

# 尿中バナジウムとクレアチニンの流れ分析による 逐次定量分析システムの開発

[研究代表者] 手嶋紀雄 (工学部応用化学科)

[共同研究者] 村上博哉 (工学部応用化学科)

## 研究成果の概要

2019年1月21日にJIS K 0126「流れ分析通則」が改正・公示され、流れ分析法の一つであるシーケンシャルインジェクション分析 (SIA) 法が追加規定された。本 SIA 法は今後、具体的な分析対象物質の試験方法として JIS 化・公定法化が期待される方法である。FIA や SIA の特長の 1 つに、化学分析における優れたオンライン前処理能がある。オンライン化できる吸着分離剤は、イオン交換、キレート樹脂、逆相系固相抽出剤など多岐に亘る。さらに必要に応じて、複数の検出器をオンライン接続することができる。一方、尿中バナジウム (以下 V と略) に関する国外の症例対照研究によって、V の摂取が乳がんのリスクを有意に低減することが示された。この研究では、サブ ppb レベルの V を定量するために、高感度な誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法が用いられているが、尿試料に存在する高濃度の塩類をオフラインで除去 (脱塩) 後に ICP-MS 装置に導入する必要がある。また、尿自身の濃度による V 濃度の変動を補正するために、尿中クレアチニン (CR) が定量され V/CR 比が求められることがあるが、通常 CR の定量は別機関によって行われるため、手間がかかる。そこで本研究では、尿試料の脱塩と試料濃縮のための固相抽出操作を自動的に行って V を定量するために、キレート樹脂を充填したミニカラムを SIA システムに設置し、ICP-MS 装置にオンライン接続した。さらに、同一の SIA 装置に吸光光度計を接続し、CR の定量も行った。

なお、本研究の成果は学術性を考慮して Journal of Flow Injection Analysis 誌 ((公社)日本分析化学会フローインジェクション分析研究懇談会発行) に投稿し、2021 年に受理・掲載されている。

**研究分野:** 分析化学、臨床化学

**キーワード:** 流れ分析、尿分析、ICP 質量分析、吸光光度分析

### 1. 研究開始当初の背景

2013年9月にJIS K 0102“工場排水試験方法”が改正され、各種の機器分析による金属イオン計測の前処理操作にキレート樹脂固相抽出法が追加された。しかし固相抽出操作は個別のカートリッジを用いてオフラインで行われるため、時間もかかり樹脂の使用量も多い。一方、誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法を用いる尿バナジウム (以下 V と略記) の症例研究によって V が乳がんリスクを低減する可能性が示唆されている。尿分析ではしばしば尿自身の濃度を補正するために尿クレアチニン (CR) 濃度が必要となるが、ICP-MS 法によって CR を測定することは無論不可能であるため、別機関に

よって酵素法や吸光光度法によって計測されなければならない。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、尿中 V を計測するために、流れ分析の 1 つであるシーケンシャルインジェクション分析 (SIA) システムに固相抽出ミニカラムと ICP-MS 装置を設置した。また同一の SIA システムに吸光光度計を設置することにより、Jaffe 法による尿中 CR の吸光光度分析を行った。本法は V と CR を逐次的に計測することができるこれまでにない一体型の分析システムである。

### 3. 研究の方法

図1にICP-MS計と吸光光度計を接続した一体型SIAシステムを示す。SIAシステム内のシリンジポンプ(SP)、のシリンジポンプ(SP)、マルチポジションバルブ(MPV)、スイッチングバルブ(SV)はコンピュータ制御される。SV上の固相抽出ミニカラム(C)には、市

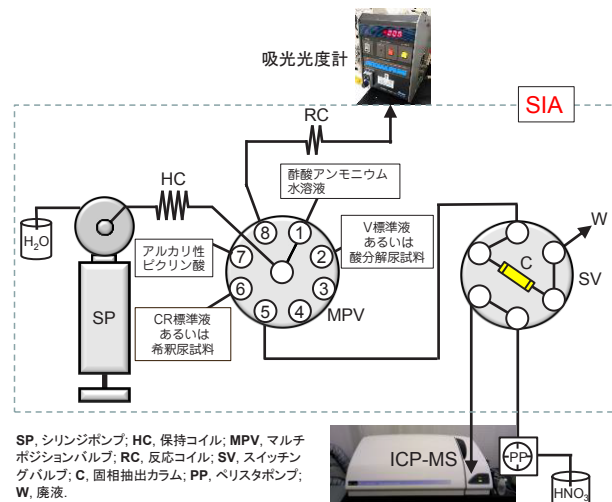


図1 尿中バナジウム(V)とクレアチニン(CR)の逐次定量分析システム。販のキレート樹脂が担持された吸着剤を予め充填しておく。まずMPVのポート1から酢酸アンモニウム溶液をCに通液してコンディショニングを行う。次にポート2からV標準液(あるいは酸分解尿試料)をCに通液する。このとき尿試料中に存在する高濃度の $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ などからなる塩類はCの吸着剤には吸着されない。つまり脱塩が達成される。一方、分析対象物質であるVはC内の吸着剤に捕捉される。ここでSVを切り替えると溶離液である $\text{HNO}_3$ がペリスタポンプ(PP)からCに送られ、Vが溶離されICP-MS装置に導入される。次いでMPVのポート7からピクリン酸の塩基性溶液とポート6からCR標準液(あるいは希釈尿試料)を吸引・吐出し、反応コイル(RC)に送りクレアチニン濃度に比例した赤色化合物の吸光度を吸光光度計で計測する。このようにして、一体型SIAシステムを用いてVとCRを逐次定量し、V/CR比を求めることができる。

### 4. 研究成果

各種の条件でVの検量線を作成した。Fig. 2はミニカラムによる固相抽出を行わない場合(未濃縮)、及びミニカラムに通液する体積を変化させたときのVの検量線である。Fig. 2に示すようにいずれの条件においても

0~3.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ の濃度範囲で良好な直線となった。カラムを通さない場合とV標準液を1 mL通液して濃縮する場合とを比較すると、後者の感度は、前者の3.4倍であった。このことからキレート樹脂によってVが濃縮されていることが確認できた。また、通液するV標準液の液量が1 mLと2 mLでは1.8倍、2 mLと4 mLでは2.0倍と、ほぼ通液量に比例して感度が増大した。2 mL濃縮時のILOD(装置検出下限)は1.0  $\text{ng L}^{-1}$ と高感度であった。

酸分解処理を施した尿標準試料中のバナジウムを本法により測定したところ、保証値とよく一致したことから、本法の有用性が確認できた。次に健常者13名の尿試料を測定し、サブ $\mu\text{g L}^{-1}$ レベルのVを検出した。この濃度レベルは、健常者の尿中V濃度の文献値とよく一致している。

一方Jaffe反応を用いるCR定量の最適実験条件の検討を行った後、CRの検量線を作成した。その結果、0~100  $\text{mg L}^{-1}$ の濃度範囲で良好な直線となった。同様に健常男性13名の尿試料を測定し、数 $\text{g L}^{-1}$ レベルのCRを検出し、男性のCR基準値とほぼ一致した。

本法はV/CR比の測定法として有用である。

### 5. 本研究に関する発表

#### 【投稿】

(1) A. Inoguchi, Y. Kawakami, H. Murakami, T. Sakai, N. Teshima, "Successive Determination of Vanadium and Creatinine in Urine Samples Using a Sequential Injection Analysis System Coupled to ICP-MS and Spectrophotometer", *J. Flow Inject. Anal.*, **2021**, 38, 55-61.