

ノート (若手初論文)

Microsoft Excel のフーリエ解析を用いるノイズ信号の軽減 —フローインジェクション分析法におけるシグナルノイズ比の向上—

七條まりあ¹, 田中 秀治^{1,2}, 竹内 政樹^{*1,2}

1 緒 言

フローインジェクション分析法 (FIA) は, 流れ系を用いる高速・高精度な自動分析法である. 1975 年に Ružička と Hansen¹⁾ によって提案され, 薬学や環境科学, 食品化学など多くの分野において広く利用されている. バッチ式分析法と比較して, 省試料/試薬量, 簡便, 安全などの長所もあり, 多数の試料を分析する際に大変有用である²⁾.

近年, 著者らは, FIA の迅速化に注目し, FIA で得られた重なりピークに部分的最小二乗法 (PLS) を適用することで, 目的成分を精確かつ迅速に定量可能な FIA, すなわち REP (Rapid FIA by PLS regression) 法を確立した³⁾⁴⁾. その評価モデルとして, フェナントロリン吸光光度法による鉄(II) イオンの FIA を用いたところ, 同法の導入により, 絶対検量線法に比べ約 1.7 倍のスループットを達成した. また, FIA による定量では, 共存成分に起因する干渉の抑制が本質的な課題となる. 例えば, 日本産業規格「JIS K0170-2:2019」⁵⁾に掲載の Griess 反応を用いた亜硝酸イオン (NO_2^-) のフローインジェクション吸光光度法を海水試料に応用すると, 試料中の高濃度塩が測定値に影響を与える. この干渉の抑制手段として, 塩濃度に対応した補正式を用いる手法⁶⁾⁷⁾, 試料ごとに吸光度のブランク補正を行う手法⁸⁾, ストップフロー法⁹⁾などが報告されている. 一方, 著者らは, 標準添加法を FIA に取り入れることで, 海水中の NO_2^- をより精確に定量できることを報告した¹⁰⁾. 現在, 本手法の迅速化及び簡便性の向上に取り組んでいるが, その過程で, 検出器のノイズ信号が低濃度域の定量において問題となった. このノイズ信号は, 電流の周囲に発生する磁界の変化によって信号線が受ける電磁誘導ノイズ, あるいは電圧を有する物体の周囲に発生する電界の変化によって信号線が受ける静電誘導ノイズであると考えられた. これまでに, 吸光光度計の変更, 時定数の変更, RC フィルタの使用などによるノイズ信号の抑制を試みたが,

ほとんど効果はみられなかった.

そこでノイズ信号の抑制方法として, 取得データのプログラム処理を検討したところ, 周波数解析のひとつである高速フーリエ変換 (FFT) の活用が, ノイズ除去に効果的であることが明らかとなった. 本稿では, NO_2^- のフローインジェクション吸光光度法により得られた検出信号に FFT 処理を実行することで, シグナルノイズ比 (S/N) が改善した結果を報告する.

2 実 験

2.1 試 薬

超純水は Sartorius 製の Arium[®] 611DI を用いて製造した. NO_2^- 標準試料は亜硝酸ナトリウム (特級, ナカライテスク) を用い, Griess 反応の反応試液は, スルファニルアミド (特級, 関東化学), *N*-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 (特級, 関東化学) 及び塩酸 (特級, 関東化学) より調製した.

2.2 検出信号の取得

Griess 反応を用いた NO_2^- のフローインジェクション吸光光度法により, FIA の検出信号を得た. 使用した FIA システムの概略図を Fig. 1 に示す. 6 方バルブ (V, unit 401, Flow) よりキャリア (H_2O , 0.2 mL min^{-1}) に注入された NO_2^- 標準試料 (100 μL) は, ペリスタポンプ (P, Rabbit, Rainin) により送液され, Griess 反応の反応試液 (0.1 % スルファニルアミド, 0.01 % *N*-1-ナフチルエチレンジアミ

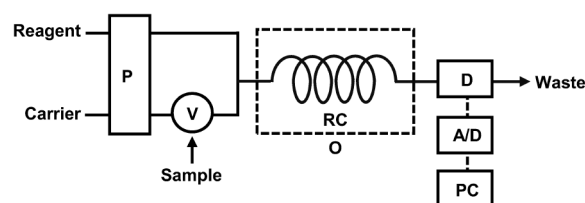


Fig. 1 Schematic of FIA system for spectrophotometric detection of nitrite

P, peristaltic pump; V, 6-way valve; RC, reaction coil; O, oven; D, detector; A/D, A/D converter; PC, computer.

* E-mail: masaki.takeuchi@tokushima-u.ac.jp

¹ 徳島大学薬学部薬学科: 770-8505 徳島県徳島市庄町 1-78-1

² 徳島大学大学院医歯薬学研究部薬学域: 770-8505 徳島県徳島市庄町 1-78-1

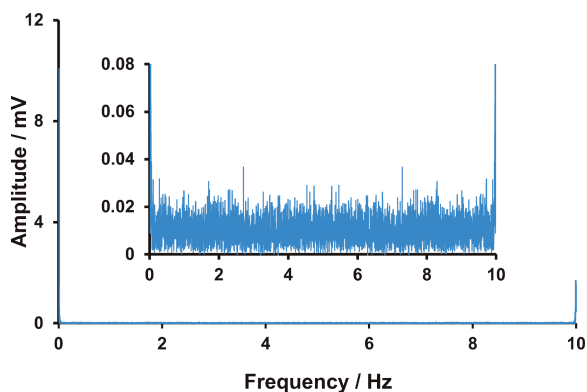


Fig. 2 Fourier analysis of the detection signal ($n = 2^{12}$) obtained with $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ as the sample. The inset shows an enlarged version of the vertical axis.

ンニ塩酸塩, 1.1 mol L^{-1} 塩酸, 0.2 mL min^{-1}) と合流後、オープン (O, CS-300C, Chromato Science) に収納された反応コイル (RC, 0.96 mm i.d. , 1.56 mm o.d. , 0.5 m long テフロンチューブ, 70°C) を経て吸光光度計 (D, SPD-10A, Shimadzu, $\lambda_{\text{anal}} = 540 \text{ nm}$) に到達する。検出信号は高精度アナログ入出力ターミナル (A/D, AIO-160802GY-USB, Contec, 10 Hz) を介して、Windows OS 搭載コンピュータ (PC, Vostro 200, Dell) に記録される。

2.3 高速フーリエ変換による信号処理

フーリエ変換により、任意波形である時系列データの信号に含まれる各周波数成分の大きさ (振幅) 及び位置 (位相) が求められる。一方で、逆フーリエ変換では、各周波数成分の振幅と位相から波形が求められる。高速フーリエ変換 (FFT) は、離散データのフーリエ変換に要する膨大な計算量を減じるために開発されたアルゴリズムで、行列、ビット反転、バタフライ演算、回転因子の周期性・対称性などを用いて演算回数を大幅に削減する。FFT の実行のためには、データ数は 2^n 個である必要がある。Microsoft Excel のデータ分析におけるフーリエ解析では FFT、逆フーリエ解析では逆高速フーリエ変換 (IFFT) が実行される。検出器のノイズ信号は振幅の小さな波から形成されていると考えられるので、一定値未満の小さな振幅の周波数成分を除去することでノイズ信号の除去を試みた。Fig. 1 に示した FIA システムを用いて NO_2^- 標準溶液を測定し、得られた検出信号に対して Microsoft Excel のフーリエ解析及び逆フーリエ解析を行った。その手順は以下のとおりである。最初に、 NO_2^- 標準溶液を測定した時系列データ (2^n 個) をデータ分析においてフーリエ解析する (Step 1)。Step 1 で得られた値は複素数で表されるため、関数 IMABS を用いて絶対値を得る (Step 2)。Step 2 で得られた値にデータ数 2^n を除することで振幅を求める (Step 3)。関数

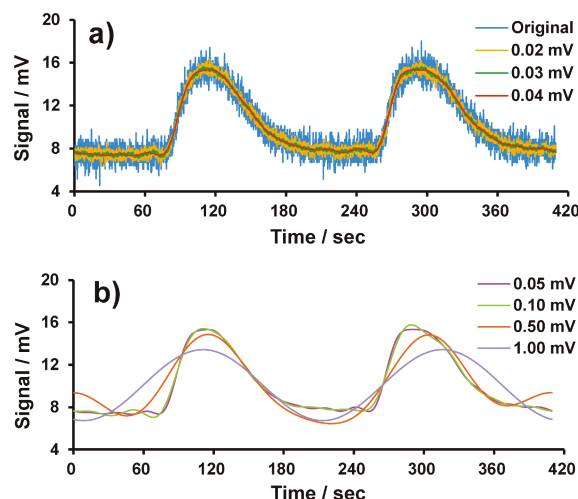


Fig. 3 Original detection signal and Fourier/inverse Fourier analysis-processed signals with the threshold amplitude of a) 0.02, 0.03, 0.04 mV; b) 0.05, 0.10, 0.50, 1.00 mV

The sample used is $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$.

IF を用いて Step 3 で得られた値が一定値未満の場合はその値をゼロに変換し、一定値以上の場合は Step 1 の値を採用する (Step 4)。この処理を行うことで、振幅が一定値以上となる周波数成分のみが残る。Step 4 で得られた値を逆フーリエ解析し、時系列データの信号に戻す (Step 5)。Step 5 で得られた値は複素形式で表されているため、関数 IMREAL を用いて実部を取り出す (Step 6)。

3 結果と考察

3.1 FFT/IFFT 処理によるノイズ信号の除去

Fig. 2 に、 $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ を試料として得られた検出信号を FFT したとき (Step 1~3) の結果を示す。FFT に用いたデータ数は 2^{12} (=4096) であり、サンプリング周波数は 10 Hz であるため、データ数 2^{12} は 409.6 秒間のデータに相当する。Fig. 2 において、周波数の最小値と最大値付近にそれぞれ 10 mV と 2 mV 程度の NO_2^- ピークに由来すると思われる振幅信号がみられる。Fig. 2 の挿入図は縦軸を拡大して示したものであるが、振幅 0.04 mV 未満の信号が検出器のノイズ信号に由来すると思われる。

そこで、Fig. 2 のデータにおいて、一定値未満の振幅を有する周波数成分をゼロとして除去してから、IFFT を行った (Step 4~6)。Fig. 3a に、除去する振幅の基準値を 0.02 , 0.03 , 0.04 mV として IFFT を行ったときの結果を、FFT/IFFT 処理を行っていないオリジナルの検出信号とともに示す。振幅の基準値を 0.02 , 0.03 , 0.04 mV と上げていくことによってノイズ信号の低下がみられ、 0.04 mV ではノイズのない滑らかな検出信号を取得することができた。基準値を 0.05 mV に上げても、基準値 0.04 mV の場合の検出

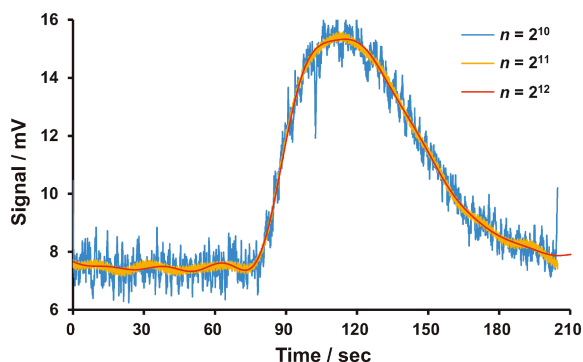


Fig. 4 Fourier/inverse Fourier analysis-processed signals with the sample size of 2^{10} , 2^{11} , and 2^{12}

The sample and threshold amplitude used are $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ and 0.04 mV , respectively.

信号との相違はみられなかった。次に、除去する振幅の基準値をさらに大きくして、ピークの形状変化を確認した。Fig. 3bに、除去する振幅の基準値を 0.05 , 0.10 , 0.50 , 1.00 mV として IFFT を行ったときの結果を示す。基準値 0.05 mV と 0.10 mV との間には大きな違いはみられなかった。しかし、基準値 0.50 mV と 1.00 mV では NO_2^- ピークの頂点が低くなり、検出信号は正弦波のような形状となった。これは、ノイズの周波数成分だけではなく、 NO_2^- ピークを構成する周波数成分も除去してしまったためと考えられる。以上より、除去する振幅の基準値は 0.04 mV が最適と判断した。

Fig. 3a における $0 \sim 60 \text{ sec}$ までのベースライン信号のデータ ($n=601$) を用いて、FFT/IFFT 処理によるノイズ除去の効果について検証した。ベースライン信号の平均値は、オリジナルの検出信号が $7.45 \pm 0.72 \text{ mV}$ であるのに対し、除去する振幅の基準値を 0.04 mV として IFFT を行ったときの検出信号は $7.45 \pm 0.07 \text{ mV}$ であり、両者の平均値に違いはみられなかった。また、ベースライン 60 秒間 における最大値と最小値の振れ幅をノイズ幅 N とすると、 N はオリジナル信号では 5.19 mV 、基準値 0.04 mV では 0.34 mV となった。したがって、 NO_2^- ピークの頂点 S はオリジナル信号と FFT/IFFT 処理によるノイズ除去を行った検出信号間で差がないとすると、 NO_2^- の S/N は FFT/IFFT 処理 (除去する振幅の基準値 0.04 mV) を適用することで約 15 倍向上したことになる。続いて、オリジナル信号では定量限界 ($S/N=10$) 以下となる 0.01 , 0.02 , 0.03 , 0.04 , 0.05 及び $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ を分析試料として FFT/IFFT 処理によるノイズ除去 (振幅の基準値 0.04 mV) を実行した。 NO_2^- 濃度と得られた NO_2^- のピーク高さの間には、正の高い相関関係 ($r^2=0.9986$) がみられたことから、FFT/IFFT 処理によるノイズ信号の除去は定量限界の改善に有効であると言える。

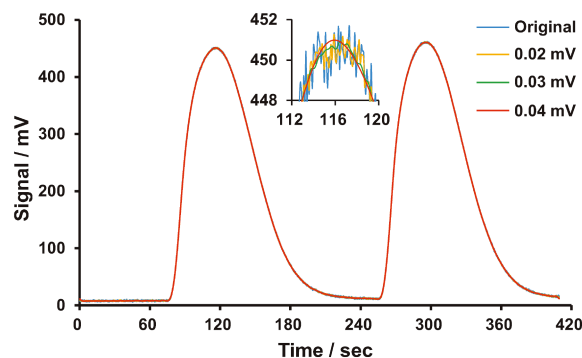


Fig. 5 Original detection signal and Fourier/inverse Fourier analysis-processed signals with the threshold amplitude of 0.02 , 0.03 , and 0.04 mV

The sample used is $2.50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$. The inset shows a magnified view at the top of the first NO_2^- peak.

3.2 FFT/IFFT 処理に用いるデータ数

Microsoft Excel は最大 2^{12} ($=4096$) 個のデータを一度に FFT できるが、データ数が多いと PC に対する負荷が大きくなり、計算処理により多くの時間を要する。そこで、データの処理区間を小さくすることで、データ数 2^{12} と同等のノイズ除去効果が得られるかを検証した。Fig. 4 に、 0.06 mg L^{-1} の NO_2^- 試料において、1 度のデータ処理数を 2^{12} , 2^{11} ($=2048$), 2^{10} ($=1024$) として、FFT/IFFT 処理によるノイズ除去 (振幅の基準値 0.04 mV) を実行した結果を示す。ベースライン信号 ($0 \sim 60 \text{ sec}$, $n=601$) の平均値は、データ処理数 2^{12} では $7.45 \pm 0.07 \text{ mV}$, 2^{11} では $7.45 \pm 0.12 \text{ mV}$, 2^{10} では $7.46 \pm 0.46 \text{ mV}$ であった。一方、オリジナルの検出信号の平均値は、 $7.45 \pm 0.72 \text{ mV}$ である。したがって、データの処理数区間を小さくしてもノイズ信号は小さくなっている。しかし、データ数 2^{12} において最も高いノイズ除去効果が得られたことから、FFT/IFFT 処理を行うデータ区間が大きいほうが効率的にノイズ信号を除去できると言える。

3.3 高濃度試料への適用

これまで、 0.06 mg L^{-1} 以下の NO_2^- を分析試料として用いて FFT/IFFT 処理を実行した結果について述べてきた。ここでは、 0.06 mg L^{-1} より約 40 倍高濃度である $2.50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ を試料として用いることで、高濃度試料への適用について検討した。除去する振幅の基準値を 0.02 , 0.03 , 0.04 mV 、データ数は 2^{12} ($=4096$) にて FFT/IFFT 処理を行った結果を Fig. 5 に示す。 $2.50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ のピークが十分に大きいため、全体図では FFT/IFFT 処理による効果は判断できない。しかし、最初の NO_2^- ピークの頂点付近を拡大した挿入図をみると、 0.04 mV 未満の振幅を除去することで、 0.06 mg L^{-1} の場合と同様のノイズのない滑らかな検出信号を取得できていることが分かる。した

がって、本研究による FFT/IFFT 処理は、振幅が 0.04 mV 未満の周波数成分を除去することで、 NO_2^- の試料濃度に関係なくノイズ信号だけを取り除くことができると言える。

4 結 言

フローインジェクション分析法 (FIA) において、検出信号のベースラインノイズは検出感度を決定する重要なパラメーターである。本研究では、Microsoft Excel のフーリエ解析/逆フーリエ解析を FIA の検出信号に適用することで、ノイズ信号の抑制について検討した。Griess 反応を用いた吸光度法による NO_2^- の FIA を評価モデルとした。 $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ を分析試料としたときの検出信号を FFT したところ、0.04 mV 未満の振幅を有する周波数成分が数多く観測された。それらの周波数成分を除去してから、IFFT 処理を実行すると、ノイズのない滑らかな検出信号が得られた。一方、 $2.50 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$ の試料においても、0.04 mV 未満の振幅を有する周波数成分の除去が有効であった。FFT/IFFT 処理を適用するデータ数が多いほど効率的なノイズ信号除去が可能であり、Microsoft Excel で処理可能な最大値 2^{12} のデータ数のもとでは、 NO_2^- のシグナルノイズ比 (S/N) は約 15 倍向上した。以上の結果から、FFT/IFFT 処理によるノイズ信号の除去は、FIA における S/N の改善、すなわち検出感度の向上に有効であると結論した。

謝 辞

ノイズ信号の除去を行うにあたり、多くの有益なご助言を賜りました熊本大学大学院先端科学研究部大平慎一教授と徳島大学大学院社会産業理工学研究部水口仁志准教授に深謝いたします。

文 献

- 1) J. Ružička, E. H. Hansen : *Anal. Chim. Acta*, **78**, 145 (1975).
- 2) 本水昌二, 小熊幸一, 酒井忠雄 : “分析化学実技シリーズ機器分析編 10 フローインジェクション分析”, 初版, 日本分析化学会編, p. 17 (2014), (共立出版).
- 3) Y. Otsuka, h. Watanabe, H. Tanaka, M. Takeuchi : *J. Flow Inject. Anal.*, **37**, 73 (2020).
- 4) 高橋 利, 渡邊真由, 大塚裕太, 田中秀治, 竹内政樹 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **70**, 451 (2021).
- 5) JIS K0170-2:2019, 流れ分析法による水質試験方法—第 2 部 : 亜硝酸体窒素及び硝酸体窒素 (2019).
- 6) K. Lin, P. Li, J. Ma, D. Yuan : *Talanta*, **195**, 613 (2019).
- 7) T. Fang, P. Li, K. Lin, N. Chen, Y. Jiang, J. Chen, D. Yuan, J. Ma : *Anal. Chim. Acta*, **1076**, 100 (2019).
- 8) B. Liu, H. Su, S. Wang, Z. Zhang, Y. Liang, D. Yuan, J. Ma : *Sens. Actuators B Chem.*, **237**, 710 (2016).
- 9) M. Hatta, J. Ruzicka, C. I. Measures, M. Davis : *Talanta*, **232**, 122354 (2021).
- 10) M. Takeuchi, M. Nomura, M. Shichijo, H. Tanaka : *J. Flow Inject. Anal.*, **35**, 59 (2018).

Noise Reduction Using Fourier Analysis in Microsoft Excel
— Improvement of the Signal-to-Noise Ratio in Flow Injection Analysis —

Maria SHICHIJO¹, Hideji TANAKA^{1,2} and Masaki TAKEUCHI^{*1,2}

* E-mail : masaki.takeuchi@tokushima-u.ac.jp

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima University, 1-78-1, Shomachi, Tokushima-shi, Tokushima 770-8505

² Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, 1-78-1, Shomachi, Tokushima-shi, Tokushima 770-8505

(Received December 10, 2021; Accepted December 27, 2021)

In flow injection analysis (FIA), the baseline noise of the detection signal is an important parameter that determines the detection sensitivity. In this study, we applied the Fourier analysis/inverse Fourier analysis of Microsoft Excel to the detection signal of FIA to decrease the noise signal. The Fourier analysis of the detection signal for a sample of 0.06 mg L⁻¹ NO₂⁻ showed many frequency components with amplitudes less than 0.04 mV. After removing these frequency components, inverse Fourier analysis was applied, and a smooth detection signal was obtained. Even with a sample of 2.50 mg L⁻¹ NO₂⁻, the noise signals were successfully removed using the Fourier/inverse Fourier analysis. The signal-to-noise ratio (*S/N*) of NO₂⁻ was improved by ca. 15 times. We concluded that removing noise signals by Fourier analysis effectively improves the *S/N* of FIA.

Keywords: noise reduction; *S/N*; FIA; nitrite; Griess reaction; fast Fourier transform; Microsoft Excel.