

令和元年6月24日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K05536

研究課題名(和文) マイクロ波支援による高性能イオン交換型モノリスの迅速調製の最適化

研究課題名(英文) Optimization of Microwave-assisted Rapid Preparation of Highly Efficient Ion-exchange Monolithic Stationary Phases

研究代表者

リム リーワ (Lim, Lee Wah)

岐阜大学・工学部・教授

研究者番号：80377689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)： 充填型カラムに比較してより透過性の高いモノリス型カラムは極めて高い分離や反応の効率を達成することができ、分離・吸着・触媒担体等として注目を集めている。キャピラリーサイズのモノリス型分離カラムはin situ重合法により調製されるが、現在の加熱炉を用いる調製法では、シリカ系モノリスは約5日間、有機ポリマー系モノリスの場合は約1日間を要している。

本研究では、有機ポリマー系モノリスカラムの調製でのカラム前処理や重合、表面化学修飾などにかかる時間をマイクロ波照射により短縮し、高性能イオン交換型モノリスの迅速調製の最適化を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マイクロ波を利用した反応は、従来技術に比べて選択的、かつ数十分の程度のエネルギーで、カラムの調製が可能な特色を有す。従来の加熱法では、モノリス調製の成功率がわずか30%であることに対して、マイクロ波照射を利用した場合、調製されたモノリスの80%が高い分離性能を示す。本研究は、分析システムの小型化によってシステムの消費電力が少なくなり、分析に必要な溶媒も数百分の一程度になるため、廃溶剤による環境負荷を大幅に低減することができる。

研究成果の概要(英文)： In comparison to the conventional particulate-packed columns, monolithic columns possess higher porosity, and able to achieve high reaction and separation efficiency; therefore, they have attracted much attention as a separation, adsorption as well as catalytic supports. In preparing capillary-sized monolithic separation columns, in-situ polymerization method is generally used. As long as the present heating furnace method is used, it takes approximately 5 days to prepare a silica-based monolithic capillary column, and for the case of polymer-based monolithic capillary column, about 1 day is usually needed. In this study, rapid preparation of polymer-based monolithic capillary columns using microwave-assisted polymerization was optimized. The research was focused mainly on the preparation of high ion-exchange capacity monolithic columns, i.e. the amount of time taken during the column pretreatment, polymerization and surface chemical modification processes was shortened dramatically.

研究分野：分析化学

キーワード：マイクロ波合成 迅速調製法 有機ポリマーモノリス イオン交換モノリス ワンポット反応 キャピラリーIC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

充填型カラムに比較してより透過性の高いモノリス型カラムは極めて高い分離や反応の効率を達成することができ、分離・吸着・触媒担体等として注目を集めている。モノリス型カラムは、その素材によりシリカ系と有機ポリマー系の二種類に大別できる。シリカ系モノリスは、一般的に分離能が高く、機械的強度に優れている。一方、有機ポリマーモノリスは、不可逆的な吸着が起こりにくく、また pH 耐久性 (pH 2 ~ 12) に優れているため、バイオ関連の研究に好適な基材であり、シリカ系モノリスよりも潜在的な有用性が高い。

キャピラリーサイズのモノリス型分離カラムは *in situ* 重合法により調製されるが、現在の加熱炉を用いる調製法では、シリカ系モノリスは約 5 日間、有機ポリマー系モノリスの場合は約 1 日間を要している。また、キャピラリー液体クロマトグラフィー用として望ましい内径 0.2 ~ 0.32 mm のカラムの調製は困難である。さらに、骨格径や流路孔の精密制御や、モノリス作製の再現性に問題がある。

加熱炉を用いる外部加熱方式では作製されるモノリスのポアの均一性に限界があり、他の加熱方法を調査したところ、マイクロ波による加熱に到達した。今までに、マイクロ波照射により逆相系分離に適するシリカ系および有機ポリマー系モノリスキャピラリーカラムを通常の熱重合時間を約 1/20 ~ 1/100 (最短では 10 分で調製できる) に短縮し、従来の *in situ* 熱重合法で調製されたモノリスと比較して遜色のないレベルを達成した (<https://kaken.nii.ac.jp/ja/grant/KAKENHI-PROJECT-25810085/>)。

2. 研究の目的

有機ポリマー系モノリスカラムの調製でのカラム前処理や重合、表面化学修飾などにかかる時間をマイクロ波照射により短縮し、高性能イオン交換型モノリスの迅速調製の最適化を行った。

3. 研究の方法

(1) カラムの前処理

本研究では分離カラム管として、内径 0.320 mm × 外径 0.450 mm のフューズドシリカキャピラリーチューブ (GL Science) のものを使用した。モノリスとカラム内壁とを化学的に固定するため、二重結合を有するシランカップリング剤で前処理を行った。

最初にカラム内部を水とアセトンで洗浄した後、1 M の水酸化ナトリウム水溶液を流速 1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ で 30 min 通液する。次に 1 M の塩酸を 1.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ で通液する。その後、酢酸で pH を 5 に調整した 20 % のメタクリル酸-3-(トリメトキシシリル)プロピルのエタノール溶液をカラム管に封入して両端を閉じ、温度 80 $^{\circ}\text{C}$ 、出力 200 W、反応時間 15 min でマイクロ波反応装置を使用した。終了後、窒素ガスで 1 時間乾燥させた。

このマイクロ波を用いた方法と従来法(シラン結合剤 30 min 通液, 乾燥 24 h)によって調製されたカラムと比較した。

(2) 有機ポリマー系モノリスカラムの調製

有機ポリマー系モノリスキャピラリーカラムの調製は、キャピラリー内壁をモノリスと化学結合させるための前処理、モノマー溶液の調製、封入、重合、化学修飾(ジエチルアミン or 1,3-プロパンスルトン)の手順で行った。

重合では、モノマーとしてグリシジルメタクリレート、架橋剤としてエチレンジメタクリレート、細孔形成剤として 1-プロパノール、1,4-ブタンジオールおよび水、重合開始剤として 2,2-アゾビスイソブチロニトリルを用いた。

化学修飾では、ジエチルアミンによる化学修飾が終了した後、スルホ基の修飾を目標としてさらに 1,3-プロパンスルトンと反応させる経路と、1,3-ジプロモプロパンから亜硫酸ナトリウムを反応させる経路の二通りを検討した。

反応装置として恒温槽、オープン、マイクロ波反応装置を用いて調製されたカラムの性能評価・比較した。

4. 研究成果

(1) カラムの前処理

シランカップリング剤を用いてカラム内壁をコーティングする際、室温で 30 min 通液 +

窒素ガス 24 h 乾燥 (従来法), 恒温槽で 15 min + 窒素ガス 1 h 乾燥, マイクロ波反応装置で 15 min + 窒素ガス 1 h 乾燥の 3 種類でそれぞれ処理したカラムで調製した固定相を無機陰イオンの混合溶液を測定することで評価した。

従来法よりも恒温槽もしくはマイクロ波反応装置で処理した方が保持時間が伸び、 NO_2^- と Br^- の分離もできた。恒温槽とマイクロ波反応装置のクロマトグラムはよく似通っているが、マイクロ波反応装置で処理したカラムではわずかに保持時間が伸びていた。

(2) 有機ポリマー系モノリスカラムの調製

マイクロ波を用いることによって生じる内部加熱を利用することで懸濁重合後のポリマー粒径分布の拡散を抑えられるという報告があるため、各反応時間で形成されたポリマー球の直径と流路 (スルーポア) を走査型電子顕微鏡 (SEM) を用い観察した。11 min で重合したカラムは直径 0.5 ~ 1.2 μm のポリマー球であったのに対し、12 min で重合したカラムは直径が 0.1 ~ 0.3 μm のポリマー球と粒径分布が良好であった。13 min, 15 min も 12 min と同様である。流路に関しては、これも 11 min のモノリスは 2 ~ 5 μm であるが、12 min 以降の重合時間で調製されたモノリスは流路孔が一段と小さくなった。

恒温槽で 80 $^\circ\text{C}$, 15 min で重合したカラムでは NO_2^- , Br^- , NO_3^- もピークが重複してしまい、理論段数も 100 程度であった。恒温槽で 60 $^\circ\text{C}$, 24 h で重合したカラムとマイクロ波支援のもと 80 $^\circ\text{C}$, 11 min で重合したカラムは同程度の保持・分離の結果が得られた。マイクロ波を用いることによって、重合時間を約 23 h 短縮することができた。

ジエチルアミンを 75 $^\circ\text{C}$, 15 min, 0.7 $\mu\text{L}/\text{min}$ で通液しながら恒温槽, オープン, マイクロ波反応装置によって化学反応を行い、各装置によって調製されたカラムで陰イオン混合サンプルを分離して評価した。マイクロ波の出力は 200 W で行った。オープンで反応されたカラムは他の 2 つよりも若干保持時間が短くなったが、恒温槽とマイクロ波反応装置ではほぼ同じ時点で溶出した。マイクロ波によって反応が促進されているのならば陰イオン交換基である 3 級アミンの修飾がより行われ、保持時間が増大すると予想していたが、マイクロ波支援下で反応させたカラムと恒温槽によって反応させたカラムでは溶出時間がほとんど差異がなかった。

(3) ワンポット反応について

マイクロ波加熱 (照射) によるキャピラリーモノリス型陰イオン交換カラムのワンポット合成および反応の条件とモノリス骨格の構造・分離性能の関係を明らかにすることを目標とした。陰イオン交換カラムの調製は、既存の作製手順では官能基修飾を必要としたが、本実験で用いるメタクリル酸 2-(ジメチルアミノ)エチルは第三級アミンを持つ化合物であり、ワンポット反応によって重合を行うことができるため、従来のモノリス型カラムの作製方法より格段に容易に調製することができた。しかしながら、調製された陰イオン交換カラムには第三級アミンを持つことにも関わらず、中性の移動相では保持時間が安定しないといった問題点を持つ。

従来の熱重合法では恒温槽で 24 時間静置することが一般的であるが、今研究ではマイクロ波で 15 分の照射をすることでカラムを調製することができた。調製されたカラムは 5 種類の混合無機陰イオンを分離することでカラムの性能評価をおこなった。中性の移動相では 5 つのサンプルを分けることができなかつたが、移動相を酸性にしたところ 4 つに分離できた。第三級アミンが官能基にあるモノマーはイオン交換が起こりやすく、移動相が中性でも分離が可能であると考えられるが、移動相を酸性にすることで分離ができた要因として第三級アミンが分裂してしまったことが考えられる。さらに、恒温槽で調製したカラムは分離能がよくないものの分離はできているので、マイクロ波照射によって構造変化が起こったことが考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 20 件)

R. Putri, L. W. Lim, T. Takeuchi, Development of Immobilized Enzymatic Trypsin Micro-reactor on Polymer Monolith Column for Biocatalytic Reactions in Capillary Liquid Chromatography, *Glob. Res. J. Chem.*, **2** (2018) 17-24. (査読有)

R. Putri, L. W. Lim, T. Takeuchi, Separation of dansyl amino acids in capillary liquid chromatography using cyclodextrin-bonded chiral monolithic stationary phases, *Glob. Res. J. Chem.*, **2** (2018) 59-67. (査読有)

M. Amin, B. Oktavia, A. Sedyohutomo, L. W. Lim, T. Takeuchi, Dual-column Switching Ion

Chromatography for the Simultaneous Determination of Inorganic Cations and Anions (particularly Thiocyanate) in Human Urine and Saliva Samples to Identify Smokers Types, *IOP Conf. Series: J. Physics: Conf. Series*, **1095** (2018) 012022. (査読有) DOI:10.1088/1742-6596/1095/1/012022

N. Takayama, L. W. Lim, T. Takeuchi, Retention behavior of inorganic anions in hydrophilic interaction chromatography, *Anal. Sci.*, **33** (2017) 619-623. (査読有) DOI: 10.2116/analsci.33.619

I. Kawase, L. W. Lim, T. Takeuchi, Investigation of chromatographic performance of hyperbranched amine-modified stationary phases in ion chromatography, *Chromatography*, **38** (2017) 9-14. (査読有) DOI: 10.15583/jpchrom.2016.018

N. Takayama, L. W. Lim, T. Takeuchi, Optimization and investigation of zwitterionic monolithic stationary phases for capillary ion chromatography, *Anal. Sci.*, **33** (2017) 631-634. (査読有) DOI: 10.2116/analsci.33.631

I. Kawase, L. W. Lim, T. Takeuchi, Capillary ion chromatography using 18-crown-6 ether as eluent additive for the separation of anions, *Chromatographia*, **80** (2017) 1089-1093. (査読有) DOI: 10.1007/s10337-017-3311-5

O. Venriza, L. W. Lim, T. Takeuchi, Separation of anions with capillary liquid chromatography using polymethacrylate based monolithic capillary columns modified with arginine, *Globalize Res. J. Chem.*, **1** (2017) 34-44. (査読有)

L. W. Lim, Development of Micro-Flow-Controlled Techniques and Novel Stationary Phases in Capillary Liquid Chromatography, *Chromatography*, **36** (2015) 1-12. (査読有) DOI: 10.15583/jpchrom.2015.011

Hidayat, R. Zein, H. Aziz, E. Munaf, L. W. Lim, T. Takeuchi, Separation of inorganic anions from biomaterial samples from Indonesian traditional fruit using monolithic column in ion chromatography capillary system, *J. Chem. Pharm. Res.*, **7** (2015) 21-27. (査読有)

A. Rahayu, L. W. Lim, T. Takeuchi, Preparation of hybrid monolithic stationary phase with allylsulfonate for the rapid and simultaneous separation of cations in capillary ion chromatography, *J. Sep. Sci.*, **38** (2015) 1109-1116. (査読有) DOI: 10.1002/jssc.201401264

A. Rahayu, L. W. Lim, T. Takeuchi, Polymer monolithic methacrylate base modified with tosylated-polyethylene glycol monomethyl ether as stationary phase for capillary liquid chromatography, *Talanta*, **134** (2015) 232-238. (査読有) DOI: 10.1016/j.talanta.2014.10.060

他 8 件

〔学会発表〕(計 4 7 件)

F. Furqani, L. W. Lim and T. Takeuchi, One-pot facile preparation of amino-functionalized silica hybrid monoliths for mixed-mode chromatography, 第 35 回イオンクロマトグラフィー討論会, 東京都立産業技術センター, 2018 年 12 月 6-7 日

久保田 翔哉, リム リーフ, 竹内 豊英, 分枝型双性イオン固定相の作製とそのリンカーによる陰・陽イオンの分離挙動の解明, 第 29 回 クロマトグラフィー科学会議, 豊橋, 2018 年 11 月 7-9 日

M. Imaeda, L. W. Lim and T. Takeuchi, Microwave-assisted Synthesis of Anion Exchange Monolithic Column for Capillary Liquid Chromatography, 6th Asian Network for Natural & Unnatural Materials (ANNUM VI), Gifu, July 27-28, 2018

R. Putri, L. W. Lim and T. Takeuchi, Immobilization of Enzymatic Trypsin Microreactor on Polymeric Monoliths for Biocatalytic Reactions in Capillary Liquid Chromatography, 6th Asian Network for Natural & Unnatural Materials (ANNUM VI), Gifu, July 27-28, 2018

L. W. Lim and T. Takeuchi, Microwave-assisted fabrication of monolithic stationary phases for capillary liquid chromatography, 2018 Sino-Japanese Joint Symposium on Separation Sciences, Dalian, China, July 11-12, 2018 (Invited Lecture)

リム リーウ, Nabilah Binti Suhaili, 竹内 豊英, 常温イオン液体(deep eutectic solvent)をポロゲンとして用いたポリマー系モノリス型キャピラリーカラムの調製に関する研究, 第 25 回 クロマトグラフィーシンポジウム, 弘前大学, 2018 年 6 月 13-15 日

F. Furqani, L. W. Lim, T. Takeuchi, Facile preparation of sodium *p*-styrene sulphonate hydrate hybrid monolithic capillary column for capillary ion chromatography, Jakarta, Indonesia, April 4-7, 2018

Nabilah Suhaili, リムリーウ, 竹内豊英, Utilization of Deep Eutectic Solvents as Porogens in the Fabrication of Polymeric Monolithic Capillary Columns, 第 34 回イオンクロマトグラフィー討論会, 広島ガーデンパレス, 2017 年 12 月 7-8 日

L. W. Lim, T. Takeuchi, Fabrication of Monolithic Stationary Phases for Capillary Ion Chromatography, The 9th Asia-Pacific Symposium on Ion Analysis, Shaoxing, China, November 20-23, 2017 (Invited Lecture)

M. Imaeda, L. W. Lim, T. Takeuchi, Separation of inorganic anions using 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate-bonded monolithic column in capillary ion chromatography, Seminar National Kimia, Jurusan Kimia FMIPA, Andalas University, Padang, Sep 11, 2017

L. W. Lim, T. Takeuchi, Fabrication of Monolithic Stationary Phases for Capillary Ion Chromatography 5th Asian Network for Natural and Unnatural Material, Yogyakarta, Indonesia, July 11-12, 2017 (Invited Lecture)

リムリーウ, 機能性モノリス型キャピラリーカラムの迅速調製～マイクロ波の効果について～, 第 47 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 豊橋技術科学大学, 2016 年 11 月 5-6 日 (依頼講演)

リムリーウ, 竹内豊英, マイクロ波支援によるモノリス型キャピラリーカラムの迅速調製に関する研究, 第 23 回クロマトグラフィーシンポジウム, 山梨県立図書館, 2016 年 6 月 15-17 日 (依頼講演)

L. W. Lim, Microwave-assisted Fabrication of Stationary Phases for Capillary Liquid Chromatography: 4th International Conference on Chemical Sciences (4th ICCS), Padang, Indonesia, 2015/9/16-17 (Keynote Lecture)

L. W. Lim, T. Takeuchi, Microwave-assisted Rapid Fabrication of Monolithic Stationary Phases for Capillary Liquid Chromatography: The Second ASIAN SYMPOSIUM ON ANALYTICAL SCIENCES (2nd ASAS), Fukuoka, 2015/9/9-10 (Invited Lecture)

L. W. Lim, Y. Ito, T. Takeuchi, Microwave-assisted Rapid Fabrication of Polymeric Sulfobetaine Stationary Phases for Capillary Ion Chromatography: The 8th Asia-Pacific Symposium on Ion Analysis, Makuhari Messe, Chiba, 2015/8/31-9/3

I. Kawase, L. W. Lim, T. Takeuchi, Development of Dendritic Polymer-based Stationary Phases for Capillary Liquid Chromatography: The 8th Asia-Pacific Symposium on Ion Analysis, Makuhari Messe, Chiba, 2015/8/31-9/3

他 3 0 件

〔その他〕

ホームページ : <https://www1.gifu-u.ac.jp/~bunseki/>

6 . 研究組織
該当なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。