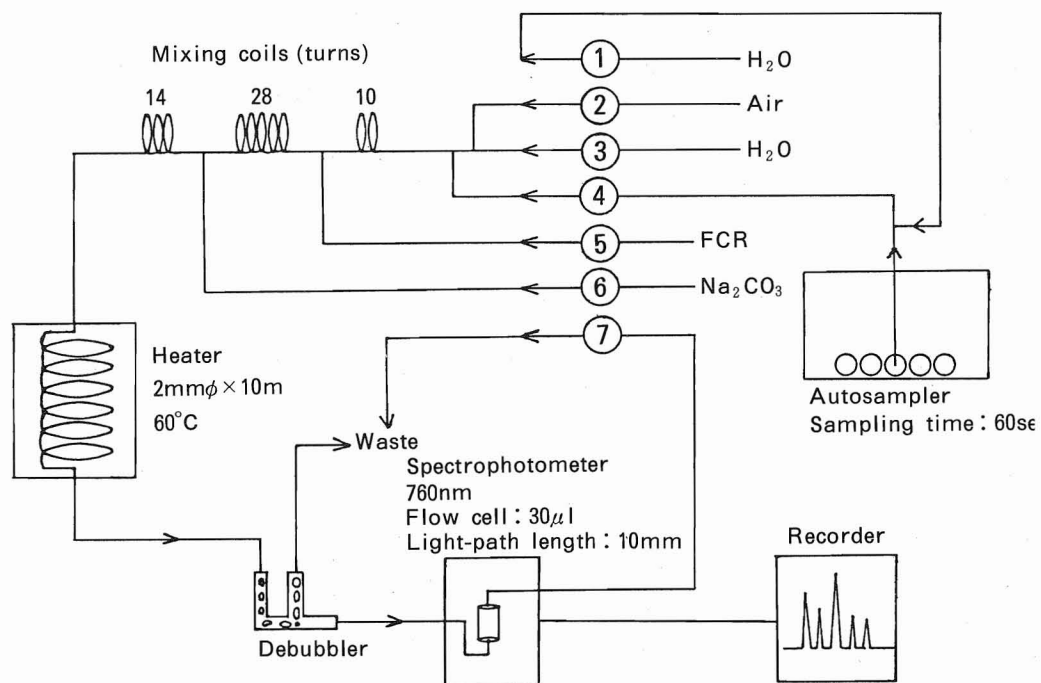


Fig. 3. Flow diagram and pump manifold for an autoanalyzer for total phenol determination.

Table 1. Pump tubes.

| Tube no. | Fluid being pumped | Tube color code | Diameter* (mm ID) | Flow rate* (ml/min) |
|----------|-------------------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|
| 1 | H ₂ O wash to sampler | Orange-Yellow | 0.50 | 0.175 |
| 2 | Air (segmenting) | Purple-Black | 2.70 | 2.40 |
| 3 | Dilution water | White-Black | 3.20 | 3.70 |
| 4 | Sample or standard | Black-Black | 0.65 | 0.32 |
| 5 | F-C reagent | Green-Green | 1.80 | 1.72 |
| 6 | 10% Na ₂ CO ₃ | Green-Green | 1.80 | 1.72 |
| 7 | From spectrophotometer to waste | Green-Green | 1.80 | 1.72 |

* These values were found by the use of the pump tubes obtained from M & S Instruments Trading Inc. and a peristaltic pump (Tokyo Rikakikai, Model MP-32).

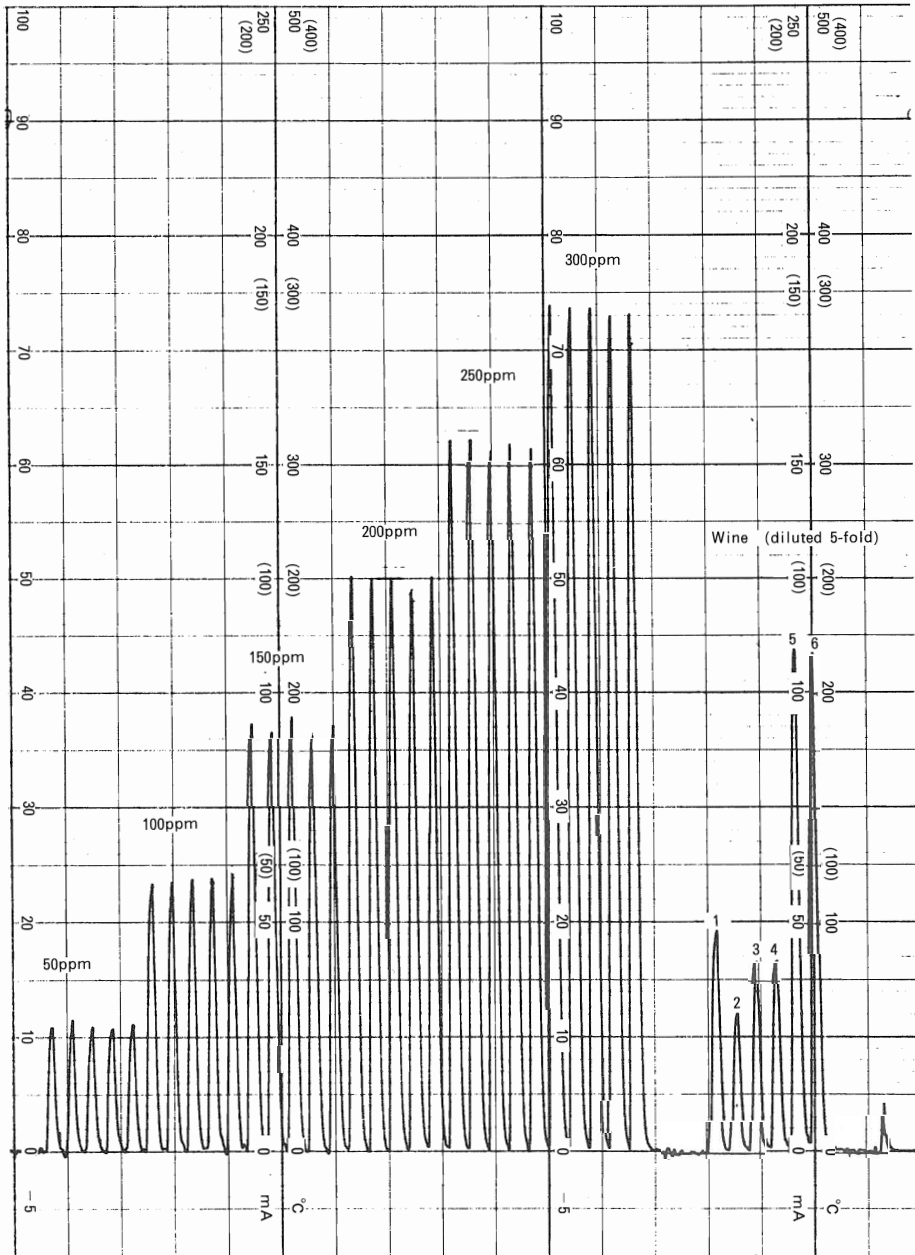


Fig. 4. Analyses of standard gallic acid solutions and six wines.

Six wines were diluted 5-fold with distilled water before analysis. 1, Koshu white wine; 2, Ryugan white wine; 3, Riesling white wine; 4, Chardonnay white wine; 5, Muscat Bailey A red wine; 6, Cabernet Sauvignon red wine. These wines were produced at our laboratory in 1982.

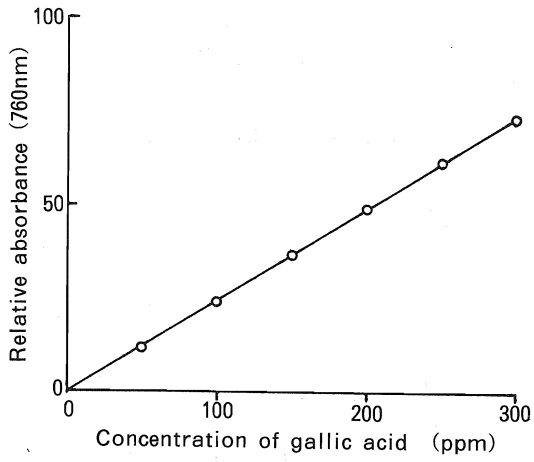


Fig. 5. Standard curve of gallic acid.

文 献

- 1) Singleton, V.L., Rossi, J.A. Jr. : *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144 (1965).
- 2) Slinkard, K., Singleton, V. L. : *Am. J. Enol. Vitic.*, 28, 49 (1977).

(昭和58・9・16受付)