

博士学位論文

(内容の要旨及び論文審査の結果の要旨)

Minoru Ueda

氏名 上田 実
学位の種類 博士 (工学)
学位記番号 博 甲 第36号
学位授与 平成23年2月24日
学位授与条件 学位規定第3条第3項該当
論文題目 Advanced Flow-Based Analysis Utilizing Spectroscopy for Biological and Environmental Samples
(生体及び環境試料分析のための高機能フロー分光法の開発)
論文審査委員 (主査) 教授 酒井忠雄¹
(審査委員) 名誉教授 柘植 新² 教授 井上眞一¹ 准教授 手嶋紀雄¹

論文内容の要旨

Advanced Flow-Based Analysis Utilizing Spectroscopy for Biological and Environmental Samples

(生体及び環境試料分析のための高機能フロー分光法の開発)

本研究は、生体及び環境試料のための高性能なフロー分光法を提案したものである。流れ分析法として、フローインジェクション分析 (FIA) 法とシーケンシャルインジェクション分析 (SIA) 法がよく知られ、実試料分析に導入されている。これらの手法はシステムが簡便で迅速な分析法であるが、高感度化、試薬低減化、完全自動化、オンライン前処理技術などを補う技術改革が望まれている。近年では、FIA及びSIAの機能をさらに高めるための新しい流れ分析の概念が多く提案されている。また、流れ分析の手法は固相抽出のような煩雑な前処理の自動化にも適している。本研究では、従来からの流れ分析法をさらに発展させた高機能・高性能なフロー分析システムを開発した。またチップ型分析システムによる分析システムの小型化を試みた。これらの研究成果を以下に述べる。

第1章は、全体の緒言である。FIA, SIA法の歴史的背景、ガス拡散スクラバー、FIA, SIA法の欠点とそれを補うための新しい流れ分析の概念、FIA, SIAによる前処理の自動化、グリーンケミストリーを指向した分析システムの小型化について述べた。

第2章では、新しく見出した硫酸ヒドロキシルアミンと鉄錯体を用いるホルムアルデヒド (HCHO)のFIA法について述べた。HCHOは硫酸ヒドロキシルアミンと脱水縮合することがすでに知られているが、ここに鉄(III)を加えると縮合反応後に残存するヒドロキシルアミンが鉄(III)を鉄(II)に定量的に還元し、還元された鉄(II)は適当な配位子が存在すると錯体を形成する。この錯体の吸光度からヒドロキシルアミンの減少量が測定できる。ヒドロキシルアミンの減少量はHCHOの濃度に比例するため、間接的にHCHOの定量が可能である。ここでは、この反応を利用したHCHOのFIA法を開発した。配位子にフェロジンをすることで高感度なホルムアルデヒドの分析が可能となった。本法は産業排水中のHCHOの分析に応用され、排水管理に有用である。

第3章では、ガス拡散スクラバーを用いる蛍光FIA法による呼気HCHOの分析と重力滴下蒸発法を用いる標準HCHOガス発生法について述べた。呼気HCHOはがんに対するバイオマーカーとして期待されるが、呼気HCHOを定量する高感度な分析法はほとんど報告されていない。ここでは、呼気HCHOをオンライン捕集するためのガス拡散スクラバーを備えた自動FIAシステムを開発した。また、システム校正のための標準ガスの新規な発生法も開発した。本法により微量の呼気HCHOの検出が可能となり、喫煙直後の呼気HCHOの濃度上昇と時間変動による減少が確認された。

第4章では、ストップト-イン-デュアルループフロー (SIDL-FA) 法によるバナジウムの高感度分析について述べた。通常、FIA法では、安定したベースラインを得るた

1 愛知工業大学 工学部 応用化学科 (豊田市)

2 名古屋大学 (名古屋市)

めに常に試薬溶液とキャリアー溶液を流し続ける。したがって、長時間の分析では大量の試薬を消費し、さらに多量の廃液を排出する。この弱点を補うため、試薬と試料が混合した反応溶液を六方バルブ上のループに隔離し、反応を促進させる間は全ての溶液の流れを止めるストップ-イン-ループフロー (SIL-FA) 法が考案された。しかし、従来のSILFA法では、バルブの切り替えやポンプのオン/オフといった操作はマニュアルで行われた。ここでは、微小反応場であるループを2つ用いたSIDL-FA法を開発し、新たに設計されたタッチスクリーンコントローラーを用いて分析プロトコルを全自動化した。本システムにバナジウムの接触分析法を導入し飲料水中のバナジウムの定量に応用した。

第5章では、黒鉛炉原子吸光光度計 (GFAAS) とSIA法をカップリングしたオンライン固相抽出法について述べた。固相抽出は前濃縮、マトリックスのからの分離のために広く用いられている。しかし、手操作による固相抽出がほとんどで、操作が煩雑で時間がかかる。ここでは、SIAを用いた自動前濃縮装置を開発しGFAASにオンライン接続した。GFAASのアームの動きを利用したトリガースイッチを用いて、GFAAS内蔵の分析プログラムと自動前濃縮装置の自作プログラムを同期させることで、濃縮、溶離、測定的全工程を自動化した。本システムは誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) に匹敵する感度を有し、陶器抽出液中のカドミウム、鉛の分析に応用された。

第6章では、ラボ-オン-チップを用いる植物抽出液を利用した酸定量について述べた。分析システムの小型化は試薬消費量の削減に効果的であり、 μ -TAS (micro total analysis system) による微小化学分析システムの開発が盛んに行われている。しかし、 μ -TASの開発には高度な技術、高価なデバイスを必要とすることから、シンプルで安価な小型分析システムが求められている。ここでは、アクリル製の小型のチップ (ラボ-オン-チップ) を用いた簡易分析装置を作製し、ラボ-オン-チップによる酸の定量を試みた。小型の分析システムを使用することで、一般的な滴定法と比べると廃液の大幅な削減が可能となった。さらに、試薬として花の抽出液を用いることで環境負荷の低い分析法を提案した。

第7章は本研究で得られた結論を述べた。流れ分析法は迅速簡便な分析法であるが、さらなる高機能・高性能化が求められている。本研究では、従来のFIAに、オンラインガス捕集濃縮機能を有した自動化FIA、FIAの機能を利用した排液削減型の新しい流れ分析、SIAの技術を用いた自動前濃縮装置が開発された。また、ラボ-オン-チップによる分析システムの小型化及び天然由来試薬の使用による低環境負荷な分析法が構築された。本研究で開発され

た技術及びシステムは汎用性に優れており様々な領域に応用されることが期待される。

論文審査結果の要旨

本研究は、生体及び環境試料分析のための高機能なフロー分光法を提案したものである。流れ分析法として、フローインジェクション分析 (FIA) 法とシーケンシャルインジェクション分析 (SIA) 法がよく知られ、実試料分析に導入されている。これらの手法はシステムが簡便で迅速な分析法であるが、高感度化、試薬低減化、完全自動化、オンライン前処理技術などを補う技術改革が望まれている。特に生体関連物質の定量には高感度で高速の分析技術が、また環境成分分析ではマトリックスの除去と極微量成分分析の発展が望まれている。それに伴い、近年では、FIA及びSIAの機能をさらに高めるための新しい流れ分析技術が多く提案されている。本研究では、従来からの流れ分析法をさらに発展させた高機能・高性能なフロー分析システムを開発した。例えば気液抽出や固相抽出のような煩雑な前処理技術のオンライン化に成功し、ホルムアルデヒド、重金属イオンの微量成分分析法を確立した。またマイクロチップを検出場とするラボオンチップ法の実用利用を検討し、分析システムの小型化と環境調和型検出法を確立した。

第1章は、緒言である。FIA、SIA法の歴史的背景、ガス拡散スクラバー、FIA、SIA法の欠点とそれを補うための新しい流れ分析技術の導入、特に発展が期待されるFIA、SIAによる前処理技術の自動化、装置の高機能化、グリーンケミストリーを指向した分析システムの小型化について述べている。

第2章では、新しく見出した硫酸ヒドロキシルアミンと鉄錯体を用いるホルムアルデヒド (HCHO) のFIA法について述べている。HCHOは硫酸ヒドロキシルアミンと脱水縮合することがすでに知られているが、ここに鉄(III)を加えると縮合反応後に残存するヒドロキシルアミンが鉄(III)を鉄(II)に定量的に還元し、還元された鉄(II)は適当な配位子が存在すると錯体を形成する。この錯体の吸光度変化からヒドロキシルアミンの減少量が測定できる。ヒドロキシルアミンの減少量はHCHOの濃度に比例するため、間接的にHCHOの定量が可能である。ここでは、この反応を利用したHCHOのFIA法を開発した。配位子にフェロジンを用いることで高感度なホルムアルデヒドの分析が可能となった。本法は産業排水中のHCHOの分析に応用され、排水管理に有用であり、ここで利用された化学反応は新たに見出されたもので、新規性は高い。

第3章では、ガス拡散スクラバーを用いる蛍光FIA法に

よる呼気HCHOの分析と重力滴下蒸発法を用いる標準HCHOガス発生法について述べている。呼気HCHOはがんに対するバイオマーカーとして期待されるが、呼気HCHOを定量する高感度な分析法はほとんど報告されていない。ここでは、呼気HCHOをオンライン捕集するためのガス拡散スクラバーを備えた自動FIAシステムを開発した。また、システム校正のための標準ガスの新規な発生法も開発した。本法により微量の呼気HCHOの検出が可能となり、喫煙直後の呼気HCHOの濃度の上昇と時間変動による減少が確認されたが、呼気分析への流れ分析法の適用は臨床化学的にも有用である。

第4章では、ストップ-イン-デュアルループフロー (SIDL-FA) 法によるバナジウムの高感度分析について述べている。通常、FIA法では、安定したベースラインを得るために常に試薬溶液とキャリアー溶液を流し続ける。したがって、長時間の分析では大量の試薬を消費し、さらに多量の廃液を排出する。この弱点を補うため、試薬と試料が混合した反応溶液を六方バルブ上のループに隔離し、反応を促進させる間は全ての溶液の流れを止めるストップ-イン-ループフロー (SIL-FA) 法が考案された。しかし、従来のSILFA法では、バルブの切り替えやポンプのオン/オフといった操作はマニュアルで行われた。ここでは、微小反応場であるループを2つ用いたSIDL-FA法を開発し、新たに設計されたタッチスクリーンコントローラーを用いて分析プロトコルを全自動化した。本システムにバナジウムの接触分析法を導入し飲料水中のバナジウムの定量に応用した。

第5章では、黒鉛炉原子吸光光度計 (GFAAS) とSIA法をカップリングしたオンライン固相抽出法について述べている。固相抽出は前濃縮、マトリックス成分の除去のために広く用いられている。しかし、手操作による固相抽出がほとんどで、操作が煩雑で時間がかかる。ここでは、SIAを用いた自動前濃縮装置を開発しGFAASにオンライン接続した。GFAASのアームの動きを利用したトリガースイッチを用いて、GFAAS内蔵の分析プログラムと自動前濃縮装置の自作プログラムを同期させることで、濃縮、溶離、測定的全工程を自動化した。本システムではpptレベルの検出が可能で、誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) に匹敵する感度を有し、陶器抽出液中のカドミウム、鉛の分析に応用されたが、種々の生体・環境試料への適用が可能である。

第6章では、ラボ-オン-チップを用いる植物抽出液を利用した酸定量について述べている。分析システムの小型化は試薬消費量の削減に効果的であり、 μ -TAS (micro total analysis system) による微小化学分析システムの開発が盛んに行われている。しかし、 μ -TASの開発には高度な技術、高価なデバイスを必要とすることから、シンプルで安価な小型分析システムが求められている。ここでは、アクリル製の小型チップ (ラボ-オン-チップ) を用いた簡易分析装置を作製し、ラボ-オン-チップによる酸の定量を試みた。小型の分析システムを使用することで、一般的な滴定法と比べると廃液の大幅な削減が可能となった。さらに、試薬として花の抽出液を用いることで環境負荷の低い分析法を提案しているが、化学教育の面でも貢献できる手法と考える。

第7章は本研究で得られた結論と将来展望について述べている。流れ分析法は迅速簡便な分析法であるが、高感度化のための新規の化学反応の導入、装置のハイホネーションによるさらなる高機能・高性能化が求められている。本研究では、従来のFIAに、オンラインガス捕集濃縮機能を有した全自動FIA装置の開発、FIAの機能を利用した廃液削減型の新しい流れ分析、SIAの技術を用いた自動前濃縮装置とGFAASとの融合による超微量重金属イオンの定量法が開発された。また、ラボ-オン-チップによる分析システムの小型化及び天然由来試薬の使用による低環境負荷な分析法が構築された。本研究で開発された技術及びシステムは汎用性に優れており様々な領域に応用されることが期待される。本研究で特筆すべきことは3章の「呼気ホルムアルデヒドの定量」に関する論文は学術論文誌「分析化学」の「分析化学若手初論文賞」を受賞し、また5章の「Cd/Pbの高感度分析法」の研究は2008年に名古屋で開催された15th ICFA国際会議で学生ポスター賞を受賞していることである。よって本論文は博士(工学)の質を十分に満たしていると判断する。

(受理 平成23年3月19日)