

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25620111

研究課題名(和文)カーボン材料による内壁コート型分離カラムの開発と分離特性評価

研究課題名(英文) Development of a separation column coated with nano-carbon materials and its evaluation for separation properties

研究代表者

久保 拓也 (KUBO, TAKUYA)

京都大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20374994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)： ナノ炭素材料と特異的な反応性を示すPerfluorophenyl azide (PFPA) を用いて、フラーレンを固定化した新規分離場の開発とその分離特性評価を目的として研究を実施した。2年間の研究期間での成果として、三次元網目構造を有する多孔性材料であるシリカモノリスを中空キャピラリー内で作製した上で、そのモノリスの細孔表面にPFPAを介してフラーレンを高密度でフラーレンを固定化することに成功し、また、スタッキングをともなう特異的な分離を確認した。さらに、本研究で得られたカラムでは、コランニユレンに対する保持が著しく増加し、球面構造を特異的に保持するきわめて珍しい現象を発見した。

研究成果の概要(英文)： To develop a new separation medium modified with C60-fullerene and evaluate its retention properties, a specific agent, perfluorophenyl azide (PFPA) was employed for the interface for the immobilization of C60-fullerene. After the research period, a new capillary column, which was prepared with a silica monolith modified with high density C60-fullerenes, was successfully prepared, and the column showed the specific retentions based on the stacking. Additionally, the column provided the unique spherical recognition due to the attached C60-fullerene.

研究分野：分離科学

キーワード：クロマトグラフィー ナノ炭素材料 表面化学 フラーレン 多環式芳香族類

### 1. 研究開始当初の背景

フラーレン、グラフェン、ナノチューブに代表されるナノ炭素材料は、その熱的、電気的、および高い比表面積などの特徴を利用した応用研究が様々な分野で進められている。また、これらのナノ炭素材料が有する  $\pi$  電子雲は、ロンドン分散力に起因する双極子あるいは誘起双極子相互作用を発現し、特に  $\pi$  共役系を多く含む化合物との特異な相互作用を発現することが明らかとなっている。そのため、分離化学の分野では、この相互作用を利用した分離媒体の開発が注目されており、いくつかの研究グループでその検討が進められている。しかし、反応性と溶媒分散性の低いナノ炭素材料の固相等への固定化は容易ではなく、酸化などによりヘテロ原子を含む官能基を導入することで、溶媒分散性を高め、さらに反応点として用いている。このとき、導入された官能基上で起こる水素結合、静電相互作用は、 $\pi$ - $\pi$  相互作用に比べ非常に強く、ナノ炭素材料の特性を生かした分離場の構築は達成されていない。

そこで我々は炭素材料を効率よく固定化する手法として、光/熱活性基である Perfluorophenyl azide (PFPA) を用いた種々の固定化法の開発に着目し、同手法の新規分離場開発への応用として、中空キャピラリー内壁あるいは三次元網目構造を有するシリカモノリスに  $C_{60}$  フラーレンを固定化した新規分離カラムを開発を着想した。 $C_{60}$  フラーレン固定化による保持の効果および分離特性を明らかにすることを目的として、研究を開始した。

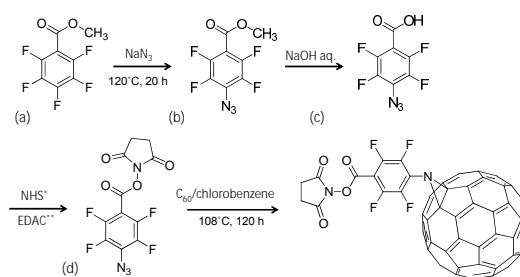
### 2. 研究の目的

本研究では、カーボン材料、特に  $C_{60}$  フラーレンの効率的な固定化を目指し、PFPA をインターフェイスとして組み込むことで、新規手法の有用性を評価した。さらに、フューズドシリカキャピラリー内表面に PFPA 基を修飾し、 $C_{60}$  フラーレンを光反応により固定化した中空カラムを用いて、 $\pi$ - $\pi$  相互作用に基づく新規分離場としての可能性を評価した。また、上記分離場における  $C_{60}$  フラーレンの効果をより効率的に発現させるため、高性能分離媒体として知られる多孔性シリカ連続体、いわゆるシリカモノリス上に  $C_{60}$  フラーレンを固定化する手法開発およびマイクロ流体を用いる液体クロマトグラフィー (LC) での保持特性について検討を目的として、種々の検討を進めた。

### 3. 研究の方法

#### (1) PFPA 誘導体の合成

図 1 に示すスキームに基づき、PFPA を含む *N*-hydroxysuccinimide (NHS) 誘導体および  $C_{60}$ -フラーレン反応型の誘導体を合成した。得られた生成物は、赤外分光法 (FT-IR)、質量分析、元素分析、核磁気共鳴法を用いて定性、定量した (図 2)。



\*NHS: *N*-hydroxysuccinimide  
 \*\*EDAC: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride

図 1. PFPA 誘導体の合成スキーム

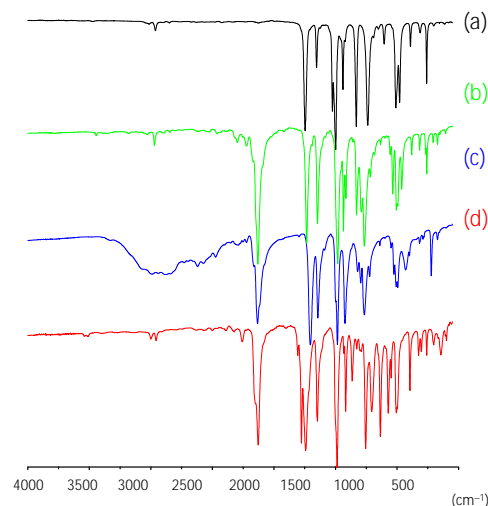


図 2. PFPA 誘導体の FT-IR スペクトル

#### (2) $C_{60}$ フラーレンの中空キャピラリーへの固定化法

図 3 に示す手順を用いて、フューズドシリカキャピラリー内部に  $C_{60}$  フラーレンを固定化した。

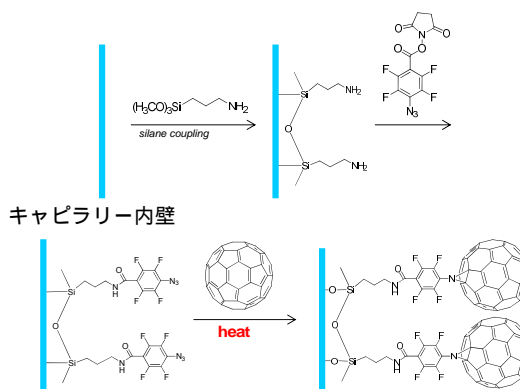


図 3. キャピラリー内壁への  $C_{60}$  フラーレン固定化のスキーム

#### (3) シリカモノリスへの $C_{60}$ フラーレンの固定化法の検討

図 3 および図 4 に示す手順によって、シリカモノリスの細孔表面に  $C_{60}$  フラーレンを固定化した。なお、シリカモノリス型のキャピラリーの作製には、すでに報告されている方法を採用し、貫通孔が 2  $\mu$ m 程度のモノリスを作製した。

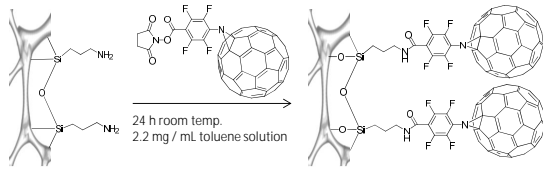


図4. シリカモノリス表面へのC<sub>60</sub>-フラーレン固定化のスキーム

(4) 作製したキャピラリーカラムのLC分析  
 上記で得られたそれぞれのキャピラリーカラムをマイクロLCを用いて評価した。LCにおける移動相には、水/メタノール、ヘキサン/クロロホルムのいずれかを用いて、溶質には、種々の多環式芳香族炭化水素 (PAH)を用いた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 中空キャピラリーカラムのLC評価

中空キャピラリー内壁をC<sub>60</sub>フラーレンによって修飾したカラムを用いて、LC分析を行った。その結果、C<sub>60</sub>フラーレンを固定化していないそれぞれのキャピラリーカラムでは、アセトン、ベンゼンの保持に違いが見られなかったのに対して、C<sub>60</sub>フラーレンを固定化した場合のみ、ベンゼンに対する保持が確認された。さらに、PAHを用いた分析の結果、固定化されたC<sub>60</sub>フラーレンに起因する選択的な保持が確認され、図5に示すように、複数のPAHが数分以内での分離が可能となった。

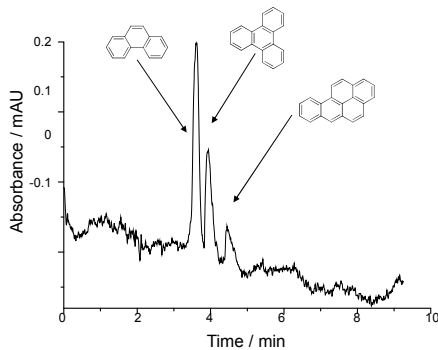


図5. C<sub>60</sub>フラーレン固定化中空キャピラリーにおけるPAHの分離結果

##### (2) シリカモノリス型キャピラリーカラムのLC評価

図3の方法を用いて、シリカモノリス表面にC<sub>60</sub>フラーレンを固定化したカラムを作製し(カラムA)、LC評価を行った結果、中空カラムと比較して、非常に大きい保持が確認された。このことから、シリカモノリスを用いたことによって、単位長さ辺りのフラーレンの固定化量が増大したと予想される。図6には、移動相にメタノールを用いた場合のPAHの分離結果を示したが、疎水的な環境では分離が困難である複数のPAHの完全分離が確認され、固定化されたC<sub>60</sub>フラーレンに基づく強い $\pi$ - $\pi$ 相互作用の発現が示唆された。

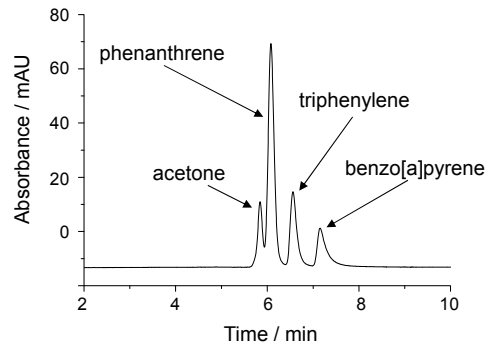


図6. カラムAを用いたPAHの分離結果

次に、図4の手法を用いて作製したシリカモノリス型キャピラリーカラム(カラムB)のLC評価を行った。その結果、カラムAと比較して、PAHに対する保持が著しく増加した。例えば、図7に示すとおり、カラムBを用いた場合には、移動相にヘキサンを用いた場合でも、PAHの効率的な分離が達成された。元素分析を用いて、それぞれのカラムにおけるC<sub>60</sub>フラーレンの固定化密度を算出した結果、カラムA、カラムBそれぞれで4.8  $\mu$ mol/g、32.0  $\mu$ mol/gであり、約8倍の差があることが明らかになった。これは、カラムBでは、フラーレンの固定化が直接的であったため、固定化が効率的に進行したと予想される。

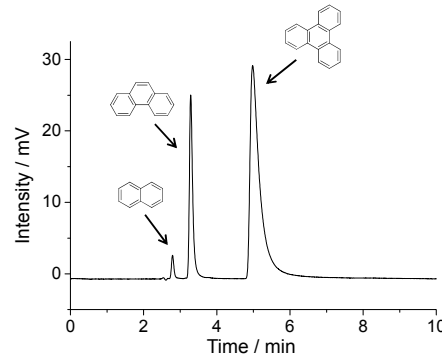


図7. カラムBを用いたPAHの分離結果

##### (3) C<sub>60</sub>フラーレンカラムの保持選択性評価

以上のように、最適化されたC<sub>60</sub>フラーレン固定化カラムでは、非極性溶媒中においても、 $\pi$ - $\pi$ 相互作用に基づくPAHへの強い保持が確認された。そこで、その効果の詳細について評価した。図8には、溶質として用いたPAHの $\pi$ 共役に関与する電子数に対して、LCでの保持のパラメータである保持係数をプロットした結果を示した。この結果から、C<sub>60</sub>フラーレン固定化カラムが、溶質の $\pi$ 電子数の増加にともなって、保持も増加していることがわかる。しかし、共役面が長距離にわたる溶質や、球面構造を有するコランニユレンに対しては、その傾向からずれていることが明らかとなった。そこで、コロンとコランニユレンのみを用いて、LC分析を行った結果、図9に示すとおり、コランニユレンに対する保持が高いことが確認された。市販の $\pi$ スタ

ッキングを主たる保持機構にもつカラムでは、これらの溶出パターンは逆転していることから、 $C_{60}$  フラーレンの球面構造に起因する保持の発現が示唆された。このような現象を報告した例はこれまでになく、今後、さらなる詳細な評価によって、新たな分離機構に基づく分離場の開発が期待できる。

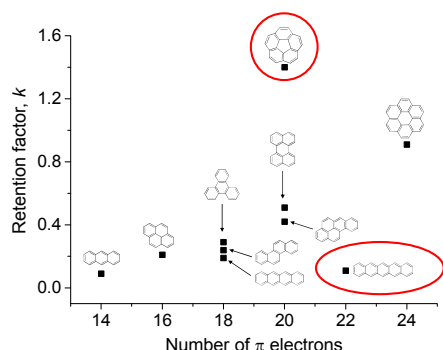


図 8. PAH の  $\pi$  電子数とカラム B における保持係数

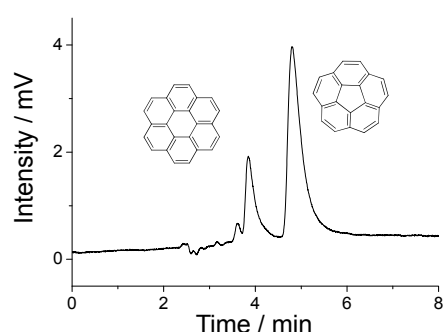


図 9. カラム B を用いたコロネンとコランニユレンの分離

## 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)

[雑誌論文](計 11 件)

Kubo, T.; Kuroda, K.; Tominaga, Y.; Naito, T.; Sueyoshi, K.; Hosoya, K.; Otsuka, K.: Effective determination of a pharmaceutical, sulpiride, in river water by online SPE-LC-MS using a molecularly imprinted polymer as a preconcentration medium, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2014, 89, 111-117. [DOI: 10.1016/j.jpba.2013.10.040] (査読有り)

Kubo, T.; Murakami, Y.; Tominaga, Y.; Naito, T.; Sueyoshi, K.; Yan, M.; Otsuka, K.: Development of a  $C_{60}$ -fullerene bonded open-tubular capillary using a photo/thermal active agent for liquid chromatographic separations by p-p interactions, *J. Chromatogr. A* 2014, 1323, 174-178. [DOI: 10.1016/j.chroma.2013.10.097] (査読有り)

Kubo, T.; Im, J.; Wang, X.; Whitten, J. E.; Otsuka, K.; Yan, M.: Solvent induced nanostructure formation in polymer thin films: the impact of oxidation and solvent, *Colloids Surf. A* 2014, 444, 217-225. [DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.12.052] (査読有り)

Kubo, T.; Hosoya, K.; Otsuka, K.: Molecularly Imprinted Adsorbents for Selective Separation and/or Concentration of Environmental Pollutants, *Anal. Sci.* 2014, 30, 97-104. [DOI: 10.2116/analsci.30.97] (査読有り)

Fukushima, Y.; Naito, T.; Sueyoshi, K.; Kubo, T.; Kitagawa, F.; Otsuka, K.: Quantitative Ligand Immobilization Using Alginate Hydrogel Formed in a Capillary: Application for On-line Affinity Concentration, *Anal. Chem.* 2014, 86, 5977-5982. [DOI: 10.1021/ac501039j] (査読有り)

Kubo, T.; Oketani, M.; Tominaga, Y.; Naito, T.; Otsuka, K.: Tunable Molecular Sieving in Gel Electrophoresis Using a Poly(ethylene glycol)-Based Hydrogel, *Chromatography* 2014, 35, 81-86. [DOI: 10.15583/jpchrom.2014.009] (査読有り)

Watabe, Y.; Kubo, T.; Tanigawa, T.; Hayakawa, Y.; Otsuka, K.; Hosoya, K.: Trace level determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river water with automated pretreatment HPLC, *J. Sep. Sci.* 2013, 36, 1128-1134. [DOI: 10.1002/jssc.201201096] (査読有り)

Kubo, T.; Yasuda, K.; Tominaga, Y.; Otsuka, K.; Hosoya, K.: Antibacterial activities effectuated by co-continuous epoxy-based polymer materials *Colloids Surf. B* 2013, 107, 53-58. [DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.01.043] (査読有り)

Kubo, T.; Yasuda, K.; Tominaga, Y.; Hosoya, K.; Otsuka, K.: Hybridization of a Macroporous Sponge and Spherical Microporous Adsorbents for High Throughput Separation of Ionic Solutes, *Anal. Sci.* 2013, 29, 417-421. [DOI: 10.2116/analsci.29.417] (査読有り)

Tominaga, Y.; Kubo, T.; Sueyoshi, K.; Hosoya, K.; Otsuka, K.: Synthesis of Poly(ethylene glycol)-Based Hydrogels and Their Swelling/Shrinking Response to Molecular Recognition, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* 2013, 51, 3153-3158. [DOI: 10.1002/pola.26700] (査読有り)

Kubo, T.; Tanigawa, T.; Tominaga, Y.; Hosoya, K.; Otsuka, K.: Rapid Separations on Liquid

Chromatography Using Ion Exchangeable Media Based on a Spongy Monolith, *J. Sep. Sci.* 2013, 36, 2813-8. [DOI: 10.1002/jssc.201300392] (査読有り)

[学会発表](計 13 件)

Specific separations by a C<sub>60</sub>-fullerene bonded silica-monolithic capillary in liquid chromatography,

T. Kubo, Y. Murakami, T. Naito, M. Yan, K. Otsuka, HPLC2015, June 2015, Geneva, Switzerland

Specific Separations by a C<sub>60</sub>-bonded Silica-monolithic Capillary in Liquid Chromatography,

T. Kubo, Y. Murakami, M. Tsuzuki, T. Naito, M. Yan, K. Otsuka, ISMM2015, June 2015, Kyoto, Japan

C<sub>60</sub>-Fullerene Bonded Silica Monolith for Micro-LC,

T. Kubo, Y. Murakami, M. Yan, K. Otsuka, ISPlasma2015, March 2015, Nagoya, Japan

Miniaturized LC Device Using Monolithic Materials,

T. Kubo, A. Kunisawa, T. Naito, K. Otsuka, ISPlasma2015, March 2015, Nagoya, Japan

C<sub>60</sub>-fullerene bonded silica-monolith for liquid phase separation,

T. Kubo, Y. Murakami, M. Yan, K. Otsuka, Hybrid Materials 2015, March 2015, Sitges, Spain

C<sub>60</sub>-fullerene Bonded Silica-monolith for Liquid Phase Separations,

T. Kubo, Y. Murakami, M. Yan, K. Otsuka, APCE2014, December 2014, Kyoto, Japan

C<sub>60</sub>-Fullerene Bonded Open-Tubular and Silica-Monolithic Capillaries for Liquid Chromatography,

T. Kubo, Y. Murakami, T. Naito, K. Otsuka, HPLC2014, May 2014, New Orleans LA

Development of a C<sub>60</sub>-Fullerene Bonded Open-Tubular Capillary Using a Photo/thermal Active Agent for Liquid Chromatographic Separations

T. Kubo, Y. Murakami, K. Otsuka, PITTCO 2014, March 2014, Chicago, IL

Controllable swelling/shrinking behavior of hydrogels by molecular adsorptions

T. Kubo, K. Otsuka, MRS 2013 Fall Meeting, December 2013, Boston, MA

Rapid Separations on Liquid Chromatography

Using Ion-Exchange Media Based on A Spongy Monolith

T. Kubo, T. Naito, K. Otsuka, 13th Asia Pacific Symposium on Microscale Separation and Analysis, November 2013, Jeju, Korea

Effective liquid chromatographic separation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a C<sub>60</sub>-fullerene coated capillary column

T. Kubo, Y. Murakami, K. Otsuka, CJK 2013 in ASIANALYSIS XII, August 2013, Fukuoka, Japan

Selective preconcentration and determination of a PPCP, sulphiride in river water by an online SPE-LC-MS using a molecularly imprinted adsorbent

T. Kubo, K. Kuroda, K. Hosoya, K. Otsuka, HPLC 2013, June 2013, Amsterdam, the Netherlands

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久保 拓也 (Takuya Kubo)

京都大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：20374994