

Application News

No. A494

光吸収分析
Spectrophotometric Analysis

軽油中のクマリンの簡易測定

Simplified Measuring Method of Coumarin in Light Oil

はじめに

Introduction

軽油には消費税（国税）のほかに軽油取引税（地方税）が課せられます。一方、灯油やA重油には軽油取引税は課せられません。このため、軽油に灯油や重油を混ぜた不正な混和軽油を販売して、税金分を不当に取得する不正行為が行われる場合があります。その対策として、平成3年3月から当時の通商産業省の指導により市販の灯油とA重油に識別剤として濃度1 ppmのクマリンが添加されるようになりました。これを受けて、税務局では軽油の検査として抜き取り試験を行っています。クマリンが検出されれば、灯油またはA重油が軽油中に混入されたことになり、指導処置が取られます。

このクマリンの分析方法について、公益社団法人石油学会製品部会 試験分析分科会が平成22年12月10日に規格JPI-5S-71-2010を制定しました。今回は、その規格のA法に沿ってクマリンの蛍光スペクトルを測定したのでご紹介します。

A. Hashimoto

分析手順

Analytical Procedure

クマリンの分析手順を下記に、分光蛍光光度計 RF-6000 軽油識別剤クマリン分析システムの写真を Fig. 1 に示します。また、分析に必要な機器および試薬を Table 1 に示します。

[分析手順]

- ① 各種溶液を準備する
- ② 検量線作成用標準試料の調整
- ③ 定量用試料の調整
- ④ 振とうと異性化（紫外線照射）
- ⑤ 検量線の作成
- ⑥ 未知試料の測定

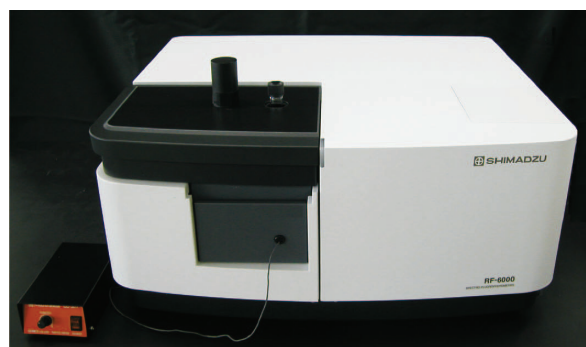


Fig. 1 分光蛍光光度計 RF-6000 軽油識別剤クマリン分析システム
RF-6000 Coumarin Analysis System

Table 1 クマリン分析に必要な機器および試薬
Instruments and Reagents Needed for Coumarin Analysis

①	分光蛍光光度計 RF-6000 一式
②	クマリン分析キット (スターラー付き試験管ホルダ)
③	クマリン測定用専用試験管 (攪拌子入り)
④	メスフラスコ 100 mL, 200 mL, 500 mL
⑤	ホールピペット 1 mL, 2 mL, 5 mL, 6 mL, 8 mL, 10 mL
⑥	メスピペット 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 10 mL
⑦	試験管立て 23 mmφ用
⑧	ディスポーザブル手袋
⑨	クマリン
⑩	トルエン
⑪	n-ドデカン
⑫	アルカリ水溶液作成用 水酸化ナトリウム, 硝酸ナトリウム
⑬	アルコール液作成用試薬 1-ブタノール, エタノール

* 上記⑨, ⑫, ⑬は、『島津 RF 用定量試薬』キットで代用することも可能です。
さらに、試験管振とう器もあると便利です。

■各溶液の調製

Preparation of Solutions

各溶液を下記 (a) ~ (e) の手順で調製します。

- (a) クマリン標準原液 (10,000 mg/L)
(密栓冷暗所で3ヶ月保存可)
メスフラスコ 100 mL にクマリン 1.0 ± 0.005 g を精秤し、トルエンでメスアップします。
- (b) クマリン標準液 (100 mg/L)
メスフラスコ 500 mL にクマリン標準原液 (a) 5 mL をホールピペットで量り取り、n-ドデカンでメスアップします。
- (c) クマリン標準液 (1 mg/L)
メスフラスコ 500 mL にクマリン標準液 (b) 5 mL をホールピペットで量り取り、n-ドデカンでメスアップします。
- (d) アルカリ水溶液 (密栓冷暗所で1ヶ月保存可)
水酸化ナトリウム 10 ± 0.1 g および硝酸ナトリウム 20 ± 0.1 g を量り取り、100 mL のメスフラスコで水を用いてメスアップします。
- (e) アルコール液 (密栓冷暗所で1ヶ月保存可)
1-ブタノール 80 mL とエタノール 60 mL を混和します。

■検量線作成用標準試料および実試料の調製

Preparation of Standard Samples for Calibration Curve and Analyses

検量線作成用の試験管 5 本に撹拌子を入れた後、Table 2 に示す各溶液をそれぞれ分注します。実試料の調製は、試験管に撹拌子を入れた後、実試料 1 mL、n-ドデカン 6 mL、アルカリ水溶液 5 mL、アルコール液 8 mL を分注します。

■振とうと異性化

Shaking and Isomerization

各試験管を振とう器に装着し、240 回/分以上で3分間振とうします。振とう器がない場合は手で振とうします。振とう後、5分間静置し、Fig. 2 に示すように三層に分離していることを確認します。これらは上から順にドデカン層、アルコール液層およびアルカリ水溶液層です。

次に分光蛍光光度計 RF-6000 軽油識別剤クマリン分析システムのセルホルダーに試験管をセットします。撹拌子を撹拌させながら、360 nm の励起波長 (バンド幅: 10 nm) を利用して、3分間紫外線照射を行い、クマリンを異性化させます。蛍光波長を 500 nm (バンド幅: 10 nm) に設定し、蛍光強度の時間変化を確認することで、異性化の進行状態が確認できます。Table 3 に分析条件を、また、横軸に経過時間、縦軸に蛍光強度を表したタイムコースグラフを Fig. 3 に示します。紫外線照射を行うと、経過時間に伴い蛍光強度が増加します。この蛍光強度が一定になると、異性化が安定したと考えられます。

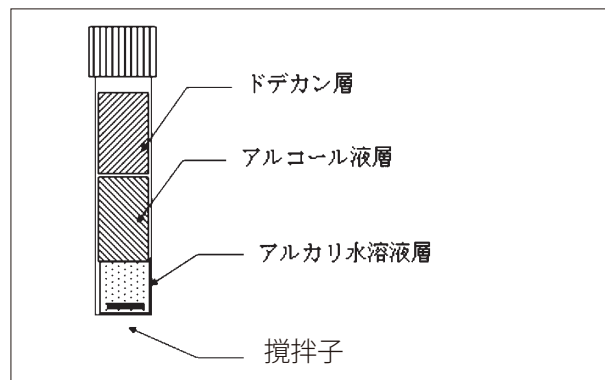


Fig. 2 三層に分離した試験管内の模式図
Three Layers in Test Tube

Table 3 分析条件
Analysis Conditions

測定モード	タイムコース
励起波長	: 360 nm
蛍光波長	: 500 nm
バンド幅	: Ex: 10 nm, Em: 10 nm

Table 2 検量線作成用標準試料の調製例
Mixture Ratio of Standard Sample for Calculation Curve

検量線の種類	混入率【%】	0.0	10.0	40.0	80.0	120.0
	クマリン分【mg/L】	0.00	0.10	0.40	0.80	1.20
試薬の採取量【mL】	クマリン標準液 (1.0 mg/L)	0	0.10	0.40	0.80	1.20
	n-ドデカン	7.0	6.9	6.6	6.2	5.8
	アルカリ水溶液	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	アルコール液	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0

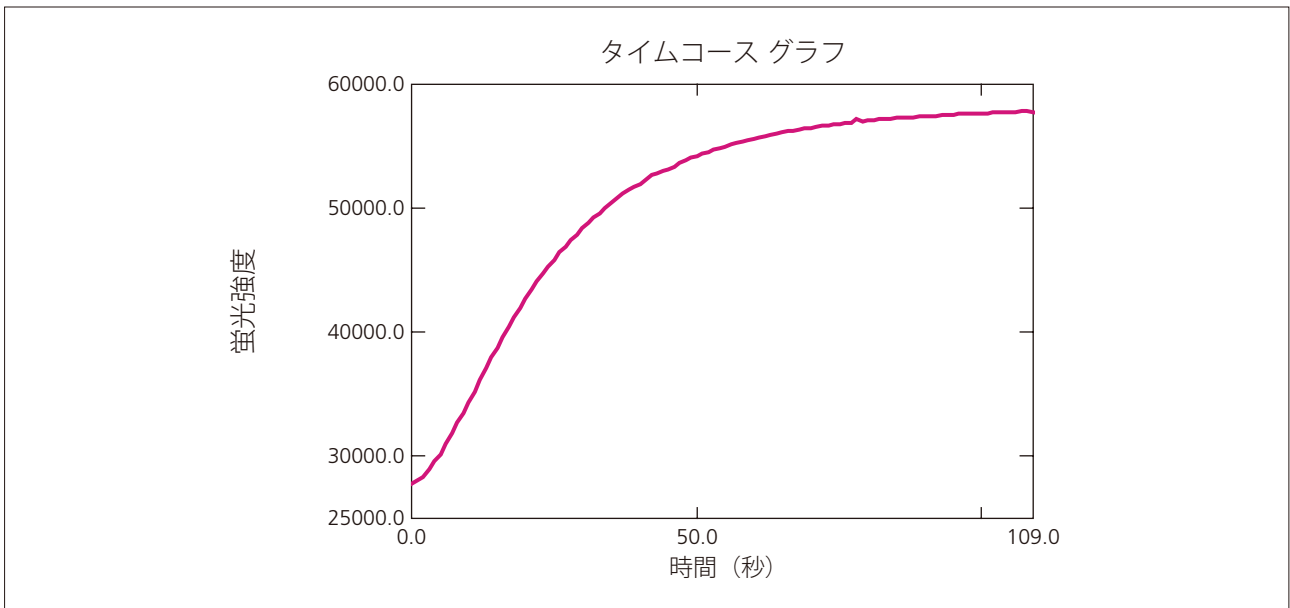


Fig. 3 クマリンの異性化による蛍光強度の変化
Changes of Fluorescence Intensity Caused by Isomerization of Coumarin

■クマリンの異性化反応

Isomerization Reaction of Coumarin

クマリンはアルカリ溶液中で加水分解され、シス-*o*-ヒドロキシケイヒ酸になります。さらに紫外線を照射すると異性化されてトランス-*o*-ヒドロキシケイヒ酸になります。Fig. 4にそれぞれの構造式を示します。クマリンをトランス-*o*-ヒドロキシケイヒ酸にすることで蛍光を発するようになります。その蛍光強度を測定することにより、クマリンの定量が行えます。

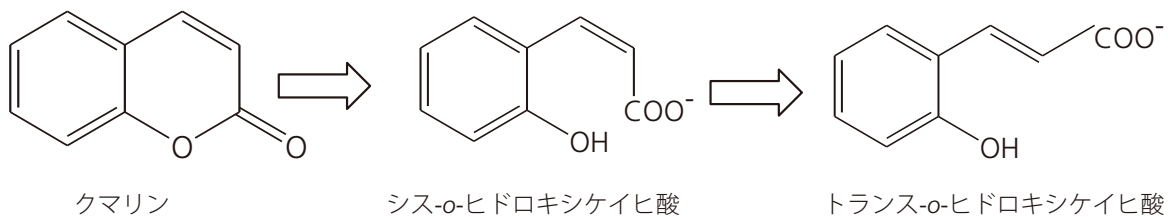


Fig. 4 クマリンの異性化反応
Isomerization Reaction of Coumarin

■検量線及びクマリン添加軽油の測定例

Calibration Curve and Measurement Result of Coumarin-added Commercial Light Oil

紫外線照射後、Table 4に示した分析条件で測定します。標準試料の蛍光スペクトルをFig. 5に、検量線をFig. 6に示します。検量線の相関係数の二乗である r^2 は0.99965となりました。

また、市販軽油にクマリンを0.5 ppm添加したものを実試料とし、測定した結果をTable 5に示します。添加量とほぼ等しい定量結果が得られました。

Table 4 分析条件
Analysis Conditions

励起波長 : 360 nm
蛍光波長 : 500 nm
: (スペクトルスキャン時は 390 ~ 630 nm)
バンド幅 : EX: 10 nm, EM: 10 nm

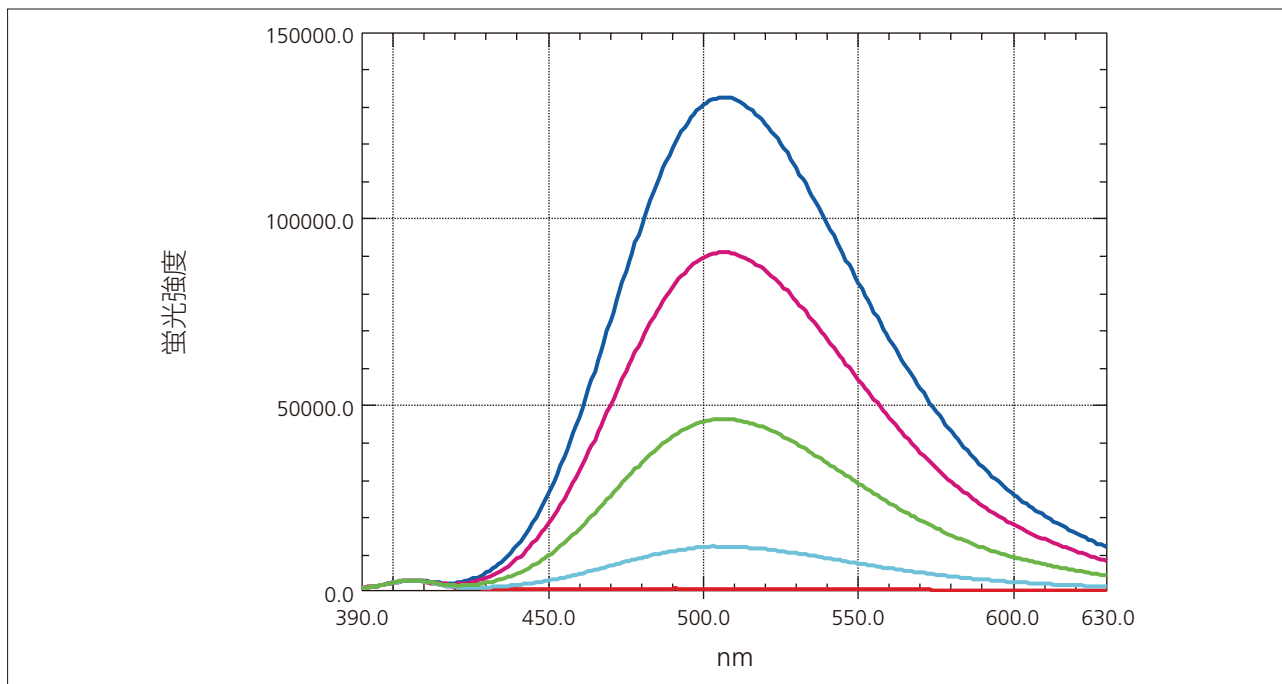


Fig. 5 標準試料の蛍光スペクトル
Fluorescence Spectra of Standard Solutions
蛍光強度の強い方から順に, 1.2 ppm, 0.8 ppm, 0.4 ppm, 0.1 ppm, 0 ppm

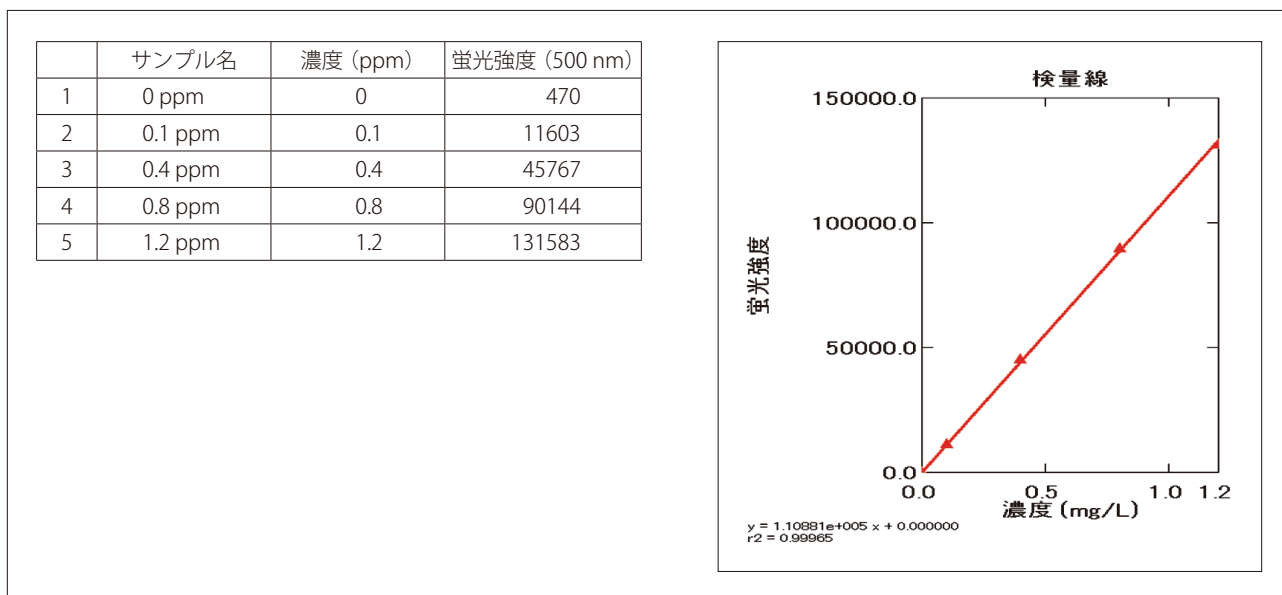


Fig. 6 検量線
Calibration Curve Obtained with Standard Solutions

Table 5 クマリン添加軽油の測定結果
Measurement Result of Coumarin-added Commercial Light Oil

添加量 (ppm)	蛍光強度	測定結果 (ppm)
0.50	57440	0.514

■まとめ Conclusion

石油学会規格の A 法に則ったクマリン分析に関して、島津蛍光分光光度計 RF-6000 を用いると、簡便に精度よく分析確認できることがわかりました。