

## 振幅変調多重化フロー分析法

田中 秀治

徳島大学大学院医歯薬学研究部 (薬学系) : 770-8505 徳島市庄町 1-78-1

## Amplitude modulated multiplexed flow analysis

Hideji Tanaka

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

In this tutorial review, the principle of amplitude modulated multiplexed flow analysis, a continuous flow analysis coupled with fast Fourier transform, FFT, is described. The flow rates of sample solutions are respectively varied at different frequencies. The solutions are merged, and then air bubbles are introduced to the merged stream so as to limit the axial dispersion of analytes that causes amplitude damping. The stream is led to a detector with no physical deaeration. Air signals are removed by signal processing, and the resulting liquid signals are analyzed by FFT. The analytes in the samples are respectively determined from the amplitudes of the corresponding wave components. Temporal profile of amplitudes can be obtained in real-time by moving the window for FFT with time.

**Keywords** flow analysis, amplitude modulation, multiplexing, fast Fourier transform, air-segmentation, simultaneous determination.

### 1. 序論

#### 1.1 フィードバック制御フローレイシヨメトリーから振幅変調多重化フロー分析法へ

前号の拙著解説 [1] では、フィードバック制御フローレイシヨメトリー feedback-based flow ratiometry と滴定へのその応用について述べた。同分析法では、コンピュータからの制御信号  $V_c$  を用いて流量を直線的に増大あるいは減少させた標準液を、総流量一定のもとで試料溶液と合流させ、下流で検出信号  $V_d$  を得る。 $V_d$  が当量点レベルに達した瞬間に、 $V_c$  を上昇から下降に（あるいはその逆に）転じるフィードバック制御、さらには当量点を挟むより狭い領域をより高速で  $V_c$  走査する固定三角波制御を用いて、 $V_c$  走査を目的情報（当量点）の取得のために必要最小限の範囲に限定し、ハイスループット化を達成する。 $V_c$  によって決定される両液の合流点における組成が下流で  $V_d$  として検出されるまでに時間の遅れ  $t_{lag}$  があるため、 $V_c$  ( $\propto$  標準液流量) に対して  $V_d$  をプロットした滴定曲線は 1 本の曲線ではなく、ループ状になる。

滴定曲線のループの形は、 $V_c$  や  $t_{lag}$  の大きさによってさまざまに変化する。筆者は、その形状をもとに分析する方法が開発できないかと考えた。原理は別として、グラフの形状に似たものがあるオシロスコープ、ボルトンメトリー、振動反応、カオスなどの専門書に目を通し、100 円ショップでも売られているスピログラフ（円の内周上を歯車状の円盤を動かして模様を描く玩具）で遊んだりもしたが、残

念ながら妙案は生まれなかった。そこで、フローレイシヨメトリーでは三角波  $V_c$  を用いて制御を行うことから、波の原理（干渉やうなりなど）をフロー分析法に応用できないかと考えた。当初は、周波数や位相の異なる 2 種類の波で制御することによる  $V_d$  の形状を想像したり、それをバースコード状に塗り分けたりと、方眼紙に色々な線や模様を描いて思い巡らした。結局、フロー系に導入する複数の試料あるいは試薬の流量を周波数の異なる交流波形信号によってそれぞれ変動させ、得られる検出信号を周波数解析することで同時分析を行う方向で考えることにした。周波数解析法としては、最もよく知られている高速フーリエ変換 (FFT) を採用することにした。 $V_d$  を取得しつつ FFT の窓を時間的に前方へと移動してゆけば、リアルタイムでの測定も可能になる。

この発想を、「新規フロー分析法『多重制御／フーリエ変換 flow ratiometry』の提案」と題して平成 19 年度科研費萌芽研究に応募した。平成 18 年 4 月に新研究室の教授に昇任したばかりだったので、期するものがあつた。幸いにも採択していただき、研究成果を 14th International Conference on Flow Injection Analysis (2007 年 9 月, ベルリン) で発表し、*Talanta* に投稿した [2]。論文題目は "A proposal of multiplex controlled flow ratiometry" であつたが、査読して下さった恩師 P.K. Dasgupta 先生（テキサス大アーリントン校）から、"Amplitude modulated multiplexed flow analysis" (AMMFA) の方がよいとのお言葉をいただき、名称を改めた。

## 1.2 振幅変調

振幅変調 amplitude modulation (AM) は情報伝送の一方として周波数変調 frequency modulation (FM) とともによく知られている。情報 (信号波 signal wave,  $x_s(t)$ ; 式 1) を、より高い周波数の波 (搬送波 carrier wave,  $x_c(t)$ ; 式 2) に乗せることによって遠くまで伝送する。ここでは、前者で変調された後者 (変調波 modulated wave,  $x_m(t)$ ) は、情報を反映した振幅 ( $A_c + \cos 2\pi f_s t$ ) をもつ (式 3)。式 3 は式 4 のように整理できる。右辺第 2 項 (下測波帯) と第 3 項 (上測波帯) に信号波の情報が含まれている。

$$x_s(t) = A_s \cos 2\pi f_s t \quad (1)$$

$$x_c(t) = A_c \cos 2\pi f_c t \quad (2)$$

$$x_m(t) = (A_c + \cos 2\pi f_s t) \cos 2\pi f_c t \quad (3)$$

$$\begin{aligned} &= A_c \cos 2\pi f_c t + \frac{A_s}{2} \cos (2\pi f_c - 2\pi f_s) t \\ &+ \frac{A_s}{2} \cos (2\pi f_c + 2\pi f_s) t \end{aligned} \quad (4)$$

ここまで述べておきながら恐縮であるが、本稿の AMMFA での振幅変調は、上述の通信工学で言うものとは異なる。得たい情報 (試料中の目的成分濃度など) が有限の時間内で一定であるならば、 $x_s(t) = A_s = \text{const.}$  と言える。これを、搬送波  $x_c(t) = A_c \cos 2\pi f_c t + A_c$  で変調する。変調波は両者の積となり、式 5 のように表される。式 5 は式 6 のように変形される。したがって AMMFA では、試料情報  $A_s$  は、これを 2 倍した上で、振幅  $A_c$ 、周波数  $f_c/2$  の 2 乗余弦波によって振幅変調されていると考えることもできる。

$$x_m(t) = A_s A_c \cos 2\pi f_c t + A_s A_c \quad (5)$$

$$= 2A_s A_c \cos^2 2\pi \frac{f_c}{2} t \quad (6)$$

分析化学領域では、振幅変調はノイズ低減などの目的に応用されている。たとえば、光源からの光を振幅変調させて試料に照射し、検出信号から光源光の周波数に対応する成分のみを取り出し増幅することによって、ノイズ除去と感度上昇が達成できる [3]。

## 1.3 フーリエ変換

J.B.J Fourier (1768~1830) は、熱伝導に関する研究において、連続する周期信号 periodic signal,  $x(t)$  は三角級数 trigonometric series として表すことができると提唱した。

$$\begin{aligned} x(t) &= a_0/2 + a_1 \cos \omega t + a_2 \cos 2\omega t + a_3 \cos 3\omega t + \dots \\ &+ b_1 \sin \omega t + b_2 \sin 2\omega t + b_3 \sin 3\omega t + \dots \end{aligned} \quad (7)$$

ここで、 $a_0/2$  を直流成分 direct current component,  $a_1 \cos \omega t$

と  $b_1 \sin \omega t$  を基本波成分 fundamental wave component, これら以降の項を高調波成分 higher harmonic wave component という。 $a_0, a_1, a_2, a_3, \dots$  および  $b_1, b_2, b_3, \dots$  はフーリエ係数 Fourier coefficient と呼ばれ、フーリエ変換 Fourier transform によって求められる (式 8~10)。これにより信号を時間のドメイン (領域) から周波数のドメインに変えることができる。

$$a_0 = \frac{2}{T} \int_0^T x(t) dt \quad (8)$$

$$a_n = \frac{2}{T} \int_0^T x(t) \cos n\omega t dt \quad (9)$$

$$b_n = \frac{2}{T} \int_0^T x(t) \sin n\omega t dt \quad (10)$$

フーリエ変換を行うことで、周期信号  $x(t)$  の中にどのような周波数の成分がどれくらいの寄与 (振幅 amplitude =  $(a_n^2 + b_n^2)^{1/2}$ ) で含まれていたかがわかる。

一方、コンピュータで取得されるデータは離散 (デジタル) データであり、式 8~10 は適用できない。離散データに対しては、離散フーリエ変換 discrete Fourier transform が用いられる。まず、周期信号  $x(t)$  (Fig. 1A) から 1 周期分あるいはその整数倍の範囲 (窓 window) の信号 (Fig. 1B) を切り出す。その中に含まれるデータ数  $N$  は後述の FFT のアルゴリズムに対応するよう  $2^n$  個でなければならない。離散フーリエ変換では、切り出した信号が周期的に無限に繰り返されるとみなされるので、中途半端な範囲を切り出すと誤った結果を与える。窓に含まれる各データ  $x_0, x_1, x_2, \dots, x_{N-1}$  を用いて、次の式 11 に示す  $X_k$  ( $k=0, 1, 2, \dots, N-1$ ) を求める。

$$\begin{aligned} X_k &= \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} x_n e^{-j \frac{2\pi nk}{N}} \\ &= \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} x_n \cos \frac{2\pi nk}{N} - j \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} x_n \sin \frac{2\pi nk}{N} \end{aligned} \quad (11)$$

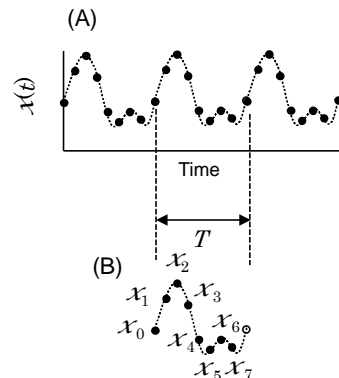


Fig. 1 Window for discrete Fourier transform

ここで  $j$  は虚数単位 imaginary unit ( $j^2 = -1$ ) である (工学領域では電流  $i$  と区別するため,  $i$  よりも  $j$  が好まれる)。こうして得られた  $X_0$  は直流成分の大きさ,  $2|X_1|$  は基本波成分の振幅,  $2|X_2|$  は第2高調波成分の振幅... $|X_{N/2}|$  (2倍はしない) は第  $N/2$  高調波成分の振幅を示す。計算上, 第  $N/2 + 1$  高調波以上の成分の振幅も得られるが, サンプリグ定理 sampling theorem に反しているの, 分析データとしては意味がない。もともと第  $N-1$  高調波成分は存在していても, 計算上, 基本波成分の振幅が等分され,  $X_1 = X_{N-1}$  となる (このため,  $2|X_1|$  のように, 2倍して振幅を求めている)。同様に,  $X_2 = X_{N-2}$ ,  $X_3 = X_{N-3}$ ...となる。第  $N/2$  高調波 (折り返し周波数 folding frequency の成分) では, そのような現象は起こらない。なお, サンプリグ定理とは, 1949年に C.E. Shannon によって述べられたもので (実際にはそれ以前から知られていた), 原信号  $x(t)$  に含まれる最大の周波数を  $f_{\max}$  (ナイキスト周波数 Nyquist frequency) とすると, 標本化されたデータ (離散データ) から原信号  $x(t)$  を再現するためには,  $2f_{\max}$  以上のサンプリグ周波数 sampling frequency でデータを取得しなければならないというものである。ナイキスト周波数は上記の折り返し周波数に等しい。

式 11 は単順に見えるが, 忠実に計算しようとする,  $N^2$  回の乗算と  $N(N-1)$  回の加算が必要になる [4]。データ数が多くなるにつれ計算量は膨大となる。1965年, J.W. Cooley と J.W. Tukey は, ビット反転 bit flip (bit reversal) とバタフライ演算 butterfly computation という手法を用いてフーリエ変換の計算量を減少させるアルゴリズムを開発した。それが FFT で,  $N = 2^n$  のとき, 乗算は  $Nn/2$  回に, 加算は  $Nn$  回にそれぞれ減少する [4]。

## 2. システム

### 2.1 フローシステム

AMMFA のフローシステムの一例として, 気節-非相分離 AMMFA システム [5] を Fig. 2 に示す。使用したポンプ  $P_1 \sim P_5$  はいずれも Rainin Dynamax RP-1 ペリスタポンプである。信号発生器 SG (エヌエフ回路設計ブロック, WF1974) から発生させた互いに周波数の異なる交流波形信号  $V_{c1}$  (0~5V) および  $V_{c2}$  (0~5V) を用いて  $P_1$  および  $P_2$  をそれぞれ制御し, 試料溶液  $S_1$  と  $S_2$  の流量を変動させる。第3の流路からは試薬溶液 R を定流量で送液する。ポンプ  $P_4$  で総流量を一定に保ちつつ, これらの液を第4の流路から総流量 - ( $S_1$  流量 +  $S_2$  流量 + R 流量) の流量で受動的に吸引される希釈液 (Fig. 2 では水  $H_2O$ ) と合流させる。 $P_4$  の下流側で第5の流路から空気 Air を導入し液流を分節する。気液両相を, 反応コイル RC を経て下流の検出器 D (島津, SPD-10AVvp 紫外可視分光光度計) へと導き, 得られた検出信号  $V_d$  を,  $V_{c1}$  および  $V_{c2}$  とともにカード型 AD/DA コンバータ (Measurement Computing, PC-CARD-DAS16/12-AO)

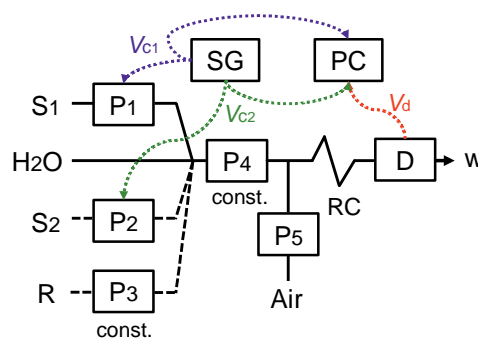


Fig. 2 Flow system of air segmented - amplitude modulated multiplexed flow analysis

を介して PC へと取得する。なお, 光学セルユニットは内径 1 mm の石英管を垂直方向に配置した手作りのもので, 管内の微小領域の観察に好都合であり, 気泡がセル室に滞留することもない。ただし, 光路長 (層長) が短いので感度については妥協しなければならない。取得した  $V_d$  は, 信号処理によって気泡由来の信号が除かれ, さらに移動平均処理によって平滑化が行われる。こうして得られた液相  $V_d$  は, 各試料の流量変動を反映した形状を示す。これを FFT で解析し,  $V_{c1}$  および  $V_{c2}$  に対応する周波数成分の振幅をそれぞれ求める。時間とともに FFT 窓を移動してゆくことで, リアルタイムでの周波数解析を可能にする。

### 2.2 プログラム

一連の分析過程 (制御信号の発生, データの取得と解析, モニターへの表示) は, 自作の Excel VBA プログラムを用いて自動化した。 $V_{c1}$  と  $V_{c2}$  は, 研究初期はコンピュータから AD/DA コンバータを介して出力していたが, 同コンバータが DA 変換機能を失う事態が立て続けに発生した (10万円以上する製品なので痛手であった)。原因は不明のままであったが, 以降は AD/DA コンバータへの負荷を減らすために, 上述の信号発生器を用いて  $V_{c1}$  と  $V_{c2}$  を出力することにした。

作成した Excel VBA プログラムは, 前号の解説 [1] で述べたように, Measurement Computing 社のソフトウェア Universal Library の下層に, その関数や Microsoft Excel のコマンドを用いて書き加えている。Excel ファイルには4つのシートを準備した。分析パラメータを記載する Parameter シート, 取得データや FFT 解析結果を表にする Data シート,  $V_c$  や  $V_d$  などの経時変化のグラフを表示する TimeScan シート, FFT の解析結果 (振幅) の経時変化のグラフを表示する Amp シートである。Parameter シートには, 測定時間,  $V_{c1}$  と  $V_{c2}$  の周期, 移動平均のために用いるデータ数, FFT 計算に用いるデータ数, 気泡由来信号の認識のための閾値 (液相レベルからの変位  $\Delta V_d$  と信号の傾き  $dV_d/dt$  に対してそれぞれ設定), サンプリグ周波数, FFT の実行間隔など

をあらかじめ記入しておき、プログラムが実行されるとそれらの値が読み込まれるようにした。 $V_{c1}$ の周期と $V_{c2}$ の周期の最小公倍数が計算され（アルゴリズムは大抵のプログラミング入門書で紹介されている）、FFTの窓の長さとして設定される。サンプリング周波数やFFTの実行間隔は、窓中に $2^n$ 個のデータが取得されるように自動的に変更されるようにした。FFTのアルゴリズムは種々の専門書に載っているが、筆者は中村の成書 [6] を参考にした。ビット反転やバタフライ演算といった処理は、専門書の説明を読んでも実感がつかめなかったので、 $8 (=2^3)$  個のデータを使って、プログラムの1文ごとに実際にどのように動いていくのかを確かめた。わずか46行のFFTプログラムでも、わずか8個のデータに対しFFTが終了するまでの過程を逐次追うと、レポート用紙11枚(418行)に達した。高速化の工夫がなされたFFTとは言え、その計算が膨大であることを実感した。しかし、コンピュータが登場する以前の19世紀前半には、大数学者J.C.F. Gauß (独) がFFTの原理をすでに考案していたようで [7]、いつの時代にも、世の中には想像を絶する超人がいるものである。

一例として、Parameterシートに $V_{c1}$ の制御周期を30 s、 $V_{c2}$ のそれを20 s、サンプリング周波数を5 Hz、FFTに用いるデータ数を8点、FFTの実行間隔を2 sと入力した場合 (Table 1) で説明する。FFTの窓の長さは30 sと20 sの最小公倍数である60 sに設定される。この60 sの間に入力値5 Hzを下回らない頻度で $2^n$ 個のデータを取得できるよう、サンプリング周波数は8.53333 Hzに自動変更される。この結果、FFT窓の60 s間に、 $60 \times 8.53333 = 512 (=2^9)$  個のデータが取得されることになる。FFTの実行間隔は、入力値2 sより間延びせず、かつサンプリング周期の整数倍になるよう、1.875 sに自動変更される。したがって、データを16 ( $=1.875 \times 8.53333$ ) 点取得ごとにFFTが実行されることになる。精度の向上のためには、FFTに用いるデータ数は多いほどよいと考えられる。しかし、1サンプリング周期(0.11712 s)内に $V_{c1}$ 、 $V_{c2}$ および $V_d$ の取得、相認識と気泡由来信号の除去、移動平均処理、FFT計算、さらには一定間隔ごとにAmpシートのグラフ更新も行っているの

Table 1 Typical software parameters

Main software parameters	Typical values
Sampling frequency / Hz	8.53333 (5)
Period of $V_{c1}$ / s	30
Period of $V_{c2}$ / s	20
Number of data for moving average	31
Number of data for FFT analysis	8
Interval of FFT computation / s	1.875 (2)
Threshold value for $dV_d/dt / V s^{-1}$	0.45
Threshold value for $\Delta V_d / V$	0.35

The values in the parentheses are original values imputed by an operator. These values are automatically changed to the values so that they become compatible with FFT algorithm.

で、データ数が多くなるとサンプリング周期内にすべての処理を終えるのは困難になる。筆者が所有するコンピュータでは、上記条件において16点が限界であった。8点を用いてFFTを行う場合、16データ取得ごとに、窓中の512データから64 ( $=512/8$ ) 点ごとの計8データがピックアップされ、計算に供される。FFTの結果、直流成分、基本波～第4高調波成分の振幅が得られる。直流成分DCは窓中の $V_d$ の平均値、第2高調波成分の振幅 $A_2$ は試料 $S_1$  (制御周期30 s) 中の目的成分濃度、第3高調波成分の振幅 $A_3$ は試料 $S_2$  (制御周期20 s) 中の目的成分の濃度にそれぞれ対応する。なお、一定間隔ごとのグラフの更新は、「For  $i=1$  To 総測定回数」の制御変数  $i$  を希望間隔 (単位 s) とサンプリング周波数との積で割り、剰余が0になるときに実行されるようにした。

### 2.3 気泡由来信号の認識と除去

AMMFAでは、検出信号の値そのものからではなく、その振幅から定量を行うので、光学セル相への着色物資の吸着などによるベースライン変動の影響を受けにくい [8]。一方、管軸方向への分散は、振幅の減衰ひいては感度の低下につながる。この分散を抑制するため、気節法 [9,10] をAMMFAに導入した。光学セルを気泡が通過すると $V_d$ が大きく変動するので、当初は検出器直前にPTFE多孔質管(住友電工ポアフロンチューブ)を挿入し、脱気した後、液相のみを検出器へと導いた [11,12]。しかし、多孔質管の孔の目詰まり (例: コロイド状の物質を含むとき) や液漏れ (例: 界面活性剤を含むとき) のトラブルもあり、さらには脱気から検出までの間の分散も無視できないことから、信号処理による気泡由来信号の除去を行った [5,13]。

信号処理による相認識については、導電率によるものや屈折率によるものなど、すでにさまざまな報告がなされている (拙著論文 [5] で7文献を紹介した)。筆者は、 $V_d$  ( $\propto$  吸光度) の形状のみから相認識し、気泡由来信号を除去するシンプルな方法を採用した。すなわち、Fig. 3に模式的に示すように、気泡由来信号は鋭く高いピークとなって現れるので、その傾き ( $|dV_d/dt|$ ) および液相 $V_d$ からの偏位 ( $\Delta V_d$ ) にそれぞれ閾値を設定する。取得した信号に関して、い

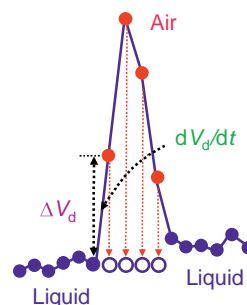


Fig. 3 Software-based air signal removal

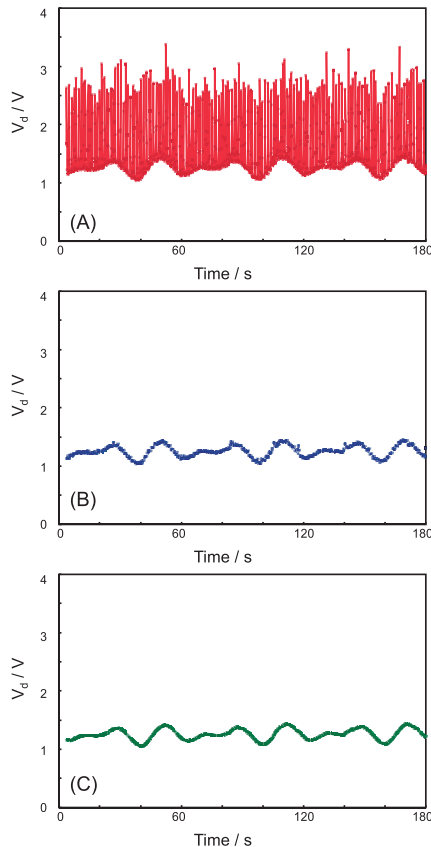


Fig. 4 Typical flow signals

Determination of phosphate ion by Malachite Green method. S<sub>1</sub>: Shozui Castle Moat water, S<sub>2</sub>: Fukuroi Irrigation Canal water. Both samples were respectively spiked with 10 μmol dm<sup>-3</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. (A) Raw V<sub>d</sub>, (B) Software-based deaerated V<sub>d</sub>, (C) Software based deaerated and moving average smoothed V<sub>d</sub>.

れかの閾値を超えたとき、これを気泡由来信号と判断して除去し、直近の液相 V<sub>d</sub> をその時刻における V<sub>d</sub> として維持する。こうして得られた V<sub>d</sub> を時間に対してプロットすると、気泡部分が平坦になるため階段状になる。これを移動平均処理によって平滑化することで、滑らかな V<sub>d</sub> 曲線を得ることができる。

### 3. 実測例

#### 3.1 信号処理による気泡信号除去

Figure 4 に気節-非相分離 AMMFA をマラカイトグリーン吸光光度法による水試料中の PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> の定量に応用した結果 [5] を示す。S<sub>1</sub> 流量, S<sub>2</sub> 流量, R 流量, 総流量, 空気流量はそれぞれ, 0~0.25, 0~0.25, 0.60, 1.20, 0.13 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> である。その他の分析パラメータは Table 1 に示した通りである。V<sub>d</sub> の生信号 (Fig. 4A) には鋭いピーク状の気泡由来信号が含まれる。予備実験によって決定した閾値 |dV<sub>d</sub>/dt| = 0.45 V s<sup>-1</sup> および ΔV<sub>d</sub> = 0.35 V を適用すると、気泡由来信号を

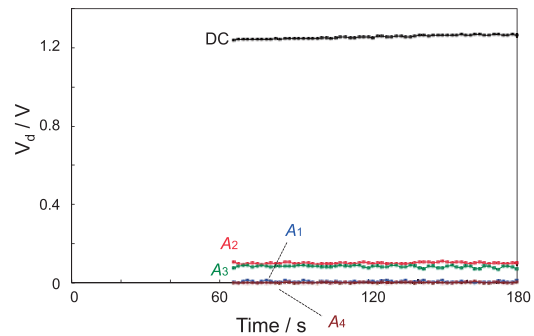


Fig. 5 Amplitudes of wave components in V<sub>d</sub> shown in Fig. 4C.

完全に除去できた (Fig. 4B)。これに 31 点移動平均処理を行うと、平滑な V<sub>d</sub> 曲線 (取得した点と過去の 30 点を平均するので、位相は少し遅れる) が得られた (Fig. 4C)。

Figure 5 は、Fig. 4C のデータに対する FFT 計算の結果である。V<sub>d</sub> の 1 周期分 (窓) の移動平均データが出揃ってから FFT 計算を開始するので、最初の 60 秒ほどは空白である。第 2 高調波成分の振幅 A<sub>2</sub> は 30 s 周期で制御している S<sub>1</sub> 中の PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 濃度に、第 3 高調波成分の振幅 A<sub>3</sub> は 20 s 周期で制御している S<sub>2</sub> 中の PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 濃度にそれぞれ対応する。いずれの振幅にも 4 点周期の微細振動が見られる。これは、2.2 節に述べたように、データを 16 点取得ごとに、窓中の 64 点ごとの計 8 点を用いて FFT 計算を行っているので、4 (= 64/16) 回 FFT 計算をするごとに、60 s 周期となる V<sub>d</sub> 中の 8 点の位置がそれぞれ等しくなるためである。

Table 1 に、気節-非相分離 AMMFA と気節を導入しない AMMFA の分析性能 [5] を示す。S<sub>1</sub> と S<sub>2</sub> との感度 (検量線の傾き) の違いは、制御周期の違いによる。すなわち、制御周期がより短いほど管内での濃度勾配がより急になり、管軸方向にわずかに分散しただけで振幅の減衰がより大きくなる [14]。気節-非相分離 AMMFA の直線性は良好 (r<sup>2</sup> > 0.999) で、気節法の導入により感度は S<sub>1</sub> に対しては 1.46 倍、S<sub>2</sub> に対しては 1.66 倍それぞれ増加した。気節法の導入の効果は、分散の影響がより大きい S<sub>2</sub> の方でより顕著になる [14]。

### 4. 結語

本解説では、周波数解析の概念を導入したフロー分析法である「振幅変調多重化フロー分析法 (AMMFA)」の原理について述べた。丁寧に説明したつもりではあるが、不明な点があれば筆者までお問い合わせいただきたい。筆者は数学に弱いので、思わぬ誤りがありはしないかと恐れている。ご指摘ご教示いただければ幸いである。

本稿で紹介した手法以外に、試料ではなく試薬の流量を変動させることで 1 試料中の 2 成分を同時定量する方法も開発した。頑健性向上のため、内標準法を導入した AMMFA

Table 2 Analytical curves for the simultaneous determination of phosphate ions in two samples [5]

Sample	Air segmented AMMFA				Non-segmented AMMFA			
	Slope	Intercept	$r^2$	LOD/ $\mu\text{mol dm}^{-3}$	Slope	Intercept	$r^2$	LOD/ $\mu\text{mol dm}^{-3}$
S <sub>1</sub>	0.0041	0.0061	0.9999	0.52	0.0028	0.0042	0.9984	2.35
S <sub>2</sub>	0.0033	0.0040	0.9998	0.75	0.0020	0.0040	0.9930	4.97

The flow rates of S<sub>1</sub> and S<sub>2</sub> were varied with the periods of 30 and 20 s, respectively. Analytical curves are expressed as  $A = \text{slope} \times C + \text{intercept}$ , where  $A$  is the amplitude of the second (for S<sub>1</sub>) and the third (for S<sub>2</sub>) harmonic wave component;  $C$  is the concentration of phosphate ion in  $\mu\text{mol dm}^{-3}$ .

の研究も行っている。これらの研究成果は、近い将来、原著論文として公表したい。

AMMFA は学術的にユニークなフロー分析法であると思ったり、変わってはいるが役に立たない傍流研究と思ったり、筆者の心も揺れ動いてきた。日本薬学会第 135 年会 (2015, 神戸) で発表した際には、衛生機関の行政・研究者から「その研究がオリジナルな分析法かどうかなど、全く興味がない。何がどれくらいまで測れるのかを知りたい」というコメントまで頂戴した。しかし、本稿がフロー分析の新規原理を考える上で何らかのヒントになったなら嬉しく思う。もし AMMFA の新たな応用に関して共同研究をさせていただききっかけになったなら、望外の喜びである。

## 5. 謝辞

本稿で紹介した研究は、日本学術振興会 2007–2008 年度科学研究費補助金萌芽研究 (課題番号 19655027), 2009–2011 年度科学研究費基盤研究(C) (課題番号 21550083), 2012–2014 年度科学研究費基盤研究(C) (課題番号 24550101) の補助を得て行われた。

本稿執筆の機会を賜りました *J. Flow Inject. Anal.* 前編集委員長の長岡 勉 先生 (大阪府立大) および編集委員の皆様様に御礼申し上げます。

## 文献

- [1] 田中秀治, *J. Flow Inject. Anal.*, **32**, 101 (2015).
- [2] H. Tanaka, T. Mima, M. Takeuchi, H. Iida, *Talanta*, **77**, 576 (2008).
- [3] D.A. Skoog, J.J. Leary: “Principles of Instrumental

Analysis”, 6th ed., p. 115 and 239 (1992), (Thomson Brooks/Cole).

- [4] 江原義郎: “ユーザーズデジタル信号処理”, p. 86 (1991), (東京電機大学出版局).
- [5] T. Ogusu, K. Uchimoto, M. Takeuchi, H. Tanaka, *Talanta*, **118**, 123 (2014).
- [6] 中村尚五: “ビギナーズデジタルフーリエ変換”, p. 147 (2002), (東京電機大学出版局).
- [7] 金谷健一: “これならわかる応用数学教室”, p. 136 (2003), (共立出版).
- [8] T. Uemura, T. Ogusu, M. Takeuchi, H. Tanaka, *Anal. Sci.* **26**, 797 (2010).
- [9] L. T. Skeggs, *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 311 (1957).
- [10] L. T. Skeggs, *Anal. Chem.*, **38**, 31A (1966).
- [11] K. Inui, T. Uemura, T. Ogusu, M. Takeuchi, H. Tanaka, *Anal. Sci.* **27**, 305 (2011).
- [12] H. Yoshida, K. Inui, M. Takeuchi, H. Tanaka, *Anal. Sci.* **28**, 523 (2012).
- [13] K. Inui, H. Yoshida, M. Takeuchi, H. Tanaka, *J. Flow Inject. Anal.*, **32**, 5 (2015).
- [14] Y. Kurokawa, M. Takeuchi, H. Tanaka, *Anal. Sci.* **26**, 791 (2010).

(付記) 本稿は、日本薬学会物理系薬学部会・分析化学担当教員会議 編、「薬学分析化学の最前線」、じほう、東京、2009, pp. 108-109, 田中秀治, 竹内政樹, 「振幅変調多重化フロー分析法による同時分析」の記述を基に、大幅な加筆を行ったものである。