

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19869

研究課題名（和文）有害化学物質を識別する陽極・陰極ペア検出HPLCの創製 - 食の安全を確保する -

研究課題名（英文）The Development of Anode/Cathode Electrode Pair Detection HPLC System for Discriminating Hazardous Chemicals - Ensuring Food Safety -

研究代表者

桑原 知彦（KUWABARA, Tomohiko）

徳島大学・技術支援部常三島技術部門・技術専門職員

研究者番号：40645165

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、陽極・陰極ペア検出HPLCを創製し、フェノール系物質を中心に、その検出挙動を系統的に調査した。その結果、陽極・陰極ペア検出器から取得されるシグナルが、各物質の酸化還元反応の可逆性を反映した、特有のものであることを立証することができた。また、食品実サンプルの分析へも展開し、極めて複雑なクロマトグラムにおいて、特定成分の同定が可能であることを示した。以上より、本研究にて提案する手法は、環境や食品に含まれる有害化学物質の迅速な識別を可能とするものであり、食の安全確保へ貢献する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、高性能分離を可能とするマイクロボアHPLCと陽極・陰極ペア検出器を組み合わせ、その酸化と還元シグナルの比から物質を同定する手法を提案した。この新たな指標に基づくピーク同定法は、HPLC分析の技術的進歩に貢献する。また、本手法は、煩雑な前処理や抽出作業が要求される食品分析において、目的物質の迅速検出を可能にする新たなスキームを提供することで、多くの分析者や技術者のニーズに応えるものである。

研究成果の概要（英文）：In this project, we developed an anode/cathode electrode pair detection HPLC system and investigated the detection behavior of phenolic compounds. As a result, we found that the proposed detector, which consists of the anode/cathode electrode pair, provides a specific response reflecting substances' reversibility in electrochemical reactions. Furthermore, we demonstrated peak identification for particular components in complex chromatograms obtained from food samples. We believe the proposed technique will ensure food safety by rapidly identifying hazardous chemicals in environmental or food samples.

研究分野：環境・食品分析化学

キーワード：HPLC-電気化学検出法 多段電極検出器 トラックエッチ膜フィルター スクリーニング検査 環境・食品分析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

グローバルな物流ネットワークが整備された現代社会において、食品に含有する有害な化学物質を迅速に識別する手法は、極めて重要である。食品をはじめとする様々な実際試料に含まれる成分の定性・定量分析法としては、高速液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) が広く用いられているが、高濃度成分を注入すれば、ただちに検出器が汚染される懸念がある。本研究にて提案する HPLC-多段電極検出法は、電解活性な成分を選択的に検出可能であり、各物質に特有のシグナル挙動を与える。したがって、本研究は、そもそも何が含まれているかまったく不明な未知試料に対するノンターゲット分析を可能にし、予期しなかった有害物質や残留農薬等の検出を通して、食の安全確保に寄与するものである。

2. 研究の目的

本研究の目的は、複数の作用電極 (陽極・陰極ペア) から構成される陽極・陰極ペア検出 HPLC システムを創出し、その検出パターンから、食品実サンプルに含まれる有害な化学物質を識別する手法を提案することである。陽極・陰極ペア検出器より得られる酸化電流と還元電流のシグナルの比 (捕捉率) は、各物質固有の値を与える。本研究は、このまったく新しい理論に基づき、食品の複雑なクロマトグラムの中から目的成分のピークを同定する手法を確立する。

3. 研究の方法

まず、一組の陽極・陰極ペアで構成する陽極・陰極ペア検出 HPLC を立ち上げる。具体的には、二枚のトラックエッチ膜フィルター作用電極を直列に並べた二重電極検出器とマイクロポア HPLC システムを組み合わせることで、低容量多段電極検出システムを構築する。続いて、陽極・陰極ペア検出 HPLC の性能評価のため、モデル物質として選んだフェノール系物質の検出挙動を系統的に調査する。また、得られたライブラリーデータに基づき、食品実サンプルに含まれるフェノール系物質の定性・定量分析を行う。さらに、二組の陽極・陰極ペアを有する四重電極検出システムに拡張し、より迅速かつ簡便な識別を目指す。最後に、対象成分をビスフェノール A などの有害化学物質にも広げ、その分離検出を試みる。

4. 研究成果

(1) 陽極・陰極ペア検出 HPLC の創製とモデル物質を用いた理論的検証

まず初めに、トラックエッチ膜フィルター作用電極を二枚直列に重ねた陽極・陰極ペア検出器を構築し、送液ユニットとサンプルインジェクターと繋ぎ、マイクロポア HPLC システムに組み込んだ (陽極・陰極ペア検出 HPLC)。続いて、カフェイン酸やクロロゲン酸をはじめとするフェノール系物質をモデル物質とし、その検出応答を系統的に調査し、陽極・陰極ペア検出 HPLC システムの理論的検証を行った。その結果、各物質の分子構造や酸化還元反応の可逆性に基づき、特有のパターンを示すことが明らかになった。可逆性の高いカテコール類縁体は、第一電極で酸化電流ピーク、第二電極で還元電流ピークを示した。一方、不可逆性のレゾルシノールは、第一電極の電位を +1.1 V に設定すると、第二電極でも酸化電流ピークを示すという特徴的な挙動を示した (図 1)。さらに、分子内にカテコール部とレゾルシノール部を持ったカテキンは、第一電極の電位を +1.0 V に設定したときは、カテコール構造に近い特性、+1.1 V に設定した時はレゾルシノール構造に近い特性を反映した挙動を示した。また、第一電極のピーク面積に対する第二電極のピーク面積の比 (捕捉率) は、各物質の酸化還元反応の可逆性を反映した、固有の値を示すことがわかった。本研究成果は、学术论文で公表済みである。

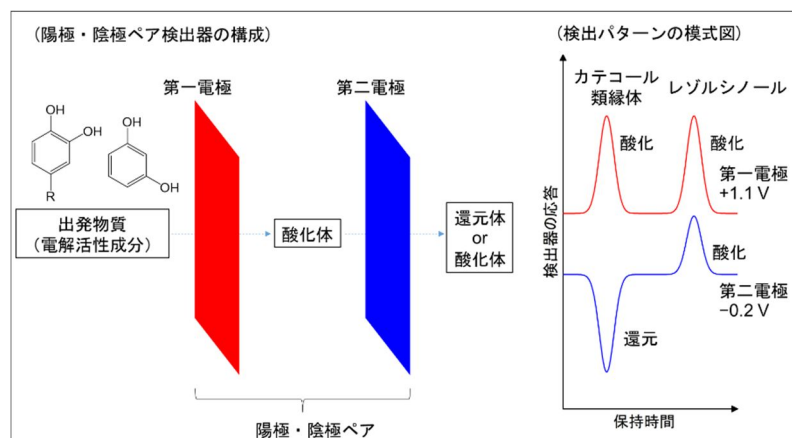


図 1. 陽極・陰極ペア検出器の構成と検出パターンの模式図。検出パターンの違いより、可逆性の高いカテコール類縁体と不可逆性のレゾルシノールが識別可能であった。

(2)四重電極検出システムのセットアップ

陽極・陰極ペア検出 HPLC を拡張し、二組の陽極・陰極ペアから構成する四重電極検出システムのセットアップを行った。データアキュイジションユニットを増設し、ポテンシオスタットと4つの電気化学検出器を適切に配線したところ、それぞれの検出器より問題なく信号を取得できた。モデル物質として、フェノール系物質の検出挙動を調査したところ、第一ペア・第二ペア共に酸化電流/還元電流ピークを示すカテコール類縁体、第一ペアで酸化電流/還元電流ピーク、第二ペアで酸化電流/酸化電流ピークを示すカテキン類縁体を明確に識別することが可能だった。本研究成果は、学術論文にて投稿予定である。

(3)食品実際試料への応用

陽極・陰極ペア検出 HPLC の有用性を評価するため、フェノール系化合物を豊富に含んだ市販の飲料(コーヒー、緑茶、烏龍茶、ワイン)の分析へ展開した。陽極・陰極ペアから取得される捕捉率に基づき、コーヒーに含まれるカフェイン酸、クロロゲン酸、緑茶に含まれるカテキンとエピカテキンについて、定性・定量分析することが可能であった。実際試料の分析では、さまざまな Unknown のピークが検出されたが、四重電極検出器の検出パターンから、コーヒーにはカテコール類縁体、緑茶にはカテキン類縁体が多く含まれることが推定できた。本研究成果も、学術論文にて投稿予定である。

(4)有害化学物質への応用

近年、河川水やプラスチック製容器等に含まれ、内分泌かく乱物質として人体への影響が注目を集めているビスフェノール A の検出も試みた。HPLC の溶離液条件を変化させることで、目的物質のピーク検出に成功した。しかし、環境に含まれる微量成分を分析するためには、検出感度が十分でないことから、分析条件のさらなる最適化が必要である。今後、陽極・陰極ペア検出 HPLC を農薬等の有害化学物質に広く展開していくため、白金以外でコーティングした電極や有機溶媒耐性の強い新しい素材の電極用テンプレートを試すことも視野に入れている。

以上の研究成果より、陽極・陰極ペア検出器が与えるシグナル挙動に基づき、HPLC 分析でピークを同定するための、新たな指標を提案することができた。この手法は、LC-MS 等よりもはるかに簡便かつ安価に、食品等の複雑なマトリックスを含む実試料中の有害物質を対象とする強力な定性・定量分析の手段となり得る。今後は、新たなフィルター電極の開発等により、環境や食品に含まれる農薬等の様々な有害化学物質の迅速検出へと広く展開していくことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名 Tomohiko Kuwabara, Rikuo Hashimoto, Kenji Matsumoto, Hiroki Hotta, Masamitsu Iiyama, Toshio Takayanagi and Hitoshi Mizuguchi | 4. 巻 928 |
| 2. 論文標題 Detection behavior of phenolic compounds in a dual-electrode system assembled from track-etched membrane electrodes | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Electroanalytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 117039-117039 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jelechem.2022.117039 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 喜多 佑輔, 橋本 陸央, 桑原 知彦, 松本 健嗣, 堀田 弘樹, 飯山 真充, 高柳 俊夫, 水口 仁志 |
| 2. 発表標題 トラックエッチ膜フィルターを用いた四重電極検出器によるHPLCシステム |
| 3. 学会等名 第58回フローインジェクション分析講演会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 橋本 陸央, 桑原 知彦, 松本 健嗣, 堀田 弘樹, 飯山 真充, 高柳 俊夫, 水口 仁志 |
| 2. 発表標題 トラックエッチ膜フィルターを用いるHPLC-二重電極検出-フェノール系化合物の捕捉率について- |
| 3. 学会等名 日本分析化学会第70年会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 喜多 佑輔, 橋本 陸央, 桑原 知彦, 松本 健嗣, 堀田 弘樹, 飯山 真充, 高柳 俊夫, 水口 仁志 |
| 2. 発表標題 トラックエッチ膜フィルターを用いた四重電極検出器でのフェノール化合物の検出挙動 |
| 3. 学会等名 第83回分析化学討論会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yusuke Kita, Rikuo Hashimoto, Tomohiko Kuwabara, Kenji Matsumoto, Hiroki Hotta, Masamitsu Iiyama, Toshio Takayanagi and Hitoshi Mizuguchi |
| 2. 発表標題 Analysis of phenolic compounds in beverages by HPLC equipped with quadruple track-etched membrane electrode detection system |
| 3. 学会等名 Royal Society of Chemistry Tokyo International Conference 2023 (RSC-TIC 2023) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Tomohiko Kuwabara, Yusuke Kita, Rikuo Hashimoto, Kenji Matsumoto, Hiroki Hotta, Masamitsu Iiyama, Toshio Takayanagi and Hitoshi Mizuguchi |
| 2. 発表標題 Detection Pattern of Phenolic Compounds in A Multi-Electrode System Constructed with Track-Etched Membrane Electrodes-Relationship Between Molecular Structure and Collection Efficiency |
| 3. 学会等名 16th Asian Conference on Analytical Sciences (ASIANALYSIS XVI) 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 喜多 佑輔, 橋本 陸央, 桑原 知彦, 松本 健嗣, 堀田 弘樹, 飯山 真充, 高柳 俊夫, 水口 仁志 |
| 2. 発表標題 トラックエッチ膜フィルター電極を用いたアノード・カソードペア検出によるHPLCシステム |
| 3. 学会等名 第59回フローインジェクション分析講演会 |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|--|---|----|
| 研究 分担者 | 水口 仁志 (MIZUGUCHI Hitoshi) (30333991) | 徳島大学・大学院社会産業理工学研究部(理工学域)・准教授 (16101) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 高柳 俊夫 (TAKAYANAGI Toshio) (50263554) | 徳島大学・大学院社会産業理工学研究部（理工学域）・教授 (16101) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |