

機関番号：34310
 研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2008～2010
 課題番号：20550087
 研究課題名(和文) マイクロチャンネル内の液-液界面微小反応場を利用する新規化学発光分析法の開発
 研究課題名(英文) Studies on Chemiluminescence Analysis Using Liquid-Liquid Micro-Space Interface in a Micro-Channel
 研究代表者
 塚越 一彦 (TSUKAGOSHI KAZUHIKO)
 同志社大学・理工学部・教授
 研究者番号：60227361

研究成果の概要(和文)：マイクロチャンネル内に生じる液-液界面を微小反応場として利用する新しい化学発光分析法の開発を試みた。得られた基礎データに基づき、未処理のキャピラリーチューブと水-親水性/疎水性有機溶媒をキャリア溶液として利用する新しいキャピラリークロマトグラフィー、管径方向分配クロマトグラフィー(Tube Radial Distribution Chromatography; TRDC)の概念を提案した。

研究成果の概要(英文)：A novel chemiluminescence analysis to take advantage of a specific chemiluminescence reaction space around the liquid-liquid interface in a micro-channel under laminar flow conditions has been reported. We call the analytical system "micro-channel chemiluminescence analysis (MCCLA)". First, the concept of micro-channel chemiluminescence analysis and its features were described and considered through direct observations of fluorescence and chemiluminescence using a fluorescence microscope-CCD camera and a microscope CCD camera. Next, several concrete examples of micro-channel chemiluminescence analysis were introduced, and the experimental data were basically discussed. A fluorescence compound was examined by micro-channel chemiluminescence analysis using an oxalate chemiluminescence reaction. Anti-oxygen, beverages, and saliva were also investigated by chemiluminescence analysis using a singlet oxygen chemiluminescence reaction. Furthermore, we have developed a capillary chromatography using an open capillary tube and a water-hydrophilic/hydrophobic organic solvent mixture as a carrier solution; the system works under laminar flow conditions. The capillary chromatography is called a tube radial distribution chromatography (TRDC) system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：微小空間、層流、マイクロチャンネル化学発光分析、管径方向分配クロマトグラフィー

1. 研究開始当初の背景

マイクロチャンネル内の層流条件下で形成される液-液界面あるいは液-液界面崩壊過程の微小空間反応場を利用する新しい化学発

光分析法、すなわち、マイクロチャンネル化学発光分析(micro-channel chemiluminescence analysis; MCCLA)法は、従来の化学発光分析法では、未だ引き出せていなかった化学発光

分析の新しい特長を有していると考えられた。

2. 研究の目的

マイクロチャネル化学発光分析 (MCCLA) 法では、従来の化学発光分析にはなかった新しい反応場、すなわち、液-液界面あるいは液-液界面崩壊過程の微小空間を化学発光分析の反応場として提案している。これにより、化学発光分析の新たな特長を引き出すことが可能になる。よって、層流条件下で形成されるこの液-液界面を生体内の擬似的反応場と捉え、生体内化学反応と連結させた MCCLA 法の幅広い研究展開を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 蛍光物質が化学発光検出できる過シユウ酸エステル化学発光系を MCCLA 法に導入する。これにより、種々の蛍光物質および蛍光ラベル化剤が分析可能になり、分析対象を大幅に拡張することができる。

(2) 蛍光物質および蛍光ラベル化剤を化学発光と蛍光の双方から検出することにより、光電子増倍管を使った化学発光検出のデータと蛍光顕微鏡-CCD カメラ観測のデータを相互に比較することが可能になる。得られたデータから、拡散工学、反応工学、さらに反応速度論立場等から、MCCLA 法の基本概念を確立する研究を展開する。

4. 研究成果

マイクロチャネル化学発光分析 (MCCLA) 法で得られた研究成果をもとに、未処理のキャピラリーチューブと水-親水性/疎水性有機溶媒をキャリア溶液として利用する新しいキャピラリクロマトグラフィー、管径方向分配クロマトグラフィー (Tube Radial Distribution Chromatography; TRDC)、の概念を提案することができた。

オープンチューブ内で生じるキャリア溶液の管径方向への分配現象およびそれを利用したキャピラリクロマトグラフィーの開発について、得られた研究成果を以下に記述する。

TRDC は水-親水性/疎水性有機溶媒をキャリア溶液とし、そのキャリア溶液をオープンチューブ内に層流条件下で送液することで混合試料の分離が達成される。チューブ温度や長さ、キャリア溶液の組成等 TRDC の実験条件について検討を行い、TRDC による測定に与える影響を調べると共に TRDC を用いた分析法の基礎を築いた。また、チューブ内の蛍光画像の観察や TRDC における非拡散性物質の測定から、TRDC を支持するデータを得ることができた。本研究で開発された TRDC は、簡便で安価な装置で分析を行うことができるので、将来的に小型化の装置を開発するこ

とが容易であると考えられる。この研究から得られた結果は、分析化学の分野のみならず物理化学や化学工学の視点からも非常に興味深い結果を示した。

特徴を整理する。(1) TRDC は、マイクロ空間内に新たに見いだされた溶媒分子の特異的流動挙動に基づいており、学術的新規性が極めて高い分離手法である。(2) キャピラリーチューブ内の特殊加工や電圧の印加を必要としないため、従来法に比べ、装置および操作における飛躍的な簡素化・簡便化が期待できる。(3) マイクロ空間内に水-親水性/疎水性有機溶媒混合キャリア溶液を層流条件下で送液すると、溶媒分子が管径方向に分配する現象は、分析化学のみならず、物理化学、化学工学、あるいは流体力学のような様々な領域から注目されている。(4) 本法における原理および理論面の研究成果は、他の学問領域へ大きな波及効果を示すことが期待される。

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)

[雑誌論文] (計 24 件)

1. Temperature Effect on Separation Performance in Capillary Chromatography based on Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents; Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *The Science and Engineering Review of Doshisha University*, 51, 168-172 (2010). (査読なし)

2. Introduction of fluorescence and chemiluminescence detection to capillary chromatography based on tube radial distribution of water-hydrophilic-hydrophobic organic mixture carrier solvents; Seiji Ishimoto, Yudai Kudo, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Methods*, 2, 1377-1381 (2010). (査読あり)

3. Capillary Electrophoresis with Absorption/Chemiluminescence Dual Detection System Using a Poly(tetrafluoroethylene) Separation Capillary; Takayuki Tanaka, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *The Science and Engineering Review of Doshisha University*, 51, 77-81 (2010). (査読なし)

4. Analytical Conditions and Separation Performance of Capillary Chromatography Based on the Tube Radial Distribution of

Aqueous -Organic Mixture Carrier Solvents under Laminar-Flow Conditions; Naoya Jinno, Mari Murakami, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Sciences*, 26, 737-742 (2010). (査読あり)

5. Elution Behavior of Proteins in Capillary Chromatography Using an Untreated Fused-silica Capillary Tube and a Water-Hydrophilic-Hydrophobic Organic Mixture Carrier Solvent; Yuji Masuhara, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Chemistry Letters*, 39, 688-689 (2010). (査読あり)

6. Separation of Optical Isomers in Capillary Chromatography Using a Poly(tetrafluoroethylene) Capillary Tube and an Aqueous-Organic Mixture Carrier Solution; Seiji Ishimoto; Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Sciences*, 26, 641-643 (2010). (査読あり)

7. Capillary Chromatography Based on Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents: Introduction of Double Tubes Having Different Inner Diameters to the System; Koju Yamada, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Sciences*, 26, 507-510 (2010). (査読あり)

8. 水熱処理による新規抗菌性 ZnO 粉体の合成と特性評価: 松岡 翔、加藤将樹、廣田 健、塚越一彦、粉体および粉末冶金、57、106-111 (2010). (査読あり)

9. Distribution of Fluorescent Dyes Dissolved in Ternary Mixed Solvent in a Micro-Channel under Laminar Flow Conditions; Mari Murakami, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, Kazuhiko Tsukagoshi, *Chemistry Letters*, 39, 272-273 (2010). (査読あり)

10. キャピラリーゲル電気泳動によるリガゼ検出反応生成物の分析: 橋本雅彦、上郡純、塚越一彦、同志社大学理工学研究報告、50、164-170 (2010). (査読なし)

11. Preparation of Zinc Oxide Ceramics with a Sustainable Antibacterial Activity under Dark Conditions; Ken Hirota, Maiko Sugimoto, Masaki Kato, Kazuhiko Tsukagoshi, Tooru Tanigawa, and Hiroshi Sugimoto, *Ceramics International*, 36, 497-506 (2010). (査読あり)

12. Capillary Chromatography Based on Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents; Introduction of

Inner-Wall-Modified Capillary tubes; Naoya Jinno, Katsuya Tsuji, Kaoru Shikatani, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Journal of Separation Science*, 32, 4096-4100 (2009). (査読あり)

13. Capillary Chromatography Based on the Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents: Effects of the Inner-Wall Characteristics of the Fused-Silica Tube on Separation Performance; Naoya Jinno, Ko Hashimoto, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Science*, 25, 1369-1371 (2009). (査読あり)

14. Capillary Chromatography Based on Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents: Elution Behavior of Carboxylated Polymer Particles in the System; Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 42, 767-770 (2009). (査読あり)

15. Capillary Chromatography Based on Tube Radial Distribution of Aqueous-Organic Mixture Carrier Solvents; Naoya Jinno, Minoru Itano, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Talanta*, 79, 1348-1353 (2009). (査読あり)

16. マイクロチャンネル内の液液界面微小反応場を利用する新規化学発光分析法の開発 (総合論文); 橋本雅彦、塚越一彦、分析化学、58、495-506 (2009) . (査読あり)

17. Micro-Flow Separation System Using an Open Capillary Tube That Works under Laminar Flow Conditions; Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Analytical Sciences*, 25, 145-147 (2009). (査読あり)

18. Metal Ion Analysis Using Microchip CE with Chemiluminescence Detection Based on 1,10-Phenanthroline-Hydrogen Peroxide Reaction; Takahiro Nogami, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *Journal of Separation Science*, 32, 408-412 (2009). (査読あり)

19. Development of Capillary Electrophoresis Equipped with a Novel PTFE Cell for Chemiluminescence Detection; Misa Yanagiuchi, Kosuke Suzuki, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi, *The Science and Engineering Review of Doshisha University*, 49, 187-192 (2009). (査読なし)

20. Chemiluminescence from Singlet

Oxygen That was Detected at Two Wavelengths and Effects of Biomolecules on It; Yusuke Harada, Kosuke Suzuki, Masahiko Hashimoto, Kazuhiko Tsukagoshi, Hideshi Kimoto, *Talanta*, 77, 1223-1227 (2009). (査読あり)

21. Micro-Channel Chemiluminescence Analysis Using Peroxyoxalate Reaction that Works through Liquid-Liquid Interface Collapse under Laminar-Flow Conditions; Kazuhiko Tsukagoshi, Yoshiyuki Hattori, Teruki Hayashi, Riichiro Nakajima, Kenichi Yamashita, and Hideaki Maeda, *Analytical Sciences*, 24, 1393-1398 (2008). (査読あり)

22. Analysis of antioxidants by microchip capillary electrophoresis with chemiluminescence detection based on luminol reaction; Kazuhiko Tsukagoshi, Takahiro Saito, and Riichiro Nakajima, *Talanta*, 77, 514-517 (2008). (査読あり)

23. Specific Chemiluminescence from Singlet Oxygen Generated by the Reaction of Acetonitrile and Hydrogen Peroxide in the Presence of Alkali Halide; Kosuke Suzuki, Hirotsuka Saito, Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, Kazuhiko Tsukagoshi, and Hideshi Kimoto, *Chemistry Letters*, 37, 1090-1091 (2008). (査読あり)

24. Micro-Flow System Comprised of a Fused-Silica Capillary and Chemiluminescence Detection that Works under Laminar Flow Conditions; Kazuhiko Tsukagoshi, Shingo Ishida, and Riichiro Nakajima, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 41, 130-137 (2008). (査読あり)

[学会発表] (計 19 件)

1. 管径方向分配クロマトグラフィーにおける微粒子分析への展開; 塚越一彦; 先進微粒子材料の科学と工学の融合 2009 年度報告会; 2010 年 3 月 12 日, 同志社大学

2. 管径方向分配クロマトグラフィーの開発; 塚越一彦; 平成 21 年度医工学研究センター研究成果報告会; 2010 年 3 月 12 日, 同志社大学

3. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (1); 分析条件の検討と分析メカニズムについて; 神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

4. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (2); 樹脂製チューブの

分離性能; 工藤雄大、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

5. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (3); ダウンサイズ化の検討; 水上智恵、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

6. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (4); 蛍光可視化画像からの考察; 村上真理、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

7. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (5); 試料注入料と分離性能に関する検討; 谷川友介、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

8. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (6); 化学発光検出の導入と金属化合物の分析; 田井中直也、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

9. 水-親水性/疎水性有機溶媒混合液をキャリア溶液に利用するキャピラリークロマトグラフィーの開発 (7); 化学発光検出の導入と生体分子の分析; 増原雄治、神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

10. オリゴヌクレオチドのライゲーションを利用した DNA 点突然変異の検出; 藤田卓、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

11. キャピラリーゲル電気泳動・レーザー励起蛍光 2 波長分析システムを用いた DNA 点突然変異の高感度検出; 濱田真理子、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 28 日, 近畿大学

12. FRET を利用した DNA 一塩基変異の検出; 吉田一真、橋本雅彦、塚越一彦; 日本化学会第 90 春季年会 (2010); 2010 年 3 月 27 日, 近畿大学

13. 管径方向分配クロマトグラフィー (TRDC) の開発 (招待講演); 塚越一彦; 第 48 回フローインジェクション分析講演会; 2009 年 11 月 27 日, 大阪府立大学学術交流会館

14. キャピラリー電気泳動-化学発光検出装置の開発; マイクロチップ上への展開 (依頼講演); 塚越一彦; 第 29 回キャピラリー電気泳動シンポジウム; 2009 年 11 月 19 日, 近畿大学

15. 1,10-フェナントロリン CL 系を用いたマイクロチップ CE：界面活性剤の効果；野上貴裕、橋本雅彦、塚越一彦；第 29 回キャピラリー電気泳動シンポジウム；2009 年 11 月 18 日，近畿大学

16. 微小空間内の特異的な溶媒分配挙動に基づく新規キャピラリークロマトグラフィーの開発；神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦；日本分析化学会第 58 年会；2009 年 9 月 24 日，北海道大学

17. Capillary chromatography System Using an Open Fused-Silica, Polyethylene, or Poly(tetrafluoroethylene) Tube that Works under Laminar Flow Conditions；Naoya Jinno, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi；September, 8, 2009；Euro Analysis 2009 (Innsbruck, Austria)

18. Micro-flow Separation System Based on Tube Radial Distribution of Carrier Solvents that Works under Laminar Flow Conditions；Naoya Jinno, Minoru Itano, Masahiko Hashimoto, and Kazuhiko Tsukagoshi；5th Conference by Nordic Separation Science Society 2009；August, 27, 2009 (Tallinn, Estonia)

19. オープンキャピラリーチューブを用いたマイクロフロー分離システムにおけるチューブ材質と油水混合キャリア溶液の検討；神野直哉、橋本雅彦、塚越一彦；第 70 回分析化学討論会；2009 年 5 月 16 日，和歌山大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚越 一彦 (TSUKAGOSHI KAZUHIKO)

同志社大学・理工学部・教授

研究者番号：6 0 2 2 7 3 6 1