

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2007～2008
 課題番号： 19550097
 研究課題名 (和文) 低屈折率透明濃縮材を利用する固相分光法の開発と超微量環境有害物質分析への応用
 研究課題名 (英文) Solid-phase spectrometry with low refraction-adsorbent and its application to trace hormone-disrupting substance analyses
 研究代表者 渡辺邦洋 (Watanabe Kunihiro)
 東京理科大学・理工学部・教授
 研究者番号 40084470

研究成果の概要： 固相分光法は吸着材に濃縮されたアナライトを溶出することなく、直接測定することから、溶出によるアナライトの希釈がなく高感度の定量が実現できる利点を有している。しかし、問題点も多く、吸着材による吸収散乱が大きく、高い空試験値が蛍光および吸光分析の検出限界を悪化させる原因となってきた。この問題の解決に低屈折率の吸着材を採用し、改善を試みた。その結果、代表的環境負荷物で、界面活性剤の分解性生物であるノニルフェノールの蛍光定量法 (定量下限 5.4ppb) が確立できた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,800,000	840,000	3,640,000
20年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学、分析化学

キーワード：環境分析、有害化学物質、分子認識、水質汚濁

1. 研究開始当初の背景

フローインジェクション分析 (FIA) はスキルフリー分析法として注目され、環境分析、工業分析において重要な位置を占めつつある。この FIA において固相分光法を取り入れることは、迅速簡便かつ高感度分析法につながるものと期待された。固相分光法は濃縮法であり、かつアナライトを溶出することなく直接測定することから、原理的に高感度分析の条件を備えている分析法である。しかし多くの特長を有しながら、一般に普及した方法ではない。その原因に高い空試験値がある。この問題は感度の低下と定量可能範囲の狭さに結びつくもので、是非解決されねばなら

ない問題であった。

2. 研究の目的

固相分光法を超微量環境有害物質 (内分泌攪乱化学物質) の分析に適用することを目的とし、従来から問題のあった高い空試験値の改善に、低屈折率透明濃縮材の検索を検討した。現在知られている無色透明で、低屈折率の材料にはテフロン AF1600 (商品名) がある。屈折率は 1.31、光透過率は 95% 以上のものである。これを使用し、濃縮材とするため、微粒子に加工、その吸着効率の確認の結果、環境負荷物である界面活性剤の分析に利用できる可能性を見出した。このことにより、本研究ではノニルフェノールおよびその関

連物質の分析法確立を目的とした。

3. 研究の方法

濃縮材の調製：テフロン AF1600 は発泡スチロール状の白色物質であり、これを加熱融解し脱気冷却後、微細粉末状に加工し、その吸着効率を調べる。対象化学種は環境負荷物として金属キレート、界面活性剤を中心とした。検出方法は吸光光度法、蛍光光度法についておこなった。

濃縮材の調製において重要なのは、粒子径であり、蛍光光度法においては散乱光が空試験値を増大させ、検出限界を悪化させた。このことは粒子径の増大（表面積の増大）で解決できるが、そのとき捕集効率は低下する。この二つの要因を考慮して吸着材の粒子径（表面積）を決定する。蛍光光度計は日立製 L-2480(フロー法)、日立製 F-4500(バッチ法)を使用した。

また、吸着材としてメンブランフィルターについても試みた。これは白色の市販のフィルターが溶媒中ではかなりの透過率を示すことを利用するもので、検出は吸光光度法を利用した。分析目的はアニオン界面活性剤を安定で嵩高いカチオンである Co-Cl-PADAP と不溶性のイオン対を生成させ、フロー法でフィルターに捕集、そのまま吸光光度定量するもので、その捕集効率の良い条件を検討する。

吸光光度計は相馬光学の FIA 検出器を使用した。

4. 研究成果

イオン交換樹脂を用いた従来の固相分光法では紫外部での吸収が大きく、吸光法、蛍光法のいずれでも困難なものであったが、テフロン AF1600 を使用することにより、紫外部の吸収は小さく十分使用できることを確認し、以下に示すテーマで実験をした。その結果、環境負荷物の超微量成分分析に良好な結果を得た。

- 1) テフロン AF1600 を吸着材とする固相分光法によるポリオキシエチレン (2) ノニルフェニルエーテル (NPE2) の蛍光定量

吸着材の調製：市販品のテフロン AF1600 を加熱溶融脱気し、透明な粒状に加工した。最適な表面積は $250\text{m}^2/\text{g}$ であった。結果を図 1 に示す。またその表面状態についてレーザー顕微鏡での観察結果について図 2 に示す。レーザー顕微鏡特有の凹凸の状態が明瞭に示されている。

NPE2 の定量：NPE2 を 99.9%メタノールで溶解し、これを原液とした。蒸留水で希釈し、得られた溶液の pH が 6 であったので、試料溶液 pH は 6 とした。濃縮時間 5 分間で、

流量 2.0mL/min で送液した。検量線：得られた最適条件下で NPE2 濃度 0~50ppb の範囲で、相関係数 0.995 の良好な直線関係がえられた。検出限界は 1.8ppb であった。25 分間濃縮では検出限界 0.7ppb, 定量下限 2.2ppb であった。

この結果は JIS 法に採用されているチオシアン酸コバルト法(CTAS 法)の定量下限 50ppb と比較して感度が向上した。

なお、NPE2 はノニルフェノールエトキシレート (NPEO) が環境中で分解し、得られる中間体でさらに分解するとノニルフェノールになる。環境中では比較的安定に存在する。

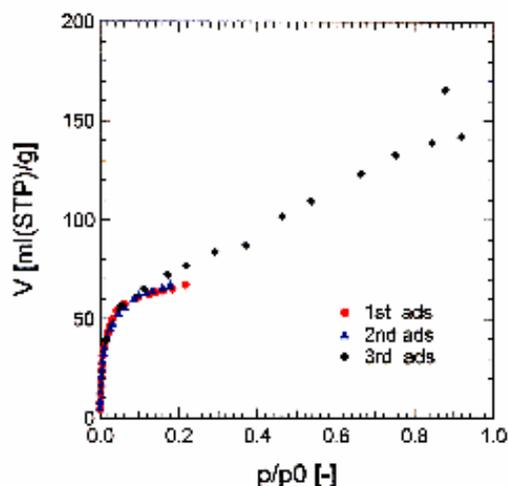


図 1 テフロン AF1600 粉末の表面積測定
吸着等温線 (BET 法による)
試料量 (1st 0.4717g, 2nd 0.1805g, 3rd 0.1987g)

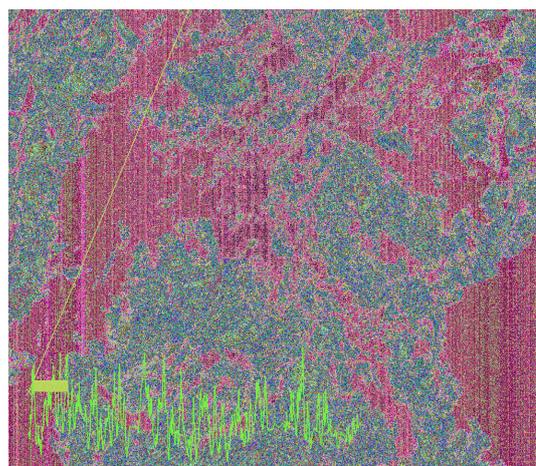


図 2 テフロン AF1600 の表面
レーザー顕微鏡撮影

2) PTFE メンブレンフィルターを用いた固相分光法による陰イオン界面活性剤の吸光度定量

SDS を含む試料溶液 60mL を 100mL ビーカーに採取し、Co(III)-5Cl-PADAP を加え、再蒸留水で 100mL にする。これを 1.0mL/min で流し、生成したイオン対を 0.1 μm PTFE メンブレンフィルターで捕集し、吸光度を波長 560 nm で測定した。捕集効率からメンブレンフィルターは 2 枚重ねて使用した。2 枚用いることにより、濃縮時間を 30 分から 10 分間に短縮することができた。測定終了後、フィルターを洗浄し、再使用するが、洗浄剤としての溶媒はメタノールが最も適していた。洗浄時間と吸光度の関係を図 3 に示す。

メタノールを使用する場合、流量 4mL/min で 2 分間で吸光度はゼロになり、その後再使用が可能となる。

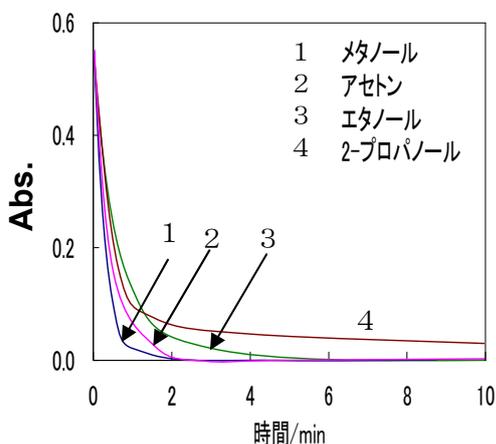


図 3 有機溶媒の洗浄効果

流量 4mL/min 試料 SDS-Co-5Cl-PADAP

図 4 に使用するフィルターの枚数と捕集効率を調べた結果を示す。捕集効率はろ液中の錯体濃度を調べ、その吸光度から求めた。

1 枚を使用した場合は、50%程度の捕集がみられ、2 枚では 70%程度が捕集された。3 枚の使用では、ベースライン（空試験値）が安定せず、使用はできなかった。

図 5 に試料（サンプル）流量の影響について検討した結果を述べる。捕集効率が一定であれば、試料量が多いほど感度は増大する。

しかし、高速で長時間の送液はフィルターに負荷がかかり、再現性に問題が生じる。これらの状況を考慮し、本研究では濃縮時間 10 分とし、流量は 2mL/min を採用した。

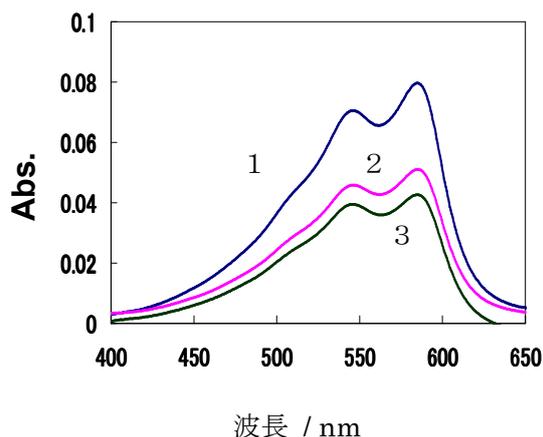


図 4 捕集効率とフィルター数の影響

- 1: 捕集なしで測定した溶液のスペクトル
- 2: フィルターを 1 枚使用
- 3: フィルターを 2 枚使用

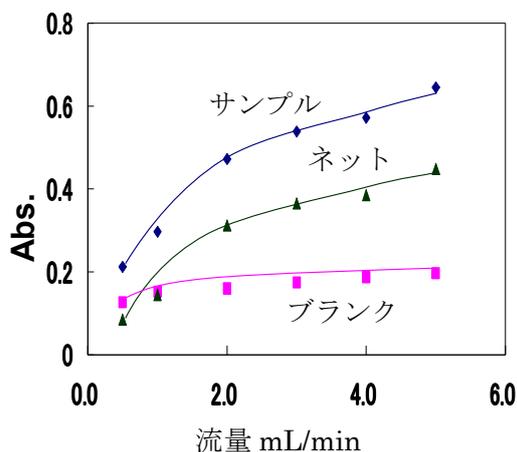


図 5 流量の影響

濃縮時間 10 min, 試料 SDS-Co-5Cl-PADAP
測定波長 560nm

最適条件で行った検量線（図 6）は濃縮時間 10 分、SDS 濃度 0~100ppb の範囲で相関係数 0.991 の直線が得られた。検出限界は 1.3ppb, 定量下限は 4.1ppb であった。本法は JIS 法（検出限界 5.0ppb）の EV 法に比較し、簡便かつ高感度な結果を得ることができた。

図 6 から分かるように空試験値は従来の、固相分光法に比較すると、大幅に改善されている。

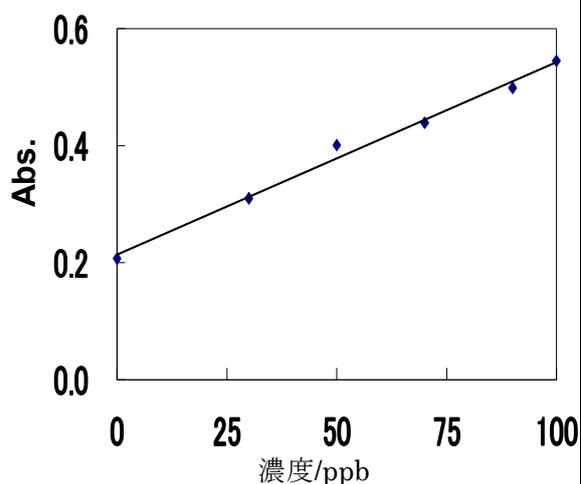


図6 SDSの検量線

3) テフロン AF1600 用いるオンライン濃縮によるNPEの固相分光吸光度法

NPEは300nm以下に吸収を示し、極大波長は275nmであった。これを用いて吸光度を測定した。濃縮時間5分間、サンプル流量1.5mL/min, 光路長3mm, 試料溶液pH6.5とすると、検量線は0~15ppbの範囲で相関係数0.999の良好な結果が得られた。検出限界は0.9ppbであった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計2件)

1) テフロン AF1600 を吸着材とする固相分光法によるポリオキシエチレン(2)ノニルフェニルエーテルの吸光定量

山口 翔、四反田 功、板垣昌幸、渡辺邦洋
日本分析化学会第57年会
講演要旨集 p156 2008年9月(福岡大学)

1) PTFE メンブランフィルターを用いた固相分光法による陰イオン界面活性剤の吸光光度定量

山崎一輝、四反田 功、板垣昌幸、渡辺邦洋
日本分析化学会第57年会
講演要旨集 p155 2008年9月(福岡大学)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 邦洋 (Watanabe Kunihiro)
東京理科大学理工学部 教授
研究者番号:40084470

(2) 研究分担者

板垣昌幸(Itagaki Masayuki)
東京理科大学理工学部 教授
研究者番号:90266908

四反田 功(Shitannda Isao)

東京理科大学理工学部 助教
研究者番号:70434024