

氏 名	わたなべ よしゆき <b>渡 部 悦 幸</b>
学位(専攻分野)	博 士 ( 工 学 )
学 位 記 番 号	博 甲 第 3 6 9 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規程第 3 条第 3 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 機能科学専攻
学 位 論 文 題 目	<b>Development and application of multi functional polymer-based pretreatment media</b> (多機能高分子前処理媒体の開発と応用) (主査)
審 査 委 員	教授 田中信男 教授 黒田裕久 教授 吉川正和 助教授 細矢 憲 東北大学教授 彼谷邦光

## 論文内容の要旨

環境ホルモン物質は本来生体内に存在しない化学物質でありながら、生体の内分泌作用に影響を及ぼし、その中でもビスフェノール A (BPA) はポリカーボネート製樹脂、エポキシ接着剤などの原材料として汎用され、さらに貝類、魚類においては生殖作用、性比にも影響をおよぼすことが確認されている。またこれら BPA を含む内分泌攪乱作用は非常に希薄な濃度でも効果が発現することが確認されており、その対策として自然環境試料の中での微量定量分析法の確立が必須である。本論文は微量 BPA 分析に関して、選択的高分子前処理媒体を開発し、その実分析に関する応用について、その問題点と解決法を詳細に論じている。論文は四つの章から構成されている。

第一章は汎用的に用いられているクロマト分離分析での問題点を指摘し、用手法による分析の再現性低下、常識的実験環境からの BPA 汚染を明らかにし、シリンジを用いた通常分析では十分な感度、信頼性が得られないことを明らかにした。解決法として HPLC カラムスイッチングを用いて、その感度、再現性、検出法の用手法による濃縮前処理法との比較検討を行い、カラムスイッチング分析システムによる自動濃縮システムの基本性能を確認した。また、純水製造装置を含む実験環境からの汚染についてもその程度を定量的に明らかにし、対応策を示した。さらに安定した定量分析には不可欠である目的成分の生分解に関して、環境水試料採取後の安定保存を可能にする有用な知見を得た。

第二章では基本的性能が十分であることが確認できたカラムスイッチング HPLC システムについて、実試料中 BPA の定量への適用性向上のため、前処理濃縮基材に分子インプリント法により作成した高分子媒体を採用した。鋳型分子には BPA に対する疑似鋳型として *p-tert*-ブチルフェノールを用いた。インプリントポリマー粒子 (MIPs) の作成は二段階膨潤重合法により行い、均一径粒子を得た。MIPs の分子認識能の確認と保持の増大をクロマトグラフィーにより確認し、その HPLC 条件の最適化を行なった。インプリント効果による選択的保持の増大により、試料成分のトラップ段階での洗浄工程の導入などが可能となった。これによって電気化学検出器を用いた定量分析では、当初の目的であった 1 ng/L という非常に希薄な濃度でも十分に BPA のピークが確認できた。また、汎用性の大きな UV 検出器での実試料分析も試み、一定レベルの成果を確

認した。

第三章では第二章での結果を受け、汎用性の大きな UV 検出法での分析を可能にするため、実試料での目的成分のピーク面積測定を妨害する成分を効果的に除去する手法を検討している。BPA の保持の大きな部分は疎水相互作用によるが、妨害成分も同様の相互作用で保持していることが考えられる。また環境水試料中の妨害成分は一般的に低分子ではなく、オリゴマー、あるいはそれ以上の分子量を持つことが予想されるため、MIPs の表面に親水性の大きなポリマーコーティング（表面修飾）を施して MIPs 表面の疎水性の低下およびサイズ排除の両面で妨害成分の除去を試みた。表面修飾法を最適化するため、既存の「添加」法、および新たに開発した「分散」法という二つの方法を比較検討し、その効果を生かした MIPs 調製を行なった。単に現象の比較ではなく、窒素吸着法による比表面積の測定、サイズ排除クロマトグラフィーによる細孔分布の測定などから両修飾法の違いを明らかにした。妨害成分については HPLC で分取して、濃縮したものをイオン交換カラムに注入して陰イオン交換カラムで保持が見られたため、表面修飾にも同種の電荷を導入してイオン反発による妨害排除を行なった。親水性修飾に比べてもスルホプロピル基をポリマー鎖として導入する方法は画期的な効果を発揮した。また、この表面修飾によって減じられた絶対的な保持を補うため、疑似鑄型分子として *p-tert*-ブチルフェノールよりも BPA に対して構造類似性の大きな 4,4'-メチレンビスフェノールを用い、この新規鑄型分子を用いて調製した MIPs による選択性向上を定量的に評価した。また、MIPs の持つ選択性の大きな認識サイトと選択性の小さな認識サイトの定量的な評価および表面修飾との関係を明らかにした。この MIPs を用いて通常困難といわれている河川浮遊物中 BPA の UV 検出器による定量分析を行なった。

第四章では前章までの検討で一定の成果のあった MIPs と質量分析計との組み合わせで実試料の分析を行ない、検出限界、再現性等を統計的に検討した。汎用性の大きな UV 検出に適した表面修飾による妨害除去効果は将来的に使用頻度の向上が見込まれる質量分析計においても、感度向上という極めて重要な効果があることが明らかになった。このことは、妨害成分の除去という本法の有意性を示す結果であると考えられる。

このように極微量の目的成分を環境試料中で安定して分析可能にする選択性の大きな高分子媒体の開発とその応用について論じている。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は架橋ポリマーについて、重合反応系の設計と化学修飾により三次元構造と官能基の配置に基づく分子識別機能を付与すること、及び、環境試料中に極低濃度で存在する化学物質の分析において夾雑成分に対する選択的排除効果を発現させることにより、環境分析に寄与できることを実証したものである。本論文で扱っている対象物質は、内分泌攪乱物質としての疑いの高いビスフェノール A であるが、仮に直接高感度な質量分析を行っても、実際の環境試料から検出することが出来ない場合が多い。これは、対象物質が希薄であることに加え、夾雑物が多く存在するための妨害に起因する。本論文では、この課題に対して、分子インプリント法を応用した対象物質に対する選択的保持と、新しく開発した簡便な表面修飾法に基づく夾雑物に対する選択的排除を可能にする簡便かつ新規性の高い工夫を施しており、極めて実用性が高いものと判断される。

一般に高感度分析法の筆頭に挙げられる質量分析法において、環境試料中に含まれるフミン質などの妨害成分は、著しい感度の低下を招くことが報告されている。このことは、いくら選択性

の高い分離媒体を用いても、極めて高濃度で存在するこれら夾雑成分を除去しないかぎり、高感度分析が達成できないことを意味する。本研究では、これらの夾雑成分の特性を解析し、これに基づき、夾雑成分を排除する「バリアー」を選択的分離媒体の表面に張る極めて簡便な手法を開発し、これにより、従来は不可能であった 1 ppt 以下の極低濃度のビスフェノール A の実環境試料からの検出を汎用の紫外検出器でも可能にするという画期的な成果に結びつけた。定量感度に関する統計的考察も行われており、本法は今後環境中の有害有機物質の極微量分析・捕捉除去に応用可能であり、一部はすでに実用的レベルにまで達して環境工学的・分析化学的な意義も大きい。

本論文は、審査を経て掲載、あるいは掲載決定（印刷中）の以下の 9 編の論文をもとに構成されている。

1. 渡部悦幸, 細矢 憲, 田中信男, 近藤卓哉, 今井裕恵, 森田昌敏  
電気化学検出高速液体クロマトグラフィーによる環境水中の ng/l レベルのビスフェノール A の定量  
*分析化学*, 52 (12) 1167-1172 (2003)
2. Y. Watabe, T. Kondo, H. Imai, M. Morita, N. Tanaka, K. Hosoya  
Reducing bisphenol A contamination from analytical procedures to determine ultralow levels in environmental samples using automated HPLC microanalysis  
*Analytical Chemistry*, 76 105-109 (2004)
3. Y. Watabe, T. Kondo, H. Imai, M. Morita, N. Tanaka, J. Haginaka, K. Hosoya  
Improved detectability with a polymer-based trapping device in rapid HPLC analysis for ultra-low levels of bisphenol A (BPA) in environmental samples  
*Analytical Science*, 20 133-137 (2004)
4. Y. Watabe, T. Kondo, M. Morita, N. Tanaka, J. Haginaka, K. Hosoya  
Determination of bisphenol A in environmental water at ultra-low level by high-performance liquid chromatography with an effective on-line pretreatment device  
*Journal of Chromatography A*, 1032 45-59 (2004)
5. Y. Watabe, K. Hosoya, N. Tanaka, T. Kubo, T. Kondo, M. Morita  
Novel surface-modified molecularly imprinted polymer focused on the removal of interference in environmental water samples  
*Chemistry Letters*, 33 (7) 806-807 (2004)
6. Y. Watabe, K. Hosoya, N. Tanaka, T. Kubo, T. Kondo, M. Morita  
Novel surface-modified molecularly imprinted polymer focused on the removal of interference in environmental water samples for chromatographic determination  
*Journal of Chromatography A*, (in press)
7. Y. Watabe, K. Hosoya, N. Tanaka, T. Kubo, T. Kondo, M. Morita  
A shielded molecularly imprinted polymer prepared with a selective surface modification  
*Journal of Polymer Science Part A, Polymer Chemistry*, (in press)
8. K. Hosoya, Y. Watabe, T. Kubo, N. Hoshino, N. Tanaka, T. Sano, K. Kaya  
Novel surface-modification techniques for polymer-based separation media  
Stimulus-responsive phenomena based on double polymeric selectors

*Journal of Chromatography A*, 1030 237-246 (2004)

9. Y. Watabe, K. Hosoya, N. Tanaka, T. Kondo, M. Morita, T. Kubo

Determination of bisphenol A in environmental water by LCMS coupled with surface modified molecularly imprinted polymer as an on-line pretreatment device

*Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (in press)

以上、本論文で論じられている表面修飾型選択的分離媒体は、独創的な方法で調製され新規性が高いこと、さらにこれらを用いた対象物質の認識は、今後の環境問題の解決に大いに寄与することが考えられることから、本論文は実用的・工学的価値が高いことを全審査委員が認めた。