

フローインジェクション分析法による化学分析の高度化のための多機能デバイス

樋口慶郎*, 本水昌二

岡山大学理学部化学科 〒700-8530 岡山市津島中3-1-1

*現在: 東京化成工業株式会社 FIA 事業部 〒114-0003 東京都北区豊島 6-15-9

Intelligent Devices for Advanced Chemical Analyses Using Flow Injection Method

Keiro HIGUCHI* and Shoji MOTOMIZU

*Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1 Tsushimanaka,
Okayama 700-8530, Japan*** Present address: FIA Division, Tokyo Kasei Kogyo Co. Ltd., 6-15-9 Tshima, Kita-ku,
Tokyo 114-0003, Japan*

In flow injection analysis (FIA), it is very important to develop novel chemical and / or pretreatment devices as well as new sensing systems and new chemical reaction systems, for advancing chemical analyses. In this paper, several intelligent devices, in which specific chemical reactions can be carried out on-line with high efficiency and high precision, are reviewed with respect of the enhancement of SPARS and ZEC; SPARS means "Sensitivity and Selectivity, Precision, Accuracy, Rapidity and Simplicity", ZEC "Zero Emission Concept". Devices for oxidation / reduction reactions, photo reactions, gas diffusion, solvent extraction, chromatomembrane and acceleration of a precipitation reaction are referred in this paper.

1. はじめに

近年、環境科学、生命科学、材料科学、食糧科学、あるいは各種製造現場における品質管理、工程管理などの化学分析において分析操作の簡便化、迅速化、分析の感度・精度・確度の向上などを志向した化学分析の高度化が重要な課題となっている。例えば窒素、リン、硫黄化合物は、動物、植物の生命系、生態系と密接に関連した必須元素である。それ故、生体、大気環境、水環境におけるこれら化合物の挙動は地球上の生命・生態系に重大な影響を及ぼす可能性が極めて高い。従ってこれらの元素・化合物の正確な動態解明のためには、信頼できる分析法の確立が要求され、

そのためにはスピーシエイションを含めた化学分析の高度化が必要となってくる。化学分析の高度化の主要な目的は感度、選択性、再現性、正確さ、迅速性、簡便性(Sensitivity and Selectivity, Precision, Accuracy, Rapidity, Simplicity) いわゆる "SPARS" を達成する分析方法の開発ということが出来る。一方、産業活動により排出される廃棄物は有効活用し、あるいはリサイクルによりゼロを目指し、環境負荷を極力低減しようとする "ゼロエミッション構想" (Zero Emission Concept, ZEC) をも視野に入れて確立された分析法であることも重要であり、今後高度化の重要な柱となる。

フローインジェクション分析法 (FIA) は分析の“迅速”, “簡便”, “自動化の容易さ”, “少試料, 少試薬” が主要な利点ではあるが, FIA 本来の機能を考えるとき前述の SPARS と ZEC を満足させるための手段としても最適の方法の一つであるといえる. 又化学分析の高度化のためには様々な前処理, 検出に用いる化学反応系, 反応試薬系の選択は重要なポイントである. さらに, これら化学反応の一部あるいは全部をオンラインで自動的に, また高選択的, 高効率, 迅速に行うことは“様々な前処理操作を流路の中で容易かつ再現性良く行うことができる” という FIA の特徴を有効に利用することにつながる. このようなオンライン前処理法については最近の総合論文にまとめられている¹⁾. さらに, 前処理を含めたオンライン化学反応を効果的に行うためには何らかの優れた高機能, 多機能デバイスが必要である. 著者らのイメージする多機能デバイスは次のようなものである: ① 酸化, 還元, 分解などの前処理機能を持つ前処理反応器(pretreatment reactor); ② 化学種や化学エネルギーの変換機能を持つ変換器(transducer); ③ 分離, 濃縮機能を持つ選択器(selector); ④ 濃縮機能を持つ濃縮器(concentrator); ⑤ 化学反応促進機能を持つ反応促進器(accelerating reactor). 本総説では化学分析の高度化を達成するための FIA に有用な多機能デバイスの具体的な応用について代表的なものを挙げ, 最近の実例を述べる.

2. 酸化, 還元機能を持つデバイス

2.1 カドミウム・銅充填カラムによる硝酸イオンの還元

硝酸イオンの定量は, 金属カドミウムを銅でコーティングしたカドミウム・銅(Cd/Cu)により硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元した後, 硝酸イオン定量法により行なう. 例えば吸光度測定法では, スルファニルアミドと *N*-1-ナフチルエチレンジアミンを発色試薬とするジアゾ化カップリング反応により生

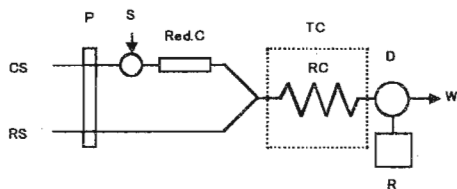


Fig.1 Schematic FIA diagram for the determination of nitrate

CS, carrier solution (EDTA + NH_4Cl); RS, reagent solution (sulfanilamide + *N*-1-naphthylethylenediamine); P, double-plunger micro pump (each flow rate : 0.5ml min^{-1}); S, sample injector ($100\mu\text{l}$); Red.C, Cd / Cu reduction column ($2\text{mmi.d} \times 10\text{cm}$); RC, reaction coil ($0.5\text{mmi.d} \times 2\text{m}$); TC, temperature-controlled bath; D, detector (540nm); R, recorder; W, waste.

法においては, 試料の状態などによらず硝酸イオンから亜硝酸イオンへの還元を常に再現性良く行うことが分析精度と信頼性を確保する最大のポイントである. JIS K0102(1993)をはじめとする公定法で採用されているバッチ式手法では, 一試料当たり多量の試料をカラム処理する関係で, 還元反応に寄与する充填剤量に対する試料負荷量が大きくなってしまい, Cd/Cu の劣化が著しく, 還元の効率と再現性が大きく低下し, 変動する. また Cd/Cu は水と接触する時間が長いほど金属表面の活性が失われ, 結果として還元率の低下を招く. 正確な測定のためには定期的に還元率のチェックを行い, カラムの洗浄, 再活性化を施す必要がある. これらの操作は煩雑で時間と労力を必要とし, しかも多量排出される有害なカドミウム廃液の処理等の点で問題が大きい.

この Cd/Cu 還元/吸光光度定量法を FIA に応用する試みは古くから検討され, 簡便で迅速な硝酸イオンの定量法が報告されている²⁻⁵⁾. FIA では“反応が定常状態に移行しつつある過渡的状态”でも検出に利用できることが大きな特徴で, FIA の迅速性と多様性機能の発現につながるものである. しかし, 硝酸イオンと亜硝酸イオンを同時に, あるいはそれぞれ個別に測定する場合には, 硝酸イオンの還元反応は定量的に進行することが必要条件である.

Fig.1 に硝酸イオン定量のためのフローダ

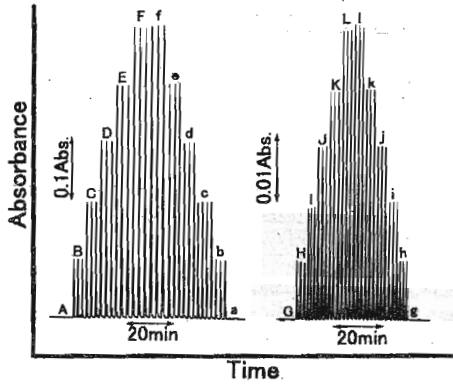


Fig.2 Flow signals for the calibration graphs of nitrate and nitrite

[N-NO₃⁻]/ppm A, 0; B, 0.2; C, 0.4; D, 0.6; E, 0.8; F, 1.0
 [N-NO₃⁻]/ppm a, 0; b, 0.2; c, 0.4; d, 0.6; e, 0.8; f, 1.0
 [N-NO₂⁻]/ppb G, 0; H, 20; I, 40; J, 60; K, 80; L, 100
 [N-NO₂⁻]/ppb g, 0; h, 20; i, 40; j, 60; k, 80; l, 100.

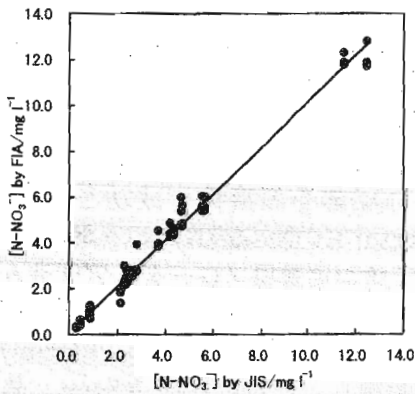


Fig.3 Correlation between the results obtained by FIA method and JIS method for the determination of nitrate ion in river water samples.

イアグラムを示す。流路に組み込まれている還元カラムはテフロンチューブやガラス管と適当なコネクタで構成される。ここでは、内径 2mm、長さ 10cm のガラス管に市販の硝酸性窒素還元用カドミウム・銅(粒径 0.5~2mm)を充填したカラムが試料注入器のすぐ後ろに組み込まれている。還元デバイスとしての Cd/Cu カラムでは、還元能力に対する試料負荷量はバッチ式手法に比べ極端に少ないこと、制御された流れの中で常に反応条件が一定に保たれていること、更に EDTA

を含むキャリアー溶液が常時カラムに流れていることにより、充填剤の活性化が常に行われており、還元率は長期間高い値を維持することができるようになった⁶⁾。Fig.2 に実際のフローシグナルの例を示す。いずれの濃度においても硝酸イオンと亜硝酸イオンのピーク高が等しいことは還元率が 100%であることを示している。この方法では 1 時間当たり 40~50 試料の分析が可能で、その際の廃液量はわずかに 60ml とバッチ式手法での 1 試料測定分の廃液量よりも少ない。実際に河川水中の硝酸イオンを Cd/Cu 還元カラムを組み込んだ FIA の定量結果とバッチ式手法の結果を比較したところ、良好な相関関係が得られている⁶⁾。また、フローインジェクション分析研究懇談会・公定法化分科会の共同試験として、河川水試料中の硝酸イオンを、傘下の 4 個所の機関で測定した FIA による値と JIS 法による値を比較した結果を Fig.3 に示す。両者の間には傾き 1.011、相関係数 0.9933(n=72)と非常に高い相関を示しており、JIS 用手法に代わり得る方法であることが証明された⁷⁾。

また、平野らにより開発された拡散型サンプラー(passive sampling device)を用いる大気汚染物質の捕集法とその捕集成分測定に Cd/Cu 還元/FIA をカップリングさせることにより一酸化窒素、二酸化窒素のスピーシエイションと同時定量が簡単迅速に行われ相乗的に高度化が達成された⁸⁾。

近年、生体内で生成する一酸化窒素(NO)の循環器系、免疫系、神経伝達系などに対する生理作用に注目が集まり^{9~12)}、機構解明に向けて正確な測定法の開発が望まれている。しかしながら、NO は生存寿命の短い不安定な化学種であるために、直接定量することは困難であることが知られている。生体内で生成した NO は、直ちにほとんど硝酸、亜硝酸イオンに代謝される。従って、生体試料中に存在する NO 代謝産物の硝酸、亜硝酸イオンを定量することにより NO 生成量を推測する測定法が簡便性の点から行われてきた。

Green らは Cd/Cu 還元カラムを組み込んだ自動流れ分析法による測定法を報告した¹³⁾。血清、血漿、細胞培養液など生体試料は、直接 FIA に注入すると還元反応系及び発色反応系に大きな妨害を与える。Higuchi らは、水酸化ナトリウムと硫酸亜鉛を除いたばく試薬として用いる前処理操作と Cd/Cu 還元/FIA のカップリングにより、検出限界 5×10^{-8} M と高感度で信頼性の高い NO 代謝物の定量方法を確立した¹⁴⁾。

以上のように、Cd/Cu 還元/FIA は、他の測定手法や前処理操作法との組み合わせにより、その有用な還元デバイスとしての機能を気体試料から水試料、生体試料にまで広げて利用することができる。

2.2 紫外線照射装置

2.2.1 紫外線照射法による酸化・還元反応

近年、光化学反応が、FIA における有機、無機物質の簡便、迅速なオンライン酸化・還元前処理操作に利用されている。石英チューブやポリテトラフルオロエチレン (PTFE) チューブ内を試料が流れている間に、低圧水銀ランプから発せられる紫外線によりセレン (VI) はセレン (IV) に還元される¹⁵⁾。一方、小熊らはタイロンの共存下、低圧水銀ランプにより鉄 (II) から鉄 (III) への光酸化反応について報告している^{16,17)}。小寺らは紫外線照射によりヒドロキシルアミンを亜硝酸、硝酸イオンに酸化した後ジアゾ化カップリング反応/吸光光度法により定量する方法を報告している¹⁸⁾。また、環境水中の有機炭素化合物も光酸化反応により二酸化炭素に酸化され、吸光光度定量されている¹⁹⁾。

2.2.2 紫外線照射還元法を用いた硝酸イオンの定量

硝酸イオンの FIA/吸光光度定量法には 2.1 で述べたように Cd/Cu 還元/ジアゾ化カップリング反応が一般的に用いられてきた。

Takeda と Fujiwara は、流路の途中に組み込んだ石英コイルを試料が流れる間にペン

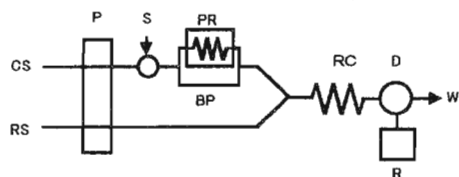


Fig.4 Schematic FIA diagram for the determination of nitrate and nitrite by photo-reduction method
CS, carrier solution (EDTA + phosphate buffer); RS, reagent solution (sulfanilamide + N-1-naphthylethylenediamine); P, double-plunger micro pump; S, sample injector; PR, photo-reactor; BP, by-pass tubing; RC, reaction coil; D, detector (540nm); R, recorder; W, waste.

型ランプから照射される紫外線により、硝酸イオンが亜硝酸イオンに光還元されることを報告している²⁰⁾。キャリアー溶液としてリン酸緩衝液を用いて、還元効率 50% を達成している。この方法は有害なカドミウム廃液を排出しない方法として非常に注目されている。

Motomizu らは、紫外線照射コイルとして破損しやすく細工が困難な石英チューブの代わりに取り扱いが容易な PTFE チューブを用い、さらに還元効率の向上を目的として、新しい反応系の構築に成功した²¹⁾。Motomizu らの紫外線照射装置を組み込んだ硝酸イオン定量用フローダイアグラムを Fig.4 に示す。紫外線照射装置は 4W の低圧水銀ランプ (外径 14mm, 長さ 134mm) 2 本を装備し、これに内径 0.8mm, 外径 1.58mm, 長さ 3m の PTFE チューブをランプに直接巻きつけて、更にその周りをアルミホイルで覆って反射光を有効に利用できるように工夫した。この系では硝酸イオンと亜硝酸イオンの同時測定を行うために試料注入器の下流にバイパスを設けている。照射コイルとして材質や形状について検討した結果、内径 0.8mm の PTFE チューブが最も還元効率が高いことがわかった。このことにより作業操作性は石英チューブを使う場合よりもはるかに向上した。また、還元効率を上げるために紫外線を照射する際の共存物質の影響について検討した結果、EDTA 及びその誘導体に反応を促進する効果があることがわか

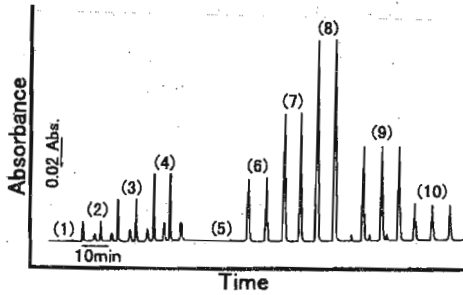


Fig. 5 Flow signals for nitrate and nitrite
 (1)-(4), NO_2^- ; (5)-(8), NO_3^- ;
 $[\text{N-NO}_2^-] / \times 10^6 \text{M}$ (1), 0; (2), 3; (3), 6; (4), 9
 $[\text{N-NO}_3^-] / \times 10^6 \text{M}$ (5), 0; (6), 3; (7), 6; (8), 9
 9), river water sample [NO_2^- , $(1.00 \pm 0.01) \times 10^{-7} \text{M}$; NO_3^- ,
 $(4.10 \pm 0.05) \times 10^{-6} \text{M}$]
 10), tap water sample [NO_3^- , $(1.40 \pm 0.00) \times 10^{-5} \text{M}$].

り、キャリアー溶液として $1 \times 10^{-3} \text{M}$ EDTA を含む 0.1M リン酸緩衝液を pH7 に調節して用いている。これにより、還元効率は 70 ~ 84% まで上昇した。Fig. 5 に検量線及び実試料を定量したときのフローシグナル例を示す。亜硝酸イオン標準液及び河川水試料では 1 回の注入に対して 2 本のピークが出現し、硝酸イオン標準液及び水道水では 1 本のピークのみ出現する。

紫外線照射/FIA 吸光光度法の検出限界は $3 \times 10^{-8} \text{M}$ と高感度で、同時分析を行っても 1 時間当たり 10 試料の定量が可能である。何よりも有害物質を排出しない 21 世紀に向けてのクリーンで安全な分析法として大いに注目されている。

2.2.3 紫外線照射/酸化分解法によるリン化合物の定量

バッチ式手法及び FIA において有機及び無機リン化合物のオルトリン酸への分解は、ペルオキシ二硫酸カリウムを酸化剤として、オートクレーブや PTFE チューブリアクターを加熱することにより行うことができる。

全リン定量のための FIA がこれまでも数種報告されてきたが、それらのほとんどが

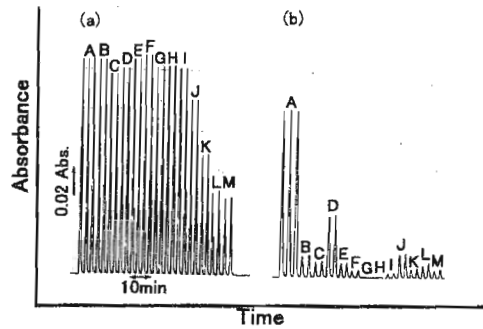


Fig. 6 Effect of UV-irradiation for the photo-decomposition of phosphorus compounds
 (a), lamp on; (b), lamp off
 A, orthophosphate; B, glucose-1-phosphoric acid; C, glucose-6-phosphoric acid; D, ribose-5-phosphoric acid; E, riboflavine phosphate (Na salt); F, α -glycerophosphate (2Na salt); G, 1-aminoethylphosphoric acid; H, methyltriphenylphosphonium bromide; I, AMP; J, ADP; K, ATP; L, sodium diphosphate; M, sodium tripolyphosphate.

長いチューブリアクターを高温 ($120 \sim 160^\circ \text{C}$) に加熱して分解した後、モリブデンブルー法やマラカイトグリーン吸光光度法により定量するものであった²²⁻²⁴。しかし、 150°C にも及ぶ高温加熱は安全面から厳密な注意が必要である。さらに、測定前の温度上昇、測定終了後の装置の冷却等にも相当の時間を要し、迅速、簡便で安全な分解法の開発が強く望まれる。

バッチ法では紫外線を照射する光酸化分解法が既に報告されている^{25,26}。Mckelvie らは、環境水中の可溶性有機リン化合物を光酸化分解により FIA 定量を行った²⁷。この方法では紫外線源として 40W 程度の中圧ランプを使用するために、装置が大掛かりとなり、また検出器の手前で系内で発生する酸素やオゾンを除く必要があった。一方、Higuchi らは大型の電源や部品を必要としない低圧水銀ランプを紫外線源とし、PTFE チューブをリアクターとして用いる紫外線照射装置を流路に組み込んだ全リンの FIA 定量法を開発した²⁸。4W の低圧水銀ランプに内径 0.5mm、外径 1.58mm、長さ 5m の PTFE チューブを直接巻きつけ、周りを反射鏡で覆った紫外線照射装置に、酸化分解試薬溶液 (0.5% ペル

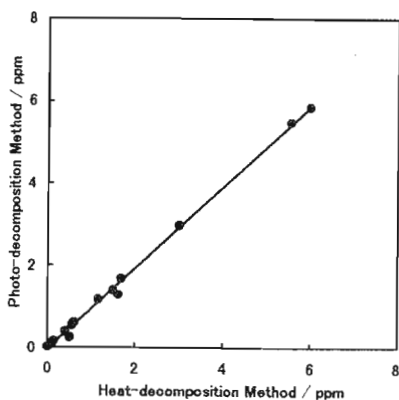


Fig.7 Correlation between the results obtained by the proposed photo-decomposition method and the heat-decomposition method

$$y=0.9797x-0.0325 (r=0.9986, n=16).$$

オキシ二硫酸カリウム+0.2M 硫酸溶液を含む試料)を流して分解を行い、検出にはモリブデンブルー吸光光度法が用いられた。Fig.6に紫外線の効果について検討した結果を示す。トリポリリン酸や ATP 等縮合リン結合を有する化合物の加水分解が不完全ではあるが、グルコースのリン酸エステル類や AMP, ホスホン酸等はほぼ定量的にオルトリン酸に分解されている。実際に環境水中の全リンを紫外線照射/FIA により定量した値と加熱分解 (135°C, 0.5mm i.d.×10m) /FIA により定量した値を比較した結果を Fig.7 に示す。両者の相関の一次回帰式は、 $y = 0.9797x - 0.0325$ ($r = 0.9986$, $n = 16$) と良好な相関が得られている。なお、本法による定量限界は 0.001ppm と非常に高感度で、1時間当たり 20 試料の全リン定量が可能である。

3. 化学種変換/分離機能を持つデバイス

3.1 ガス拡散法

FIA とガス拡散法を組み合わせた定量法は、測定対象が化学反応により特異的に気体となり得る系に限られるため、非常に高い選択性を有する方法である。このガス拡散/FIA では測定操作も簡単で装置の小型化が可能であることなどの利点があり、有用性はきわめて高い。

ガス拡散装置としては、当初 2 枚のブロックに溝を掘り、このブロックの間にガス透過性の膜を挟み込んだユニット²⁹⁾が一般的であったが、細工が困難で液漏れなどの問題もあった。Aoki らは多孔質 PTFE チューブを接着剤で接合したガス拡散ユニットを製作し、アンモニア³⁰⁾や残留塩素³¹⁾、オゾン³²⁾の定量に応用した。Nagashima ら³³⁾も硝酸、亜硝酸の定量に応用している。多孔質 PTFE チューブは平面膜を用いる方法に比べて有効透過面積が大きく、またチューブの長さを簡単に調節できるという利点がある。しかし、各部分の接合に接着剤を使用することから製作が煩雑となり、液漏れや接着材質からの成分の溶出による汚染の問題も指摘されている。Motomizu らは接着剤を使わないガス拡散ユニットを開発しアンモニア³⁴⁾、総炭酸³⁵⁾、残留塩素³⁶⁾、ヨウ素(過酸化水素及びグルコース)³⁷⁾の定量に応用した。さらに、ユニット内のデッドボリュームによりピークがブロードになったり、テーリングが大きくなるという従来法の欠点を改良したガス拡散装置を新たに開発した³⁸⁾。

3.2 ガス拡散：アンモニアの定量

アンモニア態窒素は水質汚濁の有力な指標のひとつとされている。FIA によるアンモニア態窒素の定量においてはネスラー法³⁹⁾やインドフェノール吸光光度法^{40,41)}が一般的であるが、使用する水銀、フェノールの廃液処理や感度不足の問題がある。アンモニアのガス拡散/FIA としては Van Son ら²⁹⁾や Aoki ら^{30,42)}の報告がある。Motomizu ら³⁸⁾は高感度な変色指示薬を検討してチモールブルーを用いる吸光光度法を確立した。山根ら⁴³⁾は同様のガス拡散装置を用いて、インドフェノール吸光検出系に導き、高感度化を達成した。しかし、多孔質 PTFE チューブは、繰り返し使用により気体の透過効率の変動や透過機能の低下及び再活性化に要する時間と手間等の問題は解決されていなかった。

樋口ら⁴⁴⁾はこれらの問題点を解決するた

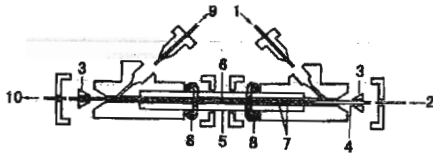


Fig.8 Gas diffusion unit⁴⁴
 1, carrier solution inlet; 2, reagent solution inlet; 3, ferrule; 4, porous PTFE tubing; 5, glass tube; 6, reagent solution; 7, carrier solution; 8, O-ring; 9, carrier solution to the waste; 10, reagent solution to the spectrophotometer.

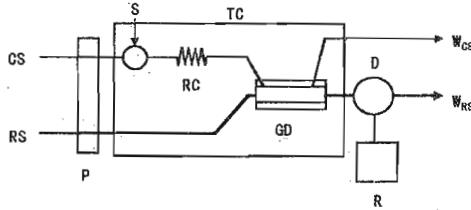


Fig.9 Schematic diagram of a flow system for the determination of ammonium ion
 CS, carrier solution (0.02M NaOH); RS, reagent solution (2.5×10^{-4} M Cresol Red, 4×10^{-4} M HEPES, pH7.0); P, double-plunger micro pump (each flow rate: 0.5 ml min^{-1}); S, sample injector (200 μl); RC, reaction coil (0.5mm i.d. \times 1m); GD, gas diffusion unit; TC, temperature-controlled bath (40°C); D, detector (550nm); R, recorder; W_{CS} , carrier solution waste; W_{RS} , reagent solution waste.

めに、新たにガス拡散ユニット部での気体の透過効率を長期間維持させるための機能を備え、更に温度コントロールの容易な小型恒温槽内に組み込んだガス拡散システムを製作した。このシステムで用いられたガス拡散ユニット部は、取り扱いの操作性などの向上のために、新たな改良を施し、デッドボリュームの減少と組み立ての容易さを向上させた。Fig.8 にユニットの概略構造を示す。外管をガラス管とし、フェラールとO-リングを用いて組み立てを容易にし、かつデッドボリュームが小さくなるように設計された。ガラス管(内径 2.1mm, 外径 6mm)の中に多孔質 PTFE チューブ(内径 1.0mm, 外径 1.9mm)を挿入した二重管構造になっており、多孔質 PTFE チューブの内側を検出反応試薬が流れ、多孔質 PTFE チューブとガラス管の間をキャリアー溶液が流れる構造である。ガス拡散ユニットとの接続及び他の流路には内径

0.5mm, 外径 1.58mm の PTFE チューブを用いている。

気体の透過効率は一般に温度の上昇とともに増加し、温度の変動に極めて鋭敏である。従って、透過効率を一定に保ち、安定した再現性の良い測定を行うためには、一定温度で測定を行わなければならない。また、従来のガス拡散ユニットでは長時間の連続使用あるいは使用を重ねることにより、多孔質 PTFE チューブの透過効率が低下する。そのため、ガス透過膜の活性化、すなわちメンブランチューブの再生が必要で、それに伴う煩雑な操作が問題となっていた。しかし、この問題は測定終了後、ガス拡散ユニット内に残留する溶液を強制的に排除して、使用するとき以外は、水と接触しない状態にしておくことで、高いガス透過効率が維持できる。その操作が簡単に行える工夫が施され、問題は解決された。

アンモニウムイオン定量のためのガス拡散/FIA フローダイアグラムの例を Fig.9 に示す。試料 200 μl は六角切り替えバルブを用いてキャリアー溶液中に注入される。40°C に保たれた空気恒温槽の中に納められた反応コイル(内径 0.5mm, 長さ 1m)を通過する間に、キャリアー溶液に含まれる水酸化ナトリウムと反応して、試料中に存在するアンモニウムイオンはアンモニアに変化する。気体状のアンモニアは、多孔質 PTFE チューブを連続的に透過して、クレゾールレッド(酸型)を含む検出試薬溶液の流れに吸収され、試薬溶液の pH が上昇して吸光度変化を与える。このときの 550nm での吸光度を測定して定量を行う。検量線は 0~10 及び 0~1.0ppm の範囲で良好な直線性を示し、2ppm の標準液を用いた 10 回測定による相対標準偏差は 0.45%, 検出限界は 0.01ppm であった⁴⁴。

3.3 ガス拡散：総炭酸の定量

近年、重大な環境問題のひとつとして大気中の二酸化炭素濃度の増加による温暖化現象

がある。地球上での二酸化炭素循環には、大気-海水間における相互溶解平衡が重要な役割を果たしている。これに関連して環境水中に含まれる二酸化炭素量を正確に測定するための簡便な方法の開発が強く望まれている。Motomizu らは、前述の PTFE チューブ型拡散ユニットを用いて二酸化炭素を定量するシステムを開発した³⁸。キャリアー溶液として 0.0018M 硫酸を用い、気体状二酸化炭素の吸収試薬溶液として 1.25×10^{-4} M クレゾールレッドと pH9.0 の炭酸緩衝液の混合溶液を用い、酸型指示薬の吸光度の増加を 410nm で測定する。検量線は 10^{-6} M~ 1.2×10^{-5} M の範囲で直線性を示し、1 時間当たり 15 試料の分析が可能であった。検出限界は 5×10^{-6} M であり、水道水(4.7×10^{-4} M)を 10 回注入したときの相対標準偏差は 0.8%であった。

4. 分離 濃縮機能を持つデバイス

4.1 溶媒抽出法

水溶液から疎水性の物質を分離、濃縮する方法として溶媒抽出法は非常に有効な手段である。この操作をバッチ式マニュアル法で行う場合には操作が煩雑で、多大な時間と労力を要する。また最近ではハロゲン系有機溶媒やベンゼン類の使用も制限されており、この他大部分の有機溶媒も人体に有害である。FIA ではセグメンターと水相、有機相の相分離器を流路に組み込めば、溶媒抽出操作を簡単かつ自動的に行うことができる。しかも準閉鎖系で一連の操作が行われ、使用する溶媒量も少なく、実験者や室内周辺環境への負荷も大幅に低減化される。FIA でのこれらの利点を生かすべく溶媒抽出/FIA は FIA 創世のころから活発に検討されてきた^{45,46}。しかし、内径 0.5~1.0mm の PTFE チューブ内での濃縮効果、抽出率、相分離、有機相の回収等においてバッチ操作法と異なる問題が生じた。この解決こそが抽出/FIA の高機能化につながる。

FIA の場合、バッチ操作のように振り混

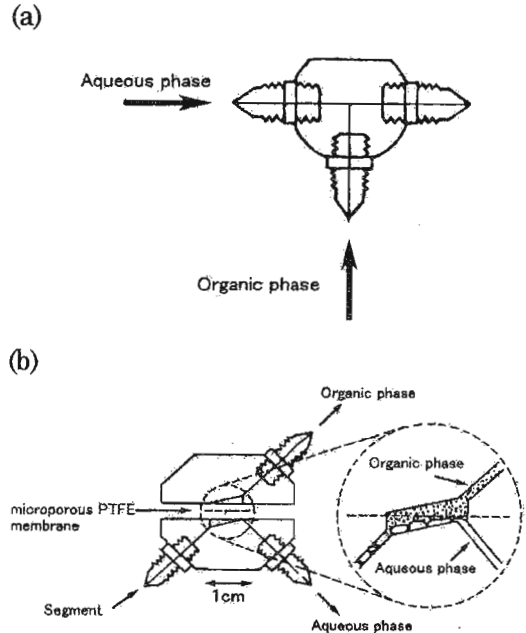


Fig.10 Segmentor(a) and phase separator(b) used for solvent extraction /FIA.

ぜによる液液界面積の増大に伴う物質移動の促進効果は望めないため、短時間で限られた接触界面積で抽出率の向上と有機相の回収率の向上のために高効率なセグメンターと相分離器が必要となる。Motomizu ら⁴⁷は、種々のセグメンターと相分離器を製作し、モリブドリン酸とマラカイトグリーンのイオン会合体をベンゼン-MIBK 混合溶媒へ抽出する系を用いてその性能を比較検討した。この溶媒抽出/吸光度定量法ではリンの検出限界は 0.1ppb であった。

相分離器としては、最初は水相と有機相の比重差を利用するものが考案された。その後、Kawase ら⁴⁸により、有機相のみ浸透でき、水相を通さない性質を有する多孔性 PTFE 膜を用いる相分離器が提唱され、以後この多孔質 PTFE 膜を用いる手法が主流となり、種々のセパレーターが考案された^{49,50}。一方、多孔質 PTFE チューブを用いる分離器も報告されている^{51,52}。宮路ら⁵³は孔径 0.5 μ m の PTFE 膜及び孔径 2 μ m の PTFE チューブを利用した分離器を製作し、有機相の回収率やピーク形状に及ぼす影響を詳細に検討し

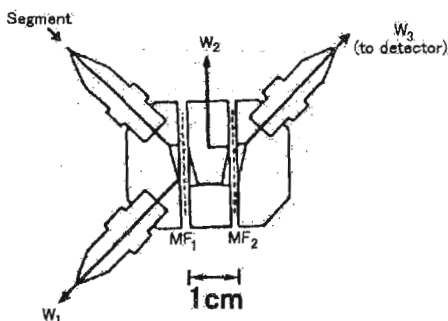


Fig.11 Double-membrane phase separator⁵⁴
 W_1 , W_2 , aqueous phase waste; W_3 , organic phase; MF_1 , MF_2 , microporous PTFE membrane.

た。現在、一般に良く用いられているセグメンターと相分離器の構造を Fig.10 に示す⁴⁷。

溶媒抽出/FIA において最も注意すべきことは、測定しようとする相への水あるいは有機溶媒の混入である。例えば、有機相への水の混入はフローセルにも付着し測定時に大きなノイズを発生し、測定を不能にする。このような場合、流路やフローセルをエタノールやアセトンなどの極性溶媒で洗浄した後、抽出溶媒で再び洗浄する必要がある。この操作は一見簡単そうであるが、かなり煩わしい作業である。そこで水の混入を防ぐ手段として、2枚のメンブランフィルターをそれぞれ挟む相分離器が Sakai ら⁵⁴により考案された。構造を Fig.11 に示す。セグメントは相分離器内に導かれ、まず最初のフィルター(MF_1)で相分離され、膜透過した有機相は二番目のフィルター(MF_2)に到達する。 MF_1 で水相の通過がなければ問題ないが、膜が劣化したり、流路内の圧力が高まると水の通過が起こる。そのような場合、 MF_2 で分離され、純溶媒のみが検出器に導かれる。この装置はコンパクトで取り扱いも容易であり、 MF_1 の劣化などに伴って起こる水の通過に対して、早急な膜交換を要さず、長時間の使用が可能である。また、顕著な拡散は見られず、安定でシャープなピークが得られる。

4.1.1 陰イオン界面活性剤の定量

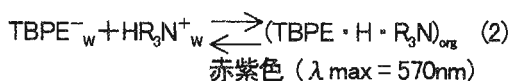
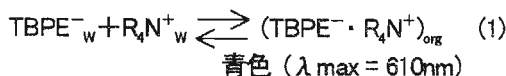
陰イオン界面活性剤の定量法としては、陽イオン染料とのイオン会合体を有機溶媒に抽出し、吸光度定量する方法が広く採用されている。JIS K0102(1993)においてはメチレンブルー-クロロホルム抽出法やエチルパイオレット-トルエン抽出法が採用されている。FIA においても同様のイオン会合体抽出法の応用が検討された。抽出率の向上を目的として新たにアゾ系陽イオン染料を合成し、そのイオン会合体をクロロホルム抽出する方法⁵⁵、メチレンブルー、トリフェニルメタン系染料を対陽イオン染料として、生成するイオン会合体を *o*-ジクロロベンゼンに抽出する方法^{56,57}が検討された。これらの抽出 FIA を用いて河川水中に存在する微量($10^{-7} \sim 10^{-6}M$)の陰イオン界面活性剤が定量された。

4.1.2 カリウム、ナトリウムの定量

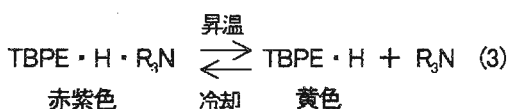
アルカリ金属及びアルカリ土類金属イオンの有機溶媒への抽出では、クラウン化合物との間で形成される錯陽イオンと陰イオン染料とのイオン会合体生成反応が一般に利用されている。カリウムイオンの定量⁵⁸では、クラウン化合物として 18-クラウン-6、陰イオン染料として 4-(4-ジエチルアミノフェニルアゾ)-2,5-ジクロロベンゼンスルホン酸塩をそれぞれ用い、ベンゼン:モノクロロベンゼン(1:1)混合溶媒に抽出する方法が開発された。この方法によれば検出限界は $10^{-6}M$ で、 $5 \times 10^{-4}M$ までのナトリウムイオンの共存でも妨害しない。また、内径 1mm、長さ 20cm の PTFE チューブにシリカゲルを充填して作製したカラムをオンラインに組み込み、ナトリウム、カリウムをベンゾ 18-クラウン-6 錯体として分離した後、前述の陰イオン染料とイオン会合体を形成させ、ベンゼン:モノクロロベンゼン(1:1)混合溶媒に抽出し、相分離を行い有機相の 450nm での吸光度を測定してナトリウム、カリウムを同時定量する方法も報告されている⁵⁹。

4.1.3 サーマクロミズム現象を利用する 4 級アンモニウムイオンの定量

4 級アンモニウムイオンやアミン類はテトラプロモフェノールフタレインエチルエステル(TBPE)とイオン会合体を生成し、有機溶媒に抽出される。この抽出種の吸光度を測定することにより、これらを高感度定量することができる。TBPE によるイオン会合体生成反応は次式で示され、



(1), (2)式で示されるアンモニウムイオンは両者とも TBPE とのイオン会合体の抽出率は高い。しかし、両者の λ_{max} が大きく離れていないことから両者が共存する場合相互に妨害する。しかし、吸光度測定時に温度を上げるとアミン類とのイオン会合体は、式(3)のように平衡が右にずれて 610nm 付近の吸光度は減少し 45°C 以上ではほぼ 0 となる。このとき 4 級アンモニウムイオンの会合体は温度の影響をほとんど受けない。



この反応系を FIA に導入することにより、4 級アンモニウムイオンの選択的、高感度かつ迅速な定量法が開発された。Sakai らは温度制御機能付きフローセルを新規に開発し、通常の FIA 検出器に装着してこのサーマクロミズム反応を有効に利用して、製剤中の 4 級アンモニウムイオン及びアミン類の分別定量を行った⁶⁰⁻⁶²。

4.2 クロマトメンブランセル⁶³

溶媒抽出をオンライン FIA で行うために

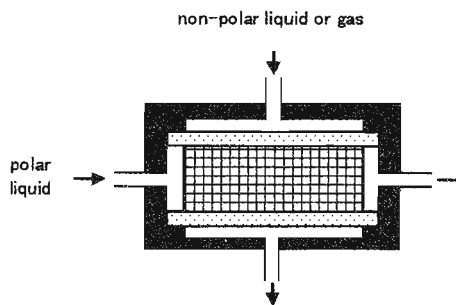




Fig.12 Chromatomembrane cell⁶³

 Microporous PTFE membrane
 Biporous PTFE block..

は、互いに混ざり合わない 2 相の効率の良い混合、物質の移動 (抽出)、最後に 2 相の正確な分離の 3 段階の制御が必要となる。そのデバイスとして、各種のセグメンターや相分離器が開発・改良され実用分析にも利用されている。一方、この混合、抽出、分離の操作をひとつのデバイスで同時に遂行することを目的として、分配クロマトグラフィーとメンブラン技術をカップリングさせた新しいタイプのデバイス「クロマトメンブランセル」が Moskvin らにより考案された^{64,65}。クロマトメンブランセルの基本構造は、各々役割の違う 2 種類の細孔径(ポアサイズ)を持つ疎水性 PTFE で構成されていて、セグメンター、抽出コイル、相分離器という従来の溶媒抽出/FIA に必要とされているパーツの機能を、このセル 1 個の中で行うことができるというものである。クロマトメンブランセルに導入された極性溶媒は、疎水性 PTFE ブロック中の 2 種類のポアサイズのうちマクロポア部(平均孔径 200 μm)で保持され、非極性溶媒や気体状物質はマイクロポア部(平均孔径 0.3 μm)に保持される。この物性がクロマトメンブランセルの機能の原点である。セルの体積は非常に小さい(約 3 cm^3)にもかかわらず、その内部構造から相対接触面積は 2 m^2 と大きい。Fig.12 にクロマトメンブランセルの構造及び溶媒の流れの方向を

示す。疎水性 PTFE ブロックの片側(Fig.12の垂直方向)の両端は多孔質 PTFE 膜でカバーされており、非極性溶媒はこの多孔質 PTFE 膜を通過して垂直方向に流れる。一方、水などの極性溶媒はこの膜を通過できないので水平方向に流れる。実際に FIA の流路にクロマトメンブランセルを組み込んで、従来の溶媒抽出/FIA とほぼ同様な連続分離システムとして利用することが可能である。一方、極微量成分の定量においては、前濃縮操作が効果的で、抽出溶液の流れを止めて、反応試薬を含む試料溶液のみを連続的にセルに導入して、目的成分または目的成分の誘導体をセル内部に濃縮した後、抽出溶液の送液を開始して検出する方法がある(ストップフロー法)。これにより、環境水中の微量陰イオン界面活性剤の定量が行なわれている⁶⁵⁾。

また、クロマトメンブランセルでは、気体試料を直接 FIA システムに導入して濃縮・捕集定量することができる。非極性溶媒の代わりに気体試料を流し、水溶液に直接濃縮することができる。この場合は、疎水性 PTFE ブロックのマクロポア部に気体吸収液を保持させておき、これに気体試料を連続的に導入する。このとき、吸収される気体成分は吸収液に移動され、濃縮・抽出が同時に行なわれる。この後吸収液はポンプで送液され、FIA 検出系に導かれる。検出法としては IC、HPLC、GC 系が利用でき、多種多様な気体成分の定量が可能である。この手法は実際に、IC 検出による窒素酸化物⁶⁷⁾やイオン電極を検出器とするアンモニア⁶⁸⁾、GC に導く VOC の定量⁶⁹⁾などに利用されている。

5. 化学反応促進機能を持つデバイス

5.1 硫酸イオンの定量

一般に沈殿生成反応を FIA に応用しようとするとき、感度が低いこと、分析の再現性の低下による信頼性の欠如、定量範囲が狭いことなどの問題を伴う。この主な原因は、一般に低濃度領域では沈殿生成反応が遅いこと、溶解度積に達しない低濃度領域では沈殿を生

じないこと及び分散による反応溶液内での不均一平衡が原因と考えられる。硫酸イオンのバッチ式吸光度定量法としては、クロム酸バリウム⁷⁰⁾又はクロラニル酸バリウム⁷¹⁾を固体試薬として用いるのが一般的である。しかしながら、これらの反応は基本的に固体-溶液間の反応であり、しかも硫酸バリウムの沈殿生成を伴うため、迅速、簡便な定量には不適當である。

Tōei らは、この硫酸イオン定量のための固体-溶液間の反応を FIA に応用する際、新たに設計した反応槽を系内に導入した⁷²⁾。この反応槽により、固体-溶液間の反応効率は向上したが、槽内での試料の分散が大きくなること及び試薬自身の感度が低いことなどが原因で十分な分析感度の向上にはつながらなかった。

最近、水試料中の硫酸イオン定量のための固体試薬を充填した反応カラムが考案された。Ueno らはクロラニル酸バリウムと分級された再生セルロースビーズを混合したものを充填したカラムをオンラインに導入した⁷³⁾。この方法では試料中の硫酸イオンが固体試薬であるクロラニル酸バリウムと反応して硫酸バリウムを生成するとき、赤紫色のクロラニル酸が溶出し、その色調の変化を定量に利用する。一方、Sakuragawa ら⁷⁴⁾はクロム酸バリウム粉末を充填したオンライン反応カラムを FIA 流路に導入した。これらの反応カラムを用いた場合の検出限界は 0.5ppm であった。

Kondo ら⁷⁵⁾はスルホナゾIII又はジメチルスルホナゾIII(DMSIII)のバリウム錯体を用いる硫酸イオン定量用 FIA を報告した。この反応系は検出試薬に高感度キレート試薬を用いる点と反応が均一溶液系であることに特徴がある。さらに Nakashima ら⁷⁶⁾はこのバリウム-DMSIII系で定量限界 0.2ppm という高感度な方法を考案した。この方法では、キャリアー溶液として硫酸バリウムを飽和した水溶液を用いている。硫酸イオンとバリウム-DMSIIIの反応において硫酸バリウムの

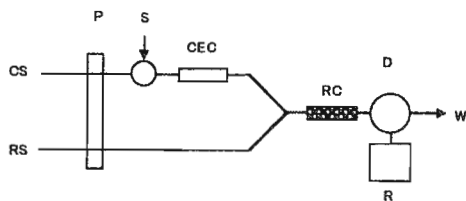


Fig.13 Schematic FIA diagram for the determination of sulfate ion

CS, carrier solution (H_2O); RS, reagent solution (barium-DMSIII); P, double-plunger micro pump (each flow rate : 0.75ml min^{-1}); S, sample injector ($200\mu\text{l}$); CEC, cation exchange resin column ($2\text{mm.i.d.} \times 10\text{cm}$); RC, $BaSO_4$ -immobilized glass beads reactor column ($2\text{mm.i.d.} \times 10\text{cm}$); D, detector (662nm); R, recorder; W, waste.

存在がこの反応の促進剤となることを示している。つまり、キャリアー溶液中に存在しているわずかな硫酸バリウムが、反応により新たに生成する沈殿の“核”として機能していることを示している。この点がキーポイントではあるが、実際の測定においては、硫酸バリウム濃度(約 1ppm)以下の濃度領域の試料では、負のピークが生じる。

5.2 硫酸バリウム固定化反応カラムによる硫酸イオンの定量

Higuchi ら⁷⁾は、硫酸バリウム沈殿生成反応を促進させる機能を有する新たなオンライン反応カラムを開発した。前述の硫酸バリウムが沈殿生成反応の核となることに注目して、硫酸バリウムをキャリアー溶液中ではなく、“流路に固定された反応場”に保持することを検討した。このような考えを基に作製した反応カラムを組み込んだ硫酸イオン定量用のフローダイアグラムを Fig.13 に示す。反応カラムは次のように作製した。ガラスビーズ ($0.4\text{mm} \phi$) を水酸化ナトリウム水溶液で処理した後、硫酸バリウムの懸濁液と混合する。一晩放置後、デカンテーションにより水で洗浄し、過剰の硫酸バリウムを除き、水浴上で乾燥してガラスビーズ表面に硫酸バリウムを固定化し、これを内径 2mm 、長さ 10cm のガラス管カラムに充填した。このようにして作製したカラムを流路に組み込む。

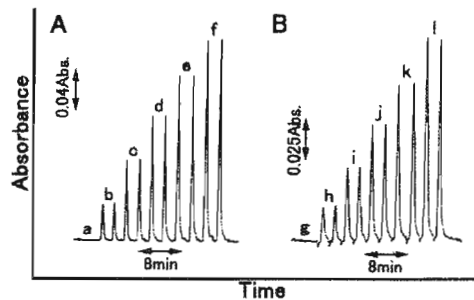


Fig.14 Flow signals for the calibration graphs of sulfate

A, sample volume, $50\mu\text{l}$;

$[SO_4^{2-}]/\mu\text{g ml}^{-1}$, a, 0; b, 2; c, 4; d, 6; e, 8; f, 10

B, sample volume, $200\mu\text{l}$;

$[SO_4^{2-}]/\mu\text{g ml}^{-1}$, g, 0; h, 0.4; i, 0.8; j, 1.2; k, 1.6; l, 2.0.

注入された試料は、まず陽イオン交換樹脂を充填したカラムを通過し、ここで試料中に共存する金属イオンが除去される。その後、試薬溶液($4.5 \times 10^{-5}\text{M}$ DMSIII, $3.15 \times 10^{-5}\text{M}$ 塩化バリウム, 80% エタノール水溶液, $\text{pH}2.8$)と混合され、反応カラムに導びかれる。このカラム内で硫酸バリウムの沈殿生成反応が進行する。このとき、反応の核としての硫酸バリウムの効果とガラスビーズを充填して混合効率を上げるリアクターとしての効果で反応効率が向上し、高感度化が達成される。この際、硫酸バリウムが生成すると同時に、錯体からバリウムが除かれた DMSIII が生成し、色調も青色から赤紫色に変色する。このときの 662nm での吸光光度度の減少を測定して定量を行う。実際のフローシグナル例を Fig.14 に示す。検出限界は 0.05ppm と高感度で、 2ppm 標準液を繰り返し注入して求めた相対標準偏差は 0.57% と再現性も良好であった。また、1 時間当たり約 30 試料の分析が可能であり、この反応カラムでは、少なくとも $3200 \sim 3500$ 試料の分析を連続して行うことができる。

6. おわりに

以上のように、前処理・反応処理のオンライン自動化を容易かつ効果的に行うことのできる FIA において、多機能デバイスとそれにふさわしい化学反応系、反応試薬系の構築、

さらには他の分析手法とのカップリングにより、総合的に化学分析の高度化を達成しようとする試みは、今後複雑化あるいは微量化、微少化する各種試料の SPARS 分析に極めて有用であると考えられる。酸化・還元機能を持つデバイス、化学種の変換機能を持つデバイス、分離濃縮機能を持つデバイス及び反応促進機能を持つデバイスとしては、本稿で紹介したもの以外にも多くの具体的デバイスが開発、改良されている。これらに加えさらに今後、新たな機能発現の可能性を持つデバイスの出現も期待して、本稿を締めくくることとする。

文 献

- 1) 大島光子: *分析化学*, 48, 315(1999).
- 2) L.Anderson: *Anal. Chim. Acta*, 110, 123(1979).
- 3) J.Ruzicka, E.H.Hansen: *Anal. Chim. Acta*, 114, 19(1980).
- 4) J.F.van Staden: *Anal. Chim. Acta*, 138, 403(1982).
- 5) S.Nakashima, M.Yagi, M.Zenki, A.Takahashi, K.Tōei: *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 319, 506(1984).
- 6) 樋口慶郎, 山崎隆治, 井上亜希子, 小川裕子: *Separation Sciences'95 講演要旨集* p101(1995).
- 7) 樋口慶郎, 後藤良三, 河島拓治, 小熊幸一, 川瀬晃, 小倉久子: *分析化学*, 印刷中(2000).
- 8) 樋口慶郎, 平野耕一郎, 前田裕行, 松田敬吾: *日本特許公開公報* 平 3-115974(1991.5.16).
- 9) R.F.Furchgott, J.V.Zawadzki: *Nature*, 288, 373(1980).
- 10) R.M.J.Palmer, A.G.Ferrige, S.Moncada: *Nature*, 327, 524(1987).
- 11) R.M.J.Palmer, S.Moncada: *Biophys. Res. Commun.*, 158, 348(1989).
- 12) Jr.J.F.Kerwin, Jr.J.R.Lancaster, P.L.Feldman: *J. Med. Chem.*, 38, 4343(1995).
- 13) L.C.Green, D.A.Wagner, J.Glogowski, P.L.Skipper, J.S.Wishnok, S.R.Tannenbaum: *Anal. Biochem.*, 126, 131(1982).
- 14) K.Higuchi, S.Motomizu: *Anal. Sci.*, 15, 129(1999).
- 15) M.J.Ahmed, C.D.Stalikas, P.G.Veltsistas, S.M.Tzouwara-Karayanni, M.I.Karayannis: *Analyst (London)*, 122, 221(1997).
- 16) R.Kuroda, T.Nara, K.Oguma: *Analyst (London)*, 113, 1557(1988).
- 17) K.Oguma, S.Kozuka, K.Kitada, R.Kuroda: *Fresenius J. Anal. Chem.*, 341, 545(1991).
- 18) 小寺孝佳, 大島光子, 本水昌二: *J. Flow Injection Anal.*, 13, 25(1996).
- 19) R.T.Edward, I.D.Mckelvie, P.C.Ferrett, B.T.Hart, J.B.Bapat: *Anal. Chim. Acta*, 261, 287(1992).
- 20) K.Takeda, K.Fujiwara: *Anal. Chim. Acta*, 276, 25(1993).
- 21) S.Motomizu, M.Sanada: *Anal. Chim. Acta*, 308, 406(1995).
- 22) 伊永隆史, 岡田公子: *分析化学*, 33, 683(1984).
- 23) 後藤正志, 西村真人, 富永隆行, 石井大道: *分析化学*, 37, 52(1988).
- 24) M.Aoyagi, Y.Yasumasa, A.Nishida: *Anal. Chim. Acta*, 241, 229(1988).
- 25) A.Henriksen: *Analyst (London)*, 95, 601(1970).
- 26) J.T.H.Goossen, J.G.Kloosterber: *Anal. Chem.*, 501, 707(1978).
- 27) I.D.Mckelvie, B.T.Hart, T.J.Cardwell, R.W.Cattrall: *Analyst (London)*, 114, 1459(1989).
- 28) K.Higuchi, H.Tamanouchi, S.Motomizu: *Anal. Sci.*, 14, 941(1998).
- 29) M.Van Son, R.C.Schothorst, G.Den Boef: *Anal. Chim. Acta*, 153, 271(1983).
- 30) T.Aoki, S.Uemura, M.Munemori: *Anal. Chem.*, 55, 1620(1983).
- 31) T.Aoki, M.Munemori: *Anal. Chem.*, 55, 209(1983).
- 32) 青木豊明, 大黒宏司: *分析化学*, 38, 347(1989).
- 33) K.Nagashima, M.Matsumoto: *Anal. Chem.*,

- 57, 2065(1985).
- 34) 桑木亨, 秋庭正典, 大島光子, 本水昌二: *分析化学*, **36**, T81(1987).
- 35) 桑木亨, 桐榮恭二, 秋庭正典, 大島光子, 本水昌二: *分析化学*, **36**, T132(1987).
- 36) S.Motomizu, T.Yoden: *Anal. Chim. Acta*, **261**, 461(1992).
- 37) M.Oshima, M.Sanada, S.Motomizu: *J. Flow Injection Anal.*, **9**, 1(1992).
- 38) 真田昌宏, 大島光子, 本水昌二: *分析化学*, **42**, T123(1993).
- 39) F.J.Krug, J.Ruzicka, E.H.Hansen: *Analyst(London)*, **104**, 47(1976).
- 40) J.W.B.Stewart, J.Ruzicka, H.Bergamin F^o, E.A.Zagatto: *Anal. Chim. Acta*, **81**, 371(1976).
- 41) H.Muraki, K.Higuchi, M.Sasaki, T.Korenaga, K.Tōei: *Anal. Chim. Acta*, **261**, 345(1992).
- 42) 青木豊明, 植村哲, 宗森信: *分析化学*, **33**, 505(1984).
- 43) 藤田光徳, 小野昭紘, 金子真也, 山根兵: *分析化学*, **44**, 725(1995).
- 44) 樋口慶郎, 井上亜希子, 坪井知則, 本水昌二: *分析化学*, **48**, 253(1999).
- 45) B.Karlberg, S.Thelander: *Anal. Chim. Acta*, **98**, 1(1978).
- 46) H.Bergamin F, J.X.Medeiros, B.F.Reis, E.A.G.Zagatto: *Anal. Chim. Acta*, **101**, 9(1978).
- 47) S.Motomizu, M.Oshima: *Analyst(London)*, **112**, 295(1987).
- 48) J.Kawase, A.Nakane, M.Yamanaka: *Anal. Chem.*, **51**, 1640(1979).
- 49) T.Imasaka, T.Harada, N.Ishibashi: *Anal. Chim. Acta*, **129**, 195(1981).
- 50) 今任稔彦, 石橋信彦: *J.Flow Injection Anal.*, **1**, 23(1984).
- 51) 三瀬皓愛: *J.Flow Injection Anal.*, **5**, 87(1988).
- 52) 本水昌二: *J.Flow Injection Anal.*, **5**, 71(1988).
- 53) 宮路敏彦, 日比清勝, 酒井忠雄: *分析化学*, **39**, 73(1990).
- 54) T.Sakai, Y.S.Chung, N.Ohno, S.Motomizu: *Anal. Chim. Acta*, **276**, 127(1993).
- 55) S.Motomizu, Y.Hazaki, M.Oshima, K.Tōei: *Anal. Sci.*, **3**, 265(1987).
- 56) S.Motomizu, M.Oshima, T.Kuroda: *Analyst(London)*, **113**, 747(1988).
- 57) 本水昌二, 是近勝彦: *分析化学*, **38**, T143(1989).
- 58) S.Motomizu, M.Onoda, M.Oshima: *Analyst(London)*, **113**, 743(1988).
- 59) 本水昌二, 米田直生, 岩知道正: *分析化学*, **37**, 642(1988).
- 60) T.Sakai, N.Ohno: *Anal. Sci.*, **7**(Supplement), 297(1991).
- 61) T.Sakai, Y.H.Gao, N.Ohno: *Anal. Chim. Acta*, **255**, 135(1991).
- 62) T.Sakai: *Analyst(London)*, **117**, 211(1992).
- 63) J.Simon, L.N.Moskvin: *Talanta*, **49**, 985(1999).
- 64) L.N.Moskvin, J.Simon: *Talanta*, **41**, 1765(1994).
- 65) L.N.Moskvin: *J.Chromatogr. A.*, **669**, 81(1994).
- 66) L.N.Moskvin, J.Simon, P.Löffler, N.V.Michailova, D.N.Nicolaevna: *Talanta*, **43**, 819(1996).
- 67) H.Erxleben, L.N.Moskvin, T.G.Nikitina, J.Simon: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **361**, 324(1998).
- 68) P.Löffler, J.Simon, A.Katruzov, L.N.Moskvin: *Fresenius J. Anal. Chem.*, **352**, 613(1995).
- 69) L.N.Moskvin, O.V.Rodinkov: *J. Chromatogr. A.*, **725**, 351(1996).
- 70) I.Iwasaki, S.Utsumi, T.Tarutani, T.Ozawa: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **30**, 847(1957).
- 71) R.J.Bertolacini, J.E.Barney: *Anal. Chem.*, **29**, 281(1957).
- 72) J. Tōei: *Analyst(London)*, **112**, 1067(1987).
- 73) K.Ueno, F.Sagara, K.Higashi, K.Yakata, I.Yoshida, D.Ishii: *Anal. Chim. Acta*, **261**,

- 241(1992).
- 74) A.Sakuragawa, S.Nakayama, T.Okutani:
Anal. Sci., 10, 77(1994).
- 75) O.Kondo, H.Miyata, K. Tōei: *Anal. Chim.
Acta*, 134, 353(1982).
- 76) S.Nakashima, M.Yagi, M.Zenki, M.Do,
K. Tōei: *Fresenius ZAnal. Chem.*, 317,
29(1984).
- 77) K.Higuchi, S.Motomizu: *Abstract of
ICFIA99*, p107(1999).

(Received November 30, 1999)



樋口慶郎



本水昌二