

| | |
|-----------|---|
| Title | 環境負荷低減化のための<special>CO2</special>還元法 と環境試料の原子スペクトル分析法の研究 |
| Author(s) | 金子, 聡 |
| Journal | |
| URL | http://hdl.handle.net/10076/6129 |
| Right | |

第6章 ICP発光分光分析／質量分析による粒子中微量金属元素の高感度・個別連続分析法の開発

従来の一般的な生物細胞や大気中エアロゾル粒子分析は、数多くの細胞や粒子を集め、それらをまとめて化学的に分解処理し、その細胞群や粒子群の平均値化された化学組成を求めているに過ぎなかった。近年、金属元素分析法の高感度化に伴い、粒子を個別に分析することが原理的に可能となり、河口らはICP発光分光分析を利用し、大気中エアロゾルを直接プラズマに導入し、個々の粒子中に含まれる元素によるパルス状の発光信号を電気パルスに変換し、そのパルス高さを計測することによって個々の粒子中の元素量を定量するシステムを開発した¹⁻³⁾。このシステムを生物細胞分析に応用し、細胞を個別に噴霧乾燥させ、粒子の代わりに乾燥させた細胞をプラズマ内に導入することが実現できれば、個別細胞中微量元素を連続的に分析するシステムが可能となる。したがって本研究では、まず液中に懸濁した細胞を空気中で噴霧しながら乾燥し、細胞粒子を個別にICP発光分光分析装置のプラズマ内に直接導入し、パルス状の発光信号の高さによって、細胞中に含まれる元素量を定量するシステムの開発を試み、細胞中カルシウム元素の個別分析を行った。また、河口らのICP発光分光分析を利用した大気中エアロゾル粒子の個別分析システムを一般大気試料に応用するには、元素によって検出感度が十分ではなく、実用性に限界があった。そこで、最近急速に発展してきた同じプラズマを用いるものの発光分光分析法よりも一般に2～3桁感度の優れるICP質量分析法を元素検出法として用いることができれば、高感度で分析ができることとなり、実用性が大いに増すと思われる。ゆえに、高感度なICP質量分析法を元素検出法として用いたエアロゾル粒子の個別連続分析システムの開発を行い、最適な信号処理法やシステムの操作条件を詳細に検討した。

6.1 ICP発光分光分析法による生物細胞中微量金属元素の個別連続分析

6.1.1 緒言

近年、生化学・医学などの分野において生物細胞中微量金属元素の存在が生体物質の合成や代謝、細胞の増殖や遺伝情報の伝達・複製に深く関与していることが明らかになってきている⁴⁻⁶⁾。これまでの細胞中微量元素の分析値は、数千個以上の細胞を分解処理した後、高感度分析法によって細胞一個あたりの平均値を求めてきた。しかし、細胞の大きさにも分布があり、細胞数の計数もあまり正確でない。さらに、異種細胞の混入や、正常細胞とがん細胞

の混在がある場合、平均分析値は意義を失う。高速な流れの中でレーザー光散乱法とレーザー蛍光法を用いたフローサイトメトリーにより、個々の細胞の大きさと生化学的組成を同時に測定できることが報告されているが⁷⁾、この方法により細胞中の微量元素を測定することはできない。また、細胞内の遊離カルシウムイオンは、Fura-2, Quin-2, Aequorinなどの高感度な蛍光性カルシウム指示薬を用いた蛍光分析により個別に測定されているが⁸⁾、細胞中の全カルシウム含有量を定量することはできない。さらに、蛍光顕微鏡像による細胞中のカルシウムや他の重金属元素の局所的イオン濃度を測定する方法が開発されているが⁹⁾、多数の細胞を連続的に定量することはできない。

近年、大気中エアロゾル粒子を誘導結合プラズマ (ICP) に直接導入し、個々の粒子に基づくプラズマ内での閃光をパルス状の電気信号に変換し、閃光の強度 (電気パルスの波高) から粒子に含まれる任意の元素の含有量を個別に連続的に計測するシステムが開発され、個々の粒子中のpgレベルの元素含有量を測定している¹⁻³⁾。本研究では、この個別粒子分析システムを生物細胞分析に応用して、液中に分散させた細胞をネブライザーで噴霧しながら乾燥し、粒子の代わりに乾燥させた細胞をプラズマ内に吸引導入し、パルス状の発光信号の高さによって、細胞中に含まれる元素量を個々に定量するシステムの開発を試みた。

6.1.2 装置及び方法

実験装置：システム構成図をFig. 6.1.1に示す。HPLCポンプにより流速0.2ml/minで70%エタノール溶液が連続的に空気圧式ネブライザーに供給され、細胞懸濁溶液1mlをロータリーバルブによりその流れの中に注入した。ネブライザーは乾燥筒の中央部にあり、空気流量1.3ml/minで細胞懸濁溶液を噴霧した。噴霧してできた液滴を乾燥させるために、コールドトラップにより除湿した空気を乾燥筒内に流速10ml/minで流した。乾燥筒の外壁は、リボンヒーターにより約70℃に加熱した。乾燥空気の乱流を抑えるために、径3mmの穴を有するプレートが乾燥筒内に組み込まれた。細胞の帯びた電荷を中和するために、乾燥筒の内壁に²⁴¹Amを取り付け、乾燥筒や搬送チューブの壁に細胞が付着するのを防いだ。乾燥した細胞を運ぶ空気流の一部を、別の空気圧式ネブライザーの吸引により流速50ml/minでプラズマ内に導入した。信号処理を除いて、セイコー電子SPS-1100H誘導結合プラズマ発光分光分析装置を用いた。プラズマ内で細胞中のカルシウム元素から生じた閃光を高電子増倍管でパルス状の電気信号に変換し、マルチチャンネル波高分析装置により測定した。

細胞試料：細胞試料は複数の研究者から提供された。測定に用いられた細胞は、マウス繊維芽細胞、人の臍臓細胞と内皮細胞であった。測定する前に、細胞をリン酸緩衝溶液PBS(-)

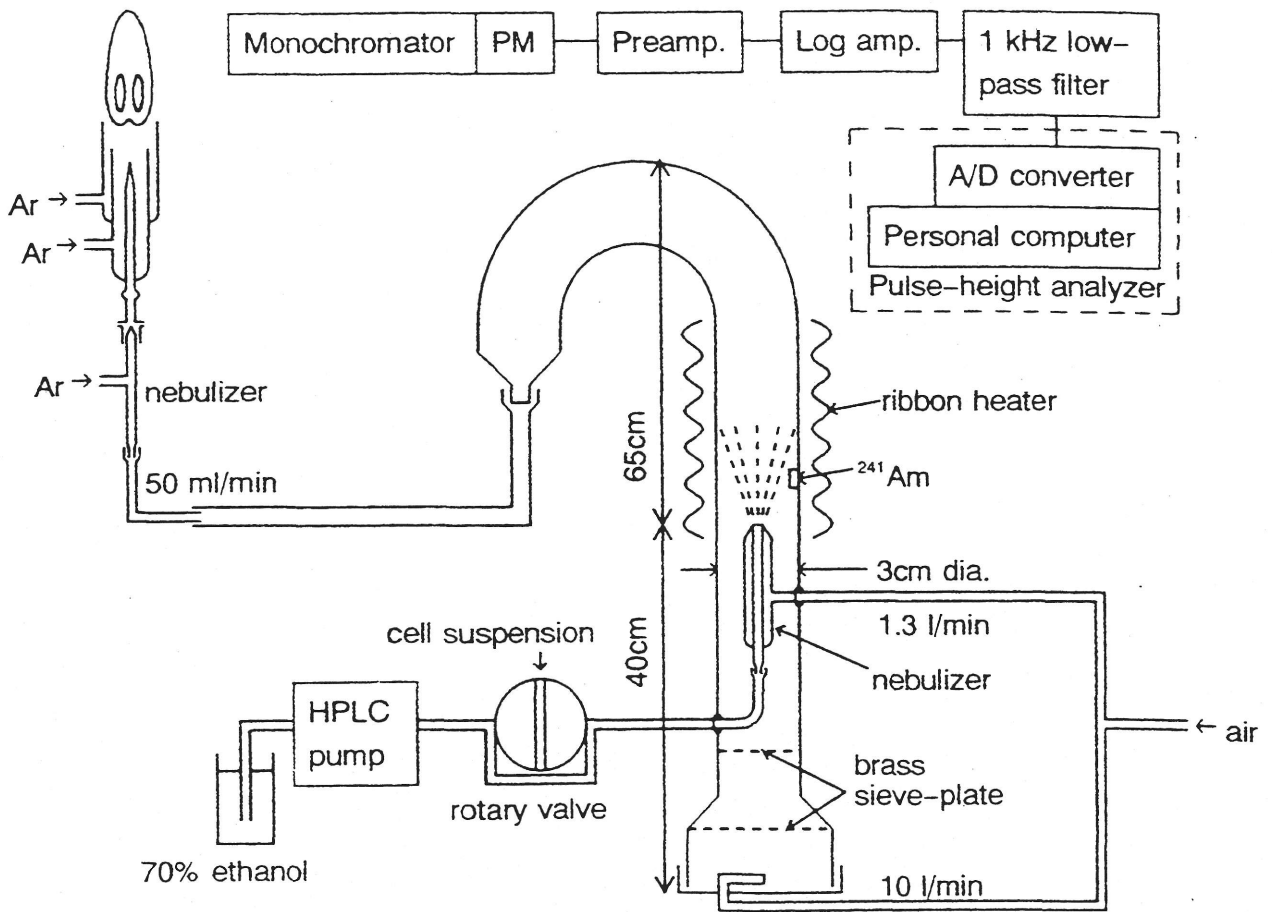


Fig. 6.1.1 Schematic diagram of the experimental system.

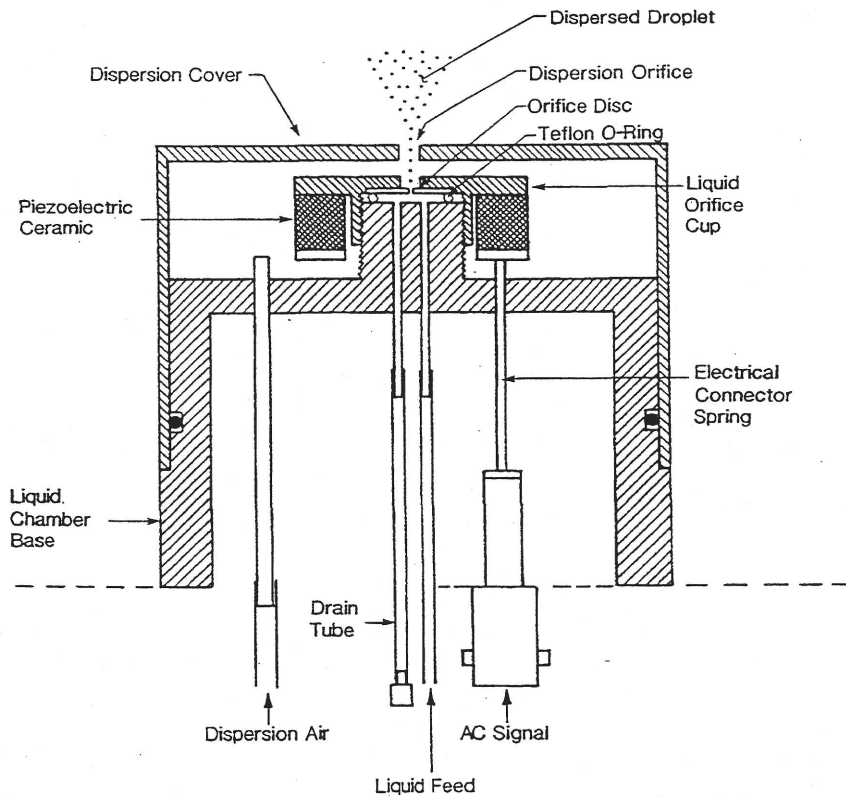
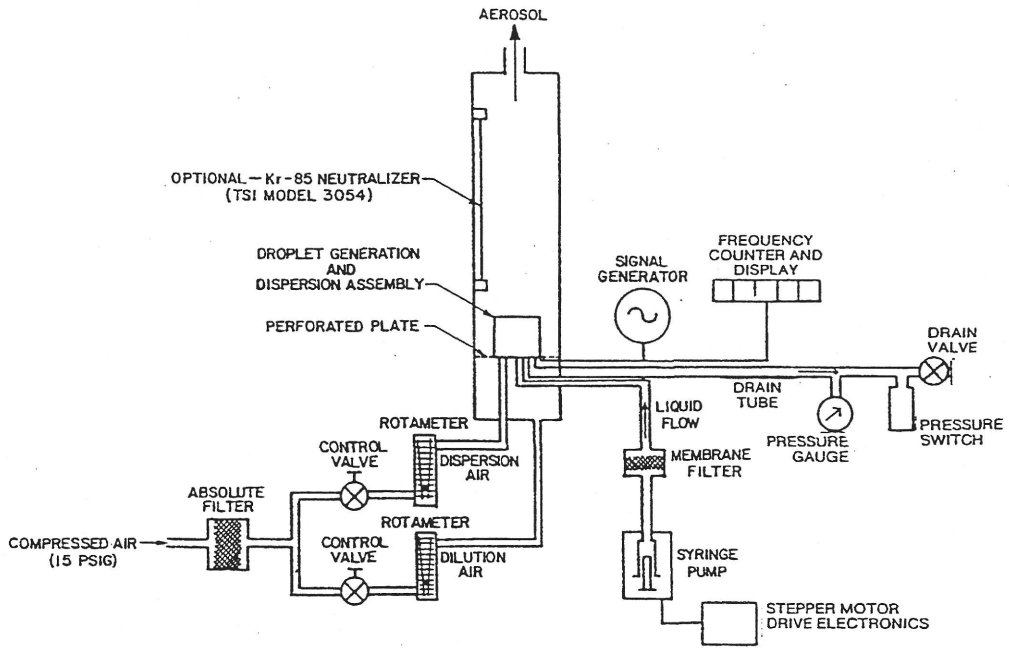


Fig. 6.1.2 Schematic diagram of the vibrating orifice monodisperse aerosol generator.

で洗浄した。緩衝溶液中のカルシウム濃度は、 $0.7\mu\text{g/ml}$ であった。細胞を自然沈降させた後、上澄みをピペティングで除去し、この洗浄を少なくとも5回以上繰り返した。最後に緩衝溶液を除去し、 10^6 - 10^7 個/mlの数密度に調整し、70%エタノール中に細胞を懸濁した。70%エタノール中のカルシウム濃度は、 1.0ng/ml であった。

校正曲線： 測定システムを校正するために、振動オリフィス単分散エアロゾル粒子発生装置(Model 3450, TSI)を用いて単分散エアロゾル粒子を生成した(Fig. 6.1.2)。直径 $20\mu\text{m}$ のオリフィスを振動数 79.5kHz で振動させた。10, 3, $1\mu\text{gZn/ml}$ の酢酸カルシウム水溶液(50%プロパノール)を装置に流入量 0.17ml/min で供給し、カルシウム0.35, 0.11, 0.036pg を含む単分散粒子を生成した。これらの単分散エアロゾル粒子をプラズマ内に導入し、得られた波高スペクトルをFig. 6.1.3に示す。信号処理に対数増幅器を用いているため、波高分析装置のチャンネル数は発光信号強度の対数に比例する。Fig. 6.1.3におけるピークのチャンネル数は、それぞれの単分散粒子中カルシウム含有量と直線関係が得られた(Fig. 6.1.4)。Fig. 6.1.3におけるチャンネル数50以下の信号は、プラズマからの連続的な発光信号に起因するバックグラウンド信号と思われる。

6.1.3 結果と考察

ICP-AESで通常用いられる空気圧式ネブライザーにより生成される液滴の大きさは、直径 $0.1\sim 100\mu\text{m}$ である¹¹⁾。一般的な動物細胞は $5\sim 20\mu\text{m}$ の大きさであるため、懸濁溶液中の細胞数密度が非常に高い場合、1個の液滴中に複数個の細胞が含まれる可能性があるが、懸濁溶液中の細胞数密度を低くすれば、大部分の液滴は1個の細胞を含むか、もしくは細胞を含まない状態になる。70%エタノール溶媒中のカルシウム濃度は非常に低いため、細胞を含まない液滴からカルシウムの発光信号は生じなかった。分光器の波長をカルシウム共鳴線(393.4nm)から離れた場合、細胞粒子が観測ゾーンを通過したとしても、発光信号は生じず、バックグラウンド信号も変化しなかった。細胞組織から生じる発光強度は非常に低いため、バックグラウンド信号を増加させなかったと思われる。

細胞中のカルシウム含有量を測定するためには、緩衝溶液中に懸濁し、生きたままの細胞を乾燥筒内に導入することが望ましいが、本研究では乾燥条件を考慮し、細胞試料を70%エタノールで固定した。70%エタノールは細胞膜を溶解しないが、細胞膜に小さいピンホールを開けることが知られている。しかし、固定直後では、細胞構造や組成がほとんど変化しないため、フローサイトメトリーにおける一般的な固定剤として用いられており、大部分のカルシウムは細胞中の組織に存在し¹²⁾、細胞液の流失はカルシウム含有量にほとんど影

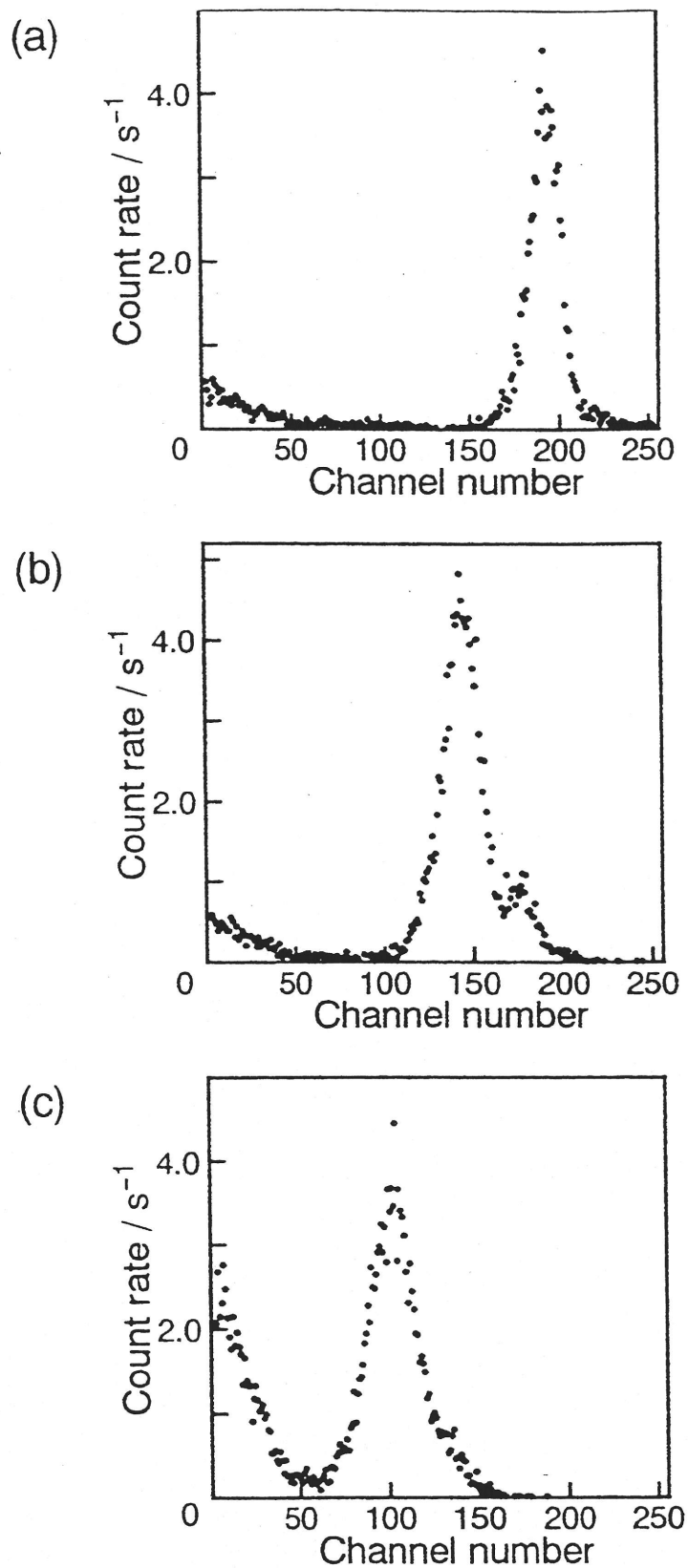


Fig. 6.1.3 Pulse height spectra for calcium emission obtained with monodisperse calcium acetate aerosols containing (a) 0.36, (b) 0.11 and (c) 0.036 pg of calcium.

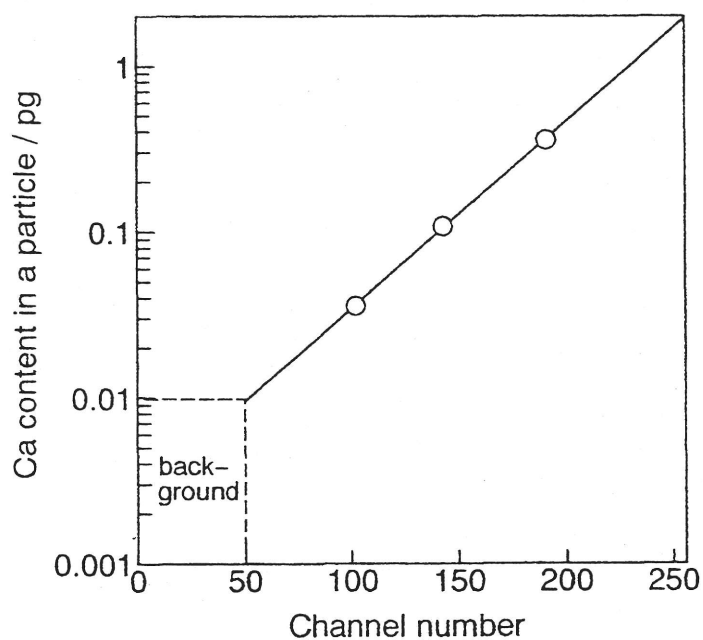


Fig. 6.1.4 Relation between the calcium content in a particle and the channel number.

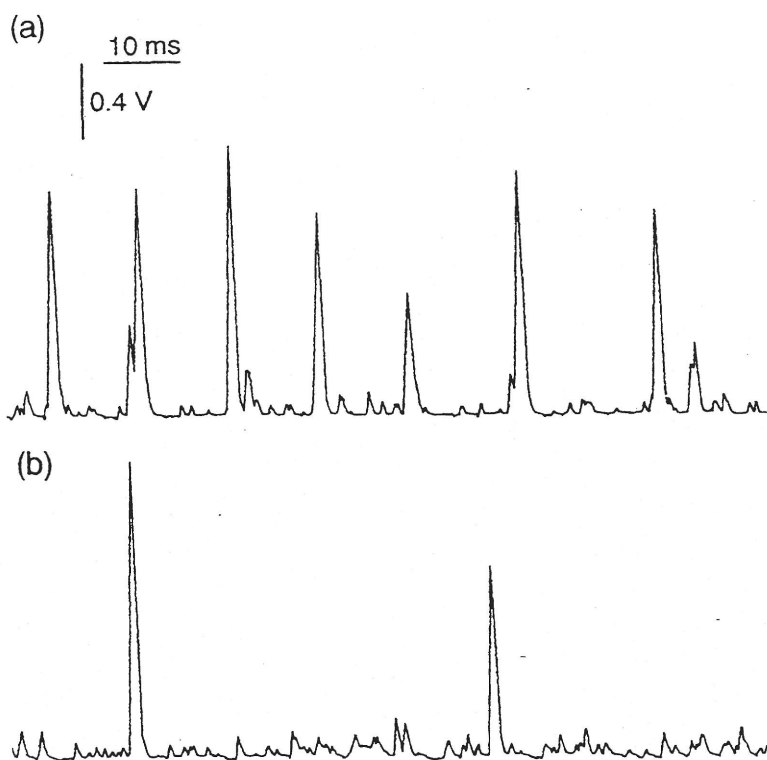


Fig. 6.1.5 Output signals from the preamplifier produced by (a) monodisperse calcium acetate aerosols (calcium content 0.042 pg) and (b) mouse fibroblast cells.

響を与えないと思われる。70%エタノールは蒸発しやすく、乾燥筒内で細胞以外の塩粒子を生じないため、本システムには有効であった。乾燥過程をなくすと、細胞を含んだ液滴は乾燥筒や搬送チューブに付着しやすくなる。スプレイチャンバーを用いた従来のICP発光分光分析法により細胞懸濁溶液の分析を試みたが、全ての細胞がスプレイチャンバーで除かれ、細胞からの信号を検出することができなかった。

血液細胞、組織片から生成した細胞、培養細胞など様々な細胞試料を測定した。血液細胞は、カルシウム濃度が低かったため、本システムでは検出できなかった。ネズミとネコの肝臓、脾臓、肺などの臓器組織片を細かくし、ナイロン(200mesh)を通すことにより細胞を簡単に得ることができたが、多数の断片が存在するためバックグラウンド信号を増加させた。細胞が比較的大きく、細胞の断片が極めて少ないなどの理由から、培養細胞を本システムの評価に用いた。

個別細胞から生じたパルス信号は、同程度のカルシウム元素量を含む粒子から生じたパルス信号とほぼ同じであったため、システム較正のために単分散粒子を用いた。粒子と生物細胞により生じたプリアンプからの信号波形をFig. 6.1.5に示す。両方のパルス信号とも1msとほぼ同程度のパルス幅を示し、単分散粒子によるシステムの較正は妥当であると思われた。

Fig. 6.1.6に培養したマウス繊維芽細胞の写真を示し、Fig. 6.1.7にその波高スペクトルを示す。Fig. 6.1.7のグラフの上段に示されているカルシウム含有量は、Fig. 6.1.4の較正曲線を使用した。チャンネル数50以下に見られる信号は、Fig. 6.1.3と同じバックグラウンド信号と思われる。Fig. 6.1.7におけるチャンネル数は、ネブライザーにより生成した1個の液滴に含まれるカルシウム含有量に相当する。細胞懸濁溶液中の数密度が非常に高い場合、個々の液滴は複数個の細胞を含むため、数密度が減少すると液滴中に含まれる細胞数が減少し、波高スペクトルのピーク位置も数密度の減少に伴い、低チャンネル側に移動するであろう。しかし、個々の液滴が1個の細胞を含むか、もしくは含まない状態であれば、数密度の減少は細胞を含んでいない液滴の割合を増加させるだけであろう。この場合、波高信号の高さは変化しないが、数密度の減少とともに同じ波高のパルス計数率が減少するだけである。Fig. 6.1.7に示されるように、数密度を減少させると波高スペクトルのピーク位置は変化しないが、ピークの計数率は減少した。したがって、個々のパルス信号は1個の細胞を含んだ液滴から生成した個別乾燥細胞から生じたと考えられた。

Fig. 6.1.7における実線は、 $n=13$ でスムージングを行った結果である。個別細胞中に含まれるカルシウム含有量は、波高スペクトルのピークにおいて 0.057pg/cell であった。用いた細胞の大きさが $10\sim 15\mu\text{m}$ であったため、細胞を球状と仮定するとカルシウム濃度は $0.82\sim$

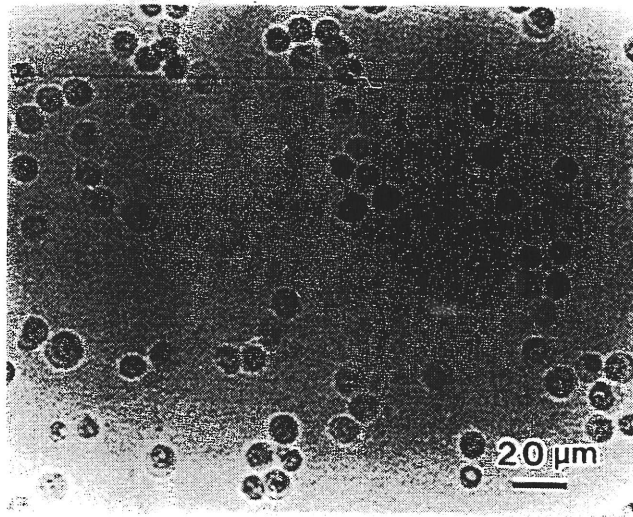


Fig. 6.1.6 Micrograph of cultured mouse fibroblast cells.

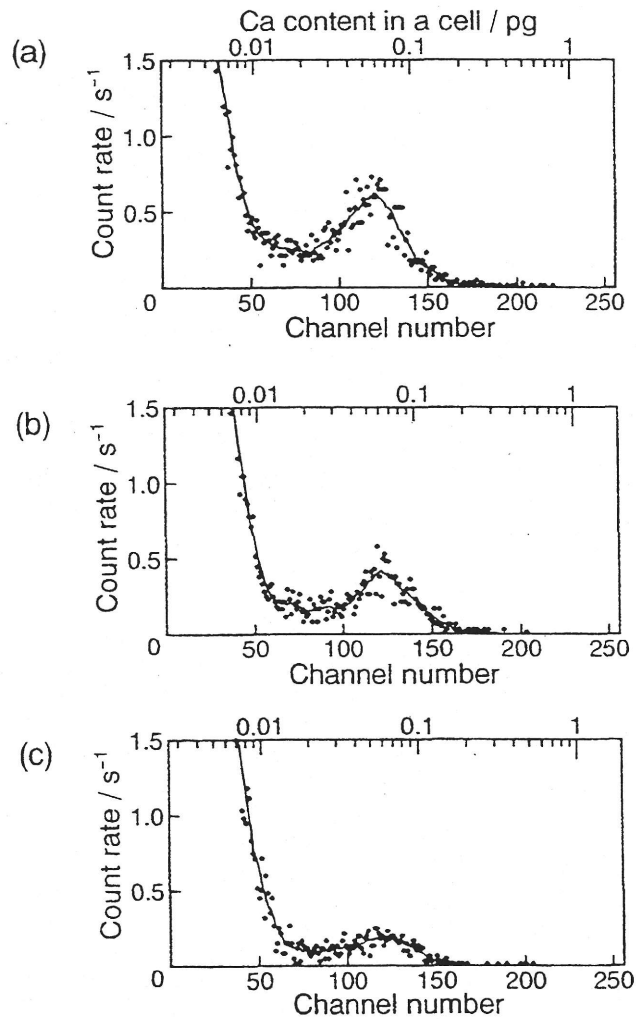


Fig. 6.1.7 Pulse height spectra for calcium emission obtained with cultured mouse fibroblast cells at approximate cell number densities of (a) 8×10^6 , (b) 4×10^6 , and (c) 1×10^6 .

Table 6.1.1 Determined calcium content in cultured mammalian cells.

| cell sample | diameter (μm) | measured content (pg/cell) | | calcd cellular concn ^a (mM) |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------|---|
| | | mean value | std dev | |
| mouse fibroblast cells | 10–15 | 0.057 | 0.029 | 0.82–2.8 |
| human pancreas cells | 15–20 | 0.16 | 0.04 | 0.94–2.2 |
| human endothelium cells | 15–20 | 0.27 | 0.04 | 1.6–3.7 |

^a Calculated from the cell diameter and the mean value of measured content for each cell sample by assuming a spherical cell.

2.8mMと推定された。細胞内遊離カルシウムイオン濃度は 10^{-4} mMであるが、細胞内全カルシウム濃度は1-2mMであるため¹²⁾、得られた値(0.82~2.8mM)は報告値と非常に類似していた。さらに、従来の測定法と比較するため、Thomaガラス計数板を用いて顕微鏡により細胞数を計測し、酸により分解処理した後、カルシウム濃度をICP-AESで測定した結果、細胞1個当たりの平均カルシウム元素量は0.016pgであった。この結果は、本システムで得られた値(0.057pg/cell)と必ずしも一致しないが、細胞の計数法が一般的に桁が異なるほど不正確であるため、その違いはほとんど問題にならないであろう。Table 6.1.1に3種類の培養細胞試料のカルシウム含有量、標準偏差、カルシウム濃度を示す。全ての試料のカルシウム濃度は、上記の報告値と非常に近かった。本システムにおけるカルシウムの検出限界は、Fig. 6.1.7よりチャンネル数50以下をバックグラウンド信号と考えると、約0.01pgであった。

6.1.4 まとめ

ICP発光分光分析法を用いた個別細胞中の微量金属元素を連続的に分析するシステムを開発した。実際試料の測定を行い、細胞内カルシウム濃度が報告値と極めて近い値を示し、本システムの有効性が示された。このシステムを用いれば、細胞中の元素含有量の統計分布を得ることができるだけでなく、正常細胞とガン細胞のように異種細胞が混在する場合でも、それらを分離することなく、微量金属元素の統計分布が得られると思われる。カルシウム元素以外の微量金属元素は、細胞中存在量と検出限界の関係から測定することができなかったが、元素検出法に高感度なICP質量分析法を用いれば、他の微量金属元素も測定できる可能性がある。生物工学の急速な発展とともに、本システムは多様なニーズが予想され、思わぬ利用形態も生じうるとされる。

6.2 ICP質量分析法によるエアロゾル粒子中微量金属元素の高感度・個別連続分析

6.2.1 緒言

様々な発生源から大気中に放出されるエアロゾル粒子は、環境科学、公衆衛生のみならず半導体産業、ライフサイエンス産業における超精浄環境実現などにおいても重要な因子であり、その粒子分析は発生源を知る上で極めて重要である。一般に、粒子数濃度や粒度分布測定には、レーザー光散乱技術が利用されることが多いが、エアロゾル粒子の化学組成を知

るためには、粒子を一旦メンブレンフィルターやガラスフィルターに捕集した後、酸などで分解し、原子吸光分析法などの高感度分析が行われており、時間と労力がかかる一方で、得られる情報は多数粒子の平均組成にとどまる。これまで、エアロゾル粒子を誘導結合プラズマ（ICP）中に直接導入し、粒子中の元素含有量を個別にICP発光分光分析法により連続的に定量するシステムが開発されているが¹⁻³⁾、これを一般の大気試料に応用するには、元素によって検出感度が必ずしも十分ではなく、実用性に限界があった。そこで本研究では、同じプラズマを用いながら一般に2,3桁感度の優れるICP質量分析法を元素検出法に利用して、ICP質量分析法によるエアロゾル粒子中微量金属元素の個別連続分析システムの開発を試みた。

6.2.2 装置及び方法

本研究に用いた装置図をFig. 6.2.1に示す。ICP質量分析装置はセイコー電子工業社製SPQ6500を用いた。プラズマの操作条件は、高周波出力1.2kW(27.12MHz)、外側ガス、中間ガス、キャリアーガス流量;16, 0.7, 1.1 l/min、サンプリング距離12mmであった。目的元素の水溶液を用いて測定条件を最適化した後、キャリアーガス流量を0.87ml/minに変え、ネブライザーにより試料空気をプラズマに吸引導入した。実際にプラズマに吸引された試料空気流量は、50ml/minであった。質量分析装置の質量軸は、亜鉛64、鉛208に固定した。装置に備え付けられたプリアンプを大きい時定数(0.33ms)を有するプリアンプに代えることにより、アナログ信号を得ることができた。この信号を1-kHzバンドパスフィルターを備えた直流増幅器を通し、エアロゾル粒子中の目的元素に応じた連続的な信号を得た。粒子のイオン化に相当するピーク信号の半値幅は1ms程度であり、ICP発光分光分析法による粒子分析において光電子増倍管から得られた信号と非常に類似していた¹⁻³⁾。さらに、対数増幅器、1kHzローパスフィルターを通した後、マルチチャンネル型波高分析装置にかけられ、粒子中元素含有量の分布がCRT上に表示された。

6.2.3 単分散エアロゾルの発生

システムの較正を行うために、前節6.1.2で用いられた振動オリフィス単分散エアロゾル粒子発生装置により単分散エアロゾル粒子を生成した。直径10 μ mのオリフィスを使用し、振動数は亜鉛173kHz、鉛138kHzであった。酢酸亜鉛または硝酸鉛水溶液(50%プロパノール)を亜鉛0.17ml/min、鉛0.039ml/minの流入量で装置に供給した。空気はコールドトラップにより除湿し、分散空気1.0l/min、希釈空気20l/minを流した。乾燥筒や搬送チューブの壁

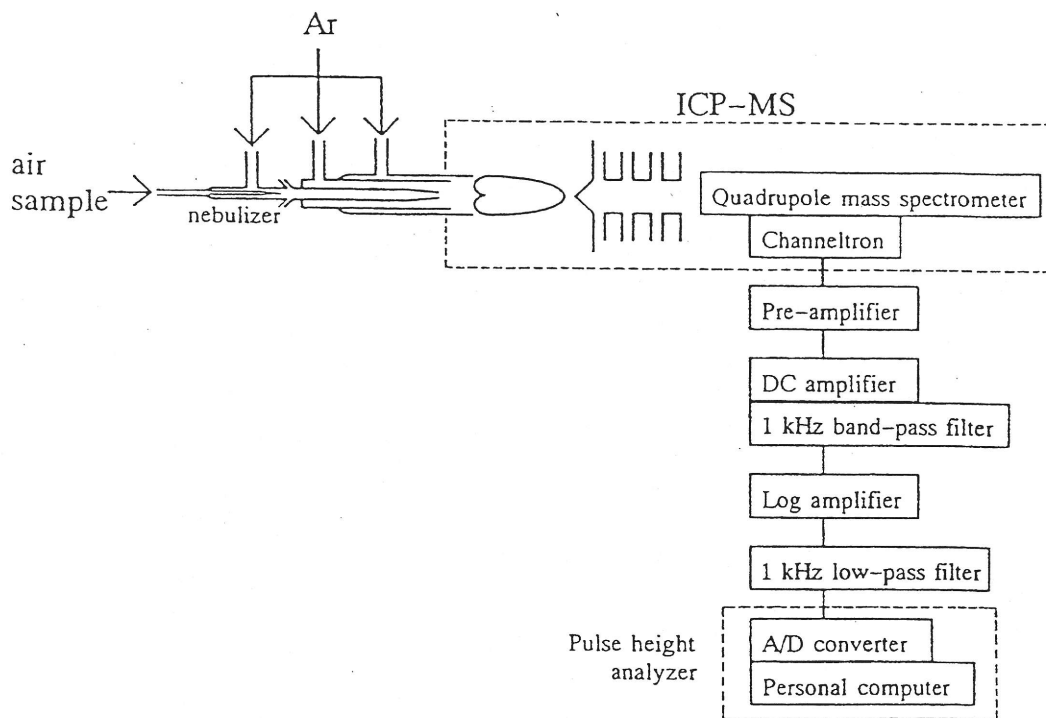


Fig. 6.2.1 Block diagram of the experiment system.

に荷電粒子が付着することを防ぐために、乾燥筒の壁面に ^{241}Am を取り付けた。

6.2.4 電子増倍管からの出力信号の処理

質量分析装置の検出器として用いられている電子増倍管は、約10nsの短い時間幅を有する一定電荷(10^6 - 10^8 個の電子)のパルスを生じ、このパルスの個数が質量分析装置からのイオン量に応じて増加する¹³⁾。通常の水溶液の測定では、任意の一定時間内(0.1-100ms)におけるパルス数から、単位時間当たりの平均パルスカウント数と目的元素の濃度を相関させ、校正曲線を作成しているが、そのパルス計数方式をそのまま粒子分析に応用することはできない。プラズマ内に導入された個々の粒子は、約1msの時間幅で閃光を発する¹⁻³⁾。プラズマ中で生成したイオンは、質量分析とのインターフェイスであるサンプリングコーンにより非常に短時間で抽出されるので、個々の粒子からのイオン信号も約1msの時間幅を有するはずである。ICP発光分光分析法を用いたシステムにより得られた波高分布と同様なものを得るためには、イオンパルス信号をアナログ信号に変換しなければならない。まず、FVコンバーターやFV変換回路を用いてプリアンプからのパルス信号の周波数を電圧信号に変換することを試みた。しかし、信号を検出できなかつたり、信号が100msほどのテーリングを起すなど、適切に電圧信号に変換することができなかった。次に、チャンネルトロンをプリアンプを大きな時定数(0.33ms)を有するプリアンプに変えて測定を行ったところ、プリアンプから個別ピークが得られた(Fig. 6.2.2(a))。さらに、1kHzバンドパスフィルターを備えた直流増幅器を通してスムージングを行った(Fig. 6.2.2(b))。バックグラウンド信号を低減させるために、プリアンプのオフセット信号を調整し、直流増幅器からの出力信号を対数増幅器、1kHzローパスフィルターに通し、マルチチャンネル型波高分析装置にかけられた。

6.2.5 単分散酢酸亜鉛粒子の測定

2.0, 0.80, 0.40 $\mu\text{gZn/ml}$ の酢酸亜鉛水溶液(50%プロパノール)を用いて、単分散エアロゾル発生装置により亜鉛32, 12, 6.4fgを含む単分散粒子を発生させた。Fig. 6.2.3に示すように、それぞれの単分散エアロゾル粒子で得られた波高スペクトルは、粒子中の亜鉛含有量に相当したチャンネル数にピークを示した。しかし、これらの波高スペクトルはかなり広い分布を有した。例えば、Fig. 6.2.3(a)のスペクトルの相対標準偏差(RSD)は27%であり、大きさでは33%であった。振動オリフィス単分散エアロゾル発生装置により生成した単分散粒子の相対標準偏差は、直径において3%以下であることが報告されている¹⁴⁾。ICP発光分光分析法によるシステムを用いた単分散粒子の測定では、波高スペクトルの相対標準偏差は11%で

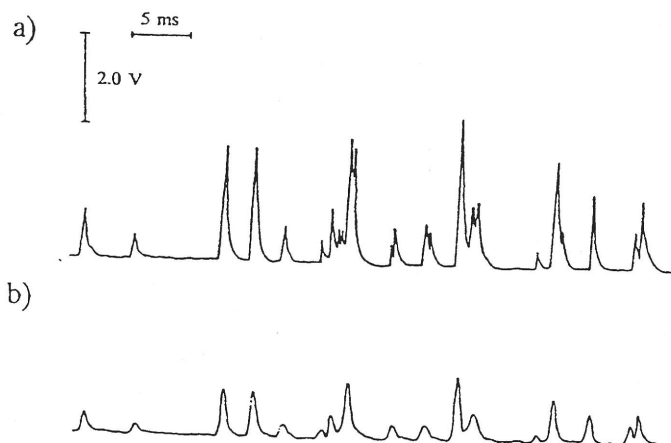


Fig. 6.2.2 Output signals from (a) the pre-amplifier and (b) the DC amplifier observed by a two-channel digital storage oscilloscope using a monodisperse zinc acetate aerosol (zinc content 12 fg).

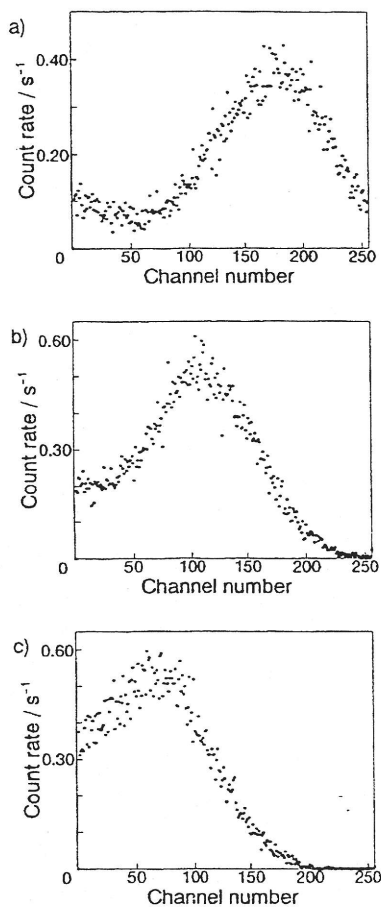


Fig. 6.2.3 Pulse-height spectra of the ICP-MS signals obtained with monodisperse zinc-acetate aerosols containing (a) 32. (b) 12 and (c) 6.4 fg of zinc.

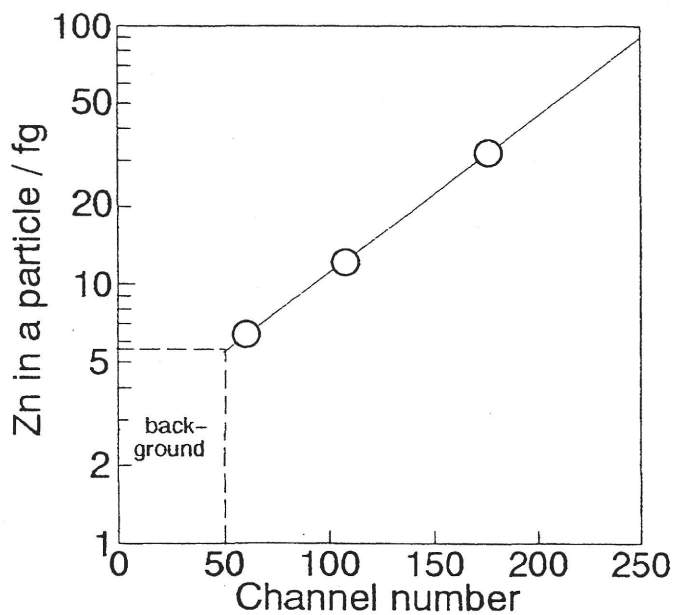


Fig. 6.2.4 Relation between the zinc content in a particle and the channel number.

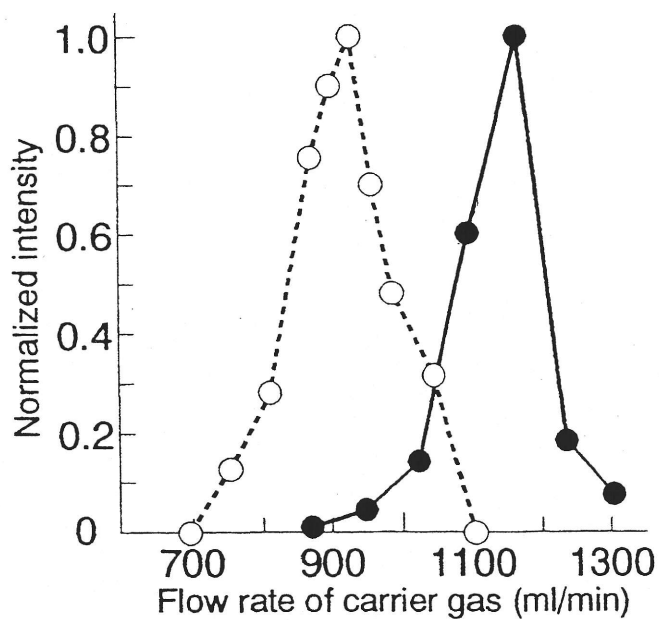


Fig. 6.2.5 Effect of the carrier-gas flow-rate on the signal intensity from the ICP-MS. Solid circle: normal solution measurement (based on pulse-count rate), open circle: particle measurement (based on pulse-height of processed signal).

あり、大きさでも11%であった³⁾。

波高スペクトルは広い分布を示したが、Fig. 6.2.3に示されたそれぞれのピークチャンネル数と単分散エアロゾル粒子中の亜鉛含有量を相関させた。その結果をFig. 6.2.4に示す。プリアンプにおけるオフセットを調節し、バックグラウンドを低減させ、粒子をプラズマに導入していない時、信号が生じないようにしたが、Fig. 6.2.3ではチャンネル数50以下に信号が現れた。したがって、その信号は粒子をプラズマに導入したことによる付加的なバックグラウンド信号と考えられた。チャンネル数50以下の信号をバックグラウンド信号と考えると、本システムにおける亜鉛の検出限界は約6fgであった。ICP発光分光分析法によるシステムでは亜鉛の検出限界は0.3pgであったため、ICP質量分析法による粒子分析システムの検出限界は50倍向上したことになる。

本システムにより低い検出限界が得られたが、単分散粒子を測定した場合でも幅広い波高分布を示したため、実際試料の分析に適用することは困難であると思われた。したがって、波高分布の幅を狭くするために、プラズマの操作条件を検討した。プラズマのキャリアーガス流量が直流増幅器からの信号強度に極めて影響することが分かった。Fig. 6.2.5は、単分散エアロゾル粒子から生成したイオン強度へのキャリアーガス流量の影響を示す。イオン強度は、それぞれの波高スペクトルにおけるピークチャンネル数から計算され、最大強度で規格化された。通常の溶液測定における信号強度へのキャリアーガス流量の影響も調べたが、粒子測定ではキャリアーガスに少量の空気が混入するために、ピーク位置が移動することが分かった。キャリアーガス流量の信号強度への影響は非常に類似していたが、波高スペクトルの幅はほとんど変化しなかった。中間ガス流量、プラズマガス流量、サンプリング深さ、高周波出力などの操作条件を変化させても、波高分布を狭くすることはできなかった。Fig. 6.2.3(a)と(b)に示されるように、パルス信号の幅はほとんど同じであるため、信号処理が波高スペクトルの広がりに影響しているとは考えられない。したがって、操作条件の精密な最適化が必要であろう。

6.2.6 単分散硝酸鉛粒子の測定

他の重金属元素の高感度検出を確認するために、3.0, 1.6, 0.40 $\mu\text{gPb/ml}$ の硝酸鉛水溶液(50%プロパノール)を用いて、単分散エアロゾル発生装置により鉛14, 7.6, 1.9fg含む単分散粒子を発生させ、較正曲線を作成した。硝酸鉛のそれぞれの波高スペクトルは、同様に幅広い分布を示した。亜鉛の場合と同様にチャンネル数50以下の信号をバックグラウンド信号と考えると、鉛の検出限界は約0.3fgと見積もられた。これは、通常の溶液試料に対する検出限

界と比較して、妥当な結果と考えられた。鉛0.3fgを含むエアロゾル粒子は、硝酸鉛粒子として直径0.050 μm 、金属鉛として直径0.037 μm の大きさに相当する。

6.2.7 まとめ

ICP質量分析法により個別エアロゾル粒子中のフェムトグラムレベルの微量金属元素を連続的に検出するシステムを開発した。亜鉛に対する検出限界は、6fgと見積もられた。この結果は、これまでのICP発光分光分析法を用いたシステムより50倍以上向上した。バックグラウンドが抑制されれば、さらに低い検出限界が実現されるであろう。しかし、単分散粒子を測定した時でさえ、分散の大きな波高分布を示した。波高スペクトル分布の改善には、操作条件の精密な最適化を必要とするであろう。

6.3 ICP質量分析法による個別エアロゾル粒子分析における操作条件の最適化

6.3.1 緒言

大気中エアロゾル粒子の分析評価は、環境科学、公衆衛生、超清浄環境制御技術などの分野でますます重要になってきている。前節6.2では、エアロゾル粒子をプラズマ中に直接導入し、粒子中の元素含有量を個別にICP質量分析法によって連続的に定量するシステムを開発し、単分散エアロゾル粒子中の亜鉛や鉛をfgレベルで計測できることを確認した。しかし、均一な径の粒子を導入しているにもかかわらず、その信号は大きな分散を示したため、実用性が極めて低かった。したがって、プラズマの操作条件を詳細に検討し、システムの高精度化及び高感度化を試みた。

6.3.2 装置及び方法

装置及びエアロゾル粒子分析システムは、前節6.2.2で用いたものと同様なものを使用した。キャリアーガス流量の精密な制御を行うために、ロータメーターをマスフローコントローラー(Nippon Tylan FC-260E)に代えて測定を行った。システム評価のための既知量亜鉛を含む粒子は、振動オリフィス単分散発生装置に既知濃度の酢酸亜鉛水溶液(50%プロパノール)を供給して発生させた。

6.3.3 アルゴンキャリアーガス流量の影響

前節6.2.5で述べたようにICP質量分析法を用いた個別粒子分析システムでは、アルゴンキャリアーガス流量が信号強度に極めて影響した。本研究の初期において、操作条件を最適化した後、測定中に信号強度が徐々に減少する現象が見られた。アルゴンキャリアーガスの制御にニードルバルブを備えたロータメーターを用いていたため、ロータメーターの入口ガス圧の僅かな変動により流量が変化し、信号強度が変動したと思われる。また、プラズマ内へエアロゾル空気試料をネブライザーで吸引導入しているため、吸引圧の変化による試料の導入流量の変化も一因になっていると考えられる。したがって、マスフローコントローラーを用いて相対標準偏差0.2%以下の精度でアルゴンキャリアーガス流量を制御した。

6.3.4 イオンレンズ電圧及びポールバイアス電圧の影響

単分散粒子で分散の小さい波高スペクトルを得るために、操作条件の最適化が検討され、イオンレンズ電圧の影響が調べられた。しかし、全ての条件で感度を低下させずに信号分布を改善することはできなかった。質量分析装置のポールバイアス電圧を増加させながら、単分散粒子の波高スペクトルが測定されたが、信号分布に変化は生じず、分散を小さくすることはできなかった。これは、サンプリングオリフィスにより抽出されたイオンの動力学的なエネルギー分布が、信号の変動に寄与していないことを示していると思われる。

6.3.5 プラズマ操作条件とサンプリング距離の影響

様々な操作条件(外側、中間、キャリアーガス流量、高周波出力、サンプリング距離)を変化させて、単分散粒子の信号強度と信号分布を測定した。前節に述べたように、アルゴンキャリアーガス流量が信号強度に極めて影響したが、本研究では高周波出力とサンプリング距離も信号強度に極めて影響を及ぼすことが分かった。プラズマと中間キャリアーガス流量はほとんど影響を及ぼさなかった。高周波出力とサンプリング距離を変化させて、亜鉛0.13pgを含む単分散粒子の波高スペクトルを測定した(Fig. 6.3.1)。アルゴンキャリアーガス流量は、Fig. 6.3.1(a)では600ml/minであり、(b)では800ml/minであった。プラズマと中間のガス流量は、それぞれ16, 0.7l/minであった。信号強度が増加するにつれて、波高スペクトルは高いチャンネル側へ移動するが、波高スペクトルの幅は信号変動に関係している。明らかに、高い信号強度と狭い波高分布が得られた最適操作条件は、600ml/minのキャリアーガス流量では高周波出力1.0kW、サンプリング距離10mmであった。一方、800ml/minのキャリアーガス流量では、最適操作条件は、高周波出力1.4 kW、サンプリング距離14

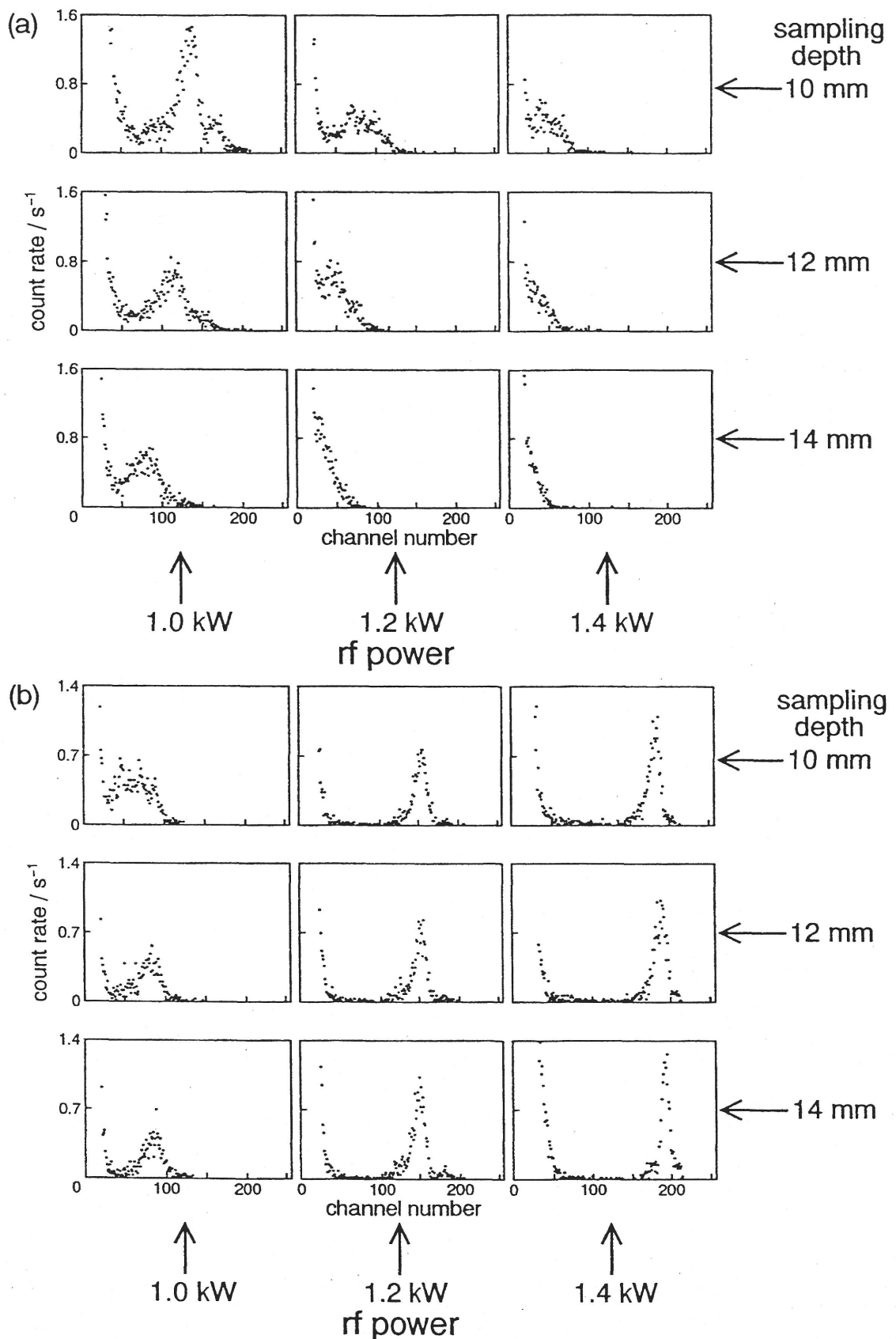


Fig. 6.3.1 Variation of pulse height spectrum for a monodisperse aerosol (0.13 pg zinc in a particle) as a function of rf power and sampling depth at carrier gas flow rates of a) 600 ml/min and b) 800 ml/min.

mmであった。同様に、他のキャリアーガス流量(700, 750, 850ml/min)においても、高周波出力(1.0, 1.2, 1.4kW)とサンプリング距離(10, 12, 14mm)の操作条件を検討した。それぞれのアルゴンキャリアーガス流量における最適操作条件をTable 6.3.1にまとめた。最も高い信号強度は、キャリアーガス流量800ml/min、高周波出力1.4kW、サンプリング距離 14mmの操作条件で得られた。キャリアーガス流量800ml/min、高周波出力1.4kWにおいてサンプリング距離13, 15mmで測定を行ったが、14mmが最も良い条件であった。Table 6.3.1における相対強度は、それぞれの波高スペクトルのピークチャンネル数を求め、それを最適条件の最も高い信号強度(800ml/minの場合)で規格化したものである。相対標準偏差もそれぞれの波高スペクトル分布から計算され、最も狭い分布は相対標準偏差5%であり、その操作条件は最も高い信号強度が得られた場合と同じ条件であった。前節6.2.5の波高スペクトル分布の相対標準偏差は27%であり、ICP発光分光分析法を用いた粒子分析システムの波高スペクトル分布の相対標準偏差は11%であったため³⁾、本研究では非常に分散が小さい結果が得られた。振動オリフィス単分散エアロゾル発生装置により生成された単分散粒子の相対標準偏差は、直径において3%以下であることが報告されている¹⁵⁾。したがって、キャリアーガス流量の精密な制御、高周波出力とサンプリングオリフィスによるイオンサンプリングの最適条件の選択により、分散の小さい波高スペクトルが得られたと思われる。

6.3.6 最適操作条件へのエアロゾル粒子サイズの影響

信号強度と信号分布が粒子のイオン化過程に関係しているため、エアロゾル粒子の大きさが最適条件に影響すると予想される。直径0.2~1.2 μ mの酢酸亜鉛粒子(亜鉛含有量: 7.1~1.4pg)において、最適操作条件への粒子サイズの影響は見られなかった。しかし、直径0.4 μ m以下の粒子においてのみ(亜鉛50fg以下)、粒子サイズの減少に伴い、信号分布が徐々に広がった。これは、検出限界付近であるために起こったのであろう。本研究で用いた粒子は非常に小さいためイオン化過程に変化が生じず、操作条件に粒子サイズが影響しなかったと思われる。

6.3.7 ICP質量分析法による粒子分析における信号変動

本研究において信号強度と信号分布は、アルゴンキャリアーガス流量、高周波出力、サンプリング距離により極めて影響を受けた。この結果は、プラズマ中の粒子の蒸気化とイオン化、イオンの拡散過程が信号強度と分散に極めて重要であることを示している。キャリアーガス流量600ml/min(Fig. 6.3.1(a))では、高周波出力の減少とともに信号強度が増加した。比

較的小さい高周波出力でもトーチの試料導入管の先端から短い距離内で、粒子の蒸気化とイオン化は完了すると思われる。したがって、高周波出力1.0kW以上では、プラズマの中心からのイオンの拡散は加速するであろう。プラズマから目的元素を効率良くサンプリングするためには、比較的小さいサンプリング距離が有効であると思われる。次に、キャリアーガス流量800ml/min(Fig. 6.3.1(b))では、粒子を完全に蒸気化及びイオン化するためには、小さい高周波出力では不十分であろう。高周波出力の増加にともなって、信号強度も増加したが、サンプリング距離はさほど影響を及ぼさなかった。分散の小さい信号分布が大きいサンプリング距離で得られた。近年、OlesikとHobbsは単分散エアロゾル粒子のICP発光分光分析における信号変動を研究している¹⁶⁾。彼らは、プラズマの側面に小さい分光器を備え付けたり、プラズマ像を90度回転させる偏光装置を用いるなどして、プラズマを46 μ mの高さごとに観測し、高さ方向の分解能を高めた。プラズマ中で粒子が蒸気化している付近では(アルゴンキャリアーガス1.4 l/minの時、観測高さ14mm)、原子とイオンの発光信号強度は、ストロンチウム3pgを含む単分散粒子で相対標準偏差30~35%の大きな変動があったと報告した。しかし、観測高さ30mmでは信号変動は、相対標準偏差6%であった。アルゴンキャリアーガス0.9 l/min、観測高さ14mmでは、相対標準偏差は約1%に抑えられた。したがって、蒸気化領域付近における信号の大きな変動は、キャリアーガスの速度変動により生じる蒸気化範囲の変動に起因していると彼らは指摘した。河口らのICP発光分光分析法を用いた個別粒子分析システムでは、発光信号は4mmのスリット高さの分光器により測定していた¹⁻³⁾。プラズマ中の高さ4mmを観測している間、発光信号は平均化されるので、信号強度はプラズマ操作条件により影響されなかったのであろう。ICP発光分光分析法を用いた粒子分析システムの波高スペクトル分布の相対標準偏差は11%であった³⁾。ICP質量分析法では、プラズマ中の極めて限定された空間においてサンプリングオリフィスにより目的元素が抽出される。したがって、信号強度と信号変動はプラズマ操作条件とサンプリング距離により極めて影響を及ぼされるのであろう。ゆえに、本システムにおけるICP質量分析法による信号特性は、OlesikとHobbsによる高さ分解能を高めたICP発光分光分析による信号特性と非常に類似していた。彼らは、単分散エアロゾル粒子の大きさに伴い蒸気化される場所の移動が起こることを指摘しているが、本研究では用いられたエアロゾル粒子の大きさが彼らより非常に小さかったため、最適操作条件に影響を及ぼさなかったのであろう。

6.3.8 粒子中亜鉛元素の検出限界

高周波出力1.4kW、サンプリング距離14mm、プラズマ、中間、キャリアーガス流量16,0.7,

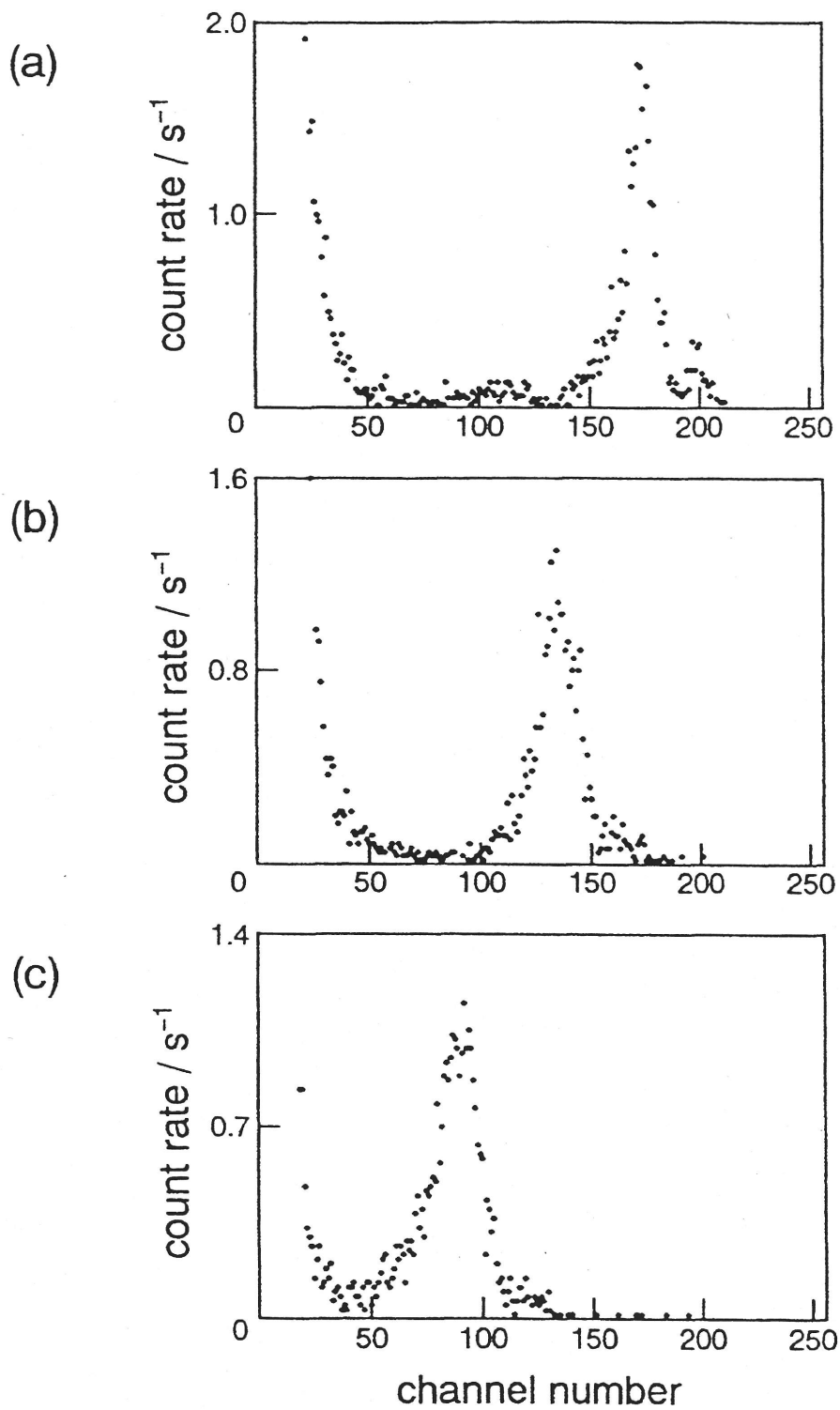


Fig. 6.3.2 Pulse height spectra obtained with monodisperse zinc-acetate aerosols containing a) 83, b) 30 and c) 8.3 fg of zinc.

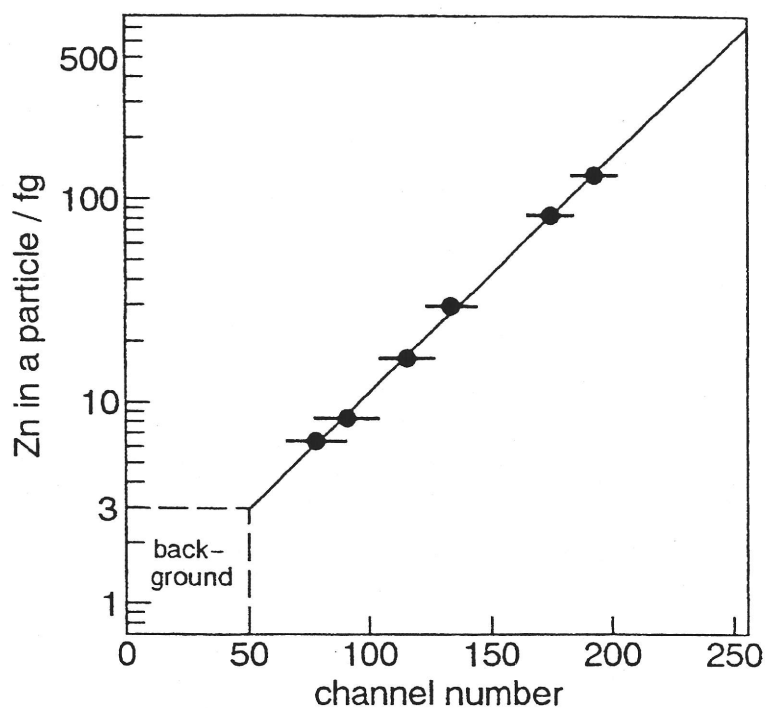


Fig. 6.3.3 Relation between the zinc content in a particle and the channel number of the pulse height analyzer.

Table 6.3.1 Comparison of optimum conditions at various carrier gas flow rates.

| | | | | | |
|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Carrier gas flow rate (ml/min) | 600 | 700 | 750 | 800 | 850 |
| Suction of sample air (ml/min) | 50 | 75 | 85 | 95 | 97 |
| Optimum conditions | | | | | |
| rf power | 1.0 kW | 1.2 kW | 1.4 kW | 1.4 kW | 1.4 kW |
| sampling depth | 10 mm | 10 mm | 12 mm | 14 mm | 14 mm |
| Normalized intensity | 0.26 | 0.27 | 0.48 | 1.0 | 0.37 |
| RSD | 16% | 21% | 12% | 5.0% | 8.5% |

0.8l/minが最適操作条件として選択された。粒子中亜鉛含有量の較正曲線を作成するために、酢酸亜鉛水溶液(50%プロパノール)を単分散エアロゾル発生装置に供給し、亜鉛6.4～130fgを含む単分散エアロゾル粒子を発生させた。亜鉛8.3, 30, 83fgを含む単分散エアロゾル粒子の波高スペクトルをFig. 6.3.2に示す。これらの信号分布の相対標準偏差は、15%, 7.7%, 5.5%であった。波高スペクトルのピークのチャンネル数と粒子中亜鉛含有量を相関させた較正曲線をFig. 6.3.3に示す。図中のエラーバーは、信号分布の標準偏差を示す。それぞれの波高スペクトルのピークチャンネル数は、粒子中の亜鉛含有量の対数と直線的に相関した。Fig. 6.3.2に示されるように、チャンネル数50以下の信号はバックグラウンド信号と考えると、粒子中亜鉛元素の検出限界は、約3fgと見積もられた。前節6.2の結果と比較して検出限界が2倍向上した。さらに、検出限界付近では多少幅広い波高スペクトル分布を示したが、亜鉛50fg以上では実際試料に十分応用できるほど幅の狭い波高スペクトルが得られた。

6.3.9 まとめ

I C P質量分析法による個別粒子分析では、当初単分散粒子の導入にもかかわらずその信号は大きな分散を示したが、プラズマキャリアーガスの精密な制御、高周波出力とサンプリングオリフィスによるイオンサンプリングの最適条件の選択により極めて分散の小さい波高分布を得ることができた。分散が小さくなるにつれて、感度が向上する結果となり、粒子中亜鉛元素の検出限界は約3fgと見積もられた。

6. 4 第6章の要約

I C P発光分光分析法やI C P質量分析法を利用して、生物細胞や粒子中の微量金属元素の個別連続分析システムの開発を行った。まず、液中に懸濁した生物細胞を空気圧式ネブライザーで噴霧し、乾燥空気流の中で乾燥させた後、プラズマ内に吸引導入し、パルス状の発光信号の高さによって、細胞中に含まれる元素量を定量するシステムを開発した。マウスの繊維芽細胞など実際試料に応用し、細胞中のカルシウム元素量分布を得ることができ、開発したシステムの実用性を明らかにすることができた。続いて、元素検出法にI C P質量分析法を利用した大気中エアロゾル粒子中の微量金属元素の個別連続分析を行うシステムを開発した。当初は分散の大きなパルス波高分布となったが、操作条件の最適化などにより分散の小さいパルス波高分布が得られ、実際試料に十分応用できるようになった。粒子中亜鉛の検出限界は、約3fgと見積もられ、極めて高感度な計測システムが開発された。I C P質量分

析法を用いた粒子分析システムは、連続的にエアロゾル粒子中のフェムトグラムレベルの金属元素を分析する有力な手段になり得ると思われる。

文献

1. H. Kawaguchi, N. Fukasawa and A. Mizuike, *Spectrochim. Acta* 41B (1986) 1277.
2. H. Kawaguchi, K. Kamakura, E. Maeda and A. Mizuike, *Bunseki Kagaku*, 36 (1987) 431.
3. T. Nomizu, H. Nakashima, Y. Hotta, T. Tanaka and H. Kawaguchi, *Anal. Sci.* 8 (1992) 527.
4. R. W. Hay, *Bio-inorganic chemistry*; Ellis Horwood Ltd.: Chichester, England, 1984.
5. A. M. Fiabane and D. R. Williams, *The Principles of Bio-inorganic Chemistry*; The Chemical Society: London. 1977.
6. J. F. Riordan and B. T. Vallee (Eds.), *Metallobiochemistry Methods in Enzymology*; Academic Press: San Diego, London, 1988; vol. 158.
7. A. L. Landy, K. A. Ault, K. D. Bauer and P. S. Rabinovitch (Eds.), *Clinical Flow Cytometry*; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* , 1993, 677.
8. A. Gilman-Sachs, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 700A.
9. G. Grynkiewicz, M. Pcenie and R. Y. Tsicn, *J. Biol. Chem.*, 260 (1985) 3440.
10. W. A. Ausserer, Y. Ling, S. Chandra and G. H. Morrison, *Anal. Chem.*, 61 (1989) 2690.
11. G. L. Moore, *Introduction to Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry*, Elsevier, New York, 1989, Chapter 7.
12. B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and J. D. Watson, *Molecular Biology of the Cell*, 3rd ed., Garland Publishing, New York, 1994, p508.
13. E. A Kurtz, *American Lab*, March (1979).
14. R. N. Berglund and B. Y. H. uu, *Environ. Sci. Technol.* , 7, (1973) 147.
15. J. W. Olesik and S. E. Hobbs, *Anal. Chem.*, 66 (1994) 3371.

第7章 結論

本論文は、「環境負荷低減化のためのCO₂還元法と環境試料の原子スペクトル分析法の研究」と題し、電気化学的手法と光化学的手法による新規な反応場を用いたCO₂還元法の開発と原子スペクトル分析法を用いた環境試料中微量金属元素の分析法の開発に関して得られた研究成果をとりまとめたものであり、本論文は7章からなる。

第1章では、序論として本研究の背景、目的と意義、概要について述べた。21世紀は環境の世紀と呼ばれるほど、環境問題が世界的に取り上げられるようになってきている。このような状況の中で、人類と生態系に直接関わってくる大気環境、水環境問題が非常に懸念され、また重金属元素などの化学物質が環境中を通じて人や生態系に有害な影響を及ぼすおそれ、いわゆる環境リスクも直接関連する問題として重要視されてきている。大気環境では、局所的な大気汚染も深刻な問題であるが、地球規模での問題である地球温暖化が最も深刻な問題の一つとなっている。その問題の解決には、地球温暖化の原因物質の一つとして疑われているCO₂の排出低減化につながる化石燃料の代替エネルギー源の開発が急務であると同時に、大気中のCO₂や放出されるCO₂を固定化または還元するための技術開発が求められている。次に、重金属元素などの化学物質の環境リスク問題は、水環境を通じて起こりやすいことから、重金属元素の環境リスク評価や対策のために、生体中や水環境中の微量金属元素の含有量や挙動を調べる研究が進んでいる。しかし、一部の重金属元素は内分泌攪乱化学物質に指定されるなど、金属元素の低濃度連続摂取と関係が深いと思われる疾患については将来的に問題化する可能性が高いため、現在の環境におけるさらに微量な金属元素濃度を把握する必要性が生じている。したがって、環境分野とそれに関連した医学・生化学の分野において、さらに微量な金属元素を正確に分析する計測手段の開発が切望されている。以上の背景から本研究では、CO₂還元法と原子スペクトル分析法の基礎的な開発研究を行った。

第2章から第4章までは、電気化学的手法と光化学的手法を用いた新規なCO₂還元法の開発について述べた。第2章と3章では、メタノール溶媒を用いたCO₂の電気化学的還元における支持電解質や電極金属の影響を検討した。銅電極を用いたメタノール溶媒では、これまで支持電解質として塩化ベンザルコニウムが試されたが、本研究では過塩素酸テトラエチルアンモニウム、水酸化リチウム、水酸化セシウムを支持電解質として用いて還元生成物分布への支持電解質の影響を調べ、第2章にまとめた。過塩素酸テトラエチルアンモニウムを用いた場合、COとギ酸のファラデー効率が大きく増加し、CO₂還元の総ファラデー効率は約88%にも達したが、メタンやエチレンの効率はさほど高くなく、炭化水素類のファラデー効

率を増加させる結果には至らなかった。次に、水酸化リチウムを支持電解質とした場合、メタンのファラデー効率が著しく増加し、約60%の極めて高い効率を達成することができた。一方、水酸化セシウムを支持電解質とすると、エチレンが優先的に生成し、約30%の高いファラデー効率を得ることができた。得られた結果より、支持電解質の種類による電極表面上での反応中間体 $\cdot\text{CO}_2^-$ の安定性の違いが、炭化水素類の優先的な生成に寄与すると予想された。また、リチウム塩とセシウム塩では、電極表面上の吸着プロトン数の違いが、メタンとエチレンの生成比に起因すると考えられた。

第3章では、メタノール溶媒を用いた各種金属電極による CO_2 の電気化学的還元を述べた。これまでは、銅電極のみが還元特性を調べられているだけで、他の金属電極による還元特性は明らかにされていないため、金、銀、チタン、インジウム、鉛などの種々の金属電極による触媒特性を調べた。金と銀電極を用いると、 CO が主に生成され、水溶液中の CO_2 の還元特性と類似していた。チタン電極を用いると、水溶液中では CO_2 の還元をほとんど行わず、水素のみを発生するが、メタノール溶媒中では CO_2 の還元が進行し、ギ酸と CO が生成した。また、水素吸蔵チタン電極では、ギ酸のファラデー効率が増加した。鉛電極を用いると、ギ酸が主に生成し、水溶液中の還元結果と類似していた。インジウム電極を用いると、 CO とギ酸とも比較的高効率で生成した。本研究で得られた結果より、メタノール溶媒中の CO_2 の電気化学的還元では、1) 炭化水素類を生成する金属電極(Cu)、2) CO を主に生成する金属電極(Au , Ag)、3) ギ酸を主に生成する金属電極(Pb)、4) CO 、ギ酸とも生成する2)と3)の中間的なグループ(Ti , In)などに分類できることが分かった。メタノール溶媒を用いた電気化学的還元において、支持電解質や金属電極の選択により、ある程度還元生成物を制御できる見通しができ、 CO_2 のメタノール物理吸収法と電気化学還元法を組み合わせたシステムの将来性が大きく開けたと思われる。

第4章では、高圧下での新規な反応場における CO_2 の光化学的還元を行った。まず、電子供与体であるホールスカベンジャーとして2-プロパノールを還元系に添加して、 CO_2 の光化学的還元を行った。メタンの生成速度は、ホールスカベンジャーを添加していない従来の生成速度と比較して8倍以上であった。この結果から、2-プロパノールがホールスカベンジャーとして作用し、 CO_2 の光化学的還元が促進され、メタンの生成速度が増加したと思われる。次に、水に CO_2 を溶かし込むのではなく CO_2 自身を溶媒とする高圧下の液化条件や超臨界条件において、 CO_2 の還元反応を行うことを試みた。還元生成物としてギ酸が得られ、液化条件や超臨界条件でも CO_2 の光化学的還元反応を進行させることができた。将来的にホールスカベンジャーを液化条件や超臨界条件での還元を用いることができれば、メタンなどの炭化

水素類を生成できる可能性がある。高圧下での本研究結果では、反応効率の飛躍的向上には至っていないが、将来的な工業プラントへの応用に向けた貴重な結果が得られ、その実用化に向けて大きく前進したと思われる。

第5章と6章では、原子スペクトル分析法を用いた環境試料中微量金属元素の定量法の開発について述べた。まず第5章では、金属チューブアトマイザーを用いた電熱原子化原子吸光法による環境試料中の銀、コバルト、ロジウムなどの特定元素の高感度・精密分析法の開発を行った。アトマイザーの材質として高融点のモリブデンとタングステンを選択し、直径2mmの金属チューブを原子化部として用いて原子化特性や干渉除去法を調べた。その結果、原子化温度、パージガス流量、灰化温度などの因子が原子吸光信号に影響することが明らかとなり、その最適条件を見出した。本法が再現性に優れ、高感度であることを示し、生体試料や海水・河川水などの実際試料に応用した。重金属元素の低濃度連続摂取が様々な疾患と将来関係づけられる可能性があり、環境中や生体中の微量金属元素の存在量を正確に把握することがますます重要になるため、本法のような特定元素の高感度・精密分析法の必要性が今後さらに高まると思われる。

第6章では、ICP発光分光分析／質量分析による粒子中微量金属元素の高感度・個別連続分析システムの開発を行った。まず、液中に懸濁した細胞を空気中で噴霧しながら乾燥し、細胞粒子を個別にICP発光分光分析装置のプラズマ内に直接導入し、パルス状の発光信号の高さによって、細胞中に含まれる元素量を定量するシステムを開発した。マウス繊維芽細胞、人の肝細胞や内皮細胞などの実際試料に応用し、細胞中カルシウム元素量の分布を測定し、システムの有効性を示した。続いて、同じプラズマを用いながら一般に2～3桁感度の優れるICP質量分析法を元素検出法に用いたエアロゾル粒子の個別連続分析システムを開発した。プラズマキャリアーガスの精密な制御、高周波出力とサンプリングオリフィスによるイオンサンプリングの最適条件を選択することにより、分散の小さい波高分布が得られ、亜鉛に対して約3fgの検出限界が見積もられた。生物細胞や粒子中の微量金属元素を高感度に個別連続分析できる本システムは、医学・生化学や環境科学、公衆衛生などの分野に役立つことが予想される。

以上のように、本研究ではCO₂還元法と原子スペクトル分析法の基礎的な開発研究が行われた。これら開発された基礎技術は、環境問題の解決及びその対策技術として将来的に実用化させることが十分に期待される。

本論文に関する発表論文

- 1) Electrochemical Reduction of CO₂ on Cu in Tetraethylammonium Perchlorate + Methanol at 243 K.
S. Kaneco, K. Iiba, K. Ohta, T. Mizuno, *Intern. J. Energy, Environ. and Econo.*, **7(2/3)**, 153-160 (1998).
(本論文第 2 章)
- 2) Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide to Hydrocarbons with High Faradaic Efficiency in LiOH/Methanol.
S. Kaneco, K. Iiba, S. Suzuki, K. Ohta and T. Mizuno, *J. Phys. Chem. B*, **103(35)**, 7456-7460 (1999).
(本論文第 2 章)
- 3) Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide to Ethylene with High Faradaic Efficiency at a Cu electrode in CsOH/Methanol.
S. Kaneco, K. Iiba, N. Hiei, K. Ohta, T. Mizuno and T. Suzuki, *Electrochim. Acta*, **44**, 4701-4706 (1999).
(本論文第 2 章)
- 4) Electrochemical Reduction of CO₂ on Au in KOH + Methanol at Low Temperature.
S. Kaneco, K. Iiba, K. Ohta, T. Mizuno and A. Saji, *J. Electroanal. Chem.*, **441**, 221-226 (1998).
(本論文第 3 章)
- 5) Electrochemical Reduction of CO₂ on an Ag Electrode in KOH + Methanol at Low Temperature.
S. Kaneco, K. Iiba, K. Ohta, T. Mizuno and A. Saji, *Electrochim. Acta*, **44(4)**, 573-578 (1998).
(本論文第 3 章)
- 6) Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide at Ti and Hydrogen-Storing Ti Electrodes in KOH-Methanol.
T. Mizuno, M. Kawamoto, S. Kaneco and K. Ohta, *Electrochim. Acta*, **43(8)**, 899-907 (1998).
(本論文第 3 章)

- 7) Electrochemical Reduction of CO₂ on an Indium Wire in KOH/Methanol-Based Electrolyte at Ambient Temperature and Pressure.
S. Kaneco, R. Iwao, K. Iiba, S. Itoh, K. Ohta and T. Mizuno, *Environ. Eng. Sci.*, **16(2)**, 131-137 (1999).
(本論文第 3 章)
- 8) Electrochemical Conversion of CO₂ to Formic Acid on Pb in KOH/Methanol Electrolyte at Ambient Temperature and Pressure.
S. Kaneco, R. Iwao, K. Iiba, K. Ohta and T. Mizuno, *Energy*, **23(12)**, 1107-1112 (1998).
(本論文第 3 章)
- 9) Photocatalytic Reduction of High Pressure Carbon Dioxide using TiO₂ Powders with a Positive Hole Scavenger.
S. Kaneco, Y. Shimizu, K. Ohta and T. Mizuno, *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **115**, 223-226 (1998).
(本論文第 4 章)
- 10) Photocatalytic Reduction of High Pressure Carbon Dioxide using TiO₂ powders.
S. Kaneco, K. Ohta, Y. Shimizu and T. Mizuno, *Rec. Res. Devel. in Photochem. & Photobio.*, **2**, 91-100 (1998).
(本論文第 4 章)
- 11) Photocatalytic Reduction of CO₂ using TiO₂ Powders in Liquid CO₂ Medium.
S. Kaneco, H. Kurimoto, K. Ohta, T. Mizuno and A. Saji, *J. Photochem. Photobio. A: Chem.*, **109**, 59-63 (1997).
(本論文第 4 章)
- 12) Photocatalytic Reduction of CO₂ using TiO₂ Powders in Supercritical Fluid CO₂.
S. Kaneco, H. Kurimoto, Y. Shimizu, K. Ohta and T. Mizuno, *Energy*, **24(1)**, 21-30 (1999).
(本論文第 4 章)
- 13) Determination of Cobalt with a Tungsten Tube Atomizer by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry and its Use for the Analysis of Biological Materials.
S. Kaneco, K. Sasaki, K. Ohta, S. Itoh and T. Mizuno, *Microchim. Acta*, **131**, 205-210 (1999).
(本論文第 5 章)

- 14) Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Silver in Biological Materials with a Molybdenum Tube Atomizer.
K. Ohta, S. Kaneco, S. Itoh and T. Mizuno, *Anal. Chim. Acta*, **267**, 131-136 (1992).
(本論文第 5 章)
- 15) Determination of Rhodium in Waters by Mg-W Cell-Electrodeposition and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry.
S. Kaneco, J. Ogawa, K. Ohta, S. Itoh and T. Mizuno, *Talanta*, **46(1)**, 139-143 (1998).
(本論文第 5 章)
- 16) Determination of Calcium Content in Individual Biological Cells by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry.
T. Nomizu, S. Kaneco, T. Tanaka, D. Ito, H. Kawaguchi and B. L. Vallee, *Anal. Chem.*, **66**, 3000-3004 (1994).
(本論文第 6 章)
- 17) Direct Analysis of Aerosol Particles by Atomic Emission and Mass Spectrometry.
H. Kawaguchi, T. Nomizu, T. Tanaka and S. Kaneco, *Anal. Sci. & Technol.*, **8**, 411-418 (1995).
(本論文第 6 章)
- 18) Determination of Femto-Gram Amounts of Zinc and Lead in Individual Airborne Particles by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Direct Air-Sample Introduction.
T. Nomizu, S. Kaneco, T. Tanaka, T. Yamamoto and H. Kawaguchi, *Anal. Sci.*, **9**, 843-846 (1993).
(本論文第 6 章)
- 19) Optimization of Operating Conditions in Individual Airborne Particle Analysis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.
S. Kaneco, T. Nomizu, T. Tanaka, N. Mizutani and H. Kawaguchi, *Anal. Sci.*, **11**, 835-840 (1995).
(本論文第 6 章)

その他の発表論文

- 1) Direct Determination of Manganese in Biological Materials using Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry with a Molybdenum Tube Atomizer.
K. Ohta, S. Itoh, S. Kaneco and T. Mizuno, *Anal. Sci.*, **8**, 423-426 (1992).
- 2) Photoelectrochemical Reduction of CO₂ using Silicate Rock Powder Suspended in Water.
K. Ohta, Y. Ohguchi, S. Kaneco and T. Mizuno, *212th ACS National Meeting, Orlando, FL, Proc. "CO₂ Capture, Utilization, and Disposal"*, **41(4)**, 1378-1381 (1996).
- 3) Determination of Nickel in Water by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with Preconcentration on a Tungsten Foil.
K. Ohta, K. Ishida, S. Itoh, S. Kaneco and T. Mizuno, *Microchim. Acta*, **129**, 127-132 (1998).
- 4) Determination of Osmium in Waste Water by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.
T. Suzuki, M. Miyada, K. Ohta, S. Kaneco and T. Mizuno, *Microchim. Acta*, **129**, 259-263 (1998).
- 5) Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead in Calcium Drug Samples by Direct Atomization Technique.
S. Ahsan, S. Kaneco, K. Ohta, T. Mizuno, T. Suzuki, M. Miyada and Y. Taniguchi, *Anal. Chim. Acta*, **362**, 279-284 (1998).
- 6) Treatment of Waste Water with Rocks (Andesite, Granite, Marble, Refuse concrete and Refuse Cement).
K. Ohta, S. Ahsan, S. Kaneco, T. Suzuki, T. Mizuno and K. Kani, *Proc. 4th Asian Symp. on Academic Activity for Waste Managemnet and Resources*, **4**, 162-168 (1998).
- 7) Direct Determination of Cadmium in Calcium Drug Sample using Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with a Metal Tube Atomizer and Thiourea as a Matrix Modifier.
S. Ahsan, S. Kaneco, K. Ohta, T. Mizuno and Y. Taniguchi, *Taranta*, **48(1)**, 63-69 (1999).
- 8) Photoelectrochemical Reduction of CO₂ by Silicate Rocks Powders.
K. Ohta, Y. Ohuguchi, S. Kaneco and T. Mizuno, *Energy Sources*, **21**, 467-473 (1999).

- 9) Sequential Metal Vapor Elution Analysis for the Determination of Cu and Mn in Biological Materials and Water.
K. Ohta, H. Uegomori, S. Kaneco and T. Mizuno, *Talanta*, **48**, 943-949 (1999).
- 10) Solid Sample Sequential Metal Vapor Elution Analysis for Determination of Cadmium and Zinc in Biological Materials.
K. Ohta, H. Uegomori, S. Kaneco and T. Mizuno, *Annali di Chimica*, **89**, 435-443 (1999).
- 11) A Screening for the Photo Reduction of Carbon Dioxide Supported on Metal Oxide Catalysts for C1-C3 Selectivity
M. Subrahmanyam, S. Kaneco and N. Alonso-Vante, *Applied Catalysis B: Environ.*, **23(2/3)**, 169-174 (1999).
- 12) Electrochemical Reduction of Carbon Dioxide at Cu Electrode under Ultrasonic Irradiation.
K. Ohta, K. Suda, S. Kaneco and T. Mizunom, *J. Electrochem. Soc.*, **147**, 233-237 (2000).
- 13) Voltammetry of Carbon Dioxide at Copper Electrode in Methanol in the Presence of Ultrasonic Waves.
S. Kaneco, S. Suzuki, S. Itoh, T. Suzuki and K. Ohta, *ITE Lett. Batt. New Technol. Med.*, **1(1)**, C16-19 (2000).
- 14) Electrochemical Reduction of CO₂ in Methanol + Water under Ultrasonic Irradiation.
K. Ohta, T. Kakuta, S. Kaneco and T. Mizuno, 196th Meeting of The Electrochem. Soc., Hawaii, Environmental Aspects of Electrochemical Technology, Industrial Electrolysis and Electrochemical Engineering Division, Electrochemical Society Proceedings, **99-39**, 183-188 (2000).
- 15) Determination of Trace Lead Impurities in Pure Copper Slurry Samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with Molybdenum Tube Atomizer.
S. Ahsan, S. Kaneco, K. Ohta and T. Mizuno, *Analisis*, 印刷中.
- 16) Dechlorination of Carbon Tetrachloride in a Continuous Flow System Using Nickel Powder.
T. Suzuki, D. Ahmed, A. Yasue, S. Kaneco and K. Ohta, *ITE Lett. Batt. New Technol. Med.*, 印刷中.