

機関番号：82626

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790054

研究課題名（和文） バイアル抽出法の開発及び微量分析への応用

研究課題名（英文） Development of vial wall sorptive extraction and its application for trace analysis

研究代表者

川口 研 (KAWAGUCHI MIGAKU)

独立行政法人産業技術総合研究所・計測標準研究部門・研究員

研究者番号：50455440

研究成果の概要（和文）：クロマトグラフィー用新規試料前処理法であるバイアル抽出法を開発した。本法は、バイアルの内面にポリジメチルシロキサン(PDMS)などの抽出媒体をコーティングし、試料を添加することで、目的成分を効率的に抽出する手法である。本法の開発にあたり、バイアルの形状及び抽出媒体の膜厚を最適化した。また、抽出媒体として、PDMS以外にも、フェニル基を含有する PDMS、ポリメタクリレート、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体などを検討した。また、開発した手法を用いて、環境試料中の微量化学物質の測定として、水系試料中のビスフェノール A の高感度測定に応用した。

研究成果の概要（英文）：A novel sample preparation technique so called “Vial sorptive extraction (VSE)” was developed. The VSE method uses a vial whose internal wall is coated with polydimethylsiloxane (PDMS). In this study, the optimization of the shape of vial sorptive extraction device and the film thickness of the PDMS were performed. In addition, other extraction mediums such as phenyl binding PDMS, polymethacrylate and styrene divinylbenzene copolymer were investigated. The method was applied to the determination of trace amount of bisphenol A in water sample as environmental application.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：薬品分析化学

科研費の分科・細目：物理系薬学

キーワード：バイアル抽出、試料前処理、マイクロ抽出、自動化

1. 研究開始当初の背景

近年、様々な分析装置が開発され、高感度な測定が可能になりつつある。しかし、実際の試料を測定する上では、ほとんどの場合、試料前処理操作が必要不可欠である。試料前処理は、試料から目的物質を抽出・濃縮・精製することを目的として行われるため、分析

法の感度および精度に与える影響は大きい。したがって、試料前処理法の研究開発は、重要な検討課題の一つである。

現在、有機化合物の試料前処理法として、固相抽出法(SPE)が広く用いられている。しかし、SPEは、抽出剤表面の微細構造に目的成分を吸着させる必要があり、比較的汚い試

料(食品、生体試料)の分析においては、夾雑成分が吸着剤の表面に吸着・占領し、目的物質の抽出率を低下させる可能性や、SPE カートリッジの目詰まりなどが問題であった。そこで、抽出媒体としてゴムベースのポリマーであるポリジメチルシロキサン(PDMS)などを用い、目的成分をポリマー内部に取り込む収着を利用した sorptive extraction が開発され、注目を集めている

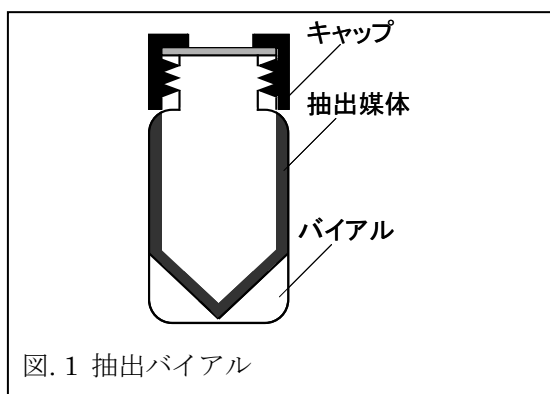
Sorptive extraction の一つであるスターバー抽出法(SBSE)は、長さ 1 cm 程度のガラス製攪拌子に PDMS(24 μ L 程度)がコーティングされたツールを用いて、試料中の目的物質を抽出・濃縮する方法である。しかし、SBSE には、以下の問題点があり、回収率が低下することが指摘されている。

- ・ 攪拌子にコーティングできる PDMS 量に制限がある。
- ・ 攪拌子のサイズ制限により、微量な試料を測定する際に、適宜希釈する必要がある。
- ・ バイアル内面に目的成分が吸着する。

したがって、これらの問題点を克服した新規前処理法の開発が必要である。

2. 研究の目的

SBSE の欠点であるバイアル内面に分析対象物質が吸着されることに着目し、この欠点を利点に変える逆転の発想を考え出した。つまり、バイアル内面に PDMS をコーティングし、積極的に目的物質を PDMS 相に抽出・濃縮する新規の前処理法であるバイアル抽出法を考案した。考案したバイアル抽出デバイスを図. 1 に示す。



本研究の目的は、新規のクロマトグラフィー用試料前処理法であるバイアル抽出法を開発することである。本研究で開発するバイアル抽出法の分析プロトコルの概要を図 2 に示す。

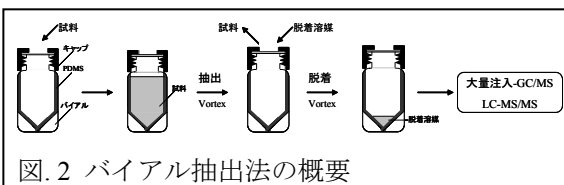


図. 2 バイアル抽出法の概要

本法は、大量の抽出媒体をバイアル内面にコーティングした抽出バイアルを用いて、目的物質を効率よく抽出・濃縮することが可能である。抽出媒体に抽出後、試料を取り除き、少量の脱着溶媒(アセトニトリルまたはメタノール)を添加し、目的成分を脱着させ、各種機器分析(大量注入-GC/MS、LC-MS/MS など)で測定する。本法を用いることで、SBSE よりも高い回収率が得られ、高感度な測定が可能であると期待される。また、本法は、簡便で、自動化も容易であり、優れた試料前処理法であると考えられる。

本研究では、バイアル抽出法を確立するに当たり、以下の実験を行った。

(1) 抽出バイアルの最適化

デバイスを最適化することで、バイアル抽出法の抽出効率を最大限に引き出すことを目的とする。

(2) 微極性及び親水性ポリマーの開発

Sorptive extraction 法において、抽出媒体の多様性は、様々な化合物の測定に応用させるためには、必要不可欠である。主に、微極性、極性化合物が抽出できるような抽出媒体を検討する。

(3) バイアル抽出法の有用性評価(実試料への適用)

実試料の測定を行うことで、本法の有用性を実証する。また、既存の方法と比較することで、本法の優位性を立証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 抽出バイアルの最適化

バイアル抽出法を開発するにあたり、抽出バイアルの形状、PDMS 相の膜厚を最適化する必要がある。

ハイスループットな分析法を開発するためには、前処理操作に要する時間を短くする必要がある。バイアル抽出法は、試料からの抽出ステップとその後の脱着ステップの二つに分けて考えることができるが、有機溶媒を用いる脱着よりも、試料から目的物質を抽出する過程が律速段階になると考えられる。従って、迅速なバイアル抽出法の実現には、分析対象物質の抽出媒体への収着速度が鍵となる。収着速度を求め、抽出バイアルに用いる抽出媒体の厚さ、形状等の最適化を行う。

(2) 微極性及び親水性ポリマーの開発

これまでに開発されている Sorptive extraction 用の抽出媒体は、種類が少なく、極性の高い化合物の抽出が困難であった。したがって、極性化合物に適用できる抽出媒体の開発が必要である。本研究では、微極性 PDMS 及び親水性ポリマーを合成し、バイアル抽出法に適用した。

PDMS を合成する際に、両末端ビニルジフェニルシロキサン-ジメチルシロキサンコポリマーを用いて、0-15%のジフェニル基を有する PDMS を作製する。ジフェニル基が導入されることで、ポリマーは、微極性を示すため、極性の比較的高い化合物の前処理への応用を検討した。

PDMS 以外にポリメタクリレート、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体などのポリマーを合成する。合成したポリマーは、収着特性を調べ、バイアル抽出法に適用した。

(3) バイアル抽出法の有用性評価(実試料への適用)

本法の有用性を評価するために、バイアル抽出法を環境試料中の分析対象物質の高感度測定法の開発を検討した。実際には、水試料中のビスフェノール A 測定に最適化された抽出デバイスを用いた。また、ビスフェノール A は、フェノール性の水酸基を有しているため、そのままでは極性が高く良好な抽出が行えないため、無水酢酸を用いた in situ 誘導体化法を試みた。また、抽出した分析対象物質は、有機溶媒(メタノール)で逆抽出し、大量注入-GC/MS により測定した。

また、既存の方法である SBSE と回収率、抽出時間、感度を比較し、バイアル抽出法の有用性を確認した。実際の定量分析には、同位体希釈質量分析法を採用し、高精度な測定を試みた。

4. 研究成果

(1) 抽出バイアルの最適化

Sorptive extraction において、大量の抽出媒体を用いると、高い回収率が得られるが、膜厚が厚くなりすぎると、長い抽出時間が必要になる。従って、迅速な前処理を実現するためには、抽出媒体の膜厚を最適化する必要がある。

PDMS 相が 50~500 μm の膜厚となるように、抽出デバイスを作製し、検討した結果、膜厚を増加させると、回収率も増加する傾向が見られた。この結果は、抽出媒体の量が増加され、高い回収率が得られたと推察された。一方、膜厚を増加させると、平衡化までの時間(抽出時間)が増大する傾向も観察された。この結果は、膜厚が増加すると、分析対象物質がポリマーの内部まで移行するのに、相応の

時間を要することが考えられた。これらの結果から、前処理時間を短くし、ハイスループットな測定を目指す場合は、100 μm 以下の膜厚が好ましいことが示唆された。一方で、高い回収率により高感度な測定を目指す場合、多量の抽出媒体を用いる必要がある。

バイアル抽出デバイスの形状を検討した。

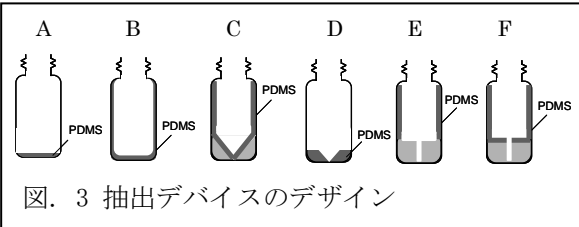


図. 3 抽出デバイスのデザイン

図. 3 の 6 種類のバイアルをスピンコーティング法及び鋳型形成により作製した。6 種の抽出バイアルの抽出効率を評価した結果、抽出媒体と試料の接触面積が大きいものが、短時間で高い回収率を示した。また、内部が逆円錐状のバイアルの内面をコーティングすることで、HPLC 用のオートサンプラーでの自動分析も可能であった。

以上の結果から、デザイン C を採用した。

(2) 微極性及び親水性ポリマーの開発

バイアル抽出法に適用できる抽出媒体として、様々なポリマーの合成を試みた。実際には、極性化合物の抽出をターゲットとして、フェニル基を含有するポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリメタクリレート、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体、高密度 PDMS などを検討した。フェニル基を含有した PDMS は、ポリマー自体の強度に問題があり、繰り返しの測定において、耐久性に問題があった。今後は、高密度 PDMS にフェニル基を導入することで、問題の克服が可能であると示唆された。

(3) バイアル抽出法の有用性評価(実試料への適用)

バイアル抽出法を用いて、河川水中のビスフェノール A の測定法を開発した。バイアル抽出法の抽出時間及び逆抽出時間は、それぞれ 15 分及び 10 分で、ほぼ一定のレスポンスが得られた。既存の方法であるスターバー抽出法(SBSE)では、抽出時間及び逆抽出時間は、60 分及び 15 分であった。バイアル抽出法は、SBSE 法と比較して、前処理時間を 1/4 に短縮することができた。また、バイアル抽出法の検出下限(LOD)は、5 ng/mL であり、誘導体化を行わない場合と比較して約 100 倍の高感度化が達成された。また、SBSE 法と比較した場合、同程度の検出感度であった。以上の結果から、本法が環境分析に十分応用可能であることが示された。

本研究で開発されたバイアル抽出法は、半

自動化が可能であり、簡便に効率よく分析対象物質を抽出する手法であり、様々な測定に応用できると期待される。

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)

[学会発表] (計2件)

- ① Migaku Kawaguchi, Rie Ito, H. Nakazawa, A. Takatsu, “Vial wall sorptive extraction with in situ derivatization and large volume injection-gas chromatography mass spectrometry for the determination of bisphenol A in water sample” 34th International Symposium on Capillary Chromatography, 2010/06/02, Italy
- ② 齋藤理枝子、伊藤里恵、川口 研、鶴城 大、岩崎雄介、斉藤貢一、中澤裕之、” バイアル抽出-LC-MS/MS 法による河川水中有機リン系農薬の測定” 第20回クロマトグラフィー科学会議、2009/11/11、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川口 研 (KAWAGUCHI MIGAKU)

独立行政法人産業技術総合研究所・計測標準研究部門・研究員

研究者番号：50455440