

令和 3 年 4 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K15420

研究課題名（和文）乱雑さを考慮した新規カラム性能評価法の提案

研究課題名（英文）A novel method for evaluation of column efficiency considering randomness of the internal structure of columns

研究代表者

内藤 豊裕（Naito, Toyohiro）

九州大学・工学研究院・助教

研究者番号：10711806

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：製薬、食品、環境分野の基本的な分析技術であるクロマトグラフィーの性能は、カラムに充填する粒子やその充填状態の均一性に依存する。本研究では、微細加工技術を利用してカラム内の不均一性を定量的に制御することで、不均一性がカラム性能に与える影響を評価した。充填状態の欠陥や粒子全体の粒度分布に比べて、隣接する粒子間のサイズ差がカラム性能の悪化の主な原因であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で作製したモデルカラムはカラム内均一性の指標として用いることで、従来、評価不能であった粒子充填カラム内部の構造の不均一性、充填状態に関する情報が得られるようになる。カラム効率の向上は根本的な分析性能の向上につながる。近年は3Dプリンタなどの発展により、一体成型型のカラムの期待も高まっており、カラム内充填構造がカラム性能に与える影響評価する本手法が与えるカラム設計に与える学術的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）：The efficiency of a chromatography column depends on the homogeneity of column packings and packed condition. The heterogeneity was controlled by microfabrication to evaluate the effect of heterogeneity of column packings and packed condition in this study. The microfabricated columns showed that the size difference between neighboring particles is a major factor of the column performance degradation in comparison with the void structure in the column and the size distribution of column packings.

研究分野：マイクロ分析

キーワード：マイクロ流体 分析化学 クロマトグラフィー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

粒子充填層は化学反応器、分離カラム、吸収塔、集塵装置に用いられている産業基盤技術のひとつである。これらの技術の多くは粒子を充填したものを使用されてきているが、近年の微細加工や3Dプリンタ技術の発展によって、精密な構造をもつ一体成型型の粒子充填層も作製可能になってきた。クロマトグラフィーの分野においては、従来の粒子充填カラムよりも、微細加工によって作製した微小流体カラムの方が高い効率を示しており、微小流体カラムを基盤としたカラムやクロマトグラフも市販され始めている。このような経緯から、充填カラム内部の構造がカラム性能に与える影響の理解が重要になっている。

一般的に、高いカラム効率が得られるカラムの条件は、均一な直径・形状の粒子を、均一高密度に充填していることであるとされている。一方、シミュレーションでは、充填粒子のサイズ分布の広さがカラム効率に与える影響は小さいという予想もされている。従来のカラムより高性能な微小流体カラムも、充填剤の構造は球をモデルにした円柱構造ではなく、算盤の珠のような平たい六角柱構造だった。このように、カラム内部の構造とカラム性能の関係については、十分な理解が進んでいない。

### 2. 研究の目的

カラム内部の構造とカラム性能の関係の評価が困難なのは、粒子充填カラムの内部構造の制御が難しく、複雑な構造になっていることと、カラム内部の構造の可視化ができないことが主な原因である。微小流体カラムは、微細加工技術を用いてカラム内部の構造を自由に設計でき、顕微鏡によるカラム内部の状態が観察しやすいため、カラム内部構造と性能の関係の評価に適したデバイスである。

本研究では、構造体の幅、配列位置を確率的に変動させ、カラム内部構造の不均一性を制御した微小流体カラムを作製することで、液体クロマトグラフィーにおけるカラム内部構造の不均一性とカラム性能の定量的な評価を目的とした。

### 3. 研究の方法

カラム内均一性を制御した多分散型カラムの作製と、微細加工によって作製したカラム(微小流体カラム)の測定系の構築を行った。設計したすべてのカラムは、幅、長さとともに0.05mmの構造体を配列した微小構造体配列を基本構造(単分散カラム)とした。多分散カラムでは構造体幅について、平均0.05mm、標準偏差 $s(s=0.08, 0.15, 0.22)$ の対数正規分布に従って不均一化させた。また、多分散カラムについては、配列順が不規則なランダム型、および、配列順をサイズ順に整列させた秩序型多分散カラムを作製した。

実際のカラムにおいては、充填構造に欠損が多くみられることから、充填状態に欠陥を持つカラムも同時に作製した。単分散、多分散カラム内の構造体の中から、全体の0、0.5、1.0、1.5、2.0%の構造体を選択、削除したカラムを作製し、性能を評価した。

カラムは、シリンジポンプ、インジェクタ、カラム、顕微鏡からなる測定系を用いて、van Deemterプロットを作成することで評価した。試料には、蛍光色素 uranine を、移動相に methanol を用いて、保持なしの条件での試料拡散を評価した。

### 4. 研究成果

構造体幅の制御間隔を、作製の加工精度よりも十分大きくすることで、作製したカラム内の構造体のサイズのヒストグラムが設計した構造体のサイズにヒストグラムで同様であることが確認できた。通常のカラムに比べて、微小流体カラムは内容積が小さいため、カラム外効果の影響の少ない実験系の開発に取り組んだ。Si基板に加工した構造体に合成石英基板を貼り合わせたカラムは、ポリジメチルシロキサン製のカラムに比べて、試料導入孔の加工精度、位置精度が高く、また、送液圧力に対する耐圧性能が優れていることから、Si-glassカラムを使用した。流路の幅、長さなどを再設計して、カラム容積を約7倍大きくし、シリンジポンプとインジェクタを利用したインジェクションによって試料導入量を0.5nLまで低減することで、単分散カラムと多分散カラムの性能の違いの評価が可能になった。作製したカラムの測定間誤差を評価したところ、測定範囲内の流速においてほぼ同じ van Deemterプロットが得られた。

ランダム型多分散カラム( $s=0.08, 0.15, 0.22$ )と単分散カラムの性能を比較すると、標準偏差が高くなるほど、性能が悪化することが確認できた。同じ標準偏差を持つ異なる構造体パターンの多分散カラムの性能を評価したところ、同一標準偏差のカラム間誤差は、異なる標準偏差の変化に対して極めて小さく、カラムが持つ不均一性がカラム性能に与える影響を評価できていることが確認された。

ランダム型と秩序型を比較したところ、すべての標準偏差において、ランダム型に比べて秩序型のカラムが高いカラム効率を示した。標準偏差が小さい場合は秩序型カラムに性能の差は見られなかった。構造体幅が0.05、0.10mmの構造体の配列方法の異なるカラムを作製したところ、構造体幅が変化する列の数が多くなるほどカラム性能が悪化することが確認された。これらのことから、任意の粒子とその近接粒子とのサイズ差のばらつきが小さ

い秩序型カラムは、局所的に単分散カラムとみなせるため、カラムを構成する構造体が同じでもカラム効率が高くなると考えられる。欠陥構造を含むカラムでは、欠陥構造の割合が増えるにつれて性能の悪化が確認されたが、構造体サイズの分布の影響に対して欠陥構造の影響は小さいことが示唆された。この多分散カラムと不均一性を持たせていない単分散カラムとを検量線のように用いることで、粒子充填カラム内の不均一性を評価することができると考えられ、今後の粒子充填カラムの設計や改善の指標としての利用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 E. Kanao, T. Morinaga, T. Kubo, T. Naito, T. Matsumoto, T. Sano, H. Maki, M. Yan, K. Otsuka	4. 巻 11
2. 論文標題 Separation of halogenated benzenes enabled by investigation of halogen- interactions with carbon materials	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 409-418
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/c9sc04906a	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 -

1. 著者名 E. Kanao, T. Kubo, T. Naito, T. Sano, M. Yan, N. Tanaka, K. Otsuka	4. 巻 92
2. 論文標題 36. Tunable liquid chromatographic separation of H/D isotopologues enabled by aromatic interactions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 4065-4072
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.analchem.9b05672	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 市川元庸, 内藤豊裕, 久保拓也, 大塚浩二
2. 発表標題 LCカラム内の均一性評価のための粒子充填層モデルの開発
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平岡信之, 内藤豊裕, 久保拓也, 大塚浩二
2. 発表標題 多変量データ取得チップを用いたヒドロゲル重合条件の最適化
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Motonobu Ichikawa, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka
2. 発表標題 Evaluation of sample diffusion in microfabricated LC column using polydispersed structure array
3. 学会等名 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Nobuyuki Hiraoka, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka
2. 発表標題 Development of microfluidic dispenser to support experimental optimization
3. 学会等名 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 安達天輝, 内藤豊裕, 久保拓也, 大塚浩二
2. 発表標題 多分散構造体配列を用いたカラム内の均一性が試料拡散に与える影響の評価
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第40回研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Motonobu Ichikawa, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka
2. 発表標題 The Influence of Structure Size Distribution and Arrangement Regularity in Microfluidic LC Column on Sample Diffusion
3. 学会等名 49th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------