

## トピックな分析科学領域研究に対する FIA システムの開発と応用

石井幹太<sup>1)</sup>\*・小松朋恵<sup>2)</sup>・末廣貴生子<sup>3)</sup>

- 1) 静岡福祉大学社会福祉学部医療福祉学科：425-8611 静岡県焼津市本中根549番の1
- 2) シスメックス株式会社：651-0073 兵庫県神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号
- 3) 静岡福祉大学社会福祉学部健康福祉学科：425-8611 静岡県焼津市本中根549番の1

## Device And Application of Unique FIA Systems on Topical Analytical Sciences Research Works

Mikita Ishii<sup>1)</sup>\*, Tomoe Komatsu<sup>2)</sup> and Kibuko Suehiro<sup>3)</sup>

- 1) Department of Medical in Social Welfare, Faculty of Social Welfare, Shizuoka University of Welfare, 549-1 Hon-nakane, Yaizu-shi, Shizuoka Pref. 425-8611, Japan
- 2) Sysmex Corporation, 1-5-1 Kaigandori, Chuo-ku, Kobe-shi, Hyogo Pref. 651-0073, Japan
- 3) Department of Health and Care in Social Welfare, Shizuoka University of Welfare, 549-1 Hon-nakane, Yaizu-shi, Shizuoka Pref. 425-8611, Japan

New devices and approaches in some topical academic fields such as *kinetic diagnoses, biomimetic chemistry, supercritical fluid chemistry, zero emission research initiative, skill-free technology* and *welfare sciences*, were described concerning integrated flow injection analysis (FIA) with their historical views. Some typical examples of the FIA in thus proposed academic fields were introduced in relation to their development factors, their concepts, their practical uses and so on. The authors hope that this technical accounts will play a key role for the future academic fields such as *integrated approach to environments and human welfare like "COPI0", advanced care and welfare, welfare sciences* and so on.

**Key word phrases** Mini-review, FIA, development and application of advanced and integrated technique, topical analytical sciences research work items.

### 1. はじめに

フローインジェクション分析(FIA)を含む分析科学は、過去半世紀の変遷を大局的に考えると、定性定量分析の時代から、状態分析、機能性科学分析、生体模擬科学のような機能模擬科学分析、現在の生命の存続や安全性を考慮した生命生存環境配慮型分析科学へと、静的解析から動的解析への変化と並行しながら発展普及してきているように思える。

一般的に、総説のように学問の発展を記述する場合な

ど、トピックな学術事項を対象に縦断的(あるいは垂直思考的)に論ずることが多い。専門性を重んじることが対象となっていることに起因するのかもしれないが、詳しい発展の経緯は良く理解できる。しかし、文明が高度化した後、人と物の調和など複合的に物事を考え研鑽せねばならない時代になってくると、物の発展を横断的(あるいは水平思考的)に考えてみることも有用に思われる。

著者らの場合、これまでいくつかのトピックな学術研究事項(例えば、文部科学省科学研究費の特定あるいは重点領域研究などに取り上げられる研究課題など)に遭遇す

る機会に恵まれた。これらの研究事象を経時的に考察すると、順次①化学分析による動的病態の解析、②生体機能模擬化学、③超臨界流体化学、④ゼロエミッション研究、⑤スキルフリー化研究、⑥生物多様性(COP10)などに対応した分析科学研究などが挙げられる(注: 科研費などの正式名称ではない)。

これらの学術内容の変化を分析科学的に要約すると、①では、手動から自動へ(自動分析への発展)、静的解析から動的解析へ(血糖値の時差変動解析など)、定性定量から状態解析へ(状態分析への発展)などの変化発展が挙げられる。以下同様に経時的に、②では、状態から機能性へ(機能性化学への発展)、天然の機能性から人工的機能性へ(生体機能模擬化学: 機能性材料の合成的分析科学などに発展); ③では、溶媒など一般的な流体化学から特殊な流体化学へ(超臨界流体化学; 高温高压化学などに発展); ④では、産業や自然の独立研究から自然と産業の共生化学へ(自然環境の保全、資源やエネルギーの有効利用、省力化などの科学技術へと発展); ⑤では、技術の特殊性から普遍性へ(技術の伝承や原理教育の普及と人の権利との係わりなどスキルフリー分析や福祉科学分析などに発展); ⑥は現在では未知の分野であるが、自然からより生存・生命観等へ(造語であるが、生物多様性分析科学などに発展)などが生じている。詳しくは後述するが、研究対象項目も人の安全性や分析技術の伝承など、研究を展開する上で対象とする細目も物質から人へと、また技術から安全性へなどへと多大な広がりを見せている。つまり、横断的に、また分析科学的に学術分野を眺めると、研究対象の広がりや将来起こりそうである研究対象への予測もおぼろげながらできるのではなかろうかと思われる。

例えば、分析科学分野では、著者らが最近展開している福祉科学分析(学術的定義はない)などは高齢化社会の到来などから、また生物多様性(COP10:2010年10月愛知県名古屋にて国際会議が開催された)に係わる分析科学(例えば、生物多様性分析科学や環境福祉学的分析科学など; 学術的定義はない)の展開などが新しい分野や将来の分析科学として登場する可能性もあるように思われる。このような場合にFIAはどのように展開発展させて行けばよいのかも議論や推進の対象ともなり、本論文で報告する横断的考察の意義があるように思われる。

このような背景の中で、FIAは迅速・簡便な汎用分析法として、多くの科学分野<sup>1-26)</sup>を始め、医科学<sup>27)-33)</sup>や福祉関連領域<sup>34)-36)</sup>にまでも発展普及してきている。とりもなおさず、FIAの発展普及は、装置設計や取り扱いが

簡素かつ容易であることや、各種他の分析法との連携が容易で分析の範囲を拡張し得る多機能特性を有すること、また連続流れ分析の特性を生かした自動分析手法を活用することから、手動法で得られ難い精確度の確保や動的変動を把握できるなどのユニークな特長などが大きな支えとなっている。

一方、時代の移行と共に時代に即応した新領域の学術分野が登場し、新たな科学を展開する場合、FIAを一層発展普及させるには新領域に対してFIAの役割を明らかにし、諸問題解決に積極的に取り組み、新しい概念に基づいたFIAシステムを開発研究することが肝要と思われる。

著者らは、新規な物理化学的機能の創案・創出は元より<sup>1)-36)</sup>、環境福祉<sup>34)-38)</sup>や先端介護などの新しい学術分野の概念等<sup>39) 40)</sup>に基づいた事象に対応し得る新しいFIAシステムの開発研究に積極的に取り組んできた。

本論文では、新領域に対応したFIA論を展開するに臨んで、FIAシステム開発には如何なる要件を抽出・デザインするか、また如何にして要件を反映しつつFIAの特徴を発揮してシステム化するかなどを、著者らが現在に至るまでの経験に基づいて研鑽した内容を横断的に技術論的に概説した。

なお、温故知新ではないが、大きな学術的発展は新しい事象に取り組んでいる時代より、そこで得られた成果がむしろ枝葉となって発展して行く場合が多々あることを考えると、著者らの本論文も次世代の若い科学研究者のために、FIAは元より、何らかの科学の発展に役立つようであればと考え本論文をまとめた次第である。

## 2. トピックな分析科学領域研究に対するFIAシステムの開発と応用

### 2. 1 トピックな分析科学領域研究に対するFIAの役割

トピックな分析科学領域研究に対するFIAの求められる要件について、「新学術領域名」は①に、「領域重点項目」は②に、「要求される機能化要件等」は③に、「分析化学的要件」は④に、最後に「FIAに求められる要件」は⑤にそれぞれ記述する。実際は①から⑤までに加え、最近話題となっている生物多様性(COP10)に関する分析科学とFIA研究のことも将来像として論じなければならないと考え、誌面の都合とFIA研究との関係から、本論文では①と③、および①と⑤についてそれぞれTable 1とTable 2にまとめた。

Table 1 Guide-line to development of FIA system for some topical analytical sciences research work items (Part 1)

①Topical item	③Functionality
Dynamical diagnosis associated with chemical analysis	High accuracy and precision, rapidity, automation, on-site, small amount of detection of the key compound for the diagnosis etc.
Biomimetic chemistry	Device of new artificial function high sensitivity and selectivity, etc.
Super critical fluid chemistry	High pressure and/or temperature system design, the solvent property, etc.
Zero emission sciences	Miniature technique for protection of nature-environment and resources; recycle, reuse and reduce technologies for waste material; material valance, etc.
Skill-free analysis	Simplification of analytical technique and process; development of new analytical technique and process; operationally and mechanically safety, etc.
Welfare sciences	Human-ecological technology, safety, universal designation, easy and simplified technique, etc.

Table 2 Guide-line to development of FIA system for some topical analytical sciences research work items (Part II)

①Topical item	⑤FIA component recommended
Dynamical diagnosis associated with chemical analysis	Easy and simplified analysis; high sensitive and selective analysis; automatical analysis; potable analyzer; etc.
Biomimetic chemistry	Molecular design for biomimetic function; simplified, easy and rapid analysis; high sensitive and/or selective detection system; etc.

Super critical fluid chemistry	High pressure and/or temperature system design; simplified and easy operation system; continuous flow system; the solvent effect; etc
Zero emission sciences	Cyclic(closed) system; miniature system; high sensitive detection; out-put/in-put balance; etc.
Skill-free analysis	Easy determination & operation; simplified system; simplified and easy process; development of new analytical technique and process; operationally and mechanically safety; automation/operational and mechanical education; etc.
Welfare sciences	Human-ecological FIA system; multi-function/system design/IT technology; automation/mechanical and operational education; safety; simplified FIA; easy and simplified technique; universal designation; etc.

## 2. 2 トピックな分析科学研究に対するFIAシステム開発

前記した学術研究分野について、FIAシステムの開発研究を進めた代表例を以下に概説する。

### 2. 2. 1 化学的動的病態解析におけるFIAシステム開発<sup>27-33)</sup>

旧来の問診的診断に代わり、新しい分析機器などを用いて病態診断を化学的に動的に解析する時代に向けて、その一つである臨床検査学分野では、迅速かつ簡便で、またベッドサイドで活用できるコンパクトで精度の高い分析システムの開発が要求される。

本新領域で要求される要件は、前記の要項から、以下の通りである (Table 1 および Table 2 参照)。本研究領域では、①化学分析による動的病態解析、②化学的病態解析および動的病態解析、③自動化・連続化、迅速化、高精度化、オンサイト化、及び病態反映化合物の検索と検知、④自動分析システム設計、簡易分析システムの創案創製、高選択的分析システムの創案創製、病態反映化合物の定性定量及びポータブル (ベットサイド) 分析システムの創案創製、⑤連続性 (自動化)、汎用性、選択的反應場設計、

高感度検出器及び小型化などが求められる。本領域に対応する要件抽出などから開発されたFIAシステムの代表例を、尿中アンモニアと尿素の同時迅速分析について概説する。

本分析システムは、とりわけ腎疾患や肝疾患、あるいは腎疾患と肝疾患の合併症、さらにはそれらの関連疾患の病態解析に役立つ。しかし、それら関連疾患を早期に、簡便に識別するにはアンモニアと尿素の同時分析と病態反映情報を正確に解析できる分析システムが必要となる。FIAは分析操作が簡便で、迅速分析が可能な利点があるので、Table 1に示した開発要件を満たす工夫が求められる。

本事例で紹介するFIAシステムは、高感度検出、分離機能および簡便性を併用したガスクロマトグラフ(GC)を検出器として用いていることと、従来では検知できなかった微細構造膜からのガス成分の浸透現象(Gas Permeation)の発見とシステム化によって、体液中のガス成分の分析に威力を発揮する創案創製となっている。装置の流路図、パーミエーション板(PPA)、透過膜(GPM)の断面図と形状図および分離機構の模式図をFig.1~Fig.3に示す。

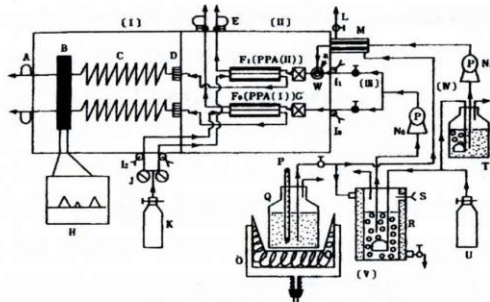


Fig. 1 Gas permeation/GC flow system

A, Flow meter; B, Detector (GC); C, Separation column; D, Precolumn; E, Pressure control valve; F<sub>0</sub>, Permeation plate assembly (I); F<sub>1</sub>, Permeation plate assembly (II); G, Reactor; H, Recorder; I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, Sample injection ports; J, Pressure gauge; K, Gas cylinder (He); L, Control valve; M, Preheater; N<sub>1</sub> & N<sub>2</sub>, High pressure pumps; O, Heater; P, Thermometer; Q, Reservoir for hot water; R, Reservoir for carrier solution; S, Injection port for carrier solution; T, Reservoir for buffered urease solution; U, Gas cylinder (N<sub>2</sub>); W, Three port junction; a, Direction.

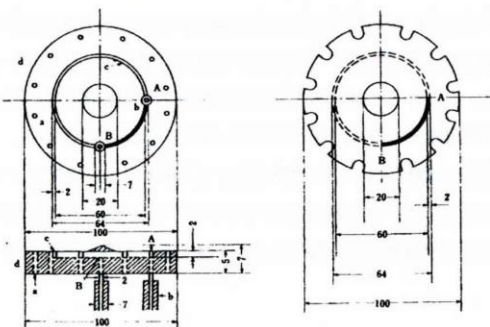


Fig. 2 Permeation plate assembly

Left, Permeation plate; Right, Doughnut type permeation membrane and silicone plate. A & B, Outlet and/or inlet ports of carrier gas and carrier solution; a, Screw hole; b, Joint; c, Groove; d, Stainless steel plate.

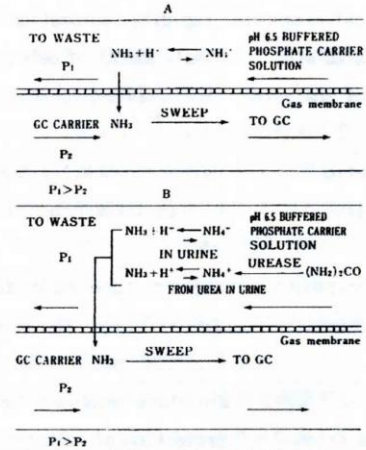


Fig. 3 Expanded view of chemical process in permeation plate assembly

A, Chemical process of NH<sub>3</sub> in urine; B, Chemical process of total NH<sub>3</sub> in urine; P<sub>1</sub> & P<sub>2</sub>, Pressure.

本FIAシステムによる分析方法は以下の通りである。試料中のNH<sub>3</sub>の一部は、PPAで一定の透過割合で、Fig.3-Aに示した分離機構に従い膜分離されGC測定される。また、反応器中で変換されたNH<sub>3</sub>の合計量は、キャリアー液と共にPPAに送られ、Fig.3-Bに示した分離機構により一部が膜分離されGC測定される。

実際試料の分析では、ヒト尿500μlを用い、本FIAシステムによる尿中NH<sub>3</sub>及び尿素測定を行う。測定精度はUI(Urease-Indophenol)法やIP(Indophenol)法に劣るが、相関は良く、十分測定に使えることがわかった。分析所用時間は約20分で他の方法よりも1時間以上も短縮できた。

Figure 4に健常人、重症肝疾患、重症腎疾患および肝と腎の合併症におけるクロマトグラムを示す。クロマトグラムパターンから、これらの疾患の識別ができ、(NH<sub>3</sub>/尿素)比測定も有用であることが認められた。FIA分析システムによるNH<sub>3</sub>測定法の特徴は、迅速簡便であること、また特殊な分離法を用いるため測定可能なpH範囲が従来法<sup>4)1)</sup><sup>4)2)</sup>に比べて広い(pH 5.0~14)ことである。つまり、試料pHが中性付近にあり、臓器の機能状態を早く予知できる尿を分析対象に選ぶことが可能となり、尿中NH<sub>3</sub>と尿素の迅速測定による病態解析も可能となっている。本研究の成果は、化学的に病態を、また動的に把握する新しい病態診

断の指針の一つとなっている。

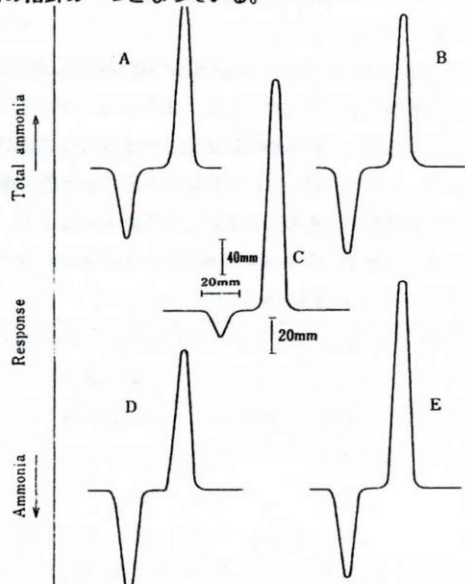


Fig. 4 Chromatograms of permeated  $\text{NH}_3$  and total  $\text{NH}_3$  with urine samples of normal and various kinds of diseases

A. Acute atrophy of the liver; B. Uremia; C. Normal; D. Acute atrophy of the liver and uremia; E. Diabetic nephropathy.

### 2. 2. 2 生体機能模擬化学における FIA システム開発<sup>1) - 16) 18) 19) 21) 22)</sup>

超微量物質の分析や微細構造の解析など高度な分析技術が要求されつつある昨今、生物の機能を化学的に模擬した生体機能模擬化学が普及しつつある。例えば、細胞膜に認められるように、その構造や機能は単一分子からでなく、分子集合体から構成される複合分子によってそれぞれ構築および発揮される。一事例として、蛍の発光(生物発光)を真似た化学発光現象や細胞膜機能を模擬した界面活性剤配向性分子集合体などのような複合化合物は、同じ単分子化合物の有する物理化学的性質とは著しく異なった機能を発揮する場合があります。有用な分析技術を創出できる。従って、複合分子を構築および機能させるには、緻密な制御とデザインが肝要である。

生体機能模擬化学における FIA システムの開発要件 (Table 2 参照) と界面活性剤配向性分子集合体の構造例 (二分子膜ベシクル) および分子機能特性をそれぞれ Fig. 5 と Table 3 に示す。

本領域では、①生体機能模擬化学、②高機能化、③機能発現と分子構造設計、④高選択的および高感度分析、⑤迅速・簡易・簡便 FIA システムと高感度高選択的 FIA システムなどが求められる。

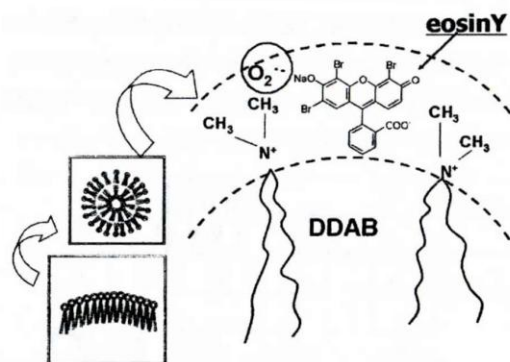


Fig. 5 Molecular structure of oriented surfactant molecular aggregate (Bilayer vesicle)

DDAB: Didodecyltrimethylammonium bromide

Table 3 Biomimetic property of organized surfactant molecular aggregate

Species of molecular aggregate	Functionality
Micelle	Solubility
Reversed micelle	Condensation
Mixed micelles	Catalysis
Bilayer vesicle	Sensitization, etc.
Lamella	Unknown

本事例では、配向性分子集合体(界面活性剤ミセル配向体)と化学発光検出 (1, 10-フェナントロリン化学発光: 1, 10-Phen CL と略記) の新規な物理化学的諸現象を利用した銅(II)の超微量分析システムについて概説する。

本 FIA 分析システムを構築するために新しく開発した CL 反応系は、1, 10-Phen/過酸化水素( $\text{H}_2\text{O}_2$ )/水酸化ナトリウム(NaOH)/界面活性剤ミセル系である。本 FIA/CL 分析システムの概要を Fig. 6 に示した。

フローシステムは 3 流路( $L_1 \sim L_3$ )から構成される。各構成内容は以下の通りである。流路( $L_1 \sim L_3$ ): 反応試薬などの送液流路で、送液管には内径 1 mm, 外径 2 mm のテフロン製細管を使用。ポンプ( $P_1, P_2$ ): アトー製二連動ペリスタ式ミニポンプ( $P_1$ , SJ-1220 型)と単動ペリスタ式ミニポンプ( $P_2$ , SJ-1215 型)を使用。ジョイント( $J_1, J_2$ ): 協和精密製 Y 型ジョイント。混合コイル(M): 内径 1 mm, 外径 2 mm, 長さ 2 m のテフロン製細管。試料注入器(S): 草野科学製定容量バルブ(10/20  $\mu\text{l}$  型)でその内容積 20  $\mu\text{l}$  を使用。検出器(D): 浜松テレビ製光電子増倍管(PMT; R453 型)とその定電圧電源(HTV-C448A), エレクトロメーター(東亜電波製 PM-18N 型)及び記録計(松下電器 VP-6531A)で

ある。PMT で検出された CL 応答はエレクトロメーター及び記録計でそれぞれ増幅、記録される。検出器内にあるフローセルはポリ塩化ビニル製の渦巻き状のものを用い、PMT の受光面と対向する状態で設置した。なお、PMT の受光面とフローセルの距離は約 3 cm である。

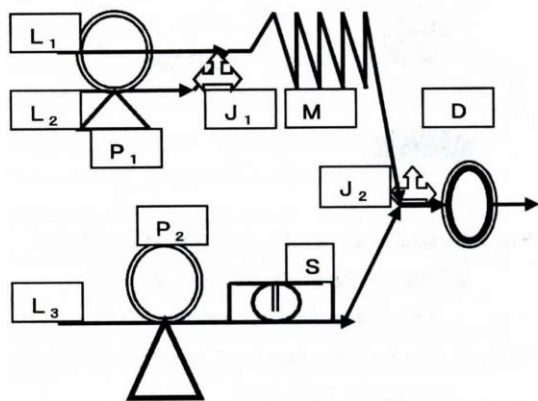
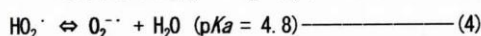
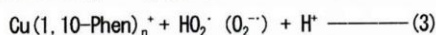
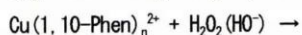
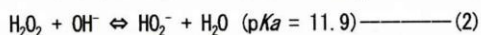
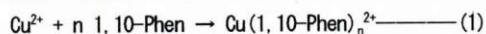


Fig. 6 Schematic diagram of the FIA/CL system

L<sub>1</sub>—L<sub>3</sub>: Flow lines, J<sub>1</sub> & J<sub>2</sub>: Y type joints, M: Mixing coil (1 mm i. d. and 2 m long), P<sub>1</sub> & P<sub>2</sub>: Peristaltic pumps, S: Sample injector (20 μl), D: Detector. Recommended operating conditions: 6.0 × 10<sup>-5</sup> M 1, 10-phenanthroline, 0.12 M NaOH, 0.025 M Hexadecylethyl-dimethylammonium bromide & 2.8 × 10<sup>-9</sup> M tetraethylenepentamine for the line L<sub>1</sub> (flow rate, 1.2 ml/min); 6.0 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for the line L<sub>2</sub> (flow rate, 1.2 ml/min); sample or water for the line L<sub>3</sub> (flow rate, 5.0 ml/min).

測定原理は、以下の反応機構に従って発生した CL を計測して分析する仕組みとなっている。



本 FIA/CL 分析システムの定量範囲と精度は、以下の範囲 (20 μl 注入法及び流路 L<sub>3</sub> に銅(II) 試料を用いる連続法: 注入法, 8.0 × 10<sup>-14</sup> ~ 2.0 × 10<sup>-9</sup> g; 連続法, 1.0 × 10<sup>-13</sup> ~ 1.0 × 10<sup>-9</sup> M) と以下の精度 (相対標準偏差で両測定法共に約 2 % 以内, n=5) でそれぞれ良好であり、本分析システムが高感度な分析システムであることがわかった。また、本分析システムの選択性は、銅(II) の次に大きな CL 応答を与えるイオンは鉛(II) であるが、その値は銅(II) の約 0.03 % 程度で無視できるほど小さく、高い選択性を有することがわかった。実試料分析に本 FIA/CL 分析システムを応用する場合、他のイオン種による銅(II) の CL に対す

る干渉が考えられるが、検討した結果無視できるほど小さかった。

本 FIA/CL 分析システムが高感度かつ高選択的な銅(II) の分析に有用であることがわかり、本 FIA/CL 分析システムを上水中の銅(II) の分析に応用した結果良好な成果が得られた。上水中の銅(II) の分析結果を原子吸光法 (標準的高感度高選択的分析法) と比較して Table 4 に示す。

Table 4 Copper (II) determination in tap water by the proposed method

Sample No.	FIA/CL method	Flame atomic absorption method
1	6.5 × 10 <sup>-8</sup> M	7 × 10 <sup>-8</sup> M
2	6.3	6
3	6.6	7
4	6.8	7
5	6.5	7
6	6.4	6
Average	6.5	7

結果は互いに良く一致した。本 CL 系と FIA を用いてサブピコグラム量での銅(II) の超微量分析法を確立した。

本高感度かつ高選択的 FIA/CL 分析システムが確立できた最大の要因は、界面活性剤配向性分子集合体ミセルの触媒効果や濃縮効果および増感効果に依るところが大きく、生体の機能を模倣した分子設計に成る化学反応場の設計の重要性が示唆された。分子設計に成る新しい科学分野の創生に役立つ指針となった FIA 研究の一つである。

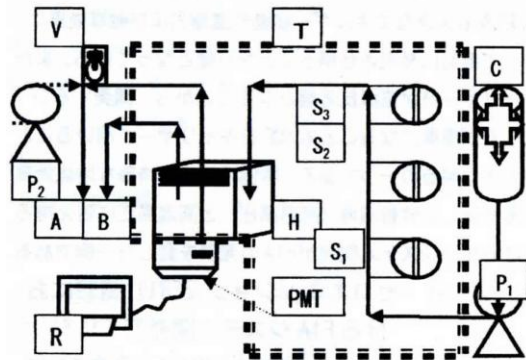
### 2. 2. 3 超臨界流体化学における FIA システム開発<sup>17) 20) 23)</sup>

超臨界流体 (Super critical fluid: SCF) は、気体と液体の中間領域にあるクラスターを形成する特殊な高密度流体<sup>4,3)</sup> で、反応媒体として利用すると抽出や反応など高効率かつ高度な物理化学的諸現象を産生する利点がある。SCF と一般の液体との違いによる CL 現象の比較をバッチ式 SCF/CL システムを用いた場合について Fig. 7 に示す。

超臨界流体化学における FIA システムの開発要件は以下の通りである。本領域では、①超臨界流体化学、②高圧高温技術開発と特殊流体の溶媒特性の解明、③高圧高温分析システム設計と特殊流体の溶媒特性の解明、④高圧高温分析とそのシステム設計、⑤簡素かつ簡易な FIA システムと連続流れ系などが求められる。つまり、本新領域に対応した分析化学を展開するには、高圧・高温に耐え得る簡素で堅牢な分析システムの設計が肝要である。当該領域に

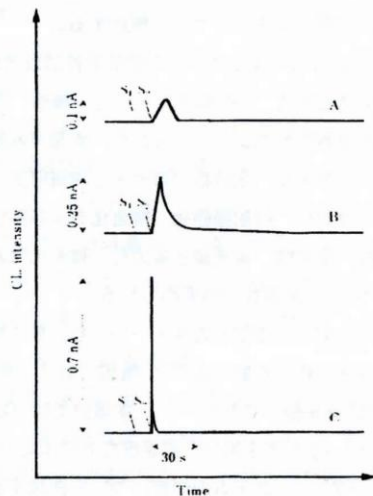
対応する要件抽出なども含め、高圧セルの考案やSCF自体を直接反応場および移動相とするCL検出法などについて、食品の安全性評価にも役立つ化学発光(CL)検出/超臨界流体フローインジェクション分析システム(SCF-FIA/CLシステム)の開発事例を食品芳香剤のラクトンの分析例を交えて概説する。

食品など芳香剤を取り扱う化学工業では素材や割合の多様化に伴って高度な香気成分分析が必要となっている<sup>44) 45)</sup>。食品の芳香剤の一つであるラクトンの高感度分析に向けてラクトン/アセトン/アルカリ/エタノールの新しいCL反応系を超臨界流体FIA(SCF-FIA)に組み込んだラクトンの微量分析法を開発した。開発したSCF-FIA/CL分析システムと検量線をそれぞれFig. 8とFig. 9に示した。



(1) Batch type SCF/CL analyzer

A: Vent, B: Capillary pressure controller, V: Pressure control valve, C: CO<sub>2</sub>-SCF cylinder, P<sub>1</sub>: High pressure pump for SCF, S<sub>1</sub>-S<sub>3</sub>: Sample injectors, H: Reaction cell, PMT: Photomultiplier tube, T: Thermoregulator, P<sub>2</sub>: Peristaltic pump, R: Recorder.



(2) CL profiles among another solvents

A: Water, B: CO<sub>2</sub>, C: CO<sub>2</sub>-SCF. Operating conditions: S<sub>1</sub>, 20 μl injection of 1x10<sup>-8</sup> M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; S<sub>2</sub>, 20 μl injection of 0.001 M luminol/5 M NaOH solution; reagent injection interval of S<sub>1</sub> and S<sub>2</sub>, 10s; pressure for CO<sub>2</sub>-SCF, 80kgf/cm<sup>2</sup> and temperature of SCF (40°C).

Fig. 7 SCF-FIA/CL batch type analyzer (1) and comparison of CL profiles (2) among another solvents

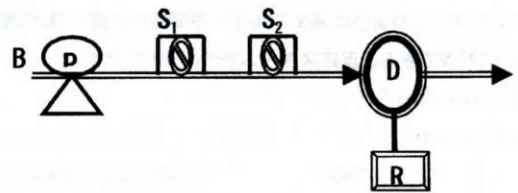


Fig. 8 SCF-FIA/CL flow system for lactone determination

B: Cylinder for CO<sub>2</sub> super critical fluid, P: Pump (Shimadzu LC-6A), S<sub>1</sub>: Injector for reagents (Rheodyne 7125:100 μl), S<sub>2</sub>: Injector for sample (Rheodyne 7125:20 μl), D: Detector (Nichion Rika Kiki Co. LF-800 & Hamamatsu Photonics 1P-21S), R: Recorder (TOA DENPA KOGYO EPR-151A). Optimal operating conditions: 0.02 M NaOH/ethanol for S<sub>1</sub> and sample/acetone for S<sub>2</sub> at 6.0 ml/min of flow rate.

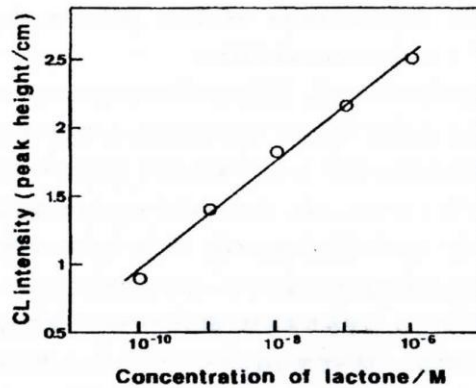


Fig. 9 Calibration curve for determination lactone with the proposed system

Operating conditions: Same as in Fig. 8.

本分析システムは1流路から成り、CO<sub>2</sub>-SCF用ポンプ(B)ポンプ(P) (島津製作所製 LC-6A)、2個の試料注入器 (Rheodyne製 7125型) (S<sub>1</sub> (試薬導入用 100 μl), S<sub>2</sub> (試料導

入用 20  $\mu$ l), 検出器 (D) (日音医理科機器製作所製 LF-800 および浜松ホトニクス製 1P-21S から成る) および記録計 (R) (東亜電波工業製 EPR-151A) により構成されている。

測定の原理は以下の通りである。ラクトンはアルカリによって容易に開環してオキシカルボン酸塩を生じ、又アルカリ性下アルコール類と反応してグリコール酸エステルを生成する。これらは共存するとシュウ酸ジエステル様のジエステルを生成するので、これらに酸化剤の存在あるいは他の励起エネルギーの供与があると過シュウ酸エステルの CL のように高エネルギー中間体が生成し CL の発生が期待できる。反応スキームを Fig. 10 に示す。

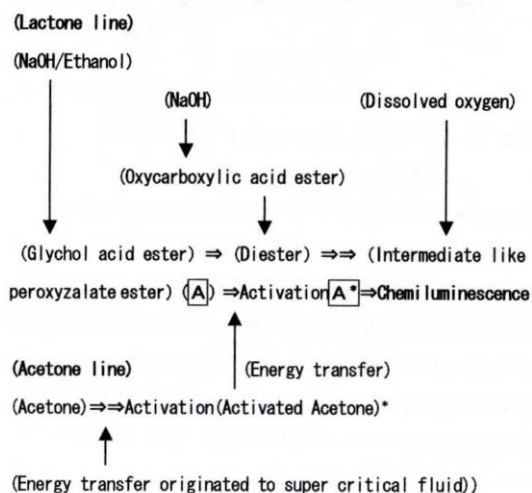


Fig. 10 Chemiluminescent reaction mechanism for lactone determination

本分析システムでは、例えば  $\gamma$ -ブチロラクトン ( $\gamma$ -BuLac) の場合、検出下限 (20  $\mu$ l 注入法: S/N=2) 及び定量範囲はそれぞれ  $1.0 \times 10^{-10}$  M および  $1.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-7}$  M であった。なお、その他のラクトンでも同程度であった。他成分の影響に関しては、 $10^{-7}$  M  $\gamma$ -BuLac に対し 10 万倍高濃度の 0.01M メタノールやその他のアルコール類が同じ CL 強度を与えるが、実試料の分析では化学組成上問題ない。従って本分析システムがラクトンに高選択的であることがわかった。再現性と分析所要時間については、20  $\mu$ l 注入法で  $1 \times 10^{-8}$  M  $\gamma$ -BuLac 溶液を 5 回繰り返し測定した場合の CL 強度の相対標準偏差 (RSD) が 5.5% で、また分析所要時間は約 3 秒であった。本分析システムの実用性を評価するために回収試験を実施した結果を Table 5 に示す。

回収試験用試料溶液を用いて得られた結果は、いずれの場合もおおよそ 100% の回収結果が得られた。

Table 5 Recovery test<sup>a)</sup>

Sample	Taken (M)	Found (M)	Relative error (%)	Recovery (%)
Origin	0	ND <sup>b)</sup>	—	—
A	1.54	1.55	5.0	101
B	2.71	2.79	5.5	103
C	3.58	3.65	4.4	102
D	5.18	5.13	2.3	99
E	5.88	5.84	2.6	99

a) : Average in 5 repeated runs, b) : Not detected.

以上のように、SCF-FIA はキャリアーとして利用される SCF が、直接反応場として活用できること、また SCF の有する溶媒特性、とりわけクラスター形成が果たす役割が大きく、従って比較的 CL 現象が認めにくいラクトン類の CL 現象も大きなエネルギー移動や濃縮および触媒効果によって容易に発現させ得ることが可能となっている。また、キャリアー液が直接反応場となることから、開発するシステムが簡単になることも SCF をキャリアーに用いることの大きな利点の一つである。本領域研究は特殊な溶媒効果が齎す新しい分析環境 (高温高圧) と高温高圧に耐え得る反応セルやシステム開発が FIA の発展を齎した一例である。

## 2. 2. 4 ゼロエミッション (ZERI) 構想における FIA システム開発<sup>6) 24) 25)</sup>

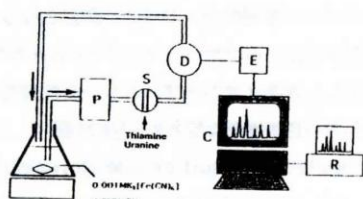
ZERI 構想は基本的には廃棄物を排出しない生産活動で、資源の有効利用や省資源化、省エネルギーおよび省力化など、環境に負荷を与えないコンセプトの下で展開されている。当該領域に対応する要件の一つとして、物質循環方式志向が挙げられる。化学発光検出法などの光発生法に基づいた FIA システムの開発などの事例を、チアミン (ビタミン B<sub>1</sub>) の分析システムについて概説する。

ZERI 構想における FIA システムの開発要件は以下の通りである。本領域では、①ゼロエミッション構想、②自然環境保全、廃棄物のゼロエミッション化、資源再利用、省資源化および省力化、③分析プロセスと物質収支、④循環式化、マイクロ化、付加価値化、複合化および高感度化、⑤連続性、簡索性、省資源と省力化、複合化性および Out-put/In-put 評価などが求められる。

我々の未来に対して環境へのダメージのない最も快適なライフスタイル作りを勧める ZERI 構想に則り、著者らは cycFIA の研究を続けてきた<sup>6) 46)</sup>。本項目では、CL 検出と組み合わせた cycFIA を用いた高感度なゼロエミッション型チアミンの分析システムの開発について概説する。

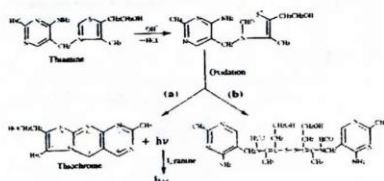


チアミン測定用 cycFIA/CL システムを Fig. 11 に示す。



**Fig. 11 Schematic diagram of the cycFIA/CL system**  
 P: Peristaltic pump (Atto, SJ-1220), S: Sample injector (Kusano Kagaku, 10  $\mu$ l Loop valve, D: Detector (Hamamatsu Photonics, R376 photomultiplier tube), E: Electrometer (Advantest TR-8641), C: Computer system (NEC, PC9801RX connected with NEC-GP1B/TNT board of Japan Instrument Co.), R: Recorder (Rikadenki Kogyo, R-64M). Optimal operating conditions: 10  $\mu$ l injection of thiamine/1.0  $\times 10^{-3}$  M uranine sample and 100 ml of 1.0  $\times 10^{-3}$  M  $K_3[Fe(CN)_6]$ /2.0 M NaOH for CL reagents at flow rate of 7.0 ml/min.

本 CL 反応機構<sup>4,7)</sup> を Fig. 12 に示す。



**Fig. 12 CL reaction scheme**

測定原理は Fig. 12 の反応機構で生ずる CL を計測する。本分析システムで得られた定量下限と実試料分析についての結果は以下の通りである。検出下限は  $1.0 \times 10^{-5}$  M、定量下限は  $2.0 \times 10^{-5}$  M であった。  $2.5 \times 10^{-3}$  M チアミン標準試料を 150 回注入した場合の相対標準偏差 (RSD) は約 2% であった。薬剤試料の分析結果は表示値 ( $6.6 \times 10^{-5}$  M チアミン) と良く一致した。また、本 cycFIA/CL システムの ZERI 構想における評価として排出物量を調べたところ、100 ml の試料溶液で 150 回の分析を行った場合、公定法は約 4000 ml の廃液を生じるが、本法は約 150 ml の少量で充分であった (Table 6 参照)。

ZERI 構想に則った新しい分析システムとして FIA の循環式化が、環境低負荷、省資源化、省力化、省エネルギー化、他産業への資源循環など、持続型自然環境の保全に有用であることが実証された研究例である。

**Table 6 Comparison of some characteristics of the system among the cycFIA/CL (A), the current FIA (B)<sup>4,7)</sup> and official method (C)<sup>4,8)</sup>**

Items	System		
	(A)	(B)	(C)
<b>(1) Analytical aspects</b>			
Sample size	10 $\mu$ l	Continuous flow	15ml
Analytical technique	Closed FIA	Usually use FIA	Spectrometry
Sample frequency	150/100ml	ca. 75/100ml	ca. 2/100ml
Limit of the determination	$2.0 \times 10^{-5}$ M	$2.00 \times 10^{-5}$ M	sub-mg
Reproducibility (RSD)	ca. 2%	< 2%	ca. 2%
Analytical time required	A few sec	ca. 32 sec	Several minutes
Others	Energy transfer	Use of hazardous compound (HCN)	
<b>(2) Characteristics of the system<sup>9)</sup></b>			
<b>CL reagent solution</b>			
i) Volume	100 ml	100 ml	100 ml
ii) Component (Concentration)	NaOH (2M) $K_3[Fe(CN)_6]$ (0.001M) Uranine (0.001M)	NaOH (2M) $K_3[Fe(CN)_6]$ (0.005M)	NaOH (1M~10M) HCl (0.001M) CNBr (ca. 0.01M)
Sample species	Standard/Drug	Standard	Standard
Sample volume	10 $\mu$ l	2.9 ml/min	5 ml
Sample frequency	150	ca. 75	ca. 2
<b>Waste water</b>			
1) Total volume (150 samples)	100 ml	ca. 430 ml	ca. 4000ml
2) Residues after 150 repeated runs			
i) Component	NaOH $K_3[Fe(CN)_6]$ Uranine $K_4[Fe(CN)_6]$ Thiochrome	NaOH $K_3[Fe(CN)_6]$ $K_4[Fe(CN)_6]$ Thiochrome	Unknown — — —
ii) Total amount (150 samples)	< 9 g	< 40 g	<< 500 g
iii) Possible recycling	Uranine	None	None
a) The value for two current methods was estimated to 100 ml of the reagent solution used.			

2. 2. 5 分析技術のスキルフリー化における FIA システム開発<sup>26) 34) -36) 49)</sup>

近年、少子高齢化社会の到来等によって、各種産業分野における熟練分析技術者育成不足や高齢者介護などの福祉支援技術問題等を早急に解決する必要が生じ、技術のスキルフリー化(産業界におけるユニバーサルデザイン化)が不可欠となっている。分析化学分野のスキルフリー化では、簡便かつ安全で、迅速かつコンパクトな、また高度に分析化学を学んでいない分析技術者にも利用可能な汎用型分析システムの開発が重要となる。本領域では、①分析技術のスキルフリー化、②分析技術の普遍化、③分析プロセスの簡素化・簡便化・簡易化および安全化(人的要因)、④新規分析法の創案創製、システムの簡素化・連続化・縮小化および新規分析プロセスの創案創製、分析プロセスのスポット化、操作の簡易化・簡便化・安全化、⑤連続性、単位操作の多様性、簡易・簡便・簡素性、複合性、装置の安全性および原理教育の簡易性などが求められる。鉄鋼分析のスキルフリー化(ホウ素分析<sup>49)</sup>、硫黄分析<sup>26)</sup>)と福祉支援技術のスキルフリー化(ユニバーサルデザイン化：アルミニウムイオン分析)の事例を Fig. 13~Fig. 19 と Table 7 に示す。

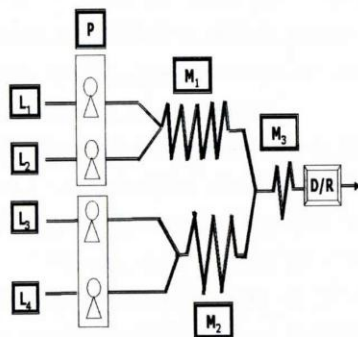


Fig. 13 Continuous flow system for determination of boron in steel by the chemiluminescent detection method  
 $L_1$ - $L_4$ : Flow lines (1 mm i. d. & 2 mm o. d. Teflon capillary tubing), P: Pumps (SJ-1220, ATTO),  $M_1$ - $M_4$ : Mixing coil (1 mm i. d., 2 mm o. d. and ( $M_1$ : 2 m,  $M_2$ : 1 m,  $M_3$ : 5 cm) long Teflon tubing, D/R: Detector (PMT, R453, HAMAMATSU TV: Stabilizer, HTV-C448A: Electrometer, PM-18N, TOA DENPA: Recorder, VP-6531A, MATSUSHITA DENKI).  
 Recommended conditions:  $L_1$ = Sample;  $L_2$ =  $1 \times 10^{-3}$  M D-Sorbitol;  $L_3$ =  $1 \times 10^{-4}$  M Eosin Y,  $2 \times 10^{-3}$  M Didodecyldimethylammonium bromide &  $1 \times 10^{-5}$  M Tetraethylenepentamine;  $L_4$ =  $1 \times 10^{-3}$  M NaOH; Flow rate= 1.5

ml/min for each pump.

ホウ素は以下の反応機構により、水素イオンの化学発光検出<sup>7)</sup>を介して定量的かつ間接的に測定される。

D-ソルビトール+ホウ素→D-ソルビトール・ホウ素錯体+水素イオン 水素イオン+アルカリ→化学発光 (hν)  
 →増感剤色素→色素増感化学発光 (hν計測)

Table 7 Analytical result of some steel samples with the proposed flow system

Sample	JSS-No. 172-7	JSS-No. 173-7	JSS-No. 363-1	JSS-No. 364-1
The proposed	0.0010	0.0042	0.0028	0.0047
System(m/m %)	±0.0001	±0.0001	±0.0001	±0.0002
Certified	0.0010	0.0041	0.0027	0.0045
Value(m/m %)				
Relative error (%)	0.0	2.4	3.7	4.4

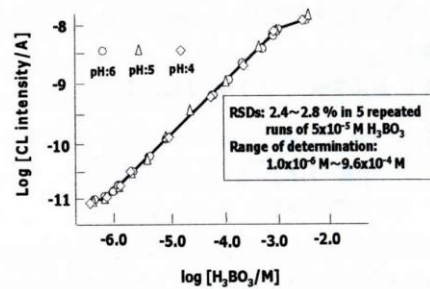


Fig. 14 Calibration curves for boron determination with the proposed flow system

Operating conditions: Same as in Fig. 13. The test sample was prepared with dil. HCl solutions of pH 4 to 6.

連続試料注入法を活用した鉄鋼中のホウ素の CL 検出連続流れ分析システムを創出した。本分析システムは、構造上は連続流れ分析法を活用している関係上簡素であり、また CL 検出法を用いている関係から分析操作や経費面でもそれぞれ簡便かつ低廉である特長を有する。実試料分析でも良好な結果が得られているが、分析を実施する場合に試料溶液の pH が分析結果に影響を及ぼすので、試料溶液の pH を約 4 程度の弱酸性領域に調整して分析を実施することが肝要である。

鉄鋼中の硫黄分析のスキルフリー化のための FIA/CL システムを Fig. 15 (CL 反応セル: Fig. 16) に示した。ポンプ (P) はアトー製 AP-7000 (流量: 10ml/min), エアーポンプ (AP) はニッソー社製  $\mu$  1000 (流量 7.5L/min), 試料 (A) は硫

化水素 (H<sub>2</sub>S), キャリヤー (B) は高純度標準窒素, 試薬溶液 (C) は 8.0x10<sup>-4</sup> M KMnO<sub>4</sub> (pH 2.5 : 硫酸) 及び 1.0x10<sup>-4</sup> M リポラビンリン酸塩 (RFP) である。接触反応器 (内径 100mm の球形ガラスフラスコ) はミスト作成のためネブライザー方式を採用してある。検出器は浜松ホトニクス製定圧電源 (C-3350), 光電子増倍管 (R376) およびピコアンメーター (アドバンテスト製 TR-8641) から構成され, 記録計は EPR-151A (東亜電波工業製) を用いた。

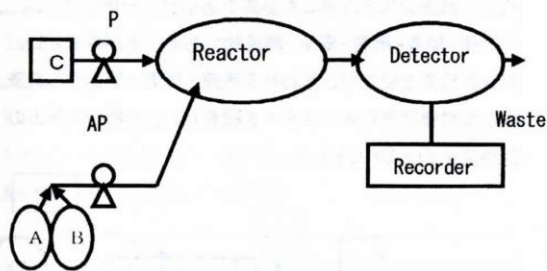


Fig. 15 Flow system with chemiluminescent detection by the mist-reaction method

C: Reagent solution, P: Pump, AP: Air pump, A: Sample gas, B: Highly purified nitrogen. Detail explanation concerning the parts was described in the text.

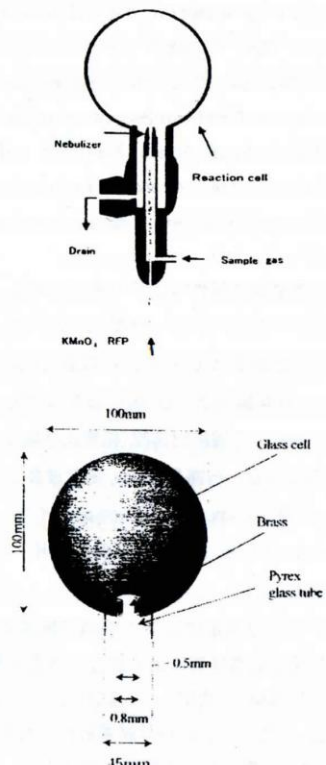
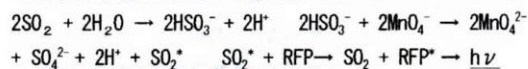


Fig. 16 Chemiluminescent reaction cell

本 CL 反応機構は定かでない, 以下の SO<sub>2</sub>系反応機構に準ずると考えられる。本分析システムでの測定は発生する CL を検出することによって実施する。



最適操作条件下での代表的 CL プロファイルを Fig. 17 に示す。

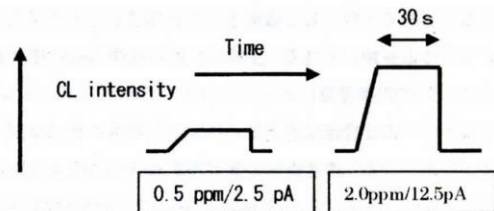


Fig. 17 CL profiles of H<sub>2</sub>S with the proposed system

本分析システムによる定量範囲は (0.5~3.0) ppm で, 選択性も良好である。分析所用時間は 10 秒以内で, 試料処理速度は約 360 試料/1 時間である。分析システムの構築にはやや専門的の要件が求められるが, 分析技術のスキルフリー化には対応できる。なお, 鉄鋼に限らず, 大気などの H<sub>2</sub>S 関連化合物への応用も可能である。

一方, ZERI 構想の FIA 開発でも示したが, FIA システムをスキルフリー化する一つの方法に循環式化がある。循環式 FIA (cycFIA) は, システムが基本的に 1 流路から構成されるので, 簡素で, 操作が容易となり, スキルフリー化が比較的簡単となる。Figure 18 にアルツハイマー疾患との関連が示唆されているアルミニウムイオンの cycFIA を, またユニバーサルデザイン化した分析システムの模式図を Fig. 19 に示した。

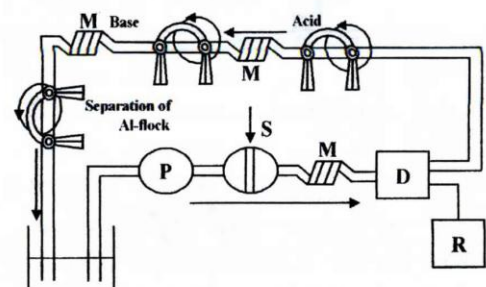


Fig. 18 The cyclic FIA system for determination of aluminum ion

P: Pump, S: 100 μl sample injector, M: Mixing coil, D: Detector, R: Recorder. Operating conditions: 3.0x10<sup>-4</sup> M Chromazurol S 0.02 M Cetyltrimethylammonium chloride. Flow rate: 5.0ml/min. Mixing coil: 100cm.

アルミニウムイオン用 cycFIA システムの構成部品は, 検出器 (D): 相馬光学製可視検出装置 S-3210 型, 試料注入器 (S): 草野科学製 100 μl 試料注入バルブ, ポンプ (P):

アトー(株)製ペリスタポンプSJ-1220型を用い、流路および反応コイルには内径1mm、外径2mmのタイゴン製細管を使用した。操作用のスイッチ等はPush式で誰にでも使用し易いようにユニバーサル化してある。

本FIAシステムの測定原理は本複合錯体の形成がpHに依存しているの、酸と反応させることにより分解が可能となる。本システムでは分解後のアルミニウムフロック形成も含めて、酸として硫酸を、また塩基として水酸化ナトリウムを用いてある。生成した複合錯体の吸収極大波長は、pHや試薬濃度によってシフトするので、アルミニウムイオンの比色定量を進めるには分析条件の厳格な調整が必要となる。複合錯体の安定性を620nmの極大波長を用いて検討したところ、pH領域5.9~6.2の比較的広範囲で安定な複合錯体が形成される知見を得た。従って、当該分析システムにおけるアルミニウムイオンの捕獲に伴う過剰の酸の中和は、上記pH範囲で循環試薬の液性を保てばよい。

アルミニウムイオン濃度と複合錯体の吸光度値とから検量線を作成したところ、 $1.0 \times 10^{-3} \text{ M} \sim 5.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ の範囲で直線関係が得られた。また、アルミニウムイオン濃度を $1.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ とし、循環式FIAによる試料分析回数について検討した結果、分析回数が増えるに伴い多少ベースラインの上昇が認められたが、 $100 \mu\text{l}$ 試料注入法による20回の繰り返し測定が可能であった。FIAを循環式化することで簡素かつ操作の簡便な分析システムが構築できている。

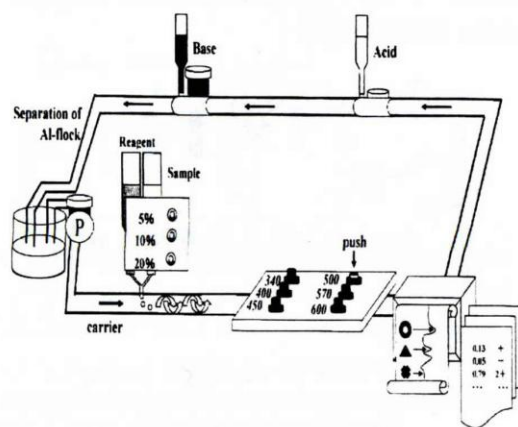


Fig. 19 Universal designed cyclic FIA system for determination of aluminum ion

The parts used were same as in Fig. 18 except for switches.

本開発要因は、FIAの有する分析特性(操作が簡便かつ容易、システムが簡素、経済的および安全など)に依るところが大きい。従って、ユニバーサルデザイン化を容易に達成することが可能であった。

ところで、ユニバーサルデザイン等は技術や産業分野にのみ留まらず、著者らの推奨してきた“福祉科学”の一つに属する先端介護等の福祉分野にも必要とされる。例えば、食材の管理や輸送システム、あるいは薬剤投与の自動化や輸送システム等にも必要であるが、分析システムが簡便・簡素・簡易・安全・経済的であることが好ましい。福祉施設等で役立つと思われる簡便・簡素・簡易かつ経済的な食材管理用FIAシステムを開発した。分析システムの流路図をFig. 20に示した。

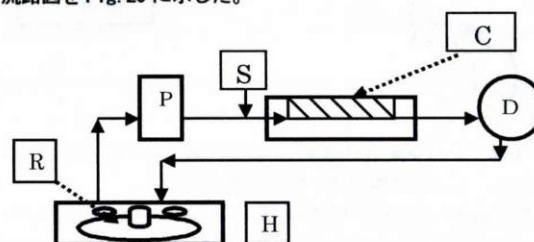


Fig. 20 Cyclic FIA system for iodide ion determination by spectrophotometric detection method

R: Reservoir, P: Pump, S: Sample injector, C: Reaction and mixing coil, D: Detector, H: Hot plate. Recommended operating conditions: Flow rate, 2.5 ml/min; Reagent solutions: 0.3 M  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0.5 M HCl, 0.5 m/m % starch. Others: 7.6 mm i. d. and 60 cm long tubing for pump and 1.0 mm i. d. and 120 cm long tygone tubing for the line were used. Detail explanation concerning the parts was described in the text.

各パーツと最適操作条件は以下の通りである。ポンプP: ペリス式ミニポンプ(アトー社製SJ-1220型)、試料注入器S:  $100 \mu\text{l}$ 定容量バルブ(草野科学製 $100 \mu\text{l}$ 型)、恒温槽T: ヤマト科学製BK300型(設定温度 $30^\circ\text{C}$ )、検出器D(恒温槽内に設置): 可視検出装置(相馬光学製S-3210型、フローセル: 容量 $8 \mu\text{l}$ 、行程長10mm、測定波長570nm)、反応コイルC: 内径1.0mm、長さ100cmのタイゴン製チューブ、試薬貯めR: 300mlピーカー、保温器H: マントルヒーター(自作、 $60^\circ\text{C}$ )。

ヨウ化物イオンの測定は以下の手順で実施する。ヨウ素・デンプン反応の温度差による呈色/退色挙動(温度制御スイッチング機構)を活用し、①試料注入→②第1回目の分析(低温:呈色)→③試料は試薬貯めに移動(加温:退色)→④2回目の分析→⑤以下同様に実施する。

本分析システムの分析化学的特性は以下の通りである。

定量範囲:  $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$  ~  $5.0 \times 10^{-4} \text{M}$  (相対標準偏差 1%以内);  
 選択性は良好である; 分析所用時間: 30 秒以内; 試料処理  
 能力: 試薬 100ml 当たり 50 回分の測定が可能である。

本分析システムによる海藻類の実試料分析の結果と資  
 材の活用状況を汎用法のチオ硫酸ナトリウム滴定法<sup>50)</sup>と  
 比較してそれぞれ Table 8 と Table 9 に示す。

Table 8 Analytical result of some seaweed samples  
 with the proposed system

Sample	Cyclic FIA	Range <sup>a)</sup>	The titration method <sup>b)</sup>
Hijiki	0.71 mg/g	±0.01	0.72 mg/g
Kelp	1.50 mg/g	±0.02	1.51 mg/g
Wakame	0.20 mg/g	±0.02	0.22 mg/g

a): 3 times repeated runs, b): The hyposulfite titration  
 method.

Table 9 Comparison of the reagent consumption between  
 the proposed method and the hyposulfite  
 titration method

Reagent	The proposed method	The titration method
HCl	23 mg	5500 mg
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	—	80 mg
Starch	6 mg	500 mg
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	13 mg	—
KIO <sub>3</sub>	—	5400 mg

本分析システムは、チオ硫酸ナトリウム滴定法と比べ  
 約 300 倍の試薬量と数十倍の分析所要時間の節減ができる。  
 操作が簡単で安全であるので、福祉科学分野 (ユニバーサ  
 ルデザイン化や食材管理分析等)にも適応できる。なお、  
 本 FIA システムは循環式となっており、環境への配慮もさ  
 れている。

本 FIA システムは、環境と福祉の両分野に役立つハイブ  
 リッド型の分析システムと言える。とりわけ、本領域では  
 伝統性や人の安全性や尊厳に係わる要件を含んだ FIA シス  
 テムの構築が求められており、物質から人や生き物へ重  
 きを置いた分析科学が求められていることを示唆する事  
 象の一例と思われる。

### 3. まとめ

トピックな学術研究事項に対応した FIA システムの開発  
 研究に着目し、それらの経緯を横断的に考察して FIA の進  
 歩や発展について一部であるがまとめた。

FIA の有用性や発展を将来的に一層高めるには、FIA の  
 有する基本的特徴、①簡便性、②安全性、③化学のあら  
 ゆる単位操作や反応などの諸現象を導入可能なこと、④  
 経済性、⑤汎用性、⑥理解しやすい原理や理論などを継  
 承し、また⑦人の安全性や環境保全、さらには⑧生物多  
 様性 (COP10)に係わる科学などの将来予測される新領域が  
 求める要件との整合性をデザインできるかなどに基づい  
 た FIA 教育や研究が必要と思われる。従って、FIA は化学  
 計測学的利用に留まらず、環境分野や福祉分野は元より、  
 新領域である環境福祉学 (福祉科学など)にも応用できる  
 要素は大きく、前述したようにいくつかの事例報告も既  
 に存在している。FIA の大きな特長は、連続した流れの中  
 で動的に諸現象を解析できるところにある。連続した動的  
 解析と新しい科学的諸現象の解明との連携をデザインで  
 きれば今後大きな進歩発展が期待できるとと思われる。

本論文が、今後の FIA の発展と新規領域への積極的な展  
 開の礎となればこの上ない喜びである。

### 文 献

- 1) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 35, 373 (1986).
- 2) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 35, 379 (1986).
- 3) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 35, 542 (1986).
- 4) M. Ishii, M. Yamada, S. Suzuki: *Anal. Lett.*, 19(16A), 159 (1986).
- 5) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 35, 955 (1986).
- 6) 石井幹太, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 36, 316 (1987).
- 7) 石井幹太, 大久保直子, 馬場民恵, 山田正昭, 鈴木繁喬: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), 38, 53 (1989).
- 8) 石井幹太, 馬場民江, 山田正昭: *Bunseki Kagaku*, 38, T35 (1989).
- 9) M. Ishii: *Anal. Sci.*, 7, 703 (1991).
- 10) M. Ishii, Y. Ohno, T. Hobo: *Anal. Sci.*, 7,

- 873 (1991).
- 11) Y. Ohno, T. Hobo, R. Tamura, M. Ishii: *Anal. Sci.*, **8**, 647 (1992).
  - 12) 石井幹太, 白井理子: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **41**, 125 (1992).
  - 13) 石井幹太, 三浦正年, 佐藤純: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **41**, 157 (1992).
  - 14) 石井幹太, 伊藤恭一: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **41**, 433 (1992).
  - 15) 石井幹太, 赤井朋子, 穴澤安代: 日化誌(*Nihon Kagakukaishi*), **1992**, 1332.
  - 16) 石井幹太, 高橋亨, 馬場崎晋一: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **41**, 617 (1992).
  - 17) 石井幹太, 小池充: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **42**, 173 (1993).
  - 18) 石井幹太, 田村理佐子, 大野陽一, 保母敏行: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **42**, 183 (1993).
  - 19) M. Ishii, M. Suyama, R. Tamura, Y. Ohno, T. Hobo: *Anal. Sci.*, **9**, 233, 1993.
  - 20) 石井幹太, 内田英隆: 日化誌(*Nihon Kagakukaishi*), **1993**, 845.
  - 21) M. Ishii, K. Itoh, Y. Yoshihiro, T. Nakamura: *Anal. Chim. Acta*, **299**, 269 (1994).
  - 22) M. Ishii, M. Takimoto, T. Miyakosi, T. Nakamura: *Anal. Sci.*, **11**, 79 (1995).
  - 23) 石井幹太, 武藤雅貴, 中村利廣: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **44**, 91 (1995).
  - 24) M. Ishii, M. Kawashima: *J. Flow Injection Anal.*, **15**, 25 (1998).
  - 25) 石井幹太, 小沼洋明, 篠崎陽子: FIA 研究懇談会誌, **16**(Supplement), 83 (2000).
  - 26) 臣直毅, 加藤優美, 石井幹太, 山田正昭: 鉄と鋼 (*Tetsu to Hagane*), **89**, 102 (2003).
  - 27) 石井幹太, 大高宏, 勝目卓朗: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **25**, 561 (1976).
  - 28) 石井幹太, 大高宏, 勝目卓朗: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **25**, 861 (1976).
  - 29) 石井幹太, 大高宏, 勝目卓朗, 鈴木繁喬: 臨床病理 (*Rinsyo Byori*), **26**, 263 (1978).
  - 30) 石井幹太: 杏林医学会雑誌, **12**, 329 (1981).
  - 31) 石井幹太, 鈴木繁喬: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **30**, 342 (1981).
  - 32) 石井幹太, 梶敬治: *Kyorin Igakukai Zasshi*, **13**, 411, 1982.
  - 33) 石井幹太, 鈴木繁喬: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **31**, 146 (1982).
  - 34) 加藤優美, 石井有為, 藤岡慎司, 石井幹太, 山田正昭: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **53**, 275 (2004).
  - 35) 加藤優美, 石井有為, 若尾良平, 天野嘉和, 石井幹太, 山田正昭: 分析化学(*Bunseki Kagaku*), **53**, 827 (2004).
  - 36) 加藤優美, 石井有為, 川嶋昌利, 石井幹太: 静岡福祉大学紀要, **2005**, 13.
  - 37) 石井幹太, 小松朋恵, 小林智博, 末広貴生子, 赤堀有美: 静岡福祉大学紀要, **2009**, 37.
  - 38) 藤田純弥, 森平慎吾, 石井幹太: "緊急用簡易型汚濁水浄化製品の創案研究", 静岡福祉大学卒業論文, **2008**(未発表).
  - 39) 末広貴生子・平塚儒子: 第10回日本介護福祉教育学会発表抄録集, p.100 (2003).
  - 40) 西尾祐吾, 末広貴生子: "社会福祉援助技術—保育・介護を学ぶ人々のために", p.10, p.19, p.37 (2008), (晃洋書房).
  - 41) 日本規格協会編: "JISハンドブック, 公害関係, JIS K 0101, アンモニウムイオン, 吸光度法", p.855 (1980).
  - 42) 日本規格協会編: "JISハンドブック, 公害関係, JIS K 0101, アンモニウムイオン, イオン電極法", p.859 (1980).
  - 43) 猪股宏: 応用物理(*Ouyo Butsuru*), **64** (8), 825 (1995).
  - 44) 赤星亮一: "香料の化学", p.281 (1985), (大日本図書).
  - 45) A. Bernreuther, N. Christoph, P. Schreier: *J. Chromatogr.*, **481**, 363 (1989).
  - 46) M. Ishii: FIA 研究懇談会誌, **12** (2), 143 (1995).
  - 47) N. Grekas, A. C. Calokerinos: *Talanta*, **37**, 1043 (1990).
  - 48) *Pharmacopoea Japonica*: "Official method for Thiamine hydrochloride", p.424 (1986), (廣川).
  - 49) 石井幹太, 小松朋恵, 末広貴生子, 山田正昭: 材料とプロセス(*CAMP-ISIJ*), **23**, 718 (2010).
  - 50) 菅原 健, 道野鶴松: "基礎応用定量分析", p.92 (1979), (朝倉書店).

(Received November 1, 2010)