

逆ミセルを用いたフローインジェクション化学発光分析法

藤原 照文

広島大学大学院理学研究科 〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

A flow injection chemiluminescence method for trace analysis using a reversed micellar system

Terufumi FUJIWARA

Department of Chemistry, Graduate School of Science, Hiroshima University,
1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8526, Japan

A flow injection method based on the combination of on-line extraction with reversed micellar mediated chemiluminescence (CL) detection has been developed for trace analysis of aqueous samples. The flow procedure involves solvent extraction of analytes from aqueous solutions, followed by membrane phase separation, and subsequent CL detection using a reaction of extracted species with luminol in a reversed micellar solution. The reversed micellar interface may play an important role in immediate conversion of the extracted species into CL-active species, which occurs upon mixing directly with the reverse micelles in a flow cell of the CL monitor. This technique provides an effective means to improve selectivity in CL analysis and thus the problem of interference is reduced or eliminated.

1. はじめに

フローインジェクション分析法 (FIA) は、その装置化が容易で、しかも安価であること、その取扱も簡便で、少量の試料と試薬を用いて高精度の定量が迅速に行えること、さらに自動化の容易さなどの特長をもつことは、周知の通りであり、現在幅広く利用されている。また、そのシステムの小型化の可能性もあるので、最近注目されつつある“on site”でのモニタリングやオンラインでの分析には最適である。

ところで、FIA を用いて高感度定量を行うには検出手段が非常に重要となる。最近の精巧な分析装置は、その制御の自動化が進み高感度かつ

高選択的など高性能ではあるが、高価でしかも大型であり、設置条件や維持管理が容易ではないので、FIA の検出部に組み入れ、フィールド等で使用するには不向きである。一方、古くから知られている化学発光 (CL) 法は、化学分析への一般的な使用は可視・紫外あるいは蛍光分光法に比較してまだなお少ないが、感度が高く、検量範囲が広いという特長をもつことから微量分析において価値のあることが認められてきた。また、その装置化に要求される主な構成要素は極めて少ない。さらに、一般に CL 反応は速いので迅速測定が可能である。従って、CL 法は上記のような FIA の特長を損なわないという点で、

その検出部に適した方法である。ところが、CL法は水溶液系を通常使用するので、有力な分離手段の一つである溶媒抽出法と組み合わせることは困難¹⁾であった。そこで、この難点を克服するために、逆ミセル中でのCL反応を活用することを着想し、両法を直接結合することを可能にした。さらに、その抽出操作をオンライン化して迅速かつ簡便で選択的な高感度CL分析法を構築した。現在、逆ミセルがもつ特異機能を用いたフローインジェクションCL (FI-CL) 分析法の進展をめざすとともに、特にその界面のマイクロ環境を利用した反応場の設計と制御を行うための基礎的研究を系統的に進めている。

CLに関する詳細な解説について多くの総書²⁻⁶⁾が出版され、逆ミセルに関しても詳説⁷⁻¹²⁾されている。またFIAの基本的な原理や装置の詳細については多くの優れた成書¹³⁻¹⁷⁾や総説¹⁸⁻²⁰⁾がある。しかし、FIA法において逆ミセルを用いた研究例は現在まだ少ないのが実状で、本稿では、逆ミセルの特異性、逆ミセル界面での物質移動において観測された特異な挙動について概観した後、それを利用したFI-CL分析法について、我々の研究例を中心に概説する。

2. 逆ミセルの特異なマイクロ環境

逆ミセルは、極性の極めて低い有機溶媒中に界面活性剤を用いてわずかの水を分散させることによって形成され、Fig. 1のように“water pool”と称されるミセル内殻の水相側に界面活性剤の極性基を向け、その疎水基を外側のバルク有機相に配向させた特異な構造を有する。その界面活性剤に対する水のモル濃度比 ($R = [\text{H}_2\text{O}]/[\text{界面活性剤}]$) が低く、通常バルク状態の水の比率が比較的低いミセルは構造的に界面領域が主体と見なすことができる。そこで、それを特に逆ミセルと称し、マイクロエマルジヨ

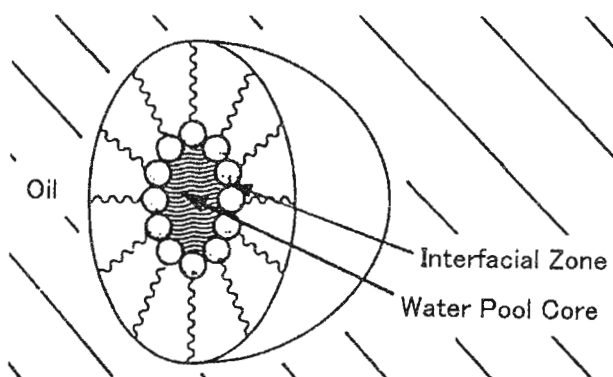


Fig. 1 Schematic representation of a reverse micelle.

ンとは区別する研究者^{6,7)}もいる。また、その構造的な特異性から生体膜の界面や酵素の反応活性中心などと類似した環境をもつマイクロ反応場^{8,9)}であると考えられている。逆ミセル系は複雑で、反応制御などにおいて考慮すべきパラメータが多いという難点があるが、そのような特異な集合形態をとることで、生体系での反応場などに見られるように、均一媒体では不可能な化学制御が可能になるなど、潜在的な能力を期待することができる。

逆ミセルを形成する駆動力は界面活性剤分子同志の双極子-双極子相互作用であると考えられているが、そこに水が共存すると、その形成能は著しく高まる。反応場としての環境については、そのwater poolの構造とそこに存在する水の性質に関する研究が最も多く、蛍光寿命、NMR、赤外・ラマン分光など、種々の測定法¹¹⁾が用いられている。その構造としては、ミセル界面付近の水相とその内側の芯にあたる水相という二つの領域からなる単純なモデルが、陰イオン性界面活性剤²¹⁾と陽イオン性界面活性剤²²⁾のいずれの逆ミセルに対しても提唱され、最も広く受け入れられている。また、その水の性質としては、界面付近の水相には、界面活性剤の極性基に強く配向し、並進や回転など動きが強く制限されている“bound”状態の水分子が局在してい

ると推測されている。そのため、この水相は高い粘性をもち、誘電率が低く、水分子同士の水素結合によるネットワークはほとんど存在しない。これに対して“free”状態の水分子が、より深い芯側の領域に存在し、それは通常バルク状態の水に類似していると考えられている。さらに三つ目の領域として、その界面から1~2分子層あるいは界面活性剤当たり1~2分子程度の水相に“trapped”状態の水分子が局在するというモデル^{7, 23)}も提案されている。このような三つの領域の存在は、分子動力学法によるシミュレーションの結果²⁴⁾からも支持された。ところで、内水相サイズすなわち water pool の半径 r_w は、その構造及び水の状態を決定づける重要なパラメータであることが指摘されているが、水の比率 R に対して、式⁸⁾ $r_w = d_r R$ で関係づけられ、最もよく用いられている陰イオン性界面活性剤である Aerosol-OT (AOT) では、 $d_r = 0.15 \text{ nm}$ と見積もられている。水の比率 R が大きくなるとともに、その water pool には“bound”状態の水分子の割合が減少し“free”状態の水分子が増すと予測され、上記の分子動力学法シミュレーション²⁴⁾からも示唆された。しかし一方、water pool 内は均一な構造で、 r_w が小さい場合は、その pool 内の界面活性剤イオンの濃度が相対的に高くなり、水-水間の水素結合が減少するが、 r_w を増大すると、通常の水溶液中に類似した水構造が形成されるようになるという考え²⁵⁾もある。

逆ミセルを化学発光や生物発光のマイクロ反応場として用いることによって、その発光強度が増幅²⁶⁻³²⁾あるいは持続³³⁻³⁵⁾するといったことが報告されている。そのような特異機能の発現に関して water pool の環境を調べる目的で、その中に環状配位子 (tmc: 1,4,8,11-tetramethylcyclam) を有する平面4配位のニッケル(II)錯体 $[\text{Ni}(\text{tmc})]^{2+}$ をプローブとして取り込ませ、その可視吸収

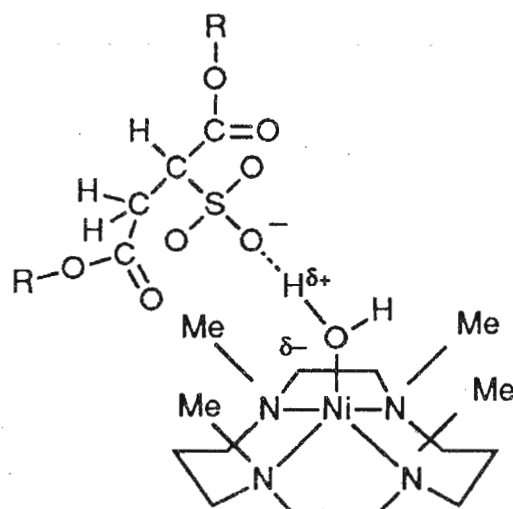
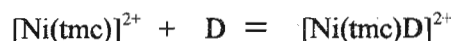


Fig. 2 Schematic representation showing the coordination of H_2O to $[\text{Ni}(\text{tmc})]^{2+}$ at a reversed micellar interface.

スペクトル測定を行った。この錯体に水分子のようなドナー性の化学種(D)が配位すると、次式の平衡によって5配位錯体のみが形成される。



AOT 逆ミセルにおいては、その界面活性剤の極性基が強い親水性であるため、 R 値を低下させると、その界面に強く引き付けられた水分子が著しく分極し、 $R=1$ 付近では水酸化物イオンの配位に類似した吸収スペクトルが得られること³⁶⁾を見いだした。この強い分極は、Fig. 2 に示すように、水分子が AOT のスルホ基への水素結合と $[\text{Ni}(\text{tmc})]^{2+}$ の中心金属への酸素配位による協同的相互作用を受けることに帰因すると推察でき、ミセル界面で“trapped”状態の水分子が生じていることを示唆している。

陽イオン性界面活性剤である塩化セチルトリメチルアンモニウム(CTAC)の逆ミセルにおいて、water pool 中の Cl^- の濃度は $R = 15$ で計算上 3.65 M となる。このとき観測された $[\text{Ni}(\text{tmc})]^{2+}$ の吸収スペクトルは、通常の水溶液において塩化テトラメチルアンモニウムを添加して Cl^- 濃度を

同程度まで上げることによって得られるスペクトル³⁷⁾とほぼ一致した。このことは、その water pool 内が濃厚な疎水性塩の水溶液とほぼ同様の状況にあることを示唆している。逆ミセルでは、その pool 内の水の比率を下げることによって Cl⁻ 濃度をさらに高めることができる。このとき、その water pool 中に塩基性条件下で塩化金酸を溶存させると、通常の水溶液中では容易に加水分解を引き起こす条件であるにもかかわらず、そのクロロ錯体の構造が保持³⁸⁾される。それ故、その塩基性 water pool を CL 反応場として用いた場合には、塩化金酸は最適の CL 活性を維持することが可能になると推察され、実際、通常の水溶液に比較して、より微量の金³⁸⁾やロジウム³⁹⁾を検出することができた。

さらに、CTAC 逆ミセルでは、その極性基は疎水性で水素結合形成能をもたないが、その界面付近に局在する対陰イオンへ水和した水分子が、“bound”状態の水としてミセルの安定化に大きく寄与していると予測される。そのことは分子動力学法シミュレーションの結果⁴⁰⁾からも指摘されている。その界面活性剤相の環境を調べるために、プローブとして可視部に強い吸収帯をもつ 5,10,15,20-テトラフェニルポルフィリンの亜鉛錯体 Zn(tpp) を用い、上記のニッケル錯体と同様な配位平衡によるスペクトル変化を観測し、バルク有機相から逆ミセル界面への分配あるいは吸着挙動⁴¹⁾について検討した。クロロホルムをバルク溶媒とする CTAC 逆ミセル溶液に Zn(tpp) を溶解すると、その吸収ピーク (419 nm) が減少し、Zn(tpp)Cl⁻ の生成による新たな吸収ピーク (433 nm) が出現する。無電荷の Zn(tpp) 錯体は water pool に取り込まれないことから、この Zn(tpp)Cl⁻ は逆ミセルの界面活性剤相で生じていると考えられる。また、R 値を増大させると、その錯体の生成割合は減少する。これは、界面

活性剤相でも Cl⁻ への水和が水の比率とともに増大し、Cl⁻ の配位が抑制されることを示唆している。また、これらのことは、その疎水的な界面相に water pool から水や陰イオンが浸み出しているという分子動力学法シミュレーションによる予測⁴⁰⁾に合致している。さらに、臨界ミセル濃度を求め、相分離モデル⁴²⁾を仮定して逆ミセル生成の自由エネルギー ΔG_m^0 を算出した。その結果から、Cl⁻ への水和が逆ミセルの安定化に寄与していることが示唆された。ところが、CTAC に対して水分子のモル比が 4 倍以上になると、 ΔG_m^0 はあまり変化しなくなる。陰イオンクラスター Cl⁻(H₂O)_n において、n > 4 では Cl⁻ への水和より水分子同志の水素結合が優先的になることが気相中で見いだされていること⁴³⁾から、その ΔG_m^0 の結果は逆ミセル界面相中の疎水的環境が気相中に類似していると仮定することによって説明できるように思われる。また、逆ミセルのバルク有機相としてクロロホルム-シクロヘキサン混合系を用いた場合との比較から、そのミセル安定化は、界面活性剤相での Cl⁻ へのクロロホルムの溶媒和⁴⁴⁾によって低下すると推測される。このような界面相での相互作用は、下記のような逆ミセル界面での物質移動においても重要な役割を果たしていると考えられる。

3. 逆ミセル界面での物質移動

上記のような特異な環境をもつ逆ミセルを反応場として用いた CL 法の分析化学的応用において、発光試薬だけではなく、過酸化水素などの分析種も逆ミセル中に分散させる場合²²⁻³²⁾には、逆ミセル界面での物質移動を考慮する必要はない。一方、その逆ミセルメディア CL 法を溶媒抽出法と組み合わせた場合には、抽出液中の分析種は逆ミセル溶液との混合時にバルク有機相から water pool へ取り込まれ、CL 反応を生じ

る。従って、ミセル界面での物質移動が必然的に起こることになる。このとき、濃縮効果とともに、特定の分析種が CL 反応に対する活性能を選択的に発現することを見いだした。

ヨウ素分子の取り込み： CTAC 逆ミセル water pool へヨウ素分子が取り込まれる過程⁴⁵⁾では、その界面相に局在する Cl^- との相互作用による I_2Cl^- の生成⁴⁶⁾ が重要になると考えられる。このとき、ヨウ素の吸収ピーク (520 nm) は瞬時に消滅し、 I_3^- の生成による 360 nm のピークが観測される。それは I_2Cl^- が水分子あるいは水酸化物イオンと反応することによって起こり、同時に生成される次亜ヨウ素酸や亜ヨウ素酸イオンがルミノールを酸化して CL が生じると推測される。しかし、分析種であるヨウ素を I_3^- として water pool 内に予め分散させておいた場合には発光が観測されないこと⁴⁶⁾ が分かった。このことは、ヨウ素がバルク有機相から water pool へ移動する時のみ、それらの酸化剤がミセル界面相で

過渡的に生成されることを示唆している。

金属キレートの取り込み： ルミノール CL に要する塩基性 water pool を有する CTAC 逆ミセルに、 $[\text{Fe}(\text{oxine})_3]$ (Fig. 3)⁴⁷⁾ や $[\text{VO}(\text{acac})_2]$ ⁴⁸⁾ を混合すると、それらの金属キレートの可視吸収スペクトル強度が瞬時に減衰することから、そのミセル界面で両キレートは容易に解離することが明らかになった。従って、このとき生成する Fe^{3+} や VO^{2+} がルミノール CL 反応に対して触媒になると推測される。一方、これらのイオンを塩基性 water pool 内に予め溶解させておくと、それらは加水分解を受け、CL 反応に対する触媒活性を失う。このことは、それらの金属キレートの解離反応は逆ミセル界面相で行われ、water pool 内では CL 触媒反応が加水分解反応と競争して起こっていることを示唆している。また、その解離の程度は R 値の増大とともに増すこと (Fig. 3)⁴⁷⁾ から、その解離平衡に対して water pool のサイズ効果⁴⁹⁾ も大きく寄与していると思なすことができる。

バナジル以外の CL 活性な遷移金属のアセチルアセトン錯体について同様な CL 測定を行い比較した結果⁵⁰⁾ を Table 1 に示す。コバルト(II)キレートの場合に弱いながらも発光が得られた

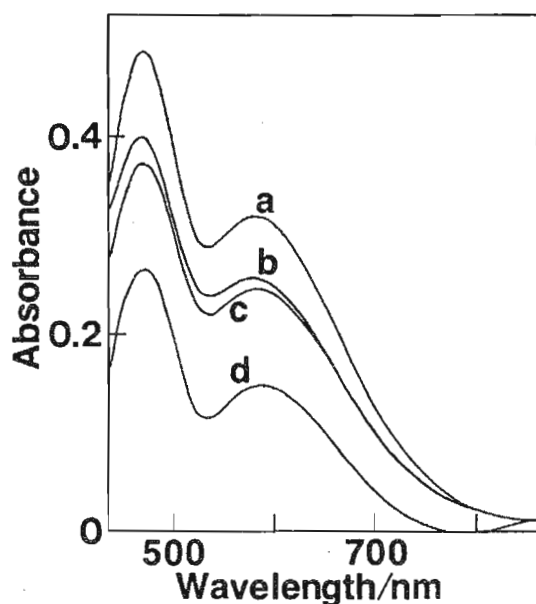


Fig. 3 Absorption spectra of $[\text{Fe}(\text{oxine})_3]$ in 6:5 (v/v) chloroform-cyclohexane mixture (a) and in reversed micellar solutions with $R = 8.97$ (b), 12.7 (c) and 23.8 (d).

Table 1 Relative CL intensity observed from the reversed micellar-mediated luminol reaction with various metal acetylacetonate complexes

Complex	Metal concentration/ ng cm^{-3}	Relative CL intensity
$\text{VO}(\text{acac})_2$	25	100
$\text{Cr}(\text{acac})_3$	1000	0.3
$\text{Mn}(\text{acac})_2$	1000	0.0
$\text{Fe}(\text{acac})_3$	1000	0.2
$\text{Co}(\text{acac})_2$	25	9.4
$\text{Ni}(\text{acac})_2$	1000	0.1
$\text{Cu}(\text{acac})_2$	1000	0.0

$[\text{luminol}] = 4.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ in CTAC/6:5(v/v) CHCl_3 -c- C_6H_{12} /water (buffered with Na_2CO_3); $R=15$.

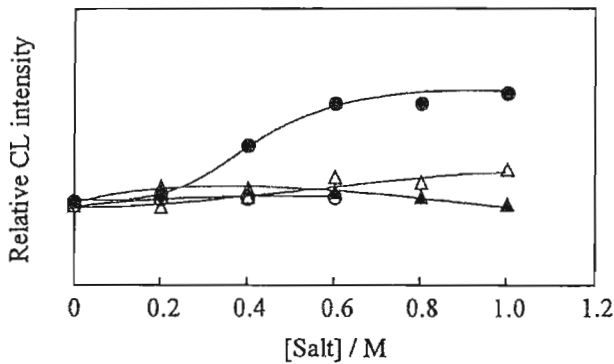


Fig. 4 Variations of the CL intensity with concentrations of Na₂CO₃ (●), Na₂SO₄ (▲), Na₂HPO₄ (○) and CH₃COONa (△) in the presence of NaOH (0.4 M) in the dispersed aqueous phase for the reversed micellar-mediated luminol reaction with [VO(acac)₂].

が、それ以外の金属では CL がほとんど観測されなかった。従って、この CL 挙動はバナジルキレートに対して特異的で非常に選択性が高いと言える。さらに、その塩基性 water pool 中に炭酸イオンが存在する場合には、pH を一定に保った条件下でも、[VO(acac)₂]によって増幅される CL 強度が炭酸塩濃度とともに増大するという特異な現象⁵⁰⁾が観測された (Fig. 4)。このような効果には、CTAC 界面活性剤の極性基に対する陰イオンの親和性⁵¹⁾が大きく寄与していると推論している。

4. FI-CL 分析法への応用

一般的に多く用いられているルミノール CL 検出法では、その発光強度に対して類似の影響を与える化学種が共存する場合、選択性に乏しく互いに干渉し合うという欠点が生じる。この問題点を克服するために、分離法と組み合わせること¹⁾が最も有効である。そのような分離手段の一つに濃縮も可能な溶媒抽出法があるが、通常使用される水溶液系での CL 法の場合、その抽出液を発光試薬の水溶液に直接混合させること

ができない。また、金属キレートとして抽出すると、そのままでは CL 反応に対する触媒作用を示さない。このようなことから、他の光分析法では容易に結合して FIA に用いられている抽出操作のオンラインシステムを直接組み合わせた FI-CL 法の報告例はなかった。我々は、そのような難点を克服するために上記のような逆ミセルメディアの特異機能を利用した。

無電荷分子の抽出系との組み合わせ：ヨウ化物イオンを無電荷のヨウ素分子に酸化してシクロヘキサンへ抽出し、その抽出液とルミノール含有の逆ミセル溶液をマーキングゾーンの流路系を用いて各々注入し、フローセル内で合流、混合させて CL 強度を測定する FIA 法⁴⁵⁾を提案した。さらに、Fig. 5 に示すように、抽出操作のオンライン化に抽出コイルを用い、続く相分離を膜セパレータで行い、逆 FIA 方式で注入したルミノール逆ミセル溶液の流路系に、その抽出液の流路を結合して定量する新規な FI-CL 分析法⁴⁸⁾を開発した。この方法では、ラインに

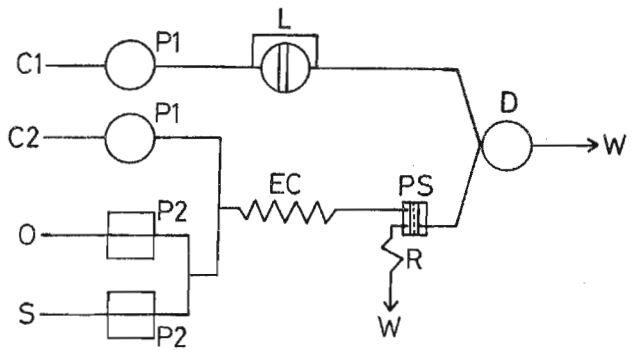


Fig. 5 Schematic diagram of the on-line oxidation-solvent extraction-reversed micellar-mediated CL flow system for the iodide determination. C1: Chloroform (3 ml/min); C2: cyclohexane (2 ml/min); O: oxidizing agent (3 ml/min); S: aqueous sample (8 ml/min); L: reversed micellar luminol reagent (20 μl); EC: extraction coil; PS: phase separator; D: detector; R: restrictor; W: waste; P1: plunger pump; P2, peristaltic pump.

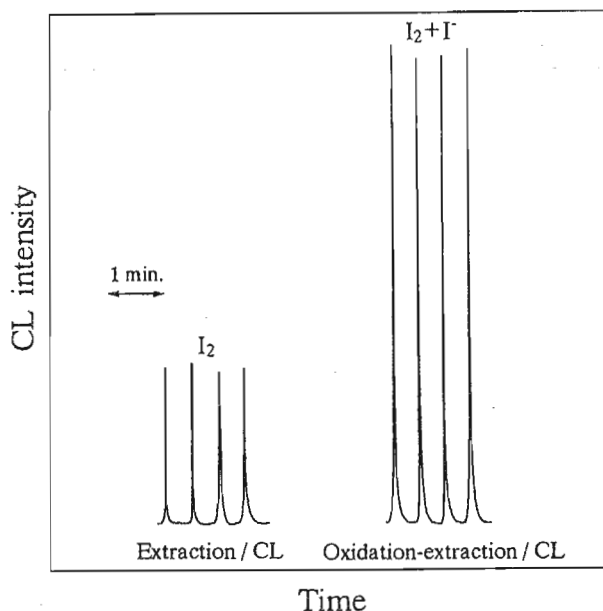


Fig. 6 Representative CL signals recorded after on-line solvent extraction without oxidation and with oxidation using 2-iodosobenzoic acid for a gargle sample. The estimated amounts of iodine and total iodine, $I_2 + I^-$, in 100 ml of a diluted sample are 5 and 15 μg , respectively.

組み込んだ酸化剤を送液した場合、ヨウ化物イオンの酸化が生じるのでヨウ素との総和に対応する発光強度が得られる一方、それを水の送液に換えるとヨウ素のみによる CL が観測される (Fig. 6)。従って、ヨウ素とヨウ化物イオンの形態別定量が可能で、ヨウ化物イオンの検出限界は 0.02 ng/ml に達し、検量範囲は 5~200 ng/ml となった。また、その酸化剤や重金属イオンなど、CL に対して干渉する多くの共存イオンの影響を溶媒抽出法と組み合わせることによって除去することができた。

イオン会合抽出系との組み合わせ： 酸性溶液中の塩化金酸陰イオンを、抽出試薬として用いたトリ-*n*-オクチルホスフィンオキサイド (TOPO) へのプロトン付加によって生成させた陽イオンとのイオン会合を形成させて、クロロホルムへ抽出し、上記と同様に逆ミセルメディア CL 検出法と結合させて、金を高感度に定量す

る方法^{52,53})を提出した。この方法を銀合金中の金に定量に適用して、共存イオンからの干渉をほとんど受けないことを確認した。さらに、Fig. 5 に類似した FIA 流路系⁵⁴)でオンライン化を達成し、金の検出限界 1.0 ng/ml, 検量範囲 10~5000 ng/ml を得た。また、塩化金酸イオンを逆に抽出試薬として用いて、アトロピンやスコポラミンなど、アルカロイドを酸性溶液からジクロロメタンヘイオン会合抽出することによって高感度に間接定量⁵⁵)できることを明らかにした。

キレート抽出系との組み合わせ： Fig. 5 と同様な FIA 流路系を用いて、試料とキレート抽出試薬を送液、合流した後、クロロホルムで抽出する操作をオンライン化して、ルミノール-過酸化水素系逆ミセルメディア CL 検出系と組み合わせた FI-CL 法を、鉄の 2 価と 3 価の分別定量⁵⁶)に適用した。オキシシンを用いると、鉄(III)イオンは pH 3~4 でクロロホルムへ定量的に抽出される一方、鉄(II)イオンの抽出は起こらないので、Fig. 7 に示すように両者の混合溶液であっても鉄(III)のみの CL シグナルを得ることができる。鉄(II)については、その試料溶液に過酸化水素を

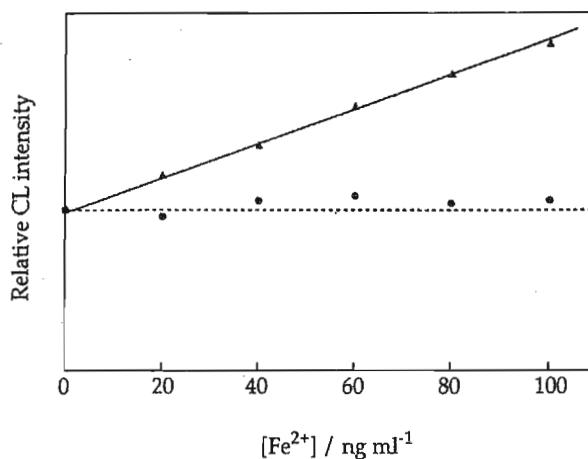


Fig. 7 Variations of the CL intensity with the concentration of Fe^{2+} in mixed sample solutions of Fe^{2+} and Fe^{3+} in the absence (●) and presence (▲) of 0.2 M H_2O_2 .

添加して、鉄(II)を鉄(III)に酸化した後、同様の操作で定量することができる。従って、CL強度の差から、鉄(II)と鉄(III)の分別定量が可能となる。しかし、同時に抽出されるオキシンは、逆ミセル界面で $[\text{Fe}(\text{oxine})_3]$ の解離を抑制し、そのCL触媒効率を低下させるので、抽出操作でのオキシンの濃度を制限する必要があった。

吸着逆ミセルによる抽出系との組み合わせ：ガラス表面に逆ミセルが吸着し、その内水相へ有機溶媒相から過酸化水素が取り込まれる、すなわち抽出されるという現象を見いだした。そこで、この吸着逆ミセルを抽出とルミノールCL反応の場として利用して、最も単純な一流路系の新規なCL法⁵⁷⁾を開発し、有機溶媒中の過酸化水素の定量に適用した。繰り返し測定においては、試薬として注入したルミノール含有の逆ミセル溶液が吸着逆ミセルの役割を担うので、その補充の必要はなく、再現性のよいCL信号が得られた。この定量法は、有機溶媒中の過酸化水素を通常の水溶液に抽出して電気化学的に定量する従来の方法よりも簡便で、しかも高感度(検出限界は $1.2 \times 10^{-7} \text{ M}$)である。

その他、流れ系を利用する分析法として、薄層および液体クロマトグラフ分離において、逆ミセルの移動相がうまく使用された研究例⁵⁸⁻⁶¹⁾がある。

5. おわりに

これらの研究において得られる新たな知見は、逆ミセルを用いたFI-CL分析法の高度化に必要となる。さらに、最近重要視されつつあるメゾスコピック系化学における分子集合形態の構造と物性への金属錯体の関与及びその特異性、優れたイオン認識・輸送の機能をもつ生体膜、逆ミセル界面に類似した液体膜や乳化液膜⁶²⁻⁶⁶⁾の界面における物質移動過程や抽出機構、また金

属イオンの取り込み機能を有するフェリチン(鉄貯蔵タンパク)など、生体系での酵素の反応活性中心およびそれに類似した反応場がもつ環境の解明に対しても寄与するであろう。また、そこから逆ミセルを利用した新規な分析法の開発への糸口が見いだされることを期待している。最後に、本総説を執筆する機会を与えて下さいました本誌編集委員会委員長の酒井忠雄先生ならびに幹事の山根兵先生に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) T. Fujiwara and T. Kumamaru, *Spectrochim. Acta Rev.*, **13**, 399 (1990).
- 2) 今井一洋編, “生物発光と化学発光—基礎と実験” 広川書店 (1989).
- 3) A. Fernandez-Gutierrez and A. Munoz de la Pena, “*Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 1*,” ed. by S.G. Schulman, Wiley & Sons, Chap. 4, pp. 468-475 (1985).
- 4) K. Nakashima and K. Imai, “*Molecular Luminescence Spectroscopy. Methods and Applications: Part 3*,” ed. by S. G. Schulman, Wiley & Sons, Chap. 1 (1993).
- 5) T. A. Nieman, “*Chemiluminescence and Photochemical Reaction Detection in Chromatography*,” ed. by J.W. Birks, VCH, Chap. 4 (1989).
- 6) 藤原照文, 熊丸尚宏, “機器分析ガイドブック,” 日本分析化学会編, 丸善, pp. 70-86 (1996).
- 7) P. Luisi and B. E. Straub, Eds., “*Reverse Micelles*,” Plenum, New York, pp. 1-19 (1984).
- 8) M. Zulauf and H.-F. Eicke, *J. Phys. Chem.*, **83**, 480 (1979).

- 9) M. P. Pileni, Ed., "Structure and Reactivity in Reverse Micelles," Elsevier, Amsterdam, pp. 342-360 (1989).
- 10) J. H. Fendler and E. J. Fendler, "Catalysis in Micellar and Macromolecular Systems," Academic Press, New York (1975).
- 11) W. L. Hinze, Ed., "Organized Assemblies in Chemical Analysis," Vol. 1, JAI Press, Greenwich, pp. 37-105 (1994).
- 12) K. V. C. Laane and A. J. W. G. Visser, *Photochem. Photobio.*, **45**, 863 (1987).
- 13) 本水昌二, "機器分析ガイドブック," 日本分析化学会編, 丸善, pp. 856-879 (1996).
- 14) 石橋信彦, 与座範政訳, "フローインジェクション分析法," 化学同人 (1983).
- 15) 黒田六郎, 小熊幸一, 中村 洋著, "フローインジェクション分析法" 共立出版 (1990).
- 16) J. Ruzicka and E. H. Hansen, "Flow Injection Analysis," 2nd ed., John Wiley (1988).
- 17) B. Karlberg and G. E. Pacey, "Flow Injection Analysis, A Practical Guide," Elsevier (1989).
- 18) 小熊幸一, *ぶんせき*, **75**, 408 (1989).
- 19) 本水昌二, *J. Flow Injection Analysis*, **5**, 71 (1996).
- 20) 酒井忠雄, *ぶんせき*, 549 (1992).
- 21) P. E. Zinsli, *J. Phys. Chem.*, **83**, 3223 (1979).
- 22) Kondo, H.; Miwa I.; Sunamoto, J. *J. Phys. Chem.*, **86**, 4826 (1982).
- 23) T. K. Jain, M. Varshney, and A. Maitra, *J. Phys. Chem.*, **93**, 7409 (1989).
- 24) J. Faeder and B. M. Ladanyi, *J. Phys. Chem.*, **104**, 1033 (2000).
- 25) D. J. Christopher, J. Yarwood, and P. S. Belton, and B. P. Hills, *J. Colloid Interface Sci.*, **152**, 465 (1992).
- 26) F. I. Belyaeva, L. Y. Brovko, N. N. Ugarova, N. L. Klyachko, A. V. Levashov, K. Martinek, and I. V. Berezin, *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **273**, 494 (1983).
- 27) K. Martinek, A. V. Levashov, N. Klyachko, Y. L. Khmel'nitski, and I. V. Berezin, *Eur. J. Biochem.*, **155**, 453 (1986).
- 28) N. L. Klachko, M. Y. Rubtsova, A. V. Levashov, E. M. Gavrilova, A. M. Egorov, K. Martinek, and I. V. Berezin, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **501**, 267 (1987).
- 29) K. Martinek, I. V. Berezin, Y. L. Khmel'nitski, N. L. Klyachko, and A. V. Levashov, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **52**, 2589 (1987).
- 30) H. Hoshino and W. L. Hinze, *Anal. Chem.*, **59**, 496 (1987).
- 31) S. Igarashi and W. L. Hinze, *Anal. Chem.*, **60**, 446 (1988).
- 32) S. Igarashi and W. L. Hinze, *W.L. Anal. Chim. Acta*, **225**, 147 (1989).
- 33) Yeda Research and Development Co., Isr. Patent IL59, 263 (29 Jan., 1980) [*Chem. Abstr.*, **100**:15173r (1984)].
- 34) Impexa International B. V., Neth. Patent, NL 8201,713 (26 April 1982) [*Chem. Abstr.*, **100**:111995f (1984)].
- 35) M. L. Cohen, F. J. Arthen, and S. S. Tseng, Eur. Patent Appl. EP 96,749 (28 Dec. 1983), 21 pp. [*Chem. Abstr.*, **100**:182970 (1984)].
- 36) J. Nishimoto, E. Iwamoto, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **89**, 535 (1993).
- 37) E. Iwamoto, T. Kumamaru, Y. Sumitomo, Y. Suzuki, and J. Nishimoto, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **91**, 627 (1995).
- 38) Imdadullah, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Anal. Chem.*, **63**, 2348 (1991).

- 39) Imdadullah, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Anal. Chim. Acta*, **292**, 151 (1994).
- 40) D. Brown and J. H. R. Clarke, *J. Phys. Chem.*, **92**, 2881 (1988).
- 41) T. Nakashima, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, submitted to *Langmuir*.
- 42) D. F. Evans and H. Wennerström, "The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet," VCH Publishers, New York, p 142 (1994).
- 43) K. Fuke, K. Hashimoto, and S. Iwata, "Advances in Chemical Physics," Vol. 11, ed. by I. Prigogine and S. A. Rice, J. Wiley, New York, pp. 502-523 (1999).
- 44) T. Kato and T. Fujiyama, *J. Phys. Chem.*, **81**, 1560 (1977).
- 45) T. Fujiwara, N. Tanimoto, J. Huang, and T. Kumamaru, *Anal. Chem.*, **61**, 2803 (1989).
- 46) T. Fujiwara, I. U. Mohammadzai, H. Inoue, and T. Kumamaru, *Analyst*, **125**, 759 (2000).
- 47) T. Fujiwara, N. Tanimoto, K. Nakahara, and T. Kumamaru, *Chem. Lett.*, 1137 (1991).
- 48) T. Fujiwara, Theingi-Kyaw, and T. Kumamaru, *Anal. Sci.*, **13** (Suppl.), 59 (1997).
- 49) B. H. Robinson and D. C. Steytler, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, **75**, 481 (1979).
- 50) Theingi-Kyaw, S. Kumooka, Y. Okamoto, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Anal. Sci.*, **15**, 293 (1999).
- 51) M.-F. Ruasse, I. B. Blagoeva, R. C. L. Garcia-Rio, J. R. Leis, A. Marques, J. Mejuto, and E. Monnier, *Pure & Appl. Chem.*, **69**, 1923 (1997).
- 52) Imdadullah, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Anal. Sci.*, **7** (Suppl.), 1399 (1991).
- 53) Imdadullah, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Anal. Chem.*, **65**, 421 (1993).
- 54) T. Fujiwara, K. Murayama, Imdadullah, and T. Kumamaru, *Microchem. J.*, **49**, 183 (1994).
- 55) T. Fujiwara, I. U. Mohammadzai, K. Murayama, and T. Kumamaru, *Anal. Chem.*, **72**, 1715 (2000).
- 56) Theingi-Kyaw, T. Fujiwara, H. Inoue, Y. Okamoto, and T. Kumamaru, *Anal. Sci.*, **14**, 203 (1998).
- 57) 藤原,他,過酸化水素の測定方法,第 Y0A261 号 (1999) (特許出願中) .
- 58) D.W. Armstrong, *Sep. Purif. Methods*, **14**, 212 (1985).
- 59) U. Pfüller, "Mizellen-Vesikel-Mikroemulsionen. Tensidassoziate und ihre Anwendung in Analytik und Biochemie," Springer, Berlin (1987).
- 60) A. Berthod, O. Nicolas, and M. Porthault, *Anal. Chem.*, **62**, 1402 (1990).
- 61) A. Mohammad, S. Anwar, and V. Agrawal, *J. Indian Chem. Soc.*, **76**, 452 (1999).
- 62) T. Kumamaru, Y. Okamoto, M. Yamamoto, Y. Obata, and K. Onizuka, *Anal. Chim. Acta*, **232**, 389 (1990).
- 63) Y. Okamoto, T. Takahashi, K. Isobe, and T. Kumamaru, *Anal. Sci.*, **6**, 401 (1990).
- 64) T. Yokoyama, T. Watarai, T. Uehara, K. Mizuoka, K. Kohara, M. Kido, and M. Zenki, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **357**, 860 (1997).
- 65) M. Hiraide and K. Hasegawa, *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **363**, 261 (1999).
- 66) Y. Okamoto, Y. Nomura, H. Nakamura, K. Iwamaru, T. Fujiwara, and T. Kumamaru, *Microchem. J.*, **65**, 341 (2000).

(Received May 15, 2001)

