

乾式多層フィルム型イオン選択電極を用いた 血中イオン化カルシウム測定スライドの開発

寺嶋 正明*

Development of FUJI DRI-CHEM iCa Slide Comprising Dry Multi-layered Thin-film Ion-selective Electrodes for the Determination of Ionized Calcium Concentration in Whole Blood

Masaaki TERASHIMA*

Abstract

FUJI DRI-CHEM (FDC) iCa Slide has been developed for the determination of ionized calcium (iCa) concentration in whole blood as well as in serum and plasma. FDC iCa Slide comprises two different kinds of electrodes, one being calcium ion selective and the other hydrogen ion selective (pH electrode). These electrodes have dry multi-layered thin-film structures manufactured by applying photographic film coating technology. This slide enables to simultaneously measure ionized calcium concentration and pH of a specimen in one minute. Sample volume is only 50 μ L. The iCa concentration of a specimen can be normalized at pH7.4. Bis [4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenyl] phosphate, calcium salt (t-HDOPP) and Dioctylphenyl-phosphonate (DOPP) for calcium ion selective electrode and Tridodecylamine (TDDA) and Tris-2-ethylhexyltrimellitate for pH electrode are essential compounds chosen for ion selective membranes. Within-run precisions (CV) were less than 4% over the tested range of 0.5-2.4mM. A comparison study using whole blood samples resulted in a good regression ($R=0.990$) between the data FDC iCa Slide and those with AVL988-4 analyzer (AVL medical instruments) equipped with ion-selective electrodes. This slide requiring neither preconditioning nor calibration will be well utilized for Point-of-Care Testing of iCa.

1. はじめに

血液中のイオン化したカルシウム(iCa)の測定を目的とした、富士ドライケム(FDC)Caスライドを開発した。このスライドは、写真フィルムの高精度な塗布技術を応用して製造された2種類の乾式多層フィルム型イオン選択電極(iCaおよびpH測定用)から成る。わずか50 μ Lの血液でiCa濃度およびpHを同時測定し、iCa濃度をpH7.4の値に標準化することができる。

iCaイオン選択膜には、Bis [4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenyl] phosphate, calcium salt (t-HDOPP) および Dioctylphenylphosphonate (DOPP) を、pH用イオン選択膜には Tridodecylamine (TDDA) および Tris-2-ethylhexyltrimellitate をイオン選択物質、可塑剤としてそれぞれ用いた。

臨床特性(同時再現性、相関性、干渉物質の影響など)はいずれも良好な結果を示した。

本誌投稿論文(受理2000年9月5日)

* 富士写真フィルム(株)朝霞研究所
〒351-8585 埼玉県朝霞市泉水3-11-46

* Asaka Research Laboratories, Fuji Photo Film Co., Ltd.
Senzui, Asaka, Saitama 351-8585, Japan

全血測定が可能で、プレコンディショニング、キャリブレーションが不要など、操作の簡便性を有するほか、結果の早いフィードバック(測定時間1分)など迅速性に優れ、Point-of-Care Testing (POCT) において有用な機能を有している。

2. イオン化カルシウム測定の概要

2.1 臨床的意義

イオン化カルシウム(ionized calcium: iCa)は、Fig. 1に示すように血液中の総カルシウム濃度(2.40mM)の約50%(1.25mM)を占める。iCaはさらに静電型(0.89mM)と活性型(0.36mM)で構成される¹⁾。

血液中のカルシウムのうち、生理作用に関与するのはiCaであり、細胞膜の透過性、神経・筋肉の興奮性、血液凝固、酵素反応の賦活化などの役割を果たしている。したがって、生理活性物質としてのiCa濃度を知ることは生理機能や病態を把握する上で重要であり²⁾、近年臨床検査において測定される頻度が増してきた。

血液中のiCa濃度は、1.1~1.3mMの範囲で恒常性が維持されている。この恒常性に関与する調節因子は、副甲状腺ホルモン(PTH)と活性型ビタミンDおよびカル

シトニンである。PTHは、尿細管からのiCaの再吸収増加と骨からのiCaの遊離増加をもたらす。活性型ビタミンDは腸管からのiCa吸収および骨からのiCa遊離を促進する。これら2つの因子の作用によって血液中のiCa濃度は上昇する。反対に、カルシトニンはPTHの作用を抑制して減少させる。これらの調節因子の作用により、血液中のiCa濃度の生理的変動はきわめて狭く管理されているので、臨床検査を目的としたiCa濃度の定量には高い精度が要求される。

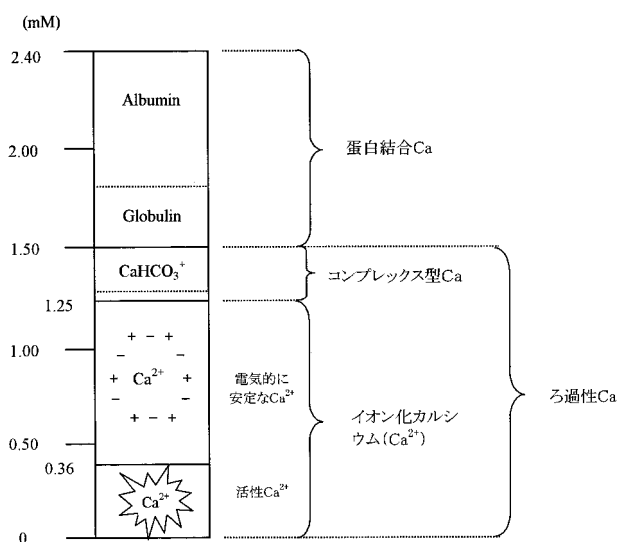


Fig. 1 Calcium distribution in human plasma¹⁾.

2.2 pHによるiCa濃度補正

血液中のiCaはアルブミンと結合したカルシウムと平衡関係にあり、pHの影響を受ける。pHが低くなるとアルブミンと結合するH⁺が増加するので、アルブミン結合性カルシウムは減少し、その分、血液中のiCaは増加する。pHが上昇するとその逆の現象が起きる。好氣的に採血された血液は炭酸の遊離と共にpHの上昇が起きるので、臨床検査ではiCa濃度をpH7.4(ヒト血液の正常値)の時の値に補正することがしばしば行われる。pHに応じてiCa濃度の補正を行うにはpHを知る手段が必要となり、現在臨床検査に用いられているiCa測定アナライザーにはpH電極も装備されているのが一般的である。

2.3 技術的バックグラウンド

以下に、本開発を可能にした技術的バックグラウンドについて述べる。

カルシウム濃度の測定には、従来、滴定法、炎光法、原子吸光法、比色法、同位体希釈法などが採用されてきたが、これらの方法はイオン化していないカルシウムを測り込んでしまうことや、装置が大型であったり、操作が煩雑で結果を得るまでに時間がかかるなどの問題点があった。このような背景から、医療現場では操作が簡便で、迅速な結果が得られるiCa測定法が望まれてきた。

1967年、J.W.RossによりCa²⁺イオン選択電極が開発さ

れ、これを契機に血中iCa測定が可能となった³⁾。以後、今日まで改良が重ねられ⁴⁾⁻⁷⁾、臨床検査で実際に使用される市販アナライザーも多数開発された。

一方、イオン選択電極はNa⁺,K⁺,Cl⁻などがすでに実用化されていたが、1979年、Eastman Kodakはその電極形態においてきわめてユニークなNa⁺,K⁺,Cl⁻イオン選択電極を発表した⁸⁾。それは、アナライザー本体部分と測定素子、すなわち電極を分離し、電極をディスポーザブル(single-use)にすることにより、電極の保守管理を無くして簡便性を向上させるというコンセプトに基づいている。比色定量法においても、同様のコンセプトに基づいた一連の測定システムを開発し、これらを合わせてKodak Ektachem(現 Vitros)の名称で臨床検査市場に導入された。

このユニークな電極は、支持体の上に銀層-塩化銀層-電解質層-イオン選択膜の各層がこの順に積層された多層フィルム構造を有し、乾式化された画期的なものであった。

富士写真フィルムにおいても1980年台に入り、血液中のNa⁺,K⁺,Cl⁻イオン測定用として、乾式多層フィルム型イオン選択電極を用いた富士ドライケム800システム(FDC800システム)を開発した⁹⁾。このシステムは、3種類の電極が組み込まれたスライド(FDCスライドNa-K-Cl)と専用アナライザー(FDC800)から成る。3項目同時測定、全血測定が可能、測定時間が1分などEktachemに勝る優れた特長を有し、夜間・緊急検査などで広く使用されている。

FDC,Ektachemの両臨床検査システムは、測定に液状試薬を用いないことからドライケムストリーとよばれ、現在、臨床検査の一分野を築いている。

2.4 臨床検査の現状と動向

次に、本開発の契機となった臨床検査の最近の動向について述べる。

1983年、米国に端を発した医療システムの変革が進む中で、臨床検査の経済的、医学的な効率性の向上が重要な課題となっている¹⁰⁾。これまでは経済的な効率性を重視して、中央検査室において極力自動化し、省人化することによってコストを抑える努力が成されてきた。しかし、この方式は必ずしも医学的な効率性と両立しない。検査サンプルを一括して大量処理する方式を取らざるを得ないので、検査結果が医療現場にフィードバックされるまで多くの時間を要する。

患者への医療サービスの向上を図るため、ベッドサイドや診察室など、より患者に近い場所(near-patient)で血液検査を行い、速やかに結果を医療現場にフィードバックしようとする検査、すなわちPoint-of-Care Testing(POCT)が近年米国で活発に行われるようになってきた。

POCTを考える際、全血のまま測定できること、操作が簡便で誰もが取り扱えることは重要なポイントである。また、同時に微侵襲性であることも大切で

ある。なぜなら、個々の医療現場に血清、血漿分離のための遠心機を備えるのは難しいし、たとえ行なえたとしても分離までに時間がかかってしまう。また、医療現場でこれらの検査機器を取り扱うのは、検査技師ではなく医師または看護婦(士)だからである。一方、採血量をできる限り軽減して患者への負担を最小限にすることは、医療サービス向上を図る上で基本的な要求である。

現在、市販されているイオン選択電極を用いた電解質(Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} など)測定システムは、それぞれの電極のイオン感応部を試料流路に固定し、ここに検体を注入して繰り返し測定を行なっている。この方式では全血測定は可能であったが、電極性能を維持するために定期的に標準液を流してキャリブレーションを行ったり、また、流路内の汚れを除去するために定期的に洗浄液を流す、あるいはチューブ系を定期交換する必要がある。そのため、廃液処理、終夜通電、定期的保守管理が伴い、POCTへの対応は必ずしも十分でない。

FDC800システムは前述の優れた特長のほか、プレコンディショニング不要、キャリブレーション不要(すなわち、廃液の発生もない)など簡便性にも優れ、1回の検査に必要な検体量がわずか $50\mu\text{L}$ と微侵襲性でPOCTにおいてきわめて有効に機能するシステムといえる。iCaの測定においても同様のシステムができれば、POCTにおいてきわめて有用であろう。

以上述べてきたように、iCa測定技術の発展と臨床検査におけるPOCTニーズの高まりを背景に本開発を行った。

3. スライド開発

3.1 システム構成

(1) FDC iCa スライド

FDC iCa スライドの構成を Fig. 2 に示す。Na-K-Cl スライドと同じスライドフォーマットを採用しているため、既存の製造ラインを有効に活用することができる。ただし、iCa スライドには2種類の電極(iCa 電極、pH 電極^{注)})のみであるため、第3番目の電極位置にはダミー電極(銀を蒸着したPETベース)を組み込んでいる。

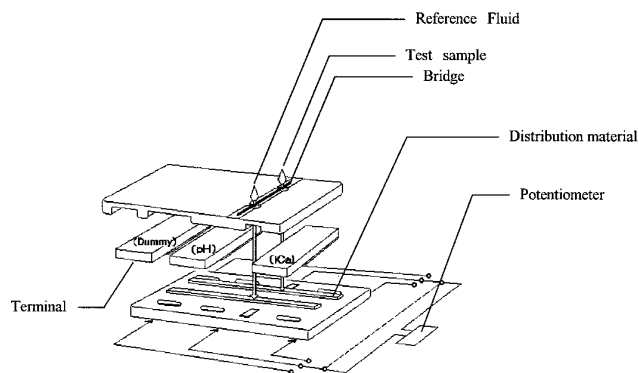


Fig. 2 Structure of iCa slide.

注) 正確には水素イオン選択電極というべきであるが、通常 pH 電極と呼ぶのでこれに従う。

(2) 参照液

参照液は一定電位を発生させる機能を有するが、その際、ジャンクションポテンシャルの発生を防ぐこと、保存中の劣化を防ぐことが重要である。そのため、参照液とヒト血液のもつイオン強度が等しくなるように参照液の iCa 濃度、pH、他のイオン濃度(Na^+ , Cl^- , HCO_3^-)をヒト正常値に調整する。また、ブリッジの中央部で安定した液絡が形成されるよう、ポリビニルピロリドン(K-15)、グリセリンを加えて参照液の移動のタイミングを調整する、電位測定に影響を与えないイソチアゾリン系の防腐剤(ProClin 150; Rohm and Haas)を添加する、などの工夫が成されている。

(3) アナライザー

前述したように、iCa スライドは Na-K-Cl スライドと同じフォーマットを採用しているため、FDC800 アナライザーによる測定が可能である。参照液と検体を同時に吸引できる専用のピペットを用いて、参照液、検体それぞれ $50\mu\text{L}$ 吸引する。これらを点着孔に点着して測定ボタンを押すだけで、1分後には測定結果が得られる。pH 補正機能が付加されており、pH7.4 における iCa 濃度を得ることができる。

3.2 電極構成と測定原理

(1) 電極構成

iCa 電極、pH 電極の構成を Fig. 3(a), (b) に示す。両者の基本的な構成は同一で、イオン選択膜の組成のみが異なる。支持体(ポリエチレンテレフタレート)上にスパッタリングにより Ag 層を形成し、その上層部分をハロゲン化して AgCl 層を設けている。銀のハロゲン化には酸化剤として、従来、重クロム酸・カリを使用してきたが、環境負荷を軽減するため、1,3 ジアミノプロパン四酢酸・鉄(III)・アンモニウム(PDPA・Fe(III))を採用した。Ag/AgCl の組み合わせは安定電位を発生するので、参照電極として一般に用いられる。

その上部に電解質層、イオン選択膜(ISM)を積層してイオン選択電極を構成する。電解質層、ISM の形成には写真フィルムの塗布技術を応用し、高度な均一性を確保している。その結果、塗布ロットが異なっても電位応答性の変動がきわめて小さく、ロットごとのキャリブレーションは不要である。また、個々の電極性能のバラツキも小さく、データの再現性も高い。

電解質層は ISM と AgCl の間の抵抗を下げて膜電位を安定させる働きがある。ISM は特定イオンに対して選択性を有し、その活量に応じて膜電位を発生させる。選択性能は ISM の持つイオン分配性(ニュー

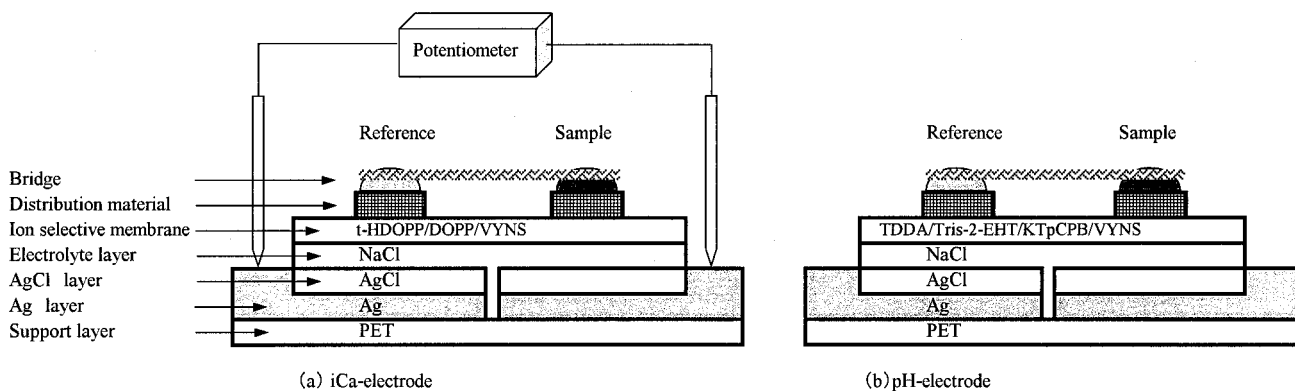


Fig. 3 Structure of iCa and pH-electrode.

トラルキャリア型の場合),あるいはイオン交換型(イオン交換型の場合)および膜内での易動度に支配される。したがって,これらの支配因子であるイオン選択物質とその溶媒の選択は,イオン選択電極を設計する際,最も重要で電極性能を決定づける。

iCa電極に用いるイオン選択物質として,イオン交換型のt-HDOPP(Bis[4-(1,1,3,3-tetramethyl butyl)phenyl]phosphonate,calcium salt)を採用した。t-HDOPPはJ.W.Rossが最初に用いたDidecylphosphoric acidの改良タイプである。近年,スイス工科大学のW.Simonらのグループは,選択性の優れたニュートラルキャリア型のCa²⁺イオン選択物質を開発し¹¹⁾,一部の市販アナライザーに应用されている。しかし,t-HDOPPは臨床検査で要求される実用性能(選択性,再現性,安定性)を満たし,また,安価であるため現在広く用いられている。t-HDOPPの溶媒としてDOPP(di-n-octylphenylphosphonate)を用いた。DOPPはt-HDOPPの良溶媒であること,膜形成に用いるポリ塩化ビニル(本開発では塩酢ビ共重合体を使用)の可塑剤として優れていること,誘電率が大きく電位安定化に有利に働く¹²⁾,などの点からJ.W.Rossが採用して以来,今日まで用いられている。pH電極としてはガラス型電極が一般的だが,本開発の多層フィルム型の電極形成には適用できない。液膜型電極である必要があり,この目的に合うイオン選択物質としてTridodecylamine(TDDA)を採用した。1981年に前述のW.Simonらのグループにより,水素イオン選択物質として有用であることが報告され¹³⁾,以後,TDDAは液膜型pH電極のイオン選択物質として広く使用されている。TDDAの溶媒としてTris-2-ethylhexyltrimellitateを採用した。これまで,TDDAの溶媒としてはNPOE(p-nitrophenyloctylether),DOS(Dioctylsebacate)などが一般的に用いられているので本開発でも検討したが,十分な電極の経時安定性が得られなかった。これは乾式多層フィルム型電極固有の問題と考えているが,種々の溶媒

を検討した結果,比較的粘度の高い上記溶媒が良好な特性を示したため採用した。Fig.4(a),(b)に用いたイオン選択物質,溶媒の化学式を示す。

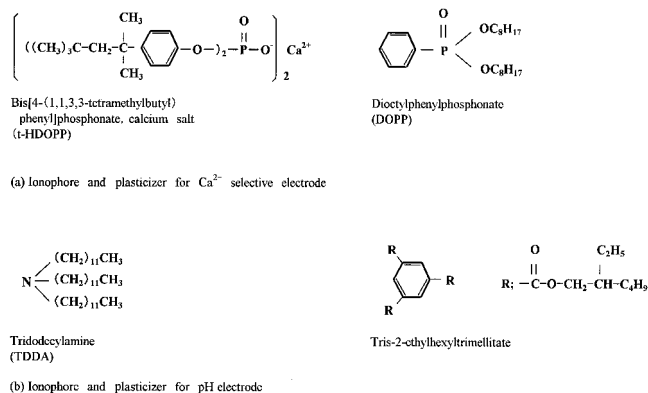


Fig. 4 Ionophore and plasticizer.

(2)測定原理

本開発のiCa濃度測定は示差式電位測定法に基づいている。その原理をFig.3(a)に示す。左右同一の電極対のうち,左側を参照電極,右側を試料電極と呼ぶ。参照電極には,濃度既知の参照液を点着する。試料電極には全血などの被検液を点着する。参照電極は,参照液中のイオン活量に応じて一定の電圧(E_{ref.})が発生する。E_{ref.}はネルンストの式に従い(1)式で表される。試料電極は,被検液のイオン活量に応じた電圧(E_{sample})が発生し,E_{sample}は(2)式で表される。参照液と被検液はブリッジを介して液絡を形成し,電気回路が成立する。それぞれの電極端子間の電圧差(E)は両者の差として観測され(3)式で表される。(3)式から被検液中の未知のイオン活量(A_{sample})を求めることができる。

iCa濃度はすでに述べたように十分低いので,実際にはiCa濃度 iCa活量として扱っている。pH測定時の水素イオンも同様である。

$$E_{ref.} = E_0 + (N/z) \cdot \text{Log}(A_{ref.}) \quad (1) \text{式}$$

$$E_{sample} = E_0 + (N/z) \cdot \text{Log}(A_{sample}) \quad (2) \text{式}$$

$$E = E_{sample} - E_{ref.} = (N/z) \cdot \text{Log}(A_{sample}/A_{ref.}) \quad (3) \text{式}$$

$E_{ref.}$: 参照電極電位

E_{sample} : 試料電極電位

E_0 : 標準電極電位

$A_{ref.}$: 参照液中のイオン活量

A_{sample} : 被検液中のイオン活量

N : ネルンスト係数

z : イオン価数

iCa 濃度 ,pH は上記に従い求められるが ,前述のように iCa は pH により pH7.4 の値に補正される。血液中の iCa 濃度と pH の関係は(4)式で表される¹⁴⁾。この関係が成り立つのは ,厳密には pH7.2 ~ 7.6 の範囲であるといわれている。S はスロープファクターと呼ばれ電極特性に応じて設定される。

$$\text{Log}(\text{Ca}^{2+}) \text{ at pH7.4} =$$

$$\text{Log}(\text{Ca}^{2+}) \text{ at pH measured} - S \cdot (7.4 - \text{pH}) \quad (4) \text{式}$$

4. Ca スライド特性

(1) 電位応答性

参照液と被検液を同時点着した後の電位の変化を Fig. 5 に示す。電位が早く安定し ,一定電位を保つことが実用上好ましい。iCa 電極 ,pH 電極の電位は共に 30 秒以内でほぼ平衡に達し ,1 分以内で測定が可能であることを示している。

FDC iCa スライドは液絡形成に糸ブリッジを採用している。糸ブリッジは ,繊維間の毛管現象によって参照液 ,検体を速やかに導いて安定な液絡を形成するのにきわめて有効で ,早い電位応答性に寄与している。

(2) 同時再現性

すでに述べたように ,血液中の iCa 濃度は狭い範囲で管理されているので ,測定値の再現性もこれに応じたものでなければならない。本システムは測定ごとに single-use の電極を用いるので ,個々の電極のバラツキは直接同時再現性に関わる。

濃度の異なる 5 種類の全血検体を同時測定し ,その時の同時再現性を Table 1 に示す。いずれの濃度でも CV2 ~ 3 % 台で実用上十分な性能を示している。

$$\text{CV (Coefficient of variation)} : \text{SD/Average (\%)} \quad (5) \text{式}$$

(3) 相関

全血の多検体を用いて AVL988-4 (AVL Medical Instruments) との相関性を調べた。AVL988-4 は Na^+ , K^+ , pH , Ca^{2+} の 4 種のイオン選択電極を有し ,これらのイオン濃度を同時測定している。両者の関係を Fig. 6 に示す。回帰式 $y = 0.977 \cdot X + 0.04$,相関係数 $R = 0.990$ と良好な関係が得られている。

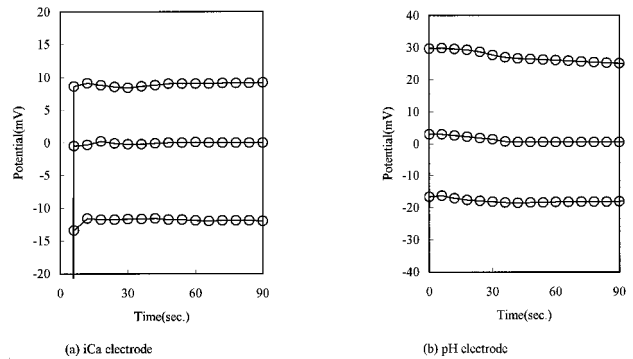


Fig. 5 Potential response of iCa and pH electrode. Spotting solution : control soln.- L,M,H.

Table 1 Reproducibility of FDC iCa Slide for Human Whole Blood after Standardization at pH7.4.

	Sample1	Sample2	Sample3	Sample4	Sample5
1	0.53	0.87	1.31	1.89	2.46
2	0.56	0.89	1.35	1.84	2.34
3	0.57	0.90	1.36	1.92	2.55
4	0.57	0.92	1.39	1.90	2.38
5	0.55	0.90	1.37	1.75	2.40
6	0.55	0.90	1.42	1.85	2.35
7	0.57	0.89	1.37	1.69	2.54
8	0.54	0.90	1.39	1.77	2.48
9	0.55	0.87	1.44	1.83	2.40
10	0.56	0.84	1.39	1.85	2.37
11	0.56	0.89	1.32	1.79	2.33
12	0.56	0.87	1.30	1.88	2.24
13	0.58	0.85	1.39	1.89	2.42
14	0.54	0.85	1.30	1.76	2.36
15	0.56	0.85	1.33	1.83	2.35
16	0.55	0.91	1.31	1.81	2.33
17	0.55	0.82	1.31	1.83	2.39
18	0.57	0.85	1.32	1.84	2.37
19	0.53	0.87	1.31	1.83	2.42
20	0.54	0.88	1.32	1.87	2.17
SD(mM)	0.01	0.03	0.04	0.06	0.09
Average(mM)	0.56	0.88	1.35	1.83	2.38
CV(%)	2.57%	2.94%	3.23%	3.14%	3.73%

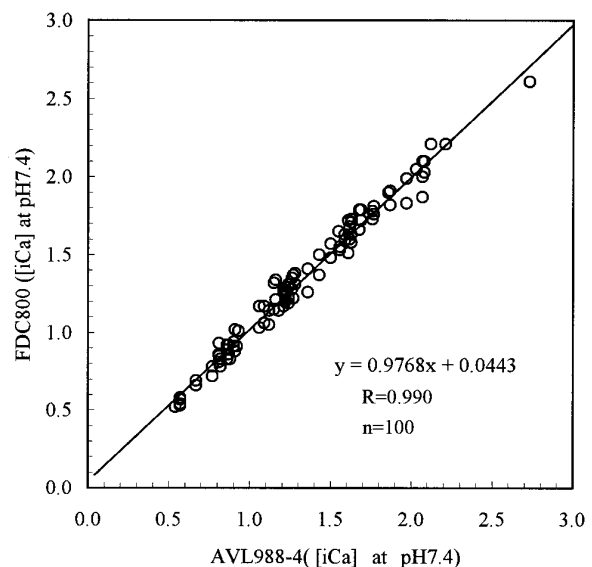
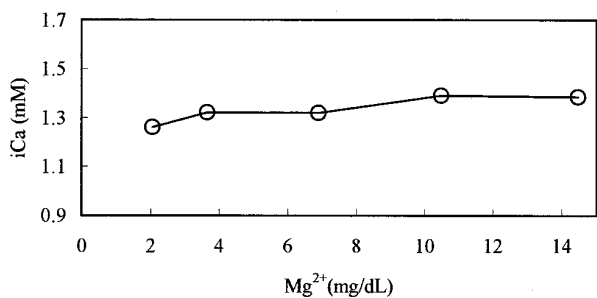


Fig. 6 Correlation between FDC iCa slide data and AVL988-4 data.

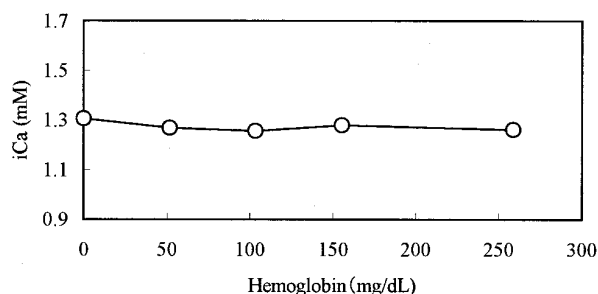
(4) 干渉物質の影響

干渉物質の影響を Fig. 7(a)~(c)に示す。

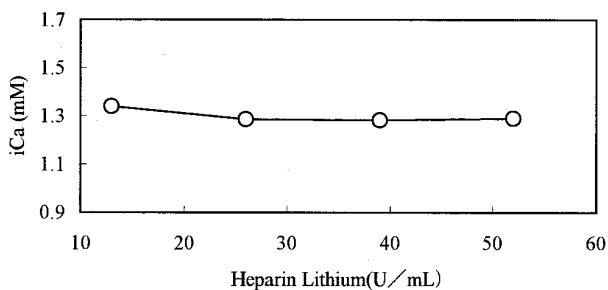
- (a) Mg²⁺で若干正誤差が認められるが、ヒト血液中のMg²⁺濃度(~ 7mg/dL)範囲ではその程度は十分に小さい。
- (b) 全血を検体として扱う場合、溶血して赤血球中のヘモグロビンが溶出してくることがあるが、中程度の溶血(~ 150mg/dL)では影響を認めない。
- (c) 全血検体の場合、採血する際に抗凝固剤としてヘパリン・リチウムを用いる。ヘパリンも蛋白質であるためCa²⁺を吸着するので、添加量の増加と共に負誤差を与える。ただし、通常の使用濃度(15 ~ 40U/mL)範囲では影響はほとんど見られない。



(a) Interference with Mg²⁺



(b) Interference with Hemoglobin



(c) Interference with anticoagulant(Heparin Lithium)

Fig. 7 Effect of interferences.

(5) pH補正性能

iCa濃度のpHとの関係、およびpH7.4に補正した後のiCa濃度を Fig. 8に示す。補正後のiCa濃度は

pH7.4のiCa濃度の値とよく一致し、pHの広い範囲で補正が有効に機能していることがわかる。関係式は下式で表される。

$$\text{Log}(\text{Ca}^{2+}) \text{ at pH}7.4 = \text{Log}(\text{Ca}^{2+}) \text{ at pH measured} - S \cdot (7.4 - \text{pH})$$

$$S = 0.22$$

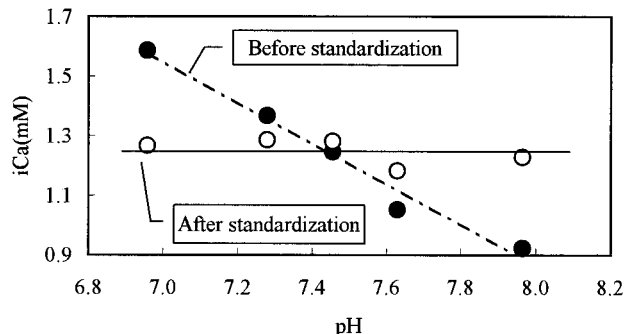


Fig. 8 pH effect on iCa concentration of human whole blood.

5. まとめ

経済効率を優先したこれまでの臨床検査のあり方が見直され、患者に対する医療サービスの向上を主眼としたPoint-of-Care Testing(POCT)の重要性が、米国をはじめとして、近年、日本国内においても認められ始めた。今後、POCTのニーズは国内外を問わず確実に拡大していくものと考えられる。

このたび、富士写真フィルムで開発されたFDC iCaスライドは、長年培われた写真フィルム製造技術と、1980年以降、朝霞研究所で発展してきた体外診断薬の製造技術を背景に生まれた。このiCa測定システムは、簡便性、迅速性、微侵襲性にすぐれ、また、臨床的にも十分な性能を持つことが確認された。このような特長を有するiCa測定システムは世界初であり、すでに市場導入されているNa-K-C1スライドと共に、今後、臨床検査、とりわけPOCTの分野での活用が期待される。

最後に、本スライドの開発を進めるにあたり、ご指導、ご協力頂いた関係者の方々に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 越川昭三 訳. 血漿中の遊離カルシウム“イオン化カルシウム”. 臨床麻酔. 5, (10) (1981)
- 2) 浅井孝道. 検査と技術. 10 (1), 31-37 (1982)
- 3) J. W. Ross. Science. 156, 1378 (1967)
- 4) S. A. H. Khalil ; G. J. Moody ; J. D. Rthpmas. Analyst. 97, 420-427 (1972)
- 5) J. Ruzicka ; E. H. Hansen ; J. C. Tjell. Analytica Chimica Acta. 67, 155-178 (1973)
- 6) H. M. Brown ; J. P. Pemberton ; J.D.Owen. Analytica Chimica Acta. 85, 261-276 (1976)
- 7) G. H. Griffiths ; G. J. Moody ; J. D. R. Thomas. Analyst. 110, 353-358 (1985)

-
- 8) H. G. Crume. American Association for Clinical Chemistry meeting. 1979
- 9) 瀬志本修. FUJIFILM RESEARCH & DEVELOPMENT No.33, 32-37 (1987)
- 10) 河合忠. 臨床病理. 47 (12), 1099-1104 (1999)
- 11) P. Anker ; E. Wieland ; D. Ammann ; R. Edohner ; R. Asper ; W. Simon. Anal. Chem. 53, 1970-1974 (1981)
- 12) Hong Wang. Journal of Electroanalytical Chemistry. 382, 165-168 (1995)
- 13) P. Schulthess ; Y. Shijo ; H. V. Pham ; E. Pretsch ; D. Ammann ; W. Simon. Analytica Chimica Acta. 131, 111-116 (1981)
- 14) H. D. Schwartz ; B. C. McConville ; E. F. Christopherson. Clinica Chimica Acta. 31, 97-107 (1971)
- (本報告中にある“富士”、“FUJI”、“ドライケム”、“DRI-CHEM”は富士写真フイルム(株)の商標です。)