



## 1. はじめに

酸化還元滴定法は、多くの有機・無機の酸化還元性成分の定量法として、化学実験室、研究室あるいは生産現場で広く用いられている。この滴定分析法は言うまでもなく、試料に添加した酸化還元指示薬の変色や酸化還元電極の急激な電位変化より当量点を検出し、当量点までに加えた滴定剤の容積より定量するものである。この酸化還元滴定の迅速化のためにこれまでに二、三の自動滴定装置が開発されているが、滴定剤との反応が遅い試料については、なお手操作を必要とする場合も少なくなく、一般に時間のかかる方法である<sup>1,2)</sup>。

しかし、この滴定分析を流れ系で行うことができれば、分析はさらに迅速となり、またオンライン・モニタリングへの応用も期待できる。従って、流れを利用する電位差滴定分析の試みが、多くの研究者によってなされてきた<sup>3)~9)</sup>。Blaedelら<sup>3)</sup>は、試料を一定流量で加え、滴定剤の流量を変えながら送液し、それらの混合液が当量組成になるときの滴定剤流量を電極検出器で見出す方法を報告している。すなわち、この方法によれば、滴定剤流量が定量の尺度となる。Fleetら<sup>4)</sup>は「勾配 (Gradient) 滴定法」を考案している。すなわち濃度勾配をつけた滴定剤の流れと試料流れを一定流量で送液し、それらの混合液の組成変化を電極でモニターするものである。この場合、山形の電位-時間応答曲線が得られるが、曲線の上昇部分と下降部分の間の「時間幅」が試料濃度と比例するので、これを測定し、定量する。この方法では1検体当たり5~6分を要する。Ruzickaら<sup>7,8)</sup>はFIA研究の初期から滴定分析法のFIA化を検討している。彼らの方法はFleetらと同様に勾配滴定法といえるが、流れの中に注入された試料が指数関数的な濃度勾配をもった試料ゾーンとなることを利用している。すなわちFIAマニホールドに滴定剤を含む試薬溶液を流しつつ、これに試料液を注入する。この際、試薬溶液の液性(pHなど)は試料注入により変化するが、この時点から試料と滴定剤との反応によって液性が元に戻る時点までに加えられる試薬溶液の容積(「ピーク幅」に相当する)が定量に用いられている。この方法では「ピーク幅」を定量尺度とするためFIA法の迅速性が低下することがあり、また真の意味では連続分析法ではなく間欠分析法である。Pungor<sup>9)</sup>らは「Triangle Programmed Titration」法を提案し、銀滴定に応用している。この方法では、滴定剤の銀イオンを電気化学的に発生させ、その時間的濃度変化を三角形にプログラムしている。試料の塩化物イオンと発生した銀イオンとの反応により減少した銀イオンを銀イオン電極でモニターし、二つの当量点の間隔(「ピーク幅」)を測定し、定量するものである。これに対して、Astrom<sup>10,11)</sup>は「ピーク幅」ではなく「ピーク高さ」を定量尺度とする「Single Point Titration」法を考案している。この場合の試薬流れには、溶液のpHが加えられた試料の酸や塩基の量に対して直線的に変化するように調製した溶液を用いている。彼らの方法ではガラス電極の電位変化をピーク高さとして検出するもので、分析速度は極めて速く、キャリア液の流量を増加することにより720 sample/hrの分析速度を実現している。

一方、著者ら<sup>1,2)</sup>も、容量分析に用いられている反応を利用するフローインジェクション分析法について、その迅速化を検討した。始め、通常は滴定終点の検出に用いられている指示薬の代わりに、pH緩衝液中で呈色変化を示す指示薬、すなわちpH緩衝液の弱酸と同程度の酸解離定数をもつ指示薬を用いる方法を案出した。この方法により

試料と緩衝液との反応により生じる緩衝液中の僅かのpH変化も呈色指示薬の比較的大きい吸光度変化より、試料の酸あるいは塩基を感度良く検出できること、また緩衝液の濃度変化により低濃度から高濃度までの試料に適用できることを指摘した。著者らはさらに金属キレート指示薬を含む金属イオン濃度緩衝液を用いて金属イオンのフローインジェクション分析にも応用した<sup>12)</sup>。つづいて著者らは、以上の緩衝液を利用するフローインジェクション分析法において、指示薬の代わりに電極電位の変化を利用する方法を検討した<sup>13, 14, 18)</sup>。すなわち、緩衝液中では電極電位は極めて安定であるが、このことは僅かの緩衝液組成の変化にともなう小さい電位変化でも再現性よく検出できることを意味するので、これを利用する高感度なFIA法の可能性が期待される。この方法は指示薬が不要である点で分析法としてより簡便であるなどの利点ももっている。よって著者らは、pH、金属イオンおよび酸化還元電位の変化に応答する電極を用い、電位差検出法に基づくフローインジェクション分析法を展開した。本総説では、このうちで酸化還元滴定法に用いられている反応を利用したフローインジェクション電位差分析法について検討した結果をまとめて示す。

## 2. 酸化還元系電位緩衝液を用いる電位差分析の方法論とその特徴

### 2.1 本法の方法論<sup>18)</sup>

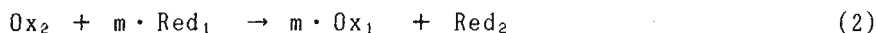
電位差分析法は、電極電位に関するネルンスト式に基礎をおく分析法である。本法では共役な一対の酸化体と還元体からなる電位緩衝液の流れを用いている。これに酸化還元性の試料を加えると緩衝液成分との反応により緩衝液の組成が変化するが、この変化を酸化還元(ORP)電極の電位変化として検出し、この電位変化から試料濃度を求めることができる。

Fig. 1に典型的な二流路のフロー分析システムの模式図を示す。酸化剤試料の分析を例とする。一方の流路(R. S.)に共役な酸化体と還元体( $Ox_1 - Red_1$ )からなる電位緩衝液を、他方の流路(C. S.)に試料のキャリアーとして水を流す系を考える。流量はそれぞれ $V_R$ 、 $V_C$ (ml/min)とする。FIA法(Fig. 1(b))では水の流れの中に試料を注入しているが、理論的計算の簡単化のために、Fig. 1(a)に示すように試料溶液を連続的に流す場合を考える。試料の代わりに水が流れている場合のORP電極の電位がベース電位 $E_1$ (V)となり、これはネルンスト式(1)で表される。

$$E_1 = E^{\circ} + \frac{0.059}{n} \log \frac{[Ox_1]}{[Red_1]} \quad (V) \quad (25^{\circ}C) \quad (1)$$

ただし、 $E^{\circ}$ は濃度基準の見かけの標準電位で、 $n$ は電位緩衝液に含まれる酸化還元対の酸化還元反応に関与する電子数である。 $[Ox_1]$ 及び $[Red_1]$ はそれぞれ緩衝液中の酸化体及び還元体の濃度である。緩衝液は水で希釈されるが、電位は活量係数を一定とすると変化しない。

次にC. S.の流路に濃度 $[Ox_2]$ の酸化剤試料を連続的に流すとC点で緩衝液と混合し、緩衝液中の還元体( $Red_1$ )が酸化される(式(2))。



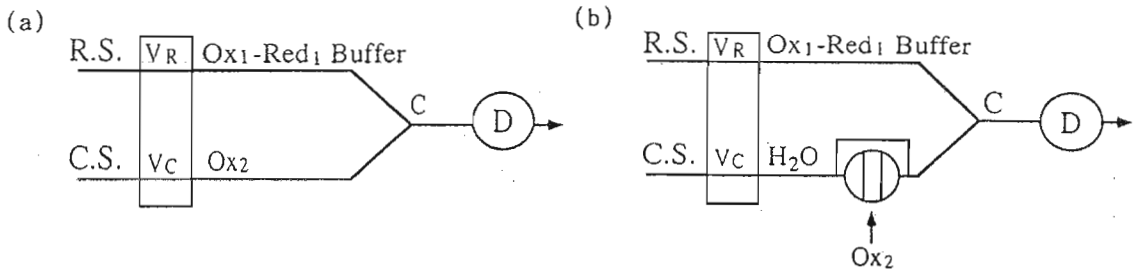


Fig. 1 Schematic diagram for a continuous flow analysis (a) and a flow injection analysis (b)

ここで、 $m$ は1モルの $Ox_2$ を還元するのに要する $Red_1$ の反応モル数である。式(2)の反応が完結すると、電位緩衝液中の濃度比 ( $[Ox_1]/[Red_1]$ )の変化に対して、ORP電極の電位 $E_2$ は式(3)で表される。

$$E_2 = E^\circ + \frac{0.059}{n} \log \left\{ \frac{[Ox_1] \cdot V_R + m \cdot [Ox_2] \cdot V_C}{[Red_1] \cdot V_R - m \cdot [Ox_2] \cdot V_C} \right\} \quad (3)$$

R.S.とC.S.の流量比を $V_R/V_C = 1$ とすると、ベース電位からの電位変化 $\Delta E (= E_2 - E_1)$ は式(4)で表される。

$$\Delta E = \frac{0.059}{n} \log \left\{ \frac{1 + m \cdot [Ox_2]/[Ox_1]}{1 - m \cdot [Ox_2]/[Red_1]} \right\} \quad (V) \quad (4)$$

式(4)における電位変化 $\Delta E$ と試料の酸化剤濃度 $[Ox_2]$ との関係は電位緩衝液の組成、すなわち $[Ox_1]/[Red_1]$ の濃度比によって変化する。例えば、Fig. 2は $[Ox_1]/[Red_1]$ の濃度比を0.05~10の範囲で変えた場合の、式(4)の計算曲線で、 $\Delta E$ と $[Ox_2]$ の関係を示

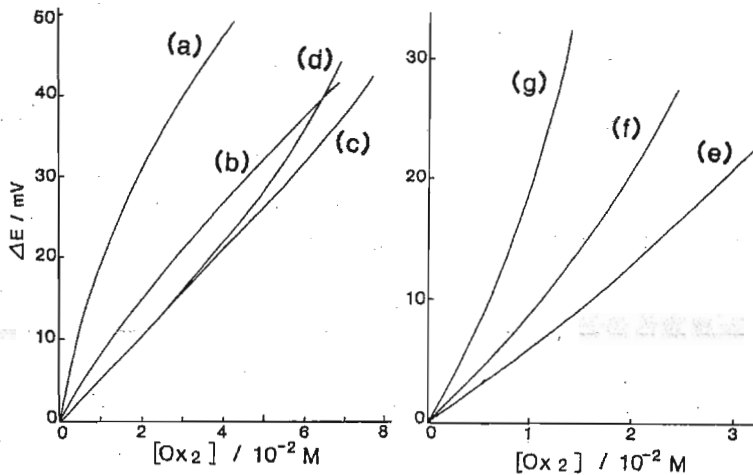


Fig. 2 Theoretical curves of Eq. (4).  $[Ox_1] + [Red_1] = 0.2 M$ ,  $m = n = 1$ . Molar ratio of  $[Ox_1]/[Red_1]$ : (a) 0.05, (b) 0.2, (c) 0.5, (d) 1, (e) 2, (f) 4, (g) 9. Reaction (2) was assumed to be completed.

す。この場合、式(2)の酸化体と還元体の全濃度(=[Ox<sub>1</sub>]+[Red<sub>1</sub>])を0.2 M, m = n = 1 としている。濃度比([Ox<sub>1</sub>]/[Red<sub>1</sub>])が0.5付近の場合、電位変化ΔEと酸化剤濃度 [Ox<sub>2</sub>]との関係に最も広い直線関係が得られる(Fig. 2(c))。濃度比の値が小さくなると上に凸形、濃度比が大きくなると下に凸形の曲線を示す。試料(S)を注入するFIA法(Fig. 1(b))の場合には、電位変化はピーク状信号として検出され、そのピーク高さの評価には注入してから検出器に到達する間の試料ゾーンの希釈を考慮する必要があり、希釈度(または分散度)をDとすると式(4)の関係は式(5)となる。

$$\Delta E = \frac{0.059}{n} \log \left\{ \frac{1 + m \cdot [Ox_2]/(D \cdot [Ox_1])}{1 - m \cdot [Ox_2]/(D \cdot [Red_1])} \right\} \quad (V) \quad (5)$$

試料が還元剤の場合、電位変化は式(5)の分子、分母の符号を変えることにより得られる。

## 2.2 本法に適した電位緩衝液の探索

Table 1に主な酸化還元系の標準電極電位を示す。

Table 1 Standard electrode potentials\*

Redox systems	E° (V)
F <sub>2</sub> + 2e ⇌ 2F <sup>-</sup>	2.8
Ce <sup>4+</sup> + e ⇌ Ce <sup>3+</sup>	1.68
MnO <sub>4</sub> <sup>-</sup> + 8H <sup>+</sup> + 5e ⇌ Mn <sup>2+</sup> + 4H <sub>2</sub> O	1.51
Cl <sub>2</sub> + 2e ⇌ 2Cl <sup>-</sup>	1.41
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>2-</sup> + 14H <sup>+</sup> + 6e ⇌ 2Cr <sup>3+</sup> + 7H <sub>2</sub> O	1.33
O <sub>2</sub> + 4H <sup>+</sup> + 4e ⇌ 2H <sub>2</sub> O	1.23
IO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 6H <sup>+</sup> + 5e ⇌ 1/2I <sub>2</sub> + 3H <sub>2</sub> O	1.20
Br <sub>2</sub> (aq) + 2e ⇌ 2Br <sup>-</sup>	1.09
Br <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 2e ⇌ 3Br <sup>-</sup>	1.05
Fe <sup>3+</sup> + e ⇌ Fe <sup>2+</sup>	0.77
I <sub>2</sub> + 2e ⇌ 2I <sup>-</sup>	0.54
Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup> + e ⇌ Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-</sup>	0.36
Sn <sup>4+</sup> + 2e ⇌ Sn <sup>2+</sup>	0.14
2H <sup>+</sup> + 2e ⇌ H <sub>2</sub>	0

\* W. M. Latimer, Oxidation Potentials, 2nd ed., Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J., 1952

Table 1の中で本分析法に利用できる電位緩衝液としては、電極反応が可逆で、電極電位と酸化還元系の化学種の濃度がNernst式によって関係づけられる系が望ましい。又、E°の値の大きさから、分析の目的成分に適した酸化還元系電位緩衝液を選択することができる。ここでは、酸化還元滴定の1次標準物質や被標定溶液としてよく利用される酸化還元対について、それらが本法の酸化還元系緩衝液として利用できるかどうか検討した。まず、硫酸酸性溶液中でのFe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup>系やCe<sup>4+</sup>-Ce<sup>3+</sup>系あるいは塩基性溶液中の[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>-[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>系について、それらの組成とORP電極の電位との関係を調べた。緩衝液中の酸化体と還元体の濃度比を0.1~10の範囲で変化させて、ORP電極のネルンスト的応答性を検討した結果、Fe<sup>3+</sup>-Fe<sup>2+</sup>系やCe<sup>4+</sup>-Ce<sup>3+</sup>系の場合、組成変化に対する平衡電位への応答は迅速であり、緩衝液の全濃度0.1 M - 10<sup>-3</sup> Mの範囲でORP電極の電位はネルンスト的応答を示した。又、[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>-[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup>系場合は、緩衝液全濃度が10<sup>-5</sup> Mオーダーまでもネルンスト的応答が得られ、電位の安定性が高

いことがわかった。一方、水素イオンが関与する系のうち $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}-\text{Cr}^{3+}$ 系( $\text{Cr}_2\text{O}_7$ 系)や $\text{MnO}_4^--\text{Mn}^{2+}$ 系( $\text{MnO}_4$ 系)の場合について、酸化体と還元体の濃度比の異なる試料液に対するORP電極の電位の経時変化を調べた。その結果をFig. 3(B), (C)に示す。Fig. 3(A)はFe系( $\text{Fe}^{3+}-\text{Fe}^{2+}$ 系)の応答電位である。このFe系の場合、種々の濃度比((3)  $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ (1:1), (2)(3:1), (1)(9:1))の緩衝液に対するORP電極の応答電位は溶液組成変化後約3分程度で平衡電位に達する。これに対して、 $\text{Cr}_2\text{O}_7$ 系(B)及び $\text{MnO}_4$ 系(C)とも応答電位の経時変化が大きく、一定な電位を与えない。とくに、 $\text{MnO}_4$ 系の場合、緩衝液濃度が高くなると溶液中に $\text{MnO}_2$ の沈澱生成が著しい。したがって、 $\text{Cr}_2\text{O}_7$ 系及び $\text{MnO}_4$ 系の混合溶液は本法の電位緩衝液としては適しない。 $\text{Cr}_2\text{O}_7$ 系及び $\text{MnO}_4$ 系における不安定な応答電位はもともとこれらの反応は可逆的でなく、また条件によっては異なる化学種を生成するためと考えられる。

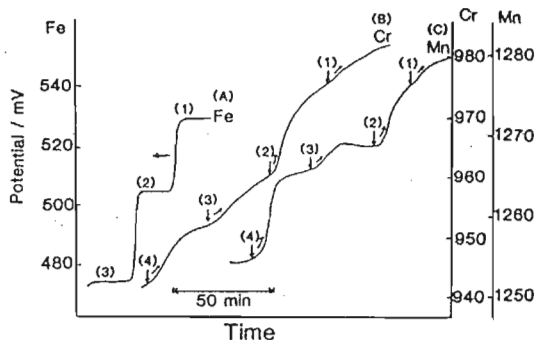


Fig. 3 Stability of ORP electrode potential in several redox buffers  
 Total concentrations of buffers: (A)  $2 \times 10^{-2}$  M  $\text{Fe}^{3+}-\text{Fe}^{2+}$ ;  
 (B)  $2 \times 10^{-2}$  M  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}-\text{Cr}^{3+}$ ; (C)  $2 \times 10^{-3}$   $\text{MnO}_4^--\text{Mn}^{2+}$   
 Molar ratio of oxidant to reductant in redox buffer:  
 (1) 9 : 1, (2) 3 : 1, (3) 1 : 1, (4) 1 : 3

### 2.3 本法の特徴

電位緩衝液を用いる本FIA法は、次のような特徴を有している。

- (1) 緩衝液の利用によりORP電極は安定なベースライン電位を示す。その結果、微小の電位変化を感度良く検出できる。
- (2) 電極応答が速く、再現性が良好である。
- (3) 緩衝液の緩衝作用の大きい組成の付近では、電位変化が試料濃度に直接比例する。
- (4) 緩衝液濃度の調整により極めて広い濃度範囲の分析が可能である。
- (5) 電極に直接応答しない成分の間接分析が可能である。
- (6) 連続分析や液体クロマトグラフ法への応用が可能である。

流れ系を利用する酸化還元性成分の電位差分析法として、著者らとやや類似の二、三の報告があるので、それらについても紹介しておく。Porter<sup>15)</sup>ら及びBrunt<sup>16)</sup>は白金電極あるいはグラファイト指示電極を用いてオートアナライザー(空気分節方式)による流れ系での還元糖の定量について報告している。Porterらは、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ による還元糖の酸化反応を利用し、試薬溶液流れとして $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ を用い、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ の減少量を電極で検出している。BruntはPorterらと同様のシステムを用いているが、試薬溶液にわずかの $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ を加えている。またKarlberg<sup>17)</sup>らは、白金電極を検出器とするFIA法により鉄(II)やセリウム(IV)の定量を行なっているが、試薬溶液流れとしては前者らと同様に酸化体あるいは還元体のいずれか一方を用いており、著者らのような電位緩衝液を用いていない。

### 3. 酸化還元系電位緩衝液を用いる分析例

#### 3.1 単純な酸化還元反応を利用する分析<sup>18)</sup>

##### 3.1.1 過酸化水素の分析

Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液の流れを用いた場合のフロー系と過酸化水素の検量線ピークをFig. 4に示す。反応式(6)に示すように過酸化水素は緩衝液中のFe(II)を酸化し、電位緩衝液の組成を変化させる。この変化をORP電極で検出する。



2項で述べたように、本法の分析感度は電位緩衝液の濃度及びそれを構成する酸化体と還元体の濃度比に依存するが、流れの中での試料の分散度にも依存する。Fig. 4に示す検量線ピークは、0.4 M(1 : 1)Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液を用い、試料注入量を1  $\mu$ lとした場合に得られたもので、流れの中で試料を約20~50倍に分散させることにより、約10 M(30%)の高濃度な分析が直接可能である。濃度1  $\times 10^{-3}$  M(1 : 1)の電位緩衝液を用いることにより10<sup>-4</sup> Mレベル過酸化水素の分析も可能である。過酸化水素のほか、二クロム酸、過マンガン酸やセリウム(IV)などの酸化剤の分析も可能である。

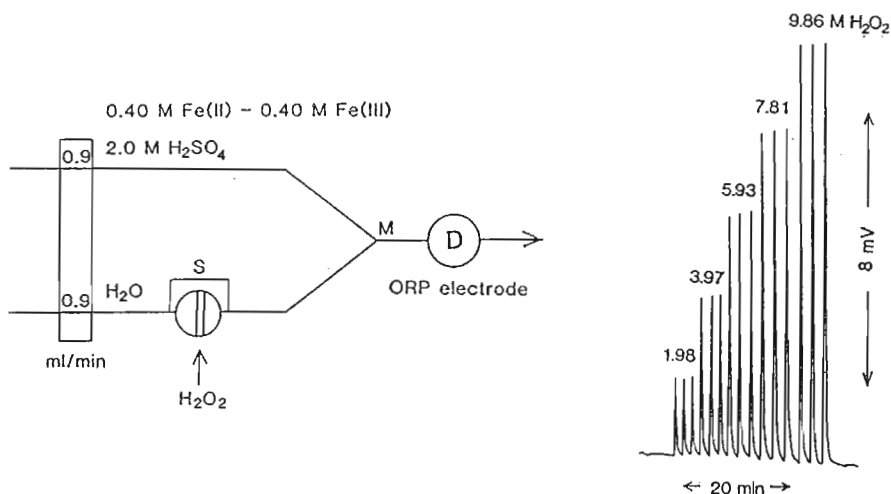


Fig. 4 Schematic diagram for determination of hydrogen peroxide and flow injection peaks  
Coil length and diameter: S-M 40 cm, 0.5 mm i. d. ; M-D 235 cm, 0.5 mm i. d. ; Sample volume: 1  $\mu$  L

##### 3.1.2 シュウ酸及びヒドラジンなどの分析

Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液を用いることにより、アスコルビン酸やシュウ酸などの還元剤の分析も可能であるが、Fe(III)の酸化力はシュウ酸を完全に酸化できるほど強くはないので、シュウ酸に対する感度はアスコルビン酸に比べて低い。またFe(III)-Fe(II)系電位緩衝液を用いてヒドロキシルアミンやヒドラジンを分析できなかった。酸化還元電位がさらに高いCe(IV)-Ce(III)系電位緩衝液を用いることにより、十分感度良くシュウ酸やヒドラジンを定量することができる。フロー系と検量線ピークをFig. 5に示す。

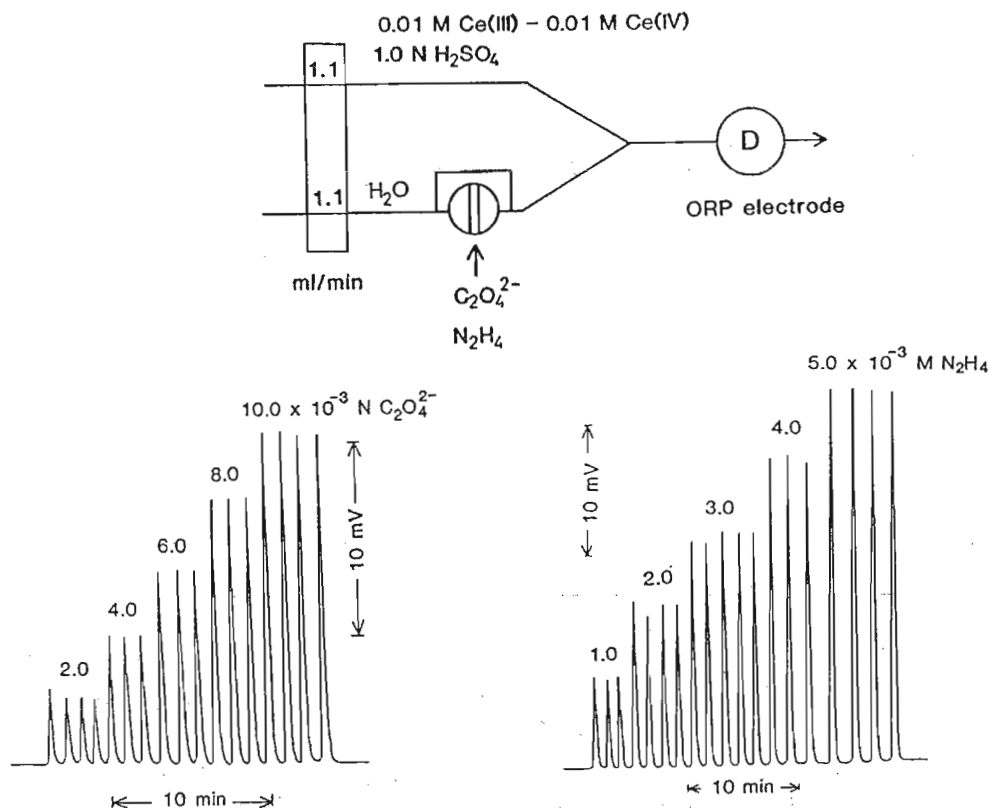


Fig. 5 Schematic diagram for determination of oxalic acid and hydrazine and flow injection peaks  
 Coil length and diameter: S-M 40 cm, 0.5 mm i.d.; M-D 80 cm, 0.5 mm i.d., Sample volume: 100  $\mu$ L

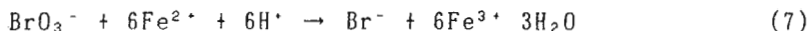
### 3.2 反応中間体を利用する電位差分析の高感度化<sup>19,28)</sup>

反応時間の制御が容易であることはFIA法の特長の一つである。ここではこの特徴を生かして、Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液とハロゲン化酸素酸試料との酸化還元反応により生成する酸化還元電位の高い反応中間体（塩素や臭素）を検出することによって、ハロゲン化酸素酸イオンの分析の高感度化を行なった例について述べる。

#### 3.2.1 臭素酸イオンの分析

臭素酸イオンは食品添加物として食パン製造用の小麦粉や魚肉ねり製品の品質改良剤などに使用されているが、食品中の残存量分析はそれらの安全性評価において重要な項目とされている。そこで臭素酸イオンの微量分析法を検討した。バッチ系において、Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液に臭素酸イオンを添加すると、Fig. 6に示すようにORP電極の電位変化は過渡的過程において極大を経て減少し、約8分後にはほぼ平衡電位に達している。このFig. 6における平衡電位と臭素酸イオン濃度との関係をFig. 7に示す。Fig. 7の検量線より臭素酸イオンの分析が可能であり、その直線の傾き(分析感度)は35 mV/mMであった。実測の平衡電位値は反応式(7)に従って、2項で述べたNernstの式に基づいて誘導した式(I)より求めた計算値とよく一致した。





$$\Delta E = 0.06 \log \left\{ \frac{1 + 6[\text{BrO}_3^-]_0 / [\text{Fe}^{3+}]_0}{1 - 6[\text{BrO}_3^-]_0 / [\text{Fe}^{2+}]_0} \right\} \quad (\text{V}) \quad (30^\circ \text{C}) \quad (\text{I})$$

ここで、 $[\text{Fe}^{3+}]_0$ 、 $[\text{Fe}^{2+}]_0$ は緩衝液中の $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ の初濃度で、 $[\text{BrO}_3^-]_0$ は $\text{BrO}_3^-$ の初濃度である。

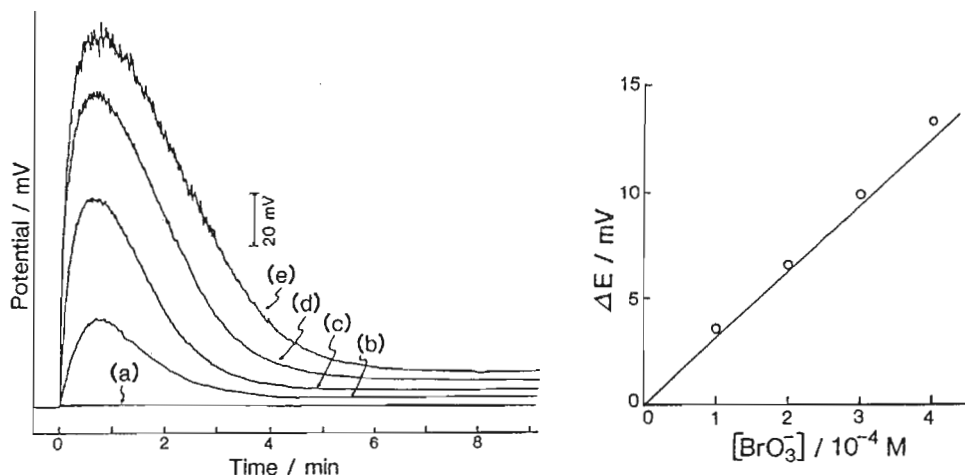


Fig. 6 Potential change of the ORP electrode by an addition of the bromate solution to the Fe(III)-Fe(II) buffer solution (without bromide ion) in the batch system (left)

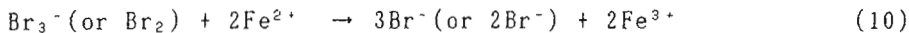
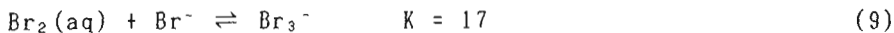
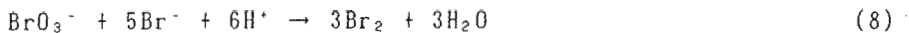
To 20 mL of 0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II) buffer solution was instantly added 20 mL of the bromate solution which contains 0.6 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Concentration of the bromate solution added (mM): (a) 0, (b) 0.1 (c) 0.2, (d) 0.3, (e) 0.4

Fig. 7 Relationship between potential change  $\Delta E$  and bromate ion concentration. (right)

Open circles: observed potential change after reaction time 8 min  
Solid line: potential change calculated from Eq. (I).

しかし、臭素酸イオンの分析法としてはこの平衡電位を利用するよりも、平衡に達する前の過渡的電位変化を用いた方が感度的に優れた分析法になることが期待される。次に、このFe(III)-Fe(II)系電位緩衝液に臭化物イオンを含ませることによって、さらに鋭敏な電位変化が得られ、高感度な分析が可能であることを見出した。その結果をFig. 8に示す。 $10^{-6}$  M程度の臭素酸イオンの添加に対して電位変化が20 ~ 30 mVの極大を示し、その変化量はFig. 6に示す電位緩衝液のみと比べて20倍程度大きい。この電位変化の機構については、式(8)及び式(9)による臭素の生成が電位上昇の原因であり、電位は $\text{Br}_2$ (or $\text{Br}_3^-$ )/ $\text{Br}^-$ 系が支配し、極大後の電位降下は式(10)による臭素の減少のためと推測される。平衡電位は式(8)、(9)及び式(10)を総合した式(7)による $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 系に復帰していると考えられる。



この過渡的電位変化をFIA法に利用したフローシステムと検量線ピークをそれぞれ Fig. 9(a)及び(b)に示す。この場合、混合コイル長(反応時間)により検量線ピークの感度は異なるが、混合コイルの長さによらず直線的な検量線が $1 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 6 \times 10^{-6} \text{ M}$ の範囲で得られた。Fig. 9(b)に示す分析感度は平衡電位の変化を利用する方法に比べて180倍程大きく、 $4 \times 10^{-7} \text{ M}$ まで検出可能であった。分析の繰り返し再現性については、 $3 \times 10^{-6} \text{ M}$ の臭素酸イオンの分析に対して1.0% ( $n=9$ )と良好であり、分析速度は約40検体/時であった。本法では、臭素酸イオン分析に対して塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン及びリン酸イオンの妨害は極めて小さく、食品添加物分析法の公定法<sup>21)</sup>と比べて、分析の迅速性及び感度の点で優れている。

又、この臭素酸イオンのFIA法における過渡的電位変化とその反応で生成した反応中間体との関係について、ストップフロー法を用いて速度論的に検討した結果、過渡的過程における臭素の生成及び減少速度がいずれも臭素酸イオン濃度に対して1次の総括速度式で表されることが分かった。このことは、任意の反応時間で生成した臭素量と臭素酸イオンの初濃度との間に比例関係があることを示し、FIA法で過渡的電位差を検出する臭素酸イオンの分析に対して、反応コイル長(反応時間)によらず直線的検量線が得られたことを支持している<sup>22)</sup>。

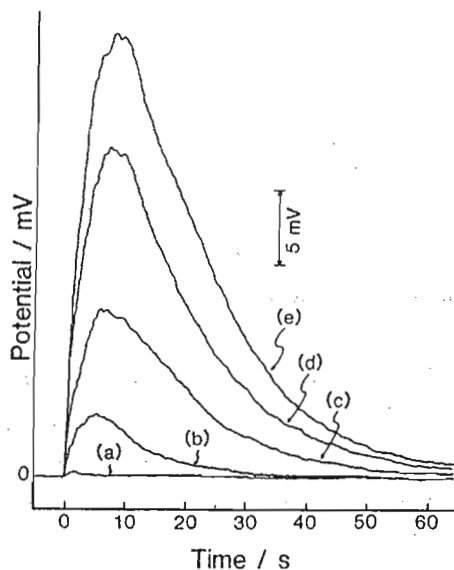


Fig. 8 Potential change of ORP electrode by addition of bromate solution to Fe(III)-Fe(II) buffer solution containing bromide ion.  
 Buffer solution: 0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II) containing 0.4 M NaBr and 0.6 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .  
 Bromate ion added ( $\mu\text{M}$ ): (a) 0, (b) 1.0, (c) 2.5, (d) 5.0, (e) 7.5.

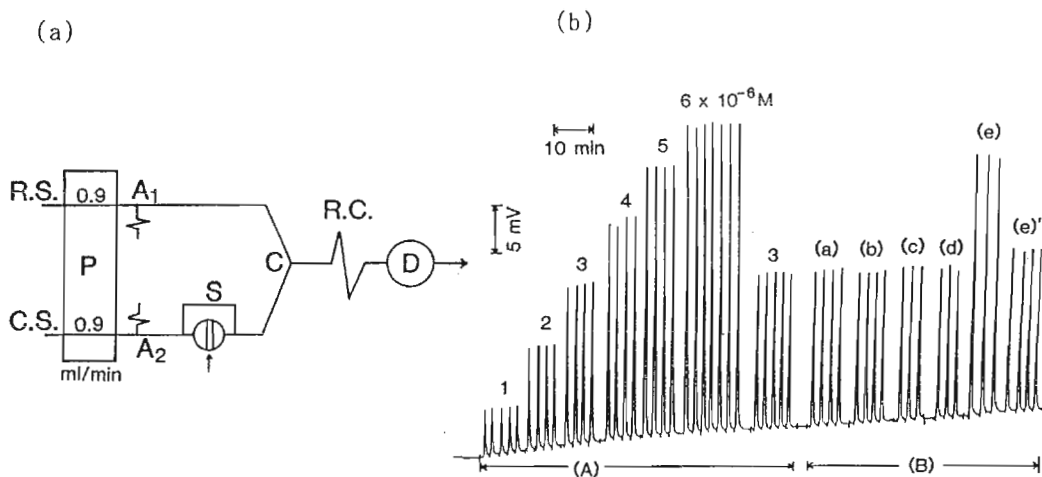
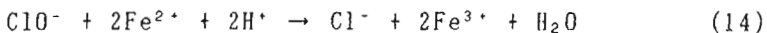
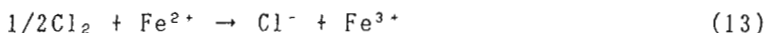
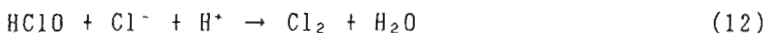
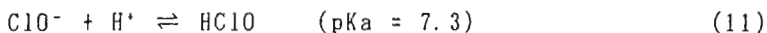


Fig. 9 (a) Schematic diagram for flow injection analysis of bromate ion. C.S.: carrier (water); R.S.: reagent solution (0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II), 0.4 M NaBr, 1.2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); P: peristaltic pump; A: air-damper coil; S: sample injector (volume: 140 μL); R.C.: reaction coil (160 cm, 0.5 mm i.d.); C: confluence point. Temperature of R.S. and C.D. was controlled at 30 ± 0.5°C.

Fig. 9 (b) Flow injection peaks for bromate ion. (A): calibration peak (B): effect of diverse anions on peak of 3.0 μM BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration of coexisting anion; (a) 3.0 mM Cl<sup>-</sup>, (b) 3.0 mM NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, (c) 3.0 mM SO<sub>4</sub><sup>-</sup>, (d) 3.0 mM PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, (e) 0.3 mM NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, (e)′ 30 μM NO<sub>2</sub><sup>-</sup>.

### 3.2.2 次亜塩素酸イオンの分析

反応中間体による過渡的電位変化を利用した高感度なFIA法のもう一つの例として、水道水中の残留塩素の分析を示す。この場合は、Fe(III)-Fe(II)系電位緩衝液の中に塩化物イオンを含ませることにより、反応過程で生成した反応中間体(塩素)に伴う大きな過渡的電位変化をFIA法に利用し、分析の高感度化を達成した。Fig. 10(A)及び(B)はFig. 11(a)に示す流れ系を用いて、次亜塩素酸と電位緩衝液との混合後の反応時間とORP電極の電位変化(ピーク高さ)との関係を示す。反応時間は反応コイルの長さを変えて変化させた。Fig. 10(A)は電位緩衝液に塩化物イオンを含む場合である。臭素酸イオンの場合と同様に大きな電位変化を示すが、その変化は極めて迅速である。その電位変化の機構については式(11)~式(13)の素反応により説明でき、式(12)で生成した反応中間体の塩素分子によるCl<sub>2</sub>/Cl<sup>-</sup>系の高い酸化還元電位が大きな電位変化に寄与していると考えられる。又、式(11)~式(13)を総合した反応は式(14)で表わされ、平衡電位は式(14)により変化した電位緩衝液中のFe(III)及びFe(II)の濃度で定まる。



また、塩化物イオンを含まないFe(III)-Fe(II)系電位緩衝液を用いた場合(Fig. 10 (B))、電位変化はFig. 10(A)に比べて極めて小さく、やや緩慢で反応時間25秒ではほぼ一定な電位(平衡電位)に到達している。この場合の電位極大は式(15)による塩素の生成とそれに後続する電位降下は式(13)によるものと考えられるが、式(15)の塩素生成の速度は塩化物イオンを含む場合の式(12)の速度に比べて極めて小さいと推測される。この場合の平衡電位も式(15)及び式(13)の総合反応より、式(14)で表わされることが予測される。実際、この平衡電位の大きさについては、反応式(14)によるFe(III)及びFe(II)の濃度を算出し、Nernst式に基づいて求めた平衡電位とよく一致した。その検量線の傾き(感度)は11mV/mMであった。

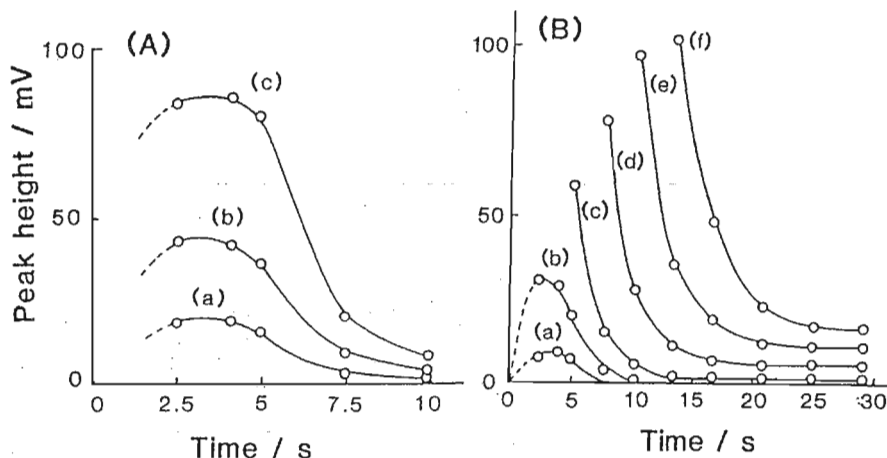
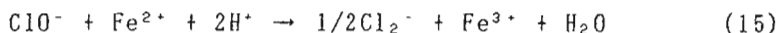


Fig. 10 Effect of reaction time on response potentials in the reaction of hypochlorite with the Fe(III)-Fe(II) buffer.

(A) Buffer solution: 0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II) containing 0.3 M KCl and 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Concentration of hypochlorate: (a) 0.5 μM, (b) 1.0 μM, (c) 2.0 μM

(B) Buffer solution: 0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II) containing 0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Concentration of hypochlorate: (a) 10 μM, (b) 30 μM, (c) 0.1 mM  
(d) 0.5 mM, (e) 1 mM, (f) 1.5 mM

以上の検討により構成した塩化物イオンを含むFe(III)-Fe(II)系電位緩衝液を用いた次亜塩素酸分析のフローシステムと得られた検量線ピークをそれぞれFig. 11(a)及び(b)に示す。Fig. 11 (b)の(A)、(B)および(C)はそれぞれ反応コイルの長さを60 cm、90 cmおよび120 cmとし、次亜塩素酸と電位緩衝液との反応時間を5、7.5及び10秒とした場合の検量線ピークである。反応時間の調節により分析可能な濃度範囲を変えることができ、例えば反応時間を5秒に設定した場合が最も高感度で、10<sup>-7</sup> Mレベルの次亜塩素酸が可能で、また反応時間10秒では10<sup>-5</sup> Mレベルの次亜塩素酸の分析が可能である。前者の場合の感度は平衡電位を利用した場合に比べて約1500倍高い。反応時間の異なるいずれの場合も、その分析の繰り返し再現性は相対標準偏差1.1~2.5%と良好であった。分析速度は45検体/時であった。反応時間5秒の場合では、本法の検出下限

濃度は  $5 \times 10^{-8} \text{ M}$  ( $3.5 \mu\text{g l}^{-1} \text{ Cl}_2$ ) であり、これまで報告されている次亜塩素酸の FIA 法<sup>23)~27)</sup> に比べて最も高感度である。また公定法の o-トリジン法<sup>28)</sup> と比べても 5~10 倍程感度が高い。本法を水道水の残留塩素の分析に応用した結果、遊離塩素の分析値は公定法による値とよく一致し、飲料水中の微量遊離塩素の分析法として有用である。ここでは、過渡的電位変化の検出を利用した高感度な分析について述べたが、塩化物イオンを含まない Fe(III)-Fe(II) 系電位緩衝液を用いて、平衡電位を利用すれば  $10^{-2} \text{ M}$  レベルの次亜塩素酸の定量も可能であり、メッキ廃液処理工程や浄水過程の次亜塩素酸のモニタリングなどへの応用も期待できる。また、本法は次亜塩素酸のみならず電位緩衝液中の硫酸濃度を増加することにより亜塩素酸や塩素酸などの分析も可能である<sup>29)</sup>。

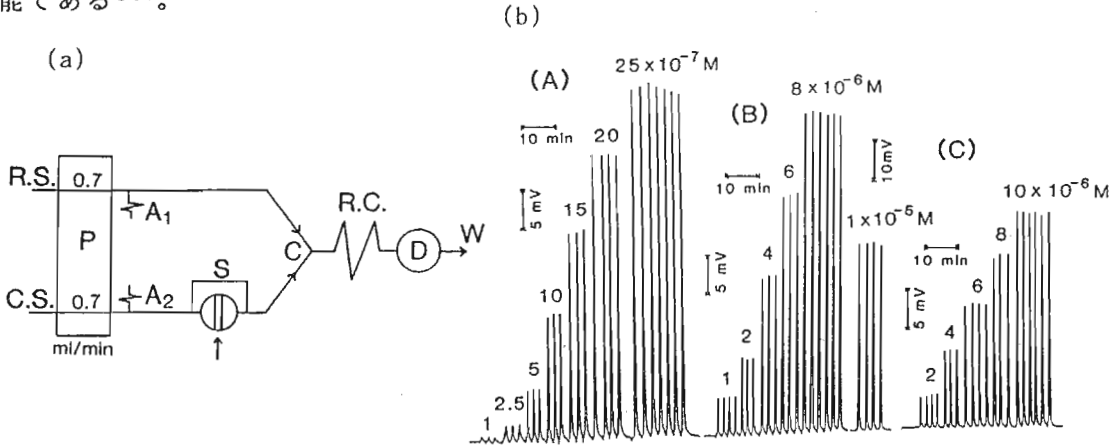


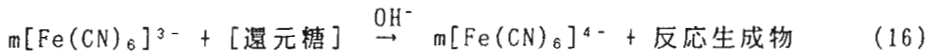
Fig. 11 (a) Schematic diagram for flow injection analysis for residual chlorine. (left)  
 C. S. : carrier ( $\text{H}_2\text{O}$ ); R. S. : reagent solution (0.01 M (1:1) Fe(III)-Fe(II) containing 0.3 M KCl and 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ); P: peristaltic pump; A: air-damper coil; R. C. : reaction coil (90 cm x 0.5 mm i. d.); S: sample injector (volume:  $140 \mu\text{L}$ ); D: ORP electrode detector; C: confluence point.

Fig. 11 (b) Flow injection peaks for hypochlorite. (right)  
 Reaction time: (A) 5 s, (B) 7.5 s, (C) 10 s.

### 3.3 前処理法の併用

#### 3.3.1 分離カラムを用いる還元糖類の分離定量<sup>30)</sup>

塩基性溶液中でヘキサシアノ鉄(III)酸が式(16)に示すように還元糖を酸化することを利用した還元糖類のFIA法を検討した<sup>31)~32)</sup>。電位緩衝液として用いた  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  -  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  系は 2 項で述べたように広い濃度領域 ( $0.1 \text{ M} \sim 10^{-5} \text{ M}$ ) でネルンスト応答性を示した。



ここで、 $m$  は 1 モルの還元糖の酸化に要する  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  の反応モル数である。

本法の感度については、緩衝液濃度はもちろん還元糖と電位緩衝液との反応時間、反応温度および塩基の濃度に依存する。これらの条件について種々検討し、標準分析操作は反応温度85℃、反応時間約6分、電位緩衝液中の水酸化ナトリウム濃度0.6 M以上とした。グルコースなどの単糖類やマルトースなどの二糖類の分析に対して、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}-[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 系電位緩衝液濃度を0.1 M~ $10^{-5}$  Mに変えることによって、 $10^{-2}$  M ~  $10^{-7}$  M程度の広い濃度範囲の還元糖の分析が可能であった。 $1 \times 10^{-5}$  M電位緩衝液を用いた場合においてもベース電位の変動は0.3 mV以下で、ドリフトは0.8 mV/hであり、 $10^{-7}$  Mレベルの分析も精度及び再現性に優れていることを示した。

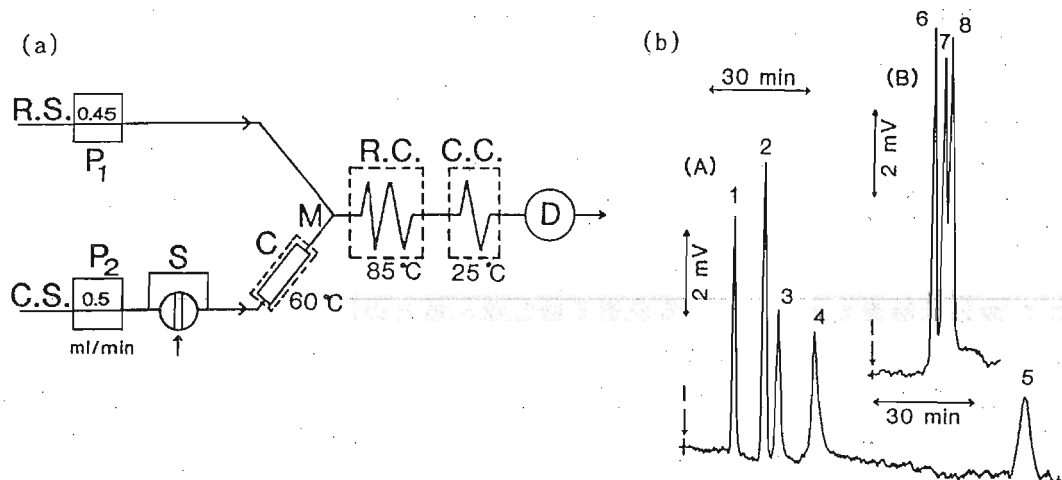


Fig. 12 (a) Schematic diagram for chromatographic determination of reducing sugar  
 C.S.: eluent (0.5 M borate buffer);  $P_1$ : peristaltic pump;  
 R.S.: reagent solution ( $1 \times 10^{-5}$  M (1 : 1)  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}-[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , 0.6 M NaOH);  $P_2$ : plunger pump; S: sample injector (volume:  $20 \mu\text{L}$ ); C: column (TSK Gel, Sugar AX1)

Fig. 12 (b) Chromatograms for mono- (A) and disaccharides (B)  
 (A): 1, 2-Deoxy D-ribose; 2, L-Rhamnose; 3, D-Ribose;  
 4, D-Mannose; 5, D-Glucose,  
 (B): 6, Cellobiose; 7, Maltose; 8, Lactose.

そこで、 $1 \times 10^{-5}$  M (1 : 1)  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}-[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 系電位緩衝液をポストカラム反応試薬溶液として、溶離液に0.5 Mホウ酸緩衝液(pH:8.7)を用いて混合還元糖類の分離定量を行なった。高速液体クロマトグラフ法(HPLC)を併用したフローシステムをFig. 12(a)に示す。カラムは強塩基性陰イオン交換樹脂を用いた。その典型的な単糖類(D-グルコース、1,2-デオキシD-リボース、L-ラムノース、D-リボース及びD-マンノース)及び二糖類(マルトース、ラクトース及びセロビオース)のクロマトグラムをFig. 12(b)示す。この場合、混合試料の各濃度は $1 \times 10^{-5}$  Mである。 $10^{-6}$  Mレベルの還元糖類の定量が可能であった。検出下限濃度は8 pmol~30 pmol (注入量  $20 \mu\text{L}$ )であり、本法はTable 2に示すように示差屈折検出法、吸光光度法および銅電極を用いる電位差検出法に比べて高感度であり、また蛍光光度法とほぼ同程度の感度であった。

Table 2 Lower limits of determination of reducing sugar

Detection method	Lower limit (pmol)
This method	8 - 30
Refractometry <sup>a, b)</sup>	$10^3 - 10^4$
Spectrophotometry <sup>c, d)</sup>	$10 - 10^2$
Fluorometry <sup>e, f)</sup>	5 - 10
Amperometry <sup>a)</sup>	1
Potentiometry <sup>h)</sup>	$10^3$

- a) J. Schmidt, M. John, C. Wandrey, J. Chromatogr., 213, 151 (1981).  
 b) V. Kahle, K. Tesarih, *ibid*, 191, 121 (1980).  
 c) K. Mopper, Anal. Biochem., 87, 162 (1978).  
 d) S. Honda, M. Takahashi, Y. Nishimura, K. Kakehi, Anal. Biochem., 118, 162 (1981).  
 e) S. Honda, I. Matsuda, M. Takahashi, K. Kakehi, Anal. Chem., 52, 1079 (1980). f) Anal. Biochem., 113, 130 (1981).  
 g) N. Watanabe, M. Inoue, Anal. Chem., 55, 1016 (1983).  
 h) P. W. Alexander, P. R. Haddad, M. Trojanowicz, Anal. Lett., 18, 1954 (1985)

### 3.3.2 固定化酵素カラムを用いる非還元糖と還元糖との同時定量<sup>33)</sup>

食品中のスクロース（非還元糖）の所定分析法では滴定前に酵素反応によるスクロースの転化および過剰の酵素の失活化などの操作を必要とする。ここではスクロースとグルコースの混合溶液の同時定量法を示す。Fig. 13(a)示す固定化酵素カラムと遅延

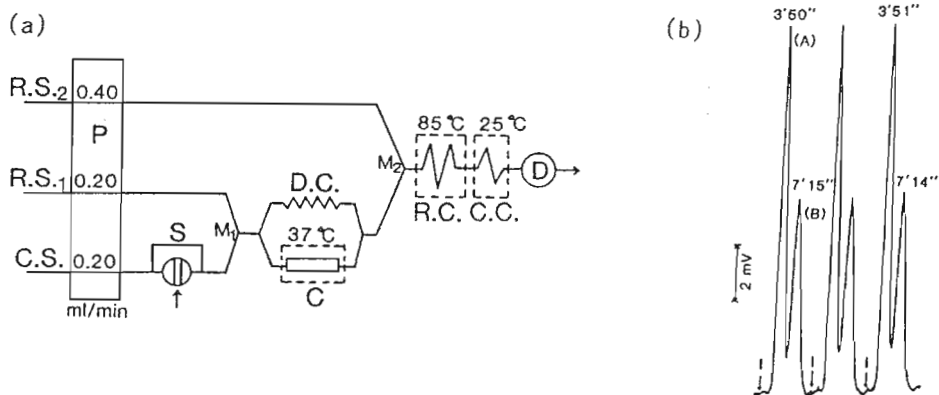


Fig. 13 (a) Schematic diagram for simultaneous determination of sucrose and glucose

C.S.: carrier ( $H_2O$ ); R.S.<sub>1</sub>: reagent solution (0.1 M acetate buffer, pH:4.6); R.S.<sub>2</sub>: reagent ( $5 \times 10^{-5}$  M (1:1)[ $Fe(CN)_6$ ]<sup>3-</sup>- [ $Fe(CN)_6$ ]<sup>4-</sup>, 1 M NaOH); S: sample injector (volume: 140  $\mu$ L); C: immobilized enzyme column (1 cm, 2 mm i.d.); R.C.: reaction coil (2 m, 0.5 mm i.d.); C.C.: cooling coil (1 m, 0.5 mm i.d.); D.C.: delay coil (2 m, 0.5 mm i.d.)

Fig. 13 (b) Simultaneous determination of mixed glucose and sucrose  
 Sample in the mixed solution:  $2 \times 10^{-5}$  M sucrose and  $5 \times 10^{-5}$  M glucose.

The peaks of (A) and (B) correspond to total amount of sucrose and glucose, respectively.  
 The numerical values on peaks indicate the time from a sample injection, I to a peak maximum.

コイル(バイパス管)を組み込んだ三流路フローシステムを用いた。酵素(インベルターゼ試薬)の固定化はMasonら<sup>34)</sup>の方法に従った。(S)で注入した試料はM<sub>1</sub>点でカラム側(C)と遅延コイル側(D. C.)の二つに分岐される。カラムを通過する際にスクロースはD-グルコースとD-フルクトースの還元糖に転化され、遅延コイルを通過する試料ゾーンに先立って検出器に到達する。

Fig. 13(a)のフローシステムで得られたグルコースとスクロースの同時分析のピーク例をFig. 13(b)に示す。第一ピークはカラムを通過した試料ゾーンで、グルコースと転化したスクロース(転化糖)の含量に対応するピークであり、第二ピークは遅延コイルを通過した試料で、グルコース量のみに対応している。従ってスクロースの量は第一ピークから第二ピークを差し引くことによって定量できる。この場合、第一および第二の各ピーク高さの繰り返し再現性(相対標準偏差)はそれぞれ0.9%及び1.2%(n=3)であった。両者の定量範囲は10<sup>-5</sup>Mレベルであり、また第一ピーク及び第二ピークの差し引きによる誤差は3~4%であった。分析感度はアンペロメトリックな検出法とほぼ同程度であった<sup>35, 36)</sup>。本FIA法を各種清涼飲料水中の糖類の定量に適用した結果をTable 3に示す。本法による糖類の定量値は概ね表示値と一致している。

Table 3 Determination of sugar in soft drinks

Drinks*	sugar content, g/100 g (sample)	
	Certified value	Observed value**
Georgia coffee	9	8.9
Aquarius	6	6.7
Sunkist orange	12.7	13.8

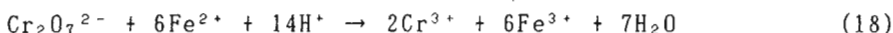
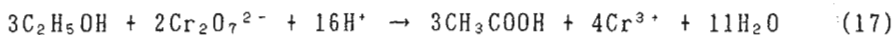
\* The samples were prepared by 10<sup>4</sup> times dilutions of the original drinks with the deionized water.

\*\* The concentration of sugar was determined based on 1st and 2nd peak heights.

### 3.3.3 ガス拡散分離ユニットを用いるエタノールの定量<sup>37)</sup>

酒類中アルコール含量の分析には蒸留の前処理操作が必要である。ここではアルコール選択分離膜によるガス拡散法を組み込んだFIA法について述べる。

ガス拡散分離ユニットを組み入れた三流路フロー分析システムをFig. 14(a)に示す。ガス拡散分離ユニット(G. D.)は二つのダイフロン製ブロックの間に多孔質のポリテトラフルオロエチレン(PTFE)膜(住友電工製)を平面状に挟む構造である<sup>38)</sup>。本法は二クロム酸酸化法(式(17), (18))を利用した。すなわち、エタノールを二クロム酸により酸化し(式(17))、未反応の二クロム酸はFe(II)により還元され(式(18))、生成したFe(III)量に伴うFe(III)-Fe(II)系電位緩衝液の組成変化をORP電極の電位変化(ピーク高さ)としてエタノールを定量した。





本法によるエタノールの分析感度は式(17)の反応速度が支配的であり、反応温度、反応時間及び試薬溶液の酸性度に大きく依存した。ピーカー試験による反応速度の検討の結果、反応温度60℃、反応時間約6分、硫酸濃度4 Mの条件でエタノールの酸化反応が完結することが分かった。しかしここでは、通常のアアルコール飲料水中のエタノール含有量を考慮し、エタノール濃度5 v/v % ~ 40 v/v %の範囲の分析が可能なる Fig. 14(a)のフローシステムを設定した。この場合、エタノール濃度が高いので、反応

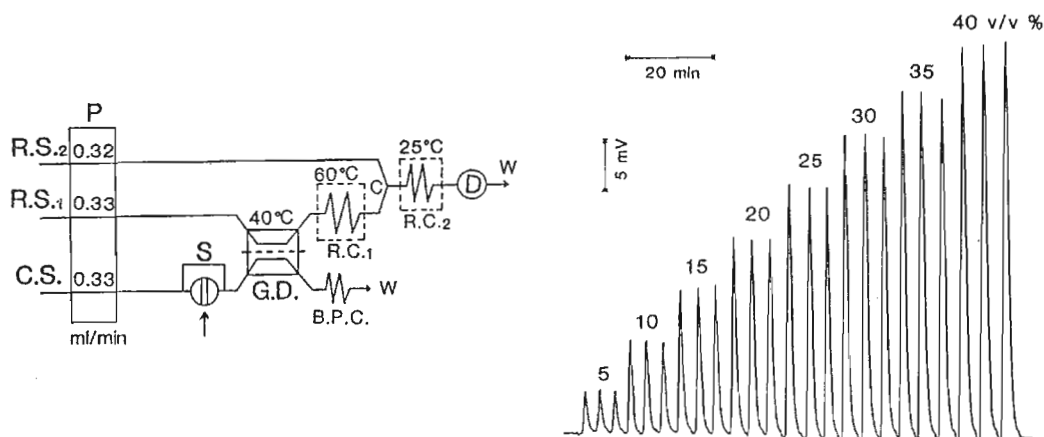


Fig. 14 (a) Flow-injection manifold equipped with gas-diffusion separation unit for determination of ethanol  
 C. S. : carrier ( $H_2O$ ); R. S. <sub>1</sub> : reagent solution (0.015 M  $K_2Cr_2O_7$ , 2 M  $H_2SO_4$ ); R. S. <sub>2</sub> : reagent solution (0.135 M  $FeSO_4(NH_4)_2SO_4$ ); P: peristaltic pump; S: sample injector (volume, 140  $\mu L$ ); G. D. : gas-diffusion unit; R. C. <sub>1</sub> : reaction coil (1 m, 0.5 mm i. d.); R. C. <sub>2</sub> : reaction coil (2 m, 0.5 mm i. d.); B. P. C. : back-pressure coil (10 m, 0.5 mm i. d.); D: ORP electrode.

Fig. 14 (b) Flow injection peaks for ethanol

が完結しなくても十分な感度が得られる。本法の分析感度と式(17)の反応速度の関係については文献(37)を参照されたい。またガス拡散ユニットの温度がエタノールの透過率に与える影響について検討したところ、エタノールの透過率は温度の上昇とともに増加し、40℃では透過率は0.12%であった。膜の細孔径は透過率には影響を与えなかった。Fig. 14(b)にエタノールの標準溶液を3回づつ繰り返し注入した時の応答ピークを示す。分析の繰り返し再現性(相対標準偏差)は0.85%( $n = 6$ )であり、1時間あたり約25検体の分析が可能であった。本FIA法を数種のアアルコール飲料水中のエタノールの定量に適用した結果をTable 4に示す。本FIA法による定量値は検討したアアルコール飲料水に対して表示値及び比重法やガスクロマトグラフ法(GC法)による定量値とよく一致した。本FIA法によるエタノールの定量値の相対標準偏差は比重法及びGC法より小さく、分析の再現性が高い。ガス拡散分離ユニットを組み込まないFIA法ではビール、ワインおよび清酒についてはGC法による定量値より20%~30%高い値が得られ、ガス透過膜による分離処理が必要なることを示している。

Table 4 Determination of ethanol content in alcoholic beverages

beverages	Ethanol content, %(v/v)				
	Certified value	Specific gravity method	GC* method	FIA method (without G. D.)	Proposed method (G. D.)
Beer	4.5	4.5	4.3	6.6	4.4
Wine	<14		11.5	16.5	11.5
Sake	16-17	16.8	16.0	19.5	16.1
Whisky	43		42.5	42.6	42.6
Shochu	25		24.5	24.6	25.0

\* The sample was debubbled for 20 min before analysis.

\*\* GC indicate the gas chromatography

#### 4. おわりに

以上、著者らは酸化還元性成分の迅速・高感度分析を目的として、酸化還元系電位緩衝液の流れを利用するフローインジェクション電位差分析法を考案し、種々の応用例を示した。とくに、試料との酸化還元反応によって生成する反応中間体を、FIA法の特徴を生かしてタイミングよく検出することにより、酸化還元性成分の分析の高感度化が可能なることを示した。この分析法は試料を間欠的に注入するFIA法のみならず、緩衝液中に試料液の流れを連続的に導入する真の意味での連続分析法としての応用も可能であり、工程管理などにおける連続モニタリングとしても有用と考えている。

#### 5. 文献

- 1) R. A. Day Jr. A. L. Underwood: "Quantitative Analysis 4th" Edition (1980), (Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A.); 鳥居泰男、康智三 共訳、"定量分析化学(改正版)" (1980) (培風館)
- 2) 日本分析化学会九州支部 編: "機器分析入門" (1984) (南江堂)
- 3) W. J. Blaedel, R. H. Laessig, Anal. Chem., 36, 1617 (1964).
- 4) B. Fleet, A. Y. W. Ho, Anal. Chem., 46, 9 (1974).
- 5) G. Nagy, Zs. Feher, E. Pungor, Anal. Chim. Acta, 52, 47 (1970).
- 6) G. Nagy, K. Toth, E. Pungor, Anal. Chem., 47, 1460 (1975).
- 7) G. Nagy, Zs. Feher, K. Toth, E. Pungor, Anal. Chim. Acta, 91, 87 (1977).
- 8) J. Ruzicka, E. H. Hansen, H. Mosback, Anal. Chim. Acta, 92, 235 (1977).
- 9) A. U. Ramsing, J. Ruzicka, E. H. Hansen, Anal. Chim. Acta, 129, 1 (1981)
- 10) O. Astrom, Anal. Chim. Acta, 88, 17 (1977).
- 11) O. Astrom, Anal. Chim. Acta, 105, 67 (1979).
- 12) N. Ishibashi, T. Imato, Fresenius's Z. Anal. Chem., 323, 244 (1986). (第43回分析化学討論会, (1982))
- 13) T. Imato, N. Ishibashi, Anal. Sci., 1, 481 (1985).
- 14) N. Ishibashi, T. Imato, K. Tsukiji, Anal. Chim. Acta, 190, 185 (1986).

- 15) D. G. Porter, R. Sawyer, *Analyst* [London], 97, 569 (1972).
- 16) K. Brunt, *Analyst* [London], 107, 1261 (1982).
- 17) B. Karlberg, S. Thelander, *Analyst* [London], 103, 1154 (1978).
- 18) 今任稔彦、石橋信彦、第44回分析化学討論会、1B06T (1983).
- 19) 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*、35, 349 (1986).
- 20) N. Ishibashi, T. Imato, H. Ohura, S. Yamasaki, *Anal. Chim. Acta*, 214, 349 (1988).
- 21) 渡辺功、田中涼一、樫本隆、*食衛誌*、23, 135 (1982).
- 22) 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、第51回分析化学討論会、179 (1990)
- 23) D. J. Leggett, N. H. Chen, D. S. Mahadevappa, *Analyst*, 107, 433 (1982).
- 24) T. Aoki, M. Munemori, *Anal. Chem.*, 55, 209 (1983).
- 25) J. R. Gord, D. Gordon, G. E. Pacey, *Anal. Chem.*, 60, 2 (1988).
- 26) A. N. Tsaousis, C. O. Huber, *Anal. Chim. Acta*, 178, 319 (1985).
- 27) M. Trojanowicz, W. Matuszewski, A. Hulanicki, *Anal. Chim. Acta*, 136, 85 (1982).
- 28) American Public Health Association, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 14th edn., APHA, Washington, D. C. (1975), 304.
- 29) 大浦博樹、今任稔彦、山崎澄男、石橋信彦、日本分析化学会37年会 1140 (1988)
- 30) H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 6, 777 (1990)
- 31) 大浦博樹、今任稔彦、浅野泰一、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*、35, 807 (1986).
- 32) H. Ohura, T. Imato, Y. Asano, S. Yamasaki, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 3, 453 (1987).
- 33) 大浦博樹、今任稔彦、江川裕高、山崎澄男、石橋信彦、九州産業大学工学部研究報告、26, 49 (1990).
- 34) R. D. Mason, H. M. Weetall, *Biotech. and Bioeng.*, 14, 637 (1972).
- 35) M. Massom, A. Townshend, *Anal. Chim. Acta*, 171, 185 (1985).
- 36) 八尾俊男、赤坂玲奈、松本義宏、和佐保、日本分析化学会34年会 600 (1985).
- 37) H. Ohura, T. Imato, Y. Asano, S. Yamasaki, N. Ishibashi, *Anal. Sci.*, 6, 541 (1990).
- 38) 今任稔彦、大浦博樹、浅野泰一、山崎澄男、石橋信彦、*分析化学*、37, T105 (1988).