

平成 21 年 3 月 23 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19550086
 研究課題名（和文）
 誘導体化機能を複合一体化した細繊維充填型マイクロ試料前処理ニードルの開発
 研究課題名（英文） Development of Fiber-Packed Microscale Sample Preparation Needle
 Designed for the Simultaneous Derivatization/Preconcentration
 研究代表者
 齊戸 美弘（SAITO YOSHIHIRO）
 豊橋技術科学大学・工学部・准教授
 研究者番号：00303701

研究成果の概要：

本研究では、従来法の欠点を同時に克服するとともに、抽出後の試料を常温保存可能とする、注射針形状のマイクロ試料前処理デバイスを開発した。特殊な形状を有する針の内部に、数百本の耐熱性合成細繊維を針の軸方向と平行に、かつほぼ均一に充填し、これにより、針内の通気性をコントロールし、更に、繊維表面に被覆したポリマー層で誘導体化反応を進行させることにより、アルデヒド類等の誘導体化反応と誘導体化生成物のポリマー層への抽出を同時に行うことができる。この試料前処理針は、汎用の検知管用ガス採取器のみで試料採取が可能であり、また、試料を採取した針はそのままガスクロマトグラフの試料注入口へ挿入し、分離分析が可能なことから、複雑な試料採取操作・分析前脱着操作が不要であるという優れた特徴も有している。

本研究では、アルデヒド類のみならず、その応用例として、酸化エチレンの誘導体化およびその同時抽出を達成しており、微量揮発性環境汚染物質のオンサイト分析に有用な新規技術であることを立証した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野： マイクロ分離科学・分析化学

科研費の分科・細目： 複合化学・分析化学

キーワード： 試料前処理、マイクロ化、細繊維、ニードル、誘導体化反応、抽出

1. 研究開始当初の背景

室内空気環境に存在する微量揮発性有機化合物は、シックハウス症候群などの原因物質として、近年特に注目されてきている。その中でもホルムアルデヒドあるいはアセトアルデヒド等の高揮発性アルデヒド類は、気

体試料を直接濃縮することが困難であり、また、その化学構造によりガスクロマトグラフィー（GC）や液体クロマトグラフィー（LC）で直接高感度検出することも困難である。

また、現在主流である、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNPH）と、これらの化合物の

誘導体化反応を応用したシリカゲルカートリッジを用いる場合にも、特殊な試料採取ポンプ等が必要であるばかりでなく、高感度検出には長時間にわたる試料採取(一般的に数時間から24時間程度)が必要とされ、更に、分析前の脱着操作も複雑で、その操作に一定量の有機溶媒も必要である。また、シリカゲル担体へのキャリーオーバーの問題から、通常、カートリッジは一度しか使用できないと言う欠点が存在していた。

2. 研究の目的

本研究では、上記のような従来法の欠点を同時に克服するとともに、抽出後の試料を常温保存可能とする、注射針形状のマイクロ試料前処理デバイスの開発を行った。

特殊な形状を有する針の内部に、数百本の耐熱性合成繊維を針の軸方向と平行に、かつほぼ均一に充填する。これにより、針内の通気性をコントロールした上で、更に、繊維表面に被覆したポリマー層で誘導体化試薬である DNPH による誘導体化反応が進行し、アルデヒド類等の誘導体化反応と誘導体化生成物のポリマー層への抽出を同時に行うことが可能である。

この試料前処理針は、汎用の検知管用ガス採取器のみで試料採取が可能であり、また、試料を採取した針はそのまま GC の試料注入口へ挿入し、分離分析が可能なることから、複雑な試料採取操作・分析前脱着操作が不要であるという優れた特徴も有している。

3. 研究の方法

本研究は、当初の研究計画に沿って、主に、以下に示す検討項目を中心に系統的な研究を行った。

- (1) 各種合成繊維の性能評価
- (2) 繊維充填の最適化と被覆液相の比較
- (3) 誘導体化反応手順の検討
- (4) 他の誘導体化反応との比較
- (5) 細繊維表面自体の化学修飾

本研究では上記の項目の全てについて、以下に示す通り、当初の想定を上回る顕著な研究成果を得ている。

4. 研究成果

(1) 各種合成繊維の性能評価

針型デバイス(図1)に充填する各種合成繊維(代表的化学構造を図2に示す)の耐熱性・機械的強度等について評価するとともに、最適な耐熱性細繊維を決定した。

具体的には、単に優れた耐熱性だけでなく、実際の注入口で想定される高温気体状有機化合物への耐性も考慮しながら、耐有機溶媒性・耐薬品性を併せ持つ、最適な合成繊維を決定した。

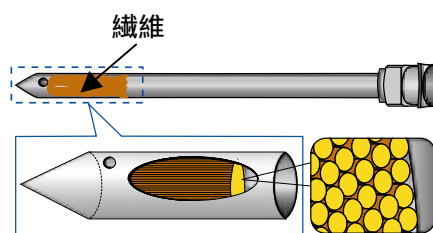


図1 繊維充填針型試料前処理デバイスの概略図。

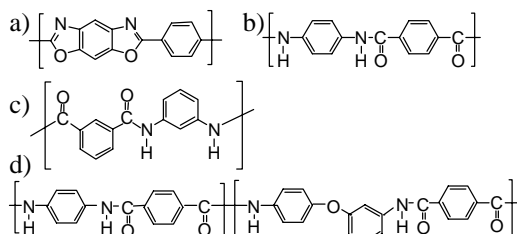


図2 各種合成繊維の化学構造。 a) ザイロン, b) ケブラー, c) ノーメックス, d) テクノラ。

(2) 繊維充填の最適化と被覆液相の比較

上記耐熱性・耐薬品性評価と同時に、通気性を十分に考慮しながら、針デバイスへの細繊維の最適充填条件、あるいは反復使用の際の耐久性等についても検討した。

また、細繊維表面に施すコーティングの性能比較を行なった。更に、コーティングの化学構造(代表的な化学構造を図3に示す)と対象化合物への抽出選択性の関係についても、複数のモデル化合物を用いて系統的に検討した。

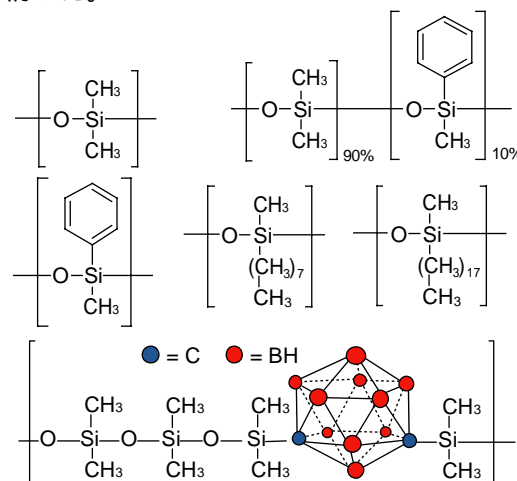


図3 各種GC液相の化学構造。

(3) 誘導体化反応手順の検討

誘導体化試薬として第一選択とする DNPH(図4)を用いて、誘導体化プロセス(図5から図7)を最適化した。試料採取前のコンディショニングから、試料採取(ここで、誘導体化と抽出を同時に行う)そして分析装置注入までの各種実験パラメーターの最適

化を行った結果、脱着溶媒には、30 μ Lのアセトニトリルを用い、脱着温度を170 に設定することにより、最大効率で抽出が可能であり、その再現性、定量範囲も良好であった(表1および表2)。

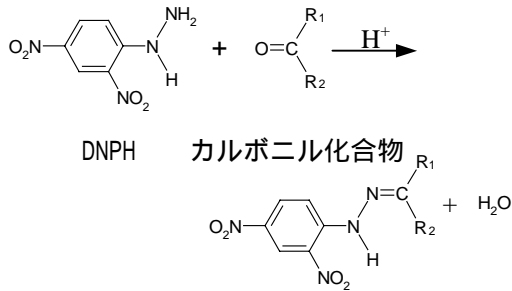


図4 DNPHによるカルボニル化合物の誘導体化反応。

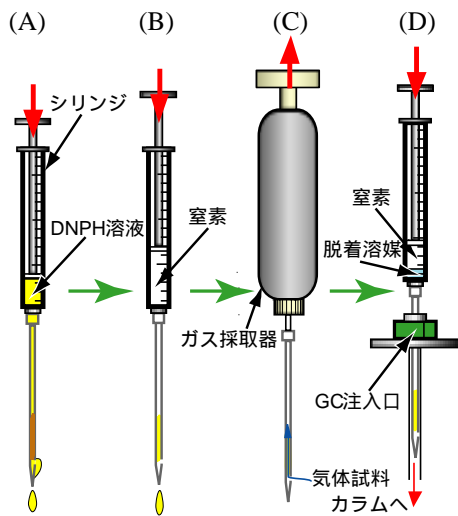


図5 繊維充填針による抽出・誘導体化および脱着プロセスの概要。(A),(B)コンディショニング、(C)試料採取および同時誘導体化・抽出、(D)GC注入口での脱着。試料採取には、ガス検知管用の採取器を使用。

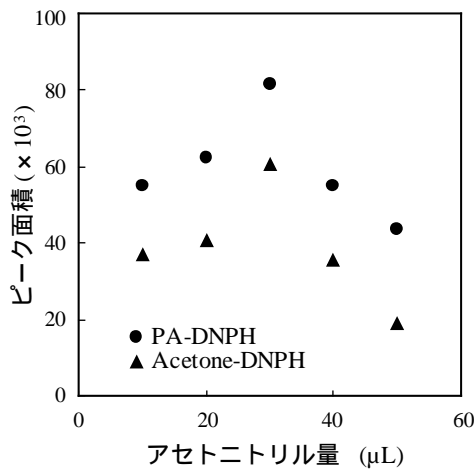


図6 脱着溶媒量の最適化。PA: プロピオンアルデヒド。

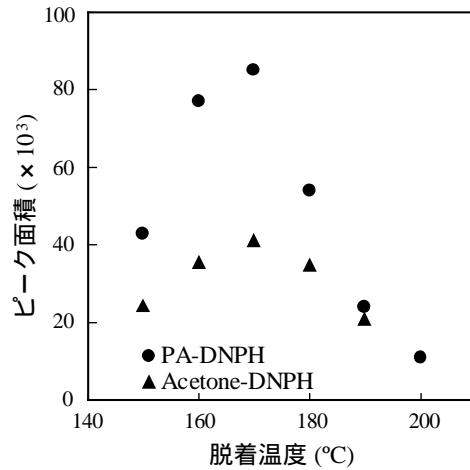


図7 脱着温度の最適化。

表1 検量線の直線範囲および相関係数。

	直線範囲	r
FA	10 - 20000	0.996
AA	20 - 40000	0.999
PA	20 - 40000	0.998
アセトン	60 - 60000	0.999

FA: ホルムアルデヒド; AA: アセトアルデヒド。

表2 繰り返しおよびデバイス間のピーク面積の相対標準偏差(%)。

	繰り返し	デバイス間
FA-DNPH	0.45	5.25
AA-DNPH	3.51	5.72
PA-DNPH	4.20	4.45

図8にはこの試料前処理針を用いたアルデヒド類のGC-MS分析結果を示す。モニターするイオンをタイムプログラムで変更することにより、一層高感度検出も可能であり、アルデヒド類およびケトン類ともに高感度検出にも成功している(図9)。

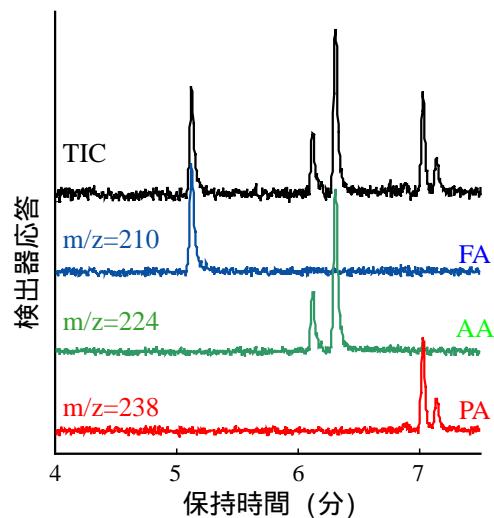


図8 アルデヒド誘導体化物のGC-MS分離。

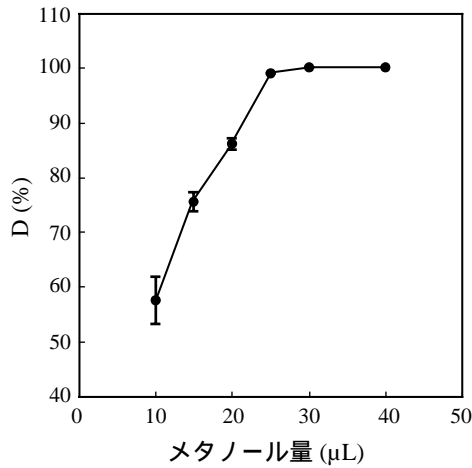


図13 脱着溶媒の量による脱着効率の検討.

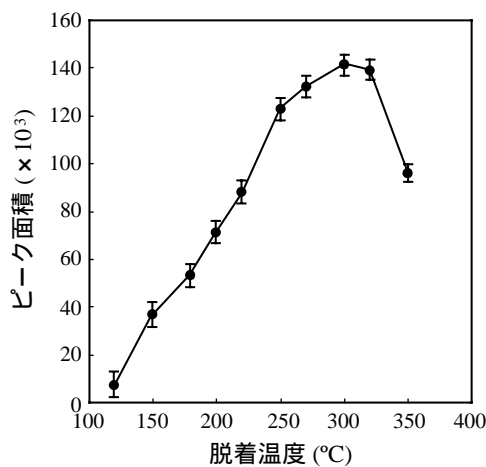


図14 脱着温度の影響.

表5 繊維充填針を用いたE0の回収率(%).

濃度 (μg/L)	回収率 (%)
1.80	>99.9
180	>95.9

表6 室温における保存性能(%).

試料濃度 (μg/L)	24 h	72 h
0.18	104	100
1.80	101	100
180	101	96.6

実試料として、タバコの主流煙および副流煙中に検出された酸化エチレンの分離結果の一例を示す。図15に検出(9.8分付近)されているピークは、誘導体化反応物である、2-プロモエタノールである。

これらの例により、実試料にも十分応用可能であることが、立証された。

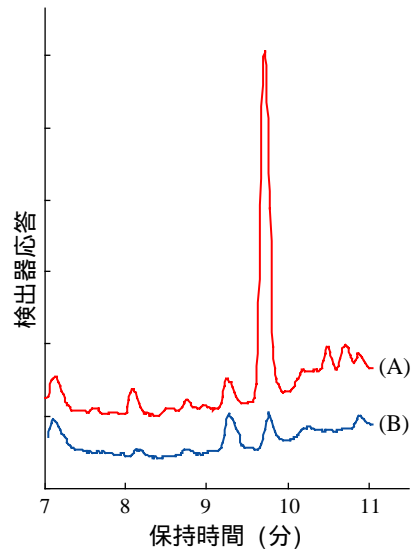


図15 タバコ試料のクロマトグラム.
(A)タバコ主流煙. (B)タバコ副流煙.

(5) 細繊維表面自体の化学修飾による高性能化の検討

上記の研究では、繊維を反応場を提供する担体として用いてきたが、繊維の表面そのものを化学修飾することが出来れば、抽出媒体として一層の可能性が見出せる。

そこで、担体として用いる合成細繊維の表面を化学的に修飾することにより、表面改質を行なった。これにより、液相の選択範囲が大幅に広がることから、分析対象とする化合物に適した種々の誘導体化反応場を、細繊維表面の液相内に効率良く構築することが可能である。

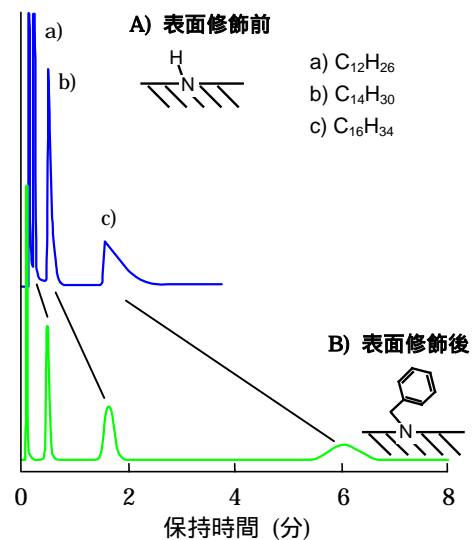


図16 表面化学修飾によるKevlar繊維のGC固定相としての保持能変化ならびに選択性変化 繊維表面にベンジル基を導入した例.

図16には、繊維の表面にベンジル基を導入した繊維を合成し、その表面状態を解析した結果である。表面化学修飾繊維を、キャピラリー内に充填し、GCカラムとして用いて、標準溶質に対する保持挙動を解析した。その結果、表面誘導体化反応による繊維表面の改質に成功している。

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 6件)

M. Ogawa, Y. Saito, S. Shirai, Y. Kiso and K. Jinno; "Rapid Sample Preparation of Bisphenol A in Water Sample by Needle Extraction Device Packed with Heat-Resistant Fiber," *Chromatographia*, 印刷中(巻・号・ページ番号未定), 2009, 査読有

Y. Saito, I. Ueta, M. Ogawa, A. Abe, K. Yogo, S. Shirai and K. Jinno; "Fiber-Packed Needle-Type Sample Preparation Device Designed for Gas Chromatographic Analysis," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 861-869, 2009, 査読有

I. Ueta, Y. Saito, N. B. A. Ghani, M. Ogawa, K. Yogo, A. Abe, S. Shirai and K. Jinno; "Rapid Determination of Ethylene Oxide with Fiber-Packed Sample Preparation Needle," *Journal of Chromatography A*, 1216, 2848-2853, 2009, 査読有

Y. Saito, I. Ueta, M. Ogawa and K. Jinno; "Micro Sample Preparation and Separation: Fiber-Packed Capillary and Needle for Miniaturization," *G.I.T. Laboratory Journal*, 11(5-6), 44-45, 2007, 査読有

Y. Saito, I. Ueta, M. Ogawa, M. Hayashida and K. Jinno; "Miniaturized Sample Preparation Needle: A Versatile Design for the Rapid Analysis of Smoking-Related Compounds in Hair and Air Samples," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44, 1-7, 2007, 査読有

M. Ogawa, Y. Saito, I. Ueta and K. Jinno; "Fiber-Packed Needle for Dynamic Extraction of Aromatic Compounds," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388, 619-625, 2007, 査読有

6. 研究組織

(1)研究代表者

齊戸 美弘 (SAITO YOSHIHIRO)
豊橋技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号：00303701

(2)研究分担者(平成20年度)

神野 清勝 (JINNO KIYOKATSU)
豊橋技術科学大学・工学部・教授
研究者番号：60124731

(3)連携研究者(平成21年度)

神野 清勝 (JINNO KIYOKATSU)
豊橋技術科学大学・工学部・理事/副学長
研究者番号：60124731